



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Físico Matemáticas

Relación entre la estructura molecular y propiedades ópticas de Luteolina, Fisetina y Quercetina. Un estudio teórico-experimental

Tesis presentada al

Posgrado en Ciencias Física Aplicada

Como requisito parcial para la obtención del grado de

Maestro en Física Aplicada

Por

Esteban Delgado Curiel

Asesorado por

Dra. Alexandra Deriabina

Dra. Tatiana Prutskij Alekseeva

Puebla Pue.

Diciembre 2023

Título: Relación entre la estructura molecular y propiedades ópticas de Luteolina, Fisetina y Quercetina. Un estudio teórico-experimental

Estudiante: ESTEBAN DELGADO CURIEL

Dr. Valery Poltev (FCFM-BUAP)
Presidente

Dra. María Eugenia Castro Sánchez (ICUAP-BUAP)
Secretario

Dr. Eduardo González Jiménez (FCFM-BUAP)
Vocal

Dra. Dolores García Toral (FIQ-BUAP)
Suplente

Resumen

En este trabajo se llevó a cabo el estudio de las propiedades ópticas de tres flavonoides que cuentan con diferencias en cantidad y posición de los grupos hidroxilo: Fisetina, Luteolina y Quercetina. Por la parte experimental se realizaron las mediciones de los espectros de fluorescencia de estos tres flavonoides, tanto en polvo como en soluciones de distintas concentraciones en metanol y propilenglicol. De igual forma se realizaron los cálculos de sus longitudes de onda de absorción y emisión con base en la Teoría del Funcional de Densidad, específicamente el funcional M06-2X, y como conjunto base 6-31++G(d,p).

Los resultados experimentales y teóricos fueron comparados para confirmar que la emisión de los flavonoides Luteolina, Fisetina y Quercetina se relaciona con el proceso de Transferencia Intramolecular del Protón en el Estado Excitado.

Índice General

Introducción	1
Flavonoides y su estructura química.....	1
Idea principal.....	2
Proceso ESIPT	3
Dependencia entre distancia O5-H5 de la molécula de L y su energía molecular	4
Dependencia entre la distancia O3-H3 de la molécula de F y su energía molecular	5
Capítulo 1.- Metodología computacional	6
DFT: Density Functional Theory.....	6
SCRF: Self-Consistent Reaction Field.....	7
PCM: Polarizable Continuum Model.....	7
Cálculo computacional de las longitudes de onda características de absorción y emisión.....	9
Capítulo 2.- Metodología experimental.....	12
Elaboración de soluciones	12
Equipo experimental.....	13
Desarrollo experimental.....	14
Resultados y discusión	16
Cálculos de longitudes de onda de absorción y emisión de L, F y Q y comparación con espectros de FL.....	16
Cálculos de longitudes de onda de absorción y emisión de L, F y Q en vacío	16
Espectros de FL de polvos de L, F y Q.....	19
Soluciones de L, F y Q en metanol y propilenglicol.....	20
Conclusiones.....	34
Referencias.....	36

Apéndice A: Resultados obtenidos de optimización.....	38
Luteolina.....	38
Fisetina.....	42
Quercetina.....	45
Apéndice B: Descripción de los productos.....	50
Flavonoides.....	50
Fisetina.....	50
Quercetina, Di hidrato.....	51
Luteolina.....	50
Solventes.....	51
Metanol / Alcohol metílico.....	51
Propylene Glycol / Propilen Glicol.....	51
Apéndice C: Publicaciones relacionadas al trabajo de tesis.....	52

Índice de Figuras

Fig. 1. (a) Estructura química base de los flavonoides. (b) Estructura química de las flavonas. (c) Estructura química de los flavonoles.....	1
Fig. 2. Estructura química de: (a) L, (b) F, (c) Q.	2
Fig. 3. Configuraciones enol y keto de: L, F y Q. Siendo L1: enol O5, L2: keto O5, F1: enol O3, F2: keto O3, Q1: enol O3, Q2: keto O3 & Q3: keto O5.....	3
Fig. 4. Dependencia de la energía molecular de la geometría en el estado base, <i>ES0</i> (curva azul), y del primer estado excitado, <i>ES1</i> (curva naranja), respecto a la distancia O5-H5 de molécula de L en vacío.	4
Fig. 5. Dependencia de la energía molecular de la geometría en el estado base, <i>ES0</i> (curva azul), y del primer estado excitado, <i>ES1</i> (curva naranja), respecto a la distancia O3-H3 de molécula de F en vacío.	5
Fig. 6. Instalación experimental utilizado para realizar las mediciones de los espectros de FL.....	13
Fig. 7. Esquema de la instalación experimental.	13
Fig. 8. Curva de lámpara de calibración.	15
Fig. 9. Espectros de FL de L, F y QDH.	19
Fig. 10. Espectros de FL de soluciones de L en propilenglicol con distintas concentraciones: (a) 2.6 mM, (b) 0.66 mM, (c) 0.16 mM y (d) 41 μ M, medidos a diferentes tiempos desde su preparación. Espectros de FL de solución recién hecha en color rojo y espectros de FL de solución a once meses de elaboración en color negro.....	23
Fig. 11. Espectros de FL de soluciones de L en propilenglicol con distintas concentraciones: (a) 2.6 mM, (b) 0.66 mM, (c) 0.16 mM y (d) 41 μ M, medidos a diferentes tiempos desde su preparación. Espectros de FL de solución recién hecha en color rojo y espectros de FL de solución a once meses de elaboración en color negro.....	24
Fig. 12. Espectros de FL de solución de F en distintas concentraciones en metanol: (a) 8.7 mM, (b) 2.3 mM, (c) 0.58 mM y (d) 0.14 mM, medidos a diferentes tiempos desde su preparación. Espectro de FL de solución recién	

hecha en color rojo y espectro de FL de solución a cinco meses de elaboración en color negro.....	25
Fig. 13. Espectros de FL de solución de F en distintas concentraciones en metanol: (a) 2.6 mM, (b) 0.7 mM, (c) 0.2 mM y (d) 44 μ M, medidos a diferentes tiempos desde su preparación. Espectro de FL de solución recién hecha en color rojo y espectro de FL de solución a cinco meses de elaboración en color negro.....	26
Fig. 14. Espectros de FL de solución de Q en distintas concentraciones en propilenglicol: (a) 10 mM, (b) 1 mM, (c) 100 μ M y (d) 10 μ M, medidos a diferentes tiempos desde su preparación. Espectro de FL de solución recién hecha en color rojo y a seis meses de elaboración en color negro.....	27
Fig. 15. Espectros de FL de solución de Q en distintas concentraciones en metanol: (a) 2.5 mM, (b) 0.6 mM, (c) 155 μ M y (d) 39 μ M, medidos a diferentes tiempos desde su preparación. Espectro de FL de solución recién hecha en color rojo y a doce días de elaboración en color negro.....	28
Fig. 16. Espectros de FL de L en metanol y propilenglicol respecto a la concentración a una medida de tiempo específica. Las concentraciones mostradas en los espectros de FL son las siguientes: 2.6/0.66 mM, 66 μ m/0.16 mM y 2.6/41 μ m.....	29
Fig. 17. Espectros de FL de F en metanol y propilenglicol respecto a la concentración a una medida de tiempo específica. Las concentraciones mostradas en los espectros de FL son las siguientes: 0.66/0.58 mM, 0.16/0.14 mM y 41/35 μ m.	30
Fig. 18. Espectros de FL de Q en metanol y propilenglicol respecto a la concentración a una medida de tiempo específica. Las concentraciones mostradas en los espectros de FL son las siguientes: 2.48/9.93 mM, 0.62/0.993 mM y 154.7/99.3 μ m.....	31

Índice de Tablas

Tabla L1. Características principales obtenidas del cálculo de longitudes de onda de absorción y emisión de las configuraciones enol O5 y keto O5 de la molécula de L en vacío.	16
Tabla L2. Características principales obtenidas del cálculo de las longitudes de onda de absorción y emisión de las configuraciones enol O5 y keto O5 de la molécula de L en metanol.....	20
Tabla L3. Características principales obtenidas de la optimización geométrica de la configuración enol O5 de la molécula de L en el estado base y en el primer estado excitado, tanto en vacío como en metanol. Utilizando el funcional M06-2X/6-31++G**.....	38
Tabla L 4. Características principales obtenidas de la optimización geométrica de la configuración keto O5 de la molécula de L en el primer estado excitado, tanto para vacío como metanol. Utilizando el funcional M06-2x/6-31++G**. 40	
Tabla F1. Características principales obtenidas del cálculo de las longitudes de onda de absorción y emisión de las configuraciones enol O3 y keto O3 de la molécula de F en vacío.	17
Tabla F2. Características principales obtenidas del cálculo de las longitudes de onda de absorción y emisión de las configuraciones enol O3 y keto O3 de la molécula de F en metanol.....	21
Tabla F3. Características principales obtenidas de la optimización geométrica de la configuración enol O3 de la molécula de F en el estado base y en el primer estado excitado, tanto en vacío como en metanol. Utilizando el funcional M06-2X/6-31++G**.....	42
Tabla F4. Principales características obtenidas de la optimización geométrica de la configuración keto O3 de la molécula de F en el primer estado excitado, tanto para vacío como metanol. Utilizando el funcional M06-2x/6-31++G**. 43	
Tabla Q1. Características principales obtenidas del cálculo de las longitudes de onda de absorción y emisión de las configuraciones enol O3/O5, keto O3 y keto O5 de la molécula de Q en vacío.	18

Tabla Q2. Características principales obtenidas del cálculo de las longitudes de onda de absorción y emisión de las configuraciones enol O3/O5, keto O3 y keto O5 de la molécula de Q en metanol.....	22
Tabla Q3. Características principales obtenidas de la optimización geométrica de la configuración enol O3 de la molécula de Q en el estado base y en el primer estado excitado, tanto en vacío como en metanol. Utilizando el funcional M06-2X/6-31++G**.....	45
Tabla Q4. Características principales obtenidas de la optimización geométrica de la configuración keto O3 de la molécula de Q en el estado base y en el primer estado excitado, tanto en vacío como en metanol. Utilizando el funcional M06-2X/6-31++G**.....	46
Tabla Q5. Características principales obtenidas de la optimización geométrica de la configuración keto O5 de la molécula de Quercetina DH en el estado base y en el primer estado excitado, tanto en vacío como en metanol. Utilizando el funcional M06-2X/6-31++G**.....	48

Introducción

Flavonoides y su estructura química

Luteolina (L), Fisetina (F) y Quercetina (Q) pertenecen a un grupo de sustancias naturales que reciben el nombre de flavonoides, estos son fáciles de encontrar en la naturaleza y regularmente se encuentran en una gran variedad de alimentos que consumimos día con día como lo son frutas y verduras. Los flavonoides brindan una gran variedad de beneficios ya que tienen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antimicrobianas e incluso anticancerígenas [1]–[3]. A pesar de que estas sustancias realizan funciones importantes, estas no pueden ser sintetizadas dentro del organismo humano, por lo que la única forma de obtenerlas es por medio de su consumo [4].

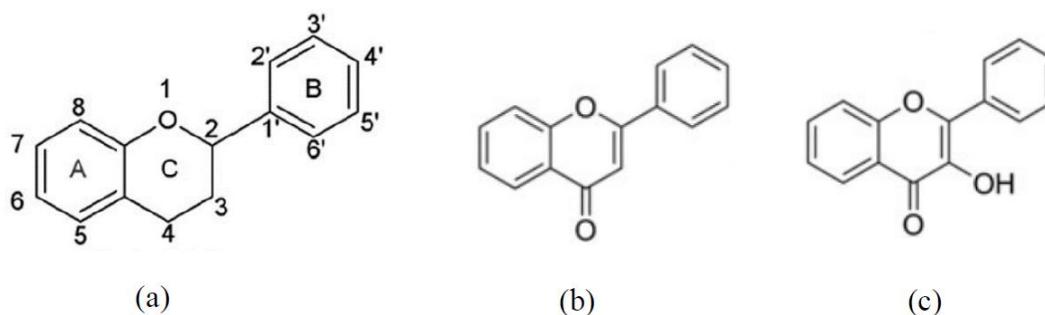


Fig. 1. (a) Estructura química base de los flavonoides. (b) Estructura química de las flavonas. (c) Estructura química de los flavonoles.

Las moléculas denominadas como flavonoides se componen por un anillo de benceno (A) y un anillo heterocíclico pirano (C), que juntos forman un compuesto llamado benzopirano, el cual está unido a un anillo fenilo (B) (Fig. 1a). Existen distintos subgrupos de flavonoides y las tres moléculas consideradas, L, F y Q, pertenecen a las flavonas (Fig. 1b), el cual se caracteriza por tener un enlace doble entre los átomos ubicados en las posiciones C2 y C3, al igual que un grupo carbonilo en la posición 4. A su vez, F y Q pertenecen al grupo llamado flavonoles (Fig. 1c), cuya diferencia con las flavonas es que cuenta con un grupo OH en la posición 3.

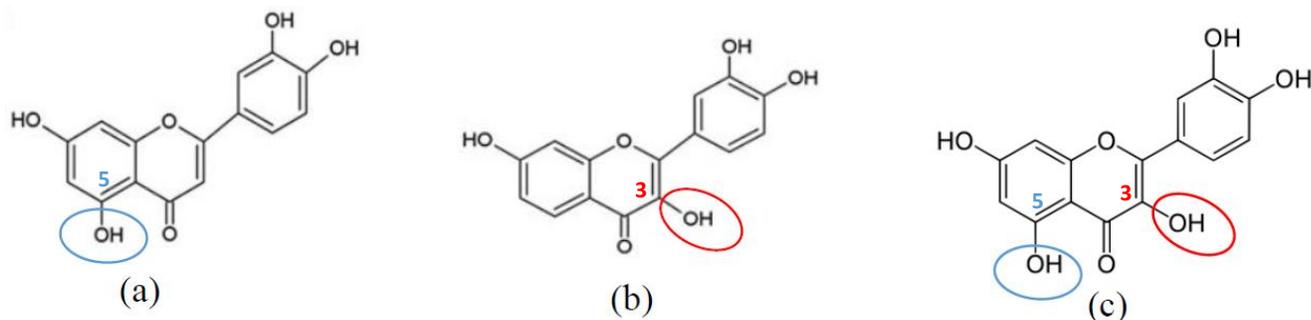


Fig. 2. Estructura química de: (a) L, (b) F, (c) Q.

Una forma de analizar la diferencia entre la configuración geométrica molecular de L, F y Q es comparando el número y posición de los grupos hidroxilo que tienen. Partiendo de la estructura de las flavonas mencionada anteriormente, L se forma al agregar cuatro grupos hidroxilo en las posiciones 3', 4', 5 y 7, razón por la que también recibe el nombre de 3', 4', 5, 7 – tetrahydroxyflavona (Fig. 2 (a)). Análogamente a L, F cuenta con cuatro grupos hidroxilo, sin embargo, estos se encuentran en las posiciones 3', 4', 3 y 7, por lo que también se le conoce como 3', 4', 3, 7 – tetrahydroxyflavona (Fig. 2 (b)). Por último, Q, a diferencia de los dos flavonoides anteriores, tiene cinco grupos hidroxilos en las mismas posiciones que L, agregando uno más en la posición 3, por lo que también se le llama 3', 4', 3, 5, 7 – pentahydroxyflavona (Fig. 2 (c)).

Idea principal

El estudio realizado en este trabajo parte de la elección de los flavonoides L, F y Q. Esto debido a que en la molécula de L (F) solamente la transferencia del protón en la posición 5 (3) es posible, mientras que en la molécula de Q ambas transferencias correspondientes a las posiciones 3 y 5 son posibles. Por lo que la idea principal del trabajo consiste en calcular para cada molécula las longitudes de onda de emisión correspondientes al proceso de Transferencia Intramolecular del Protón en el Estado Excitado (ESIPT) y comparar los resultados del cálculo hechos para vacío y solventes con las mediciones de sus espectros de fluorescencia (FL) hechos en polvos y soluciones.

Proceso ESIPT

El proceso ESIPT (del inglés Excited State Intermolecular Proton Transfer) ha sido investigado tanto de forma teórica como experimental desde que este modelo fue propuesto por primera vez en 1955 por Weller et al [5]. Este proceso consiste en la transferencia de un protón por medio de un enlace de hidrógeno entre un aceptor y un donador de la misma molécula. El intervalo de tiempo en el que se lleva a cabo la transferencia de protón es entre femto- y picosegundo [6], generando cambios en la configuración de la molécula y obligando a una reestructuración de los enlaces electrónicos de la misma.

Considerando los flavonoides L, F y Q, la transferencia del protón se lleva a cabo por medio de un enlace de hidrógeno entre uno de sus grupos hidroxilo, actuando como donador del protón, y un grupo carbonilo como aceptor (ver Fig. 2). Por consecuencia, la configuración de estos flavonoides pasa de su forma enol, la cual se define por tener un grupo hidroxilo enlazado a un carbono con doble enlace, al tautómero keto, que se define por tener un grupo carbonilo. Para L, F y Q observamos que en el estado base presentan una configuración enol y debido a la transferencia del protón se provocan modificaciones en sus grupos funcionales, lo que forma un tautómero que por sus características reconocemos como tautómero keto.

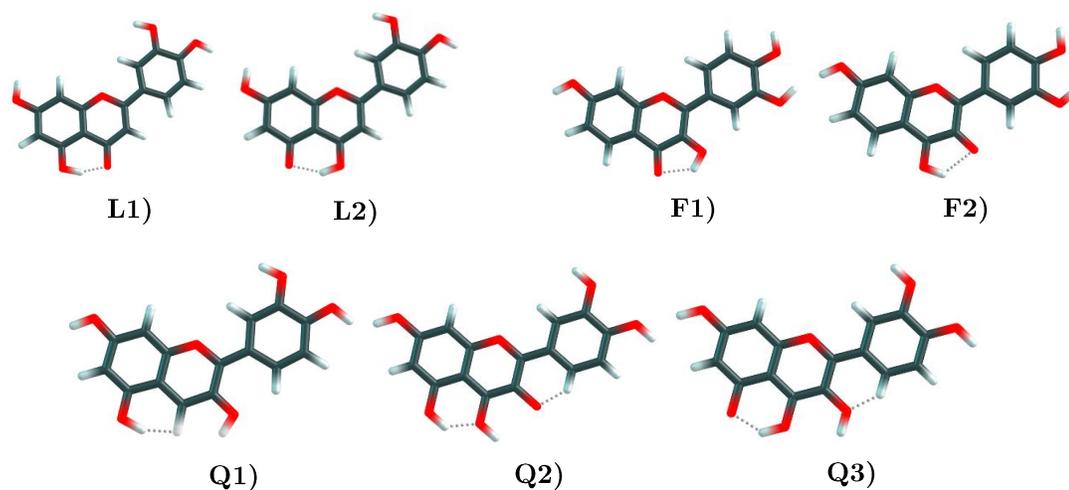


Fig. 3. Configuraciones enol y keto de: L, F y Q. Siendo L1: enol O5, L2: keto O5, F1: enol O3, F2: keto O3, Q1: enol O3, Q2: keto O3 & Q3: keto O5.

A continuación, analizaremos unos gráficos que muestran la dependencia de la energía molecular respecto de la distancia del enlace OH del que se llevará a cabo la transferencia del protón.

Dependencia entre distancia O5-H5 de la molécula de L y su energía molecular

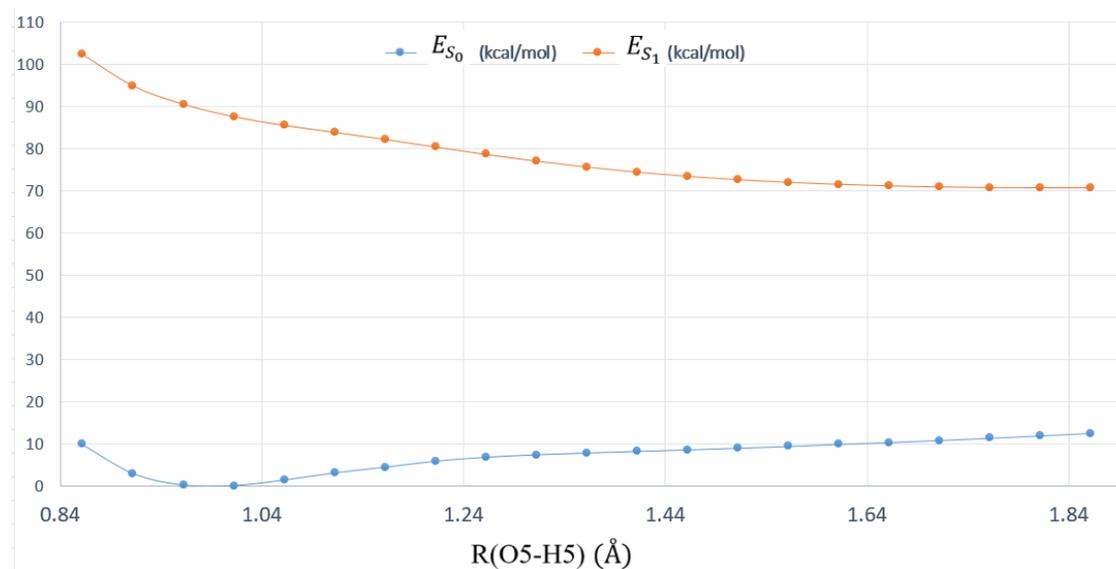


Fig. 4. Dependencia de la energía molecular de la geometría en el estado base, E_{S_0} (curva azul), y del primer estado excitado, E_{S_1} (curva naranja), respecto a la distancia O5-H5 de molécula de L en vacío.

En Fig. 4 podemos observar la dependencia de la distancia O5-H5 de la molécula de L en el vacío respecto a la energía molecular correspondiente a su configuración geométrica, donde se representa el estado base de color azul (E_{S_0}), y el primer estado excitado de color naranja (E_{S_1}) [7]. En el caso de L, el proceso ES IPT se presenta tal como el modelo lo propone ya que en el estado base únicamente es posible encontrar un mínimo en la energía de la molécula en su forma enol O5, el cual se da cuando la distancia entre O5 y H5 es de 0.99 Å. Al momento de que la molécula de L es excitada se lleva a cabo la transferencia del protón y de manera espontánea la configuración de L cambia a keto O5, lo que lleva a encontrar solo un mínimo de la energía molecular en el primer estado excitado

correspondiente a esta configuración cuando la distancia O5-H5 es de 1.86 Å.

Dependencia entre la distancia O3-H3 de la molécula de F y su energía molecular

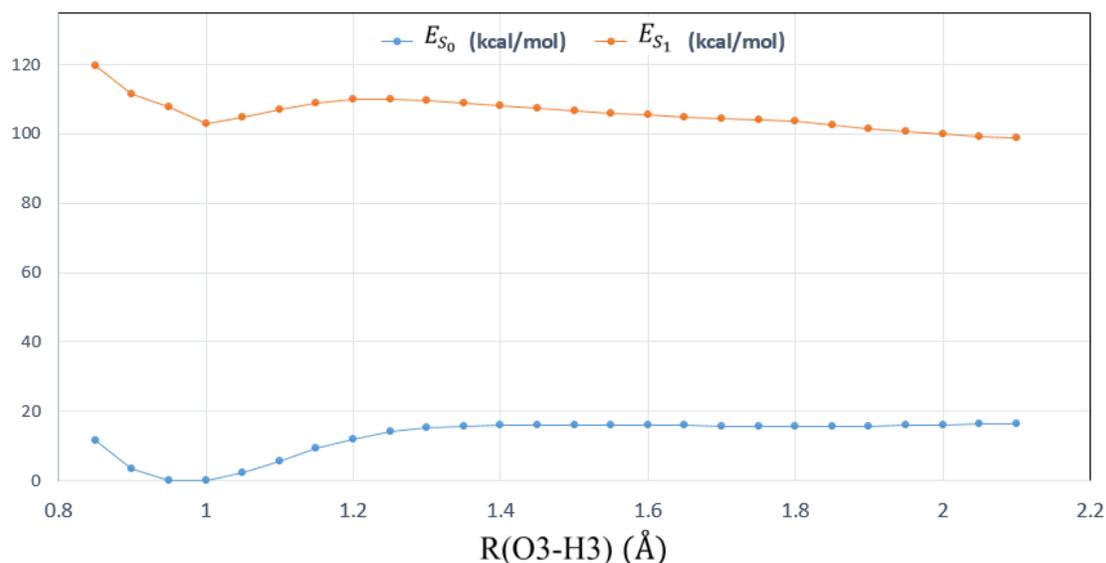


Fig. 5. Dependencia de la energía molecular de la geometría en el estado base, E_{S_0} (curva azul), y del primer estado excitado, E_{S_1} (curva naranja), respecto a la distancia O3-H3 de molécula de F en vacío.

En Fig. 5 se puede observar la dependencia de la distancia O3-H3 de la molécula de F en el vacío y la energía de su configuración geométrica, donde se representa el estado base de color azul (E_{S_0}), y el estado excitado de color naranja (E_{S_1}). A diferencia de L, podemos observar que F cuenta con dos mínimos de energía tanto en el estado base como en el primer estado excitado para ambas configuraciones, enol y keto O3. Se observa el mínimo presente en el estado base cuando la distancia O3 – H3 es 0.98 Å, correspondiente a la configuración enol O3. Para el primer estado excitado, podemos observar que el mínimo de energía de la configuración se encuentra cuando O3 – H3 ~ 0.995 Å. Para la configuración keto O3, el mínimo ocurre cuando la distancia O3 – H3 es de aproximadamente 1.83 Å en el estado base, y en el primer estado excitado cuando la distancia O3 – H3 es de aproximadamente 2.05 Å. A diferencia de la dependencia obtenida para L, en la curva correspondiente al primer estado excitado de F se

observa una barrera de aproximadamente 165 kcal/mol que se tiene que cruzar al pasar de la configuración enol O3 a keto O3, ubicada en 1.25 Å de la distancia O3-H3.

Capítulo 1.- Metodología computacional

El objetivo principal de la parte computacional del trabajo consiste en calcular las longitudes de onda características de absorción y emisión de L, F y Q, tanto en vacío como en solución con la finalidad de comparar los resultados del cálculo con los espectros de FL de estos flavonoides. Para esto, utilizando Gaussian16 [8] se llevó a cabo la optimización de la estructura geométrica de las moléculas L, F y Q, con base en la Teoría del Funcional de Densidad dependiente e independiente del tiempo (DFT & TDDFT), utilizando el funcional de Minnesota M06-2X y como conjunto base 6-31++G**.

En este capítulo se mencionan las principales teorías y modelos detrás de las herramientas computacionales utilizadas en este proyecto.

DFT: Density Functional Theory

DFT (en español, Teoría del Funcional de Densidad), surge de buscar alternativas para obtener soluciones a la ecuación de Schrödinger utilizando la densidad electrónica. Partiendo de esta teoría es posible reducir el problema de obtener la solución de la ecuación de Schrödinger, ya que en lugar de obtener la función de onda que se compone de $3N$ variables, se determina la densidad electrónica del sistema, la cual se compone de tres variables.

Esta teoría descansa sobre dos teoremas fundamentales que consideran que la energía en el estado base de un sistema puede ser expresada como funcional de la densidad electrónica, a esto se le debe el nombre de Teoría del Funcional de Densidad. También se considera que la densidad electrónica que minimiza la energía del funcional es la verdadera densidad

electrónica, la cual corresponde a la solución completa de la ecuación de Schrödinger.

SCRF: Self-Consistent Reaction Field

SCRF (en español, Campo de Reacción Auto Consistente), es un método de análisis del efecto de un solvente polarizable sobre un sistema cuántico. Este solvente se modela como un dieléctrico continuo que cubre el espacio que rodea al sistema cuántico. Las cargas correspondientes al sistema cuántico provocan que el continuo, en este caso el solvente, modifique su distribución de cargas, proceso que se conoce como campo de reacción. Esta reacción del continuo modifica de manera potencial al sistema cuántico debido a que altera su distribución de cargas, y así sucesivamente hasta que el sistema cuántico y el continuo llegan a un equilibrio. El algoritmo de SCRF se encarga de calcular el campo de reacción por medio de las soluciones de la ecuación de Poisson o Poisson-Boltzmann, y de manera iterativa obtiene la auto consistencia entre el campo de reacción y la distribución de cargas del sistema cuántico.

PCM: Polarizable Continuum Model

PCM (en español, Modelo del Continuo Polarizable), es un método compuesto de un conjunto de códigos que tiene como finalidad crear la cavidad del soluto mediante esferas sobrepuestas, la cual debe excluir al solvente y mantener dentro de sus fronteras la distribución de carga del soluto. La variante utilizada de este modelo por defecto en el método SCRF se le conoce como IEFPCM (del inglés, Integral Equation Formalism Polarizable Continuum Model), el cual utiliza métodos que involucran solutos en fase líquida y la caracterización de solventes por medio propiedades macroscópicas como su permitividad eléctrica.

El método PCM en Gaussian consiste en un procedimiento iterativo en el que el programa calcula la energía de la solución haciendo que el campo

de reacción del solvente sea auto consistente con el potencial electrostático del soluto. Este método se enfoca principalmente en el estudio de los procesos en estados excitados tales como fluorescencia y también puede ser utilizado para cálculos relacionados al estado base.

Para cálculos relacionados a estados excitados en solución existe una diferencia entre los cálculos en equilibrio y fuera del equilibrio. Esto debido a que el solvente reacciona de diferente forma cuando el estado del soluto cambia, ya que este polariza la distribución electrónica del solvente de forma muy rápida, provocando que exista una reorientación en las moléculas del solvente, el cual es un proceso mucho más lento. Cuando el tiempo de reacción del solvente es suficiente para asimilar el cambio de estado en el soluto se considera que el cálculo fue realizado en el equilibrio, por ejemplo, al realizar una optimización en la geometría molecular. En cambio, cuando el cambio de estado del soluto es demasiado rápido y el solvente no alcanza a reaccionar, consideramos que el cálculo fue fuera del equilibrio, como lo es en el caso de una excitación electrónica vertical.

Funcional de Minnesota M06-2X

El funcional de Minnesota M06-2X muestra un desempeño excelente en estudios donde se lleva a cabo la comparación con otros funcionales en cálculos relacionados a interacciones no covalentes, excitación electrónica, entre otros. Este funcional presentado en 2008 por Yan Zhao et al [9] ofrece herramientas que lo convierten en un funcional ideal para cálculos relacionados con flavonoides que cuentan con enlaces de hidrógeno internos y que su anillo B pueda encontrarse fuera del plano [3].

Cálculo computacional de las longitudes de onda características de absorción y emisión

El cálculo consiste en cuatro pasos para una molécula en el vacío y siete pasos para una molécula en una solución. En este trabajo se consideran L, F y Q en vacío y metanol como solvente. Estos cálculos fueron realizados en Gaussian16, utilizando el funcional de Minnesota M06-2X y 6-31++G** como conjunto base.

Cálculo para moléculas en el vacío:

Paso 1: Optimización de la geometría molecular en el estado base y cálculo de frecuencias.

En este paso se parte de una estructura de la molécula en el estado base y se lleva a cabo su optimización, lo que nos permite obtener la configuración geométrica molecular correspondiente a la mínima energía. De igual forma, en este paso se obtiene el valor de la energía molecular de la configuración optimizada en el estado base, así como el valor de las frecuencias. Es importante asegurarse de que tengan un valor positivo para confirmar que contamos con un mínimo de energía.

Paso 2: Cálculo de la energía de absorción de la molécula.

En este paso se lleva a cabo el cálculo de la energía molecular en el primer estado excitado para la misma geometría en la cual la energía molecular de la configuración optimizada en el estado base es mínima. Una vez obtenido este valor, se calcula la diferencia entre esta energía y el valor mínimo de la energía del estado base dando como resultado la energía de absorción de la molécula, lo que a su vez permite calcular la longitud de onda característica de absorción.

Paso 3: Optimización de la geometría del primer estado excitado.

En este paso, análogo al paso 1, se realiza la optimización de la geometría molecular en el primer estado excitado, obteniendo la energía mínima en el primer estado excitado y a partir de esta geometría se calcula la energía en el estado base, lo que permite calcular la energía de emisión de la molécula.

Paso 4: Cálculo de frecuencias de la geometría en el primer estado excitado.

En este paso se realiza el cálculo de las frecuencias vibracionales correspondientes a la geometría molecular optimizada en el primer estado excitado obtenida en el paso anterior. Esto para verificar que estas frecuencias sean positivas, es decir, que contemos con un mínimo de energía molecular.

Cálculo para moléculas en solución:

Paso 1: Optimización de la geometría del estado base y cálculo de frecuencias incluyendo solvatación en equilibrio PCM.

En el primer paso se calcula la energía correspondiente a la geometría de la molécula optimizada en el estado base, considerando la solvatación en equilibrio con el modelo PCM, mencionado previamente en este capítulo. También se calculan las frecuencias vibracionales para verificar si contamos con un mínimo en la energía molecular.

Paso 2: Cálculo de la energía de absorción considerando solvatación fuera del equilibrio.

En este paso se calcula la excitación vertical entre el estado base y el primer estado excitado de la molécula, calculando el valor de la energía molecular en el primer estado excitado respecto a la geometría molecular de mínima energía en el estado base. Esto considerando una solvatación fuera del equilibrio PCM.

Paso 3: Cálculo de la energía corregida del primer estado excitado debido a la interacción con el solvente fuera del equilibrio.

En este paso se calcula la energía corregida del primer estado excitado considerando una solvatación específica PCM, es decir, se lleva a cabo el cálculo fuera del equilibrio considerando la distribución de cargas debida a la interacción entre el solvente y el soluto.

Paso 4: Optimización de la geometría del primer estado excitado.

En este paso se lleva a cabo la optimización de la geometría del primer estado excitado en equilibrio, obteniendo el mínimo en la energía molecular en el primer estado excitado.

Paso 5: Cálculo de frecuencias vibracionales de la geometría optimizada del primer estado excitado.

Se lleva a cabo el cálculo de las frecuencias vibracionales de la geometría optimizada del primer estado excitado para verificar si se cuenta con un mínimo en la energía molecular.

Paso 6: Cálculo de la energía de emisión corregida de la geometría del primer estado excitado en su estado excitado.

Se lleva a cabo el cálculo de la energía del primer estado excitado considerando solvatación específica PCM, es decir, la energía corregida debido a la interacción del soluto con el solvente fuera del equilibrio.

Paso 7: Cálculo de la energía de emisión corregida de la geometría del primer estado excitado en su estado base.

Se realiza el cálculo de la energía de emisión corregida de la geometría del primer estado excitado en su estado de equilibrio, es decir, su estado base. Esto considerando la interacción entre el soluto y el solvente fuera del equilibrio.

Capítulo 2.- Metodología experimental

Elaboración de soluciones

Los productos utilizados para la elaboración de las soluciones se encuentran descritos en el Apéndice B, que se encuentra en la parte final de este trabajo.

Para las soluciones de los distintos flavonoides en metanol y propilenglicol se utilizó el mismo proceso, razón por la que será descrito de forma general para L, F y Q.

Para la primera solución se toma la cantidad necesaria del polvo del flavonoide, pesado en una báscula electrónica calibrada. Posteriormente, se agrega el polvo del flavonoide y cuatro mililitros del solvente correspondiente en un vaso de precipitado que se introduce en el aparato de ultrasonido. Para la segunda solución se toma un mililitro de la primera y se agregan tres más del solvente, disminuyendo la concentración. Este proceso se aplica sucesivamente hasta conseguir la menor concentración deseada.

Los solventes metanol y propilenglicol fueron seleccionados debido a que ambos son solventes polares próticos, lo que permite que se formen enlaces de hidrógeno entre las moléculas del solvente y el flavonoide. Además, los flavonoides muestran buena solubilidad en estos solventes.

Equipo experimental

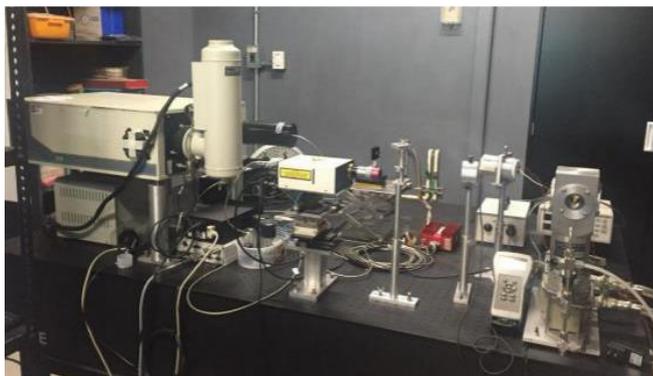


Fig. 6. Instalación experimental utilizado para realizar las mediciones de los espectros de FL.

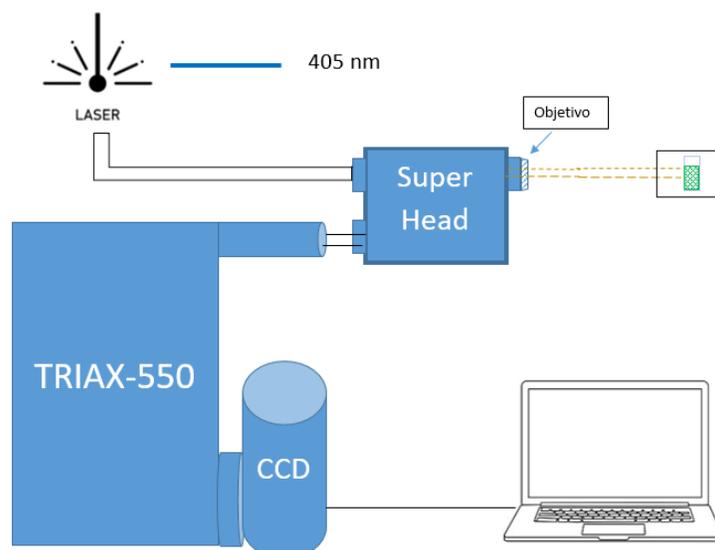


Fig. 7. Esquema de la instalación experimental.

La instalación experimental que se utiliza para realizar las mediciones de los espectros de las soluciones y polvos de los flavonoides seleccionados contiene un Monocromador TRIAX 550, un detector de carga acoplada (CCD) y un láser de longitud de onda de 405 nm.

El haz es dirigido hacia el Super Head por medio de un cable óptico. El Super Head cuenta con un filtro en su entrada principal que permite que solo pase la longitud de onda correspondiente a la longitud de onda del láser. Después el haz pasa por un objetivo de microscopio con 2x de

aumento, que dirige al haz del láser a la muestra, produciendo la emisión de radiación, es decir, fluorescencia.

La radiación emitida es recogida por el objetivo, e ingresa nuevamente al Super Head, donde un sistema óptico compuesto por dos espejos planos dirige el haz hacia la salida de este, no sin antes pasar por un filtro que no permite el paso de la longitud de onda del láser.

Al salir del Super Head, la señal de fluorescencia es dirigida por medio de un cable óptico a un colimador, que cuenta con un sistema óptico compuesto por dos lentes, cuya función es enfocar la señal en la rendija de entrada del Monocromador TRIAX 550. Este monocromador maneja tres rejillas de difracción, razón por la que es llamado TRIAX, también cuenta con dos espejos parabólicos, cuya distancia focal es 550.

La señal de fluorescencia pasa por el colimador y entra al monocromador por una rendija cuyo ancho y tiempo de apertura son controlados. En la salida del monocromador la señal de fluorescencia es detectada por el detector de carga acoplada, o CCD (Charge Coupled Device, por sus siglas en inglés), enfriado por nitrógeno líquido. La detección de la señal se lleva a cabo por zonas o rangos posteriormente unidos y detectados mediante un software especializado que convierte la intensidad de la señal medida en un espectro.

Desarrollo experimental

La parte experimental consistió en medir y analizar los espectros de FL de las soluciones de L, F y Q, en metanol y propilenglicol con distintas concentraciones, al igual que los espectros de FL de los polvos de estas sustancias. El nivel de potencia óptica mantenido en las mediciones de materiales sólidos fue del orden de 5mW para evitar el calentamiento de la muestra.

Debido a que existe cierta dependencia del coeficiente de reflexión de la rejilla de difracción con la longitud de onda, es necesario calibrar los espectros de FL. Esta calibración fue realizada con una lámpara de halógeno por lo que los datos

obtenidos del espectro medido se multiplican por los obtenidos de la muestra. A continuación, se muestra el espectro de FL de la lámpara de calibración:

Curva de calibración

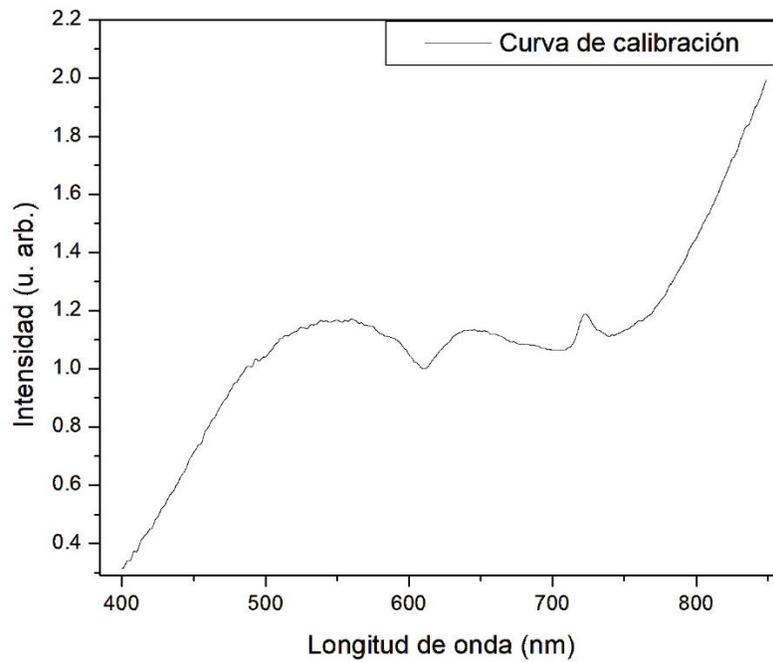


Fig. 8. Curva de lámpara de calibración.

Resultados y discusión

Cálculos de longitudes de onda de absorción y emisión de L, F y Q y comparación con espectros de FL

Cálculos de longitudes de onda de absorción y emisión de L, F y Q en vacío

A continuación, se presenta las tablas donde se muestran valores obtenidos del cálculo de las longitudes de onda de absorción y emisión de la configuración enol y keto de las moléculas de L, F y Q en vacío. Los valores destacados en **rojo** corresponden longitudes de onda de emisión, los cuales serán comparados con los valores obtenidos experimentalmente.

Luteolina

Tabla L1. Características principales obtenidas del cálculo de longitudes de onda de absorción y emisión de las configuraciones enol O5 y keto O5 de la molécula de L en vacío.

	Enol O5		Keto O5	
	S_0	S_1	S_0	S_1
	Vacío			
Energía del estado base, E_{s_0} (a.u.)	-1028.6216	-	-	-1028.5813
Energía del primer estado excitado, E_{s_1} (a.u.)	-1028.4655	-	-	-1028.5081
Energía corregida del punto cero, Z_E (a.u.)	-1028.3938	-	-	-1028.2838
Energía de absorción, ΔE (eV)	4.25	-	-	-
Longitud de onda característica de absorción, λ_{abs} (nm)	292	-	-	-
Fuerza del oscilador para absorción, f_{abs}	0.3954	-	-	-
Energía de emisión, ΔE (eV)	-	-	-	1.99
Longitud de onda característica de emisión, λ_{em} (nm)	-	-	-	623
Fuerza del oscilador para emisión, f_{em}	-	-	-	0.0400

De la Tabla L1 podemos observar que en el primer estado excitado la configuración enol O5 no cuenta con un mínimo en su energía, esto debido a que, al excitarse la molécula, su configuración pasa de enol O5 a keto O5, dando lugar a la transferencia de protón mencionada en *Introducción – Proceso ES IPT*. Análogamente, el estado base de la configuración keto O5 no cuenta con un mínimo de energía, por lo que se puede concluir que para L el estado base corresponde a su configuración enol O5 y en el primer estado excitado a la configuración keto O5.

También se destaca el valor de la longitud de onda de emisión de la configuración keto O5, **623** nm, el cual se comparará con el obtenido del espectro de FL del polvo de L.

La molécula que se utilizó para el cálculo fue la misma que fue presentada en el artículo de Cox et al. [10] donde muestran características del cristal de L.

En el Apéndice C, última sección de este trabajo, se muestran trabajos presentados en congresos relacionados al estudio de la molécula de L [11], [12].

Fisetina

Tabla F1. Características principales obtenidas del cálculo de las longitudes de onda de absorción y emisión de las configuraciones enol O3 y keto O3 de la molécula de F en vacío.

	Enol O3		Keto O3	
	S_0	S_1	S_0	S_1
	Vacío			
Energía del estado base, E_{s_0} (a.u.)	-1028.6175	-1028.6082	-1028.5920	-1028.5868
Energía del primer estado excitado, E_{s_1} (a.u.)	-1028.4700	-1028.4797	-1028.4891	-1028.4952
Energía corregida del punto cero, Z_E (a.u.)	-1028.3895	-1028.2559	-1028.3652	-1028.2709
Energía de absorción, ΔE (eV)	4.01	-	2.8	-
Longitud de onda característica de absorción, λ_{abs} (nm)	309	-	443	-
Fuerza del oscilador para absorción, f_{abs}	0.5736	-	0.4885	-

Energía de emisión, ΔE (eV)	-	3.5	-	2.5
Longitud de onda característica de emisión, λ_{em} (nm)	-	355	-	498
Fuerza del oscilador para emisión, f_{em}	-	0.6264	-	0.4724

De la Tabla F1 podemos destacar que, a diferencia de L, F tiene mínimos de energía en el estado base y en el primer estado excitado para ambas configuraciones, enol O3 y keto O3. La longitud de onda de emisión en el primer estado excitado de la configuración keto O3 de F, 498 nm, valor que se comparará con el obtenido del espectro de FL del polvo de F.

Quercetina

Tabla Q1. Características principales obtenidas del cálculo de las longitudes de onda de absorción y emisión de las configuraciones enol O3/O5, keto O3 y keto O5 de la molécula de Q en vacío.

	Enol O3/O5		Keto O3		Keto O5	
	S_0	S_1	S_0	S_1	S_0	S_1
	Vacío					
E_{S_0} (a.u.)	-1103.8254	-1103.8165	-	-1103.7888	-	-1103.7852
E_{S_1} (a.u.)	-1103.6853	-1103.6936	-	-1103.6979	-	-1103.7080
Z_E (a.u.)	-1103.5924	-1103.4658	-	-1103.4689	-	-1103.4789
ΔE_{abs} (eV)	3.81	-	-	-	-	-
λ_{abs} (nm)	325	-	-	-	-	-
f_{abs}	0.6137	-	-	-	-	-
ΔE_{emi} (eV)	-	3.35	-	2.47	-	2.1
λ_{em} (nm)	-	371	-	502	-	591
f_{em}	-	0.6121	-	0.5086	-	0.1009

De la Tabla Q1 se puede observar que la configuración enol O3/O5 cuenta con mínimos de energía molecular en su estado base y en su primer estado excitado. En el estado base se lleva a cabo la transferencia del protón H4 al O3 en la configuración keto O3, y del H4 al O5, en la configuración Keto O5. Ambas configuraciones cuentan con mínimos de energía

molecular en el primer estado excitado. En la configuración keto O5 se obtuvo una longitud de onda de emisión de 591 nm, valor que se comparará con el obtenido del espectro de FL del polvo de Q.

Espectros de FL de polvos de L, F y Q

En Fig. 9 se presentan los espectros de FL de los polvos de los flavonoides L, F y Q, medidos usando longitud de onda de excitación de 405 nm.

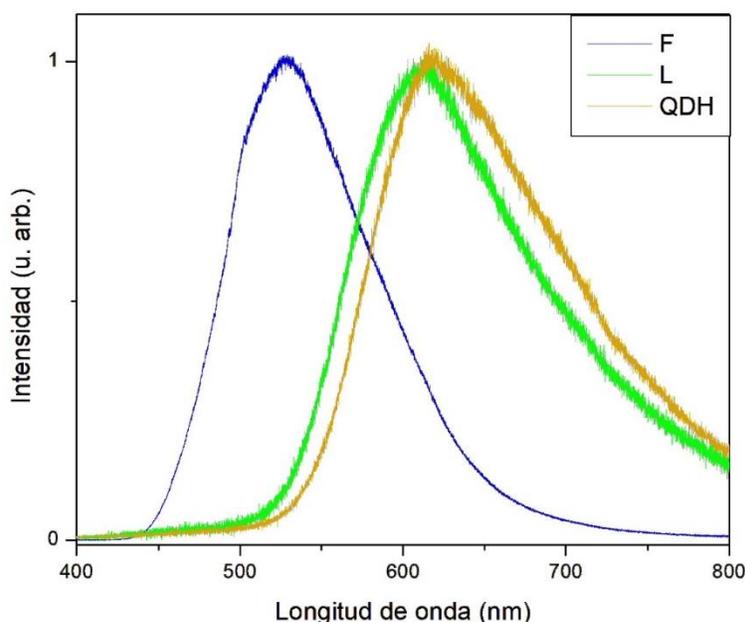


Fig. 9. Espectros de FL de L, F y QDH.

Los semianchos de los picos de FL son aproximadamente iguales, y las posiciones de los máximos corresponden a: 615 nm para L y QDH, y 525 nm para F, aproximadamente.

En comparación con los valores de las longitudes de onda de emisión calculadas: 623 nm para L, 498 nm para F, y nm para QDH, podemos apreciar que existe similitud respecto a los valores experimentales, por lo que se concluye que el modelo del proceso ESIPT es una herramienta eficiente para obtener las longitudes de onda características de L, F y Q en vacío.

Soluciones de L, F y Q en metanol y propilenglicol

A continuación, se presentan tablas con los valores obtenidos del cálculo de las longitudes de onda de absorción y emisión de las configuraciones enol y keto de las moléculas L, F y Q en solución. Los valores entre paréntesis corresponden a la energía corregida considerando la interacción del solvente fuera del equilibrio en base al modelo PCM mencionado en el Capítulo 1. También se muestran valores destacados en *cursiva* correspondientes a un cálculo donde se obtuvieron frecuencias negativas.

Luteolina

Tabla L2. Características principales obtenidas del cálculo de las longitudes de onda de absorción y emisión de las configuraciones enol O5 y keto O5 de la molécula de L en metanol.

	Enol O5		Keto O5	
	S_0	S_1	S_0	S_1
	Metanol			
E_{S_0} (a.u.)	-1028.6458	-1028.6340 (-1028.6300)	<i>-1028.6315</i>	-1028.6199 (-1028.6142)
E_{S_1} (a.u.)	-1028.4955 (-1028.4982)	-1028.5142 (-1028.5149)	<i>-1028.5122 (-1028.5083)</i>	-1028.5264 (-1028.5356)
Z_E (a.u.)	-1028.4183	-1028.2918	<i>-1028.4046</i>	-1028.3028
ΔE_{abs} (eV)	4.09 (4.02)	-	3.25 (3.35)	-
λ_{abs} (nm)	303 (309)	-	382 (370)	-
f_{abs}	0.6991	-	<i>0.3387</i>	-
ΔE_{emi} (eV)	-	3.26 (3.13)	-	2.54(2.14)
λ_{em} (nm)	-	381(396)	-	487(580)
f_{em}	-	1.02	-	0.30

De la Tabla L2 observamos que en la configuración enol O5 existe un mínimo de energía en el estado base y en el primer estado excitado. En el estado base de la configuración keto O5 se obtuvieron frecuencias negativas, razón por la que se destaca en cursivas. En el primer estado excitado de la configuración keto O5 tenemos que su longitud de onda de emisión es de **580** nm. Valor que se comparará con el obtenido del espectro de FL de L en solución. Es importante destacar que los valores entre paréntesis representan las energías corregidas debido a la interacción entre el soluto y el solvente fuera de equilibrio.

Fisetina

Tabla F2. Características principales obtenidas del cálculo de las longitudes de onda de absorción y emisión de las configuraciones enol O3 y keto O3 de la molécula de F en metanol.

	Enol O3		Keto O3	
	S_0	S_1	S_0	S_1
	Metanol			
E_{S_0} (a.u.)	-1028.6370	-1028.6257 (-1028.6244)	-1028.6153	-1028.6086 (-1028.6078)
E_{S_1} (a.u.)	-1028.4934 (-1028.4950)	-1028.5113 (-1028.5069)	-1028.5106 (-1028.5028)	-1028.5246 (-1028.5113)
Z_E (a.u.)	-1028.4095	-1028.2875	-1028.3888	-1028.3005
ΔE_{abs} (eV)	3.91(3.86)	-	2.85(3.06)	-
λ_{abs} (nm)	317(321)	-	435(405)	-
f_{abs}	0.6990	-	0.6139	-
ΔE_{emi} (eV)	-	3.11(3.2)	-	2.29(2.63)
λ_{em} (nm)	-	398(388)	-	543(472)
f_{em}	-	1.012	-	0.7944

En la Tabla F2 podemos observar que para la configuración Keto O3 obtenemos que la longitud de onda de emisión es de **472** nm. Valor que se comparará con el obtenido del espectro de FL de F en solución.

Es importante destacar que los valores entre paréntesis representan a las energías corregidas debido a la interacción entre el soluto y el solvente fuera de equilibrio.

Quercetina

Tabla Q2. Características principales obtenidas del cálculo de las longitudes de onda de absorción y emisión de las configuraciones enol O3/O5, keto O3 y keto O5 de la molécula de Q en metanol.

	Enol O3/O5		Keto O3		Keto O5	
	S_0	S_1	Metanol S_0	S_1	S_0	S_1
E_{s_0} (a.u.)	-1103.8466	-1103.8361(-1103.8361)	-1103.8194	-1103.8127(-1103.8122)	-	-1103.8185(-1103.8)
E_{s_1} (a.u.)	-1103.7093(-1103.7081)	-1103.7256(-1103.7326)	-1103.7162(-1103.7092)	-1103.7303(-1103.7175)	-	-1103.7301(-1103.7326)
Z_E (a.u.)	-1103.6143	-1103.4972	-1103.5885	-1103.5015	-	-1103.5018
ΔE_{abs} (eV)	3.74(3.77)	-	2.81(3)	-	-	-
λ_{abs} (nm)	332(329)	-	442(413)	-	-	-
f_{abs}	0.7071	-	0.6337	-	-	-
ΔE_{emi} (eV)	-	3.01(2.82)	-	2.24(2.58)	-	2.41(2.34)
λ_{em} (nm)	-	412(440)	-	553(481)	-	516(530)
f_{em}	-	1.0064	-	0.7960	-	0.4759

Para la configuración enol O3/O5 se obtuvieron mínimos de energía en el estado base y en el primer estado excitado. La longitud de onda de emisión obtenida es de 440 nm.

De la configuración keto O3 observamos que en el estado base y en el primer estado excitado se obtuvo un mínimo en la energía molecular. Obteniendo una longitud de onda de emisión de 481 nm.

Para la configuración keto O5 se llevó a cabo la transferencia del protón H5 al O4 en el estado base, formando la configuración enol O3. En el primer estado excitado se obtuvo un mínimo en la energía molecular y la longitud de onda de emisión calculada fue de 530 nm, valor que se comparará con el espectro de FL de Q en solución.

Espectros de FL de soluciones de L, F y Q

Análisis de espectros de FL respecto al tiempo con concentración fija

Soluciones de L en propilenglicol

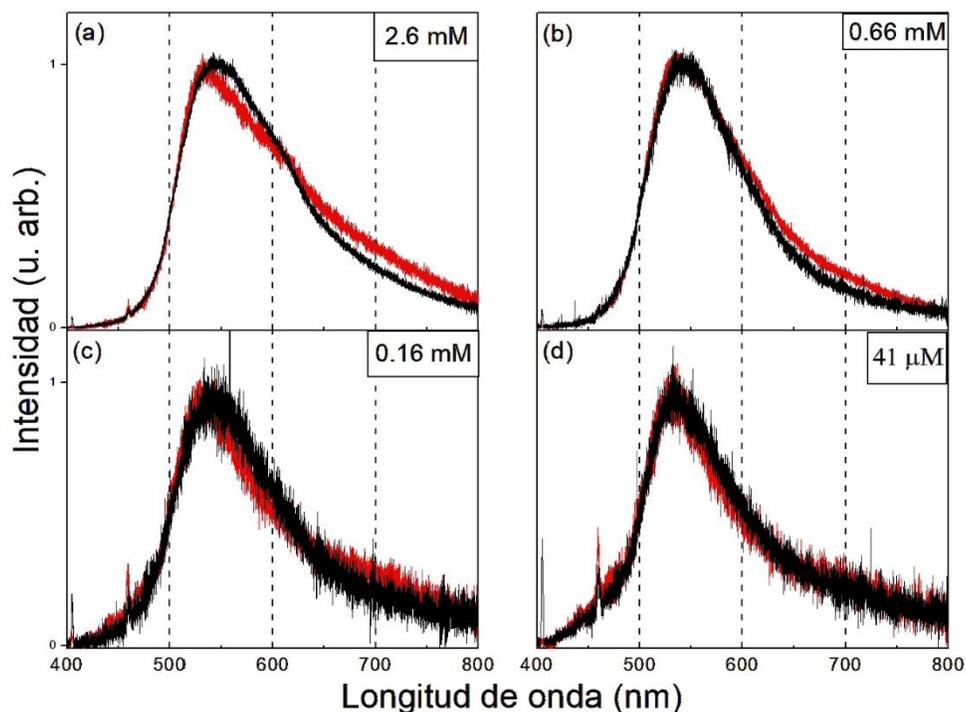


Fig. 10. Espectros de FL de soluciones de L en propilenglicol con distintas concentraciones: (a) 2.6 mM, (b) 0.66 mM, (c) 0.16 mM y (d) 41 μM, medidos a diferentes tiempos desde su preparación. Espectros de FL de solución recién hecha en color rojo y espectros de FL de solución a once meses de elaboración en color negro.

En la Fig. 10. presentamos los espectros de FL de soluciones de L en propilenglicol con distintas concentraciones medidos con una diferencia de once meses respecto a la medición de la solución recién hecha. Es posible observar que no se presentan cambios significativos. El pico de los máximos se mantiene en aproximadamente 530 nm para las distintas concentraciones de L en propilenglicol.

Soluciones de L en metanol

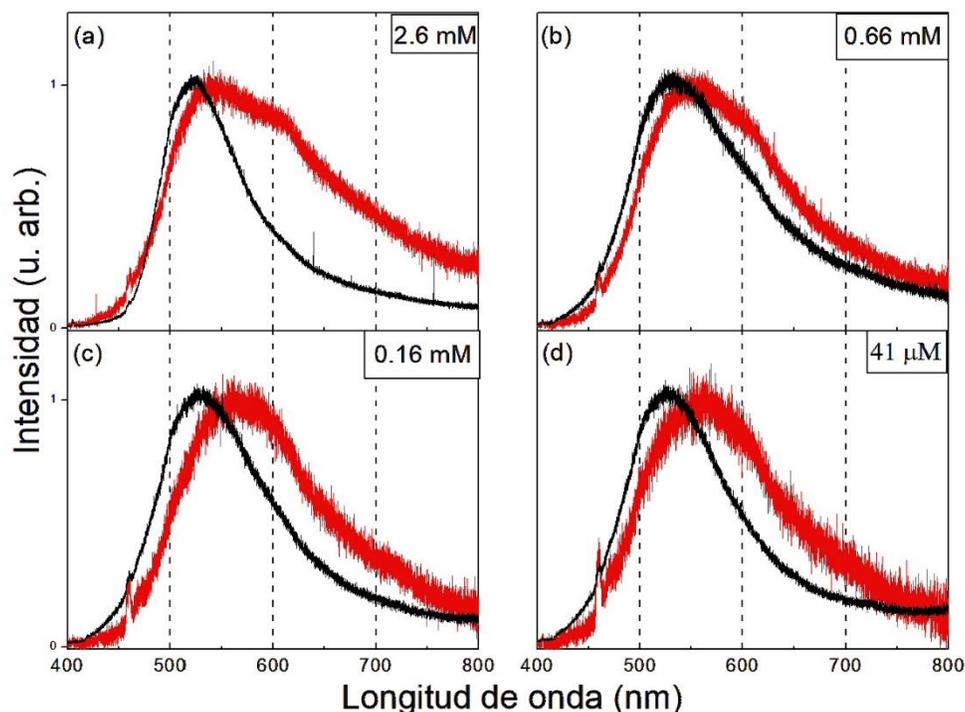


Fig. 11. Espectros de FL de soluciones de L en propilenglicol con distintas concentraciones: (a) 2.6 mM, (b) 0.66 mM, (c) 0.16 mM y (d) 41 μ M, medidos a diferentes tiempos desde su preparaci3n. Espectros de FL de soluci3n reci3n hecha en color rojo y espectros de FL de soluci3n a once meses de elaboraci3n en color negro.

La Fig. 11 nos permite observar que, para las soluciones de L en metanol, a partir de la primera medici3n los m3ximos de los picos muestran un desplazamiento a los valores correspondientes a longitudes de onda menor. La longitud de onda de emisi3n correspondiente a los m3ximos de los espectros medidos despu3s de seis meses se encuentra entre 520 – 530 nm para las distintas concentraciones de L en metanol.

Comparaci3n entre soluciones de L en metanol y propilenglicol

Los espectros de FL de las soluciones de L en los distintos solventes, metanol y propilenglicol, nos permiten observar que la longitud de onda correspondiente a los m3ximos de los espectros no cambia significativamente entre solventes, siendo de aproximadamente 530 nm.

En el caso de las soluciones de L en propilenglicol no es posible observar cambios significativos en los máximos de los picos de los espectros. Por otro lado, para las soluciones de L en metanol, los máximos de los espectros de FL muestran una tendencia de desplazamiento hacia valores de longitudes de onda menores.

Soluciones de F en propilenglicol

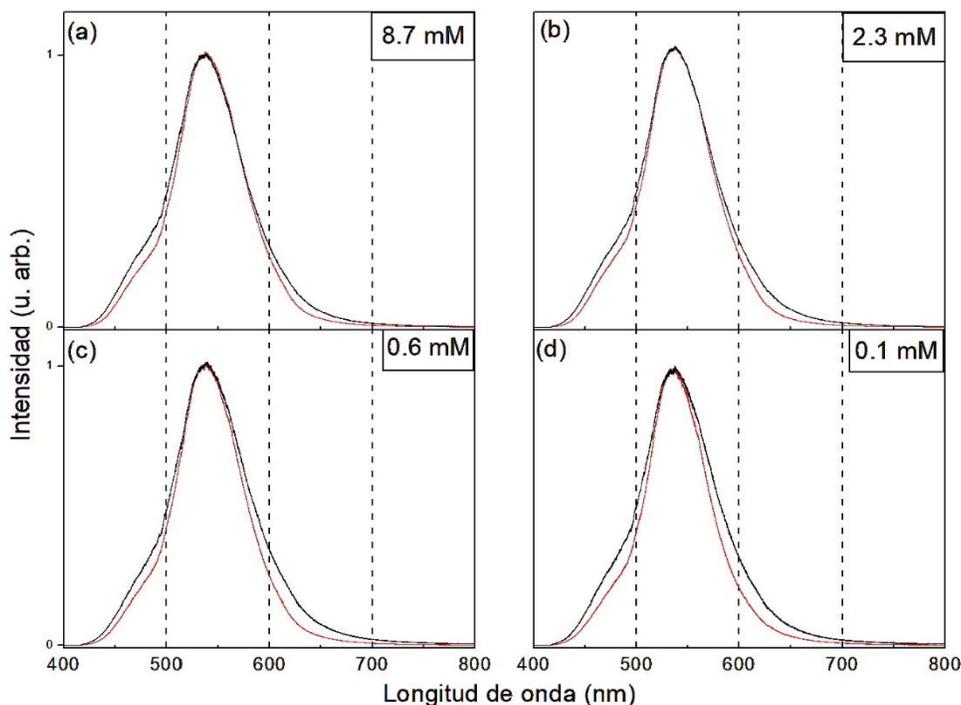


Fig. 12. Espectros de FL de solución de F en distintas concentraciones en metanol: (a) 8.7 mM, (b) 2.3 mM, (c) 0.58 mM y (d) 0.14 mM, medidos a diferentes tiempos desde su preparación. Espectro de FL de solución recién hecha en color rojo y espectro de FL de solución a cinco meses de elaboración en color negro.

Para altas concentraciones de F en propilenglicol, el espectro de FL no presenta cambios significativos en un lapso de cinco meses. Manteniendo su pico en 540 nm aproximadamente. Para bajas concentraciones el pico del espectro de FL se mantiene entre 530 y 540 nm.

Soluciones de F en metanol

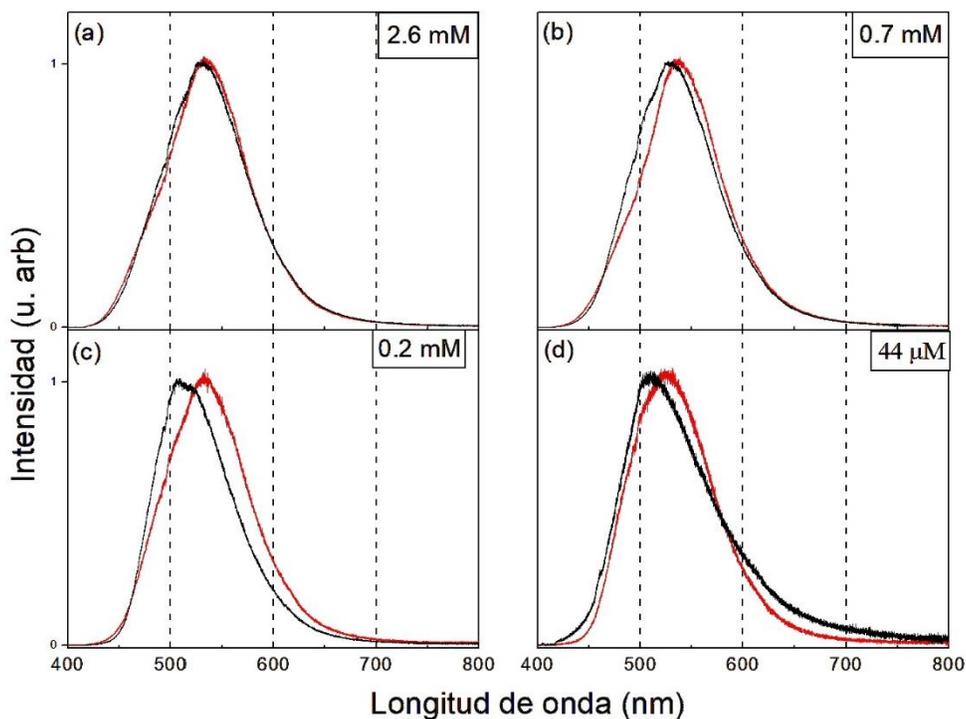


Fig. 13. Espectros de FL de solución de F en distintas concentraciones en metanol: (a) 2.6 mM, (b) 0.7 mM, (c) 0.2 mM y (d) 44 μ M, medidos a diferentes tiempos desde su preparación. Espectro de FL de solución recién hecha en color rojo y espectro de FL de solución a cinco meses de elaboración en color negro.

Para altas concentraciones, podemos observar que el espectro de FL de F en metanol no presenta cambios significativos entre la primera medición y pasados cinco meses. Conservando el pico en aproximadamente en 532 nm. Para bajas concentraciones se observa un cambio entre los picos de los espectros de FL de la primera medición y la realizada a los cinco meses, siendo el pico de esta última de aproximadamente 510 nm.

Comparación entre soluciones de F en metanol y propilenglicol

Los espectros de FL de las soluciones de F en metanol y propilenglicol no muestran muchas diferencias. Es posible observar que, para las soluciones de baja concentración de F en metanol, los máximos de los espectros de

FL muestran un ligero desplazamiento a valores correspondientes a longitudes de onda menor (510 nm). Para los demás espectros, tanto de F en metanol como en propilenglicol, los máximos de los espectros de FL se mantiene en aproximadamente 530 nm.

Soluciones de Q en propilenglicol

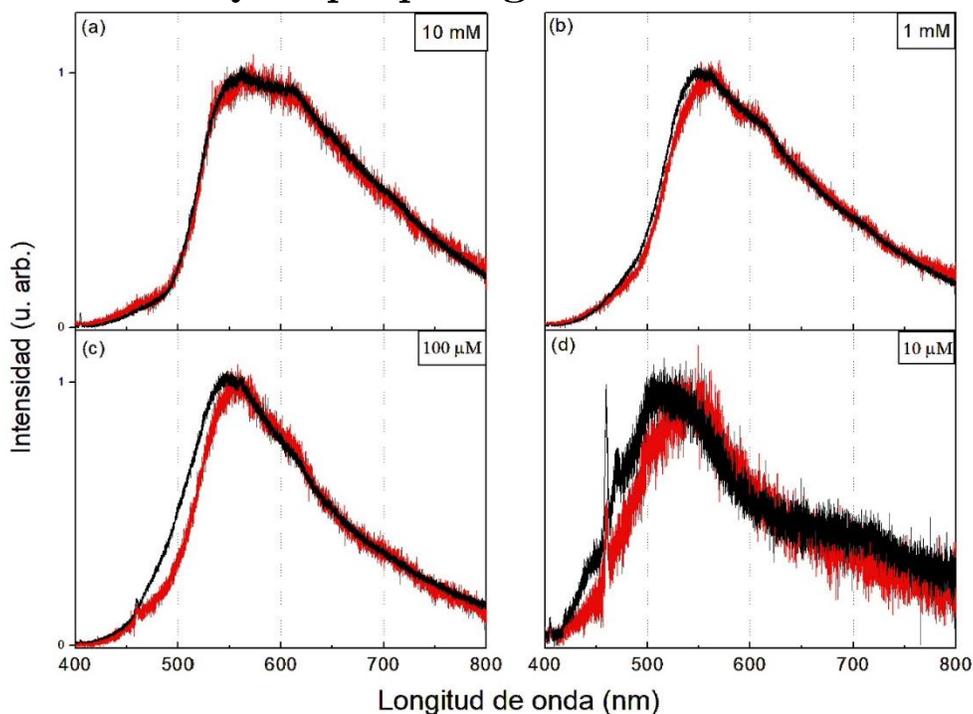


Fig. 14. Espectros de FL de solución de Q en distintas concentraciones en propilenglicol: (a) 10 mM, (b) 1 mM, (c) 100 μ M y (d) 10 μ M, medidos a diferentes tiempos desde su preparación. Espectro de FL de solución recién hecha en color rojo y a seis meses de elaboración en color negro.

Para soluciones de Q en propilenglicol, podemos observar que los máximos de los espectros de FL no presentan cambios significativos. Sin embargo, es posible notar que con el paso del tiempo los máximos de los espectros de FL tienden a desplazarse ligeramente hacia menores longitudes de onda. Los máximos de los espectros de FL de las soluciones de concentraciones altas se encuentran en aproximadamente 550-560 nm. Para concentraciones bajas observamos máximos en aproximadamente 520 nm.

Soluciones de Q en metanol

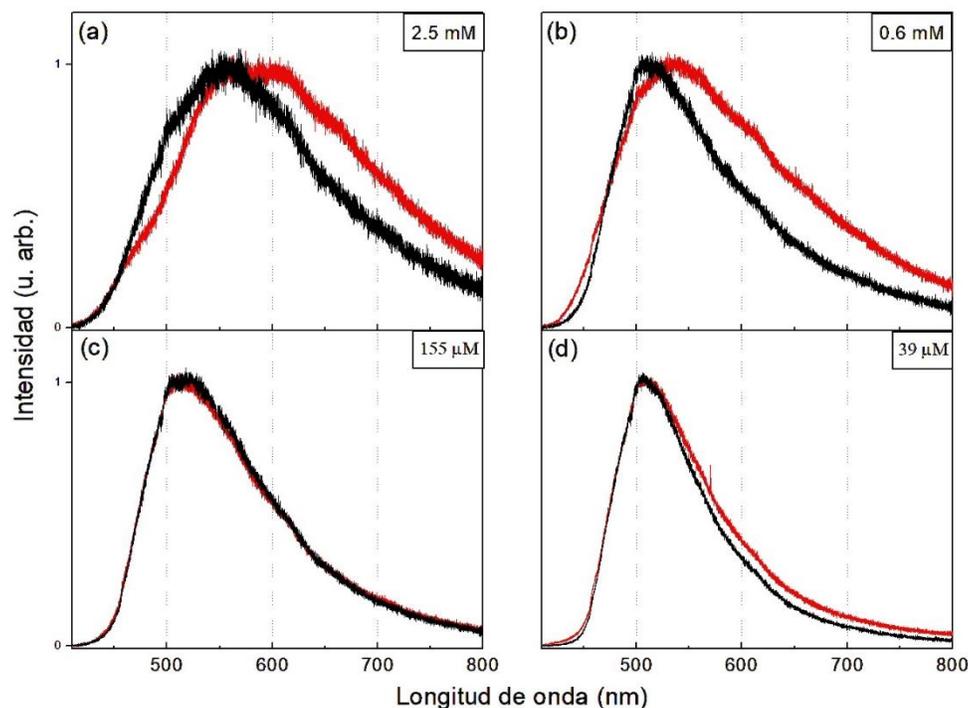


Fig. 15. Espectros de FL de solución de Q en distintas concentraciones en metanol: (a) 2.5 mM, (b) 0.6 mM, (c) 155 μM y (d) 39 μM , medidos a diferentes tiempos desde su preparación. Espectro de FL de solución recién hecha en color rojo y a doce días de elaboración en color negro.

Para las soluciones de Q en metanol es posible observar que, para altas concentraciones, se lleva a cabo un ligero desplazamiento de los máximos de los espectros de FL hacia menores longitudes de onda. Las posiciones correspondientes a los máximos son de 560 nm para altas concentraciones y 510 nm para bajas concentraciones.

Comparación entre soluciones de Q en metanol y propilenglicol

De los espectros de FL de las soluciones de Q en metanol y propilenglicol es posible destacar que las longitudes de onda correspondientes a los máximos son similares para concentraciones altas, siendo de 550 – 560 nm

aproximadamente. Para soluciones de bajas concentraciones también se muestran longitudes de onda similares de aproximadamente 510 nm.

Análisis de espectros de FL respecto a la concentración a una medida de tiempo específica

Soluciones de L

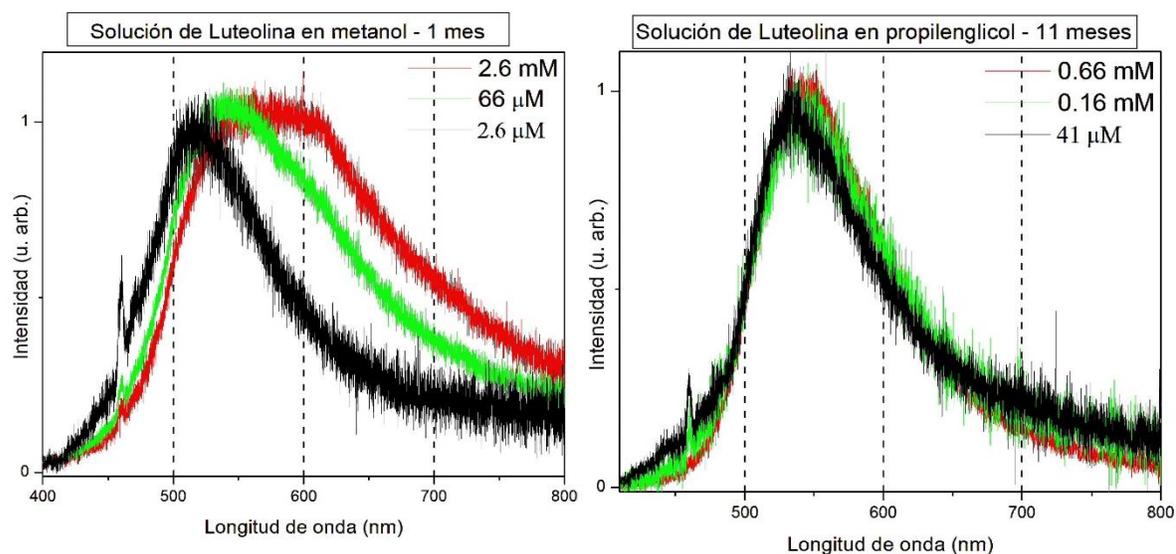


Fig. 16. Espectros de FL de L en metanol y propilenglicol respecto a la concentración a una medida de tiempo específica. Las concentraciones mostradas en los espectros de FL son las siguientes: ■ 2.6/0.66 mM, ■ 66 μm/ 0.16 mM y ■ 2.6/41 μm.

De la Fig. 16 es posible observar que, para los espectros de FL de las soluciones de L en metanol, conforme la concentración disminuye los espectros muestran un desplazamiento a longitudes de onda menores, de igual forma, esta tendencia se hace ligeramente presente en los espectros de L en propilenglicol. Se puede destacar que los máximos de los espectros de FL de soluciones con concentraciones bajas se encuentran en longitudes de onda similares para ambos solventes.

Soluciones de F

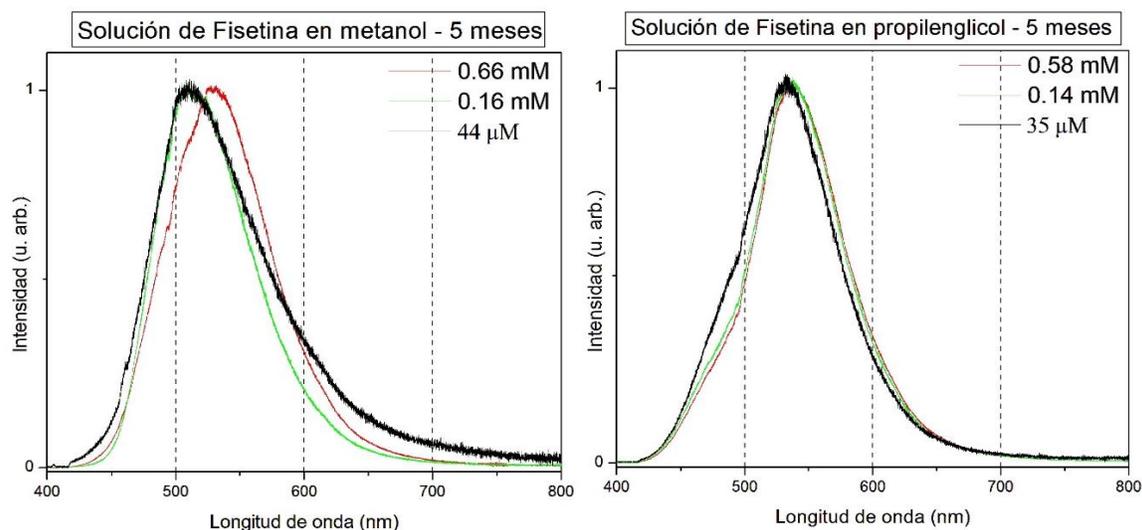


Fig. 17. Espectros de FL de F en metanol y propilenglicol respecto a la concentración a una medida de tiempo específica. Las concentraciones mostradas en los espectros de FL son las siguientes: ■ 0.66/0.58 mM, ■ 0.16/0.14 mM y ■ 41/35 μm .

Para soluciones con distintas concentraciones de F en metanol observamos que pasados cinco meses se muestra que, para la mayor concentración, el máximo del espectro se encuentra en aproximadamente 530 nm, y en las demás concentraciones el máximo se ubica en aproximadamente 510 nm. Para las soluciones de F en propilenglicol podemos observar que independientemente de la concentración, los espectros de FL mantuvieron su máximo en aproximadamente 530 nm. En términos generales es posible observar que no hay diferencias significativas entre los espectros de FL de las soluciones de F en los distintos solventes.

Soluciones de Q

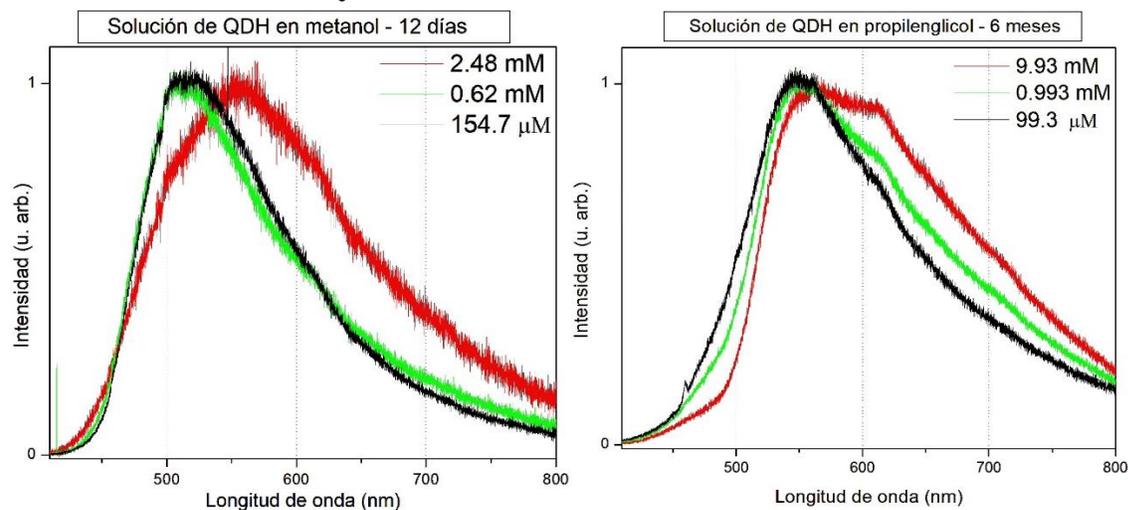


Fig. 18. Espectros de FL de Q en metanol y propilenglicol respecto a la concentración a una medida de tiempo específica. Las concentraciones mostradas en los espectros de FL son las siguientes: ■ 2.48/9.93 mM, ■ 0.62/0.993 mM y ■ 154.7/99.3 μM.

De la Fig. 18. Es posible observar que para concentraciones bajas de Q en metanol los espectros de FL muestran una longitud de onda de 510 nm. También se observa cierta tendencia en los espectros de FL ya que para bajas concentraciones los máximos de los espectros se desplazan hacia longitudes de onda menores, lo que sugiere que existe mayor distancia entre las moléculas de los flavonoides. En cambio, para altas concentraciones se muestra que los máximos de los espectros tienden a longitud de onda mayores lo que nos dice que puede haber cúmulos del polvo de los flavonoides lo que permite medir una mayor longitud de onda.

Discusión sobre espectros de FL y cálculos

De los cálculos realizados para las moléculas en vacío:

En el caso de L se obtuvo una longitud de onda de emisión de 623 nm , llevándose a cabo la transferencia del protón H5 al O4, formando como consecuencia el tautómero keto O5 de la molécula de L. Del espectro de FL del polvo de la molécula L, la longitud de onda obtenida fue de

aproximadamente *615 nm*, lo que sugiere que nuestro modelo predice de manera eficiente el proceso ESIPT para la molécula de L en polvo.

Para F, se obtuvo una longitud de onda de emisión de *498 nm* en la configuración keto O3, y del espectro de FL del polvo de F se obtuvo una longitud de onda de aproximadamente *525 nm*.

En el cálculo correspondiente a Q se cuenta con dos posibles transferencias de protón debido a la estructura química de la molécula. Para la configuración keto O3 se obtuvo una longitud de onda de emisión de *502 nm*, y para la configuración keto O5, *591 nm*. Al comparar estos resultados con la longitud de onda obtenida del espectro de FL, *615 nm*, es posible indicar que la longitud de onda obtenida del espectro corresponde a la configuración keto O5 de la molécula de Q.

Analizando los resultados obtenidos, es posible afirmar que, para L, F y Q, los cálculos correspondientes al proceso ESIPT de las moléculas en vacío predicen de manera eficiente los resultados obtenidos de la medición de los espectros de FL de los polvos de los flavonoides ya mencionados.

De los cálculos realizados para las moléculas en solvente:

La solución de L muestra una longitud de onda de emisión de *580 nm*, y la longitud de onda correspondiente al espectro de FL de la solución de L es de aproximadamente *530 nm*.

En el caso de F, la longitud de onda de emisión calculada fue de *472 nm*, y la obtenida del espectro de FL de la solución de F es de aproximadamente *525 nm*, mismo valor obtenido para el polvo de F.

Para Q, de la configuración keto O3 se obtuvo una longitud de onda de emisión de *481 nm*, y para la configuración keto O5 la longitud de onda de emisión calculada fue de *530 nm*. Del espectro de FL de la solución de Q se obtuvo una longitud de onda de aproximadamente *510 nm*, correspondiente a la configuración keto O5 de la molécula de Q en solución.

Así como en el caso de los polvos de L, F y Q, la comparación entre los resultados computacionales obtenidos para los flavonoides en solvente y los espectros de FL de las soluciones de los flavonoides, muestran que nuestro modelo describe de forma satisfactoria el proceso ESIPT,

mostrando resultados afines a los obtenidos de los espectros de FL de los flavonoides seleccionados, cumpliendo así la idea principal de este trabajo.

Es importante destacar que al realizar los espectros de FL pudimos observar que con el paso del tiempo, el máximo de los espectros tiende a desplazarse hacia valores correspondientes a una longitud de onda menor, lo que puede suceder debido a que, recién hecha la solución, las moléculas de los flavonoides aún se encuentran cercanas entre sí, y con el paso del tiempo las moléculas de los flavonoides se rodean mayormente de moléculas del solvente, provocando que la longitud de onda correspondiente al máximo del espectro disminuya. También se observó que las longitudes de onda obtenidas de los espectros de FL de las soluciones de menor concentración tienen mayor similitud a las longitudes de onda de emisión obtenidas del cálculo. Por otro lado, las longitudes de onda correspondientes a los máximos de los espectros de soluciones de mayor concentración tienden a acercarse a los resultados obtenidos de los espectros de los polvos de los flavonoides.

Conclusiones

En este trabajo se realizaron los cálculos de longitudes de onda características de absorción y emisión de los flavonoides Luteolina, Fisetina y Quercetina Dihidrato, considerando el modelo de Transferencia Intramolecular del Protón en el Estado Excitado (ESIPT), por sus siglas en inglés). Las longitudes de onda características fueron calculadas en Gaussian16, con base en la Teoría del Funcional de Densidad Dependiente e Independiente del Tiempo (DFT, TDDFT), utilizando el funcional de Minnesota M06-2X y como conjunto base 6-31++G(d,p). Las longitudes de onda obtenidas fueron comparadas con los máximos de los espectros de FL medidos tanto del polvo de los flavonoides seleccionados, como de sus soluciones con metanol y propilenglicol como solventes.

De los cálculos realizados para los flavonoides en vacío y de los espectros de FL de los polvos de flavonoides se puede concluir lo siguiente:

- La longitud de onda del máximo del espectro de FL del polvo de Luteolina corresponde a la configuración Keto O5.
- La longitud de onda del máximo del espectro de FL del polvo de Fisetina corresponde a la configuración Keto O3.
- La longitud de onda obtenida del espectro de FL del polvo de Quercetina Dihidrato corresponde a la configuración Keto O5.

De los resultados mostrados es posible afirmar que para Luteolina, Fisetina y Quercetina Dihidrato, los cálculos correspondientes al proceso ESIPT de las moléculas en vacío predicen de manera eficiente los resultados obtenidos de la medición de los espectros de FL de los polvos de los flavonoides ya mencionados.

Las conclusiones de los resultados obtenidos de los cálculos correspondientes a las moléculas en solvente y de los espectros de FL de las soluciones de los flavonoides en solvente se muestran en los siguientes puntos:

- La longitud de onda del máximo del espectro de FL de la solución de Luteolina corresponde a la configuración Keto O5.

- La longitud de onda del máximo del espectro de FL de la solución de Fisetina corresponde a la configuración Keto O3.
- La longitud de onda del máximo del espectro de FL de la solución de Quercetina Dihidrato corresponde a la configuración Keto O5.

Así como en el caso de los polvos de Luteolina, Fisetina y Quercetina Dihidrato, la comparación entre los resultados computacionales obtenidos para los flavonoides en solvente y los espectros de fluorescencia de las soluciones de los flavonoides, muestran que nuestro modelo describe de forma satisfactoria el proceso ESIPT, mostrando resultados afines a los obtenidos de los espectros de fluorescencia de los flavonoides seleccionados. De igual forma, la comparación de los resultados obtenidos entre las moléculas Luteolina, Fisetina y Quercetina Dihidrato afirma que la emisión de FL se relaciona a la transferencia posible del protón para cada uno de estos flavonoides, confirmando la idea principal de este trabajo.

Es importante destacar que al analizar los espectros de FL se observó que con el paso del tiempo los máximos de los espectros tienden a desplazarse hacia longitudes de onda menores. Esta tendencia también se ve presente en los espectros de FL cuando la concentración de la solución disminuye. Para soluciones de mayor concentración, las longitudes de onda de los máximos de los espectros coinciden con los calculados para polvos de los flavonoides. Para las soluciones de menor concentración, los máximos de los espectros de FL muestran longitudes de onda similares a las obtenidas del cálculo. Esto nos permite plantear lo siguiente: en una solución recién hecha con una concentración relativamente baja las moléculas del soluto se separan entre sí con el paso del tiempo, rodeándose de moléculas del solvente.

Referencias

- [1] S. Kumar and A. K. Pandey, "Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview," *ScientificWorldJournal*, vol. 2013, p. 162750, Dec. 2013, doi: 10.1155/2013/162750.
- [2] N. Khan, D. N. Syed, N. Ahmad, and H. Mukhtar, "Fisetin: A Dietary Antioxidant for Health Promotion," *Antioxidants & Redox Signaling*, vol. 19, no. 2, pp. 151–162, Jul. 2013, doi: 10.1089/ars.2012.4901.
- [3] T. Prutskij *et al.*, "Concentration-Dependent Fluorescence Emission of Quercetin," *Chemosensors*, vol. 9, no. 11, p. 315, Nov. 2021, doi: 10.3390/chemosensors9110315.
- [4] A. Deriabina, T. Prutskij, L. Castillo Trejo, M. P. Sanchez Gutierrez, and E. Gonzalez Jimenez, "Experimental and Theoretical Study of Fluorescent Properties of Morin," *Molecules*, vol. 27, no. 15, p. 4965, Aug. 2022, doi: 10.3390/molecules27154965.
- [5] A. Weller, "Inermolekularer Protonenübergang im angeregten Zustand," *Zeitschrift für Elektrochemie, Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie*, vol. 60, no. 9–10, pp. 1144–1147, 1956, doi: 10.1002/bbpc.19560600938.
- [6] Y. Yang, J. Zhao, and Y. Li, "Theoretical Study of the ESIPT Process for a New Natural Product Quercetin," *Sci Rep*, vol. 6, no. 1, p. 32152, Aug. 2016, doi: 10.1038/srep32152.
- [7] A. Amat, C. Clementi, F. De Angelis, A. Sgamellotti, and S. Fantacci, "Absorption and Emission of the Apigenin and Luteolin Flavonoids: A TDDFT Investigation," *J. Phys. Chem. A*, vol. 113, no. 52, pp. 15118–15126, Dec. 2009, doi: 10.1021/jp9052538.
- [8] M. J. Frisch *et al.*, "Gaussian~16 Revision C.01." 2016.
- [9] Y. Zhao and D. G. Truhlar, "The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals," *Theor Chem Account*, vol. 120, no. 1, pp. 215–241, May 2008, doi: 10.1007/s00214-007-0310-x.
- [10] P. J. Cox, Y. Kumarasamy, L. Nahar, S. D. Sarker, and M. Shoeb, "Luteolin," *Acta Crystallogr E Struct Rep Online*, vol. 59, no. 7, pp. o975–o977, Jul. 2003, doi: 10.1107/S1600536803013229.

- [11] E. Delgado, A. Deriabina, G. D. Vazquez, T. Prutskij, E. Gonzalez, and V. Poltev, “Optical properties of luteolin: DFT study,” presented at the Mathematical Biology and Bioinformatics, Pushchino, Moscow Region, Russia, Oct. 2022, p. e35. doi: 10.17537/icmbb22.27.
- [12] E. Delgado, A. Deriabina, G. D. Vazquez, T. Prutskij, E. Gonzalez, and V. Poltev, “Computational Study of Absorption and Emission of Luteolin Molecule,” in *Proceedings of Trends in Electronics and Health Informatics*, M. Mahmud, C. Mendoza-Barrera, M. S. Kaiser, A. Bandyopadhyay, K. Ray, and E. Lugo, Eds., in *Lecture Notes in Networks and Systems*. Singapore: Springer Nature, 2023, pp. 385–392. doi: 10.1007/978-981-99-1916-1_28.

Apéndice A: Resultados obtenidos de optimización

A continuación, se muestran las tablas que contienen los resultados obtenidos de los cálculos realizados en Gaussian 16 [8] para los tres flavonoides de interés: L, F y Q. En las tablas podemos observar las principales características geométricas de los enlaces de hidrógeno internos, al igual que energías y longitudes de onda, tanto de absorción como de emisión en el estado base y el primer estado excitado para configuraciones enol y keto.

Luteolina

Tabla L3. Características principales obtenidas de la optimización geométrica de la configuración enol O5 de la molécula de L en el estado base y en el primer estado excitado, tanto en vacío como en metanol. Utilizando el funcional M06-2X/6-31++G**.

	Estado base		Primer estado excitado	
	Vacío	Metanol	Vacío	Metanol
Energía del estado base, E_{s_0} (a.u.)	-1028.6216	-1028.6458	-	-1028.6340 (-1028.6300)
Energía del primer estado excitado, E_{s_1} (a.u.)	-1028.4655	-1028.4955 (-1028.4982)	-	-1028.5142 (-1028.5149)
Energía corregida del punto cero, Z_E (a.u.)	-1028.3938	-1028.4183	-	-1028.2918
Energía libre, G (a. u.)	-1028.4385	-1028.4629	-	-1028.3375
Primera frecuencia, F (Hz)	28	27	-	21
Distancia O5-H5, R_{OH} (Å)	0.99	0.99	-	1.05
Distancia O4...O5, R_{OO} (Å)	2.61	2.60	-	2.4
Ángulo O5-H5...O4, α_{OHO} (°)	147.64	149.03	-	156.98

Ángulo de torsión C3-C2-C1'-C6', β (°)	22.96	20.54	-	0.01
Momento dipolar, P (Debye)	5.46	7.52	-	10.31
Absorción Emisión, E (eV)	4.25	4.09 (4.02)	-	3.26 (3.13)
Longitud de onda característica de absorción, λ_{abs} (nm)	292	303 (309)	-	-
Fuerza del oscilador para absorción, f_{abs}	0.3954	0.6991	-	-
Longitud de onda característica de emisión, λ_{em} (nm)	-	-	-	381 (396)
Fuerza del oscilador para emisión, f_{em}	-	-	-	1.02

(Los valores corregidos por el solvente fuera del equilibrio se encuentran dentro de los paréntesis)

De la tabla L3 podemos observar que el momento dipolar de la configuración enol de la molécula L cambia significativamente (de 5.46 a 7.52 D) en el estado base. Además, hay un ligero cambio en el ángulo de torsión del anillo B de aproximadamente 2°, y se aprecia un incremento de aproximadamente 10 nm en la longitud de onda de absorción.

En el proceso de la optimización geométrica de la configuración enol O5 de la molécula L en el primer estado excitado, el protón H5 es transferido dentro de la molécula L, y se mueve desde la posición O5 a O4, por lo que solo se encuentra el mínimo de energía cuando la molécula L se encuentra en metanol. Es posible observar que la distancia O5-H5 incrementa ligeramente en el estado excitado, mientras que la distancia O4...O5 disminuye. El ángulo entre O5-H5...O4 de la configuración enol O5 de L presenta un cambio ligero de aproximadamente 2° en el estado base para la medición en el vacío y en metanol. En el primer estado excitado hay un aumento en el ángulo de aproximadamente 8° para L en metanol respecto al estado base.

Un cambio más notorio sucede en el ángulo de torsión C3-C2-C1'-C6': la configuración enol O5 en el primer estado excitado se vuelve

prácticamente plana. El momento dipolar aumenta de 7.5 D en el estado base, a 10.3 D en el estado excitado. La longitud de onda característica de emisión es 380 nm, por lo que el desplazamiento de Stocks para la configuración enol O5 en metanol es cercano a 77 nm.

Tabla L 4. Características principales obtenidas de la optimización geométrica de la configuración keto O5 de la molécula de L en el primer estado excitado, tanto para vacío como metanol. Utilizando el funcional M06-2x/6-31++G**.

	Estado base		Primer estado excitado	
	Vacío	Metanol	Vacío	Metanol
Energía del estado base, E_{s_0} (a.u.)	-	-1028.6315	1028.581 3	-1028.6199 (- 1028.6142)
Energía del primer estado excitado, E_{s_1} (a.u.)	-	-1028.5122 (- 1028.5083)	1028.508 1	-1028.5264 (- 1028.5356)
Energía corregida del punto cero, Z_E (a.u.)	-	-1028.4046	1028.283 8	-1028.3028
Energía libre, G (a. u.)	-	-1028.4478	1028.329 7	-1028.3490
Primera frecuencia, F (Hz)	-	-22	24	22
Distancia O4-H5, R_{OH} (Å)	-	0.98	0.98	0.98
Distancia O4...O5, R_{OO} (Å)	-	2.49	2.68	2.65
Ángulo O5-H5...O4, α_{OHO} (°)	-	153.1	146	146.44
Ángulo de torsión C3-C2-C1'-C6', β (°)	-	-17.7	0.06	0.03
Momento dipolar, P (Debye)	-	10.42	9.77	12.03
Absorción Emisión, E (eV)	-	3.25 (3.35)	1.99	2.54 (2.14)
Longitud de onda característica de absorción, λ_{abs} (nm)	-	382 (370)	-	-

Fuerza del oscilador para absorción, f_{abs}	-	<i>0.3387</i>	-	-
Longitud de onda característica de emisión, λ_{em} (nm)	-	-	623	487 (580)
Fuerza del oscilador para emisión, f_{em}	-	-	0.04	0.30

Como en el caso para la configuración enol O5 de L en metanol, la configuración keto O5 es prácticamente plana. El ángulo O5-H5...O4 se mantiene en aproximadamente 146° en el primer estado excitado, tanto en vacío como en metanol, después de presentar un ángulo de 153° en el estado base para metanol.

El momento dipolar es significativamente mayor en metanol que en vacío. Las longitudes de onda características de emisión son de **623** nm para el vacío y 487 nm para metanol, esta última aumentando más de 100 nm respecto a la configuración enol O5. Es importante mencionar que para el estado base de L en metanol en la configuración keto O5 los valores se destacan en *cursiva* ya que no se obtuvo la optimización de la geometría molecular, es decir, la configuración no pudo alcanzar un mínimo global de energía, razón por la que su primera frecuencia resulta negativa.

Fisetina

Tabla F3. Características principales obtenidas de la optimización geométrica de la configuración enol O3 de la molécula de F en el estado base y en el primer estado excitado, tanto en vacío como en metanol. Utilizando el funcional M06-2X/6-31++G**.

	Estado base		Primer estado excitado	
	Vacío	Metanol	Vacío	Metanol
Energía del estado base, E_{s_0} (a.u.)	-1028.6175	-1028.6370	- 1028.6082	-1028.6257 (- 1028.6244)
Energía del primer estado excitado, E_{s_1} (a.u.)	-1028.4700	-1028.4934 (- 1028.4950)	- 1028.4797	-1028.5113 (- 1028.5069)
Energía corregida del punto cero, Z_E (a.u.)	-1028.3895	-1028.4095	- 1028.2559	-1028.2875
Energía libre, G (a. u.)	- 1028.4349	-1028.4543	- 1028.3026	-1028.3318
Primera frecuencia, F (Hz)	16	26	17	-11
Distancia O3-H3, R_{OH} (Å)	0.98	0.98	0.995	0.9865
Distancia H3...O4, R_{HO} (Å)	2.04	2.06	1.86	1.95
Distancia O3...O4, R_{OO} (Å)	2.64	2.65	2.55	2.59
Ángulo O3-H3...O4, α_{OHO} (°)	117.66	116.86	123.18	120.25
Ángulo de torsión C3-C2-C1'-C6', β (°)	168.08	160.98	-180	179.89
Momento dipolar, P (Debye)	5.14	7.3	5.62	8.14
Absorción Emisión, E (eV)	4.01	3.91 (3.86)	3.5	3.11 (3.2)
Longitud de onda característica de absorción, λ_{abs} (nm)	309	317 (321)	-	-
Fuerza del oscilador para absorción, f_{abs}	0.5736	0.6990	-	-
Longitud de onda característica	-	-	355	398 (388)

de emisión, λ_{em} (nm)

Fuerza del oscilador para emisión, f_{em}	-	-	0.6264	1.012
--	---	---	--------	-------

(Los valores corregidos por el solvente fuera del equilibrio se encuentran dentro de los paréntesis)

De los valores mostrados en la tabla F3 podemos destacar que la distancia H3...O4 cambia significativamente en el primer estado excitado respecto al estado base. En el estado base hay un pequeño cambio de aproximadamente 1° en el ángulo O3-H3...O4 de la configuración enol O3 de F, y en el primer estado excitado hay una diferencia de aproximadamente 3° entre vacío y metanol. También se observa que el momento dipolar cambia ligeramente en el vacío y de una forma más pronunciada en metanol. Existe un aumento en la longitud de onda de absorción y emisión de aproximadamente 50 nm en el vacío y de aproximadamente 80 nm en metanol. Es importante mencionar que en el primer estado excitado de F en metanol se tiene una frecuencia negativa (-11), lo que nos dice que la geometría no cuenta con un mínimo global.

Tabla F4. Principales características obtenidas de la optimización geométrica de la configuración keto O3 de la molécula de F en el primer estado excitado, tanto para vacío como metanol. Utilizando el funcional M06-2x/6-31++G**.

	Estado base		Primer estado excitado	
	Vacío	Metanol	Vacío	Metanol
Energía del estado base, E_{s_0} (a.u.)	-1028.5920	-1028.6153	- 1028.5868	-1028.6086 (- 1028.6078)
Energía del primer estado excitado, E_{s_1} (a.u.)	-1028.4891	-1028.5106 (- 1028.5028)	- 1028.4952	-1028.5246 (- 1028.5113)
Energía corregida del punto cero, Z_E (a.u.)	-1028.3652	-1028.3888	- 1028.2709	-1028.3005
Energía libre, G (a. u.)	-1028.4102	-1028.4341	- 1028.3168	-1028.3466

Primera frecuencia, F (Hz)	28	18	23	20
Distancia O4-H3, R _{OH} (Å)	1.0	0.99	0.98	0.98
Distancia H3...O3, R _{HO} (Å)	1.83	1.89	2.05	2.08
Distancia O3...O4, R _{OO} (Å)	2.52	2.56	2.63	2.65
Ángulo O3-H3...O4, α_{OHO} (°)	123.86	121.67	116.4	115.5
Ángulo de torsión C3-C2-C1'-C6', β (°)	180	180	-180	180
Momento dipolar, P (Debye)	6.8	9.92	6.57	9.38
Absorción Emisión, E (eV)	2.8	2.85 (3.06)	2.5	2.29 (2.63)
Longitud de onda característica de absorción, λ_{abs} (nm)	443	435 (405)	-	-
Fuerza del oscilador para absorción, f_{abs}	0.4885	0.6139	-	-
Longitud de onda característica de emisión, λ_{em} (nm)	-	-	498	543 (472)
Fuerza del oscilador para emisión, f_{em}	-	-	0.4724	0.7944

Para los valores obtenidos de la optimización de la geometría molecular de la configuración keto O3 de F podemos observar que hay un aumento significativo en la distancia H3...O3 en el estado base y en el primer estado excitado también. En el ángulo O3-H3...O4 existe una pequeña diferencia de aproximadamente 2° para la estructura keto O3 en vacío y metanol en el estado base. Para el primer estado excitado, el ángulo O3-H3...O4 disminuye aproximadamente 7° respecto al estado base, y no muestra cambios significativos en metanol respecto al vacío. Se puede notar que el momento dipolar disminuye ligeramente, tanto vacío como en metanol. En la longitud de onda de emisión se tiene un aumento de 55 nm en el vacío y de aproximadamente 100 nm en metanol respecto a la longitud de onda de absorción.

Quercetina

Tabla Q3. Características principales obtenidas de la optimización geométrica de la configuración enol O3 de la molécula de Q en el estado base y en el primer estado excitado, tanto en vacío como en metanol. Utilizando el funcional M06-2X/6-31++G**.

	Estado base		Primer estado excitado	
	Vacío	Metanol	Vacío	Metanol
Energía del estado base, E (a.u.)	-1103.8254	-1103.8466	-1103.8165	-1103.8361(-1103.8361)
Energía del primer estado excitado, E (a.u.)	-1103.6853	-1103.7093(-1103.7081)	-1103.6936	-1103.7256(-1103.7326)
Energía corregida del punto cero, ZE (a.u.)	-1103.5924	-1103.6143	-1103.4658	-1103.4972
Energía libre, G (a. u.)	-1103.6387	-1103.6600	-1103.5134	-1103.5445
Primera frecuencia, F (Hz)	16	5	16	18
Distancia O3-H3, ROH (Å)	0.98	.98	0.98	0.98
Distancia O3...O4, ROO (Å)	2.64	.66	2.65	2.65
Ángulo O3-H3...O4, α OHO ($^{\circ}$)	117.22	16.18	119.4	118.2
Ángulo de torsión C3-C2-C1'-C2', β ($^{\circ}$)	170.42	65	179.99	177.43
Momento dipolar, P (Debye)	1.24	.03	1.77	3.11
Absorción Emisión, E (eV)	3.81	.74 (3.77)	3.35	3.01(2.82)
Longitud de onda característica de absorción, abs (nm)	325	32 (329)	-	-
Fuerza del oscilador para absorción, fabs	0.6137	.7071	-	-
Longitud de onda característica de emisión, em (nm)	-	-	371	412(440)

Fuerza del oscilador para emisión, fem	-	0.6121	1.0064
--	---	--------	--------

De los cálculos obtenidos para la configuración enol O3 de la molécula de Q mostrados en la tabla Q3, podemos observar que se obtuvieron mínimos de energía tanto en el estado base como en el primer estado excitado para Q en el vacío, donde la molécula no presenta cambios significativos en su estructura, siendo prácticamente plana con una longitud de onda de emisión de 371 nm.

Para la molécula en el solvente, de igual forma se obtuvieron mínimos de energía en el estado base y en el primer estado excitado. También es posible notar que hubo un aumento en el momento dipolar de más de 1 Debye, además de que se obtuvo una longitud de onda de emisión de 440 nm.

Tabla Q4. Características principales obtenidas de la optimización geométrica de la configuración keto O3 de la molécula de Q en el estado base y en el primer estado excitado, tanto en vacío como en metanol. Utilizando el funcional M06-2X/6-31++G**.

	Estado base		Primer estado excitado	
	Vacío	Metanol	Vacío	Metanol
Energía del estado base, E (a.u.)	-	-1103.8194	-1103.7888	-1103.8127(-1103.8122)
Energía del primer estado excitado, E (a.u.)	-	-1103.7162(-1103.7092)	-1103.6979	-1103.7303(-1103.7175)
Energía corregida del punto cero, ZE (a.u.)	-	-1103.5885	-1103.4689	-1103.5015
Energía libre, G (a. u.)	-	-1103.6347	-1103.5161	-1103.5486
Primera frecuencia, F (Hz)	-	22	22	21
Distancia O3-H4, ROH (Å)	-	1.84	2.01	2.06
Distancia O3...O4, ROO (Å)	-	2.53	2.61	2.63
Ángulo O3-H4...O4, α OHO ($^{\circ}$)	-	122.74	117.13	44.95

Ángulo de torsión C3-C2-C1'-C6', β (°)	-	0	0	0
Momento dipolar, P (Debye)	-	5.75	3.32	5.05
Absorción Emisión, E (eV)	-	2.81(3)	2.47	2.24(2.58)
Longitud de onda característica de absorción, abs (nm)	-	442(413)	-	-
Fuerza del oscilador para absorción, fabs	-	0.6337	-	-
Longitud de onda característica de emisión, em (nm)	-	-	502	553(481)
Fuerza del oscilador para emisión, fem	-	-	0.5086	0.7960

De los cálculos obtenidos para la configuración keto O3 de la molécula de Q mostrados en la tabla Q4, podemos observar que, para la molécula en vacío, el estado base presenta una transferencia del protón H4 al O3, formando el tautómero Enol O3. En el primer estado excitado, la molécula se muestra plana y cuenta con un mínimo en su energía molecular. De la solución en metanol se obtuvieron mínimos en el estado base y en el primer estado excitado presentándose una estructura plana, y se obtuvo con una longitud de onda de emisión de 481 nm. También se destaca que el momento dipolar disminuyó en el primer estado excitado de la molécula en solución

Tabla Q5. Características principales obtenidas de la optimización geométrica de la configuración keto O5 de la molécula de Quercetina DH en el estado base y en el primer estado excitado, tanto en vacío como en metanol. Utilizando el funcional M06-2X/6-31++G**.

	Estado base		Primer estado excitado	
	Vacío	Metanol	Vacío	Metanol
Energía del estado base, E (a.u.)	-	-	-1103.7852	-1103.8185(-1103.8)
Energía del primer estado excitado, E (a.u.)	-	-	-1103.7080	-1103.7301(-1103.7326)
Energía corregida del punto cero, ZE (a.u.)	-	-	-1103.4789	-1103.5018
Energía libre, G (a. u.)	-	-	-1103.5261	-1103.5496
Primera frecuencia, F (Hz)	-	-	20	12
Distancia O5-H4, ROH (Å)	-	-	1.82	1.01
Distancia O5...O4, ROO (Å)	-	-	2.68	2.57
Ángulo O5-H4...O4, α OHO ($^{\circ}$)	-	-	144.6	153.04
Ángulo de torsión C3-C2-C1'-C6', β ($^{\circ}$)	-	-	0	3.129
Momento dipolar, P (Debye)	-	-	5.12	5.76
Absorción Emisión, E (eV)	-	-	2.1	2.41(2.34)
Longitud de onda característica de absorción, abs (nm)	-	-	-	-
Fuerza del oscilador para absorción, fabs	-	-	-	-
Longitud de onda característica	-	-	591	516(530)

de emisión, em (nm)

Fuerza del oscilador para emisión, fem	-	-	0.1009	0.4759
---	---	---	--------	--------

De los cálculos obtenidos para la configuración Keto O5 de la molécula de Q mostrados en la tabla Q5, podemos observar que, para la molécula en vacío, en el estado base se lleva a cabo la transferencia del protón H4 al O5. Para el primer estado excitado se cuenta con un mínimo de energía y la longitud de onda de emisión es de 591 nm, donde la estructura de la molécula es completamente plana. Para la solución de Q en metanol, se llevó a cabo la transferencia del protón H4 al O5 en el estado base. En el primer estado excitado se obtuvo un mínimo en la energía molecular, cuya estructura se encuentra ligeramente fuera del plano, y la longitud de onda de emisión calculada fue de 530 nm.

Apéndice B: Descripción de los productos

Flavonoides

Descripción de los flavonoides y solventes utilizados, además de los datos de cada producto tales como: Compañía proveniente, pureza, entre otras características.

Luteolina

Nombre del proveedor: Sigma-Aldrich

Número del producto: L9283

Cantidad: 10 mg

Color: Amarillo claro

Presentación: Polvo

Pureza (TLC): $\geq 98.0\%$

Link: <https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/product/sigma/l9283>



Fisetina

Nombre del proveedor: Phyproof

Número del producto: PHL82542

Cantidad: 20 mg

Color: Amarillo

Presentación: Polvo

Pureza (HPLC): $\geq 90.0\%$

Solubilidad: Metanol & Etanol (96%) – Insoluble en agua



Link:

<https://www.sigmaaldrich.com/certificates/Graphics/COfAInfo/fluka/pdf/PDF663012.pdf>

Quercetina, Di hidrato

Nombre del proveedor: EMD Millipore

Número del producto: 551600

Cantidad: 100 mg

Color: Amarillo solido

Presentación: Polvo

Pureza (HPLC): $\geq 94.0\%$



Link: <https://www.labome.com/product/EMD-Millipore/551600-100MG.html> ///
<https://store.p212121.com/quercetin-dihydrate-5g/>

Solventes

Metanol / Alcohol metílico

Nombre del proveedor: J.T. Baker

Número del producto: 9070-02

Cantidad: 1L



Propylene Glycol / Propilen Glicol

Nombre del proveedor: Meyer

Número del producto: Propilenglicol

Cantidad: 4 L.



Apéndice C: Publicaciones relacionadas al trabajo de tesis

Computational Study of Absorption and Emission of Luteolin Molecule



E. Delgado, A. Deriabina, G. D. Vazquez, T. Prutskij, E. Gonzalez, and V. Poltev

Abstract Present in many fruits and vegetables, Luteolin is one of the most common flavonoids in nature. It has multiple bioactivities, such as antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, and anticarcinogenic, bioavailability of which is limited due to its low solubility in water. Computational methods, specifically, TDDFT methods, can be used to evaluate the typical absorption and emission wavelengths that Luteolin display in vacuum and in solutions, allowing to identify the features corresponding to the emission of separate molecules from that of the clusters of molecules. The calculations using M06-2X/6-31++G** methodology predict that in solid state only one peak of emission could be observed near 620 nm. On the other hand, calculations show that in methanol solution two emission peaks, at 380 and 490 nm, can be detected, this is observed since both enol and keto configurations of Luteolin molecule are stable in solvents in their excited state.

Keywords Luteolin · Flavonoids · TDDFT · Fluorescence

1 Introduction

Luteolin (L) is a part of the group of flavonoids found in fruits, vegetables, and certain beverages. The flavonoid molecules are formed by a benzene ring (A) and a heterocyclic pyran ring (C), joined to a phenyl ring (B) (Fig. 1a) [1]. There are different kinds of flavonoids and L belongs to a group called flavones, which has a double bond between C2 and C3 atoms, and also a carbonyl group at fourth position (Fig. 1b) [2].

E. Delgado · A. Deriabina (✉) · G. D. Vazquez · E. Gonzalez · V. Poltev
Faculty of Physical and Mathematical Sciences, Autonomous University of Puebla (BUAP),
Puebla, Mexico
e-mail: aderiabina@cfm.buap.mx

T. Prutskij
Institute of Science, Autonomous University of Puebla (BUAP), Puebla, Mexico

© The Author(s), under exclusive license to Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2023
M. Mahmud et al. (eds.), *Proceedings of Trends in Electronics and Health Informatics*,
Lecture Notes in Networks and Systems 675,
https://doi.org/10.1007/978-981-99-1916-1_28

385

Optical properties of Luteolin: DFT study

Delgado E.¹, Deriabina A.¹, Vazquez G.D.¹, Prutskiy T.², Gonzalez E.¹, Poltev V.¹

¹Faculty of Physical and Mathematical Sciences, Autonomous University of Puebla (BUAP), Puebla 72570, Mexico

²Sciences Institute, Autonomous University of Puebla (BUAP), Puebla 72570, Mexico

estebandelgadocuriel@gmail.com, aderiabina@cfm.buap.mx

Luteolin is one of the most common flavonoids that can be found in many kinds of plants, including some fruits, vegetables and medicinal herbs. Different studies have shown that this flavonoid has pharmacological activities, such as antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial and anticarcinogenic ones. In this work we study Luteolin's absorption and emission properties using the Time Dependent Density Functional Theory with Polarizable Continuum Model method. Calculations showed that the local minima in the excited state exist in both configurations: enol and keto of the Luteolin molecule in methanol as well as in vacuum. On the other hand, in the fundamental state, only for enol configuration an energy minimum was found.

Key words: Luteolin, flavonoids, TDDFT, fluorescence.

Оптические свойства лутеолина: исследование методом DFT

Дельгадо Е.¹, Дерябина А.С.¹, Васкес Г.Д.¹, Пруцких Т.², Гонсалес Е.¹, Полтев В.И.¹

¹Физико-Математический Факультет Автономного Университета штата Пуэбла, (BUAP), г. Пуэбла 72570, Мексика

²Институт Науки Автономного Университета штата Пуэбла, (BUAP), г. Пуэбла 72570, Мексика

Лутеолин является одним из наиболее распространенных флавоноидов, который находится во многих видах растений, в том числе в некоторых фруктах, овощах и лекарственных травах. Различные исследования показали, что этот флавоноид обладает фармакологической активностью, имеет антиоксидантное, противовоспалительное, антимикробное и антиканцерогенное действие. В этой работе мы изучаем свойства поглощения и излучения лутеолина с использованием теории функционала плотности, зависящего от времени, с методом модели поляризуемой непрерывной среды. Расчеты показали, что в возбужденном состоянии существуют локальные минимумы, соответствующие как энольной, так и кето-формам лутеолина (в метаноле и в вакууме). С другой стороны, в основном состоянии минимум энергии был получен только для энольной формы.

Ключевые слова: лутеолин, флавоноиды, TDDFT, флуоресценция.

1. Introduction

Luteolin (L), 3',4',5,7-Tetrahydroxyflavone is a flavonoid present in many kinds of comestible plants, also used in traditional medicine due to its preventive and therapeutic properties, making of this flavonoid a possible agent for prevention and treatment of some diseases [1]. L has been present in nature more than we can expect, it was found in 36-Million-Years-Old fossils. Nowadays we can find it in plants such as Aloe vera [2], carrot (*Daucus carota*) [3], olive oil (*Olea europaea*) [4], chocolate (*Theobroma cacao*) [5], cucumber (*Cucumis sativus*) [6], lettuce (*Lactuca sativa*) [7], and many others.

Crystallographic structure of L was studied by J. Cox *et al.* [8] where the L molecule was reported practically planar with a small torsion angle C3-C2-C1'-C6' (Fig. 1.1) of approximately 2°. Molecule of L has an intramolecular hydrogen bond (O5-H5...O4), while its crystal structure is stabilized by O-H...O, C-H...O and C-H... π interactions. Additionally, the L crystal contains disordered water molecules, providing hemihydrate characteristics [8].