



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Estudio Computacional de la Quercetina como un
Biosensor Fluorescente.

Tesis que para obtener el título de:
Licenciado en Biotecnología

Presenta:
Jenny Espinosa Acosta

Directores de Tesis:
Dra. María Eugenia Castro Sánchez
Dr. Francisco Javier Meléndez Bustamante



Diciembre 2025

AGRADECIMIENTOS

Al CONAHCyT por la beca otorgada como asistente de investigador del SNII nivel III (CVU 1188764).



Al Laboratorio de Química Teórica (LabQT) de la Facultad de Ciencias Químicas, al Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México (LNS-BUAP) por los recursos computacionales, el apoyo y la asistencia técnica brindados para realizar este trabajo.



También agradezco a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP) por el apoyo brindado al aceptarme en estancias de investigación en el programa “Haciendo Ciencia en la BUAP”.



Agradezco al Cuerpo Académico BUAP-CA-263 “Investigación experimental y computacional de nuevos materiales y sistemas biomoleculares” (PRODEP-SEP).



El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Bioinorgánica Aplicada del Centro de Química del Instituto de Ciencias y el Laboratorio de Química Teórica (LabQT) de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, donde se desarrollan las líneas de generación y aplicación de conocimiento (LGAC): Estudio computacional de nuevos materiales y sistemas moleculares; y Estudio experimental y computacional de mecanismos moleculares de sistemas biológicos.

A la **Dra. María Eugenia Castro Sánchez** y al **Dr. Francisco Javier Meléndez Bustamante**, directores de esta tesis: mi más sentido agradecimiento por su paciencia infinita y su apoyo durante este proceso. Gracias por confiar en mí con oportunidades de investigación y por guiarme siempre con alegría y ánimo.

Al MC. Yamil Hernández Urquieta por su asesoría constante durante mi estancia en el laboratorio.

A los integrantes del Laboratorio de Química Teórica (LabQT): Mi agradecimiento por haber sido compañeros y colegas a lo largo de este camino, el ambiente grato que construyeron fue fundamental en este proyecto.

A mis profesores, agradezco su excelencia académica y, sobre todo, la emoción y pasión genuina por la ciencia que transmitían en cada clase.

A la danza, mi eterno agradecimiento por ser mi refugio durante los años más demandantes de la carrera. A través del movimiento, el ritmo y la disciplina, me devuelves la fuerza, la salud y la alegría. Esta tesis lleva también tu huella: la de la resiliencia y el autocuidado.

Dedicatoria

A **Dios**, por su infinita bondad, por fortalecerme en la adversidad y por bendecir cada paso que he dado.

A los pilares de mi vida, mis padres **Susana y Gonzalo**, gracias por todo su amor, paciencia y apoyo incondicional en mi vida.

A mi hermano **Gonzalo**, estoy orgullosa de ti y aquí estaré para cuidarte.

A mis abuelitos paternos **Gonzalo y Agueda**, y maternos **Guillermina y Néstor**, gracias por su amor, apoyo y guía en mi vida.

A **Emiliano**, gracias por tu amor, tu apoyo y tu fe inquebrantable en mí.

A **Leslie y Arleth**, cuya amistad fue uno de los mayores regalos de mi etapa universitaria. Deseo que nuestra amistad perdure.

A **Chloe**, mi compañerita de estudio en las noches de desvelo 🐾.

A cada persona que contribuyó a que hoy esté aquí. Mi gratitud es tan extensa como la lista de nombres que debería escribir.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN 1

CAPÍTULO 1 3

1. ANTECEDENTES	3
1.1. Flavonoides.....	3
1.2. Quercetina	4
1.3. Quercetina como biosensor	7

CAPITULO 2 20

2. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	20
2.1. Justificación	20
2.2. Hipótesis	20
2.3. Objetivos	21

CAPÍTULO 3 22

3. MARCO TEÓRICO	22
3.1. Ecuación de Schrödinger	22
3.2. Teoría del funcional de la densidad (DFT).....	27
3.3. Conjuntos de funciones de base	30
3.4. Índices de reactividad química global	34
3.5. Teoría del funcional de la densidad dependiente del tiempo (TD-DFT).....	36
3.6. Espectro de absorción	38
3.7. Espectro de emisión	41
3.8. Mecanismo de fluorescencia de los flavonoles	46
3.9. Propiedad de emisión inducida por agregación (AIE).....	52
3.10. Desplazamiento de Stokes	53

CAPÍTULO 4 54

4. METODOLOGÍA	54
4.1. Estudio conformacional de la quercetina, sus aniones y quelatos	54
4.2. Cálculo del espectro de absorción y emisión de la quercetina, sus aniones y sus quelatos.....	57
4.3. Cálculo del espectro de emisión de la quercetina y sus aniones.....	57
4.4. Cálculo de los índices de reactividad química global	57

CAPÍTULO 5 **58**

5. RESULTADOS	58
5.1. Estudio conformacional de la quercetina.....	58
5.2. Aniones de quercetina.....	71
5.4. Complejos quercetina–Cu(II).....	80
5.5. Cálculo de espectros de absorción.....	89
5.6. Cálculo de los espectros de emisión	108
5.7. Índices de reactividad global	112

6. PERSPECTIVAS **115**

7. CONCLUSIONES **116**

BIBLIOGRAFÍA **118**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura general de los flavonoides	3
Figura 2. Representación esquemática de la molécula de quercetina	4
Figura 3. Biosíntesis de la quercetina en las plantas.	6
Figura 4. Elementos de un biosensor típico	9
Figura 5. Flavonol como agente quelante	12
Figura 6. Imágenes de fluorescencia in vivo en ratones tras la inyección intravenosa de nanocristales de quercetina	18
Figura 7. Funciones de base	31
Figura 8. Posibles vías que puede tomar una molécula en estado excitado para regresar a su estado fundamental	42
Figura 9. Espectros de absorción y emisión	44
Figura 10. Parámetros físicos y químicos en el entorno próximo a la molécula excitada que pueden intervenir en su emisión de fluorescencia	46
Figura 11. Ejemplos representativos de fluoróforos ESIPT.	48
Figura 12. Proceso ESIPT de flavonoles	49
Figura 13. Dos gráficos de ruta esperados del proceso ESIPT de la quercetina.....	51
Figura 14. Numeración de los átomos de la molécula de quercetina.	55
Figura 15. Moléculas de quercetina de este y otros estudios, optimizadas a nivel de teoría M06–2X/6–31+G(d).....	60
Figura 16. Movilidad de la molécula de quercetina y posibles puentes de hidrógeno intramoleculares.	62
Figura 17. Alineamiento de conformaciones optimizadas de quercetina en VMD	64
Figura 18. Valores de RMSD	66
Figura 19. Conformaciones más estables para quercetina y sus aniones	71
Figura 20. Quercetina (a) y sus aniones alineados en el programa VMD.....	72
Figura 21. Orbitales moleculares frontera HOMO y LUMO de la quercetina (a) y sus aniones	76
Figura 22. Mapas de potencial electrostático molecular de la quercetina (a) y sus aniones..	78
Figura 23. Frente, perfil y nomenclatura de los distintos quelatos QUE_Cu(II).....	81
Figura 24. Numeración empleada para los átomos de interés en los complejos de coordinación QUE_Cu(II)	82
Figura 25. Energías de enlace reducidas y distancias de enlace de los complejos quercetina–Cu(II).	85
Figura 26. Análisis de densidad de spin de los complejos de coordinación de capa abierta.	87

Figura 27. Sistemas benzoil y cinamoil de la quercetina.	90
Figura 28. Espectro de absorción UV/Vis de la conformación más estable de la quercetina..	91
Figura 29. Espectro de absorción UV/Vis del anión $QUE3^-$	92
Figura 30. Espectro de absorción UV/Vis del anión $QUE5^-$	92
Figura 31. Espectro de absorción UV/Vis del anión $QUE3^-5^-$	93
Figura 32. Espectros de absorción UV/Vis de quercetina (a) y sus respectivos aniones.	93
Figura 33. Espectro de absorción UV/Vis del complejo $QUE3^- Cu(II)$	96
Figura 34. Espectro de absorción UV/Vis del complejo $QUE3^- Cu(II)_2H_2O$	96
Figura 35. Espectro de absorción UV/Vis del complejo $QUE3^- Cu(II)_2MeOH$	97
Figura 36. Espectros de absorción UV/Vis de quercetina (a) y los complejos formados con el anión $QUE3^-$	97
Figura 37. Espectro de absorción UV/Vis del complejo $QUE5^- Cu(II)$	98
Figura 38. Espectro de absorción UV/Vis del complejo $QUE5^- Cu(II)_2H_2O$	98
Figura 39. Espectro de absorción UV/Vis del complejo $QUE5^- Cu(II)_2MeOH$	99
Figura 40. Espectros de absorción UV/Vis de quercetina (a) y los complejos formados con el anión $QUE5^-$	99
Figura 41. Espectro de absorción UV/Vis del complejo $QUE3^-5^- Cu(II)$	100
Figura 42. Espectro de absorción UV/Vis del complejo $QUE3^-5^- Cu(II)_2H_2O$	100
Figura 43. Espectro de absorción UV/Vis del complejo $QUE3^-5^- Cu(II)_2MeOH$	101
Figura 44. Espectros de absorción UV/Vis de quercetina (a) y los complejos formados con el anión $QUE3^-5^-$	101
Figura 45. Longitudes de onda de la luz asociadas a diferentes colores, el color de la luz absorbida y el color complementario asociado que ve el ojo humano.	106
Figura 46. Loto americano (<i>Nelumbo lutea</i>)	107
Figura 47. Colores de los complejos quercetina–cobre.	108
Figura 48. Espectros de absorción y emisión de la quercetina, así como su desplazamiento de Stokes ($\Delta\lambda$).	109
Figura 49. Espectros de absorción y emisión del anión $QUE3^-$, así como su desplazamiento de Stokes ($\Delta\lambda$).	109
Figura 50. Espectros de absorción y emisión del anión $QUE5^-$, así como su desplazamiento de Stokes ($\Delta\lambda$).	109
Figura 51. Espectros de absorción y emisión del dianión $QUE3^-5^-$, así como su desplazamiento de Stokes ($\Delta\lambda$).	110

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Biorreceptores catalíticos y no catalíticos.	8
Tabla 2. Energías relativas, momento dipolar (μ), polarizabilidad (α) y porcentaje de población calculado de las conformaciones optimizadas de quercetina	61
Tabla 3. Valores de RMSD para las distancias de enlace, los ángulos de valencia, los ángulos diedros y el RMSD total para las conformaciones de quercetina optimizadas respecto a la conformación de mínima energía.....	65
Tabla 4. Distancias de enlace, ángulos de valencia, ángulos diedros y puentes de hidrógeno de interés de las conformaciones (a) a (m) de la molécula de quercetina.....	67
Tabla 5. Energías relativas, momento dipolar (μ) y polarizabilidad (α) de la quercetina y sus aniones.....	71
Tabla 6. Distancias de enlace (Å), ángulos de valencia, ángulos diedros y puentes de hidrógeno de interés de la quercetina (a) y sus aniones.	73
Tabla 7. Cargas APT de la conformación más estable de quercetina (a) y sus aniones.....	80
Tabla 8. Distancias de enlace (Å) y ángulos de interés en los complejos de coordinación QUE_Cu(II).	83
Tabla 9. Valores de energías globales (kcal/mol), momento dipolar (μ) y polarizabilidad (α) de los complejos de coordinación quercetina-cobre.	84
Tabla 10. Transiciones con las correspondientes intensidades de oscilador (f), la probabilidad de transición de un orbital electrónico en porcentajes y la naturaleza de la transición. Calculadas a nivel de teoría TD- ω B97XD/6-31+g(d).....	89
Tabla 11. Colores que se observarían para la quercetina, sus aniones y los complejos en estudio, según nuestros cálculos	107
Tabla 12. Longitudes de onda calculadas para el espectro de emisión de la quercetina, sus aniones y quelatos.	108
Tabla 13. Índices de reactividad global de la quercetina, sus aniones y complejos QUE_Cu(II) estudiados: potencial químico (μ), electronegatividad (χ), dureza química (η), blandura (σ) y electrofilicidad (ω).	112

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la fluorescencia es uno de los métodos más desarrollados y confiables para la detección química y biológica, además de la obtención de bioimágenes, lo cual es debido a su funcionamiento sencillo, respuesta rápida, gran sensibilidad, alta selectividad, increíble resolución temporal y espacial, visualización no invasiva, etc.

Es posible emplear al flavonoide quercetina (3, 5, 7, 3', 4'-pentahidroxi-4H-1-benzopiron-4-ona, cuya fórmula molecular es $C_{15}H_{10}O_7$) como un sensor natural fluorescente. Dicha molécula ha sido utilizada en la detección de iones y aniones, pequeñas biomoléculas y biomacromoléculas. Por otra parte, la quercetina presenta una buena biocompatibilidad, toxicidad biológica insignificante, biodegradabilidad natural, alta fotoestabilidad, además la quercetina agregada *in situ* muestra una buena retención intracelular, por lo que es posible realizar bioimágenes a largo plazo (aproximadamente 8 horas).

Los cálculos teóricos basados en la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT), así como en Teoría del Funcional de la Densidad Dependiente del Tiempo (TD-DFT) proporcionan información detallada acerca de las propiedades fotoquímicas y fotofísicas, por lo que en este trabajo de investigación se calcularon los espectros de absorción y emisión de una determinada conformación más estable de la molécula quercetina en fase gas, con la finalidad de proponerla como un posible biosensor fluorescente.

Esta tesis se encuentra dividida de la siguiente forma: En el capítulo 1 se introduce el concepto de flavonoides, se da a conocer el flavonoide quercetina y su uso como biosensor fluorescente en general y al formar complejos de coordinación con iones metálicos. En el capítulo 2 se presenta la justificación, hipótesis y objetivos del presente trabajo de investigación. El capítulo 3 corresponde al marco teórico, que incluye temas clave sobre los cálculos computacionales y espectroscopia UV/Vis en general y enfocada a flavonoides. El capítulo 4 da a conocer la metodología empleada para llevar a cabo un estudio conformacional de la quercetina, sus aniones y quelatos, así como el cálculo de su espectro absorción y

emisión UV/Vis e índices de reactividad química global. El capítulo 5 muestra los resultados y discusión de los cálculos previamente mencionados, abarcando un estudio conformacional, el potencial electrostático molecular, los espectros de absorción y emisión UV/Vis incluyendo los orbitales moleculares implicados en las transiciones electrónicas, y los índices de reactividad química global. Finalmente se incluyen los apartados de conclusiones y perspectivas de esta tesis.

CAPÍTULO 1

1. ANTECEDENTES

1.1. Flavonoides

Los flavonoides (Figura 1) son una clase de compuestos fenólicos hidroxilados que presentan una estructura de anillo aromático. Estos compuestos se clasifican en distintas subclases que abarcan flavonoles (como la quercetina, miricetina y fisetina), flavonas (como apigenina y luteolina), isoflavonoides, flavanonas (como naringenina, flavanona y hesperetina), isoflavonas, catequinas y antocianidinas (1).

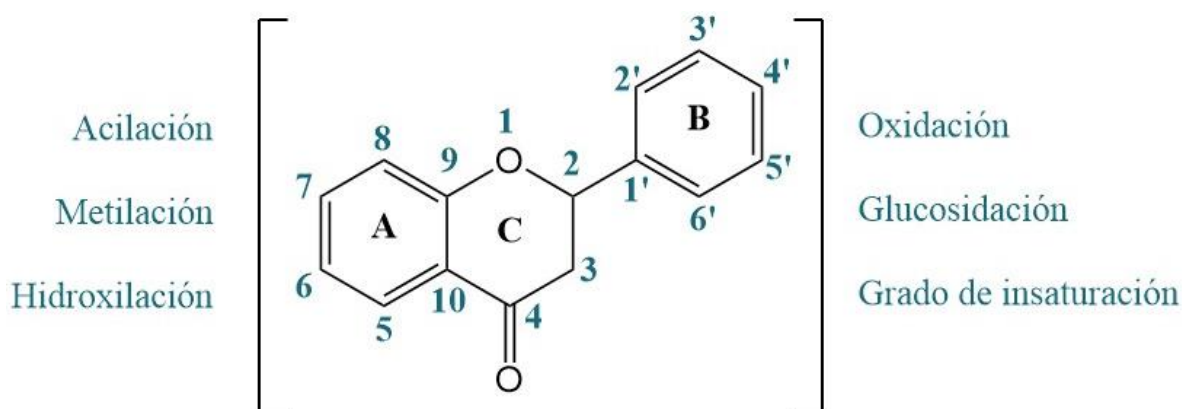


Figura 1. Estructura general de los flavonoides. Adaptado de (1).

Los flavonoides son compuestos fitoquímicos que se encuentran en diversas plantas, frutas, hierbas, tallos, cereales, nueces, verduras, flores, semillas y hojas, con aplicaciones en la medicina. En la actualidad, un gran número de trabajos de investigación se han enfocado en su aislamiento, síntesis de análogos y efectos en la salud humana. Por suerte, se han logrado aislar más de 10,000 compuestos flavonoides y el número aumenta cada vez más (2).

Diversos flavonoides poseen propiedades anticancerígenas, antimicrobianas, antivirales, antiangiogénicas, antipalúdicas, antioxidantes, neuroprotectoras, antitumorales y antiproliferativas (3).

Existen diversos medicamentos empleados en el tratamiento del cáncer, sin embargo, solo unos cuantos presentan inhibición contra la oncogénesis, además la gran mayoría son tóxicos y poseen efectos secundarios adversos que atormentan a los pacientes (4). Los flavonoides actúan como agentes anticancerígenos, pero también inhiben el crecimiento celular (3).

1.2. Quercetina

La quercetina (3, 5, 7, 3', 4'-pentahidroxiflavona o 2-(3,4-Dihidroxifenil)-5,7-dihidroxi-4H-1-benzopiron-4-ona, Figura 2) es una subclase de flavonoide (específicamente un flavonol) que siempre está presente en las plantas, pero en cantidades diferentes. Es una sustancia amarilla, sólida, cristalina, insoluble en varios disolventes y de sabor amargo. A pesar de que es generalmente insoluble, muestra una ligera solubilidad en alcohol, soluciones acuosas alcalinas y en ácido acético glacial (5).

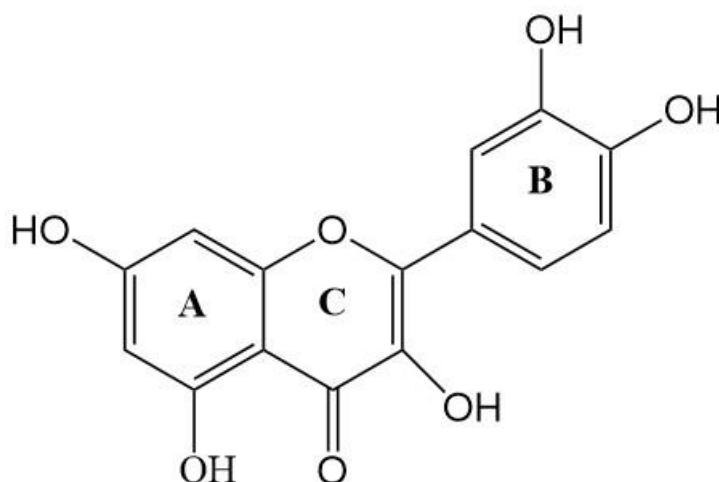


Figura 2. Representación esquemática de la molécula de quercetina, cuya estructura consta de dos anillos fusionados AC y un anillo adjunto B.

Esta molécula presenta un papel importante en varios procesos fisiológicos de las plantas, tales como la germinación de semillas, el crecimiento del polen, la maquinaria antioxidante y la fotosíntesis, asimismo, induce el crecimiento y desarrollo apropiado de las plantas. La quercetina es un poderoso antioxidante, en consecuencia, proporciona a las plantas una tolerancia potente contra diversos estreses (1). Un dato muy interesante es que la fluctuación de la densidad de flujo de fotones fotosintéticos ($43\text{-}230\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) regula el contenido de quercetina en las plantas (5).

La biosíntesis de la quercetina se lleva a cabo en la vía metabólica de los fenilpropanoides, tal como lo muestra la Figura 3. Los flavonoles se acumulan principalmente en los tejidos externos y aéreos, es decir, en la piel y las hojas de las frutas y verduras, dado que su biosíntesis es estimulada por la luz solar.

En la naturaleza los flavonoles se presentan principalmente en forma de compuestos conjugados glicosilados, es decir, con una molécula de azúcar (ramnosa, glucosa, galactosa, etc.) unida al anillo C (6). Se ha propuesto que la quercetina se encuentra principalmente como glucósido en los alimentos (unida específicamente a glucosa), debido a que la glucosa es el monosacárido más abundante (7).

Los flavonoles se encuentran como mono-, di- y triglicósidos, debido a que ese grupo aumenta la solubilidad en agua de las moléculas hidrofóbicas de flavonoides. Los monoglicósidos se presentan mayormente como 3-O-glicósidos, mientras que la glicosilación en las posiciones 5, 7, 3' y 4' son poco comunes (8). Las estructuras básicas de los flavonoides son agliconas (el fragmento sin azúcar del glicósido correspondiente) (7) y los efectos biológicos de los flavonoides se deben principalmente a esta parte (9).

Por otra parte, la molécula de quercetina ha despertado un gran interés por su aplicación en medicina, gracias a que presenta diverso tipo de propiedades como: antialérgicas, antiinflamatorias, anticancerígenas, así como características de protección cardiovascular, antitumorales, antivirales, antimicrobianas, antidiabéticas, inmunomoduladoras, antienvjecimiento, antihipertensivas y gastroprotectoras (10).

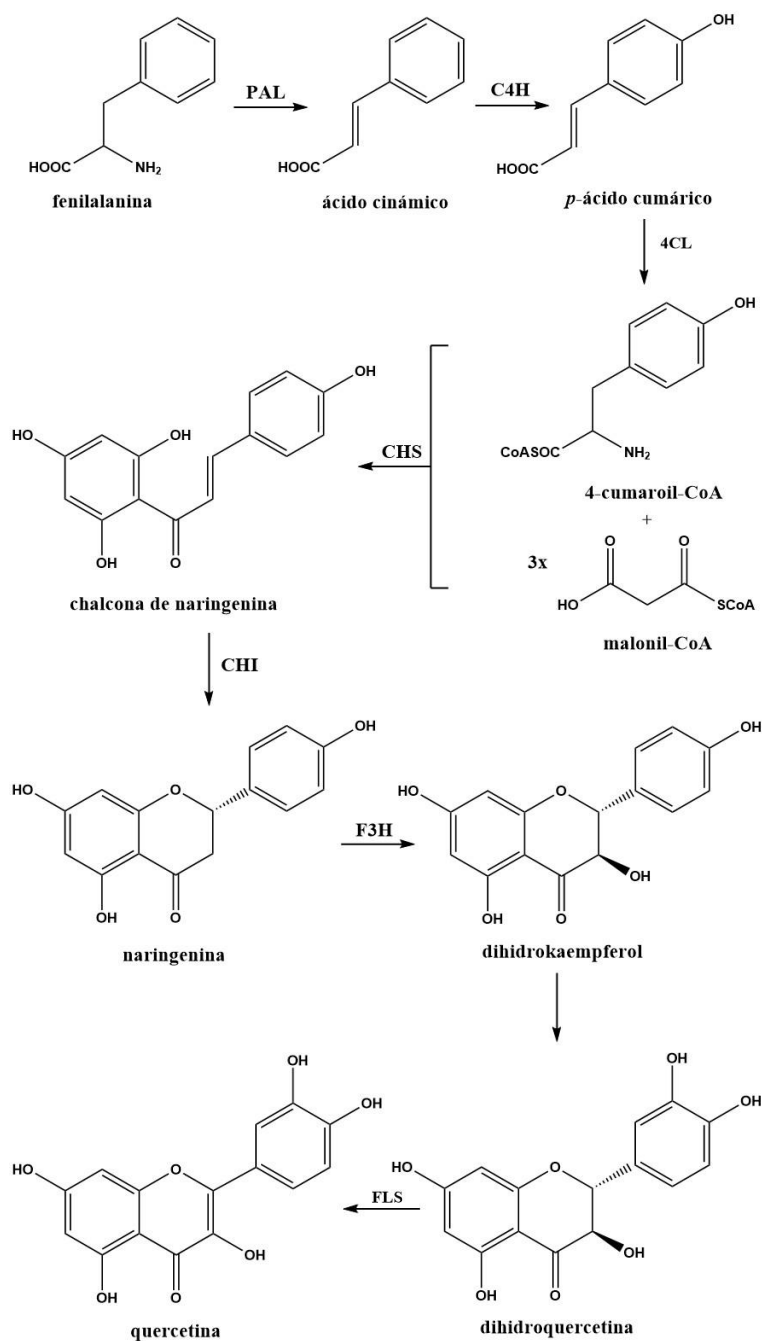


Figura 3. Biosíntesis de la quercetina en las plantas. PAL: fenilalanina amonio liasa; C4H: cinamato 4-hidroxilasa; 4-CL: 4-cumarato: CoA ligasa; CHS: chalcona sintasa; CHI: chalcona isomerasa; F3H: flavona 3-hidroxilasa; F3'H: flavonol 3'-hidroxilasa; FLS: flavonol sintasa. Adaptado de (1).

1.3. Quercetina como biosensor

Los biosensores a diferencia de los métodos analíticos convencionales, presentan características de portabilidad, sensibilidad, adecuados límites de detección, reproducibilidad, selectividad, versatilidad en diseño y arquitectura del biosensor. Además, dentro de las estrategias de monitoreo no se requieren ciertos protocolos de toma, transporte y procesamiento de muestras en condiciones controladas.

Un biosensor es un dispositivo que produce una señal medible, la cual es proporcional a la concentración de un analito objetivo. Por lo general incorpora un elemento de detección biológica y mide señales derivadas de interacciones biológicas (11).

Los biosensores han tenido un gran número de aplicaciones, por ejemplo, el diagnóstico de enfermedades, el monitoreo ambiental, el monitoreo de la calidad del agua y de los alimentos, la administración de medicamentos (12). También en el descubrimiento de fármacos, la detección de contaminantes, microorganismos patógenos y marcadores que se consideran indicadores de una enfermedad en fluidos corporales (como sangre, orina, sudor y saliva) (13).

Un biosensor clásico está compuesto por un biorreceptor (como una enzima o un anticuerpo) que se une específicamente a un analito en una interfaz donde tiene lugar un determinado evento biológico, y por un componente electrónico que genera una señal medible (14). Este último elemento, detecta, registra y transmite información sobre un cambio fisiológico o la presencia de distintos materiales químicos o biológicos en el medio ambiente (12).

El biosensor ideal debe detectar un analito de manera muy específica, por lo que las uniones no específicas (con compuestos distintos al analito) son un gran inconveniente en el desarrollo de biosensores (14).

De manera más específica, (13) y (15) señalan que un biosensor típico se compone de los siguientes elementos: A) Analito: Es una sustancia de nuestro interés que necesitamos detectar. B) Biorreceptor: Es una molécula que reconoce al analito de manera muy específica. En este punto es necesario mencionar y definir el término “biorreconocimiento”, que es el proceso de generación de señales (por ejemplo, en forma de luz, calor, pH, cambio de carga o masa) tras la

interacción del biorreceptor con el analito. El biorreceptor debe ser altamente específico, inmovilizado en la superficie del transductor y estable para ser almacenado. (16) establecieron que los biorreceptores se clasifican en biorreceptores catalíticos y no catalíticos (Tabla 1). C) Transductor: Elemento que convierte una forma de energía en otra, es decir, convierte el evento de biorreconocimiento en una señal medible. A este proceso de conversión de energía se le llama “señalización”. Comúnmente, los transductores producen señales ópticas o eléctricas que suelen ser proporcionales a la cantidad de interacciones presentes entre el analito y el biorreceptor. D) Electrónica: Es la parte que procesa la señal transducida y la prepara para ser visualizada. Es un circuito electrónico complejo que acondiciona la señal, la amplifica y la convierte en señales de forma analógica a digital. Posteriormente, las señales procesadas son cuantificadas por la unidad de visualización del biosensor. E) Pantalla: Es un sistema de interpretación del usuario, puede ser una pantalla de computadora o una impresora directa que genera cifras o gráficos que el usuario es capaz de interpretar.

Tabla 1. Biorreceptores catalíticos y no catalíticos.

Tipo de biorreceptor	Catalítico	No catalítico
Característica(s)	La interacción entre el biorreceptor y el analito conduce a la formación de un nuevo producto.	La interacción entre el bioreceptor y el analito da como resultado que el analito se una a la superficie del transductor.
Aplicación	Monitorizar sustancias en concentraciones molares o micromolares de manera continua.	Analitos que comúnmente se encuentran en concentraciones muy bajas (en el intervalo de micro a picomolar).
Ejemplos de analitos	Sustratos de enzimas.	Esteroides, fármacos, toxinas.
Ejemplos de biorreceptores	Enzimas, materiales tisulares, microorganismos, aptámeros.	Anticuerpos, antígenos, ácidos nucleicos.
Reutilizables	Sí.	No, se usan una vez y se desechan.

En la Figura 4, se presenta un esquema con los elementos de un biosensor.

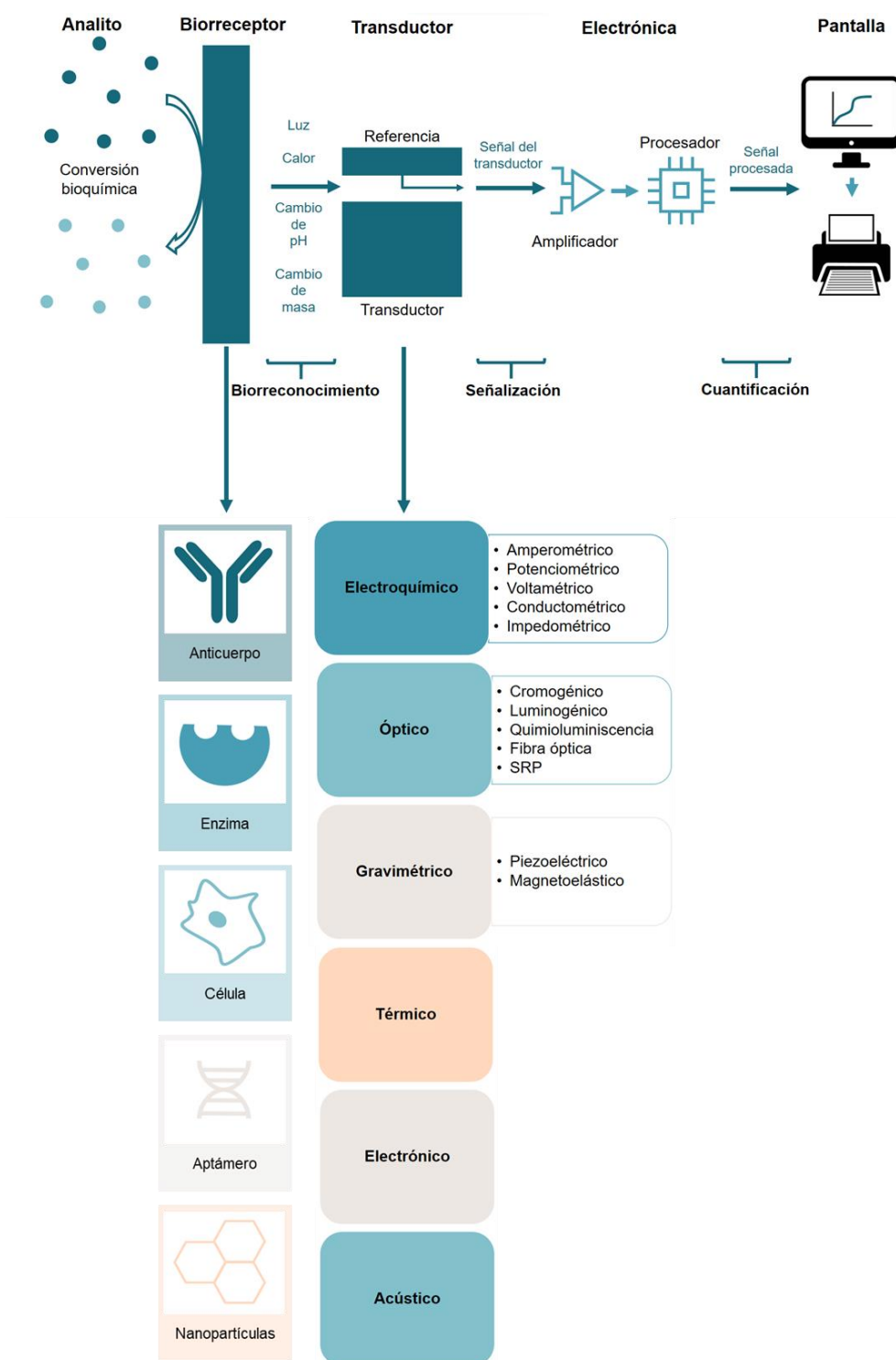


Figura 4. Elementos de un biosensor típico. Adaptado de (12). El biorreceptor también puede ser un tejido, un órgano, un microorganismo, un receptor celular, un ácido nucleico, etc. (15).

Actualmente, la fluorescencia es uno de los métodos más desarrollados y elegidos para la detección química, biológica y bioimagen, gracias a su operación simple,

respuesta rápida, increíble sensibilidad, alta selectividad, muy buena resolución temporal y espacial, así como visualización no invasiva (17).

La fluorescencia es un tipo de fotoluminiscencia y se produce cuando una molécula absorbe y emite radiación electromagnética solamente a frecuencias que corresponden a la separación de energía entre los estados permitidos. Cuando la radiación incide sobre la molécula, solo aquellos fotones cuya energía ($h\nu$) es igual a la separación de energía (ΔE) entre dos niveles de energía puede ser absorbida. Después de absorber la energía, algunos electrones excitados pasan de un estado fundamental de energía más baja a un estado excitado de energía más alta ($M + h\nu \rightarrow M^*$). En el estado fundamental las moléculas tienen sus electrones apareados es decir spines opuestos ($\uparrow\downarrow$). Después de que el electrón pasa a un estado de mayor energía, el spin del electrón se puede mantener y se denomina estado singlete ($\uparrow\downarrow$), pero si el spin del electrón se invierte, se conoce como estado triplete ($\uparrow\uparrow$). Cabe mencionar que en el estado triplete, los electrones tienen tres posibles estados en un campo magnético: a) Los vectores de los spines pueden estar alineados con el campo, b) pueden estar alineados en dirección contraria al campo magnético o c) pueden ser perpendiculares al campo magnético.

Cuando la molécula se encuentra en un estado excitado puede perder energía colisionando con otras moléculas o bien puede emitir energía luminosa de menor longitud de onda. La diferencia entre las longitudes de onda absorbidas y emitidas se le conoce como desplazamiento de Stokes. Por lo tanto, si la molécula retorna al estado fundamental desde un estado excitado singlete, a la radiación emitida se le denomina fluorescencia, pero si retorna desde un estado excitado triplete, a la radiación emitida se denomina fosforescencia. Estos dos procesos hacen parte de la fotoluminiscencia. Aunque también puede ocurrir el caso en que la energía no se pierda por alguno de estos dos procesos y la molécula interactúe con otro tipo de elementos modificando su estructura química y perdiendo energía sin emitir radiación. A este último proceso se le denomina quimioluminiscencia.

Las moléculas empleadas en los estudios por sus propiedades fluorescentes son llamados fluoróforos. Los fluoróforos suelen presentar estructuras de anillos (moléculas aromáticas) con enlaces π que distribuyen con facilidad los electrones

en los orbitales externos en una zona amplia. Una característica importante de los fluoróforos, se debe a que la diferencia de energía entre los orbitales del estado excitado y del estado fundamental es bastante pequeña como para emplear fotones de baja energía en la parte visible del espectro electromagnético para excitar electrones. Comúnmente, cuantos más enlaces conjugados haya en la molécula, menor será la energía excitada y mayor será la longitud de onda (más roja) de la luz excitante. Asimismo, la eficiencia (medida por el rendimiento cuántico fluorescente) aumenta con el número de enlaces π (18).

Actualmente, se han desarrollado distintos biosensores fluorescentes empleando a la molécula de quercetina. A continuación, se exponen algunos ejemplos bastante interesantes.

Los flavonoles cuentan con grupos hidroxilo y carbonilo, los cuales pueden coordinar iones metálicos formando complejos. Lo anterior es una manifestación de su actividad antioxidante y antirradical. Se ha reportado que los complejos metálicos muestran distintas propiedades de interés: son antioxidantes, o prooxidantes, antimicrobianos, antiproliferativos, inflamatorios, antialérgicos, anticancerígenos, entre otras. Algo digno de mencionar es que las propiedades biológicas de los ligandos pueden verse reforzadas por la formación del complejo (como una mayor actividad antioxidante). No obstante, en algunos casos también se ha reportado una disminución de la actividad biológica. De esta manera, los flavonoles como agentes quelantes se han empleado en terapia de quelación de metales, con el fin de eliminar iones metálicos tóxicos en el cuerpo (19).

Los flavonoles con grupos hidroxilo adyacentes son sorprendentes indicadores de iones metálicos a través de interacciones moleculares de coordinación. Los sitios coordinados más comunes se muestran en la Figura 5.

Se ha reportado que la quercetina puede ser un ligando bidentado, el cual es muy eficiente como agente quelante para ciertos metales de transición. Se ha descubierto que forma complejos con varios metales, como Fe(II), Fe(III), Cu(II), Cd(II), Zn(II), Pb(II), Co(II) y Sn(II).

Los compuestos polifenólicos son muy sensibles a los efectos de los disolventes (sobre todo debido a la presencia de enlaces O-H). Los enlaces de hidrógeno

intermoleculares entre los grupos fenólicos y las moléculas del entorno disminuyen la actividad antioxidante. En consecuencia, la formación de complejos quelatos de quercetina con metales se ve afectada por factores como el pH del medio. Hay un buen porcentaje de formación de complejos quelatos en el intervalo de pH 5.50 a 9.50, siendo 9.50 el valor con el mejor porcentaje (79.9%).

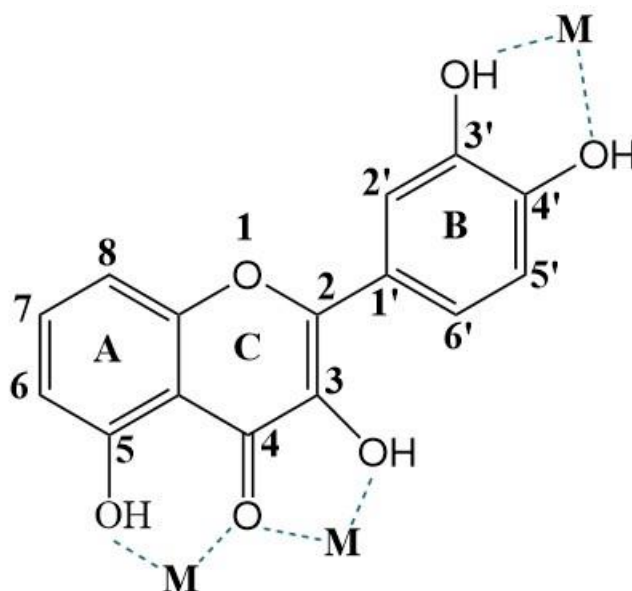


Figura 5. Flavonol como agente quelante. Los sitios de coordinación más comunes son C-OH3 y C=O4, C-OH5 y C=O4 y C-OH3' y C-OH4'. No obstante, la coordinación en los sitios C-OH3 y C=O4 se considera la preferencial debido a que se tienen protones más ácidos en C-OH3, un enlace de hidrógeno intramolecular relativamente más débil de O3-H3...O4 y una tendencia de deslocalización más fuerte del par de electrones libres del oxígeno en C-OH3 gracias a la deslocalización de electrones π en toda la molécula. Adaptado de (8).

Una vez que se lleva a cabo la coordinación con los iones metálicos, se percibe un cambio en el proceso ESIPT (transferencia intramolecular de protones del estado excitado), como en la rigidez de los flavonoles y en las posibles transferencias de carga intramolecular entre los iones metálicos y los flavonoles. Posteriormente, la emisión ceto mejora o se apaga para detectar los iones metálicos. Por ejemplo, la quercetina se ha empleado como biosensor en la detección de Cu^{2+} . Cuando este metal se coordina con parte del flavonol, apaga su fluorescencia (8).

Los complejos de quercetina con metales son muy interesantes, no obstante, algo maravilloso es que pueden emplearse para detectar biomoléculas como la cisteína (Cys) y ATP (adenosín trifosfato). Estudiemos el primer caso.

La Cys contiene un grupo tiol que forma interacciones fuertes y complejos muy estables con distintos iones de metales mono y divalentes (como Li^+ , Na^+ , K^+ , Be^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Hg^{2+} y Cu^{2+}) (20). De esta forma, en el caso de un complejo flavonol- Cu^{2+} , la cisteína puede conjugarse con el Cu^{2+} dando lugar a un complejo más estable, haciendo que el Cu^{2+} se libere del flavonol. La unión de Cu^{2+} con el flavonol apaga la fluorescencia de este último, por lo que su separación genera como resultado la recuperación de dicha fluorescencia (específicamente de la emisión ceto).

Por su lado, el cobre es un nutriente metálico esencial para los seres vivos. A menudo experimenta un ciclo redox entre los estados de oxidación Cu(I) y Cu(II) para cumplir sus funciones fisiológicas. Las propiedades redox del Cu participan en funciones catalíticas para apoyar procesos biológicos como el transporte de oxígeno, el metabolismo, la respiración, el crecimiento y la proliferación (21). El cobre es uno de los cofactores más importantes para las proteínas (22). No obstante, una mala regulación de la actividad redox dependiente del Cu puede provocar una producción preocupante de especies reactivas de oxígeno (ROS), y junto con el estrés oxidativo contribuye al cáncer, enfermedades neurodegenerativas, inflamación y respuesta inmune, así como trastornos genéticos del metabolismo del cobre (21). Entre las enfermedades que puede provocar un exceso de iones de cobre, se encuentran el síndrome de Menkes, la enfermedad de Wilson, la esclerosis lateral amiotrófica familiar, las enfermedades priónicas y la enfermedad de Alzheimer. Asimismo, la exposición a un nivel elevado de cobre puede causar trastornos gastrointestinales y daños hepáticos o renales.

En el área ambiental, el Cu(II) es un contaminante frecuente en aguas residuales. Con el crecimiento industrial, existen más iones de cobre en las industrias eléctrica, electrónica, minera, la industria de galvanoplastia, etc. que se están liberando al medio ambiente. Consecuentemente, nuestra salud, y la de muchos

otros seres vivos, se ve afectada (23). Por lo que la detección de trazas de ese metal es importante en el control de la contaminación y protección de ecosistemas (24).

(25) crearon un sensor fluorescente de nanomicelas biocompatibles Qc-F127, empleando el método sencillo de autoensamblaje con quercetina y Pluronic-F127. El sensor posee una alta sensibilidad y selectividad hacia Cu^{2+} . Asimismo, el sistema Qc-F127-Cu(II) puede emplearse para detectar cisteína de manera muy selectiva y altamente sensible, con el cual se han obtenido imágenes de Cys en células. La L-cisteína (L-Cys) es un componente esencial en diferentes proteínas y enzimas con un papel fundamental en el mantenimiento homeostático redox fisiológico (26). Los niveles anormales de L-Cys en los sistemas biológicos se encuentran relacionados con distintas enfermedades humanas, tales como el crecimiento lento, despigmentación del cabello y enfermedades cardiovasculares (27).

El fundamento del biosensor de (25) es aprovechar los cambios en la intensidad de la fluorescencia de la quercetina al formar complejos con iones metálicos. No obstante, los autores señalan que una desventaja del flavonol es su escasa solubilidad en agua y su débil intensidad de fluorescencia verde en solución acuosa. La solución propuesta por el grupo de investigadores fue emplear moléculas de polímero anfifílico capaces de autoensamblarse para formar una nanopartícula de polímero como un contenedor para sustancias hidrófobas, lo que amplía sustancialmente el intervalo de aplicaciones de materiales luminiscentes hidrófobos. Pluronic-F127 es un tipo de polímero anfifílico que puede formar una nanomicela (aproximadamente entre 30 y 50 nm) espontáneamente cuando la concentración es igual o superior a la concentración micelar crítica. Su uso en el biosensor mejoró la intensidad y estabilidad de la fluorescencia.

Al probar Qc-F127 como herramienta de detección de Cu^{2+} , se determinó que es altamente específica y que la intensidad de fluorescencia es proporcional a las concentraciones de iones de cobre (la intensidad fue inversamente proporcional a la concentración del metal). Además, el sistema Qc-F127 fue probado en muestras

de ríos y lagos, obteniendo resultados precisos. De esta forma, se concluye que el sistema puede emplearse en la detección cuantitativa de cobre.

Posteriormente, se probó el sistema Qc-F127-Cu(II) en la detección de cisteína. La Cys contiene azufre, un componente funcional indispensable de las proteínas y enzimas con un papel muy importante en los sistemas biológicos gracias a su amplia distribución en las células vivas y cuya detección de Cys es importante. El procedimiento consiste en el momento en que el sistema Qc-F127 se apaga gradualmente luego de agregar Cu^{2+} , pero la intensidad de fluorescencia de Qc-F127-Cu(II) se restablece gradualmente al adicionar la Cys.

Se estudió la determinación cuantitativa de Cys empleando Qc-F127-Cu(II), se obtuvo que la presencia de otros aminoácidos tiene poca interferencia y que la intensidad de fluorescencia es proporcional a las concentraciones del aminoácido de interés.

El segundo caso es la detección de Zn(II) y ATP con un biosensor compuesto por puntos de carbono (CD), quercetina (QUE) y iones de fluoruro (F^-).

El Zn(II) posee un papel importante en la proliferación y diferenciación celular, la expresión genética, la transducción de señales y la neurotransmisión (28,29). No obstante, un exceso de Zn(II) puede provocar trastornos como diabetes, isquemia cerebral, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, cáncer y degeneración neuronal (30).

El ATP es un nucleótido es reconocido como la principal fuente de energía utilizable en las células. El ATP almacena y transfiere energía necesaria para procesos como contracción muscular, transporte activo de iones, síntesis de macromoléculas y propagación de impulsos nerviosos. Asimismo, actúa como una molécula señalizadora, principalmente en la comunicación entre células y en la regulación de funciones como la inflamación, la coagulación y la proliferación celular (31). Un nivel bajo de ATP puede indicar defectos en genes mitocondriales o nucleares que codifican subunidades de la ATP sintasa, generando enfermedades neuromusculares, neurodegenerativas (como Alzheimer (32)) y multisistémicas, asociadas con debilidad muscular, cardiomiopatía, retraso mental

y acidosis láctica (33,34). Mientras que un nivel alto es poco común, pero puede tener efectos en la función cerebral (35).

De esta forma, la detección de Zn(II) y ATP es importante. (36) sintetizaron puntos de carbono (CD) que emiten fluorescencia roja (610 nm). Luego de una excitación de 440 nm, la quercetina (QUE) sola produjo ligeros efectos sobre la fluorescencia roja de los CD. Al añadir Zn(II) se el complejo QUE–Zn(II) se forma rápidamente. Dicho complejo absorbe luz de excitación y emite fluorescencia verde brillante a 480 nm. Al mismo tiempo, la fluorescencia roja de los CD se extingue debido al efecto de filtro interno, de manera proporcional a la concentración de Zn(II). Cabe mencionar que el Al(III) muestra el mismo comportamiento que Zn(II), pero al añadir iones de fluoruro (F^-) forman complejos más estables con Al(III) que el complejo QUE–Al(III), pero presentan un efecto insignificante sobre el complejo QUE–Zn(II). Por lo tanto, la interferencia del Al(III) sobre el Zn(II) puede arreglarse de esta manera.

El sistema CD–QUE– F^- para la detección de Zn (II) posee un rango de detección de 0.14–30 μM y un límite de detección de 0.14 μM .

Por otro lado, el adenosín trifosfato (ATP) presenta una mayor afinidad por el Zn(II) que la QUE. Como consecuencia, el complejo CD–QUE– F^- se reestablece, mostrando nuevamente una fluorescencia roja a 610 nm de manera proporcional a la concentración de ATP. Este biosensor de ATP presenta un rango de detección de 0.55–35 μM y un límite de detección de 0.55 μM .

Estos biosensores fueron empleados en la detección cuantitativa de Zn(II) y ATP en muestras de agua de grifo y de lago con recuperaciones satisfactorias. Sin embargo, su aplicación *in vivo* sigue siendo un reto debido a la coexistencia de Zn (II) y ATP.

Aunque los biosensores con quercetina antes mencionados son bastante interesantes, también existen varias aplicaciones en el campo de bioimagen y teranóstica.

Se ha descubierto que los compuestos que presentan emisión inducida por agregación (*Aggregation-induced emission*, AIE) y transferencia intramolecular de protones (ESIPT, este proceso en detalle será abordado en la sección 3.8. del

presente trabajo de tesis) presentan características excelentes en bioimagen. Las razones son debido a que estas moléculas muestran una alta eficiencia cuántica en su estado agregado y una baja señal de fondo en solución acuosa debido a su gran desplazamiento de Stokes.

La quercetina exhibe una emisión dual ceto-enol. Generalmente, la emisión ceto se atribuye a la AIE. Por lo tanto, se denomina fluorescencia AIE. (37) obtuvieron cristales de quercetina de tamaño >200 nm y con una distancia de 0.2 nm entre ellos, por lo que se favoreció la fluorescencia AIE.

La fluorescencia AIE disminuye a medida que la temperatura pasa de 0 a 37 °C y casi desaparece cuando se alcanza un valor máximo de 60 °C, mientras que la fluorescencia del enol aumenta drásticamente a dicho valor (ya que los cristales comienzan a descomponerse). La fluorescencia AIE no muestra una disminución después de la radiación UV durante 100 minutos, por lo que es fotoestable y brinda la posibilidad de distintas aplicaciones en las cuales se pueden usar las moléculas de quercetina.

Para aplicaciones de bioimagen, se necesitó preparar cristales de quercetina a nanoescala (aproximadamente 5 nm) con la finalidad de que estos presenten una absorción celular eficaz. Los nanocristales de quercetina exhiben una excelente biocompatibilidad. Se cultivaron fibroblastos L929 durante 24 horas a 37 °C en presencia de concentraciones crecientes de nanocristales de quercetina. La viabilidad fue >95% incluso a una concentración de 800 µg mL⁻¹. Al igual que las condiciones anteriormente mencionadas, también se deben considerarse los distintos entornos de pH en los sistemas biológicos. La fluorescencia AIE de los nanocristales es promovida por un pH ácido, mientras que en entornos básicos no mostraron este tipo de fluorescencia.

(37) señalaron que los nanocristales de quercetina pueden emplearse como fluorescente especial para membranas celulares; no obstante, (38) indicaron que los nanocristales de quercetina agregados muestran una buena retención intracelular, pudiendo realizar bioimagen a largo plazo (aprox. 8 horas). Asimismo, se realizó un cierto experimento de bioimagen *in vivo*, inyectando nanocristales de quercetina en ratones. Se detectaron señales de fluorescencia en la cabeza 10

minutos después de la inyección, en la parte media 30 y 60 minutos postinyección y finalmente en el extremo posterior de los ratones 2 horas después de la inyección proporcionada (Figura 6a). Lo anterior indica que los nanocristales circulaban por el cuerpo. Durante el experimento, los corazones, pulmones y riñones de los ratones no interrumpieron su función. Al sacrificar a los ratones para estudiar la distribución de los nanocristales, se observó fluorescencia en los órganos vitales como en el hígado, estómago e intestino, por lo que estos órganos absorbieron el compuesto (Figura 6b). Se observó que la mayoría de los nanocristales se agregaron en el intestino grueso.

Si se une la característica de AIE con las actividades farmacológicas de los flavonoides (como es el caso de la molécula de quercetina), se abre una vasta gama de posibles aplicaciones clínicas. Por ejemplo, en células tumorales, se consigue una herramienta para obtener imágenes *in situ* e inhibición tumoral.

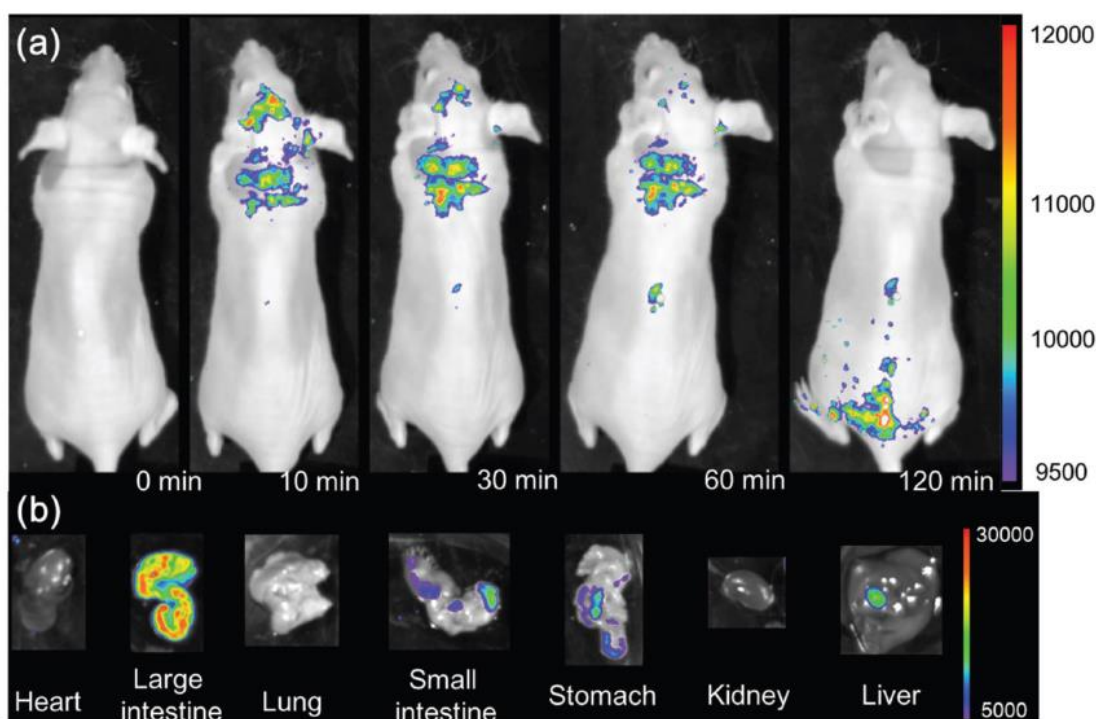


Figura 6. Imágenes de fluorescencia in vivo en ratones tras la inyección intravenosa de nanocristales de quercetina. Se administraron dosis de 3 nmol por ratón a través de una vena lateral de la cola. a) imágenes de fluorescencia a los 0, 10, 30, 60 y 120 minutos. b) Imágenes de fluorescencia de órganos disecados de un ratón. Para todas las imágenes, la longitud de onda de excitación fue de 420 nm, y la emisión de fluorescencia se midió a 600 nm. Tomado de (37).

La vía del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) es una diana bastante atractiva en el tratamiento del cáncer. Li et al. (2018), crearon un sistema de quercetina con puente disulfuro (QSSQ) y un inhibidor del receptor EGFR, llamado erlotinib. Se ha reportado que este nanomedicamento es estable en un entorno fisiológico, hasta que se encuentra con glutatión sobreexpresado en el tejido tumoral. El glutatión sobreexpresado rompe el puente disulfuro y libera a los fármacos (quercetina y erlotinib). El erlotinib bloquea la tirosina quinasa del EGFR, mientras la quercetina genera una fuerte fluorescencia AIE, brindando imágenes de la eficiente liberación del fármaco y actuando como otro fármaco que inhibe la señalización descendente del receptor EFGR.

Finalmente, los autores señalan que con el nanomedicamento es posible obtener imágenes de células tumorales con un seguimiento a largo plazo durante 24 horas. Además, posee una notable eficacia antitumoral, probada en ratones portadores de xenoinjertos tumorales.

Estas investigaciones exhiben el gran alcance que podrían tener los biosensores de quercetina y la importancia de su estudio.

CAPITULO 2

2. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Justificación

Los flavonoides han estado presentes en la dieta del hombre durante mucho tiempo. Entre ellos destaca la quercetina (3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona), gracias a su larga lista de beneficios médicos, y propiedades como la biocompatibilidad y fluorescencia.

La fluorescencia se ha convertido en uno de los métodos de detección favoritos. No obstante, pocos sensores fluorescentes provienen de aislados fitoquímicos. Así, la quercetina es una gran opción, ya que ha sido empleada exitosamente como biosensor fluorescente en la detección de diferentes elementos, entre ellos iones como el Cu(II).

Sin embargo, el estudio de las propiedades de absorción y emisión de esta molécula se complica debido a la alta movilidad que presenta y las distintas condiciones experimentales. Se requiere una descripción de las propiedades estructurales, electrónicas y ópticas de la molécula de quercetina, sus aniones y quelatos para poseer un mayor entendimiento de su absorción y emisión de luz a través de su comportamiento en espectroscopia UV/Vis, crucial para el diseño de biosensores fluorescentes basados en estas moléculas.

Los cálculos de química computacional son un enfoque adecuado para este tipo de estudio, incrementando la eficiencia y reduciendo el tiempo, los recursos, costos y desechos que demanda esta área de investigación.

2.2. Hipótesis

Será posible calcular la estructura óptima de la quercetina, aniones y quelatos y sus índices de reactividad global empleando la teoría del funcional de la densidad (DFT), así como sus espectros de absorción y emisión usando la

teoría del funcional de la densidad dependiente del tiempo (TD-DFT), para describir sus características como biosensor fluorescente.

2.3. Objetivos

2.3.1. Objetivo general

Calcular tanto la estructura más estable del estado fundamental como el espectro de absorción y de emisión del flavonoide quercetina, algunos de sus aniones y quelatos con la finalidad de proponerlo como un biosensor fluorescente.

2.3.2. Objetivos particulares

1. Calcular la estructura más estable del estado fundamental de la quercetina, sus aniones y sus quelatos con Cu(II).
2. Calcular los orbitales frontera, potencial molecular electrostático y descriptores de la reactividad química global de la quercetina y sus quelatos.
3. Calcular y realizar un análisis del espectro de absorción del primer estado excitado de la quercetina, sus aniones y quelatos.
4. Calcular la estructura molecular del primer estado excitado y el espectro de emisión de la quercetina y sus aniones.

CAPÍTULO 3

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Ecuación de Schrödinger

Es posible definir a la mecánica cuántica como la descripción matemática correcta del comportamiento de los electrones y, por ende, de la química. Así pues, juega un papel indispensable en esta ciencia. En la teoría, la química cuántica es capaz de predecir cualquier propiedad de un átomo individual o de una molécula de manera exacta. No obstante, en la práctica las ecuaciones de mecánica cuántica únicamente se han resuelto con exactitud para sistemas con un solo electrón. Actualmente, se cuenta con un gran número de métodos cuánticos que han sido desarrollados para realizar aproximaciones de la solución para sistemas de múltiples electrones. Dichos métodos pueden ser útiles, sin embargo, el papel del investigador es determinar cuándo una aproximación es válida y qué probabilidad existe de que los resultados sean precisos (39).

Schrödinger y Heisenberg fueron los científicos brillantes que idearon dos formulaciones equivalentes a la mecánica cuántica. Es posible considerar la mecánica cuántica como el conjunto de reglas y ecuaciones empleadas para calcular las propiedades de moléculas, átomos y partículas subatómicas (40). En este trabajo, únicamente se abordará la formulación de Schrödinger debido a que es la base de casi todos los métodos de química computacional.

La famosa ecuación de Schrödinger es la siguiente:

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad (1)$$

donde:

$\hat{H}$ = Operador Hamiltoniano.

Ψ = Función de onda.

E = Energía para el estado estacionario descrito por la función de onda.

Una ecuación de esta forma es nombrada como ecuación propia (*eigenvalue*). Entonces, Ψ se denomina función propia (*eigenfunction*) y E es conocido como un valor propio (*eigenvalue*). El operador Hamiltoniano ($\hat{H}$) se puede expresar como una matriz, mientras que la función propia (Ψ) puede ser un vector, pero no siempre es así.

La función de onda (Ψ) es una función de las posiciones del electrón y del núcleo (39). Describe al electrón como una onda, por lo tanto, los gráficos que muestran la variación de $|\Psi|^2$ con coordenadas espaciales señalan la variación de la densidad de electrones en el espacio debida a un electrón con números cuánticos n', l' y m' . En otras palabras, el cuadrado de la función de onda $|\Psi|^2$ indica la probabilidad de que los electrones se encuentren en determinados lugares, pero no puede predecir en dónde se sitúan de manera exacta (40).

En este punto es conveniente introducir el término “orbital”. (40) lo define como una región del espacio ocupada por un electrón con un conjunto particular de números cuánticos, o bien como una función Ψ que describe la energía y la forma del dominio espacial de un electrón. En el caso de un átomo o molécula con más de un electrón, la asignación de electrones a orbitales en realidad es una aproximación de gran utilidad, dado que los orbitales se derivan de la solución de la ecuación de Schrödinger para un átomo de hidrógeno.

En cuanto al operador Hamiltoniano ($\hat{H}$) se tiene la forma matemática general siguiente:

$$\hat{H} = - \sum_i^{\text{partículas}} \frac{\nabla_i^2}{2m_i} + \sum_{i < j}^{\text{partículas}} \sum \frac{q_i q_j}{r_{ij}} \quad (2)$$

$$\nabla_i^2 = \frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_i^2} \quad (3)$$

donde:

∇_i^2 = Operador Laplaciano que actúa sobre una partícula i .

Las partículas son electrones y núcleos.

m_i = Masa de la partícula i .

$q_i =$ Carga de la partícula i .

$r_{ij} =$ Distancia entre las partículas.

En el operador Hamiltoniano el primer término equivale a la energía cinética de la partícula dentro de una formulación ondulatoria, mientras que el segundo término representa la energía gracias a la atracción o repulsión Coulómbica de las partículas. Dicha formulación es la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo y no relativista. Por lo tanto, si se considera la relatividad o las interacciones con la radiación y los campos electromagnéticos, pueden aparecer términos adicionales en el operador.

El operador Hamiltoniano que se mostró previamente no suele usarse directamente en los programas de cálculo de estructura electrónica. En realidad, el problema se simplifica al separar los movimientos de los electrones y el núcleo. Lo anterior se conoce como la aproximación de Born-Oppenheimer.

La aproximación Born-Oppenheimer es una de las aproximaciones más utilizadas para simplificar la solución de la ecuación de Schrödinger. El fundamento de esta aproximación es la separación de los movimientos nucleares y electrónicos, ya que la masa de un núcleo suele ser miles de veces mayor que la de un electrón. Por lo tanto, los núcleos se mueven muy lento con respecto a los electrones, quienes reaccionan instantáneamente a los cambios en la posición nuclear. De esta forma, la distribución de electrones en una molécula depende de la posición de los núcleos y no de su velocidad. En otras palabras, los núcleos parecen fijos a los electrones, por lo que el movimiento electrónico puede describirse como si se realizara en un campo de núcleos fijos.

El Hamiltoniano completo para el sistema molecular puede escribirse como:

$$H = T^{elec}(\vec{r}) + T^{nucl}(\vec{R}) + V^{nucl-elec}(\vec{R}, \vec{r}) + V^{elec}(\vec{r}) + V^{nucl}(\vec{R}) \quad (4)$$

donde:

$\vec{r}_i =$ Posiciones de los electrones.

$\vec{R}_I =$ Posiciones de los núcleos.

$T^{elec}(\vec{r}) =$ Energía cinética de los electrones.

$T^{nucl}(\vec{R}) = \text{Energía cinética de los núcleos.}$

$V^{nucl-elec}(\vec{R}, \vec{r}) = \text{Interacción electrostática entre los núcleos y los electrones.}$

$V^{elec}(\vec{r}) = \text{Interacción electrostática entre los electrones.}$

$V^{nucl}(\vec{R}) = \text{Interacción electrostática entre los núcleos.}$

La aproximación Born-Oppenheimer permite resolver las dos partes del problema por separado, entonces es posible construir un Hamiltoniano electrónico que desprecie el término de energía cinética para los núcleos:

$$H^{elec} = -\frac{1}{2} \sum_i^{electrones} \left(\frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_i^2} \right) - \sum_i^{electrones} \sum_I^{núcleo} \left(\frac{Z_I}{|\vec{R}_I - \vec{r}_i|} \right) \\ + \sum_i^{electrones} \sum_{j < i} \left(\frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|} \right) + \sum_I^{núcleo} \sum_{J < I} \left(\frac{Z_I Z_J}{|\vec{R}_I - \vec{R}_J|} \right) \quad (5)$$

donde:

- El primer término corresponde a la energía cinética de los electrones.
- El segundo término corresponde a la interacción electrostática entre núcleos y electrones.
- El tercer término corresponde a la interacción electrostática entre los electrones.
- El cuarto término corresponde a la interacción electrostática entre los núcleos.

Así, este Hamiltoniano se emplea en la ecuación de Schrödinger que describe el movimiento de los electrones en el campo de núcleos fijos:

$$H^{elec} \Psi^{elec}(\vec{r}, \vec{R}) = E^{eff}(\vec{R}) \Psi^{elec}(\vec{r}, \vec{R}) \quad (6)$$

donde:

$H^{elec} = \text{Hamiltoniano electrónico}$

$\Psi^{elec} = \text{Función de onda electrónica}$

$E^{eff}(\vec{R}) = \text{Energía efectiva del sistema electrónico para posiciones fijas de los núcleos.}$

Cuando se resuelve esta ecuación para la función de onda electrónica se obtiene la función de potencial nuclear efectivo E^{eff} . Depende de las coordenadas nucleares y describe la superficie de energía potencial para el sistema. E^{eff} se utiliza como el potencial efectivo para el Hamiltoniano nuclear:

$$H^{nucl} = T^{nucl}(\vec{R}) + E^{eff}(\vec{R}) \quad (7)$$

donde:

H^{nucl} = Hamiltoniano nuclear.

$T^{nucl}(\vec{R})$ = Energía cinética de los núcleos.

$E^{eff}(\vec{R})$ = Energía efectiva del sistema electrónico para posiciones fijas de los núcleos.

Este Hamiltoniano se emplea en la ecuación de Schrödinger para el movimiento nuclear. Describe los estados vibracional, rotacional y traslacional de los núcleos. Para predecir los espectros vibracionales de las moléculas, es necesario resolver la ecuación de Schrödinger nuclear (al menos de manera aproximada).

Cuando se determina una función de onda es posible determinar cualquier propiedad de una molécula. Para esto se toma el valor esperado del operador para una propiedad, indicado con paréntesis angulados. Por ejemplo, la energía es el valor esperado del operador Hamiltoniano dado por:

$$\langle E \rangle = \int \Psi^* \hat{H} \Psi \quad (8)$$

La solución exacta es la misma que la energía predicha por la ecuación de Schrödinger. Como consecuencia, una función de onda aproximada nos brinda una aproximación de la energía, la cual es la base de las distintas técnicas de química computacional. Dicha energía se conoce como “energía variacional” porque siempre es mayor o igual a la energía exacta. Dicho lo anterior, si se desea obtener diferentes propiedades observables (como el momento dipolar o la

densidad de energía) entonces se deben sustituir diferentes operadores. Cabe mencionar que el operador Hamiltoniano únicamente se utiliza para obtener la energía en la mayoría de los métodos computacionales, por lo que las propiedades distintas a la energía no se consideran variacionales (39).

3.2. Teoría del funcional de la densidad (DFT)

La modelización computacional de materiales se basa en distintas técnicas teóricas o computacionales. La DFT (*Density functional theory*) es una técnica muy eficaz y se basa en resolver versiones aproximadas de la ecuación de Schrödinger de manera directa (41).

El método DFT está basado en los teoremas de Hohenberg-Kohn. Estos teoremas dictan que, en el caso de las moléculas en estado fundamental no degenerado, todas las propiedades electrónicas (tales como la energía molecular y la función de onda) están determinadas por la densidad electrónica (42). Por lo tanto, los métodos DFT determinan las propiedades a partir de cálculos basados en la densidad electrónica del sistema molecular y no en una función de onda (43).

Los teoremas de Hohenberg-Kohn nos indican cómo construir su funcional (41). Pero, ¿qué es un funcional? Un funcional $F[f]$ se define como una regla que asocia un número a cada función f , en otras palabras, un funcional es una función de una función (39). La forma exacta aún se desconoce, pero se han obtenido aproximaciones muy útiles. Un ejemplo de aproximación de dicho funcional es el siguiente:

$$F[n] = \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r})V_n(\mathbf{r}) + \langle \psi[n] | \hat{T} + \hat{W} | \psi[n] \rangle \quad (9)$$

En esta expresión, el primer término depende de la densidad (n). Asimismo, se introducen otros dos términos que consideran la energía cinética y la energía de Coulomb en donde la dependencia de la densidad es solo implícita (41).

No obstante, los teoremas de Hohenberg-Kohn se aplicaban únicamente para determinar la energía electrónica del estado fundamental de una molécula.

Entonces, Kohn y Sham desarrollaron un método similar en estructura al método HF para darle una aplicación práctica a los teoremas de Hohenberg-Kohn. En el método de Kohn y Sham, la densidad electrónica se expresa como una combinación lineal de funciones de base similares en forma matemática a los orbitales HF. Dichas funciones aportan un determinante, denominado orbitales de Kohn-Sham. La densidad de electrones de este determinante se usa para calcular la energía. Asimismo, se emplea un funcional de densidad para obtener la energía de la densidad electrónica. El funcional de densidad electrónica exacto es desconocido, en consecuencia, existe un gran número de distintos funcionales con diferentes ventajas y desventajas computacionales (39). Así pues, (41) indica que Kohn y Sham tomaron como base los teoremas de Hohenberg-Kohn para tener el funcional de densidad electrónica que se expone a continuación:

$$E = F[n] \quad (10)$$

$$= \int d\mathbf{r} n(\mathbf{r})V_n(\mathbf{r}) - \sum_i \int d\mathbf{r} \phi_i^*(\mathbf{r}) \frac{\nabla^2}{2} \phi_i(\mathbf{r}) + \frac{1}{2} \int \int d\mathbf{r} d\mathbf{r}' \frac{n(\mathbf{r})n(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} + E_{xc}[n]$$

donde:

- Los primeros tres términos corresponden a la energía total aproximada como si los electrones fueran independientes.
- El primer término corresponde al potencial exterior.
- El segundo término corresponde a la energía cinética.
- El tercer término corresponde a la energía de Hartree-Fock.
- El cuarto término (E_{xc}) corresponde a la energía de intercambio y correlación.

La ecuación descompone el funcional de la densidad (F) en la suma de contribuciones conocidas tomadas de la aproximación de electrones independientes, y una contribución desconocida, que es la energía de intercambio y correlación. En la práctica, en realidad se reúne todo lo que se desconoce en un solo lugar, con la esperanza de que dicha parte desconocida no sea demasiado grande. Si se conociera la energía de intercambio y correlación ($E_{CN}[n]$) se podría calcular la energía total del sistema en su estado fundamental de manera exacta, $E = F[n]$, empleando la densidad electrónica. No obstante, la densidad en estado

fundamental (n_0) no es precisamente la función que minimiza la energía total $E = F[n]$. Lo anterior se denomina “principio variacional de Hohenberg-Kohn” y puede expresarse de la siguiente manera:

$$\left. \frac{\delta F[n]}{\delta n} \right|_{n_0} = 0 \quad (11)$$

Si se afirma que la derivada del funcional es 0, esto conduce a una ecuación para las funciones de onda ($\phi_i(r)$), que puede utilizarse para construir la densidad. Entonces el principio variacional de Hohenberg-Kohn puede expresarse como:

$$\left[-\frac{1}{2} \nabla^2 + V_n(\mathbf{r}) + V_H(\mathbf{r}) + V_{XC}(\mathbf{r}) \right] \phi_i(\mathbf{r}) = \varepsilon_i \phi_i(\mathbf{r}) \quad (12)$$

donde el potencial nuclear externo (V_n), el potencial de Hartree (V_H), y la energía cinética ($-\frac{1}{2} \nabla^2$) son idénticos a los de la aproximación del campo medio (empleada para simplificar el tratamiento de sistemas de muchas partículas). El término V_{XC} se denomina potencial de intercambio y correlación, y viene dado por:

$$V_{XC}(\mathbf{r}) = \left. \frac{\delta E_{XC}[n]}{\delta n} \right|_{n(\mathbf{r})} \quad (13)$$

Estas ecuaciones se denominan ecuaciones de Kohn-Sham y son la base de la teoría de Kohn-Sham. Juntas, constituyen una herramienta muy poderosa en el cálculo de muchas propiedades de materiales partiendo de los primeros principios de la mecánica cuántica.

Se han construido varias funciones de intercambio y correlación precisas ($E_{XC}[n]$) para resolver las ecuaciones de Kohn-Sham. Por lo que se cuenta con varias funciones aproximadas. El funcional de aproximación de densidad local de la teoría del funcional de la densidad es el funcional más simple (41).

La principal ventaja de este método es su relación costo computacional/rendimiento en comparación con otros métodos que están basados en la función de onda incluyendo la correlación electrónica. Por lo tanto, es posible usarlo para estudiar sistemas moleculares grandes con suficiente precisión (44). (45) indicó que los métodos DFT pueden emplearse para sistemas que incluyen cientos de átomos, mientras que (46) señaló que las simulaciones DFT y otros métodos *ab initio* generalmente se limitan a un máximo de aproximadamente 200 átomos. El inconveniente que presentan es que, a menudo, no pueden considerar los efectos de correlación de electrones, por lo que necesitan la adición de parámetros empíricos específicos para incluir dichas contribuciones y así representar el comportamiento molecular de un sistema de manera más precisa (45). Además, (40) indica que el principal problema de la DFT es encontrar “buenos” funcionales.

Entre las propiedades moleculares que pueden calcularse con buena precisión empleando DFT se encuentran las estructuras de equilibrio, propiedades vibracionales y espectros vibracionales, energías de enlace de moléculas y energías de cohesión de sólidos, potencial de ionización y afinidad electrónica de las moléculas, estructuras de banda de metales y semiconductores.

No obstante, entre las propiedades que no pueden calcularse de forma fiable con la DFT se encuentran las bandas electrónicas de semiconductores y aislantes, propiedades magnéticas de los aislantes de Mott-Hubbard y enlace y estructura de la materia dispersa (como proteínas, donde las fuerzas de van der Waals son importantes). En conclusión, la DFT presenta limitaciones. A pesar de esto, incluso en los casos en donde no es el mejor método, las funciones de Kohn-Sham son un punto de partida útil para enfoques más refinados (y más lentos) (41).

3.3. Conjuntos de funciones de base

Los conjuntos de funciones de base, como su nombre lo indica, son un conjunto de funciones matemáticas cuyas combinaciones lineales se emplean para describir la forma de los orbitales de un átomo. Estos conjuntos de funciones se utilizan en distintos métodos de la química cuántica (incluyendo el método DFT)

con la finalidad de calcular las propiedades de las moléculas. El tipo de cálculo que se desee realizar y el conjunto de base seleccionado para lograrlo son los dos factores que más influyen en la precisión de los resultados (39).

Generalmente, las funciones se centran en los núcleos atómicos (Figura 7).

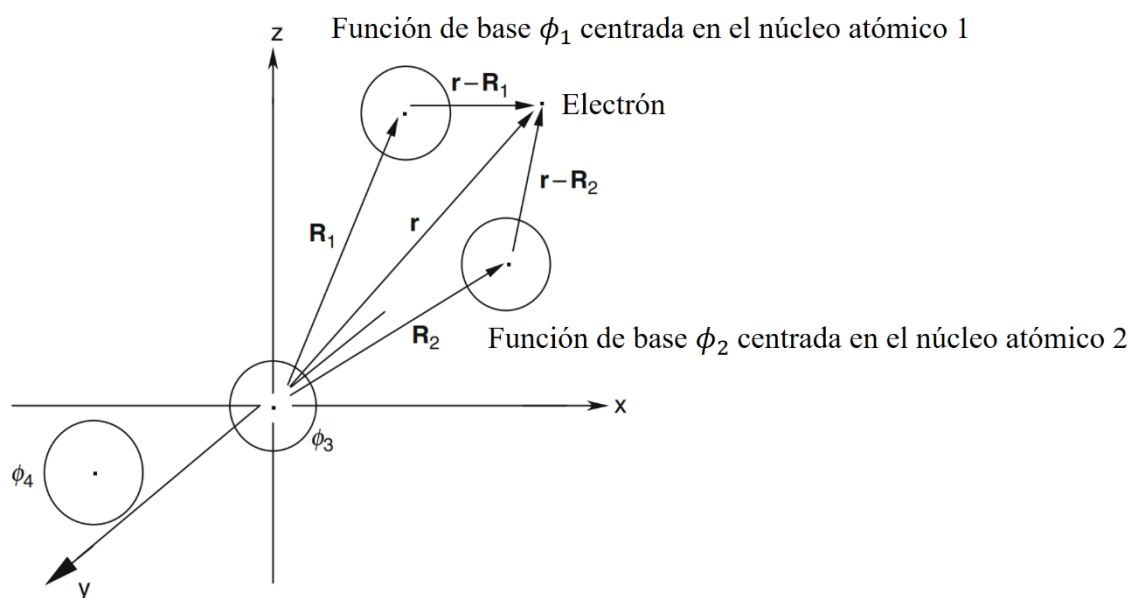


Figura 7. Esquema en donde se representa una molécula de cuatro átomos en un sistema de coordenadas. Únicamente se muestra uno de los numerosos electrones posibles. Las funciones de base (ϕ) son funciones de un electrón, generalmente centradas en núcleos atómicos. R_1 , R_2 , etc., son vectores que representan coordenadas x,y,z de los núcleos, mientras que r es un vector que representa las coordenadas x,y,z de un electrón. Las distancias del electrón a los centros de las distintas funciones de base son los valores absolutos de las distintas diferencias vectoriales: $|r - R_1|$, $|r - R_2|$, etc. En una geometría molecular particular, R_1 , R_2 , etc. Son fijos y se introducen las funciones ϕ_1 , ϕ_2 , etc., solo para denotar dónde están centradas las ϕ , r es la variable en dichas funciones, por lo tanto $\phi(x,y,z)$. Es posible centrar varias funciones de base en cada núcleo. Adaptado de (40).

En 1951, Roothaan y Hall indicaron que es posible representar a los orbitales moleculares como combinaciones lineales de funciones base. En el método de Roothaan, una expansión de la función de base de un orbital molecular se escribe:

$$\begin{aligned}\psi_1 &= c_{11}\phi_1 + c_{21}\phi_2 + c_{31}\phi_3 + \cdots + c_{m1}\phi_m \\ \psi_2 &= c_{12}\phi_1 + c_{22}\phi_2 + c_{32}\phi_3 + \cdots + c_{m2}\phi_m \\ \psi_3 &= c_{13}\phi_1 + c_{23}\phi_2 + c_{33}\phi_3 + \cdots + c_{m3}\phi_m\end{aligned}$$

$$\psi_m = c_{1m}\phi_1 + c_{2m}\phi_2 + c_{3m}\phi_3 + \cdots + c_{mm}\phi_m \quad (14)$$

donde:

ψ = *Función de onda del estado fundamental*

c = *Coeficientes de expansión de los orbitales moleculares*

ϕ = *Función de base (orbital molecular)*

La aproximación de los orbitales moleculares como combinaciones lineales de funciones base se denomina LCAO o combinación lineal de orbitales atómicos. No obstante, las funciones no son necesariamente orbitales atómicos convencionales, sino que pueden ser cualquier conjunto de funciones convenientes de manipular y que en combinación aporten representaciones útiles de orbitales moleculares. De esta forma, las funciones base describen la distribución de electrones alrededor de un átomo y la combinación de éstas brinda la distribución de electrones en la molécula. Existen distintas formas de representar lo anterior, pese a ello, las funciones de Slater y Gaussianas actualmente son las más utilizadas. Las funciones de Slater se usan en cálculos semiempíricos, mientras que las funciones Gaussianas se emplean en los cálculos *ab initio*.

Una sola función gaussiana (nombrada STO-1G) es una mala aproximación a la descripción casi ideal de una función de onda atómica que se obtiene con una función de Slater. En consecuencia, se trabaja con varias gaussianas para aproximar una función de Slater. Un ejemplo es la función base STO-3G, que es un orbital tipo Slater aproximado por tres gaussianas, el cual brinda resultados muy próximos a los que se obtendrían con una función de Slater. STO-3G es la función base más pequeña utilizada en los cálculos *ab initio* en los programas de estructura electrónica, presentando una gran relación velocidad/precisión en comparación con dos y cuatro gaussianos o más.

STO-3G fue un avance importante en la química computacional, no obstante, entre sus deficiencias se encuentra que da geometrías y energías significativamente menos precisas que la base 3-21G, por lo que se ha sugerido

abandonar esta base. A pesar de lo anterior, la base STO-3G complementada con cinco funciones d o de polarización (base STO-3G*) da resultados comparables a los del conjunto de bases 3-21G (40).

Las funciones de polarización permiten que la distribución de electrones se polarice, es decir, que se desplace a lo largo de una dirección particular. De este modo, una función base de polarización puede emplearse para desplazar a otra en una dirección determinada. Al minimizar la energía de un sistema, el programa ajusta las contribuciones de las dos funciones para desplazar la densidad de electrones donde sea necesario con el fin de obtener la energía mínima. Este tipo de funciones suelen ser utilizadas en cálculos que incluyen átomos pesados (en química computacional los átomos que no son de hidrógeno o helio son átomos pesados), sin embargo, también pueden añadirse en cálculos con hidrógeno y helio.

Respecto a 6-31G*, consiste en un conjunto de base de valencia desdoblada (*split valence*) (empleadas para describir los orbitales de valencia de los átomos en una molécula) dividido con funciones de polarización. El número seis hace referencia a que los orbitales del núcleo están representados por una función base, y cada función base se compone de seis gaussianos. De la misma forma, el treinta y uno hace referencia a que la capa de valencia de cada átomo se divide en una parte interna compuesta por tres gaussianas y una parte externa compuesta por una gaussiana. En esta base, las funciones de polarización (*) se aplican en “átomos pesados”. Pese a ello, en algunos casos es útil tener también funciones de polarización en los hidrógenos (como enlaces de hidrógeno o formación de interacciones no-covalentes) y por ese motivo se creó la base 6-31G** (o 6-31(d,p)). La diferencia entre 6-31G* y 6-31G** radica en que, en la primera, cada H y He tienen asignadas dos funciones mientras que en la segunda cuentan con cinco.

La 6-31G* es un conjunto de base de tamaño moderado, y es uno de los preferidos en la química computacional, dado que calcula buenas geometrías y energías relativas razonables.

También es importante considerar a las funciones difusas. Las funciones difusas son aquellas que se emplean para simular el comportamiento de los electrones que no están relativamente ligados al núcleo. Mientras que los electrones cercanos al núcleo y los que participan en enlaces covalentes están relativamente ligados a dicho núcleo. Los electrones con una mayor distancia al núcleo se encuentran relativamente poco ligados. Este último tipo de electrones se presentan en moléculas con heteroátomos, en aniones y en moléculas electrónicamente excitadas. La idea de las funciones difusas es generar una densidad electrónica significativa a distancias relativamente grandes desde el núcleo. Cada función difusa se compone de una gaussiana con un valor modificado para cada orbital atómico de valencia de átomos pesados. Para añadir funciones difusas al hidrógeno y al helio, el conjunto de bases se indica con ++, por ejemplo, se tiene la base 6-31++G.

Previamente, se mencionó a 6-31G*, no obstante, si se le añaden funciones difusas se tienen las bases 6-31+G* (solo para átomos pesados) y 6-31++G* (para átomos pesados, e hidrógeno y helio) y las bases se vuelven grandes (ya que implican un gran número de gaussianas).

3.4. Índices de reactividad química global

Los cálculos químicos cuánticos poseen la capacidad de proporcionar predicciones cuantitativas sobre el comportamiento de los compuestos orgánicos, tales como su reactividad química o sus propiedades fisicoquímicas (47). Por lo tanto, pueden ser de gran ayuda al estudiar compuestos como los flavonoides.

Los índices de reactividad química global son parámetros muy útiles para comprender la reactividad, estabilidad y las interacciones moleculares, así como las propiedades eléctricas y ópticas de los compuestos.

Existen distintos indicadores químicos cuánticos, entre los cuales se encuentran la dureza química (η), la blandura global (σ), el potencial químico (μ), la electrofilicidad global (ω) y electronegatividad (χ) (48).

La dureza (η), mide la resistencia que oponen los electrones a ser transferidos desde un sistema electrónico en equilibrio:

$$\eta = \frac{(I - A)}{2} \quad (15)$$

La blandura global (σ) es el índice inverso de la dureza. Las moléculas blandas presentan cambios en su densidad electrónica más fácilmente que las moléculas duras, en otras palabras, representa la probabilidad de que un átomo acepte electrones. Consecuentemente, son más reactivas:

$$\sigma = \frac{1}{n} \quad (16)$$

El potencial químico (μ) o potencial electrónico, es el índice que mide la tendencia de escape de los electrones desde un sistema en equilibrio:

$$\mu = -\frac{1}{2}(I + A) \quad (17)$$

La electrofilicidad global (ω) indica cómo la energía del sistema se estabiliza cuando el mismo se satura de electrones provenientes de los alrededores:

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (18)$$

La electronegatividad (X) es una medida de resistencia a la pérdida de densidad electrónica, es decir, es un reflejo de la tendencia de un átomo o grupo de átomos a atraer electrones:

$$\chi = -\mu = \frac{I + A}{2} \quad (19)$$

Según el teorema de Koopmans, los valores de potencial de ionización (I , la energía necesaria para arrancar un electrón de un átomo) y de afinidad electrónica (A , la energía que resulta al añadir un electrón a un átomo), se pueden relacionar directamente con las energías de los orbitales moleculares frontera HOMO y LUMO, respectivamente de la siguiente manera:

$$I = -E_{HOMO} \quad (20)$$

$$A = -E_{LUMO} \quad (21)$$

3.5. Teoría del funcional de la densidad dependiente del tiempo (TD-DFT)

La teoría del funcional de la densidad se ha empleado para calcular datos que pueden vincularse directamente a los experimentos, como las cantidades, energías y estructuras obvias. DFT ha mostrado buenos resultados al predecir las propiedades del estado fundamental de las moléculas, grupos y sólidos (49), no obstante, es inadecuado en la predicción de las energías de excitación electrónica (42). Los valores de Kohn-Sham no representan energías de excitación y no existe un análogo DFT del teorema de Koopmans (44). Por suerte, la teoría del funcional de la densidad puede extenderse para considerar la naturaleza dependiente del tiempo (TD) de las ondas electromagnéticas y utilizarse para modelar estados excitados (50).

La extensión TD-DFT es una solución exacta de la ecuación de Schrödinger y se usa para estudiar los estados de excitación electrónica que generalmente resultan de interacciones luz-materia. En consecuencia, esta extensión es capaz de realizar cálculos de energías de excitación vertical, longitud de onda de absorción, emisión y fuerza de oscilador, así como la energía adiabática (51).

Una de las ventajas del método DFT y su extensión TD-DFT es su excelente relación precisión/costo computacional, por lo tanto, posee una gran variedad de aplicaciones.

En el caso de la estimación de la fluorescencia hay algunas cuestiones que considerar. A nivel teórico, se considera que hay una absorción y una fluorescencia vertical. Por el contrario, en la parte experimental los procesos no pueden considerarse puramente verticales, por lo que las energías de absorción y emisión calculadas (incluyendo $\lambda_{\text{máx}}$) son aproximaciones.

La TD-DFT permite determinar las geometrías óptimas de los estados de excitación electrónica, lo cual es útil para analizar la fluorescencia. La determinación experimental de las longitudes de enlace y los ángulos de enlace para los estados de excitación electrónica es muy difícil. Las diferencias entre la geometría de la molécula en estado fundamental y en estado excitado se asocian con desplazamientos de Stokes. Asimismo, la teoría tiene la capacidad de predecir cambios conformacionales (como la formación de enlaces de hidrógeno) en el estado excitado.

Por otro lado, si se conocen las firmas vibracionales del estado fundamental y el estado excitado es posible calcular espectros ópticos resueltos vibracionalmente. Estos cálculos proporcionan bandas de absorción y emisión que pueden compararse directamente con las mediciones experimentales.

Además, con TD-DFT es posible calcular cargas atómicas parciales, momentos dipolares y densidades electrónicas. Lo anterior permite estimar las variaciones de la polarización de la molécula cuando absorbe un fotón, así como imitar los estados de transferencia de carga.

Un parámetro muy importante a considerar en el caso de las moléculas en estado excitado es el entorno, por lo que suele considerarse dentro de los cálculos TD-DFT. En el caso de las moléculas microsolubles el cálculo puede dividirse en dos partes: la primera se enfoca en el cromóforo que absorbe/emite luz utilizando TD-DFT, y otra considerando el entorno, normalmente un disolvente, tratado en un nivel simplificado de la teoría.

Existen dos enfoques principales para estimar los efectos de los disolventes, denominados modelos explícitos e implícitos. En los modelos explícitos se tratan todas las moléculas del entorno, por lo que es un gran reto computacional.

Entre los conjuntos de bases más recomendados para emplear en el método TD-DFT se encuentra 6-31+G(d) (empleado en el presente trabajo de investigación), así como el funcional M06-2X, dado que generalmente proporciona estimaciones más precisas (49).

3.6. Espectro de absorción

La luz visible, las microondas, las ondas de radio, entre otras, son tipos de radiación electromagnética. En conjunto, dan lugar al espectro electromagnético.

Se suele decir que la radiación electromagnética posee un comportamiento dual: en determinados aspectos muestra las propiedades de una partícula (fotón) y en otras situaciones se comporta como una onda de energía. Por lo tanto, como todas las ondas, la radiación electromagnética presenta:

- Longitud de onda (λ): se define como la distancia de un máximo de onda al siguiente. ´
- Frecuencia (ν): se refiere al número de ondas que pasan por un punto fijo en una unidad de tiempo. Sus unidades suelen ser segundos recíprocos (s^{-1}) o Hertz (Hz, $1 \text{ Hz} = 1 \text{ s}^{-1}$).
- Amplitud: es la altura de una onda, se mide desde el punto medio al pico.

Si se multiplica la longitud de onda en metros (m) por la frecuencia (en segundos recíprocos (s^{-1}) de la onda, se obtiene la velocidad de la onda en m/s. La velocidad del recorrido de toda la radiación electromagnética en el vacío es un valor constante, lo anterior es la velocidad de la luz (c), cuyo valor es $2.997\,924\,58 \times 10^8 \text{ m/s}$, que suele redondearse a $3.00 \times 10^8 \text{ m/s}$. De esta manera tenemos lo siguiente:

$$\text{Longitud de onda} \times \text{Frecuencia} = \text{Velocidad}$$

$$\lambda \text{ (m)} \times \nu \text{ (s}^{-1}\text{)} = c \left(\frac{\text{m}}{\text{s}} \right)$$

$$\lambda = \frac{c}{\nu} \quad \text{o} \quad \nu = \frac{c}{\lambda} \quad (22)$$

La energía electromagnética se transmite en cantidades discretas llamadas cuantos. La cantidad de energía (ϵ) que corresponde a 1 cuanto de energía (1 fotón) de una determinada frecuencia (ν) es expresada por la ecuación de Planck:

$$\varepsilon = h\nu = \frac{hc}{\lambda} \quad (23)$$

donde h = constante de Planck ($6.62 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s} = 1.58 \times 10^{-34} \text{ cal} \cdot \text{s}$) (52).

Consecuentemente, la ecuación indica que la energía de un fotón varía directamente con su frecuencia (ν) e inversamente con su longitud de onda (λ).

La espectroscopia se encarga del estudio de la absorción y emisión de la luz (radiación electromagnética) por la materia (53).

La espectroscopia de ultravioleta (UV) se aplica únicamente a los sistemas conjugados y brinda información sobre la naturaleza del sistema electrónico π conjugado. El intervalo de ultravioleta de interés para los investigadores es de 200 a 400 nm y las absorciones se miden en la misma unidad.

Cuando se irradia una molécula orgánica con energía electromagnética, la radiación puede pasar a través de la muestra o ser absorbida, dependiendo de su energía. En el caso de la radiación UV, se absorbe la cantidad de energía necesaria para promover un electrón de un orbital a otro en una molécula con enlaces conjugados. A nivel cuántico, cuando la molécula absorbe energía se promueve un electrón π del orbital molecular de mayor energía ocupado (HOMO) al orbital molecular de menor energía desocupado (LUMO). Puesto que se promueve al electrón de un orbital molecular (OM) de enlace π a un orbital molecular de antienlace π^* , recibe el nombre de excitación $\pi \rightarrow \pi^*$. Consecuentemente, la longitud de onda necesaria para dar lugar a la transición $\pi \rightarrow \pi^*$ en una molécula conjugada depende de la diferencia de energía entre los orbitales HOMO y LUMO.

Un espectro de ultravioleta se crea irradiando la muestra de interés con luz ultravioleta, cambiando continuamente su longitud de onda. Cuando un valor de la longitud de onda corresponde al nivel de energía necesario para excitar a un electrón a un nivel más alto, hay una absorción de energía. Dicha absorción es detectada y se plasma en una gráfica que traza la absorbancia (A) en función de la longitud de onda. Lo anterior obedece a la siguiente ecuación:

$$A = \frac{I_0}{I} \quad (24)$$

donde:

A = Absorbancia

I_0 = Intensidad de la luz incidente

I = Intensidad de la luz transmitida a través de la muestra

La cantidad de luz UV absorbida se expresa como la absorptividad molar de la muestra (ϵ) y se define por la siguiente ecuación:

$$\epsilon = \frac{A}{c \times l} \quad (25)$$

donde:

ϵ = Absorptividad molar de la muestra

A = Absorbancia

c = Concentración ($\frac{\text{mol}}{\text{L}}$)

l = Longitud de la trayectoria de la muestra (cm)

La absorptividad molar es una constante física, característica del sistema electrónico π particular en la molécula. Los valores comunes para los dienos conjugados se encuentran en el intervalo de $\epsilon = 10,000$ a $25,000$ (las unidades suelen ser omitidas).

Ahora bien, uno de los factores que afecta la longitud de onda de absorción UV es el grado de conjugación de la molécula. Se ha descubierto que la diferencia de energía entre HOMO y LUMO disminuye a medida que el grado de conjugación aumenta. Asimismo, los sistemas como enonas y anillos aromáticos conjugados presentan absorciones UV características, útiles en la determinación de la

estructura. Por ejemplo, la absorción UV máxima ($\lambda_{\text{máx}}$) del benceno es de 203 nm, mientras que la del 1,3-ciclohexadieno es de 256 nm (52).

3.7. Espectro de emisión

Los espectros electrónicos que incluyen transiciones de los electrones de valencia se encuentran en las regiones del visible y ultravioleta, incluyendo su absorción y emisión. Es posible estudiar el espectro de emisión de gases, líquidos y sólidos. Para lo anterior, se hace uso de una lámpara de alta intensidad o un láser con el propósito de que las moléculas presenten un estado electrónico excitado. Posteriormente, se observa la emisión en ángulo recto con respecto a la dirección del haz incidente. Cuando existe una emisión espontánea por átomos y moléculas en estados excitados que inmediatamente sigue a la absorción de luz se nombra como fluorescencia (53).

Cuando una molécula es excitada por la absorción de un fotón puede regresar a su estado fundamental a través de distintas vías (Figura 8).



Figura 8. Posibles vías que puede tomar una molécula en estado excitado para regresar a su estado fundamental. Adaptado de (54).

Cuando se excita a un fluoróforo la molécula emplea distintas vías para perder la energía absorbida y regresar al estado fundamental. En realidad, ocurre una transición entre estados electrónicos (como de S_2 a S_1). De esta forma, se producen transiciones isoenergéticas (donde la energía inicial y final del sistema son iguales) desde energías con una baja vibración de un estado electrónico a modos de alta vibración de un estado electrónico inferior. En esta transición no se pierde energía, la energía adicional se elimina a través de la relajación vibracional. En la relajación vibracional, la energía vibracional del fluoróforo se transfiere a las moléculas cercanas. Por ejemplo, en un medio acuoso el agua es el receptor de

energía más frecuente. La relajación vibracional no origina la emisión de fotones. La conversión interna y la relajación vibracional duran picosegundos y generalmente regresan a la molécula al nivel de energía más bajo de S_1 . En ocasiones, la conversión interna provoca que las moléculas pasen hasta el estado fundamental S_0 . No obstante, en el caso de los fluoróforos suele suceder que la diferencia de energía entre los modos vibracionales del estado fundamental y del primer estado excitado singlete es tan grande como para que se prefiera este camino. Como resultado, las moléculas excitadas muestran un estado vibracional similar al que tenían en el estado fundamental, pero el orbital electrónico exterior aún contiene energía extra.

En los fluoróforos considerados como buenos, la ruta de energía final que se presenta con más frecuencia es la expulsión de un fotón, cuya energía es igual a la brecha entre el estado vibracional más bajo de S_1 y cualquiera de los estados vibracionales o rotacionales de S_0 . El espectro de emisión de un fluoróforo es el intervalo de longitudes de onda que puede tener ese fotón emitido (Figura 9).

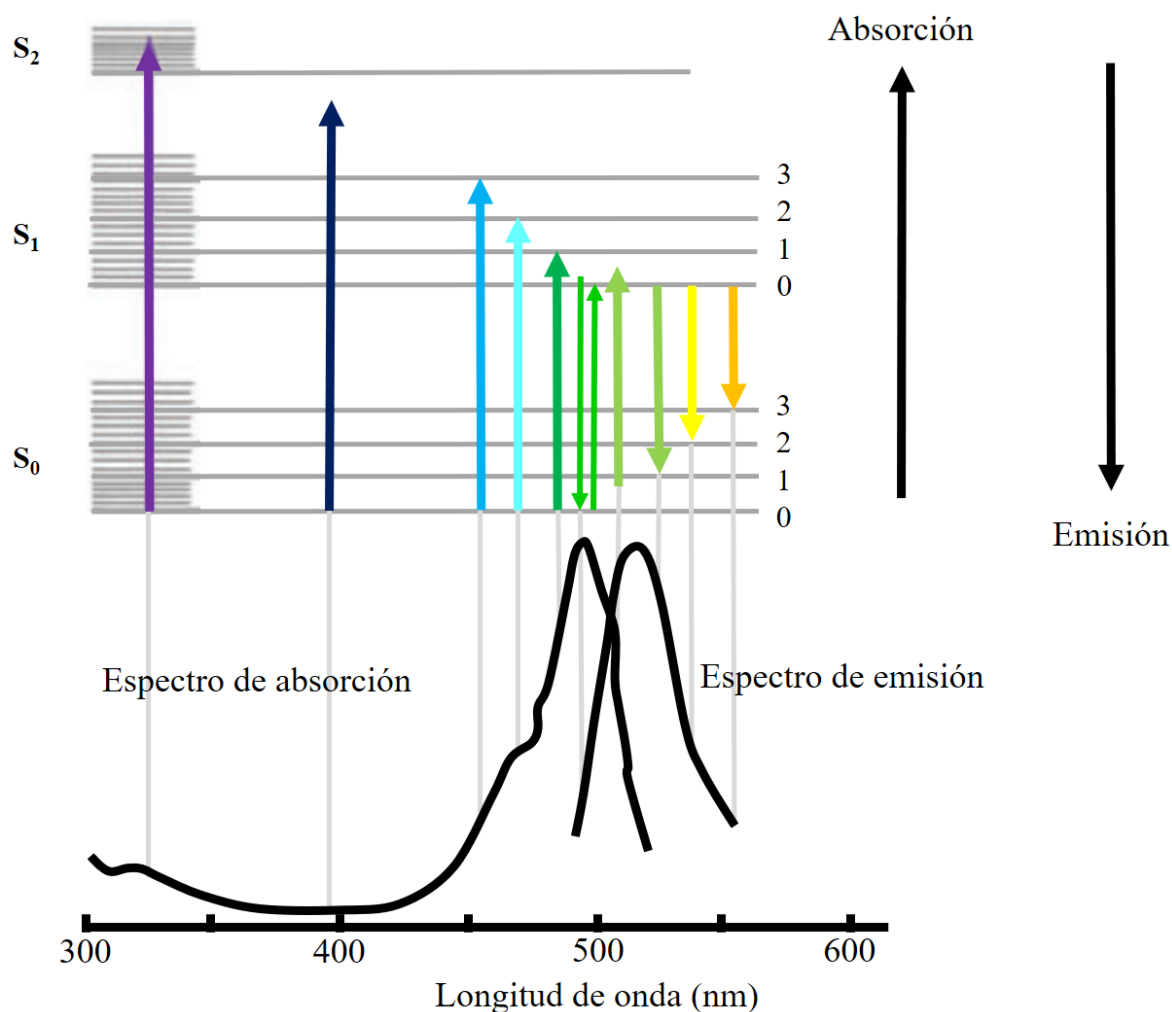


Figura 9. Espectros de absorción y emisión. Adaptado de (18).

El espectro de emisión puede determinarse excitando el fluoróforo (comúnmente a la longitud de onda de su pico de absorbancia) y empleando un dispositivo para medir el espectro de fluorescencia. La caída hasta el nivel más bajo de S_1 no es radiativa, por lo que la longitud de onda de la luz emitida no tiene relación con la longitud de onda de la luz excitadora. Como consecuencia, no se puede desplazar el espectro de emisión cambiando el color de la luz excitadora. Frecuentemente, la luz emitida tampoco se encuentra relacionada con la dirección de entrada de los fotones excitantes, consecuentemente se pueden emitir fotones en la dirección

opuesta a los fotones entrantes (es lo que sucede en los microscopios de epifluorescencia).

Puesto que el punto de partida de la emisión es el nivel más bajo de S_1 , la energía del fotón emitido suele ser inferior a la del fotón absorbido. Esto se debe a que la relajación vibracional y la conversión interna eliminan el exceso de energía, originando el desplazamiento de Stokes. La magnitud del desplazamiento de Stokes varía significativamente para los distintos fluoróforos. Los desplazamientos grandes suelen tener la ventaja de separar más fácilmente la luz excitante de la emitida, es decir, las emisiones fluorescentes se producen a longitudes de onda más largas que la luz excitadora. Una minoría de fluoróforos en estado fundamental se encuentra en uno de los estados vibracionales más altos de S_0 cuando son excitados. Por lo tanto, un fotón puede retroceder con un salto energético mayor que el necesario para llegar a S_1 , esto resulta en un solapamiento de los espectros de emisión y excitación.

Otro caso son las emisiones superpuestas debido a la presencia de distintos fluoróforos en una misma muestra. Como solución, se han sintetizado fluoróforos con intervalos espectrales más amplios a través de la adición de más enlaces conjugados. Ahora es posible elegir fluoróforos con poco solapamiento de los espectros de excitación y emisión (18).

Así pues, existen distintos parámetros físicos y químicos en el entorno próximo a la molécula excitada que pueden intervenir en su emisión de fluorescencia (54). Estos parámetros se exponen en la Figura 10.

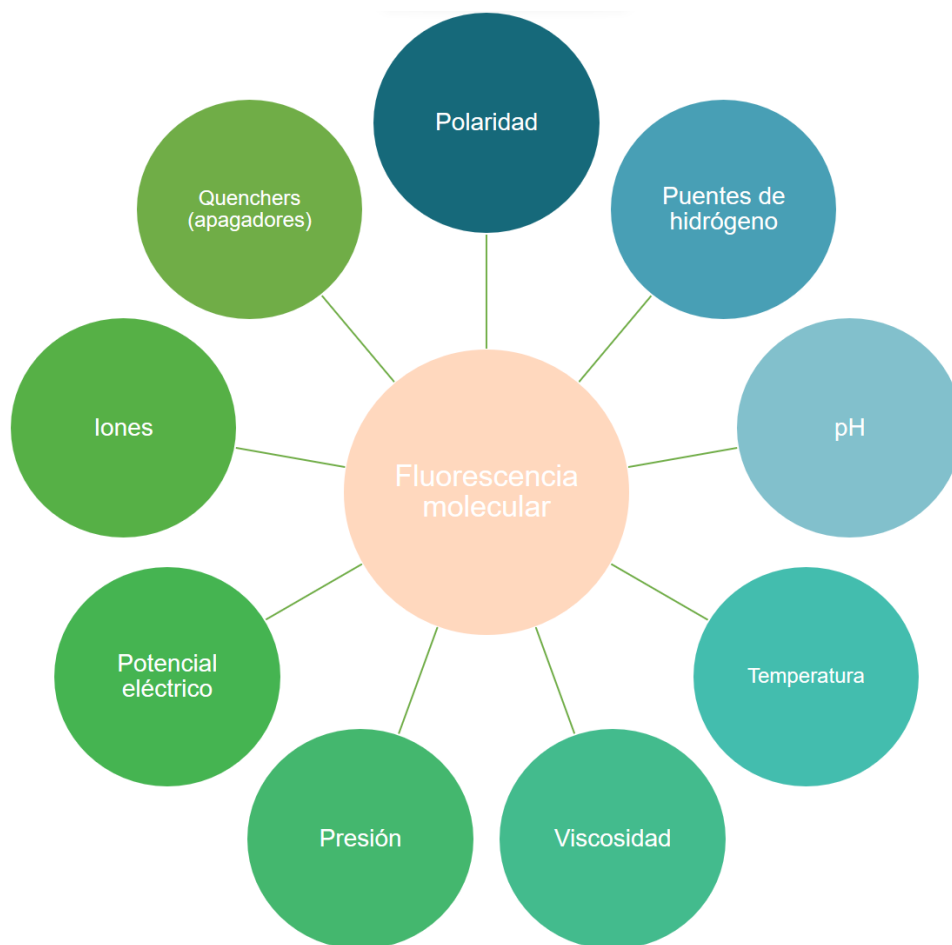


Figura 10. Parámetros físicos y químicos en el entorno próximo a la molécula excitada que pueden intervenir en su emisión de fluorescencia. Adaptado de (54).

3.8. Mecanismo de fluorescencia de los flavonoles

En 1968, se reportó que los flavonoles (entre ellos la quercetina) emiten una fluorescencia de color amarillo verdoso. Tiempo después, se reveló que presentan una transferencia intramolecular de protones en estado excitado (*Excited state intramolecular proton transfer*, ESIPT) y un comportamiento de emisión dual de flavonoles naturales (como la quercetina y morina) y flavonoles sintéticos (55). Se ha reportado que el fenómeno ESIPT de los flavonoles es mayor en estado agregado gracias a la rotación restringida de los anillos aromáticos o la reducción de su enlace de hidrógeno con el disolvente (56). En consecuencia, los flavonoles poseen la propiedad de emisión inducida por agregación (*Aggregation-induced*

emission, AIE), lo que es fantástico puesto que la mayoría de los materiales fluorescentes tradicionales padecen el efecto de extinción provocado por la agregación (*Aggregation-caused quenching*, ACQ). Además, los flavonoles naturales muestran una buena biocompatibilidad, una toxicidad biológica insignificante (55) y una biodegradabilidad natural (57). Por todo lo anterior se puede afirmar que los flavonoles naturales pueden ser sensores fluorescentes ideales y valiosos para la detección biológica y detección química, así como para la obtención de bioimágenes (55).

Los flavonoides con γ -pirona y grupos hidroxilo poseen propiedades fluorescentes (Kumar et al., 2001); presentan emisión dual, incluyendo la emisión ceto-enólica. El mecanismo de fluorescencia se ha estudiado a nivel teórico y experimental y se explica por un proceso ESIPT (58).

Generalmente, las moléculas presentan fluorescencia ESIPT si sus estructuras presentan una interacción de enlace de puente hidrógeno intramolecular entre un donante de enlace de hidrógeno ($-\text{OH}$ y $-\text{NH}_2$) y un aceptor de enlace de hidrógeno ($=\text{N}-$ y $\text{C}=\text{O}$) (59). En realidad, la reacción ESIPT es un proceso ultrarrápido, que se produce en la escala de tiempo de femto a picosegundos (60). Entre los fluoróforos de ESIPT comúnmente utilizados se encuentran las flavonas, benzofenonas, quinolina, antraquinonas, entre otros (Figura 11).

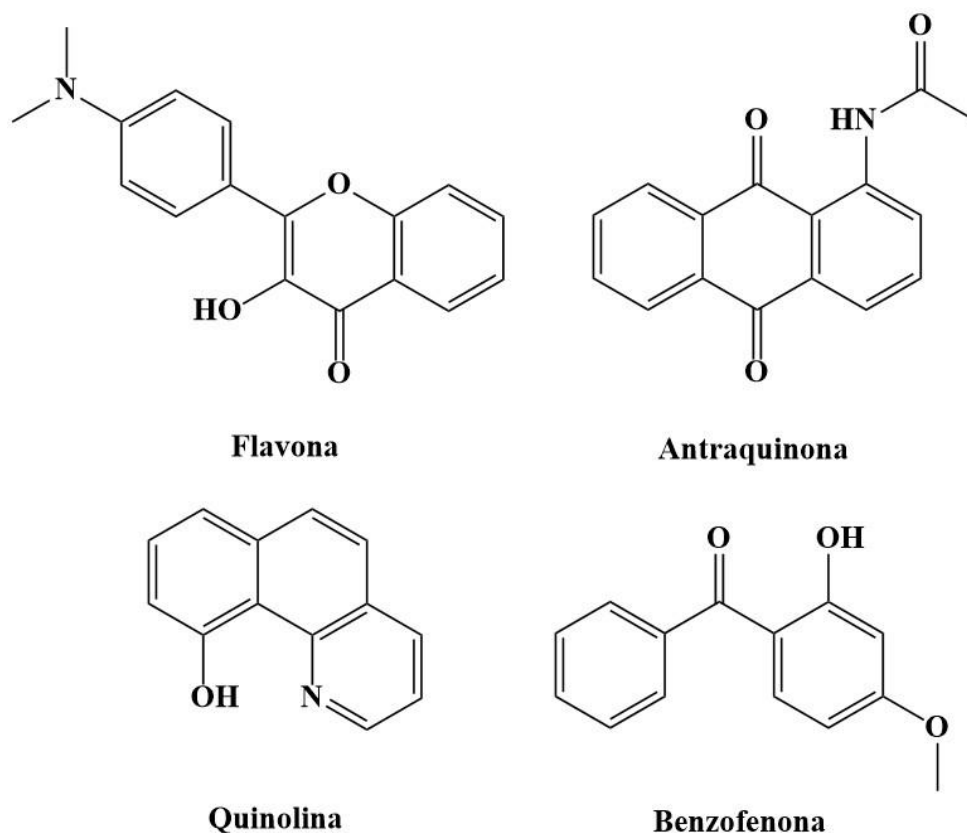


Figura 11. Ejemplos representativos de fluoróforos ESIPT.

ESIPT es un proceso fotoquímico compuesto por cuatro niveles, donde el estado fundamental electrónico de los fluoróforos ESIPT suele existir en forma de enol (E). Una vez que se produce la fotoexcitación, la carga electrónica de estas moléculas se puede redistribuir, lo que produce una mayor acidez para el grupo donante del enlace de hidrógeno y una mayor basicidad para el aceptor del enlace de hidrógeno dentro de la forma E. Como consecuencia, se produce una fototautomerización de la forma enol a la forma ceto extremadamente rápida ($k_{\text{ESIPT}} > 10^{12}\text{s}^{-1}$), y la forma enol en estado excitado (E^*) se convierte rápidamente a su forma ceto excitada (K^*). A continuación, la molécula se desintegra radiativamente hasta su estado fundamental electrónico y se produce una transferencia inversa de protones para producir la forma enol (E) original (59). Este proceso se detalla en la Figura 12.

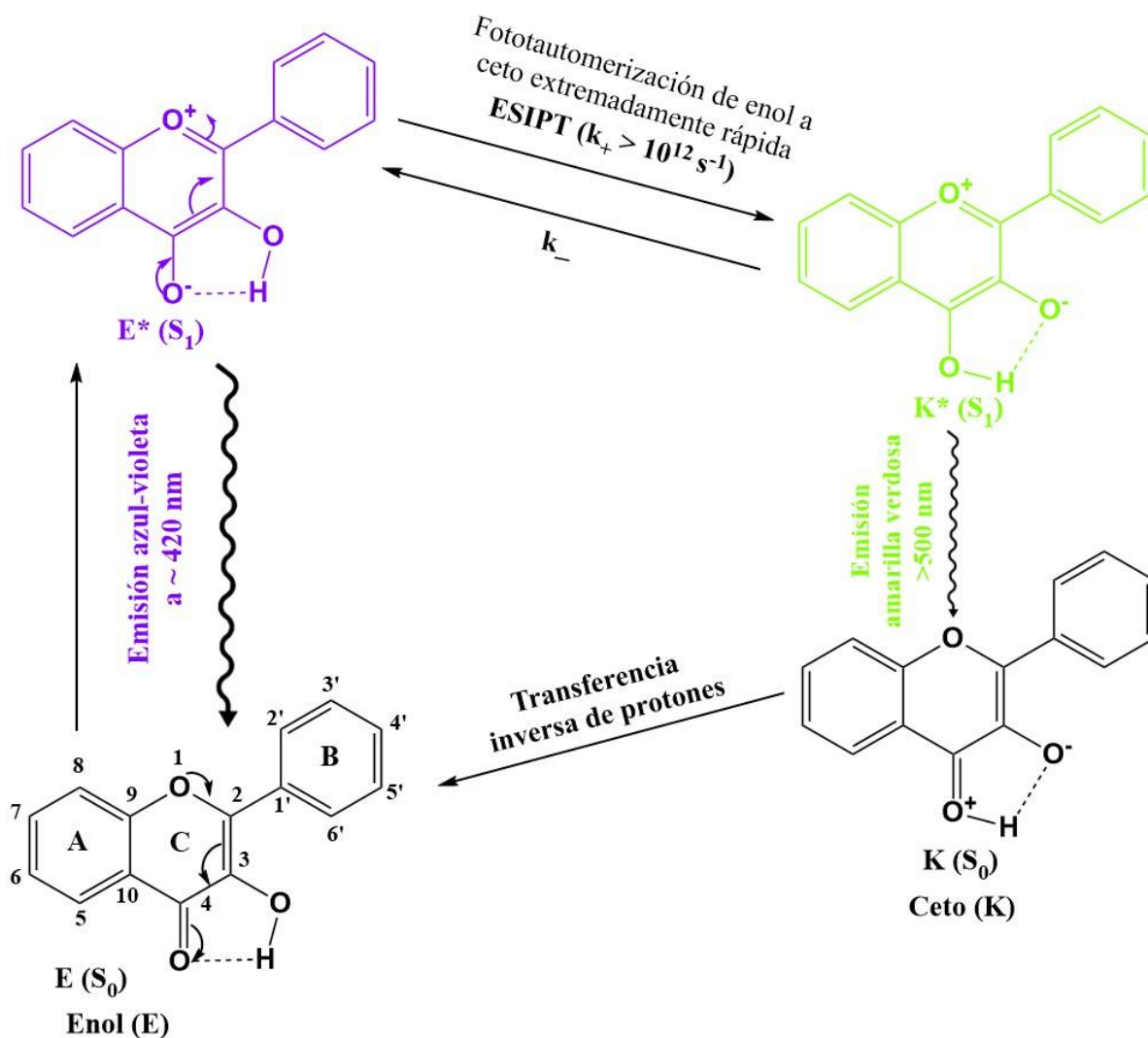


Figura 12. Proceso ESIP de flavonoles. Se tiene un flavonol en su forma enol (E), el cual se somete a una fotoexcitación, donde se produce un proceso de transferencia de carga intramolecular entre el donante de electrones (O1) y el aceptor de electrones (C=4). Posteriormente E se excita a una forma enol en primer estado excitado (E^*) con carga deslocalizada. La redistribución de la densidad electrónica en E^* mejora la acidez para C-OH3 (donante de enlaces de hidrógeno) y de la alcalinidad para C=O4 (aceptor de enlaces de hidrógeno). Como resultado, se presenta un evento de fototautomerización ultrarrápido de enol en estado excitado (E^*) a ceto en su forma excitada (K^*), donde participan C-O3 y CO=4. A continuación la molécula se desintegra radiativamente hasta su estado fundamental electrónico (pasa de K^* a K). Existe una brecha de energía menor entre los estados K^* y K que resulta en una emisión cetogénica de color amarillo verdoso (generalmente > 500 nm) con grandes cambios de Stokes (150-200 nm). Finalmente, se produce una transferencia inversa de protones para producir la forma enol (E) original. Adaptado de (55).

En el caso de la molécula de quercetina, existen dos enlaces de hidrógeno intramoleculares compartidos como aceptor de electrones. Ambos donantes de protones son grupos hidroxilo y el aceptor común es el átomo de oxígeno carbonilo. De esta forma, la molécula presenta dos procesos ESIPT. Ahora la pregunta es: ¿cuál de los dos procesos ESIPT debería tener lugar primero? Sin embargo, este increíble fenómeno sigue en estudio.

La configuración de la molécula de quercetina es muy estable en el estado fundamental (S_0), por lo que los procesos de ESIPT no pueden ocurrir de manera espontánea. Después del proceso fotoinducido (E^* , S_1) se forma el nuevo tautómero ($K^{S_1_1}$ o la forma $K^{S_1_2}$). Los compuestos $K^{S_1_1}$ y $K^{S_1_2}$ tienen un papel muy importante en la mayoría de las aplicaciones ((61), ver Figura 13).

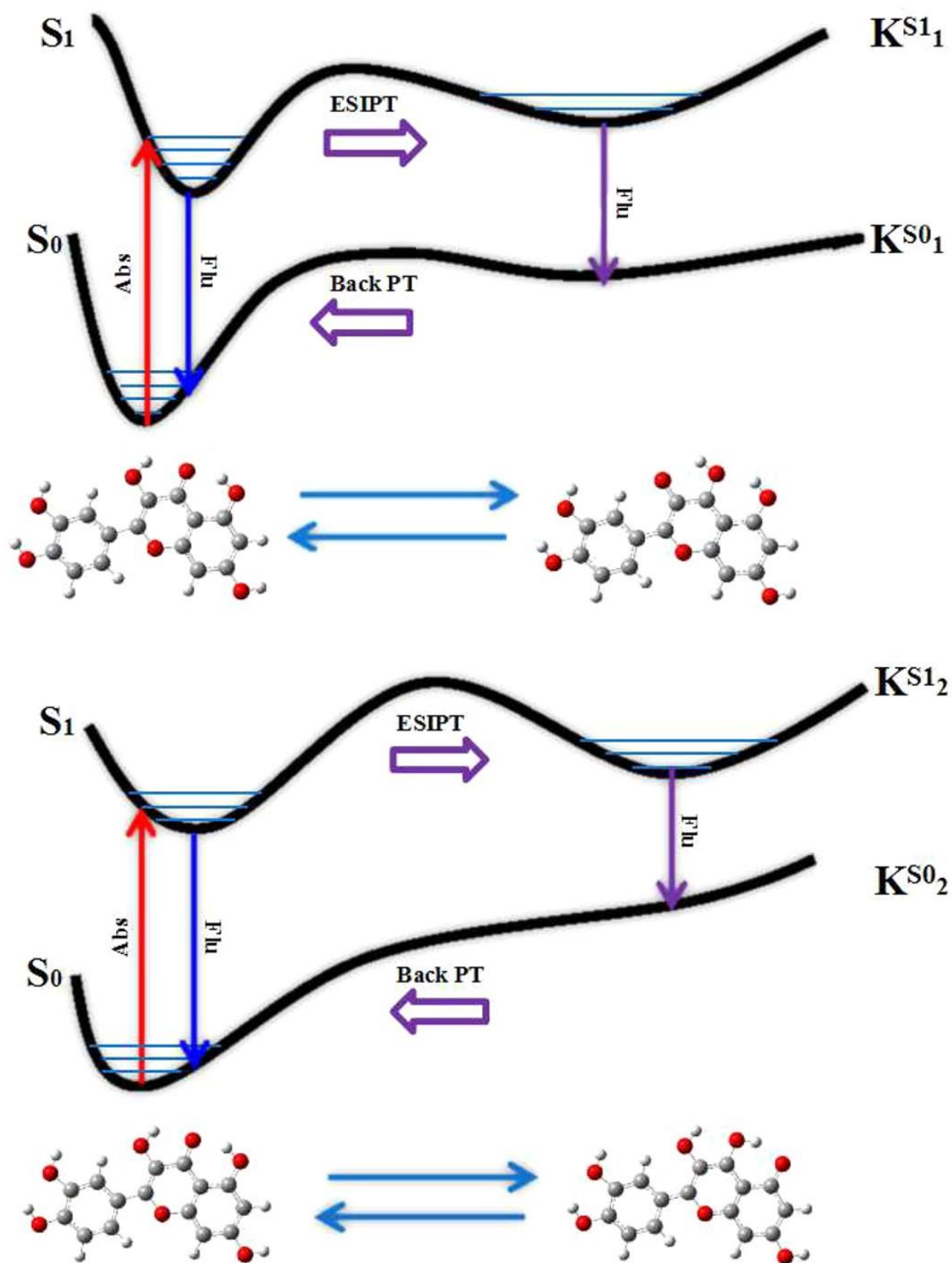


Figura 13. Dos gráficos de ruta esperados del proceso ESIPT de la quercetina. Tomado de (61).

La emisión dual es sensible a las condiciones ambientales, tales como enlaces de hidrógeno, polaridad, viscosidad y pH del entorno. Si se desea que la emisión ceto predomine, se necesita emplear un disolvente que no forme enlaces de hidrógeno (como benceno, triclorometano y diclorometano). Para observar una emisión dual se deben emplear disolventes que actúen como aceptor de enlaces de hidrógeno y donante (como metanol, etanol y 1-propanol) y aceptor de protones (como dioxano, acetato de etilo y acetonitrilo). Si se hace uso de un disolvente más polar, se observa un desplazamiento al rojo de la emisión de enol gracias a la relajación del disolvente. Por otro lado, si se aumenta la viscosidad, se obtiene un cambio azul de la emisión de enol al obstaculizar las redirecciones dipolares. Otro factor con influencia en las emisiones enol y ceto es el pH, debido a la desprotonación/protonación de $\text{C-OH}_3/\text{C=O}_4$, y a que cambia la distribución de carga de los flavonoles. Así, las formas aniónicas de flavonoles muestran una emisión azul distinta, lo que puede emplearse en aplicaciones de detección (55).

3.9. Propiedad de emisión inducida por agregación (AIE)

Respecto a la AIE, los compuestos que la presentan muestran una emisión tenue o nula en solución diluida, pero son increíblemente emisivos en estado agregado. La emisión de la forma ceto de la quercetina es muy débil en THF (tetrahidrofurano puro, un buen disolvente) y una baja concentración (0.15 mg ml^{-1}). Sin embargo, en una solución de THF con agua (un disolvente pobre, de 0 a 99% v/v) y un aumento de las concentraciones ($0.15 - 10.0 \text{ mg ml}^{-1}$), la emisión ceto aumenta con un rendimiento cuántico alto (10.3% en agua:THF (80:20, v/v).

En THF, la quercetina se dispersa como nanopartículas con un diámetro menor a 200 nm según estudios de microscopía electrónica de transmisión. En agua:THF (80:20 v/v) la quercetina se agrega como cristales similares a fibras, por lo que se obtiene una mejora en la emisión ceto.

El proceso ESIPT puede producirse hasta una temperatura de -196°C , pero cuando la temperatura disminuye de 37°C a 0°C se mejora la emisión ceto. La razón es que a una baja temperatura la quercetina se agrega y la rotación de los

anillos aromáticos se restringe, lo que puede aumentar la descomposición radiativa y mejorar la eficiencia de ESIPT (He et al., 2018).

3.10. Desplazamiento de Stokes

Otro factor importante a considerar en los espectros de absorción emisión es la medición del desplazamiento de Stokes. El desplazamiento de Stokes se refiere a la diferencia entre el máximo de emisión de fluorescencia y el máximo de absorción. Generalmente se expresa en longitud de onda (nm). El espectro de fluorescencia suele parecerse a la primera banda de absorción, esto se conoce como “regla de la imagen especular”, gracias a que las diferencias entre los niveles vibracionales son similares en los estados básico y excitado.

El desplazamiento de Stokes es un parámetro que se emplea para calcular la cantidad de energía de excitación que se pierde por vibraciones moleculares.

Las moléculas rígidas restringen el movimiento y las vibraciones moleculares, de esta forma presentan una pérdida menor de energía de excitación. Por lo tanto, en una sonda fluorescente se busca que la molécula cuente con fragmentos estructuralmente rígidos, tales como heterociclos aromáticos, grupos arilos y enlaces dobles o triples (54).

Los fluoróforos ESIPT poseen un desplazamiento de Stokes grande (~200 nm) en comparación con los fluoróforos tradicionales como la fluoresceína. Lo anterior ayuda a evitar la autorreabsorción indeseada y los efectos de filtro interno. Asimismo, el proceso ESIPT es responsable de que los flavonoles presenten capacidad ratiométrica (autocalibración con mayor precisión) y un gran desplazamiento de Stokes (>150 nm), por lo que disminuye la interferencia de la autoabsorción y la autofluorescencia (59).

CAPÍTULO 4

4. METODOLOGÍA

Con ayuda de los programas Gaussian 09W (Frisch et al., 2016) y GaussView 6.0 (Dennington et al., 2016) a través de las metodologías DFT y TD-DFT se estudió la molécula de quercetina y sus quelatos con Cu(II) empleando la siguiente metodología.

4.1. Estudio conformacional de la quercetina, sus aniones y quelatos

4.1.1. Estudio conformacional de la molécula de quercetina

- A. Como conformación inicial para realizar los cálculos, se empleó la estructura anhidra cristalizada que fue reportada por (62).
- B. Se realizaron 5 cálculos de *scan 2D* rígido con el funcional M06-2X (63) y la base 6-31+G(d) para estudiar el impacto de la torsión de los hidrógenos de los grupos hidroxilo y entre los anillos AC y B en la estabilidad de la molécula de quercetina. Se empleó la misma metodología para realizar un *scan 2D* flexible.

La Figura 14 muestra la convención numérica de la quercetina utilizada para realizar los cálculos. Se puede observar que la molécula cuenta con cuatro grupos hidroxilo: O7H7, O5H5, O3H3, O3'H3' y O4'H4'. Los ángulos diedros estudiados, responsables de las torsiones en los hidrógenos y entre los anillos AC y B fueron D(H7, O7, C7, C6), D(H5, O5, C5, C10), D(H3, O3, C3, C4), D(H3', O3', C3', C2'), D(H4', O4', C4', C3') y D(C2', C1', C2, C3).

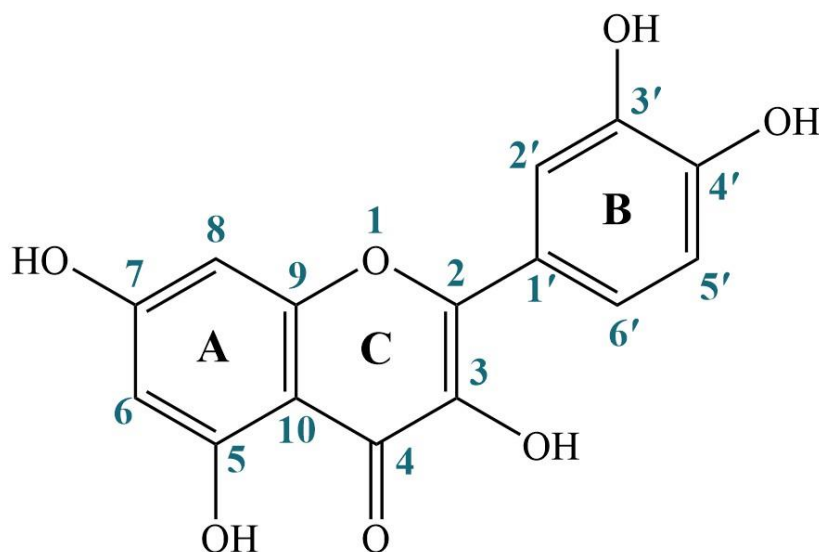


Figura 14. Numeración de los átomos de la molécula de quercetina.

De esta forma, en cada cálculo de *scan* 2D se estudió la torsión de un hidrógeno en conjunto con la torsión entre los anillos AC y B, se obtuvo la conformación de menor energía y se adoptó el valor del ángulo diedro del hidrógeno en cuestión para el siguiente cálculo con otro hidrógeno. Los cálculos de se realizaron en un intervalo de -180.0 a 180.0 con incrementos de 10.0 grados, generando así 36 conformaciones para cada sistema molecular.

- C. Optimización de geometría y de frecuencias vibracionales con el objetivo de asegurar la obtención de la estructura de mínima energía sobre la superficie de energía potencial, usando el funcional M06–2X y la base 6-31+G(d).
- D. Revisión bibliográfica sobre las estructuras de mínima energía de la quercetina reportadas por otros autores. Para cada estructura se realizó un cálculo de optimización y de frecuencias vibracionales a nivel de teoría M06–2X/6-31+G(d) en fase gas, con la finalidad de obtener una consistencia en el nivel de teoría, comparar las energías resultantes y determinar la geometría más estable. Se confirmó la ausencia de frecuencias imaginarias. Las conformaciones fueron alineadas en el programa VMD para compararlas de manera visual. Asimismo, con un

programa creado en nuestro laboratorio, se obtuvieron las *RMSD* respecto a la conformación de menor energía.

4.1.2. Estudio conformacional de los aniones de quercetina

E. Partiendo de la estructura más estable de la quercetina, se eliminaron uno o dos hidrógenos de dos de los grupos hidroxilo en los anillos AC: H3 (QUE3⁻), H5 (QUE5⁻) o ambos (QUE3⁻5⁻). Los aniones se sometieron a una optimización de geometría y de frecuencias vibracionales empleando el funcional M06-2X y ω B97XD usando la base 6-31+G(d) con la finalidad de comparar los orbitales moleculares frontera de ambos niveles de teoría. Se confirmó la ausencia de frecuencias imaginarias. Se generaron las isosuperficies de los orbitales moleculares frontera y potencial electrostático molecular. Se reportan las cargas *APT* de los átomos que formarán los complejos de coordinación con metales.

4.1.3. Estudio conformacional de los quelatos y microsolvatación.

Se tomaron las estructuras previamente optimizadas de los aniones de quercetina y se formaron los complejos con cobre: QUE3⁻Cu(II), QUE5⁻Cu(II) y QUE3⁻5⁻Cu(II). Asimismo, se llevó a cabo una microsolvatación enlazando dos moléculas de agua o metanol a cada átomo de cobre, con la finalidad de mantener la geometría de coordinación del metal con cuatro ligandos.

Los complejos metálicos fueron optimizados usando el funcional M062X con dispersión D3 (M062X–D3) con la base 6-31+G(d). Este nivel de teoría fue empleado con la finalidad de describir de manera adecuada las interacciones no covalentes entre el metal y los aniones de los flavonoides. Se reportan los resultados de los cálculos de optimización, energías de enlace reducidas y análisis de densidad de spin.

4.2. Cálculo del espectro de absorción y emisión de la quercetina, sus aniones y sus quelatos.

Los espectros de absorción se obtuvieron mediante la teoría TD-DFT, a través del nivel de teoría ω B97XD/6-31+G(d). Dado que la quercetina, sus aniones y sus complejos metálicos formados con los dianiones son estados singletes, se comprobó que no existiera algún estado excitado prohibido (singlete-triplete).

Posteriormente, se graficaron los espectros, los orbitales moleculares involucrados en cada estado excitado y se obtuvieron las contribuciones usando el programa Gausssum (64). En la comparación de los espectros de absorción calculados con espectros obtenidos de manera experimental, el análisis se enfocó en las señales, sin tomar en cuenta la intensidad. La comparación estricta con los espectros experimentales se considera inapropiada por las limitaciones que posee este estudio.

4.3. Cálculo del espectro de emisión de la quercetina y sus aniones.

Los espectros de emisión se calcularon al mismo nivel de teoría de los espectros de absorción (TD-DFT/ ω B97XD/6-31+G(d)). Posteriormente, se calculó el desplazamiento de Stokes.

4.4. Cálculo de los índices de reactividad química global

Se calculó una variedad de descriptores de reactividad química global basados en el teorema de Koopmans' y el marco conceptual DFT.

CAPÍTULO 5

5. RESULTADOS

5.1. Estudio conformacional de la quercetina

La estructura molecular de partida para realizar cálculos de química computacional suele obtenerse de un cristal, ya que la cristalografía proporciona una representación precisa y experimentalmente validada de la geometría molecular y el empaquetamiento en estado sólido (65).

Con una estructura cristalina, los cálculos se ejecutan con una conformación realista. Esto es importante debido a que las interacciones intermoleculares y la disposición tridimensional influyen en las propiedades y la estabilidad del sistema. Por lo tanto, el partir de una estructura realista facilita la comparación de los resultados computacionales con los datos obtenidos experimentalmente (66).

No obstante, es necesario aclarar que la estructura cristalina representa solo una de las posibles conformaciones de la molécula (67). El polimorfismo es intrínseco a los compuestos orgánicos y esto da paso a múltiples fases cristalinas a causa de las preferencias cinéticas y termodinámicas contrastantes durante la cristalización. Dicho fenómeno es bastante común para las moléculas con flexibilidad conformacional y propensas a la formación de puentes de hidrógeno (como la quercetina) (68). En consecuencia, una combinación de los factores previamente descritos incrementa la probabilidad de polimorfismo en compuestos orgánicos, principalmente si se producen pequeños cambios en las condiciones experimentales (69).

En casos como la quercetina, pueden existir múltiples conformaciones con energías similares. Debido a lo anterior, los métodos computacionales permiten la obtención de distintas conformaciones, prediciendo su estabilidad relativa, complementando la información cristalográfica (67). A través de los cálculos de optimización, se busca hallar la estructura espacial de la conformación energéticamente más favorable (de menor energía), ya que esta conformación es

la más probable para la molécula en estado libre (por ejemplo, en fase gaseosa) (70).

Un cristal de quercetina anhidro es una forma en estado sólido de la molécula que no contiene moléculas de agua en su estructura cristalina (71).

En el caso de la quercetina anhidra, factores como su alta movilidad dificultan la obtención de un monocristal. La posición y conformación de los grupos hidroxilo, la torsión entre los anillos AC y B y el momento dipolar son importantes en el estudio de su estructura. En consecuencia, es complicado definir una estructura exacta. Las distintas posibilidades conformacionales de la molécula de quercetina que han sido reportadas, se deben al amplio espectro de su actividad biológica y al polimorfismo de la quercetina en el estado cristalino, el cual depende del grado de hidratación del cristal. El estudio de la estructura de la molécula de quercetina es muy útil para el análisis “estructura-actividad” de sus propiedades farmacológicas conocidas y por conocer (72).

La quercetina anhidra no forma monocristales suficientemente grandes y de buena calidad para ser analizados con difracción de rayos X de monocristal (una técnica empleada para revelar la estructura atómica). Al no obtener monocristales adecuados, la estructura exacta de la quercetina es incierta (71). Como alternativa, se han empleado métodos como difracción de rayos X en polvo junto con análisis computacional (62) o resonancia magnética nuclear (RMN) (73). Aunque la difracción de rayos X en polvo enfrenta limitaciones relacionadas a la resolución y análisis estructural detallado (74).

Otra opción consiste en la difracción de rayos X con cristales monohidratados y dihidratados de quercetina, que contienen una y dos moléculas de agua por molécula de quercetina (respectivamente) integradas en su red cristalina. Sin embargo, la presencia o ausencia de agua afecta la estructura, el empaquetamiento y las propiedades fisicoquímicas y ópticas del cristal (71).

Debido a las razones previamente expuestas, en este trabajo de investigación se recopilaron distintas estructuras de la molécula de quercetina (provenientes de cristales anhidros, hidratados y monohidratados) reportadas por otros autores, las

cuales se optimizaron a un mismo nivel de teoría (M06-2X/6-31+G(d)) para determinar la conformación más estable (Figura 15).

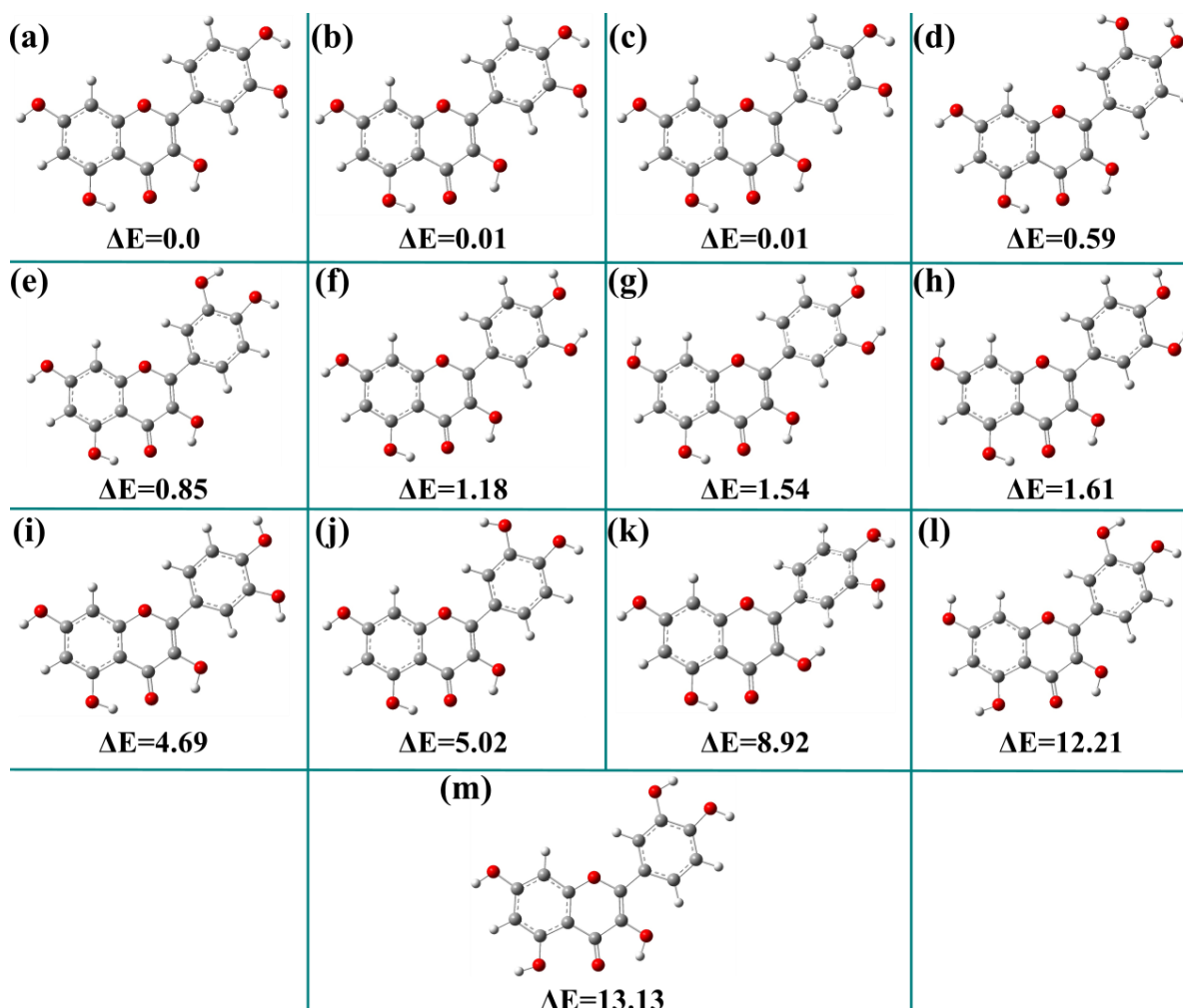


Figura 15. Moléculas de quercetina de este y otros estudios, optimizadas a nivel de teoría M06-2X/6-31+G(d). Energía de referencia: -692,644.51 kcal/mol. Ordenadas de mayor a menor energía: (a) Conformación de mínima energía hallada en este estudio a través de un cálculo de scan 2D flexible a partir de la quercetina anhidra reportada por (62); (b) Reportada por (6) como “conformación I” en su artículo; (c) Reportada por (75); (d) Reportada por (6) como “conformación II” en su artículo; (e) Conformación intermedia entre las conformaciones I y II de (6); (f) Conformación resultante de scan 2D rígido con el H7 con rotación hacia abajo (coplanar), a partir de la quercetina anhidra reportada por (62); (g) Reportada por (62); (h) Conformación de mínima energía hallada en este estudio a través de un cálculo de scan 2D rígido a partir de la quercetina anhidra reportada por (62); (i) Reportada por (76). (j) Reportada por (77); (k) Modelada en GaussView 6.0.16 con el anillo C y todos los H ortogonales al plano; (l) Reportada por (78). (m) Reportada por (71).

La Tabla 2 muestra las energías relativas, los valores de momento dipolar, polarizabilidad y porcentaje de población calculado (a partir de los valores energéticos) de las conformaciones optimizadas.

Tabla 2. Energías relativas, momento dipolar (μ), polarizabilidad (α) y porcentaje de población calculado de las conformaciones optimizadas de quercetina.

Conformación	$\Delta E(\text{kcal/mol})$	μ (Debyes)	α (u.a.)	Población (%)
(a)	0.00	0.17	217.17	25.93
(b)	0.01	0.18	217.17	25.57
(c)	0.01	0.18	217.17	25.57
(d)	0.59	4.10	217.52	9.56
(e)	0.85	2.41	216.00	6.20
(f)	1.18	4.86	215.72	3.51
(g)	1.54	7.11	214.89	1.92
(h)	1.61	7.12	214.94	1.72
(i)	4.69	2.86	217.57	0.01
(j)	5.02	1.20	218.01	0.01
(k)	8.92	3.21	209.18	0.00
(l)	12.21	2.82	212.78	0.00
(m)	13.13	1.65	213.53	0.00

La energía conformacional de una molécula es la energía asociada a las distintas conformaciones que puede adoptar una molécula a causa de la rotación de enlaces simples, sin romper enlaces químicos. Depende de factores como la repulsión entre átomos, interacciones electrónicas y efectos estéricos. Asimismo, esta energía determina la estabilidad relativa de cada conformación, siendo la conformación con menor energía la más estable (79,80). Las conformaciones más estables corresponderían a (a), (b) y (c), mientras que las conformaciones más inestables son (k), (l) y (m).

La estabilidad de la quercetina depende en gran medida de su estructura molecular, la disposición y el tipo de grupos funcionales, principalmente los grupos hidroxilo y el grupo carbonilo (81). Es posible obtener diferentes conformaciones de la molécula de quercetina debido a la rotación alrededor de los carbonos C2–C1' y la disposición de los cinco grupos hidroxilo (6,70,72) (Fig. 16).

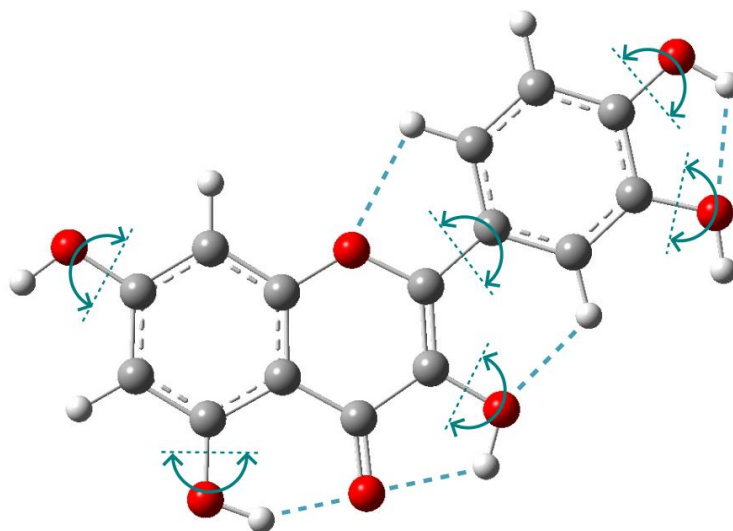


Figura 16. Movilidad de la molécula de quercetina y posibles puentes de hidrógeno intramoleculares. Adaptado de (70).

Es posible observar la presencia de tres puentes de hidrógeno intramoleculares en la estructura de la quercetina en su forma enol: $O3H3 \dots O4$, $O5H5 \dots O4$ y entre los grupos hidroxilo del anillo B, ya sea $O3'H3' \dots O4'$ u $O4'H4' \dots O3'$.

(82) indican que los grupos hidroxilo $O3H$ y $O5H$ de una conformación estable de quercetina se encuentran bloqueados conformacionalmente por puentes de hidrógeno intramoleculares con $O4$, mientras que $O7H$, $O3'H$ y $O4'H$ son responsables del desarrollo supramolecular de diversos patrones de enlaces de hidrógeno en las estructuras cristalinas.

(6) señala que, en la conformación más estable, los grupos hidroxilo deben orientarse de tal forma que formen el número máximo de puentes de hidrógeno intramoleculares entre los grupos hidroxilo (tres). No obstante, los puentes de hidrógeno inusuales $C2'H2'/C6'H6' \dots O3$ o $C2'H2'/C6'H6' \dots O1$ también estabilizan la estructura (72).

Distintos autores señalan que la conformación más estable de la quercetina presenta una torsión cercana a 0 o 180° entre los anillos AC y B (6,76,77,83). El anillo B de la quercetina puede encontrarse en dos posiciones estables: *syn* y *anti*. Se ha descubierto que la conformación *syn* posee cierta preferencia sobre la conformación *anti*, con una pequeña barrera de interconversión entre los que serían el primer y el segundo mínimo global en la isosuperficie energética

respectivamente. Por lo tanto se propone una probable coexistencia de ambas conformaciones (6,62,76,84,85).

La conformación más estable de la quercetina que se obtuvo en este trabajo de investigación (a) es plana, con el anillo B en posición *syn* y con los grupos hidroxilo formando los puentes de hidrógeno O3H3...O4, O5H5...O4 y O6'H6'...O5', así como los puentes de hidrógeno inusuales C6'H6'...O1 y C2'H2'...O3. Esto coincide con lo reportado por (6,70,83). Las conformaciones (b) y (c) presentan valores muy cercanos a (a), por lo que se infiere que presentan ligeras diferencias en su geometría conformacional respecto a (a). En cuanto a (d), corresponde a la conformación que (6,70,86) sugieren que coexiste con (a).

La Fig. 17 muestra las conformaciones (a) a (m) alineadas con ayuda del programa VMD. Aparentemente todas las conformaciones, a excepción de (g), (h) y (k) son planas y los anillos AC y B se alinean satisfactoriamente (Fig. 17.I); las conformaciones de menor energía (a, b y c) presentan un alineamiento bastante bueno (Fig. 17.II); las conformaciones *syn* (Fig. 17.III) y *anti* (Fig. 17.IV) presentan distintas posiciones en la orientación de sus grupos hidroxilo.

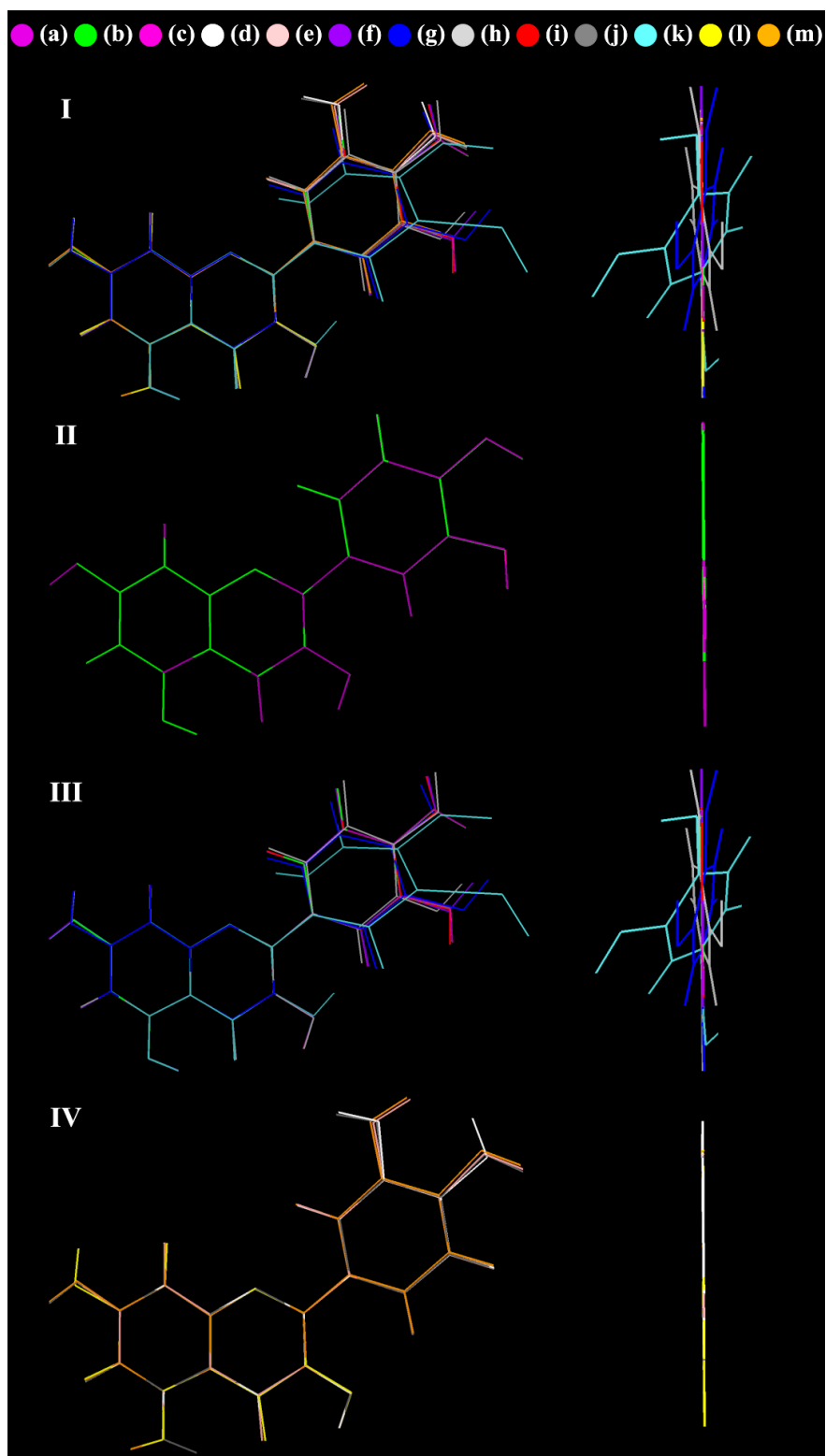


Figura 17. Alineamiento de conformaciones optimizadas de quercetina en VMD. Frente y perfil de: I. Conformaciones (a) a (m); II. Conformaciones de menor energía (a, b y c); III. Conformaciones *syn* obtenidas; IV. Conformaciones *anti* obtenidas.

Una métrica común para evaluar la diferencia entre distintas conformaciones de una molécula es la desviación cuadrática media (*Root Mean Square Deviation, RMSD*) (87,88).

Pueden crearse distintos scripts para calcular la *RMSD*, basándose en el mapeo directo uno a uno entre los átomos de distintos conformeros de la molécula de interés. Cada átomo se encuentra etiquetado según su posición en un archivo de coordenadas (que puede generarse con ayuda de Gaussview y Gaussian) y se emparejan según dicha etiqueta (89).

Un valor bajo de *RMSD* indica una alta similitud, mientras que un valor alto señala diferencias estructurales (90). La Tabla 3 muestra las *RMSD* de distancias de enlace, ángulos de valencia, ángulos diedros y la *RMSD* total. Mientras que la Figura 19 expone los gráficos correspondientes. Las *RMSD* fueron calculadas con un programa creado en nuestro laboratorio.

Tabla 3. Valores de RMSD para las distancias de enlace, los ángulos de valencia, los ángulos diedros y el RMSD total para las conformaciones de quercetina optimizadas respecto a la conformación de mínima energía (a).

Conformación	Valores de RMSD			
	Distancias de enlace	Ángulos de valencia	Ángulos diedros	Total
(b)	0.0	0.0	0.9	0.3
(c)	0.0	0.0	0.3	0.1
(d)	0.8	13.9	59.8	24.8
(e)	0.8	17.1	65.4	27.8
(f)	0.3	8.8	24.6	11.2
(g)	0.3	11.2	38.4	16.6
(h)	0.3	11.2	37.6	16.4
(i)	0.2	6.3	19.4	8.6
(j)	0.8	15.6	62.7	26.4
(k)	0.3	7.7	36.5	14.8
(l)	0.9	20.2	77.1	32.7
(m)	0.9	18.7	72.6	30.7

La Figura 18 muestra los gráficos *RMSD* de distancias de enlace, ángulos de valencia, ángulos diedros y la *RMSD* total.



Figura 18. Valores de RMSD para las distancias de enlace, los ángulos de valencia, los ángulos dihedros y el RMSD total para las conformaciones de quercetina optimizadas respecto a la conformación de mínima energía (a).

La Tabla 4 expone las distancias de enlace, ángulos de valencia, ángulos dihedros y puentes de hidrógeno de interés de las conformaciones (a) a (m) de la molécula de quercetina. Puesto que los anillos AC presentaron un alineamiento satisfactorio, se decidió omitir sus valores y enfocarse en datos más relevantes.

Tabla 4. Distancias de enlace, ángulos de valencia, ángulos diedros y puentes de hidrógeno de interés de las conformaciones (a) a (m) de la molécula de quercetina.

Conformación	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)	(g)	(h)	(i)	(j)	(k)	(l)	(m)
C2-C1'	1.467	1.467	1.467	1.466	1.469	1.469	1.468	1.469	1.467	1.467	1.472	1.469	1.469
C4-O4	1.250	1.249	1.249	1.249	1.250	1.249	1.248	1.248	1.250	1.249	1.237	1.230	1.230
C3-O3	1.355	1.355	1.355	1.352	1.353	1.352	1.352	1.352	1.355	1.353	1.361	1.350	1.351
C5-O5	1.338	1.337	1.337	1.338	1.338	1.338	1.338	1.338	1.338	1.338	1.337	1.348	1.347
C7-O7	1.354	1.354	1.354	1.355	1.355	1.356	1.355	1.355	1.354	1.354	1.356	1.355	1.356
C3'-O3'	1.371	1.372	1.372	1.371	1.358	1.358	1.357	1.358	1.359	1.360	1.368	1.360	1.359
C4'-O4'	1.353	1.353	1.353	1.353	1.368	1.369	1.368	1.368	1.356	1.356	1.352	1.370	1.370
O1-C2	1.366	1.365	1.365	1.368	1.366	1.367	1.367	1.367	1.366	1.367	1.362	1.370	1.370
O1-C9	1.353	1.352	1.352	1.352	1.352	1.352	1.352	1.352	1.353	1.353	1.358	1.349	1.349
C9-O1-C2	122.6	122.7	122.7	122.7	122.7	122.7	122.4	122.4	122.7	122.6	120.8	122.4	122.5
C4-C3-O3	114.9	114.9	114.9	115.1	115.0	115.1	115.3	115.2	114.9	115.1	115.2	113.9	113.9
C10-C5-O5	120.8	120.8	120.8	120.8	120.8	120.9	120.6	120.6	120.9	120.9	121.0	117.4	117.6
C6-C7-O7	121.3	121.3	121.3	121.3	121.2	121.2	116.1	116.1	121.3	121.4	121.4	116.2	121.5
C2'-C3'-O3'	124.2	124.2	124.2	124.6	119.8	119.5	119.6	119.6	123.3	123.6	124.7	119.8	119.8
C3'-C4'-O4'	120.5	120.5	120.5	120.4	114.9	115.1	115.0	115.0	117.1	116.9	120.4	115.0	115.0
C3-O3-H3	105.1	105.0	105.0	105.3	105.2	105.4	105.3	105.3	105.1	105.2	109.5	104.3	104.4
C5-O5-H5	108.6	108.6	108.6	108.5	108.5	108.5	108.7	108.7	108.5	108.5	107.9	109.5	109.8
C7-O7-H7	110.3	110.3	110.3	110.2	110.2	110.2	110.3	110.4	110.3	110.3	110.2	110.3	110.5
C3'-O3'-H3'	110.7	110.6	110.6	110.8	108.8	108.8	108.8	108.9	109.5	109.5	111.2	108.6	108.7
C4'-O4'-H4'	108.8	108.7	108.7	108.8	110.8	110.8	110.9	110.8	109.8	109.7	109.0	110.7	110.6
C3-C4-O4	118.8	118.8	118.8	118.9	118.8	118.8	118.8	118.8	118.9	118.9	122.0	117.5	117.6
C10-C4-O4	124.6	124.7	124.7	124.5	124.6	124.6	124.7	124.6	124.6	124.5	123.2	127.1	127.0
C10-C4-C3-O3	180.0	180.0	180.0	180.0	180.0	180.0	-179.3	179.5	180.0	180.0	-177.4	-180.0	-180.0
C4-C10-C5-O5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-0.1	0.0	0.0	0.0	1.1	0.0	0.0
C5-C6-C7-O7	180.0	180.0	180.0	180.0	180.0	180.0	-180.0	180.0	180.0	180.0	-179.9	180.0	180.0
C1'-C2'-C3'-O3'	180.0	180.0	180.0	-179.9	-180.0	180.0	179.7	-179.8	180.0	180.0	179.4	180.0	180.0
C2'-C3'-C4'-O4'	180.0	180.0	180.0	180.0	180.0	180.0	-180.0	179.9	180.0	180.0	-179.8	180.0	180.0
C3-C2-C1'-C2'	0.0	0.0	0.0	180.0	180.0	0.0	-14.0	10.3	0.0	180.0	-41.5	180.0	180.0
C4-C3-O3-H3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	-0.5	0.0	0.0	158.4	0.0	0.0
C10-C5-O5-H5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-0.1	0.1	0.0	0.0	-0.5	-179.9	180.0
C6-C7-O7-H7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	179.8	-179.7	0.0	0.0	0.2	180.0	-0.1
C2'-C3'-O3'-H3'	0.0	0.1	0.0	0.0	180.0	180.0	-179.7	179.8	0.0	0.0	-1.6	-180.0	179.9
C3'-C4'-O4'-H4'	0.0	0.0	0.0	0.0	180.0	180.0	179.5	-179.9	180.0	180.0	-0.6	179.9	179.9
O3H3...O4	2.025	2.024	2.025	2.034	2.029	2.036	2.040	2.037	2.026	2.033		1.964	1.966
O5H5...O4	1.800	1.798	1.797	1.795	1.797	1.797	1.802	1.802	1.798	1.796	1.744		
O3'H3'...O4'/ O4'H4'...O3'	2.129	2.128	2.128	2.128	2.137	2.135	2.135	2.135			2.131	2.135	2.136
C2'H2'/H6'...O3	2.120	2.118	2.118	2.140	2.136	2.142	2.180	2.161	2.119	2.140	2.271	2.143	2.142
C2'H2'/H6'...O1	2.307	2.311	2.311	2.294	2.314	2.301	2.334	2.322	2.313	2.294	2.572	2.318	2.317

Como era de esperarse, las conformaciones (b) y (c) muestran variaciones insignificantes en todos los parámetros evaluados.

De manera general, las trece conformaciones no presentaron variaciones significativas en sus distancias de enlace y puentes de hidrógeno intramoleculares, ya que las diferencias son menores a 1 Å. Por contraparte, se obtuvieron diferencias significativas en los valores de ángulos de valencia y ángulos diedros, lo que concuerda con las distintas posiciones de los grupos hidroxilo y entre los anillos AC y B. los ángulos de valencia y diedros con mayor

variación fueron los asociados a los grupos hidroxilo O3'H3' y O4'H4', así como el ángulo diedro entre los anillos AC y B.

El momento dipolar presenta variaciones cuando cambia la conformación de una molécula, puesto que es una cantidad vectorial relacionada con la posición espacial de los átomos. Los cambios en la conformación afectan directamente la distribución de cargas y, por ende, el momento dipolar (91). En moléculas que presentan múltiples conformaciones estables, cada conformación posee un momento dipolar y una energía asociada (92).

(75,86) indican que el momento dipolar de la quercetina es muy sensible ante los cambios en las orientaciones de los grupos hidroxilo. Es posible obtener distintas conformaciones optimizadas con una pequeña diferencia energética entre ellas, pero con una gran diferencia entre sus momentos dipolares. No existe una relación lineal, pero existe una correlación donde la estabilidad energética está influida por la polaridad y las interacciones intramoleculares (como los enlaces de hidrógeno) (72).

Las conformaciones más estables (a, b y c) presentan los valores de μ más bajos (0.17, 0.18 y 0.18 D respectivamente). En general, las conformaciones planas presentan valores de μ bajos, lo que coincide con la baja solubilidad en agua de la quercetina (5,25,93).

El valor de μ más alto corresponde a las estructuras no planas (g) y (h), siendo de 7.11 y 7.12 D respectivamente. (Brovarets' & Hovorun, 2020) indican que las conformaciones no planas generalmente poseen momentos dipolares más altos a causa de la asimetría electrónica inducida por la rotación de los grupos funcionales. La tercera estructura no plana obtenida (k) presenta un μ de 3.21 D. La posición de los grupos hidroxilo en conjunto con la posición del anillo B poseen una gran relevancia en el valor del momento dipolar, puesto que los grupos hidroxilo son fragmentos bastante polares (95). Por lo tanto, la posición de O7H7 entre las conformaciones no planas presenta una gran relevancia.

Por otro lado, un incremento del momento dipolar de la quercetina provoca desplazamientos de la banda de absorción observadas en los espectros UV/Vis. Cabe mencionar que el momento dipolar de la quercetina cambia entre el estado

fundamental y el estado excitado. Por lo tanto, la interacción con el solvente y la reorganización electrónica tras la excitación afectan la energía de transición electrónica. Por lo que un mayor momento dipolar puede inducir un desplazamiento hacia el rojo (batocrómico) en el espectro (96).

La polarizabilidad de una molécula indica cuánto cambia su momento dipolar cuando se aplica un campo eléctrico externo. De esta forma, refleja la facilidad con la que la distribución electrónica de una molécula puede ser distorsionada (97).

En general, se obtuvieron valores similares de polarizabilidad para las trece conformaciones obtenidas. Aunque los valores de polarizabilidad más bajos corresponden a las estructuras no planas (g, h y k) y a las más inestables (l y m).

En el caso de la quercetina, la polarizabilidad depende principalmente del tamaño y extensión del sistema π conjugado. La presencia del sistema conjugado aumenta la polarizabilidad, puesto que los electrones π se desplazan con mayor facilidad.

Una conformación plana permite una mayor conjugación de los enlaces π (98,99).

Asimismo, los puentes de hidrógeno intramoleculares estabilizan las conformaciones de la quercetina, pero también alteran la distribución de carga en la molécula (94).

Las moléculas grandes o con electrones deslocalizados suelen ser más polarizables (100). Una mayor polarizabilidad permite una mejor adaptación a cambios en el entorno, especialmente en solventes polares (91).

La polarizabilidad es importante en espectroscopia, puesto que determina las respuestas de las moléculas a la luz y otros campos electromagnéticos (100). En espectroscopia UV/Vis, esta propiedad afecta la intensidad y la energía de las transiciones electrónicas observadas. Por lo tanto, influye en la probabilidad de absorción y el desplazamiento de las bandas espectrales.

Un aumento en la polarizabilidad suele incrementar la intensidad de absorción, así como desplazamientos batocrómicos o hipsocrómicos en los espectros de absorción y emisión (101,102).

Respecto a los porcentajes de población calculados, el valor obtenido para la conformación de mínima energía (a) es consistente con el reportado por (103).

En cuanto al método empleado, el funcional M06–2X es capaz de manejar cálculos de energía relativa como de estructura geométrica. Mostrando un rendimiento muy mejorado para química orgánica en comparación con otros métodos DFT (104).

M06–2X ha demostrado ser confiable para optimizar geometrías y predecir energías relativas de conformaciones en el caso de moléculas que contienen C, O y H (105). Asimismo, considera las interacciones no covalentes que influyen en las propiedades de las moléculas, tales como los puentes de hidrógeno (con bastante relevancia en la conformación de la quercetina) (104,106). Este funcional ofrece un equilibrio adecuado entre precisión experimental y eficiencia computacional (105).

A comparación de otros funcionales DFT populares, tales como B3LYP, M06–2X suele predecir la estabilidad relativa de conformaciones y reproducir con mayor fidelidad los equilibrios conformacionales observados experimentalmente, principalmente en sistemas donde las interacciones no covalentes son relevantes (107,108).

Respecto al conjunto de bases 6–31+G(d), es utilizado con frecuencia en la optimización de conformaciones de moléculas orgánicas. Este nivel de teoría predice adecuadamente las conformaciones más estables y reproduce los datos experimentales de manera aceptable. Sus resultados han sido validados experimentalmente a través de espectroscopia IR, NMR y difracción de rayos X, obteniendo una buena relación entre las estructuras predichas y las observadas en estado sólido y en solución (109). En adición, la inclusión de funciones de polarización (d) y difusas (+) mejora la descripción de enlaces y cargas, principalmente en moléculas con átomos electronegativos como el oxígeno (110,111).

5.2. Aniones de quercetina

5.2.1. Estudio conformacional de los aniones de quercetina

La Figura 19 muestra las conformaciones más estables obtenidas para quercetina (a) y sus aniones.

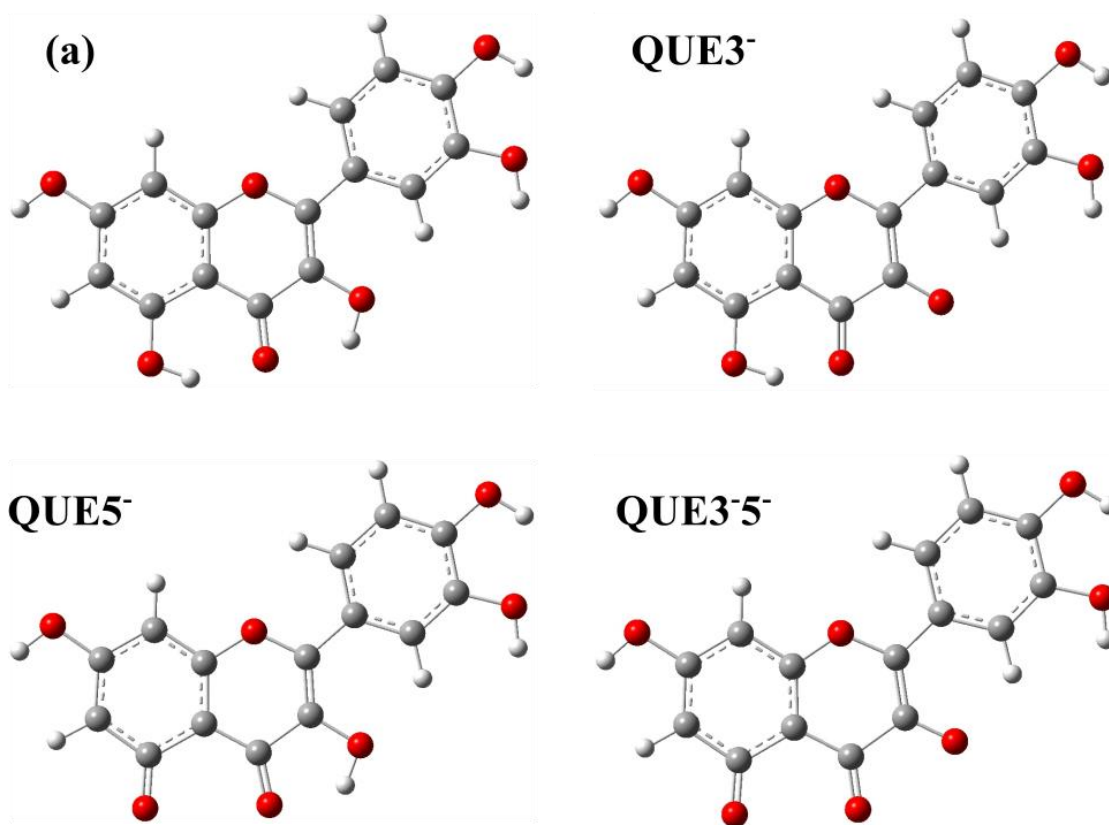


Figura 19. Conformaciones más estables para quercetina y sus aniones. (a) Conformación de quercetina de menor energía obtenida; QUE3⁻: Anión de quercetina sin H3; QUE5⁻: Anión de quercetina sin H5; QUE3⁻5⁻: Dianión de quercetina sin H3 y H5.

La Tabla 5 expone las energías relativas, los valores de momento dipolar y polarizabilidad de la quercetina y sus aniones.

Tabla 5. Energías relativas, momento dipolar (μ) y polarizabilidad (α) de la quercetina y sus aniones. Energía de referencia: -692,645 kcal/mol.

Molécula	ΔE (kcal/mol)	μ (Debyes)	α (u.a.)
(a)	0.00	0.17	217.17
QUE3 ⁻	338.50	4.83	235.84
QUE5 ⁻	343.21	10.73	223.33
QUE3 ⁻ 5 ⁻	758.40	11.66	246.61

La Fig. 20 muestra las conformaciones de quercetina (a) y sus aniones alineadas con ayuda del programa VMD.

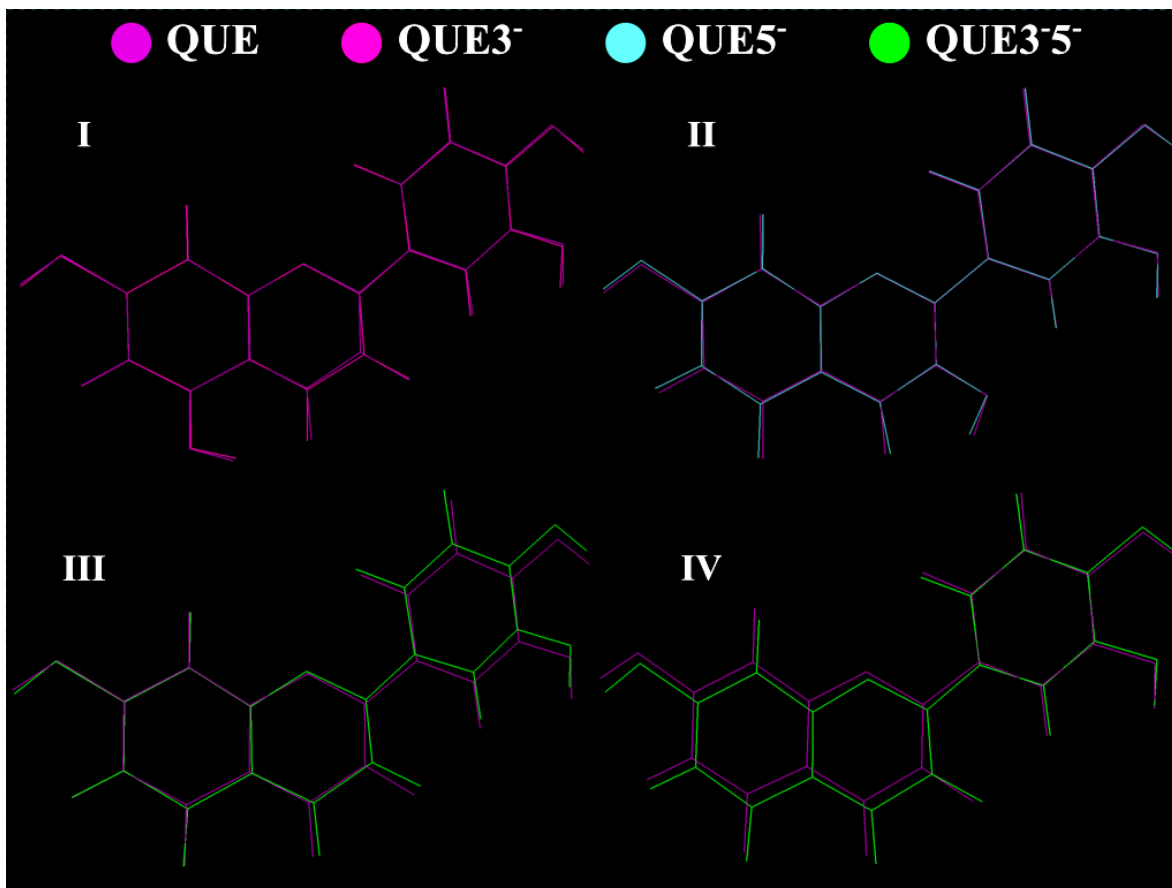


Figura 20. Quercetina (a) y sus aniones alineados en el programa VMD. I: (a) y QUE3⁻; II: (a) y QUE5⁻; III: (a) y QUE3⁻5⁻ alineados por los anillos AC; IV: (a) y QUE3⁻5⁻ alineados por el anillo B.

La Tabla 6 expone las distancias de enlace, ángulos de valencia, ángulos diedros y puentes de hidrógeno de interés de la quercetina (a) y sus aniones.

Tabla 6. Distancias de enlace (Å), ángulos de valencia, ángulos diedros y puentes de hidrógeno de interés de la quercetina (a) y sus aniones.

Conformación	(a)	QUE3 ⁻	QUE5 ⁻	QUE35 ⁻
C2-C1'	1.467	1.454	1.469	1.439
C4-O4	1.250	1.247	1.244	1.227
C3-O3	1.355	1.261	1.355	1.264
C5-O5	1.338	1.340	1.243	1.252
C7-O7	1.354	1.370	1.376	1.392
C3'-O3'	1.371	1.383	1.380	1.393
C4'-O4'	1.353	1.374	1.367	1.389
O1-C2	1.366	1.392	1.367	1.394
O1-C9	1.353	1.329	1.370	1.349
O1-C2-C1'	112.2	111.2	112.6	111.8
C2'-C1'-C2	121.4	121.0	121.4	121.7
C9-O1-C2	122.6	122.0	121.9	122.0
C2-C3-C4	121.4	115.5	122.6	117.1
C3-C4-C10	116.5	117.8	116.0	117.1
C10-C5-C6	119.9	120.5	115.1	115.5
C6-C7-C8	122.2	122.2	122.9	122.5
C4-C3-O3	114.9	119.0	112.6	118.6
C10-C5-O5	120.8	119.9	123.1	124.4
C6-C7-O7	121.3	120.4	121.5	120.5
C2'-C3'-O3'	124.2	122.8	123.5	122.1
C3'-C4'-O4'	120.5	120.6	120.4	120.5
C3-O3-H3	105.1		101.0	
C5-O5-H5	108.6	105.6		
C7-O7-H7	110.3	108.7	107.6	106.1
C3'-O3'-H3'	110.7	108.5	109.4	107.0
C4'-O4'-H4'	108.8	107.1	107.6	106.0
C3-C4-O4	118.8	121.3	114.2	117.9
C10-C4-O4	124.6	120.9	129.8	125.0
C10-C4-C3-O3	180.0	180.0	180.0	180.0
C4-C10-C5-O5	0.0	0.0	0.0	0.0
C5-C6-C7-O7	180.0	180.0	180.0	180.0
C1'-C2'-C3'-O3'	180.0	180.0	180.0	180.0
C2'-C3'-C4'-O4'	180.0	180.0	180.0	180.0
C3-C2-C1'-C2'	0.0	0.0	0.0	0.0
C4-C3-O3-H3	0.0		0.0	
C10-C5-O5-H5	0.0	0.0		
C6-C7-O7-H7	0.0	0.0	0.0	0.0
C2'-C3'-O3'-H3'	0.0	0.0	0.0	0.0
C3'-C4'-O4'-H4'	0.0	0.0	0.0	0.0
O3H3...O4	2.025		1.819	
O5H5...O4	1.800	1.624		
O4'H4'...O3'	2.129	2.131	2.126	2.129
C2'H2'...O3	2.120	2.038	2.122	2.037
H6'...O1	2.307	2.328	2.323	2.332

Los aniones no presentaron diferencias significativas en sus distancias de enlace y ángulos diedros respecto a la conformación (a) de quercetina, manteniendo una estructura plana. En contraparte, los ángulos de valencia de los anillos AC así como los asociados a los grupos hidroxilo y carbonilo muestran diferencias importantes, especialmente en la zona del grupo carbonilo y las zonas desprotonadas según el caso. En los aniones, el oxígeno del grupo carbonilo se acerca al grupo hidroxilo que se mantiene protonado. De esta forma, el puente de hidrógeno O5H5...O4 se acorta en QUE3⁻, mientras que O3H3...O4 se acorta en QUE5⁻.

Al desprotonar el O3 u O5 se genera una carga negativa localizada en el oxígeno, lo que incrementa la repulsión electrónica en esa zona, influyendo en una distorsión del anillo central (C) y de los anillos adyacentes. Asimismo, la desprotonación rompe los puentes de hidrógeno intramoleculares con O4 según sea el caso. Dichos puentes estabilizan la conformación plana de la quercetina, por lo que su ruptura provoca una mayor flexibilidad y facilita la torsión o el arqueado de los anillos (95,112).

La planaridad de la molécula favorece una deslocalización extendida y, por ende, una buena estabilización de las especies aniónicas que se originan a partir de la desprotonación de los grupos hidroxilo (6). Asimismo, la deslocalización permite que la carga negativa de un anión se distribuya sobre varios átomos, lo que disminuye la densidad de carga en un solo punto y aumenta la estabilidad del anión (113,114). Cabe mencionar que las propiedades antioxidantes de los flavonoides se derivan de su deslocalización (115,116).

En los aniones de quercetina se produce una redistribución de la densidad electrónica, lo que incrementa el momento dipolar. La desprotonación de un grupo hidroxilo genera una mayor separación de cargas dentro de la molécula (94,95).

La polarizabilidad también aumenta en el caso de los aniones. La carga negativa del oxígeno desprotonado se deslocaliza sobre el anillo aromático a través de la resonancia, lo que aumenta la movilidad de los electrones en la molécula. Esta mayor deslocalización electrónica en los aniones permite que la nube electrónica

responda con mayor facilidad a campos electrónicos externos, incrementando su polarizabilidad (117).

5.2.2. Orbitales moleculares frontera de los aniones de quercetina

Al calcular los orbitales moleculares frontera (OMF) de la quercetina y sus aniones con el funcional M062X los resultados no fueron satisfactorios. Se procedió a calcular dichas isosuperficies con el funcional ω B97XD manteniendo la base (6-31+G(d)). Se halló que M062X produce una interconversión de estados (ver S1).

El funcional ω B97XD ha sido empleado en la caracterización de OMF en complejos orgánicos y aromáticos de manera exitosa, mostrando una descripción de la distribución espacial y energética de los orbitales adecuada (118). En adición, ha mostrado una buena correlación con resultados experimentales, validando su uso para describir la reactividad y el comportamiento electrónico (119).

La Figura 21 expone los OMF *HOMO* (*Highest Occupied Molecular Orbital*) y *LUMO* (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*), así como la brecha energética entre ellos (*GAP*) para la molécula de quercetina y sus aniones. Calculados a nivel de teoría ω B97XD/6-31+G(d).

El *HOMO* contiene a los electrones de valencia, los electrones con una mayor facilidad para participar en reacciones químicas, tal como la transferencia de electrones, enlaces o excitaciones.

Por otro lado, el *LUMO* corresponde al primer nivel energético disponible para aceptar electrones, por lo que es destino de los electrones de valencia en procesos como la reducción o la excitación electrónica.

La brecha energética determina la facilidad con la que una molécula puede ganar o perder electrones, por lo que se relaciona con su reactividad química (120).

De manera general, el *HOMO* se encuentra sobre los anillos aromáticos y grupos hidroxilo de la molécula de quercetina y sus aniones. Siendo consistente con lo reportado por (78) para la quercetina. En el caso de los aniones, el *HOMO* aumenta su tamaño en la zona de los oxígenos que fueron desprotonados (con carga negativa). La localización de los orbitales en la zona de los oxígenos

favorece la donación de electrones y la neutralización de especies reactivas (78,121).

En cuanto al *LUMO*, se ubica a lo largo de la molécula a excepción del dianión.

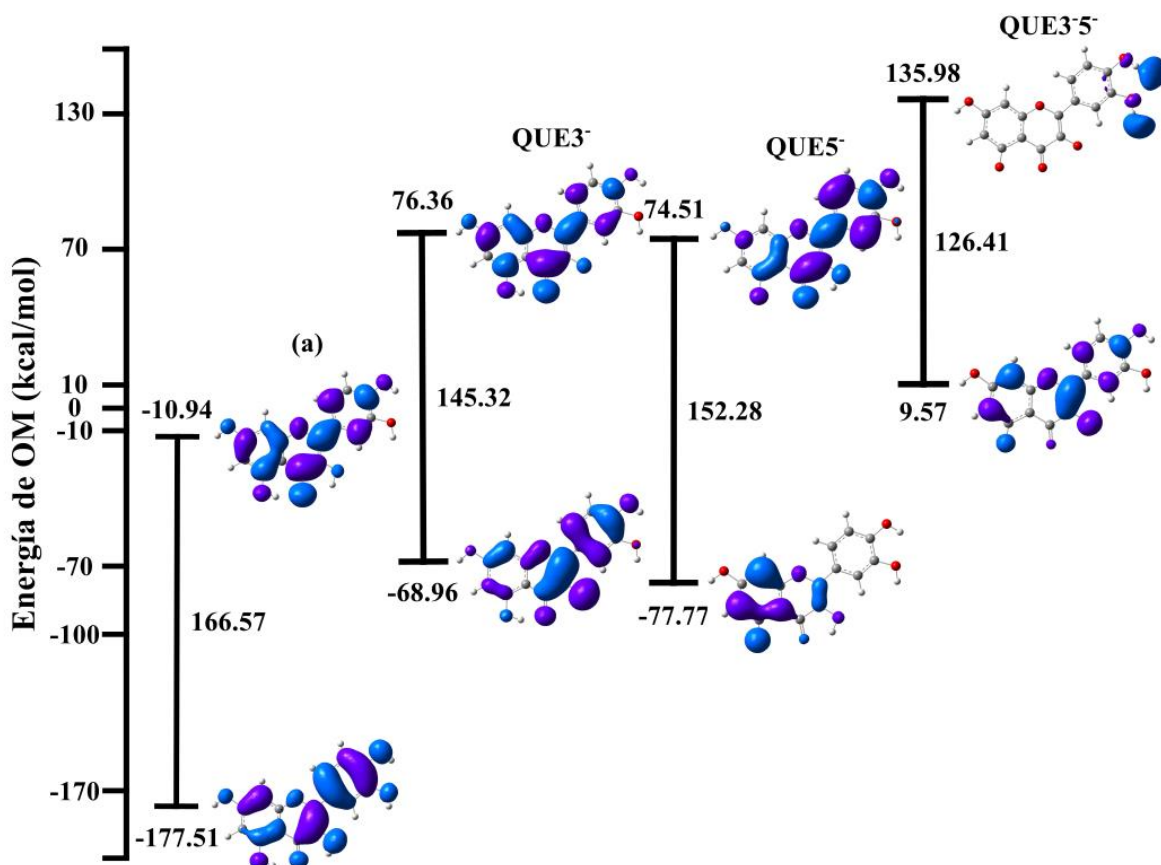


Figura 21. Orbitales moleculares frontera HOMO y LUMO de la quercetina (a) y sus aniones. Se reportan sus valores energéticos (en kcal/mol) y su brecha energética (GAP). Las fases negativa y positiva se representan con violeta y azul, respectivamente. Calculados con el nivel de teoría ω B97XD/6-31+G(d).

Según los valores de GAP, la quercetina neutra (a) presenta una mayor estabilidad que sus aniones. A su vez, los monoaniones son más estables que el dianión. Por lo tanto, la reactividad y capacidad de transferencia electrónica incrementan en los aniones. De esta manera, los aniones de quercetina presentan características electrónicas distintas a la quercetina neutra, y se ven reflejadas en la distribución de los orbitales moleculares frontera y los espectros de absorción (78,121).

5.2.3. Cargas APT y Potencial electrostático molecular (MEP) de los aniones de quercetina

La Figura 22 muestra los mapas de potencial electrostático molecular de la quercetina y sus aniones. Las regiones con una alta densidad electrónica (en color rojo) son las zonas más propensas a interacciones con especies electrofílicas (debido a la mayor localización de electrones). Por otro lado, las regiones con color azul indican las zonas con una densidad electrónica baja, por lo que son más susceptibles a ataques nucleofílicos.

En la forma neutra de la molécula el anillo B presenta una alta densidad electrónica, dado que cuenta con un sistema conjugado propio, aunque puede interactuar con el anillo C mediante el enlace C2–C1' (que conecta los dos sistemas). Por otro lado, en el anillo C el C4 y los carbonos adyacentes (C10 y C3) cuentan con una baja densidad electrónica, ya que esta es atraída por el grupo cetona. En adición, los hidrógenos de los grupos hidroxilo O3H y O5H se encuentran cercanos con el oxígeno del grupo cetona, por lo que pueden formarse puentes de hidrógeno y con ello se redistribuye la densidad electrónica de la zona. En general, los mapas de potencial electrostático molecular muestran que la densidad electrónica es alta en las zonas de los oxígenos de los grupos hidroxilo, debido a que los oxígenos poseen pares de electrones no compartidos. Asimismo, existe una baja densidad electrónica en los hidrógenos, ya que los electrones se encuentran desplazados hacia el oxígeno. Cuando se retira un hidrógeno de un grupo hidroxilo la densidad electrónica se concentra en dicha zona.

Cuando el O3, O5 o ambos oxígenos se desprotonan, la carga se redistribuye, centrándose en la zona de los oxígenos de los grupos hidroxilo y carbonilo según sea el caso. Por lo tanto, son sitios nucleofílicos favorables para la interacción con especies electrofílicas. Esto explica su afinidad por formar complejos con metales y otros cationes o regiones positivas de otras moléculas (78,122). En adición, al eliminar los hidrógenos H3 o H5 la densidad electrónica en los oxígenos aumenta de manera considerable, dando lugar a una repulsión entre ellos y el oxígeno de la cetona (O4) según sea el caso, resultando una modificación en los ángulos de valencia implicados en la posición de O4.

Por otro lado, las zonas con una baja densidad electrónica se encuentran principalmente en los hidrógenos H7, H3' y H4', sugiriendo posibles sitios electrofílicos.

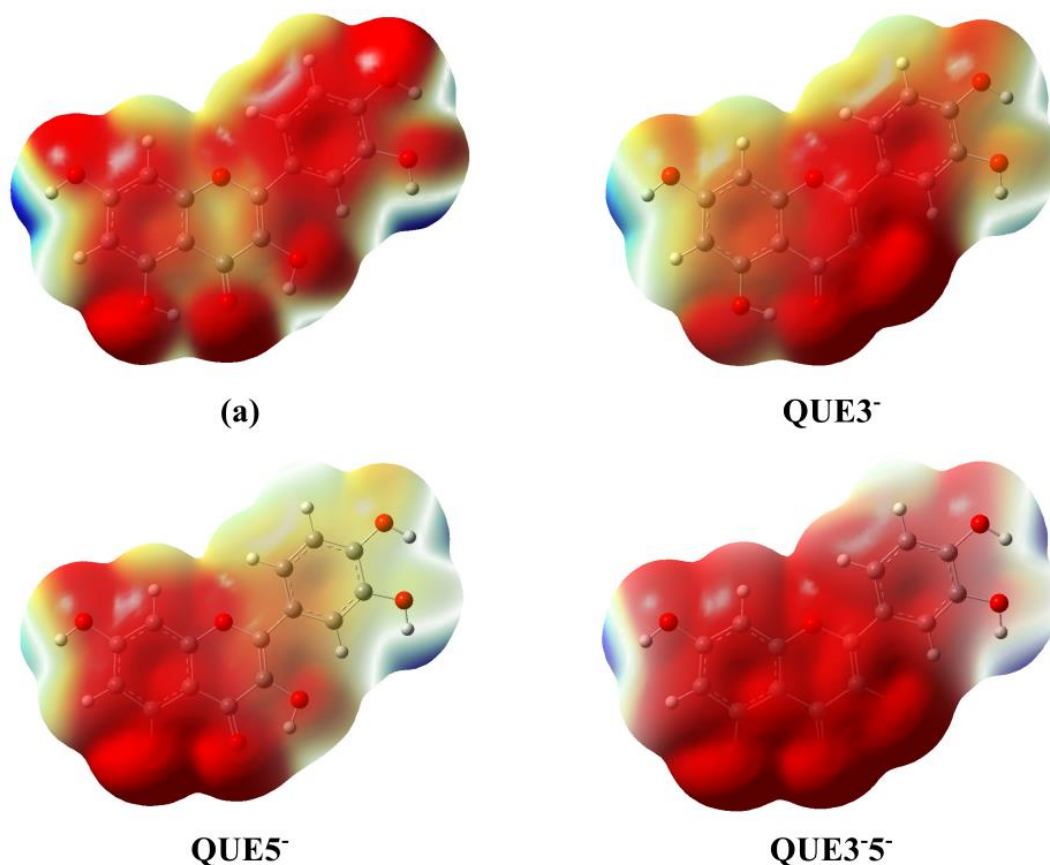


Figura 22. Mapas de potencial electrostático molecular de la quercetina (a) y sus aniones. Las zonas rojas indican una alta densidad electrónica (potencial negativo), mientras que las zonas azules una baja densidad electrónica (potencial positivo). Calculados a nivel de teoría M062X/6-31+G(d).

Las cargas *APT* (*Atomic Polar Tensor*) son cargas relacionadas con la respuesta del momento dipolar ante pequeños desplazamientos de los núcleos atómicos. Son derivadas del momento dipolar respecto a las coordenadas cartesianas de los átomos, por lo que están vinculadas directamente con propiedades espectroscópicas y la polarización electrónica local. Las cargas *APT* representan el número de electrones activos en los átomos (123).

Estas cargas no muestran una gran dependencia al conjunto de bases (124). Asimismo, exhiben una baja variación y mayor robustez frente a cambios

metodológicos, a diferencia de otros análisis como las cargas de Mulliken, que pueden variar de manera considerable y son dependientes del método (125).

La Tabla 7 muestra las cargas *APT* de los oxígenos desprotonados y carbonos aledaños. Los valores coinciden con la información que proveen los mapas de potencial electrostático molecular. Al desprotonar un grupo hidroxilo el oxígeno adquiere una carga más negativa. Este aumento de la densidad electrónica puede estabilizar especies positivas cercanas y facilitar la transferencia de electrones (126).

Metales como el Cu(II) presentan un carácter electrofílico, lo que facilita su interacción con moléculas cargadas negativamente y promueve reacciones de transferencia de carga (127). Cuando el Cu(II) se enlaza a un oxígeno con carga negativa, existe una transferencia de electrones desde los orbitales *p* del oxígeno hacia los orbitales *d* del cobre. Lo anterior incrementa el carácter covalente del enlace, puesto que el Cu(II) actúa como aceptor de electrones, mientras que el oxígeno como donador (128). De esta forma, la coordinación extiende el sistema conjugado de la quercetina, lo que se refleja a través de cambios en los espectros UV/Vis (121,129).

Los carbonos enlazados al oxígeno desprotonado adquieren una carga más positiva. El oxígeno con carga negativa es altamente electronegativo, por lo que tiende a atraer electrones. Por lo tanto, el carbono al que se encuentra enlazado experimenta una disminución en su densidad electrónica. Esto se conoce como efecto inductivo. El efecto inductivo se define como la capacidad de un átomo o grupo para atraer electrones a través de enlaces sigma, impactando en la distribución de carga en una molécula. El oxígeno posee una alta electronegatividad que ejerce un fuerte efecto inductivo en compuestos neutros. No obstante, al aumentar su densidad electrónica, su capacidad para atraer electrones de los átomos vecinos se intensifica (130).

A su vez, la densidad electrónica aumenta en los carbonos C2, C10 y C6. Esto se debe a que el oxígeno con carga negativa incrementa la densidad electrónica del sistema al que está unido, principalmente en posiciones orto y para en el anillo.

Los electrones no enlazantes del oxígeno desprotonado pueden interactuar con el sistema conjugado (126).

Tabla 7. Cargas APT de la conformación más estable de quercetina (a) y sus aniones.

Molécula/ Átomos	(a)	QUE3 ⁻	QUE5 ⁻	QUE3'5 ⁻
O3	-0.638	-0.848	-0.712	-0.850
O4	-1.083	-1.109	-0.991	-0.911
O5	-0.823	-0.900	-0.963	-1.021
C2	0.816	-0.180	0.269	-0.597
C3	-0.298	0.259	0.011	0.563
C4	1.439	1.262	1.307	1.170
C5	0.863	0.782	0.973	0.945
C6	-0.405	-0.433	-0.496	-0.563
C10	-0.610	-0.450	-0.808	-0.714

5.4. Complejos quercetina–Cu(II)

Se incluyeron moléculas de agua y metanol con la finalidad de conservar la geometría de coordinación con cuatro ligandos del cobre. Existen otras razones en la elección específica de estos solventes: el entorno de interés, solubilidad de la quercetina y utilización en espectroscopia UV/Vis.

El agua y el metanol son solventes ampliamente utilizados en espectroscopia UV/Vis (131). A nivel experimental, el solvente más popular en la espectroscopia UV/Vis de la quercetina y sus complejos metálicos es el metanol (132–139). Un gran número de flavonoides presentan la mayor solubilidad en este disolvente, lo que es un factor importante, ya que las disoluciones suelen prepararse con polvos del flavonoide, pero los grupos de polvo no se disuelven inmediatamente. La quercetina es poco soluble en agua (75). No obstante, es interesante estudiar la microsolvatación con agua puesto que las aplicaciones más ambiciosas de los biosensores de quercetina son *in vitro* e *in vivo*.

La Figura 23 muestra las conformaciones optimizadas de los complejos de coordinación quercetina–Cu(II). En todos los complejos, el átomo de cobre se mantiene en el mismo plano que el flavonoide. No obstante, en los complejos con

dos moléculas de solvente ($2\text{H}_2\text{O}$ o 2MeOH) se presentan dos geometrías de coordinación: cuadrada plana distorsionada en el caso de $\text{QUE3}^-\text{Cu(II)}_2\text{MeOH}$, $\text{QUE5}^-\text{Cu(II)}_2\text{H}_2\text{O}$ y $\text{QUE5}^-\text{Cu(II)}_2\text{MeOH}$; y tetraédrica distorsionada para el resto de quelatos.

Las geometrías de coordinación se desvían de una geometría ideal debido a la repulsión entre los ligandos. Esto se refleja en parámetros como los ángulos de enlace M-L-M (140°).

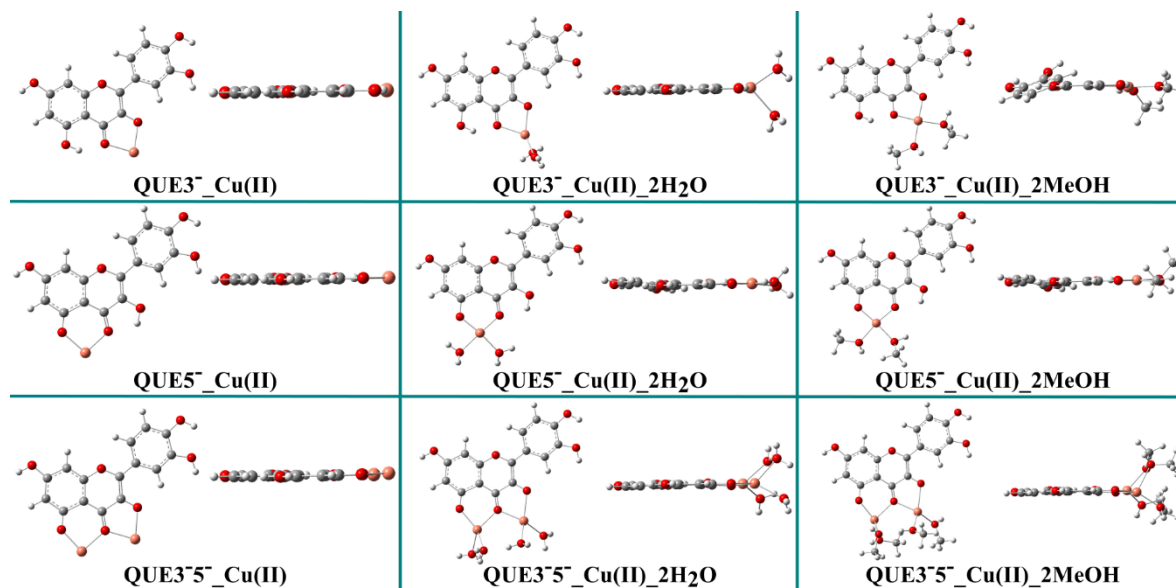


Figura 23. Frente, perfil y nomenclatura de los distintos quelatos QUE-Cu(II) . Estructuras optimizadas a nivel de teoría $\text{M062X-D3/6-31+G(d)}$.

La Figura 24 indica la numeración empleada de los átomos relevantes en los complejos de coordinación, mientras que la Tabla 8 da a conocer sus distancias de enlace y ángulos.

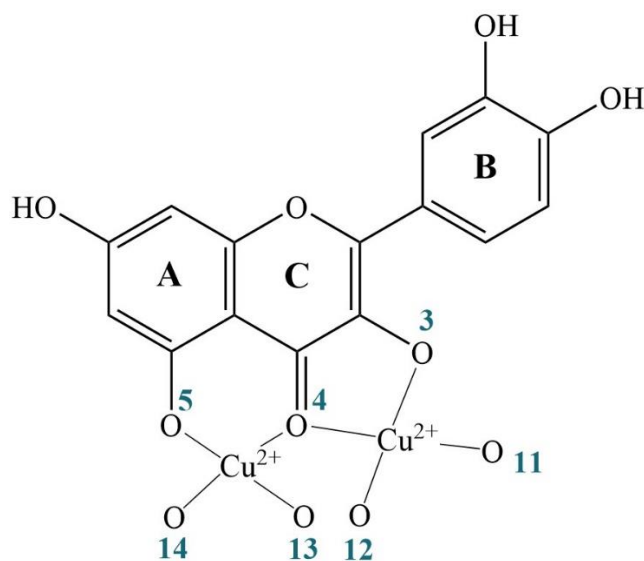


Figura 24. Numeración empleada para los átomos de interés en los complejos de coordinación QUE_Cu(II), incluyendo a los oxígenos pertenecientes a las moléculas de solvente (H_2O o MeOH).

De manera general, se aprecian ligeras variaciones en los valores de distancias de enlace. Los enlaces C3–O3 y C5–O5 se acortan ligeramente al formar los complejos, mientras el enlace C4–O4 se alarga, coincidiendo por lo reportado por (141). El caso del último enlace es consistente con lo reportado por (83), donde los investigadores obtuvieron monocristales aptos para difracción de rayos X de un quelato de morina con Fe(III).

Por otro lado, el ligando se mantiene coplanar en la mayoría de los casos. El ángulo diedro entre los anillos AC y B (C3–C2–C1'–C2') se mantiene igual o cercano a 0.0. No obstante, en el complejo QUE3⁻_Cu(II)_2MeOH dicho ángulo posee un valor de -23.3 grados, modificando ligeramente las distancias de los puentes de hidrógeno entre los anillos. Lo anterior podría deberse a la repulsión entre las moléculas de metanol y el anillo B.

Posteriormente se presenta un análisis más detallado sobre los enlaces de coordinación quercetina–cobre.

Tabla 8. Distancias de enlace (Å) y ángulos de interés en los complejos de coordinación QUE_Cu(II).

Complejo	QUE3' Cu(II)			QUE5' Cu(II)			QUE3'5' Cu(II)		
		2H ₂ O	2MeOH		2H ₂ O	2MeOH		2H ₂ O	2MeOH
C3-O3	1.268	1.261	1.339	1.325	1.358	1.359	1.230	1.221	1.221
C4-O4	1.264	1.253	1.309	1.270	1.303	1.301	1.290	1.266	1.262
C5-O5	1.329	1.331	1.343	1.260	1.321	1.317	1.250	1.249	1.249
Cu-O3	2.063	2.105	1.880				2.115	2.268	2.314
Cu-O4	2.067	2.169	1.926				2.072	2.105	2.107
Cu-O11		2.228	2.002					2.159	2.075
Cu-O12		2.095	2.001					2.085	2.143
Cu-O5				1.991	1.855	1.852	1.970	2.035	2.021
Cu-O4				2.011	1.894	1.907	2.083	2.121	2.173
Cu-O13					2.012	2.019		2.245	2.084
Cu-O14					2.028	2.019		2.169	2.260
O3H3...O4				1.932	2.042	2.042			
O5H5...O4	1.827	1.817	1.832						
O4'H4'...O3'	2.112	2.116	2.133	2.117	2.127	2.127	2.097	2.100	2.101
C2'H2'...O3	2.127	2.131	2.277	2.133	2.132	2.137	2.152	2.147	2.152
C6'H6'...O1	2.291	2.297	2.398	2.313	2.309	2.318	2.295	2.309	2.307
C3-O3-H3/ C3-O3-Cu	111.0	114.2	109.5	106.0	106.5	106.3	113.3	113.2	112.7
C4-O4-Cu	110.9	112.3	108.8				115.4	120.1	121.1
C4-O4-Cu				120.7	122.8	123.3	122.3	126.1	126.0
C5-O5-H5/ C5-O5-Cu	110.1	109.5	108.7	126.1	125.7	126.2	131.0	133.5	134.7
O3-Cu-O4	81.4	77.5	87.4				78.1	73.6	72.7
O3-Cu-O12		137.6	175.5					137.0	131.0
O3-Cu-O11		126.4	87.4					119.3	116.8
O4-Cu-O12		127.8	94.9					105.1	97.3
O12-Cu-O11		79.8	90.5					86.7	99.9
O11-Cu-O4		111.8	173.2					145.3	143.0
O4-Cu-O5				95.6	98.4	97.6	91.3	86.3	85.2
O4-Cu-O13					88.9	87.4		136.3	114.5
O4-Cu-O14					177.4	171.4		108.4	102.7
O5-Cu-O14					83.3	90.6		131.5	112.1
O14-Cu-O13					89.6	84.5		78.9	93.4
O13-Cu-O5					171.8	174.9		121.9	144.1
C3-C2-C1'-C2'	0.0	-1.1	-23.3	0.0	7.8	9.9	0.0	-1.2	-1.8

La Tabla 9 expone las energías globales, los valores de momento dipolar y polarizabilidad de los complejos de coordinación.

Tabla 9. Valores de energías globales (kcal/mol), momento dipolar (μ) y polarizabilidad (α) de los complejos de coordinación quercetina-cobre.

Complejo	Energía global (kcal/mol)	μ (Debyes)	α (u.a.)
QUE3 ⁻ _Cu(II)	-1721405.25	3.57	282.13
QUE3 ⁻ _Cu(II)_2H ₂ O	-1817315.17	7.41	289.51
QUE3 ⁻ _Cu(II)_2MeOH	-1866622.50	12.74	282.82
QUE5 ⁻ _Cu(II)	-1721394.93	3.16	417.19
QUE5 ⁻ _Cu(II)_2H ₂ O	-1817324.01	15.53	265.14
QUE5 ⁻ _Cu(II)_2MeOH	-1866624.15	15.13	287.62
QUE3 ⁵⁻ _Cu(II)	-2750087.49	4.86	313.43
QUE3 ⁵⁻ _Cu(II)_2H ₂ O	-2941925.89	6.85	346.45
QUE3 ⁵⁻ _Cu(II)_2MeOH	-3040524.72	5.10	391.49

De manera global, los quelatos presentan una mayor estabilidad que la quercetina neutra y sus respectivos aniones. En el caso de los complejos con un solo átomo de cobre, muestran una estabilidad similar. No obstante, los complejos con el sitio de quelación O5–O4 son ligeramente más estables que los complejos con el sitio O3–O4. Coincidiendo con lo reportado para el complejo morina–Fe(III) reportado por (83). En adición, los complejos con una geometría de coordinación cuadrada plana distorsionada son más estables debido a la preferencia del cobre hacia dicha geometría. La distorsión hacia una geometría tetraédrica ocurre solo bajo condiciones de repulsión estérica o ligandos específicos y suele ser menos estable (142).

La formación de quelatos da lugar a estructuras de anillos de cinco (cuando el metal se coordina con O3 y O4) o de seis miembros (cuando el metal se coordina con O5 y O4), siendo el anillo de seis miembros el más estable. En estructuras metal–orgánicas, los anillos de seis miembros permiten una mayor variedad de arreglos espaciales y suelen ser más rígidos y estables que los anillos de cinco miembros (83,143). A pesar de lo anterior, el sitio de quelación preferencial se encuentra entre la fracción carbonilo e hidroxilo del anillo C (sitio O3–O4) (8,83,144–146). La razón es que el hidrógeno en O3H3 es más ácido, gracias al efecto estabilizador del grupo carbonilo cercano al formar el fuerte puente de hidrógeno O4...O5 (144).

Los complejos quercetina-Cu(II) formados con el dianión (QUE3⁵⁻) muestran una energía global más negativa que el resto de los complejos, por lo que podría intuirse que son más estables. No obstante, la literatura señala que estos complejos no pueden formarse a nivel experimental debido al impedimento estérico, por lo que no han sido reportados (8,141,146,147). En adición, las energías de enlace reducidas (Figura 25) muestran que las distancias de los enlaces de coordinación son mayores en los complejos formados con el dianión, por lo que la interacción podría no ser favorable. Las distancias más cortas entre el centro metálico y los ligandos corresponden a interacciones más fuertes (148). La obtención de un complejo QUE3⁵⁻-Cu(II) podría ser un buen desafío para los químicos experimentales.

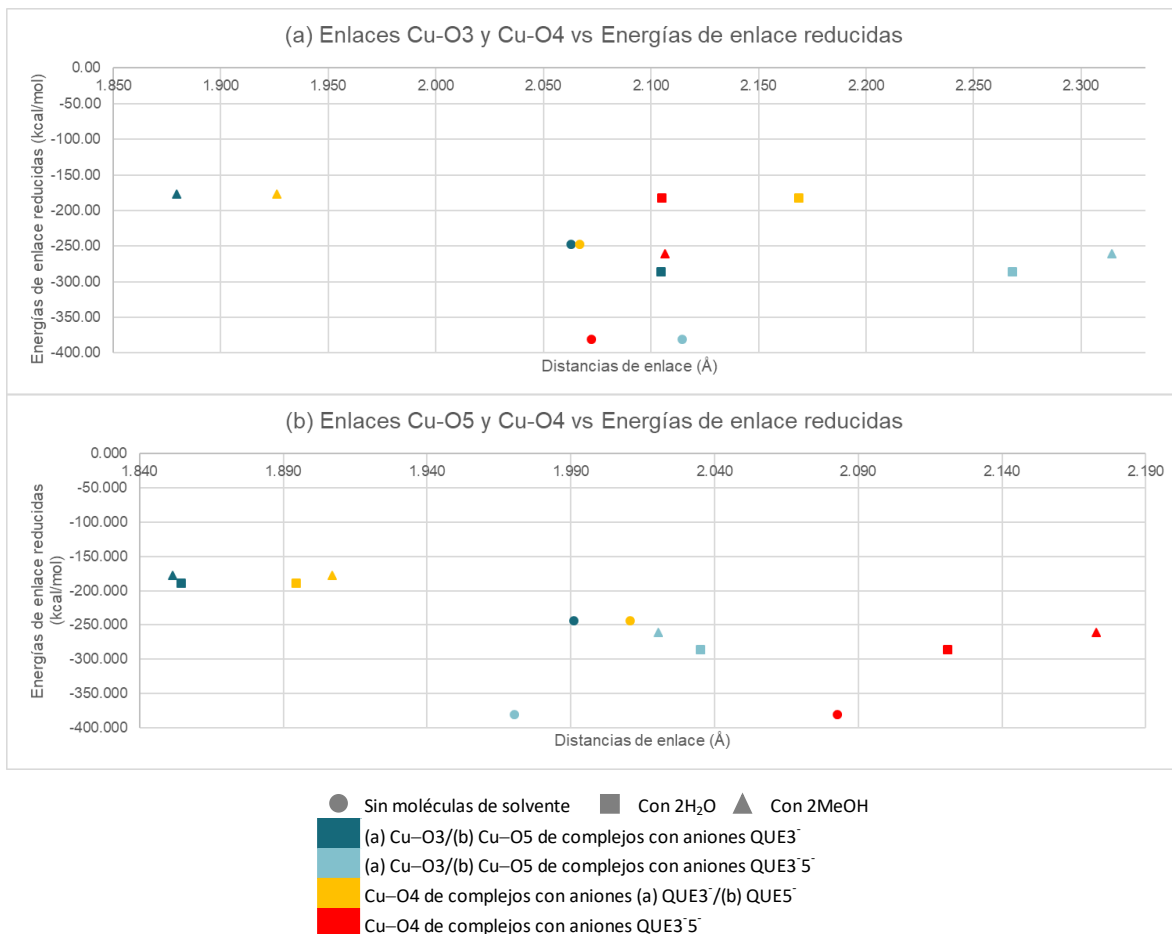


Figura 25. Energías de enlace reducidas y distancias de enlace de los complejos quercetina-Cu(II).

Los complejos poseen valores de momento dipolar mayores que la quercetina neutra. Por otra parte, en los quelatos sin presencia de moléculas de solvente el momento dipolar disminuye en comparación a sus respectivos aniones. No obstante, los valores incrementan considerablemente al incorporar moléculas de solvente para los complejos formados con los monoaniones, principalmente en los casos con el sitio de quelación O4–O5.

El momento dipolar es el resultado de la suma de los momentos dipolares locales (enlaces o grupos funcionales) y de la distribución de cargas a lo largo de la molécula. En los complejos, un momento dipolar significativo indica la existencia de una separación de cargas notable en la región bajo estudio. Dicha separación local contribuye al momento dipolar total de la molécula, haciéndola más polar en conjunto. Al incluir los momentos dipolares de los solventes se incluyen momentos dipolares locales, lo que puede incrementar o disminuir el momento dipolar global dependiendo de la suma vectorial (si los vectores están alineados o se cancelan entre sí). En moléculas con sistemas conjugados, como la quercetina, la deslocalización de electrones puede facilitar la transferencia de carga a través de la molécula, amplificando el efecto de los momentos dipolares locales sobre la polaridad total (149).

Todos los quelatos poseen una polarizabilidad más alta que la quercetina neutra y sus respectivos aniones. Cuando la quercetina se coordina con un ion metálico como el cobre se produce una interacción entre los orbitales del metal y los electrones de la quercetina. La deslocalización electrónica aumenta, puesto que el cobre acepta densidad electrónica de los grupos donadores de la quercetina, provocando que la nube electrónica sea más deformable. Asimismo, los metales de transición poseen campos eléctricos que inducen una mayor polarización en las moléculas orgánicas a las que se coordinan (150).

Un análisis de densidad de spin indica en cuáles átomos o regiones de la molécula se concentra la densidad de spin, es decir, dónde existe una mayor probabilidad de encontrar electrones no apareados (151).

La transferencia de carga metal–ligando (*metal to ligand charge transfer*, *MLCT*) o ligando–metal (*ligand to metal charge transfer*, *LMCT*) implica el movimiento de

electrones entre el centro metálico y el ligando, alterando la densidad de carga y la densidad de spin. El análisis de densidad de spin muestra cómo, tras una transferencia de carga, los electrones no apareados pueden localizarse en el ligando o en el metal (152).

El cobre neutro cuenta con 29 electrones, y su configuración electrónica es $[\text{Ar}]4s^13d^{10}$. Al perder dos electrones (Cu(II)), su configuración pasa a ser $[\text{Ar}]3d^9$. Ambos casos presentan un electrón desapareado, por lo que su multiplicidad es 2 (son dobletes). Los complejos de quercetina con un solo átomo de cobre son dobletes, mientras que, los complejos con dos átomos de cobre pasan a ser singletes (todos sus electrones se encuentran apareados). Por lo tanto, el análisis de densidad de spin no es aplicable a estos últimos (Figura 26).

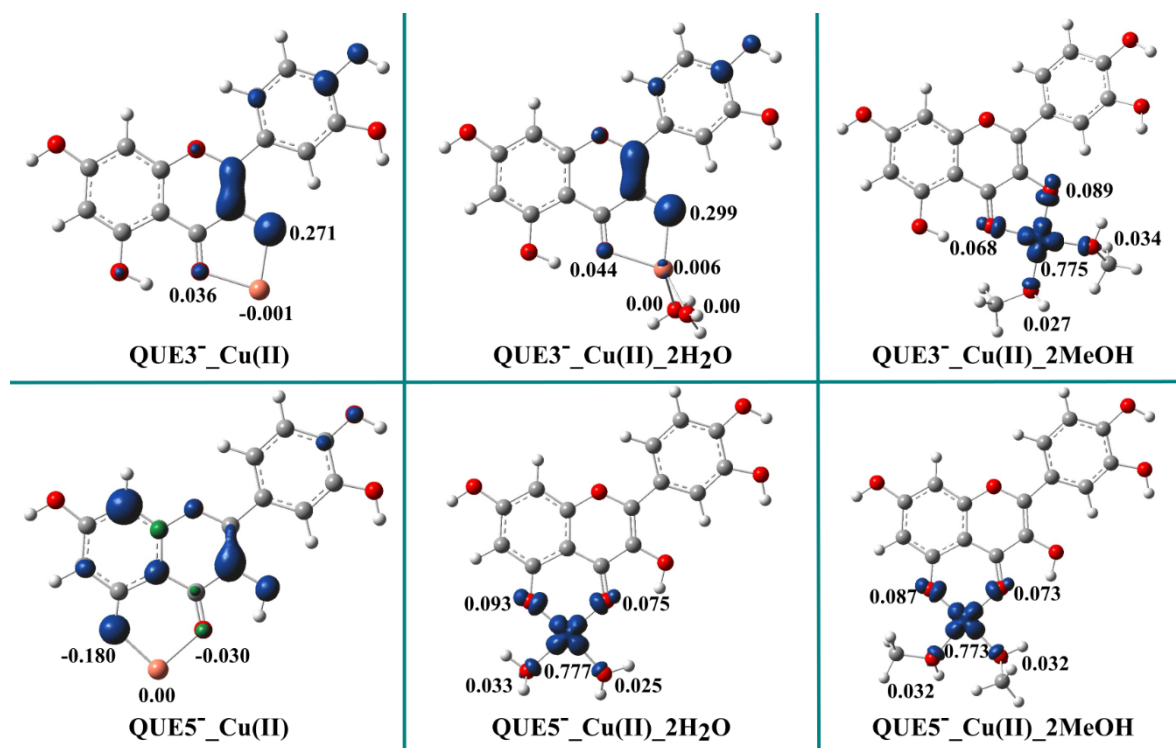


Figura 26. Análisis de densidad de spin de los complejos de coordinación de capa abierta.

Los quelatos sin moléculas de solvente indican que la densidad de spin se sitúa en el ligando. En complejos de Cu(II) con ligandos aromáticos, la densidad de spin no se ubica únicamente en el centro metálico (ya que existe una interacción importante entre el metal y el sistema π del flavonoide) sino que también puede distribuirse en los anillos del flavonoide debido a la correlación electrónica (153).

En los complejos con geometría de coordinación cuadrada plana distorsionada se confirma la presencia del electrón desapareado en los centros metálicos, de manera consistente con lo reportado por (78). Asimismo, las isosuperficies sugieren la participación de los orbitales d del cobre.

5.5. Cálculo de espectros de absorción

La Tabla 10 presenta las transiciones calculadas, sus correspondientes fuerzas de oscilador (f) y las probabilidades de transición de los orbitales electrónicos para la molécula de quercetina, sus aniones y quelatos. Se seleccionaron las transiciones con mayor fuerza de oscilador y los OM con mayor porcentaje de contribución en cada transición.

Tabla 10. Transiciones con las correspondientes intensidades de oscilador (f), la probabilidad de transición de un orbital electrónico en porcentajes y la naturaleza de la transición. Calculadas a nivel de teoría TD- ω B97XD/6-31+g(d).

Longitud de onda (λ en nm)	Fuerza de oscilador (f)	Contribución de orbitales	Naturaleza de la transición*
(a) QUE			
325.8	0.59	HOMO→LUMO (89%)	ICT
218.2	0.59	H-2→LUMO (39%)	ICT
QUE3⁻			
414.2	0.42	HOMO→LUMO (97%)	ICT
240.4	0.22	H-3→LUMO (59%)	
QUE5⁻			
372.0	0.27	HOMO→LUMO (82%)	ICT
248.0	0.28	H-3→LUMO (75%)	ICT
QUE3⁻5⁻			
382.8	0.50	HOMO→L+4 (93%)	ICT
301.4	0.10	H-1→L+4 (41%)	ICT
QUE3⁻_Cu(II)			
744.8	0.13	HOMO(β)→LUMO(β) (83%)	ICT
455.0	0.36	HOMO(α)→LUMO(α) (61%)	ICT
QUE3⁻_Cu(II)_2H₂O			
684.6	0.10	HOMO(β)→LUMO(β) (78%)	ICT
443.5	0.25	HOMO(α)→LUMO(α) (50%)	ICT
344.7	0.05	H-2(α)→LUMO(α) (36%)	ICT
QUE3⁻_Cu(II)_2MeOH			
384.2	0.53	HOMO(α)→LUMO(α) (44%)	ICT
325.3	0.08	H-2(β)→LUMO(β) (35%)	LMCT
QUE5⁻_Cu(II)			
454.3	0.07	HOMO(α)→LUMO(α) (38%)	ICT
371.7	0.23	HOMO(β)→L+1(β) (28%)	ICT
QUE5⁻_Cu(II)_2H₂O			

383.3	0.69	HOMO(α) $\rightarrow$ LUMO(α) (41%)	ICT
306.4	0.07	H-6(β) $\rightarrow$ LUMO(β) (62%)	LMCT
QUE5⁻_Cu(II)_2MeOH			
382.1	0.67	HOMO(α) $\rightarrow$ LUMO(α) (41%)	ICT
321.4	0.09	H-1(α) $\rightarrow$ LUMO(α) (35%)	ICT
QUE3⁻_Cu(II)			
677.2	0.35	HOMO $\rightarrow$ LUMO (95%)	ICT
477.8	0.12	H-3 $\rightarrow$ LUMO (69%)	ICT
398.4	0.19	H-6 $\rightarrow$ LUMO (55%)	MLCT
QUE3⁻_Cu(II)_2H₂O			
657.3	0.18	HOMO $\rightarrow$ LUMO (33%)	ICT
579.8	0.13	H-3 $\rightarrow$ LUMO (23%)	MLCT
364.5	0.20	H-13 $\rightarrow$ LUMO (67%)	ICT
QUE3⁻_Cu(II)_2MeOH			
706.8	0.14	HOMO $\rightarrow$ LUMO (42%)	MLCT
580.8	0.11	H-7 $\rightarrow$ LUMO (32%)	MLCT
364.7	0.21	H-13 $\rightarrow$ LUMO (66%)	ICT

*Según las isosuperficies de los OM obtenidas.

5.5.1. Espectro de absorción de la quercetina

El espectro UV/Vis de la mayoría de flavonoides (especialmente flavonoles, con un hidroxilo en el C3) se caracteriza por dos bandas principales: la banda asociada al sistema cinamoil en el rango de 320–385 nm (banda I), y la banda benzoil en el rango de 240–280 nm (banda II) (8,132,134–136,138,141,147,154–160) (Figura 27).

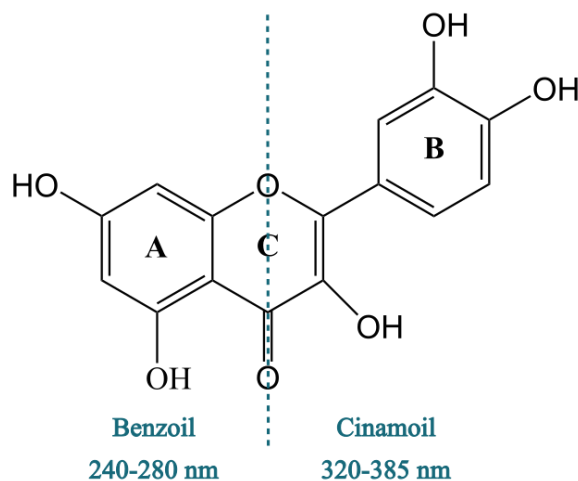


Figura 27. Sistemas benzoil y cinamoil de la quercetina.

El espectro de absorción UV/Vis calculado para la conformación más estable de la quercetina se muestra en la Figura 28. La banda I se sitúa a 325.8 nm, por lo que es consistente con lo reportado en la literatura. La banda II se encuentra a 218.2 nm, presentando un margen de error de 9%. La primera banda de absorción se asocia a una transición HOMO→LUMO (89%), mientras que en la segunda participan los orbitales HOMO-2→LUMO (39%). Se ha propuesto que estas transiciones son de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ dentro del sistema aromático de 3 anillos de la molécula de ligando (8,132,134,154,161,162), lo que coincide con las isosuperficies graficadas con los orbitales deslocalizados en gran medida.

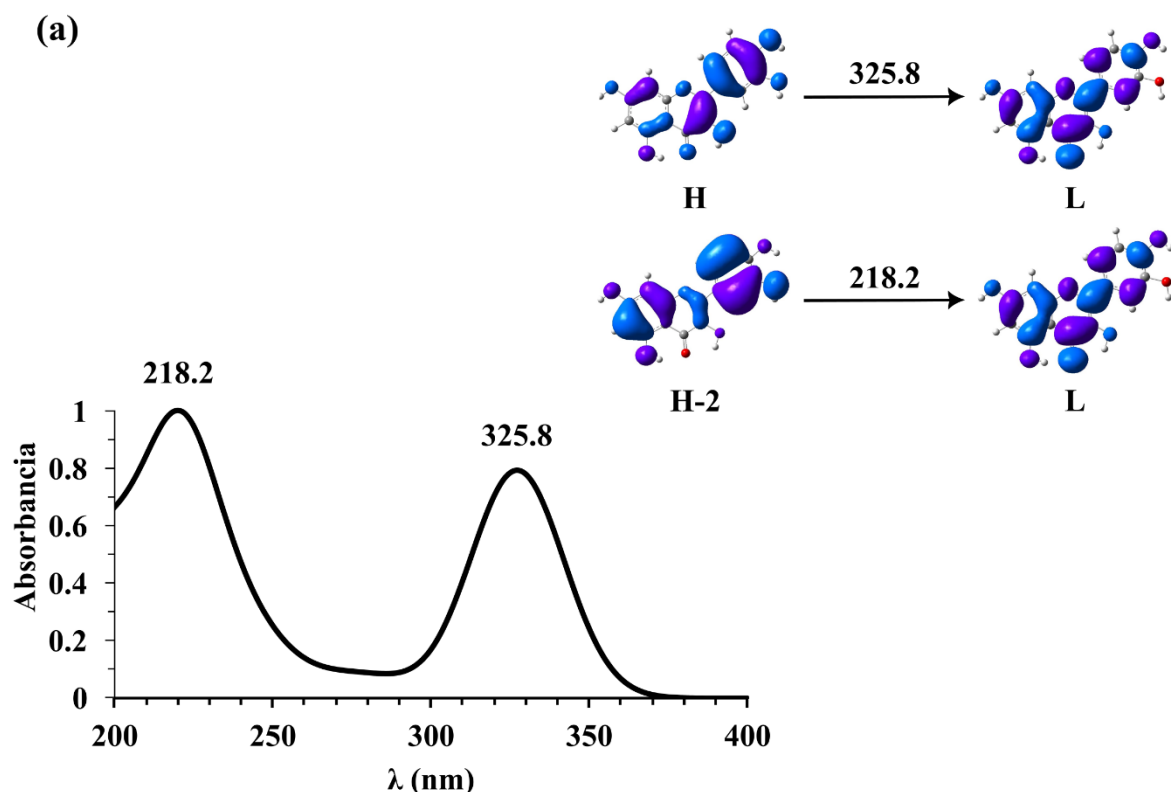


Figura 28. Espectro de absorción UV/Vis de la conformación más estable de la quercetina (a) calculado por TD-DFT y sus orbitales correspondientes implicados en las transiciones.

5.5.2. Espectros de absorción de aniones de quercetina

Las Figuras 29–31 muestran los espectros de absorción obtenidos y los orbitales moleculares involucrados en las transiciones para los aniones de quercetina (a).

Por otro lado, la Figura 32 expone una comparación de los espectros con la finalidad de apreciar los desplazamientos de las bandas.

QUE3⁻

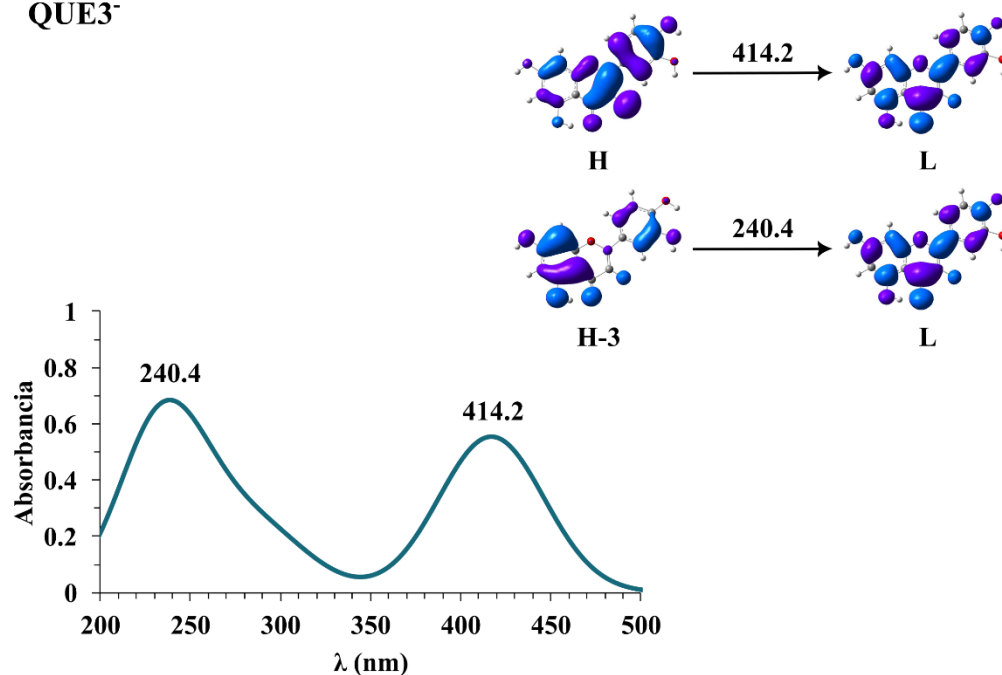


Figura 29. Espectro de absorción UV/Vis del anión QUE3⁻.

QUE5⁻

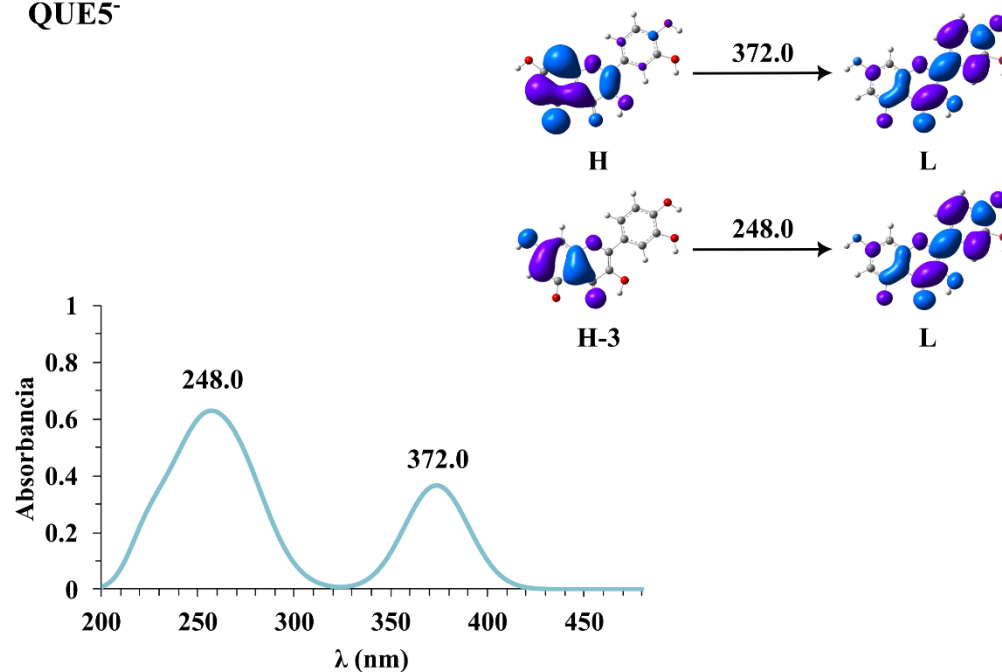


Figura 30. Espectro de absorción UV/Vis del anión QUE5⁻.

QUE3⁵⁻

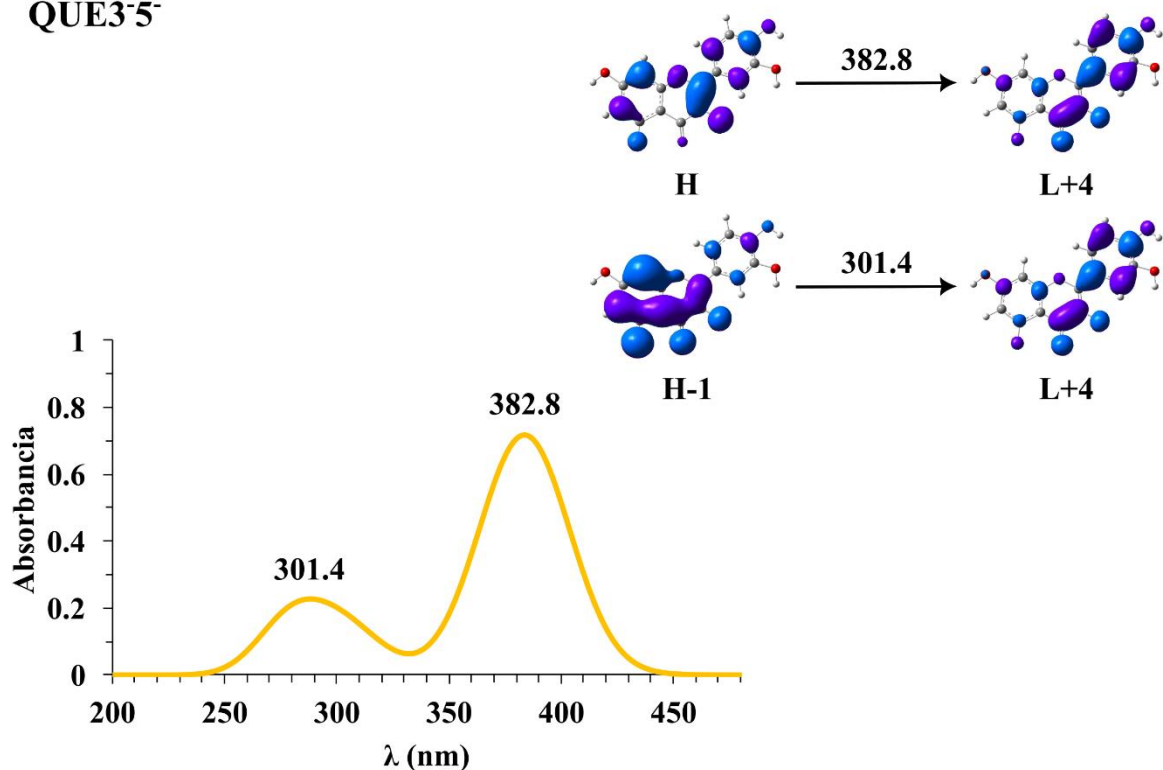


Figura 31. Espectro de absorción UV/Vis del anión QUE3⁵⁻.

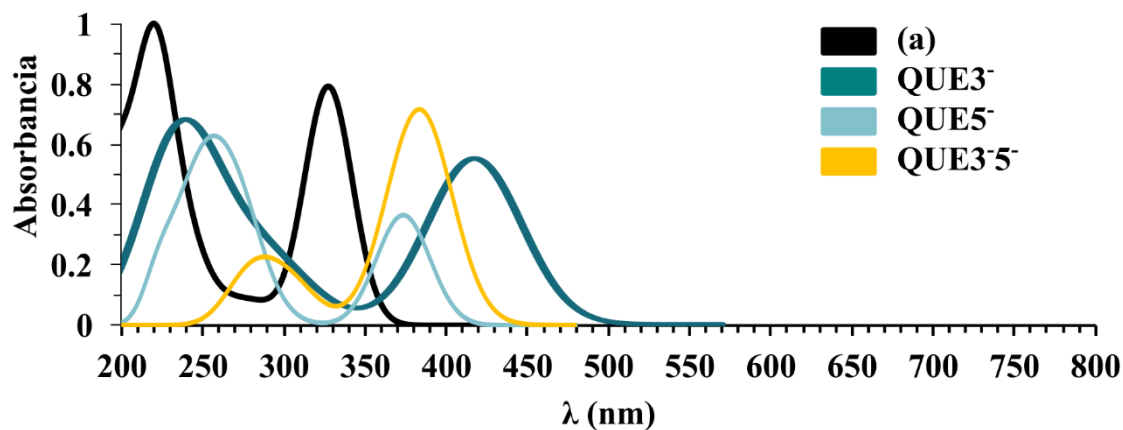


Figura 32. Espectros de absorción UV/Vis de quercetina (a) y sus respectivos aniones.

De manera general, se aprecia un ligero desplazamiento batocrómico y un efecto hipocrómico en los espectros de los aniones respecto al espectro de la quercetina neutra.

La desprotonación del grupo O³H³ conduce a la formación de un monoanión. En este estado, el oxígeno contribuye con su par de electrones no enlazantes al sistema π del anillo C (sistema cinamoilo), lo que incrementa significativamente la densidad electrónica y la conjugación en esta región del flavonoide. Como consecuencia, se produce una estabilización de los orbitales moleculares frontera, disminuyendo la brecha de energía entre los orbitales HOMO y LUMO implicados en la transición de la banda I (asociada al sistema cinamoilo). Este fenómeno resulta en un marcado desplazamiento batocrómico de dicha banda. Por el contrario, la banda II (asociada principalmente al sistema benzoilo del anillo A) no experimenta un cambio significativo, ya que la desprotonación en O³H³ posee una influencia menor sobre su sistema electrónico (163). Podría suceder algo similar al desprotonar el grupo hidroxilo en el carbono 5 (caso QUE5⁻).

Al generarse el dianión, la densidad electrónica y la conjugación se extienden a lo largo de toda la molécula, afectando tanto al sistema cinamoilo como al benzoilo. En este caso, tanto la banda I como la banda II experimentan un desplazamiento batocrómico.

Una limitación de este estudio es que no se consideran los valores de pK_a de la quercetina: 7.04, 8.55, 11.26, 13.06 y 15.26. Se ha propuesto que la quercetina se desprotona en el orden de los sitios 4', 7, 3, 5 y 3' (164). Por lo tanto, una comparación estricta con la información experimental no sería factible. No obstante, los espectros de absorción experimentales con valores de pH de 3 a 13 confirman que la desprotonación de la quercetina produce un desplazamiento de la bandas hacia el rojo (121). Asimismo, se obtuvieron los porcentajes de error de las señales obtenidas en los espectros calculados respecto a valores experimentales. Las desprotonaciones aisladas que se propusieron en nuestro estudio no se presentan a nivel experimental, pero se comparan con los casos con mayor similitud (Ver S2). Los porcentajes de error van de 5.0 a 20.5%, por lo que se obtuvo una aproximación bastante buena.

5.5.3. Espectros de absorción de los complejos de quercetina con Cu(II)

Las Figuras 33–44 exponen los espectros de absorción obtenidos y los orbitales moleculares involucrados en las transiciones para los complejos de coordinación con cobre y un par de moléculas de disolvente según sea el caso. Asimismo, se muestran las comparaciones de los espectros con la finalidad de apreciar los desplazamientos de las bandas.

QUE3⁻_Cu(II)

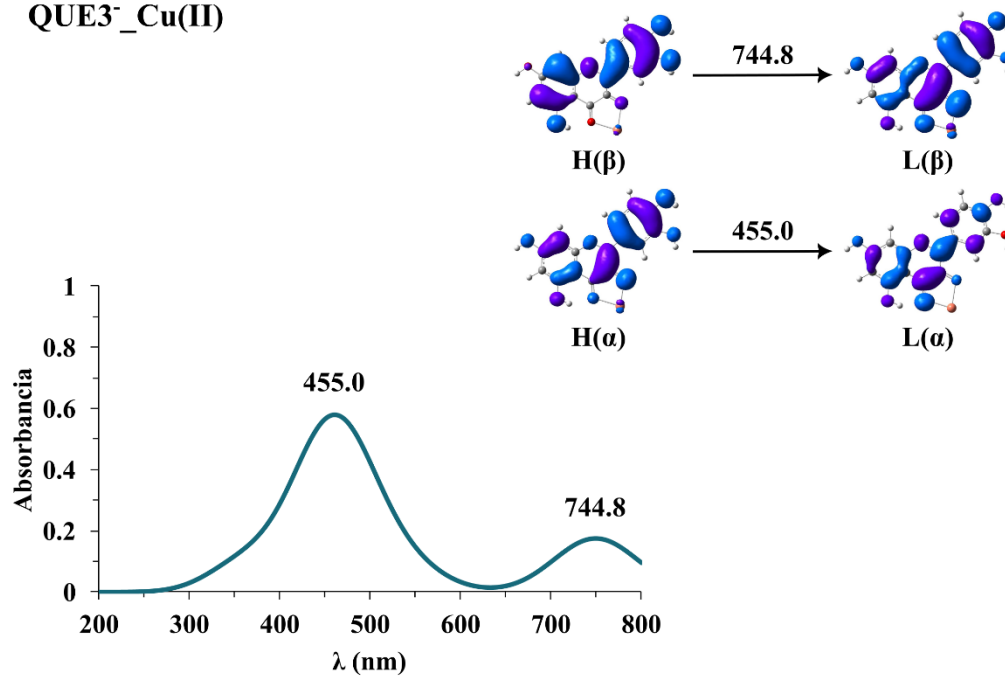


Figura 33. Espectro de absorción UV/Vis del complejo QUE3⁻_Cu(II).

QUE3⁻_Cu(II)_2H₂O

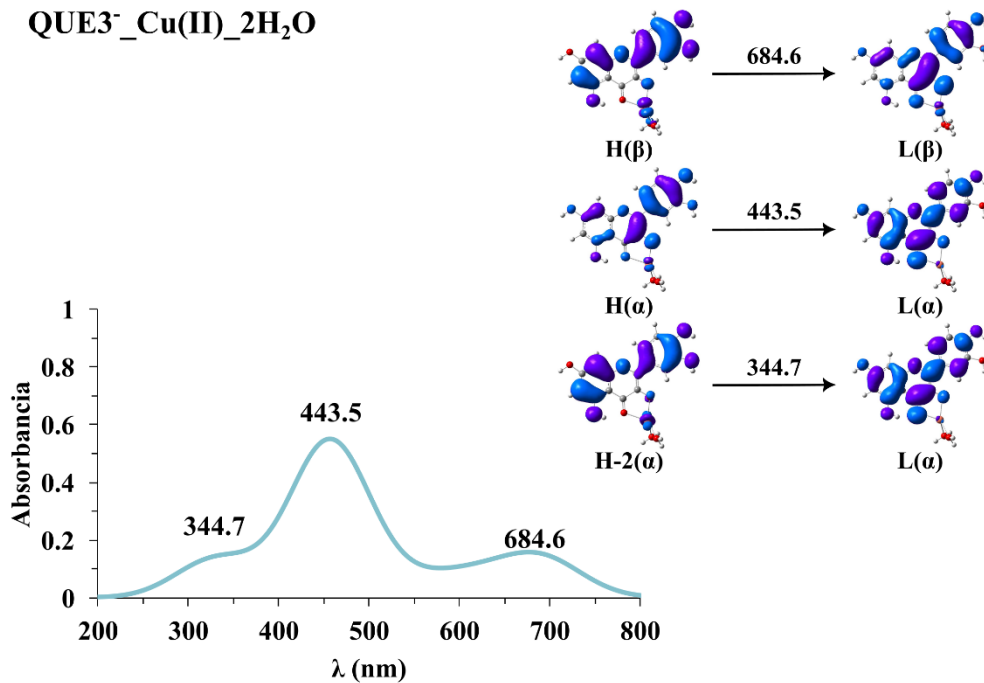


Figura 34. Espectro de absorción UV/Vis del complejo QUE3⁻_Cu(II)_2H₂O.

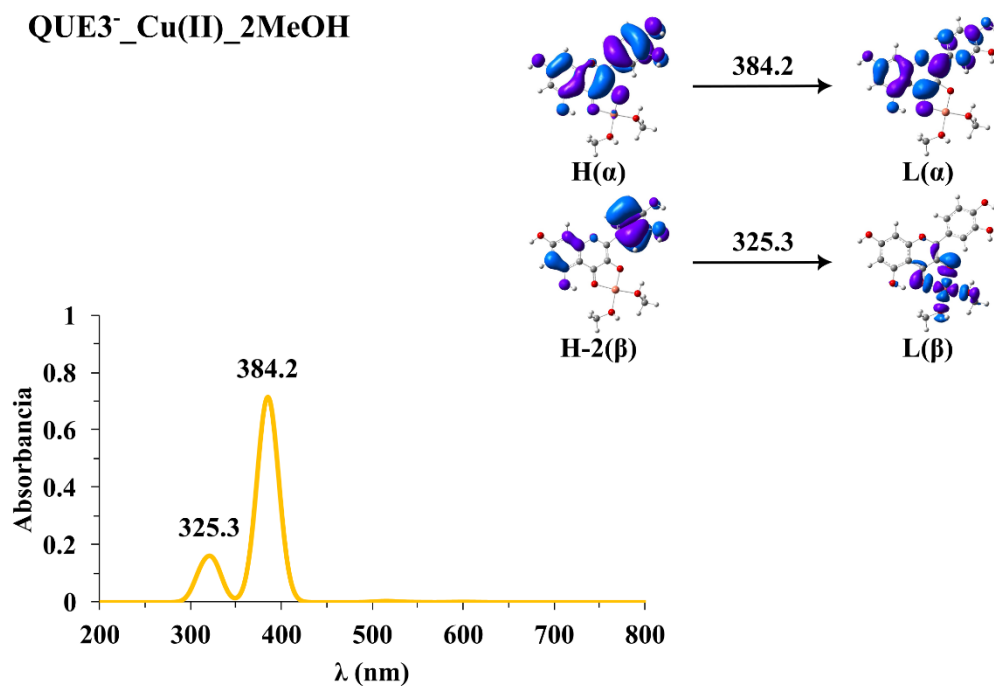


Figura 35. Espectro de absorción UV/Vis del complejo QUE3⁻_Cu(II)_2MeOH.

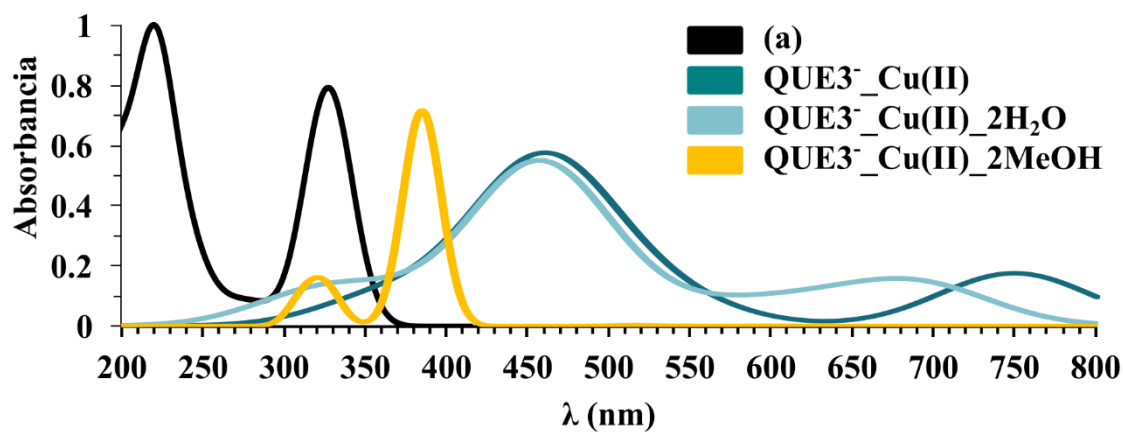


Figura 36. Espectros de absorción UV/Vis de quercetina (a) y los complejos formados con el anión QUE3⁻.

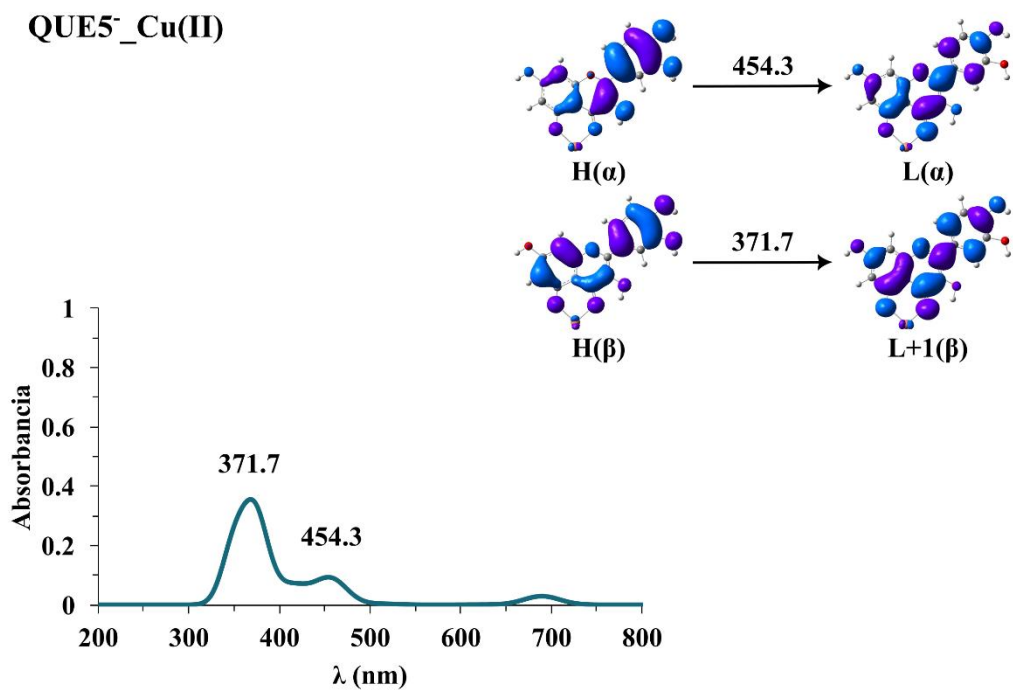


Figura 37. Espectro de absorción UV/Vis del complejo QUE5⁻_Cu(II).

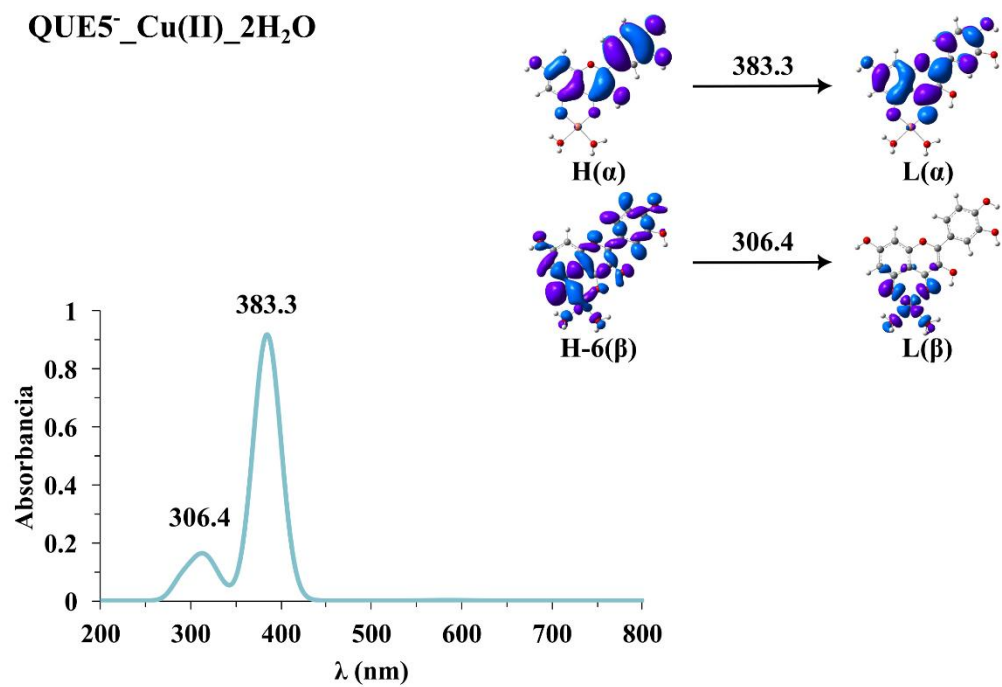


Figura 38. Espectro de absorción UV/Vis del complejo QUE5⁻_Cu(II)_2H₂O.

QUE5⁻_Cu(II)_2MeOH

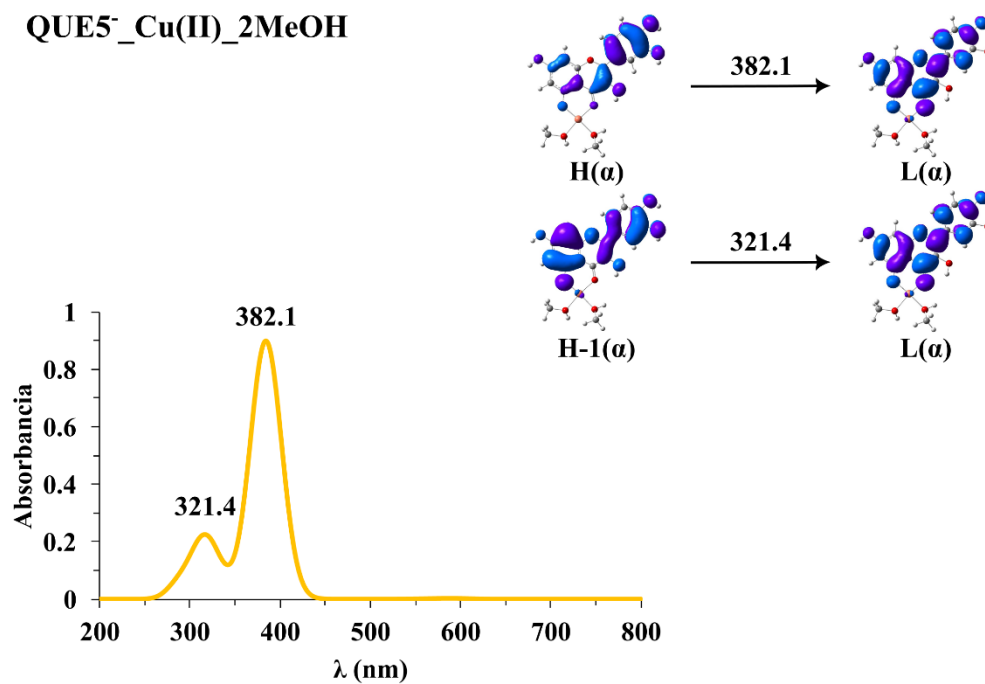


Figura 39. Espectro de absorción UV/Vis del complejo QUE5⁻_Cu(II)_2MeOH.

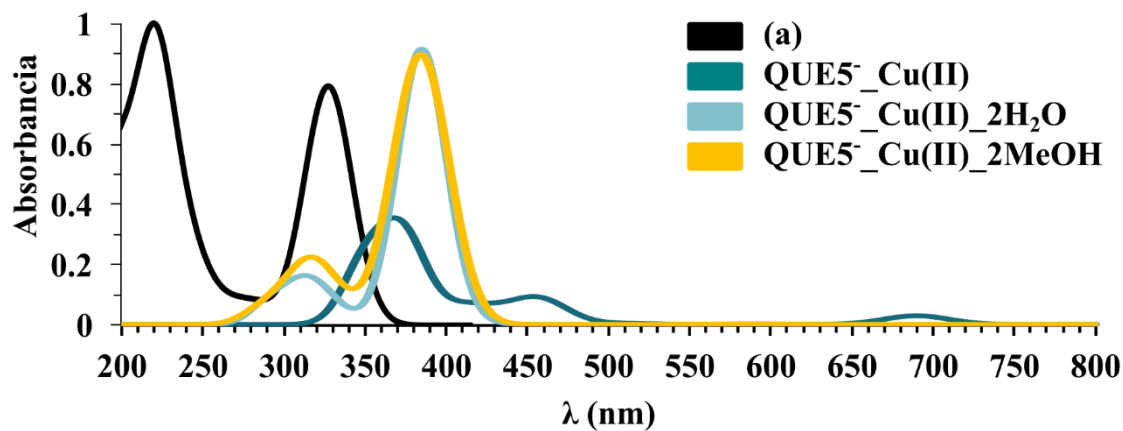


Figura 40. Espectros de absorción UV/Vis de quercetina (a) y los complejos formados con el anión QUE5⁻.

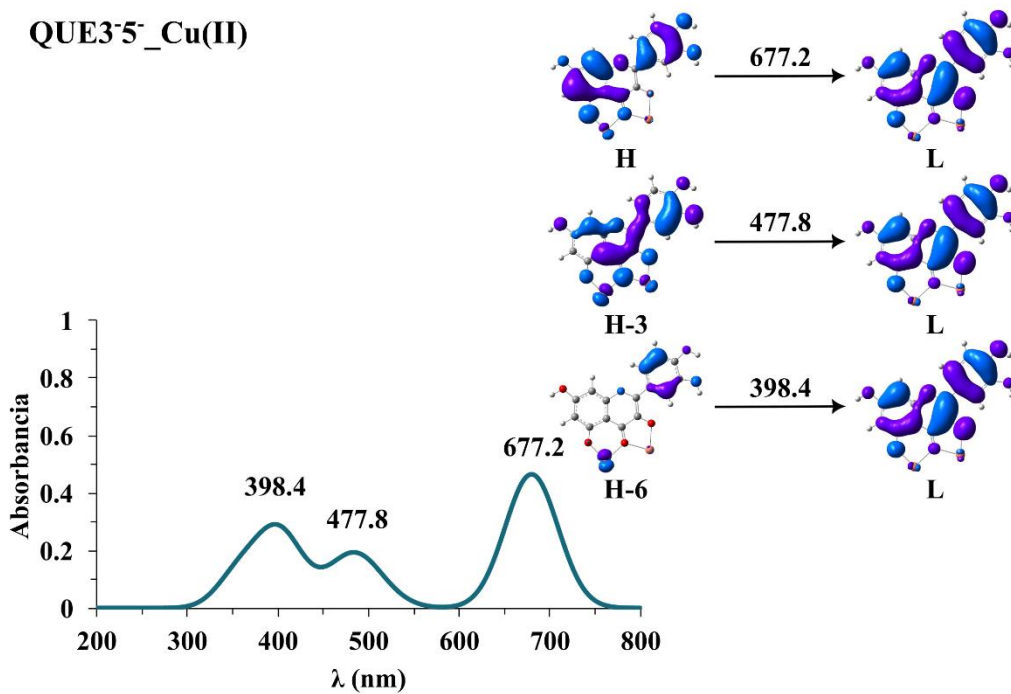


Figura 41. Espectro de absorción UV/Vis del complejo QUE3⁵⁻ Cu(II).

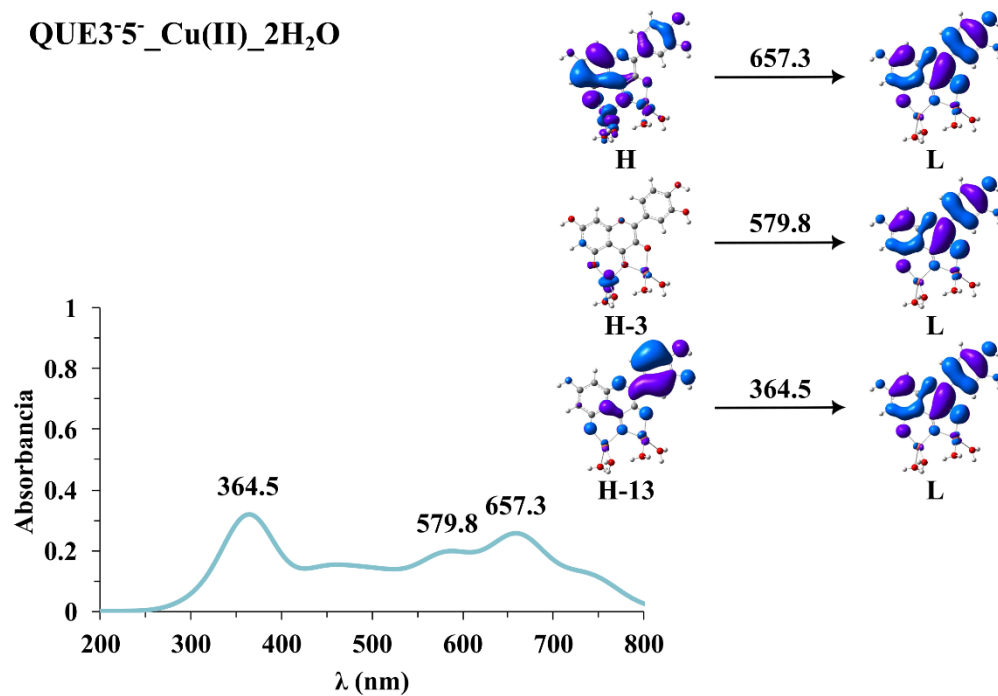


Figura 42. Espectro de absorción UV/Vis del complejo QUE3⁵⁻ Cu(II)_2H₂O.

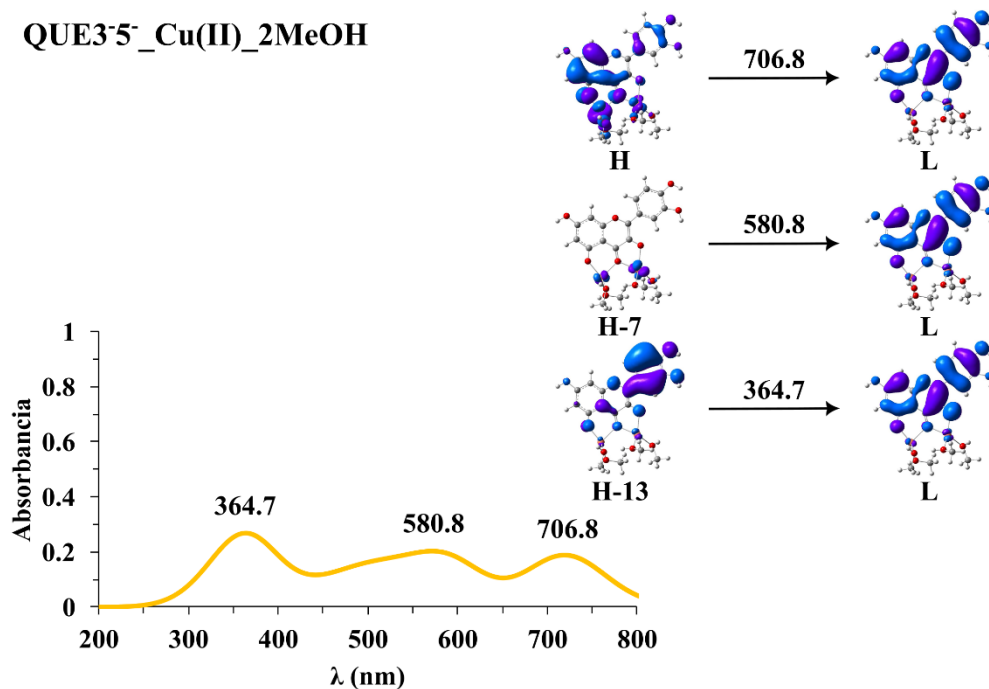


Figura 43. Espectro de absorción UV/Vis del complejo QUE3⁵⁻_Cu(II)_2MeOH.

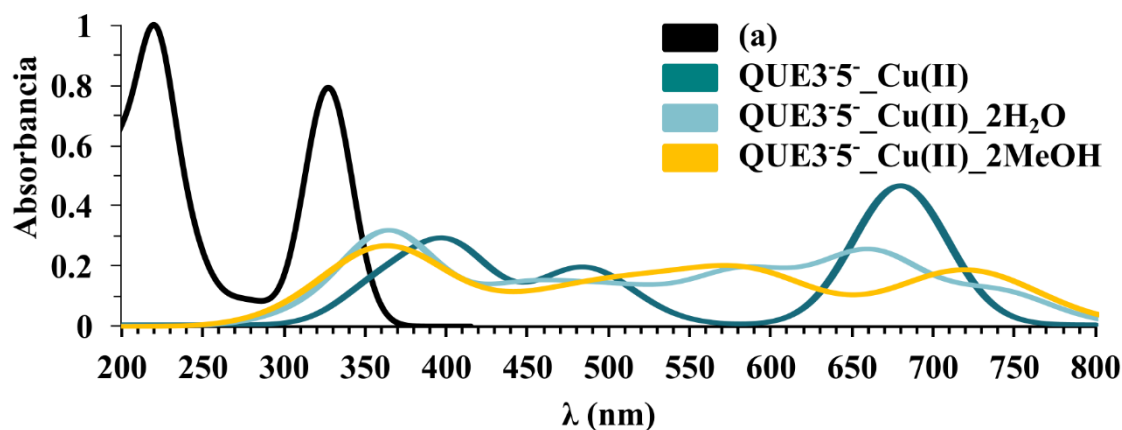


Figura 44. Espectros de absorción UV/Vis de quercetina (a) y los complejos formados con el anión QUE3⁵⁻.

De manera general, cuando la quercetina se coordina con iones de cobre el espectro UV/Vis presenta un desplazamiento batocrómico (hacia el rojo), lo que concuerda con lo reportado en la literatura (8,78,121,132,134,137,146,147,162). (8) precisa que la banda II no suele presentar grandes desplazamientos, mientras que la banda I exhibe grandes desplazamientos batocrómicos.

(132) señalan que los espectros UV/Vis aportan información significativa sobre los sitios de coordinación de los flavonoides. Un complejo metal–flavonoide 2:1 produce un cambio batocrómico en las dos bandas representativas de los flavonoides, coincidiendo con lo obtenido en el presente trabajo para los complejos $\text{QUE3}^{5-}\text{-Cu(II)}$.

Los desplazamientos en los espectros teóricos deberían ser indicativos de los cambios en las distribuciones de densidad electrónica, causados por la desprotonación de la quercetina y por la formación de sus complejos con cobre (121), lo que se confirma a través de los mapas de potencial electrostático molecular (ver S3). La coordinación del metal provoca una redistribución de la densidad electrónica, extendiendo la conjugación del sistema π del ligando y permitiendo un mayor solapamiento entre los orbitales del metal y los del ligando (8,132,137,162). Como resultado, la energía necesaria para promover un electrón desde el *HOMO* al *LUMO* disminuye, lo que se refleja en un desplazamiento de la banda de absorción hacia longitudes de onda más largas (de menor energía) (147). El incremento en los valores de momento dipolar y polarizabilidad en los aniones y quelatos también se refleja en el desplazamiento batocrómico calculado. Según las isosuperficies de los OM graficadas, en los complejos se producen transiciones de transferencia de carga intramolecular (*intramolecular charge transfer, ICT*) en la quercetina, de metal a ligando (*metal to ligand charge transfer, MLCT*) y de ligando a metal (*ligand to metal charge transfer, LMCT*). En consistencia con lo reportado por (78). Las *ICT* se encuentran relacionadas con transiciones de tipo $\pi \rightarrow \pi^*$ dentro de los anillos aromáticos del ligando (8,78,132,134,147,162,165,166), mientras que otros autores indican que una fuerte transferencia de carga desde el flavonoide al centro metálico (*LMCT*) también contribuye al desplazamiento batocrómico (165).

Respecto a la intensidad de las bandas obtenidas, se aprecia un efecto hipocrómico respecto al espectro de la quercetina neutra. Algunos autores indican que la formación de los enlaces de coordinación pueden facilitar transiciones de transferencia de carga (*MLCT* o *LLCT*), modificando la densidad (167). En

complejos con metales de transición, la modificación de la densidad electrónica altera la eficiencia de absorción y la intensidad de las bandas (168).

A nivel experimental, (160) reporta que las señales en los espectros de quercetina en agua muestran una muy baja intensidad debido a su escasa solubilidad. Asimismo, se ha descrito que la complejación quercetina-Cu(II) en metanol produce un efecto hipocrómico en las bandas (154,169), particularmente en la banda I (quizá porque el sitio de quelación de esos estudios es 3-4) y de manera significativa cuando la relación metal-flavonoide es 2:1 (154). En general, la intensidad de las bandas es inversamente proporcional a la concentración de cobre (134,169). En concordancia con los espectros calculados para los complejos con dos átomos de cobre.

No obstante, es necesario aclarar que el presente estudio se centra en el cálculo de las contribuciones electrónicas. Mientras que el cálculo de las contribuciones vibracionales relacionadas con el principio de Franck-Condon (170) para una mejor descripción de la intensidad de las bandas podría ser una perspectiva.

En cuanto al número de bandas, algunos autores señalan la aparición de una tercera banda en el espectro de absorción de los complejos quercetina-cobre. Dicha banda se ha reportado a 430 nm (162), 438 nm (169), 436 nm (154), 590 nm (134), en el rango de 660 a 680 nm (8), o en el rango de 425 a 700 nm (160), por lo que podría afirmarse que se presenta a longitudes de onda mayores a 400 nm (160).

Algunos autores mencionan que la tercera banda es atribuible a la reacción de formación del complejo, puesto que ni el ligando ni el metal absorben a dicha longitud de onda (154). Otros artículos proponen que esta banda corresponde a una transición de tipo $d-d$ en compuestos de flavonoides con Cu(II) con geometría cuadrada-plana (134). Por lo tanto, el número de bandas observadas en los espectros de los complejos es dos o tres y no está muy claro a qué se debe. Nuestros cálculos sugieren que la aparición de una tercera banda se debe a la redistribución de la densidad electrónica como producto de la coordinación del metal y son transiciones de naturaleza ICT en la quercetina. Esta banda se obtuvo

en un complejo con un átomo de cobre ($\text{QUE3}^-\text{Cu(II)}_2\text{H}_2\text{O}$) y en todos los complejos formados con el dianión.

De manera general, este trabajo de investigación presenta distintas limitaciones, por lo que una comparación estricta con los espectros experimentales es inadecuada. No se consideran factores como los valores de pK_a de la quercetina, el efecto de los disolventes y la formación de distintos complejos de coordinación. Los espectros de la quercetina y sus aniones fueron calculados en fase gas. En el caso de los quelatos se llevó a cabo una microsolvatación, no obstante, puede no ser suficiente para estudiar el efecto del entorno y puede considerarse un cálculo en fase gas.

Por otro lado, no se incluyen todos los complejos que podrían formarse. Por ejemplo los complejos metal–flavonoide 1:2, 1:3 (8,154,169). Experimentos con el método de Job (*Job's method*), sugieren que la relación $\text{QUE}_-\text{Cu(II)}$ predominante es 2:1 (169). No obstante, el método puede dar resultados erróneos o ambiguos si existen varias especies en equilibrio o si los espectros de los complejos y los reactivos se solapan (171). En adición, no se consideran las estructuras con dos átomos de cobre en los sitios de quelación 3–4 y 3'–4' (121).

Debido a las distintas condiciones experimentales, se han reportado diferentes valores de longitud de onda para las bandas principales de los complejos quercetina– Cu(II) . Después de una revisión bibliográfica, se determinó que la banda I se encuentra en el rango de 375 a 451 nm, la banda II de 262 a 293 nm y la banda III (en caso de presentarse) se halla en una longitud de onda mayor a 400 nm (132,134,154,155,157,159,162,169). En general, se obtuvo una buena aproximación de los espectros calculados respecto a los experimentales (ver S4).

Los complejos que muestran una mejor concordancia con los datos experimentales son $\text{QUE3}^-\text{Cu(II)}_2\text{MeOH}$, $\text{QUE5}^-\text{Cu(II)}_2\text{H}_2\text{O}$ y $\text{QUE5}^-\text{Cu(II)}_2\text{MeOH}$. Cuya banda I se sitúa dentro del rango establecido, la banda II presenta un porcentaje de error de 4.6 a 11%, mientras que la banda III no se encuentra presente. Curiosamente, estos son los complejos que muestran una geometría de coordinación cuadrada–plana, que suele ser una de las conformaciones preferidas de estos complejos (172).

Respecto al nivel de teoría empleado (ω B97XD/6-31+G(d)), ω B97XD es un funcional híbrido con corrección de dispersión y separación de rango, lo que mejora la descripción de transiciones electrónicas, principalmente aquellas con carácter de transferencia de carga (173). El nivel de teoría ω B97XD/6-31+G(d) predice los desplazamientos de bandas observados experimentalmente de manera satisfactoria al formar complejos de quercetina con metales (160). Asimismo, la corrección de dispersión (D) es importante en la descripción de las interacciones no covalentes presentes en complejos de coordinación (174). Respecto al costo computacional y exactitud, la combinación con 6-31+G(d) brinda un buen compromiso entre precisión y recursos computacionales, siendo una buena opción para sistemas de tamaño moderado (173).

No obstante, el nivel de teoría empleado podría presentar algunas desventajas. Su precisión disminuye en la predicción de bandas de absorción de alta energía, donde se han reportado desviaciones respecto a los valores experimentales (173). La literatura indica que este nivel de teoría puede presentar una subestimación de energías de absorción, lo que puede necesitar correcciones empíricas o una comparación cuidadosa con datos experimentales (160). Nuestro estudio sugiere que este nivel de teoría subestima los valores de energías de absorción en los complejos quercetina-Cu(II) (Ver S4).

5.5.3. Relación de la absorción de luz y el color percibido por el ojo humano

Cuando una sustancia absorbe luz visible (entre 400 y 750 nm), parece tener color. No obstante, este tipo de compuestos no poseen el color correspondiente a la longitud de onda de la luz absorbida. Existe una relación inversa entre el color observado y el color absorbido. Cuando la luz blanca incide sobre un objeto, la luz con un cierto valor de longitud de onda es absorbida. El resto de luz se refleja. Nuestro cerebro registra toda la luz reflejada como el color complementario del color que se absorbió (131).

La Figura 45 ilustra la relación que existe entre la longitud de onda de la luz absorbida por una sustancia y el color percibido por una persona.

Longitud de onda absorbida (nm)	Color absorbido	Color complementario
380-420	Violeta 	 Amarillo-verde
420-440	Violeta-azul 	 Amarillo
440-470	Azul 	 Naranja
470-500	Azul-verde 	 Rojo
500-520	Verde 	 Púrpura
520-550	Amarillo-verde 	 Violeta
550-580	Amarillo 	 Violeta-azul
580-620	Naranja 	 Azul
620-680	Rojo 	 Azul-verde
680-780	Púrpura 	 Verde

Figura 45. Las longitudes de onda de la luz asociadas a diferentes colores (izquierda), el color de la luz absorbida y el color complementario asociado que ve el ojo humano (derecha). Adaptado de (175).

La Tabla 11 muestra los colores que se esperaba observar para la quercetina y sus complejos, según los valores de longitud de onda de absorción calculados en el presente estudio.

Tabla 11. Colores que se observarían para la quercetina, sus aniones y los complejos en estudio, según nuestros cálculos. En cada caso, se consideró la banda que presentara la mayor fuerza de oscilador.

Molécula	λ (nm)	Color absorbido	Color observado
(a) QUE	325.8*	Región UV*	Incoloro*
QUE3 ⁻	414.2	Violeta	Amarillo verdoso
QUE3 ⁻ _Cu(II)	454.95	Azul	Naranja
QUE3 ⁻ _Cu(II)_2H ₂ O	443.47	Azul	Naranja
QUE3 ⁻ _Cu(II)_2MeOH	384.15	Violeta	Amarillo-verdoso
QUE5 ⁻	372.0*	Región UV*	Incoloro*
QUE5 ⁻ _Cu(II)	371.7*	Región UV*	Incoloro*
QUE5 ⁻ _Cu(II)_2H ₂ O	383.3	Violeta	Amarillo-verdoso
QUE5 ⁻ _Cu(II)_2MeOH	382.1	Violeta	Amarillo-verdoso
QUE3 ⁻ 5 ⁻	382.8	Violeta	Amarillo- verdoso
QUE3 ⁻ 5 ⁻ _Cu(II)	677.2	Rojo	Azul-verde
QUE3 ⁻ 5 ⁻ _Cu(II)_2H ₂ O	657.3	Rojo	Azul-verde
QUE3 ⁻ 5 ⁻ _Cu(II)_2MeOH	364.7	Región UV*	Incoloro*

*Nuestros resultados indican que las moléculas serían incoloras, pero la evidencia experimental indica que presentarían una coloración amarilla-verdosa.

La quercetina es un sólido cristalino de color amarillo que imparte hermosos colores a una variedad de flores (176), tal es el caso del Loto americano (*Nelumbo lutea*, Fig.46) (177).



Figura 46. Loto americano (*Nelumbo lutea*). La identificación de flavonoides totales mostró que el loto americano salvaje contiene casi solo flavonoles, donde la quercetina es el pigmento dominante. Tomado de (177).

Cuando una sal de cobre (II) (como cloruro de cobre) se agrega a una disolución de quercetina en un disolvente adecuado (como metanol) se produce un cambio de color visible, de amarillo a un tono de amarillo más oscuro y marrón (162,169) (Figura 47). No obstante, otros indican que los precipitados poseen una coloración amarillo pálido (134,178).



Figura 47. Izquierda: Quercetina y CuCl_3 . Centro: Complejo QUE_ Cu(II) . Derecha: Disoluciones de quercetina (Q) y el complejo QUE_ Cu(II) . Tomado de (162,169).

Por lo tanto, nuestros resultados muestran una buena aproximación con los datos experimentales. En el caso de los complejos formados con el dianión, el que presenten una coloración azul-verde, refuerza la premisa de que no se han observado a nivel experimental.

5.6. Cálculo de los espectros de emisión

La Tabla 12 presenta los parámetros calculados para las transiciones de emisión de la molécula de quercetina y sus aniones.

Tabla 12. Longitudes de onda calculadas para el espectro de emisión de la quercetina, sus aniones y quelatos.

Molécula	Banda II (nm)	Banda I (nm)
(a) QUE	225.3	367.5
QUE3 ⁻	255.6	526.4
QUE5 ⁻	298.3	479.5
QUE3 ⁻ 5 ⁻	382.8	483.6

Las Figuras 48-51 exponen los espectros de absorción y emisión de la quercetina y sus aniones, así como su desplazamiento de Stokes.

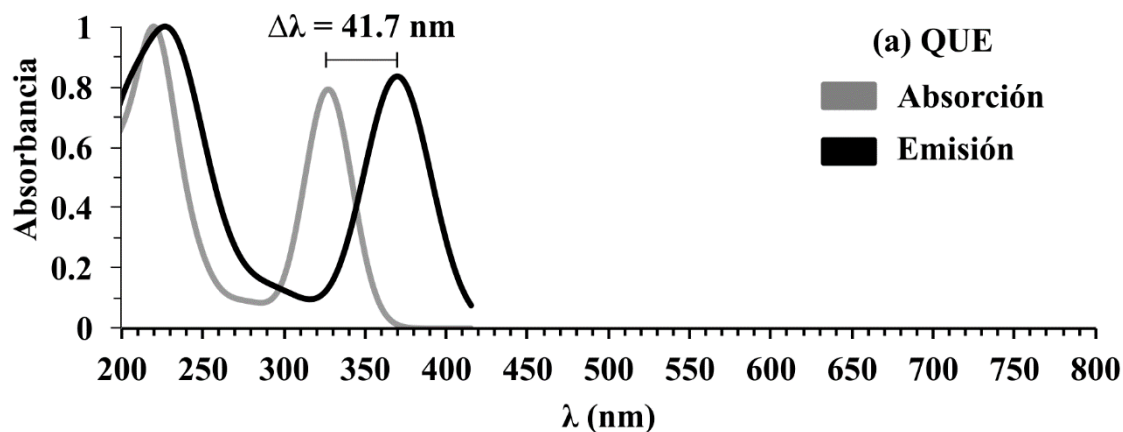


Figura 48. Espectros de absorción y emisión de la quercetina, así como su desplazamiento de Stokes ($\Delta\lambda$).

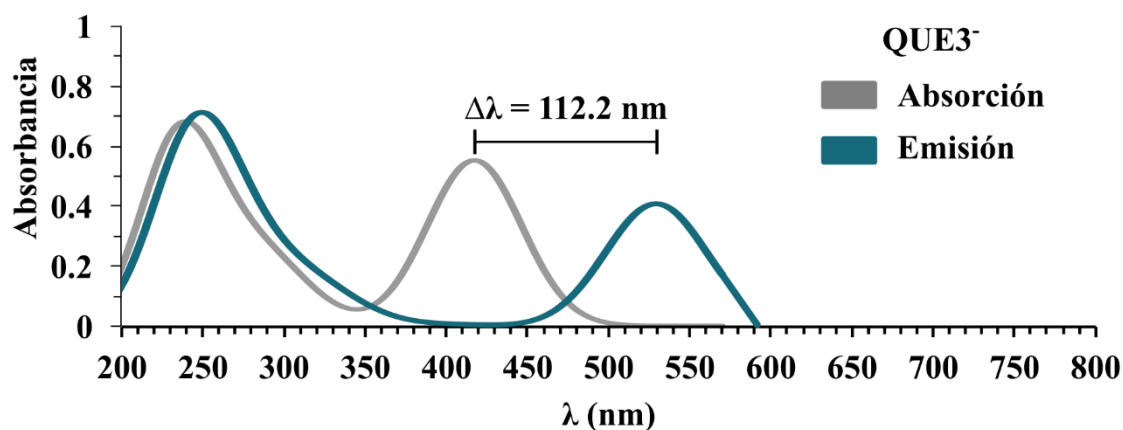


Figura 49. Espectros de absorción y emisión del anión QUE3⁻, así como su desplazamiento de Stokes ($\Delta\lambda$).

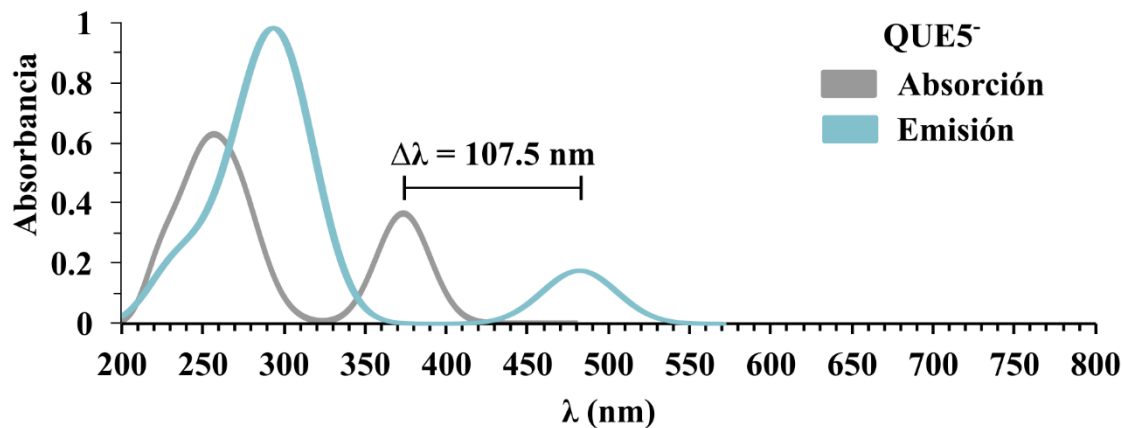


Figura 50. Espectros de absorción y emisión del anión QUE5⁻, así como su desplazamiento de Stokes ($\Delta\lambda$).

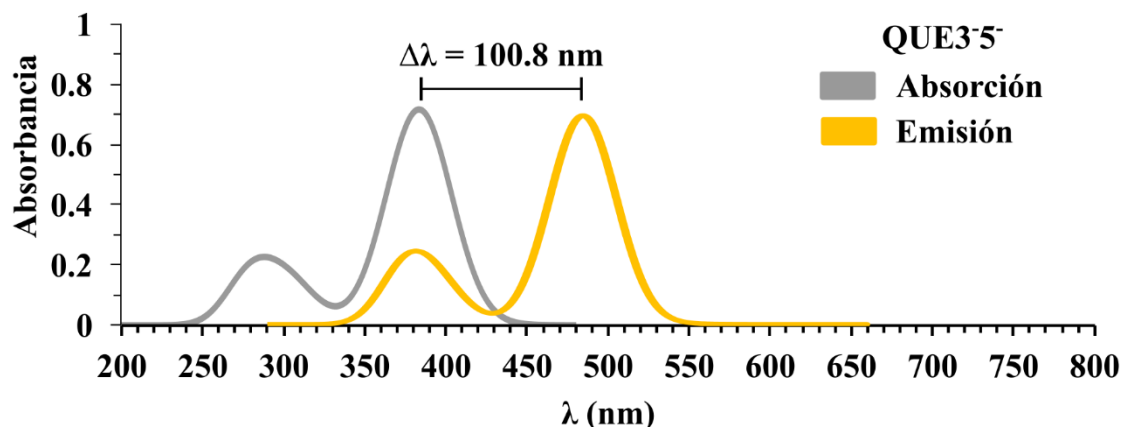


Figura 51. Espectros de absorción y emisión del dianión $QUE3\cdot5^-$, así como su desplazamiento de Stokes ($\Delta\lambda$).

Según las longitudes de onda de emisión en nuestros cálculos, la fluorescencia de la QUE en su forma enol (<400 nm) no sería percibida por el ojo humano (179). Por otro lado, $QUE3^-$ mostraría una fluorescencia color verde mientras que $QUE5^-$ y $QUE3\cdot5^-$ azul verdosa (180).

Al desarrollar biosensores fluorescentes, es deseable que presenten un desplazamiento de Stokes grande: cercano o superior a 100 nm (181). Un desplazamiento de Stokes grande separa ampliamente las bandas de excitación y emisión, evitando o minimizando la reabsorción de la luz emitida por el propio fluoróforo (182).

En el marco teórico se abordó la reacción *ESIPT* de los flavonoides. En él, se presentan dos fototautómeros de los flavonoides: enol (E^*) y ceto (K^*). El primero es responsable de una emisión azul-violeta a ~420 nm, mientras que al segundo se le atribuye una emisión amarilla verdosa a una longitud de onda >500 nm y es responsable del gran y característico desplazamiento de Stokes (150–200 nm) de los flavonoides como la quercetina (55).

La literatura suele reportar la emisión de la forma ceto de la quercetina (75,137,162,183,184). En la presente investigación, se trabajó con el tautómero enol. Por lo tanto, se podría considerar como una primera aproximación para estudiar el desplazamiento de Stokes de la quercetina y sus aniones con perspectivas de estudiar el comportamiento de la forma ceto.

La QUE presentó un desplazamiento de Stokes estrecho. Los aniones, sorprendentemente, poseen un desplazamiento de Stokes bastante grande (≥ 100 nm) según la escala de (181), lo que es muy prometedor en su utilización como biosensores.

El desplazamiento de Stokes se encuentra relacionado con los cambios estructurales y del entorno de una molécula tras la excitación. Un mayor desplazamiento de Stokes a menudo indica una mayor reorganización estructural o del entorno (181). La quercetina prácticamente mantiene su estructura en su estado excitado. Los aniones QUE⁵⁻ y QUE³⁻⁵⁻ muestran modificaciones mínimas, mientras que el anión QUE³⁻ exhibe una torsión del anillo C (ver S5).

A nivel experimental, la estabilización de una molécula en estado excitado depende fuertemente de su entorno. El disolvente puede estabilizar estados excitados a través de interacciones intermoleculares, tales como interacciones electrostáticas, formación de puentes de hidrógeno, reorganización estructural y efectos de polaridad. Por consiguiente, esto influye en la energía, la vida media y las rutas de desactivación de la molécula excitada (186). Por lo tanto, la inclusión de un disolvente en los cálculos es importante (75). Una perspectiva de este trabajo de investigación es incluir un disolvente implícito o explícito

Finalmente, la quercetina como biosensor de cobre es un biosensor “de apagado”. Cuando se tiene una disolución de quercetina, la adición de cobre provoca una disminución de la intensidad de fluorescencia de manera proporcional a su concentración. En otras palabras, se da lugar a un apagamiento de fluorescencia (*fluorescent quenching*) (162). Por lo tanto, se consideró innecesario calcular sus espectros de emisión.

5.7. Índices de reactividad global

La Tabla 13 muestra los índices de reactividad global de la quercetina, sus aniones y quelatos. Los datos seleccionados para realizar los cálculos para los sistemas de capa abierta se muestran en S6.

Tabla 13. Índices de reactividad global de la quercetina, sus aniones y complejos QUE_Cu(II) estudiados: potencial químico (μ), electronegatividad (χ), dureza química (η), blandura (σ) y electrofilicidad (ω).

Complejo	HOMO (kcal/mol)	LUMO (kcal/mol)	GAP (kcal/mol)	μ	χ	η	σ	ω
(a) QUE	-164.03	-31.16	132.87	-97.60	97.60	66.43	0.02	71.69
QUE3 ⁻	-54.30	53.00	107.30	-0.65	0.65	53.65	0.02	0.00
QUE5 ⁻	-62.10	44.97	107.07	-8.57	8.57	53.53	0.02	0.69
QUE35 ⁻	24.91	103.61	78.70	64.26	-64.26	39.35	0.03	52.47
QUE3 ⁻ _Cu(II)	-234.71	-157.70	77.01	-196.20	196.20	38.50	0.03	499.89
QUE3 ⁻ _Cu(II)_2H ₂ O	-224.00	-144.70	79.30	-184.35	184.35	39.65	0.03	428.58
QUE3 ⁻ _Cu(II)_2MeOH	-216.03	-98.58	117.45	-157.30	157.30	58.73	0.02	210.67
QUE5 ⁻ _Cu(II)	-233.72	-171.78	61.94	-202.75	202.75	30.97	0.03	663.71
QUE5 ⁻ _Cu(II)_2H ₂ O	-217.36	-100.45	116.91	-158.91	158.91	58.46	0.02	215.99
QUE5 ⁻ _Cu(II)_2MeOH	-215.32	-97.35	117.97	-156.33	156.33	58.98	0.02	207.18
QUE35 ⁻ _Cu(II)	-311.77	-236.25	75.51	-274.01	274.01	37.76	0.03	994.25
QUE35 ⁻ _Cu(II)_2H ₂ O	-290.64	-214.65	75.99	-252.64	252.64	38.00	0.03	839.93
QUE35 ⁻ _Cu(II)_2MeOH	-288.17	-213.11	75.06	-250.64	250.64	37.53	0.03	836.90

El GAP disminuye en los aniones y quelatos, sugiriendo una menor estabilidad electrónica y una mayor reactividad que la quercetina. Los complejos más estables son los que presentan una geometría de coordinación cuadrada plana distorsionada (QUE3⁻_Cu(II)_2MeOH, QUE5⁻_Cu(II)_2H₂Oy y QUE5⁻_Cu(II)_2MeOH). Por otro lado, las especies más inestables son los aniones y los complejos formados con dos iones de cobre.

El potencial químico incrementa en los aniones y decrece en los quelatos. Al mismo tiempo, la electronegatividad muestra el comportamiento contrario en cada caso. En adición, tanto los aniones como los complejos con Cu(II) presentan una mayor blandura y una menor dureza, indicando una mayor facilidad para transferir electrones, en concordancia con una mayor reactividad global.

La tendencia de los valores correspondientes a los índices de reactividad previamente reportados son consistentes con lo publicado por (78,187).

Respecto a la electrofilicidad, los valores en los aniones disminuyen respecto a la quercetina. En cambios, los valores en los complejos incrementan.

El índice de electrofilicidad se ha relacionado con la toxicidad de la molécula, ya que moléculas más electrofílicas tienden a interactuar con nucleófilos biológicos (como grupos tiol en proteínas o bases en el ADN), lo que podría generar daño celular, estrés oxidativo y efectos tóxicos (188). No obstante, la precisión de este índice en la potencia tóxica depende de distintas variables que limitan la accesibilidad al objetivo; por ejemplo, el impedimento estérico y la solubilidad. Asimismo, se han hallado especies tóxicas con un bajo valor de ω (189)

(187) indica que los complejos QUE-Cu(II) podrían presentar un carácter donador/aceptor de electrones dependiendo del contexto molecular. Esto coincide con los mapas de potencial electrostático molecular graficados para los complejos, que presentan zonas rojas (sitios favorables para un ataque electrofílico) y azules (atractivas para especies nucleofílicas) (S3). Cuando la quercetina se coordina con cobre, ocurre una transferencia de carga y una fuerte polarización en la región metal-ligando. La redistribución electrónica conduce a una reducción en la brecha *HOMO-LUMO* y un incremento en la “blandura” química, por lo que la reactividad global y el ω aumentan (78,187).

Un factor importante a considerar es que los valores calculados para los índices de reactividad global únicamente describen las propiedades intrínsecas de las especies de manera aislada (puesto que se encuentran en fase gas). La inclusión de un solvente implícito o explícito modifica los valores (190).

La electrofilia y la nucleofilia de los complejos de quercetina con cobre presentan distintos beneficios a nivel biológico.

Cuando el quelato presenta propiedades electrofílicas, es capaz de producir un daño selectivo a biomoléculas patógenas, reaccionando con nucleófilos biológicos como ADN o proteínas de células tumorales, facilitando la inducción de daño oxidativo y la apoptosis en células cancerosas. Por lo tanto, su potencial antitumoral se ve potenciado (169,191). Asimismo, como electrófilos, los quelatos pueden aceptar electrones de especies reductoras, participando en reacciones de oxidación que generan especies reactivas de oxígeno (*ROS*). Este mecanismo es de utilidad para eliminar patógenos (dañando o rompiendo las membranas bacterianas) y para modular procesos celulares en terapias dirigidas (187). Cabe

mencionar que el complejo ha mostrado actividad antibacteriana ante bacterias Gram positivas y Gram negativas (192).

Se ha reportado que la actividad antioxidante de la quercetina se produce gracias a su donación de electrones hacia *ROS*. La capacidad antioxidante de los complejos de quercetina con metales como cobre incrementa debido a distintos mecanismos: incrementa la solubilidad y biodisponibilidad; son capaces de eliminar radicales libres, pero la quelación de iones metálicos también previene la su generación (192). Por lo tanto, la dualidad electrofílica–nucleofílica permite que los complejos de quercetina con cobre puedan ser antioxidantes en células sanas y prooxidantes en células dañinas, lo que amplía su rango terapéutico (169,193,194).

6. PERSPECTIVAS

1. Estudio sobre la formación y estabilidad de los complejos con dos átomos de cobre en los sitios de quelación 3–4 y 4–5 simultáneamente.
2. Cálculo de las contribuciones vibracionales relacionadas con el principio de Franck–Condon para una mejor descripción de la intensidad de las bandas en los espectros UV/Vis.
3. Cálculo de los espectros de la forma ceto de la quercetina.
4. Estudio de las propiedades ópticas de los complejos considerando factores como pH, temperatura y efecto del disolvente (ya sea implícito o explícito empleando un programa como Solvated).
5. Estudio de otros complejos quercetina-metal de interés con la metodología empleada en este trabajo de investigación con la finalidad de comparar una colección más amplia de quelatos.

7. CONCLUSIONES

- A. **Variabilidad de la conformación.** La quercetina presenta una alta variabilidad estructural, relacionada con su actividad biológica y con la posible interacción con distintas dianas biológicas.
- B. **Conformaciones.** La conformación más estable de la quercetina es plana, con el anillo B en posición *syn*. Sus grupos hidroxilo se encuentran formando los puentes de hidrógeno intramoleculares O3H3...O4, O5H5...O4 y O6'H6'...O5', los puentes de hidrógeno inusuales C6'H6'...O1 y C2'H2'...O3 también se encuentran presentes. El O7H7 se orienta hacia abajo (con un ángulo diedro de 0.0 grados).
- C. **Momento dipolar.** En la quercetina neutra, el momento dipolar no sigue una tendencia y depende fuertemente de la disposición espacial de los grupos funcionales polares (como los grupos hidroxilo) y de la simetría global de la molécula. Pequeños cambios conformacionales, tales como la rotación de los grupos hidroxilo o entre los anillos AC y B, pueden alterar significativamente la orientación y suma vectorial de los dipolos locales, resultando en distintos valores para el momento dipolar total.
- D. **Polarizabilidad.** La polarizabilidad de la quercetina se mantiene relativamente constante en las distintas conformaciones de la molécula. Una conformación coplanar favorece el sistema conjugado y, por ende, la movilidad de los electrones a través de la molécula.
- E. **Complejos de coordinación.** La conformación de los quelatos es más estable que el ligando y sus respectivos aniones según los valores de energía global. El Cu (II) muestra preferencia por la geometría de coordinación cuadrado plana distorsionada ante la geometría tetraédrica distorsionada, la cual solo adopta debido a la repulsión estérica entre los ligandos.

La energía global de los complejos formados con el sitio de quelación 5-4 es ligeramente menor que en los complejos con sitio de quelación 3-4. No obstante, se ha reportado que el sitio de quelación preferencial es 3-4.

Los complejos de coordinación formados con el dianión muestran los valores de energía global más negativos, no obstante, su obtención podría ser un buen reto para los químicos experimentales.

En general, el momento dipolar y la polarizabilidad también aumentan, lo que se refleja en los espectros de espectroscopia UV/Vis, posiblemente a través de desplazamientos batocrómicos.

El análisis de densidad de spin para los complejos de coordinación de capa abierta, confirma la presencia del electrón desapareado en los centros metálicos (en el caso de las geometrías de coordinación cuadrado planas

distorsionadas) o sobre los anillos del flavonoide debido a su participación en el sistema conjugado de la quercetina.

- F. **Espectros de absorción UV/Vis.** Con el nivel de teoría TD- ω B97XD/6-31+g(d) se obtuvo una buena aproximación de los espectros UV/Vis estudiados respecto a los datos experimentales. Aunque con una sobreestimación de las energías (asociadas con los valores de longitud de onda).

De manera general, se aprecia un ligero desplazamiento batocrómico y un efecto hipocrómico en los espectros de los aniones y quelatos respecto al espectro de la quercetina neutra, así como la aparición ocasional de una tercera banda mayor a 400 nm en el caso de los complejos QUE-Cu(II). Estos fenómenos se atribuyen a una redistribución de la densidad electrónica cuando el metal se coordina, que extiende la conjugación del sistema π del ligando provocando una disminución en la brecha entre los OMF *HOMO* y *LUMO* y altera la eficiencia de absorción (disminuyendo la intensidad de las bandas). Asimismo, la intensidad disminuye aún más con un segundo átomo de cobre. Los resultados sugieren que las transiciones son de tipo $\pi \rightarrow \pi$ y existen *ICT* en el ligando, así como *LMCT* y *MLCT*.

Los complejos que muestran una mejor concordancia con los datos experimentales son QUE³⁻-Cu(II)-2MeOH, QUE⁵⁻-Cu(II)-2H₂O y QUE⁵⁻-Cu(II)-2MeOH. Estos son los complejos que muestran una geometría de coordinación cuadrada-plana, que suele ser una de las conformaciones preferidas de estos complejos.

Debido a la variabilidad de las condiciones experimentales, los espectros de absorción UV/Vis reportados a menudo difieren. Por lo que los datos obtenidos de manera teórica pueden ser un buen punto de referencia para un mayor entendimiento de esta línea de investigación.

- G. **Emisión de fluorescencia.** Los sitios 3 y 5 de la quercetina son prometedores en el uso del flavonoide como biosensor según nuestros cálculos en fase gas. No obstante, la influencia del disolvente es importante.
- H. **Índices de reactividad global.** La formación de complejos de quercetina con cobre incrementa la reactividad electrónica global, potenciando tanto la electrofilia como la nucleofilia dependiendo del contexto molecular, lo que amplía su rango terapéutico al aplicarlo *in vivo*. Los complejos más estables son los que presentan una geometría de coordinación cuadrada plana distorsionada (QUE³⁻-Cu(II)-2MeOH, QUE⁵⁻-Cu(II)-2H₂Oy y QUE⁵⁻-Cu(II)-2MeOH). Por otro lado, las especies más inestables son los aniones y los complejos formados con dos iones de cobre.

BIBLIOGRAFÍA

1. Singh P, Arif Y, Bajguz A, Hayat S. The role of quercetin in plants. *Plant Physiol Biochem*. 2021 Sept;166:10–9.
2. Ullah A, Munir S, Badshah SL, Khan N, Ghani L, Poulson BG, et al. Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. *Molecules*. 2020 Nov 11;25(22):5243.
3. Patel RV, Mistry BM, Shinde SK, Syed R, Singh V, Shin HS. Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent. *Eur J Med Chem*. 2018 July;155:889–904.
4. Wagner CE, Jurutka PW, Marshall PA, Groy TL, Van Der Vaart A, Ziller JW, et al. Modeling, Synthesis and Biological Evaluation of Potential Retinoid X Receptor (RXR) Selective Agonists: Novel Analogues of 4-[1-(3,5,5,8,8-Pentamethyl-5,6,7,8-tetrahydro-2-naphthyl)ethynyl]benzoic Acid (Bexarotene). *J Med Chem*. 2009 Oct 8;52(19):5950–66.
5. Becker C, Klaering HP, Schreiner M, Kroh LW, Krumbein A. Unlike Quercetin Glycosides, Cyanidin Glycoside in Red Leaf Lettuce Responds More Sensitive to Increasing Low Radiation Intensity before than after Head Formation Has Started. *J Agric Food Chem*. 2014 July 23;62(29):6911–7.
6. Leopoldini M, Marino T, Russo N, Toscano M. Density functional computations of the energetic and spectroscopic parameters of quercetin and its radicals in the gas phase and in solvent. *Theor Chem Acc*. 2004 Mar 1;111(2):210–6.
7. Zheng YZ, Deng G, Liang Q, Chen DF, Guo R, Lai RC. Antioxidant Activity of Quercetin and Its Glucosides from Propolis: A Theoretical Study. *Sci Rep*. 2017 Aug 8;7(1):7543.
8. Samsonowicz M, Regulska E. Spectroscopic study of molecular structure, antioxidant activity and biological effects of metal hydroxyflavonol complexes. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2017 Feb;173:757–71.
9. Reinboth M, Wolfram S, Abraham G, Ungemach FR, Cermak R. Oral bioavailability of quercetin from different quercetin glycosides in dogs. *Br J Nutr*. 2010 July 28;104(2):198–203.
10. Lakhanpal P, Rai DK. Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet J Med Update - EJOURNAL* [Internet]. 2007 Nov 1 [cited 2025 Aug 22];2(2). Available from: <http://www.ajol.info/index.php/ijmu/article/view/39851>

11. Antunez EE, Martin MA, Voelcker NH. Porous silicon-based sensors for protein detection. In: Porous Silicon for Biomedical Applications [Internet]. Elsevier; 2021 [cited 2025 Aug 22]. p. 359–95. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978012821677400001X>
12. Naresh Varnakavi, Lee N. A Review on Biosensors and Recent Development of Nanostructured Materials-Enabled Biosensors. *Sensors*. 2021 Feb 5;21(4):1109.
13. Bhalla N, Jolly P, Formisano N, Estrela P. Introduction to biosensors. Estrela P, editor. *Essays Biochem*. 2016 June 30;60(1):1–8.
14. Tosi D, M. Sypabekova, Bekmurzayeva A, Molardi C, Dukenbayev K. Optical Fiber Biosensors [Internet]. Elsevier; 2022 [cited 2025 Aug 22]. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/C20190000349>
15. Tetyana P, Morgan Shumbula P, Njengele-Tetyana Z. Biosensors: Design, Development and Applications. In: Ameen S, Shaheer Akhtar M, Shin HS, editors. *Nanopores* [Internet]. IntechOpen; 2021 [cited 2025 Aug 22]. Available from: <https://www.intechopen.com/books/nanopores/biosensors-design-development-and-applications>
16. Nguyen HH, Lee SH, Lee UJ, Fermin CD, Kim M. Immobilized Enzymes in Biosensor Applications. *Materials*. 2019 Jan 2;12(1):121.
17. Wang D, Tang BZ. Aggregation-Induced Emission Luminogens for Activity-Based Sensing. *Acc Chem Res*. 2019 Sept 17;52(9):2559–70.
18. Lichtman JW, Conchello JA. Fluorescence microscopy. *Nat Methods*. 2005 Dec;2(12):910–9.
19. Souza RFVD, De Giovani WF. Synthesis, spectral and electrochemical properties of Al(III) and Zn(II) complexes with flavonoids. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2005 July;61(9):1985–90.
20. Shankar R, Kolandaivel P, Senthilkumar L. Interaction studies of cysteine with Li^+ , Na^+ , K^+ , Be^{2+} , Mg^{2+} , and Ca^{2+} metal cation complexes. *J Phys Org Chem*. 2011 July;24(7):553–67.
21. Pezacki AT, Matier CD, Gu X, Kummelstedt E, Bond SE, Torrente L, et al. Oxidation state-specific fluorescent copper sensors reveal oncogene-driven redox changes that regulate labile copper(II) pools. *Proc Natl Acad Sci*. 2022 Oct 25;119(43):e2202736119.
22. Wegner SV, Arslan H, Sunbul M, Yin J, He C. Dynamic Copper(I) Imaging in Mammalian Cells with a Genetically Encoded Fluorescent Copper(I) Sensor. *J Am Chem Soc*. 2010 Mar 3;132(8):2567–9.

23. Yang S, Jiang W, Tang Y, Xu L, Gao B, Xu H. Sensitive fluorescent assay for copper(II) determination in aqueous solution using quercetin–cyclodextrin inclusion. *RSC Adv.* 2018;8(66):37828–34.
24. Chen JK, Zeng XY, Cheng CC, Wang CF, Liu HW. Localized surface plasmon resonance sensors of polyvinyltetrazole brush/copper cluster hybrid dual-stripe nanowire arrays for determination of Cu(II) ions. *J Alloys Compd.* 2024 Mar;978:173538.
25. Jiang W, Yang S, Lu W, Gao B, Xu L, Sun X, et al. A novel fluorescence “turn off-on” nano-sensor for detecting Cu²⁺ and Cysteine in living cells. *J Photochem Photobiol Chem.* 2018 July;362:14–20.
26. Bukhari SB, Memon S, Mahroof-Tahir M, Bhanger MI. Synthesis, characterization and antioxidant activity copper–quercetin complex. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2009 Jan;71(5):1901–6.
27. Fujimura M, Usuki F. Differing Effects of Toxicants (Methylmercury, Inorganic Mercury, Lead, Amyloid , and Rotenone) on Cultured Rat Cerebrocortical Neurons: Differential Expression of Rho Proteins Associated With Neurotoxicity. *Toxicol Sci.* 2012 Apr 1;126(2):506–14.
28. Berg JM, Shi Y. The Galvanization of Biology: A Growing Appreciation for the Roles of Zinc. *Science.* 1996 Feb 23;271(5252):1081–5.
29. Vasto S, Candore G, Listì F, Balistreri CR, Colonna-Romano G, Malavolta M, et al. Inflammation, genes and zinc in Alzheimer’s disease. *Brain Res Rev.* 2008 June;58(1):96–105.
30. Kaur H, Raj P, Sharma H, Verma M, Singh N, Kaur N. Highly selective and sensitive fluorescence sensing of nanomolar Zn²⁺ ions in aqueous medium using Calix[4]arene passivated Carbon Quantum Dots based on fluorescence enhancement: Real-time monitoring and intracellular investigation. *Anal Chim Acta.* 2018 June;1009:1–11.
31. Ley-Ngardigal S, Bertolin G. Approaches to monitor ATP levels in living cells: where do we stand? *FEBS J.* 2022 Dec;289(24):7940–69.
32. Li X, Peng Y, Chai Y, Yuan R, Xiang Y. A target responsive aptamer machine for label-free and sensitive non-enzymatic recycling amplification detection of ATP. *Chem Commun.* 2016;52(18):3673–6.
33. Dautant A, Meier T, Hahn A, Tribouillard-Tanvier D, Di Rago JP, Kucharczyk R. ATP Synthase Diseases of Mitochondrial Genetic Origin. *Front Physiol.* 2018 Apr 4;9:329.
34. Galber C, Carissimi S, Baracca A, Giorgio V. The ATP Synthase Deficiency in Human Diseases. *Life.* 2021 Apr 8;11(4):325.

35. Martins HC, Schratt G. Depression: a new enzyme AT play. EMBO Rep. 2020 Apr 3;21(4):e49921.
36. Wang B, Liang Z, Tan H, Duan W, Luo M. Red-emission carbon dots-quercetin systems as ratiometric fluorescent nanoprobe towards Zn²⁺ and adenosine triphosphate. Microchim Acta. 2020 June;187(6):345.
37. He T, Niu N, Chen Z, Li S, Liu S, Li J. Novel Quercetin Aggregation-Induced Emission Luminogen (AIEgen) with Excited-State Intramolecular Proton Transfer for In Vivo Bioimaging. Adv Funct Mater. 2018 Mar;28(11):1706196.
38. Long R, Tang C, Xu J, Li T, Tong C, Guo Y, et al. Novel natural myricetin with AIE and ESIPT characteristics for selective detection and imaging of superoxide anions *in vitro* and *in vivo*. Chem Commun. 2019;55(73):10912–5.
39. Young DC. Computational chemistry: a practical guide for applying techniques to real-world problems. New York: J. Wiley & sons; 2001.
40. Lewars EG. Computational Chemistry [Internet]. Cham: Springer International Publishing; 2016 [cited 2025 Aug 24]. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-30916-3>
41. Giustino F. Materials modelling using density functional theory: properties and predictions. 1st ed. Oxford: Oxford University Press; 2014. 286 p.
42. Levine IN. Química cuántica. 5a. ed. Madrid: Prentice Hall; 2010.
43. Cristiano F, La Magna A. Laser annealing processes in semiconductor technology: theory, modeling, and applications in nanoelectronics. Oxford: Woodhead publishing; 2021. (Woodhead publishing series in electronic and optical materials).
44. Van Mourik T, Bühl M, Gaigeot MP. Density functional theory across chemistry, physics and biology. Philos Trans R Soc Math Phys Eng Sci. 2014 Mar 13;372(2011):20120488.
45. Latour RA. 3.14 Molecular Simulation Methods to Investigate Protein Adsorption Behavior at the Atomic Level ☆. In: Comprehensive Biomaterials II [Internet]. Elsevier; 2017 [cited 2025 Aug 24]. p. 268–94. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128035818097940>
46. Odegard GM. 6.2 Computational Multiscale Modeling – Nanoscale to Macroscale. In: Comprehensive Composite Materials II [Internet]. Elsevier; 2018 [cited 2025 Aug 24]. p. 28–51. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128035818100219>
47. Van Acker SABE, De Groot MJ, Van Den Berg DJ, Tromp MNJL, Donné-Op Den Kelder G, Van Der Vijgh WJF, et al. A Quantum Chemical Explanation of

- the Antioxidant Activity of Flavonoids. *Chem Res Toxicol*. 1996 Jan 1;9(8):1305–12.
48. Domingo L, Ríos-Gutiérrez M, Pérez P. Applications of the Conceptual Density Functional Theory Indices to Organic Chemistry Reactivity. *Molecules*. 2016 June 9;21(6):748.
 49. Adamo C, Jacquemin D. The calculations of excited-state properties with Time-Dependent Density Functional Theory. *Chem Soc Rev*. 2013;42(3):845–56.
 50. González-Berdullas P, Pinto Da Silva L. TD-DFT Monitoring of the Absorption Spectra of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons over the Basque Country, Spain. *Sustain Chem*. 2021 Oct 29;2(4):599–609.
 51. Simoni E, Reber C, Talaga D, Zink JI. Time-dependent theoretical treatment of intervalance absorption spectra. Exact calculations in a one-dimensional model. *J Phys Chem*. 1993 Dec;97(49):12678–84.
 52. McMurry J. *Química orgánica*. 7th ed. Mexico City: Cengage Learning Editores, S.A. De C.V.; 2008.
 53. Levine IN, Rey Gayo A. *Fisicoquímica*. 5ª ed. Madrid: McGraw-Hill; 2010.
 54. Valeur B, Berberan-Santos MN. A Brief History of Fluorescence and Phosphorescence before the Emergence of Quantum Theory. *J Chem Educ*. 2011 June 1;88(6):731–8.
 55. Tong C, Shi F, Tong X, Shi S, Ali I, Guo Y. Shining natural flavonols in sensing and bioimaging. *TrAC Trends Anal Chem*. 2021 Apr;137:116222.
 56. He T, Niu N, Chen Z, Li S, Liu S, Li J. Novel Quercetin Aggregation-Induced Emission Luminogen (AIEgen) with Excited-State Intramolecular Proton Transfer for In Vivo Bioimaging. *Adv Funct Mater*. 2018 Mar;28(11):1706196.
 57. Chen W, Fu G, Zhong Y, Liu Y, Yan H, Chen F. Antioxidant High-Fluorescent Silkworm Silk Development Based on Quercetin-Induced Luminescence. *ACS Biomater Sci Eng*. 2025 Mar 10;11(3):1402–16.
 58. Park H, Im S, Seo J, Kim B, Yoon JA, Bark K. Spectroscopic Properties of Morin in Various CH₃ OH –H₂ O and CH₃ CN –H₂ O Mixed Solvents. *Photochem Photobiol*. 2015 Mar;91(2):280–90.
 59. Sedgwick AC, Wu L, Han HH, Bull SD, He XP, James TD, et al. Excited-state intramolecular proton-transfer (ESIPT) based fluorescence sensors and imaging agents. *Chem Soc Rev*. 2018;47(23):8842–80.

60. Zhao J, Yao H, Liu J, Hoffmann MR. New Excited-State Proton Transfer Mechanisms for 1,8-Dihydroxydibenzo[*a* , *h*]phenazine. *J Phys Chem A*. 2015 Jan 29;119(4):681–8.
61. Yang Y, Zhao J, Li Y. Theoretical Study of the ESIPT Process for a New Natural Product Quercetin. *Sci Rep*. 2016 Aug 30;6(1):32152.
62. Vasisht K, Chadha K, Karan M, Bhalla Y, Jena AK, Chadha R. Enhancing biopharmaceutical parameters of bioflavonoid quercetin by cocrystallization. *CrystEngComm*. 2016;18(8):1403–15.
63. Zhao Y, Truhlar DG. A new local density functional for main-group thermochemistry, transition metal bonding, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions. *J Chem Phys*. 2006 Nov 21;125(19):194101.
64. O'Boyle NM, Tenderholt AL, Langner KM. A library for package-independent computational chemistry algorithms. *J Comput Chem*. 2008;29(5):839–45.
65. Kapil V, Engel EA. A complete description of thermodynamic stabilities of molecular crystals. *Proc Natl Acad Sci*. 2022 Feb 8;119(6):e2111769119.
66. Negre CFA, Alvarado A, Singh H, Finkelstein J, Martinez E, Perriot R. A methodology to generate crystal-based molecular structures for atomistic simulations. *J Phys Condens Matter*. 2023 June 7;35(22):225001.
67. Hoja J, Ko HY, Neumann MA, Car R, DiStasio RA, Tkatchenko A. Reliable and practical computational description of molecular crystal polymorphs. *Sci Adv*. 2019 Jan 4;5(1):eaau3338.
68. Desiraju GR. Cryptic crystallography. *Nat Mater*. 2002 Oct 1;1(2):77–9.
69. Nangia A. Conformational Polymorphism in Organic Crystals. *Acc Chem Res*. 2008 May 1;41(5):595–604.
70. Protsenko IO, Bulavin LA, Hovorun DM. Investigation of Structural Properties of Quercetin by Quantum Chemistry Methods. *WDS'10 Proceedings Of Contributed Papers*. 2010;(3):51–4.
71. De Paula VF, Guedes MIF, Van Tilburg MF, Vieira IGP, Silva JB, Dos Santos RCR, et al. Optical absorption measurements and optoelectronic DFT calculations for ethanol solvated quercetin and anhydrous/hydrated quercetin crystals. *J Solid State Chem*. 2022 Aug;312:123242.
72. Brovarets' OO, Hovorun DM. Conformational diversity of the quercetin molecule: a quantum-chemical view. *J Biomol Struct Dyn*. 2020 July 2;38(10):2817–36.

73. Filip X, Grosu IG, Miclăuș M, Filip C. NMR crystallography methods to probe complex hydrogen bonding networks: application to structure elucidation of anhydrous quercetin. *CrystEngComm*. 2013;15(20):4131.
74. Harlow RL. Single-Crystal X-Ray Diffraction. In: Whan RE, editor. *Materials Characterization* [Internet]. ASM International; 1986 [cited 2025 Aug 24]. p. 344–56. Available from: <http://dl.asminternational.org/handbooks/book/7/chapter/100420/Single-Crystal-X-Ray-Diffraction>
75. Deriabina A, Prutskij T, Morales Ochoa HD, Delgado Curiel E, Palacios Corte V. Comparative Study of Fluorescence Emission of Fisetin, Luteolin and Quercetin Powders and Solutions: Further Evidence of the ESIPT Process. *Biosensors*. 2024 Aug 26;14(9):413.
76. Domagała S, Munshi P, Ahmed M, Guillot B, Jelsch C. Structural analysis and multipole modelling of quercetin monohydrate – a quantitative and comparative study. *Acta Crystallogr B*. 2011 Feb 1;67(1):63–78.
77. Jin GZ, Yamagata Y, Tomita K. Structure of quercetin dihydrate. *Acta Crystallogr C*. 1990 Feb 15;46(2):310–3.
78. Ahmed M, Sudhanshu, Malhotra SS, Alsubaie AS, El-Bahy SM, Mohapatra RK, et al. Structures, bonding aspects and spectroscopic parameters of morin, myricetin, and quercetin with copper/zinc complexes: DFT and TDDFT exploration. *J Mol Model*. 2025 Mar;31(3):75.
79. Liu Z, Barigye SJ, Shahamat M, Labute P, Moitessier N. Atom Types Independent Molecular Mechanics Method for Predicting the Conformational Energy of Small Molecules. *J Chem Inf Model*. 2018 Jan 22;58(1):194–205.
80. Stylianakis I, Zervos N, Lii JH, Pantazis DA, Kolocouris A. Conformational energies of reference organic molecules: benchmarking of common efficient computational methods against coupled cluster theory. *J Comput Aided Mol Des*. 2023 Dec;37(12):607–56.
81. Li Z, Moalin M, Zhang M, Vervoort L, Mommers A, Haenen GRMM. Delocalization of the Unpaired Electron in the Quercetin Radical: Comparison of Experimental ESR Data with DFT Calculations. *Int J Mol Sci*. 2020 Mar 16;21(6):2033.
82. Dubey R, Desiraju GR. Combinatorial selection of molecular conformations and supramolecular synthons in quercetin cocrystal landscapes: a route to ternary solids. *IUCrJ*. 2015 July 1;2(4):402–8.
83. Tanui HK, Nkabyo HA, Pearce BH, Hussein AA, Lopis AS, Luckay RC. Iron(III) and copper(II) complexes derived from the flavonoids morin and

quercetin: Chelation, crystal structure and DFT studies. *J Mol Struct.* 2022 June;1257:132591.

84. Hovorun DM, Voiteshenko IS, Gorb L. Manifestations of intramolecular H-bonds of CH... O and OH... C type in quercetin molecule: Analysis of IR spectra by mean of density functional theory. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2023 Feb;287:122065.
85. Prutskij T, Deriabina A, Melendez FJ, Castro ME, Castillo Trejo L, Vazquez Leon GD, et al. Concentration-Dependent Fluorescence Emission of Quercetin. *Chemosensors.* 2021 Nov 7;9(11):315.
86. Brovarets' OO, M. Hovorun D. A Never-Ending Conformational Story of the Quercetin Molecule: Quantum-Mechanical Investigation of the O3'H and O4'H Hydroxyl Groups Rotations. *Appl Sci.* 2020 Feb 8;10(3):1147.
87. Mukherjee S, Balias TE, Rizzo RC. Docking Validation Resources: Protein Family and Ligand Flexibility Experiments. *J Chem Inf Model.* 2010 Nov 22;50(11):1986–2000.
88. O'Boyle NM, Vandermeersch T, Flynn CJ, Maguire AR, Hutchison GR. Confab - Systematic generation of diverse low-energy conformers. *J Cheminformatics.* 2011 Dec;3(1):8.
89. Meli R, Biggin PC. spyrmsd: symmetry-corrected RMSD calculations in Python. *J Cheminformatics.* 2020 Dec;12(1):49.
90. Sargsyan K, Grauffel C, Lim C. How Molecular Size Impacts RMSD Applications in Molecular Dynamics Simulations. *J Chem Theory Comput.* 2017 Apr 11;13(4):1518–24.
91. Hozhabr Araghi S, Amalraj J, Sadeghi Googheri M, Pyarasani RD, Sadeghi Googheri MS. An in-silico study to gain a comprehensive understanding of the effects of glucosylation on quercetin properties. *Comput Theor Chem.* 2023 Feb;1220:113981.
92. Vo MN, Call M, Kowall C, Johnson JK. Method for Predicting Dipole Moments of Complex Molecules for Use in Thermophysical Property Estimation. *Ind Eng Chem Res.* 2019 Oct 16;58(41):19263–70.
93. Alizadeh SR, Savadkouhi N, Ebrahimzadeh MA. Drug design strategies that aim to improve the low solubility and poor bioavailability conundrum in quercetin derivatives. *Expert Opin Drug Discov.* 2023 Oct 3;18(10):1117–32.
94. Brovarets' OO, Hovorun DM. Conformational diversity of the quercetin molecule: a quantum-chemical view. *J Biomol Struct Dyn.* 2020 July 2;38(10):2817–36.

95. Brovarets' OO, Hovorun DM. A Hidden Side of the Conformational Mobility of the Quercetin Molecule Caused by the Rotations of the O3H, O5H and O7H Hydroxyl Groups: In Silico Scrupulous Study. *Symmetry*. 2020 Feb 3;12(2):230.
96. Morosanu AC, Benchea AC, Babusca D, Dimitriu DG, Dorohoi DO. Quantum-Mechanical and Solvatochromic Characterization of Quercetin. *Anal Lett*. 2017 Nov 22;50(17):2725–39.
97. Lipkowski P, Bartkowiak W. Variation in (Hyper)Polarizability of H₂ Molecule in Bond Dissociation Processes Under Spatial Confinement. *Molecules*. 2024 Dec 24;30(1):9.
98. Hussein HA. A DFT study of structural-stability, Mulliken charges, MEP, FMO, and NLO properties of trans alkenyl substituted chalcones conformers: theoretical study. *Struct Chem*. 2023 Dec;34(6):2201–23.
99. Pouchan C, Bégué D, Zhang DY. Between geometry, stability, and polarizability: Density functional theory studies of silicon clusters Sin (n=3–10). *J Chem Phys*. 2004 Sept 8;121(10):4628–34.
100. Feng C, Xi J, Zhang Y, Jiang B, Zhou Y. Accurate and Interpretable Dipole Interaction Model-Based Machine Learning for Molecular Polarizability. *J Chem Theory Comput*. 2023 Feb 28;19(4):1207–17.
101. Bureš F, Pytela O, Kivala M, Diederich F. Solvatochromism as an efficient tool to study *N*, *N*-dimethylamino- and cyano-substituted π -conjugated molecules with an intramolecular charge-transfer absorption. *J Phys Org Chem*. 2011 Apr;24(4):274–81.
102. Zanchi C, Longhi G, Abbate S, Pellegrini G, Biagioni P, Tommasini M. Evaluation of Molecular Polarizability and of Intensity Carrying Modes Contributions in Circular Dichroism Spectroscopies. *Appl Sci*. 2019 Nov 4;9(21):4691.
103. Brovarets' OO, Hovorun DM. Conformational equilibrium, IR and Raman vibrational spectra of the quercetin molecule in different solvents: A comprehensive quantum-chemical investigation. *Chem Phys Impact*. 2021 Dec;3:100033.
104. Mardirossian N, Head-Gordon M. How Accurate Are the Minnesota Density Functionals for Noncovalent Interactions, Isomerization Energies, Thermochemistry, and Barrier Heights Involving Molecules Composed of Main-Group Elements? *J Chem Theory Comput*. 2016 Sept 13;12(9):4303–25.

105. St. John PC, Guan Y, Kim Y, Etz BD, Kim S, Paton RS. Quantum chemical calculations for over 200,000 organic radical species and 40,000 associated closed-shell molecules. *Sci Data*. 2020 July 21;7(1):244.
106. Hernández B, Coïc Y, Kruglik SG, Sanchez-Cortes S, Ghomi M. Conformation Dependence of Phenylalanine Characteristic Raman Markers. *J Raman Spectrosc*. 2025 Mar;56(3):262–77.
107. Ignaczak A, Orszański Ł. In Search of the Most Stable Molecular Configuration of Heptakis(2,6- O -dimethyl)- β -cyclodextrin and Its Complex with Mianserin: A Comparison of the B3LYP-GD2 and M062X-GD3 Results. *J Phys Chem B*. 2021 Dec 9;125(48):13077–87.
108. Rodrigues-Oliveira AF, M. Ribeiro FW, Cervi G, C. Correra T. Evaluation of Common Theoretical Methods for Predicting Infrared Multiphotonic Dissociation Vibrational Spectra of Intramolecular Hydrogen-Bonded Ions. *ACS Omega*. 2018 Aug 31;3(8):9075–85.
109. Traesel HJ, Olivato PR, Rodrigues DNS, Valença J, Rodrigues A, Zukerman-Schpector J, et al. Spectroscopic and theoretical studies of some 2-(methoxy)-2-[(4-substituted)-phenylsulfanyl]-(4'-substituted) acetophenones. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2019 Mar;210:82–97.
110. Javaroni F, Ferreira ABB, Da Silva CO. The (α -1,6) glycosidic bond of isomaltose: a tricky system for theoretical conformational studies. *Carbohydr Res*. 2009 July;344(10):1235–47.
111. Traesel HJ, Olivato PR, Valença J, Rodrigues DNS, Zukerman-Schpector J, Colle MD. Conformational analysis of some 4'-substituted 2-(phenylselenanyl)-2-(methoxy)- acetophenones. *J Mol Struct*. 2018 Apr;1157:29–39.
112. Brovarets' OO, Hovorun DM. Intramolecular tautomerization of the quercetin molecule due to the proton transfer: QM computational study. Salahub D, editor. *PLOS ONE*. 2019 Nov 21;14(11):e0224762.
113. Chen Y, Xiao H, Zheng J, Liang G. Structure-Thermodynamics-Antioxidant Activity Relationships of Selected Natural Phenolic Acids and Derivatives: An Experimental and Theoretical Evaluation. Salahub D, editor. *PLOS ONE*. 2015 Mar 24;10(3):e0121276.
114. Glendening ED, Faust R, Streitwieser A, Vollhardt KPC, Weinhold F. The role of delocalization in benzene. *J Am Chem Soc*. 1993 Nov;115(23):10952–7.
115. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med*. 1996 Jan;20(7):933–56.

116. Van Acker SABE, Van Den Berg D jan, Tromp MNJL, Griffioen DH, Van Bennekom WP, Van Der Vijgh WJF, et al. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radic Biol Med*. 1996 Jan;20(3):331–42.
117. Latajka Z, Gajewski G, Barnes AJ, Ratajczak H. Hyperpolarizabilities of hydrogen-bonded complexes of phenol derivatives with ammonia: PM3 and ab initio studies. *J Mol Struct*. 2008 May;880(1–3):48–51.
118. Sebastianelli P, Pereyra RG. Frontier molecular orbital analysis for determining the equilibrium geometries of atmospheric prenucleation complexes. *Int J Quantum Chem*. 2020 Feb 5;120(3):e26060.
119. Tendongmo H, Kogge BF, Tamafo Fouegue AD, Tasheh SN, Tessa CBN, Ghogomu JN. Theoretical screening of N-[5'-methyl-3'-isoxasolyl]-N-[(E)-1-(2-thiophene)] methylidene]amine and its isoxazole based derivatives as donor materials for bulk heterojunction organic solar cells: DFT and TD-DFT investigation. *J Mol Model*. 2024 June;30(6):176.
120. Scharber MC, Sariciftci NS. Low Band Gap Conjugated Semiconducting Polymers. *Adv Mater Technol*. 2021 Apr;6(4):2000857.
121. Zhang C, Korshin GV, Kuznetsov AM, Yan M. Experimental and quantum-chemical study of differential absorbance spectra of environmentally relevant species: A study of quercetin deprotonation and its interactions with copper (II) ions. *Sci Total Environ*. 2019 Aug;679:229–36.
122. Normaya E, Fazli M, Norazmi Ahmad M, Ku Bulat KH. COSMO-RS and DFT studies on development and optimization of quercetin as a chemosensor for Fe³⁺ recognition in aqueous medium. *J Mol Struct*. 2019 May;1184:538–45.
123. Shi H. Origin of Substituent Positioning Effect Revealed And Apt Atomic Charge as Positioning Index Suggested by Dft Calculation and Mo Theory [Internet]. SSRN; 2023 [cited 2025 Sept 9]. Available from: <https://www.ssrn.com/abstract=4364110>
124. De Proft F, Martin JML, Geerlings P. On the performance of density functional methods for describing atomic populations, dipole moments and infrared intensities. *Chem Phys Lett*. 1996 Mar;250(3–4):393–401.
125. Gobato R, Risso Gobato MR, Heidari A, Mitra A. Infrared spectrum, apt charges and mulliken of hartree-fock methods protonated rhodochrosite crystal. *Dent Oral Maxillofac Res* [Internet]. 2020 [cited 2025 Sept 9];6(4). Available from: <https://www.oatext.com/infrared-spectrum-apt-charges-and-mulliken-of-hartree-fock-methods-protonated-rhodochrosite-crystal.php#gsc.tab=0>
126. Mgbukwu M, Fu X, Peshkov RYu, Doellerer D, Granados Buitrago C, Feringa BL, et al. Tuning the Photoisomerization Mechanism of Oxindole Switches

with Electron-Donating Substituents. *J Phys Chem B*. 2025 Apr 17;129(15):3839–50.

127. Zinatloo-Ajabshir S, Rakhshani S, Mehrabadi Z, Farsadrooh M, Feizi-Dehnayebi M, Rakhshani S, et al. Novel rod-like [Cu(phen)₂(OAc)]·PF₆ complex for high-performance visible-light-driven photocatalytic degradation of hazardous organic dyes: DFT approach, Hirshfeld and fingerprint plot analysis. *J Environ Manage*. 2024 Jan;350:119545.
128. Kong XP, Wang J. Copper(II) adsorption on the kaolinite(001) surface: Insights from first-principles calculations and molecular dynamics simulations. *Appl Surf Sci*. 2016 Dec;389:316–23.
129. Torreggiani A, Tamba M, Trincherro A, Bonora S. Copper(II)–Quercetin complexes in aqueous solutions: spectroscopic and kinetic properties. *J Mol Struct*. 2005 June;744–747:759–66.
130. Bojinov M. The ability of a surface charge approach to describe barrier film growth on tungsten in acidic solutions. *Electrochimica Acta*. 1997 Jan;42(23–24):3489–98.
131. Pavia DL, editor. Introduction to spectroscopy. 4th ed. Belmont, CA: Brooks/Cole, Cengage Learning; 2009. 656 p.
132. Bukhari SB, Memon S, Mahroof-Tahir M, Bhanger MI. Synthesis, characterization and antioxidant activity copper–quercetin complex. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2009 Jan;71(5):1901–6.
133. Pękal A, Biesaga M, Pyrzynska K. Interaction of quercetin with copper ions: complexation, oxidation and reactivity towards radicals. *BioMetals*. 2011 Feb;24(1):41–9.
134. De Souza RFV, Sussuchi EM, De Giovani WF. Synthesis, Electrochemical, Spectral, and Antioxidant Properties of Complexes of Flavonoids with Metal Ions. *Synth React Inorg Met-Org Chem*. 2003 Jan 8;33(7):1125–44.
135. Dimitrić Marković JM, Marković ZS, Brdarić TP, Pavelkić VM, Jadranin MB. Iron complexes of dietary flavonoids: Combined spectroscopic and mechanistic study of their free radical scavenging activity. *Food Chem*. 2011 Dec;129(4):1567–77.
136. Ghosh N, Chakraborty T, Mallick S, Mana S, Singha D, Ghosh B, et al. Synthesis, characterization and study of antioxidant activity of quercetin–magnesium complex. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2015 Dec;151:807–13.

137. Souza RFVD, De Giovani WF. Synthesis, spectral and electrochemical properties of Al(III) and Zn(II) complexes with flavonoids. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.* 2005 July;61(9):1985–90.
138. Kalinowska M, Świdorski G, Matejczyk M, Lewandowski W. Spectroscopic, thermogravimetric and biological studies of Na(I), Ni(II) and Zn(II) complexes of quercetin. *J Therm Anal Calorim.* 2016 Oct;126(1):141–8.
139. Prutskij T, Deriabina A, Melendez FJ, Castro ME, Castillo Trejo L, Vazquez Leon GD, et al. Concentration-Dependent Fluorescence Emission of Quercetin. *Chemosensors.* 2021 Nov 7;9(11):315.
140. Guchhait T, Giri M, Mishra SP. Geometry indices for four- and five-coordinate metal complexes: a concise review. *J Coord Chem.* 2024 Jan 17;77(1–2):49–68.
141. Kasprzak MM, Erxleben A, Ochocki J. Properties and applications of flavonoid metal complexes. *RSC Adv.* 2015;5(57):45853–77.
142. Martin EM, Bereman RD. Synthesis and characterization of square planar and pseudo-tetrahedral M(II)N₂S₂. *Inorganica Chim Acta.* 1991 Oct;188(2):221–31.
143. Villegas-Fernández MH, Carpio-Granillo M, Vargas-Hernández E, Zuno-Cruz FJ, Sánchez-Cabrera G. Una revisión general de las estructuras metal-orgánicas (MOF) dentro de la química inorgánica. *Pädi Bol Científico Cienc Básicas E Ing ICBI.* 2021 Jan 5;8(16):18–29.
144. Musialik M, Kuzmich R, Pawłowski TS, Litwinienko G. Acidity of Hydroxyl Groups: An Overlooked Influence on Antiradical Properties of Flavonoids. *J Org Chem.* 2009 Apr 3;74(7):2699–709.
145. Leopoldini M, Russo N, Chiodo S, Toscano M. Iron Chelation by the Powerful Antioxidant Flavonoid Quercetin. *J Agric Food Chem.* 2006 Aug 1;54(17):6343–51.
146. Ren J, Meng S, Lekka ChE, Kaxiras E. Complexation of Flavonoids with Iron: Structure and Optical Signatures. *J Phys Chem B.* 2008 Feb 1;112(6):1845–50.
147. Lekka ChE, Ren J, Meng S, Kaxiras E. Structural, Electronic, and Optical Properties of Representative Cu–Flavonoid Complexes. *J Phys Chem B.* 2009 May 7;113(18):6478–83.
148. Ensuncho AE, Robles JR, Lafont JJ. Modelado molecular de los complejos de aluminio(III) con el péptido β -amiloide implicado en la enfermedad de Alzheimer. *Inf Tecnológica.* 2020 Oct;31(5):71–8.

149. Veit M, Wilkins DM, Yang Y, DiStasio RA, Ceriotti M. Predicting molecular dipole moments by combining atomic partial charges and atomic dipoles. *J Chem Phys*. 2020 July 14;153(2):024113.
150. Duboué-Dijon E, Javanainen M, Delcroix P, Jungwirth P, Martinez-Seara H. A practical guide to biologically relevant molecular simulations with charge scaling for electronic polarization. *J Chem Phys*. 2020 Aug 7;153(5):050901.
151. Carpio-Martínez P, Ramírez-Palma DI, Cortés-Guzmán F. Spin Energy Contributions of the Kinetic Energy Density in the Stabilization of the Metal–Ligand Interactions. *J Phys Chem A*. 2024 July 4;128(26):5158–65.
152. Jay RM, Eckert S, Van Kuiken BE, Ochmann M, Hantschmann M, Cordones AA, et al. Following Metal-to-Ligand Charge-Transfer Dynamics with Ligand and Spin Specificity Using Femtosecond Resonant Inelastic X-ray Scattering at the Nitrogen K-Edge. *J Phys Chem Lett*. 2021 July 22;12(28):6676–83.
153. St. John PC, Guan Y, Kim Y, Etz BD, Kim S, Paton RS. Quantum chemical calculations for over 200,000 organic radical species and 40,000 associated closed-shell molecules. *Sci Data*. 2020 July 21;7(1):244.
154. Pękal A, Biesaga M, Pyrzynska K. Interaction of quercetin with copper ions: complexation, oxidation and reactivity towards radicals. *BioMetals*. 2011 Feb;24(1):41–9.
155. Mira L, Tereza Fernandez M, Santos M, Rocha R, Helena Florêncio M, Jennings KR. Interactions of Flavonoids with Iron and Copper Ions: A Mechanism for their Antioxidant Activity. *Free Radic Res*. 2002 Jan;36(11):1199–208.
156. Mammen D, Daniel M. A critical evaluation on the reliability of two aluminum chloride chelation methods for quantification of flavonoids. *Food Chem*. 2012 Dec;135(3):1365–8.
157. Moridani MY, Pourahmad J, Bui H, Siraki A, O'Brien PJ. Dietary flavonoid iron complexes as cytoprotective superoxide radical scavengers. *Free Radic Biol Med*. 2003 Jan;34(2):243–53.
158. Shaghaghi M, Manzoori JL, Jouyban A. Determination of total phenols in tea infusions, tomato and apple juice by terbium sensitized fluorescence method as an alternative approach to the Folin–Ciocalteu spectrophotometric method. *Food Chem*. 2008 May;108(2):695–701.
159. Torreggiani A, Tamba M, Trincherro A, Bonora S. Copper(II)–Quercetin complexes in aqueous solutions: spectroscopic and kinetic properties. *J Mol Struct*. 2005 June;744–747:759–66.

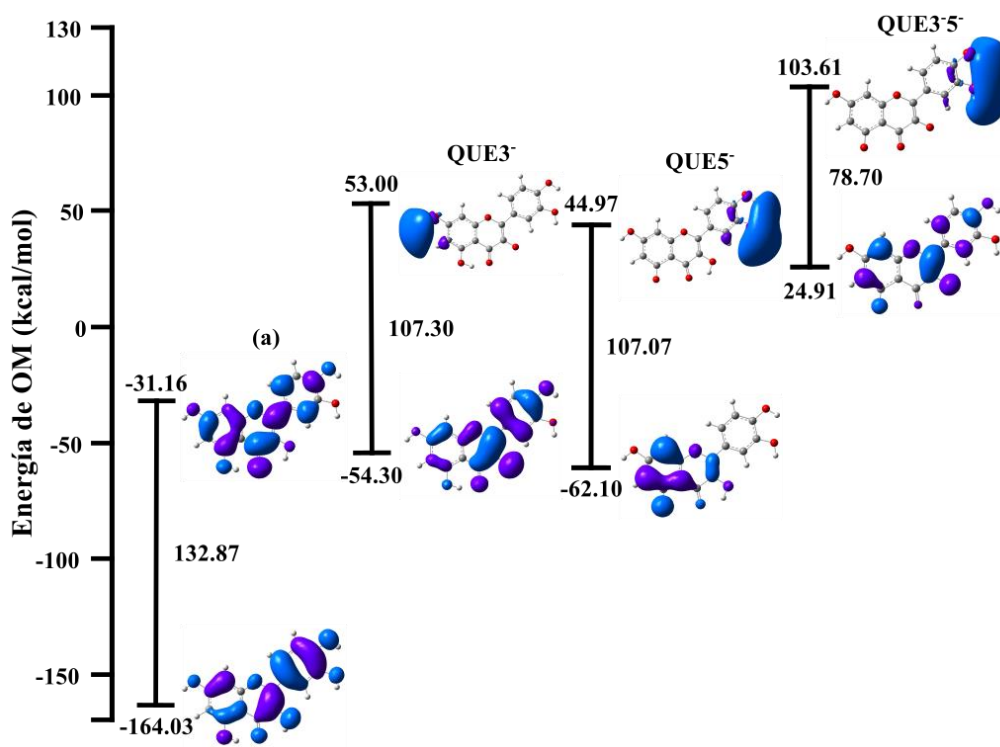
160. Corrente GA, Malacaria L, Beneduci A, Marino T, Furia E. Quercetin and luteolin complexation with first-row transition metals in purely aqueous solutions: stoichiometry and binding site selectivity. *Dalton Trans.* 2025;54(19):7828–37.
161. Da Silva HC, De Souza LA, Dos Santos HF, De Almeida WB. Determination of Anticancer Zn(II)–Rutin Complex Structures in Solution through Density Functional Theory Calculations of ¹H NMR and UV–VIS Spectra. *ACS Omega.* 2020 Feb 18;5(6):3030–42.
162. Yang S, Yin B, Xu L, Gao B, Sun H, Du L, et al. A natural quercetin-based fluorescent sensor for highly sensitive and selective detection of copper ions. *Anal Methods.* 2015;7(11):4546–51.
163. Primikyri A, Mazzone G, Lekka C, Tzakos AG, Russo N, Gerothanassis IP. Understanding Zinc(II) Chelation with Quercetin and Luteolin: A Combined NMR and Theoretical Study. *J Phys Chem B.* 2015 Jan 8;119(1):83–95.
164. Herrero-Martínez JM, Sanmartin M, Rosés M, Bosch E, Ràfols C. Determination of dissociation constants of flavonoids by capillary electrophoresis. *ELECTROPHORESIS.* 2005 May;26(10):1886–95.
165. Ren J, Meng S, Lekka ChE, Kaxiras E. Complexation of Flavonoids with Iron: Structure and Optical Signatures. *J Phys Chem B.* 2008 Feb 1;112(6):1845–50.
166. Pyrzynska K, Pękal A. Flavonoids as Analytical Reagents. *Crit Rev Anal Chem.* 2011 Oct;41(4):335–45.
167. Rauf S, Trzesowska-Kruszynska A, Sierański T, Świątkowski M. Copper(II) 2,2-Bis(Hydroxymethyl)Propionate Coordination Compounds with Hexamethylenetetramine: From Mononuclear Complex to One-Dimensional Coordination Polymer. *Molecules.* 2021 June 2;26(11):3358.
168. Alshalalfeh M, Xu Y. Chiroptical Spectroscopy, Theoretical Calculations, and Symmetry of a Chiral Transition Metal Complex with Low-Lying Electronic States. *Molecules.* 2025 Feb 10;30(4):804.
169. Lawson MK. Copper-quercetin complexes: methods of study, relevance to cell death pathways, therapeutic applications. *Biomed Pharmacother.* 2025 June;187:118055.
170. Lifshitz C, Märk TD. Ionization Theory. In: *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry* [Internet]. Elsevier; 1999 [cited 2025 Nov 18]. p. 1010–21. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B0122266803001459>

171. Renny JS, Tomasevich LL, Tallmadge EH, Collum DB. Method of Continuous Variations: Applications of Job Plots to the Study of Molecular Associations in Organometallic Chemistry. *Angew Chem Int Ed*. 2013 Nov 11;52(46):11998–2013.
172. Kahrović E, Zahirović A, Višnjevac A, Osmanković I, Turkušić E, Kurtagić H. Chalcone and Flavonol Copper(II) Complexes Containing Schiff Base Co-Ligand: Synthesis, Crystal Structures and Catecholase-like Activity. *Croat Chem Acta* [Internet]. 2018 [cited 2025 Nov 20];91(2). Available from: <https://hrcak.srce.hr/file/297468>
173. Martynov AG, Mack J, May AK, Nyokong T, Gorbunova YG, Tsivadze AY. Methodological Survey of Simplified TD-DFT Methods for Fast and Accurate Interpretation of UV–Vis–NIR Spectra of Phthalocyanines. *ACS Omega*. 2019 Apr 30;4(4):7265–84.
174. Yáñez-S M, Moya SA, Zúñiga C, Cárdenas-Jirón G. Theoretical assessment of TD-DFT applied to a ferrocene-based complex. *Comput Theor Chem*. 2017 Oct;1118:65–74.
175. Gummadi S, Kommoju M. Colorimetric Approaches To Drug Analysis And Applications – A Review. *Am J PharmTech Res*. 2019 Feb 8;9(1):14–37.
176. Batiha GES, Beshbishy AM, Ikram M, Mulla ZS, El-Hack MEA, Taha AE, et al. The Pharmacological Activity, Biochemical Properties, and Pharmacokinetics of the Major Natural Polyphenolic Flavonoid: Quercetin. *Foods*. 2020 Mar 23;9(3):374.
177. Liu Q, Zhang D, Liu F, Liu Z, Wang X, Yang Y, et al. Quercetin-derivatives painting the yellow petals of American lotus (*Nelumbo lutea*) and enzymatic basis for their accumulation. *Hortic Plant J*. 2023 Feb;9(1):169–82.
178. Zhou J, Wang L, Wang J, Tang N. Antioxidative and anti-tumour activities of solid quercetin metal(II) complexes. *Transit Met Chem*. 2001 Feb;26(1–2):57–63.
179. Browne AW, Deyneka E, Ceccarelli F, To JK, Chen S, Tang J, et al. Deep learning to enable color vision in the dark. Lewin AS, editor. *PLOS ONE*. 2022 Apr 6;17(4):e0265185.
180. Udayakumar N. Visible Light Imaging. In: Manickavasagan A, Jayasuriya H, editors. *Imaging with Electromagnetic Spectrum* [Internet]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2014 [cited 2025 Dec 4]. p. 67–86. Available from: https://link.springer.com/10.1007/978-3-642-54888-8_5
181. Chan NN, Idris A, Zainal Abidin ZH, Tajuddin HA, Abdullah Z. White light employing luminescent engineered large (mega) Stokes shift molecules: a review. *RSC Adv*. 2021;11(22):13409–45.

182. Liu H, Jiang G, Ke G, Ren T, Yuan L. Organic Fluorophores with Large Stokes Shift for Bioimaging and Biosensing. *ChemPhotoChem*. 2024 May;8(5):e202300277.
183. Alvarez A, Arvesen KB, Hjuler KF, Bjerring P, Petersen SB. New insight into erythema reduction induced by quercetin metal ions chelates [Internet]. *Biophysics*; 2024 [cited 2025 Dec 2]. Available from: <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2024.12.04.626931>
184. Mezzetti A, Protti S, Lapouge C, Cornard JP. Protic equilibria as the key factor of quercetin emission in solution. Relevance to biochemical and analytical studies. *Phys Chem Chem Phys*. 2011;13(15):6858.
185. Gao Z, Hao Y, Zheng M, Chen Y. A fluorescent dye with large Stokes shift and high stability: synthesis and application to live cell imaging. *RSC Adv*. 2017;7(13):7604–9.
186. Rathnachalam S, Menger MFSJ, Faraji S. Influence of the Environment on Shaping the Absorption of Monomeric Infrared Fluorescent Proteins. *J Phys Chem B*. 2021 Mar 11;125(9):2231–40.
187. Aziz DM, Amin AAM, Hassan SA, Özmen H, Incili GK, Say Y. One-pot synthesis of quercetin-functionalized silver and copper nanoparticles for enhanced optical, antimicrobial, and computational properties. *Sci Rep*. 2025 July 21;15(1):26391.
188. Roy DR, Parthasarathi R, Maiti B, Subramanian V, Chattaraj PK. Electrophilicity as a possible descriptor for toxicity prediction. *Bioorg Med Chem*. 2005 May;13(10):3405–12.
189. LoPachin RM, Geohagen BC, Nordstroem LU. Mechanisms of soft and hard electrophile toxicities. *Toxicology*. 2019 Apr;418:62–9.
190. Moreno-Ceballos A, Castro ME, Caballero NA, Mammino L, Melendez FJ. Implicit and Explicit Solvent Effects on the Global Reactivity and the Density Topological Parameters of the Preferred Conformers of Caespitate. *Computation*. 2024 Jan 3;12(1):5.
191. Tan J, Wang B, Zhu L. DNA binding and oxidative DNA damage induced by a quercetin copper(II) complex: potential mechanism of its antitumor properties. *JBIC J Biol Inorg Chem*. 2009 June;14(5):727–39.
192. Moodi Z, Bagherzade G, Peters J. Quercetin as a Precursor for the Synthesis of Novel Nanoscale Cu (II) Complex as a Catalyst for Alcohol Oxidation with High Antibacterial Activity. Sovago I, editor. *Bioinorg Chem Appl*. 2021 Mar 4;2021:1–9.

193. Jańczak-Pieniążek M, Migut D, Piechowiak T, Balawejder M. Assessment of the Impact of the Application of a Quercetin—Copper Complex on the Course of Physiological and Biochemical Processes in Wheat Plants (*Triticum aestivum* L.) Growing under Saline Conditions. *Cells*. 2022 Mar 28;11(7):1141.
194. Xu D, Hu MJ, Wang YQ, Cui YL. Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. *Molecules*. 2019 Mar 21;24(6):1123.

Suplementario



S 1. Orbitales moleculares frontera de la quercetina (a) y sus aniones (QUE3⁻, QUE5⁻ y QUE3⁻5⁻), calculados a nivel de teoría M062X/6-31+G(d). Se reportan sus valores energéticos (en kcal/mol) y su brecha energética (GAP). Las fases negativa y positiva se representan con violeta y azul, respectivamente.

S 2. Porcentajes de error de las señales obtenidas en los espectros de absorción UV/Vis de los aniones de quercetina calculados respecto a valores experimentales. Las desprotonaciones aisladas que se propusieron en nuestro estudio no se presentan a nivel experimental, pero se comparan con los casos con mayor similitud.

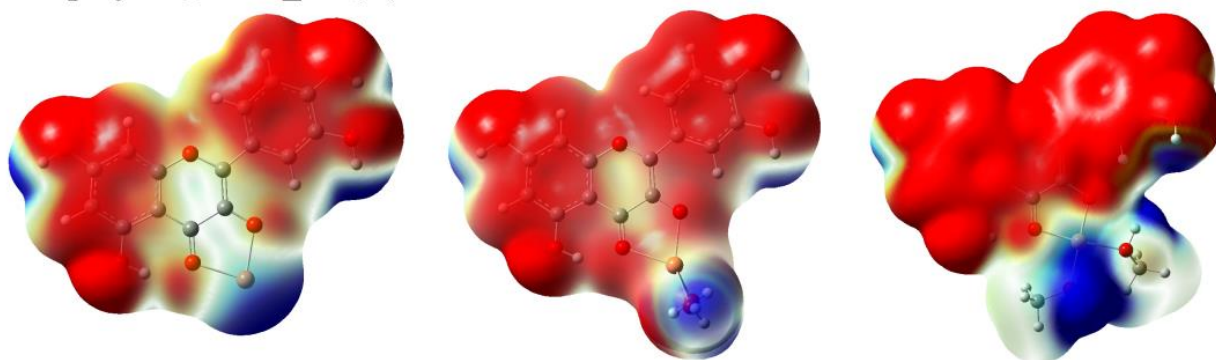
Aniones	Teórico		Experimental ^a				% error	
	Banda I	Banda II	pH 9.0-11.7 ^b		pH 11.7-13.0 ^c			
			Banda I	Banda II	Banda I	Banda II	Banda I	Banda II
QUE3 ⁻	414.2	289.6	355	305			16.7	5.0
QUE5 ⁻	372	248			405	312	8.1	20.5
QUE3 ⁻ 5 ⁻	382.8	301.4			405	312	5.5	3.4

^aTomados de (1).

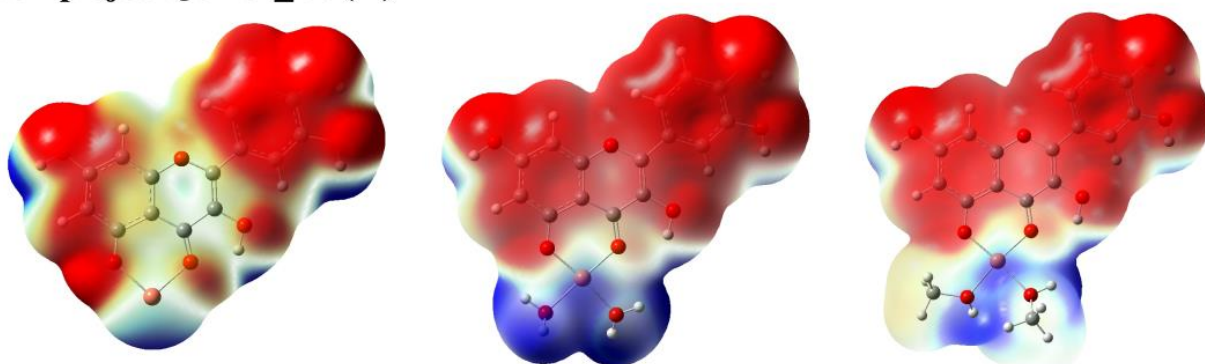
^bEn el rango de pH de 9,0 a 11,7, los grupos hidroxilo en 4', 7 y 3 se desprotonan.

^cEn el rango de pH de 11,7 a 13,0, los grupos hidroxilo 4', 7, 3 y 5 se desprotonan.

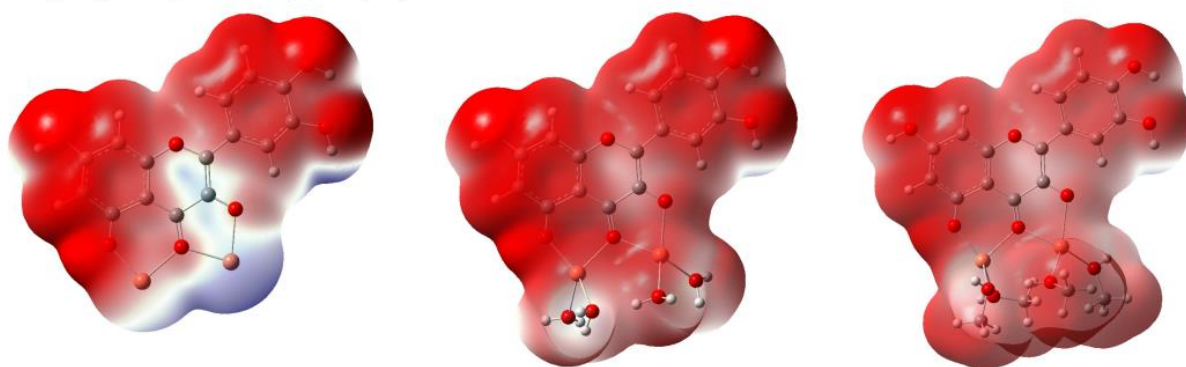
Complejos QUE3⁻_Cu(II)



Complejos QUE5⁻_Cu(II)



Complejos QUE3·5⁻_Cu(II)



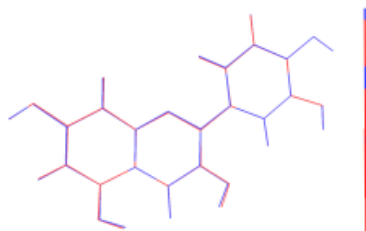
S 3. MEP de la quercetina (a), sus aniones y complejos con cobre estudiados. Calculados a nivel de teoría M062X/6—31+G(d). Según los mapas de potencial electrostático molecular, la desprotonación de la quercetina y la posterior formación de complejos de coordinación modifica la distribución de la densidad electrónica. La densidad electrónica se sitúa sobre los anillos (principalmente los anillos A y B) en los complejos formados con los monoaniones, mientras que en los complejos QUE3·5⁻_Cu(II) se presenta una alta densidad electrónica sobre gran parte de la especie.

S 4. Porcentajes de error de las señales obtenidas en los espectros de absorción UV/Vis de los complejos QUE_Cu(II) calculados respecto a valores experimentales.

Complejo	Banda II	%error	Banda I	%error	Banda III	%error
Experimental*	262-293		375-451		>400	
QUE3 ⁻ _Cu(II)			455.0	0.9	744.8	0
QUE3 ⁻ _Cu(II)_2H ₂ O	344.7	17.6	443.5	0.0	684.6	0
QUE3 ⁻ _Cu(II)_2MeOH	325.3	11.0	384.2	0.0		
QUE5 ⁻ _Cu(II)	371.7	26.9	454.3	0.7		
QUE5 ⁻ _Cu(II)_2H ₂ O	306.4	4.6	383.3	0.0		
QUE5 ⁻ _Cu(II)_2MeOH	321.4	9.7	382.14	0.0		
QUE3 ⁻ 5 ⁻ _Cu(II)	398.4	36.0	477.8	5.9	677.2	0
QUE3 ⁻ 5 ⁻ _Cu(II)_2H ₂ O	364.5	24.4	579.8	28.5	657.3	0
QUE3 ⁻ 5 ⁻ _Cu(II)_2MeOH	364.7	24.5	580.8	28.8	706.8	0

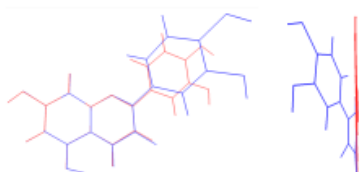
*Los espectros presentan distintas variaciones debido a las condiciones experimentales, por lo que los rangos establecidos para las bandas son resultado de una revisión bibliográfica (2–9). Los complejos con porcentaje de error 0 se encuentran dentro del rango de su respectiva banda, mientras que los porcentajes de error se calcularon respecto al valor límite más cercano. Por lo tanto, el nivel de teoría empleado podría estar subestimando las energías.

QUE

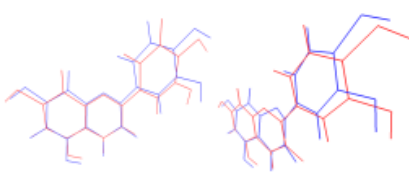


QUE3

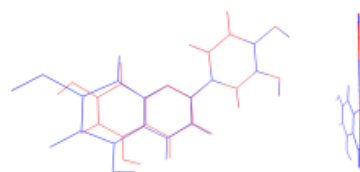
Anillo A



Anillo C

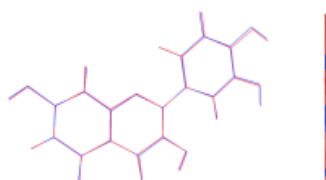


Anillo B

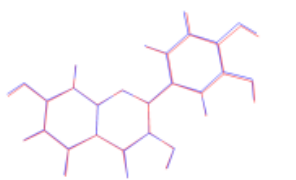


QUE5⁻

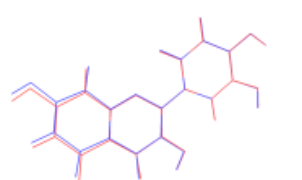
Anillo A



Anillo C

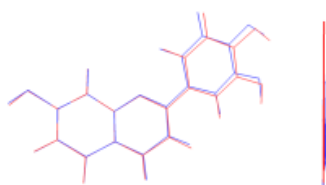


Anillo B

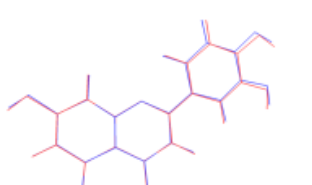


QUE3⁻⁵⁻

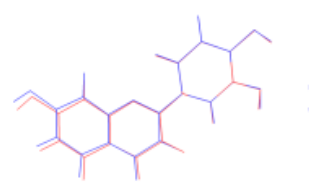
Anillo A



Anillo C



Anillo B



S 5. Conformaciones del estado fundamental (rojo) y del estado excitado (azul) de la quercetina y sus aniones. Se muestran las conformaciones alineadas por cada uno de sus anillos (frente y perfil).

S 6. Datos seleccionados para calcular los índices de reactividad global de los sistemas de capa abierta estudiados. En cada caso, se seleccionó al HOMO de mayor energía y al LUMO más cercano para obtener la brecha energética de menor magnitud.

Complejo	HOMO α (kcal/mol)	LUMO α (kcal/mol)	HOMO β (kcal/mol)	LUMO β (kcal/mol)
QUE3 ⁻ _Cu(II)	-234.71	-116.90	-246.79	-157.70
QUE3 ⁻ _Cu(II)_2H ₂ O	-224.00	-105.24	-238.58	-144.70
QUE3 ⁻ _Cu(II)_2MeOH	-216.28	-98.58	-216.03	-98.53
QUE5 ⁻ _Cu(II)	-239.14	-114.07	-233.72	-171.78
QUE5 ⁻ _Cu(II)_2H ₂ O	-217.48	-100.45	-217.36	-100.32

Referencias del suplementario

1. Zhang C, Korshin GV, Kuznetsov AM, Yan M. Experimental and quantum-chemical study of differential absorbance spectra of environmentally relevant species: A study of quercetin deprotonation and its interactions with copper (II) ions. *Science of The Total Environment*. 2019 Aug;679:229–36.
2. Bukhari SB, Memon S, Mahroof-Tahir M, Bhanger MI. Synthesis, characterization and antioxidant activity copper–quercetin complex. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2009 Jan;71(5):1901–6.
3. De Souza RFV, Sussuchi EM, De Giovani WF. Synthesis, Electrochemical, Spectral, and Antioxidant Properties of Complexes of Flavonoids with Metal Ions. *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*. 2003 Jan 8;33(7):1125–44.
4. Pękal A, Biesaga M, Pyrzynska K. Interaction of quercetin with copper ions: complexation, oxidation and reactivity towards radicals. *Biometals*. 2011 Feb;24(1):41–9.
5. Mira L, Tereza Fernandez M, Santos M, Rocha R, Helena Florêncio M, Jennings KR. Interactions of Flavonoids with Iron and Copper Ions: A Mechanism for their Antioxidant Activity. *Free Radical Research*. 2002 Jan;36(11):1199–208.
6. Moridani MY, Pourahmad J, Bui H, Siraki A, O'Brien PJ. Dietary flavonoid iron complexes as cytoprotective superoxide radical scavengers. *Free Radical Biology and Medicine*. 2003 Jan;34(2):243–53.

7. Torreggiani A, Tamba M, Trincherio A, Bonora S. Copper(II)–Quercetin complexes in aqueous solutions: spectroscopic and kinetic properties. *Journal of Molecular Structure*. 2005 June;744–747:759–66.
8. Yang S, Yin B, Xu L, Gao B, Sun H, Du L, et al. A natural quercetin-based fluorescent sensor for highly sensitive and selective detection of copper ions. *Anal Methods*. 2015;7(11):4546–51.
9. Lawson MK. Copper-quercetin complexes: methods of study, relevance to cell death pathways, therapeutic applications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2025 June;187:118055.