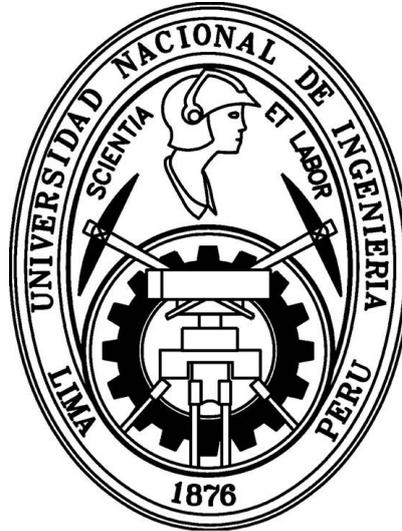


UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA

FACULTAD DE CIENCIAS



TESIS

**Procesos de protonación y su influencia en la fragmentación  
de isómeros orgánicos. Caso hidroxibenzofenonas**

PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN  
CIENCIAS EN FÍSICA

ELABORADO POR:

**LUIS ROBERTO CARLOS OCHOA**

**ASESOR:**

Dr. Juan Z. Dávalos Prado

LIMA – PERÚ

2018

**A todos los que creyeron en mí.**

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi familia, por haber cultivado en mí la pasión por la ciencia, a mis amigos incondicionales por haberme acompañado en todos estos años de estudio.

Al Programa de Becas de Maestría de la UNI-Convenio N° 167 - 2015 - Fondecyct UNI, al trabajo realizado por Rocío Ramos (JAE-tec) del laboratorio de Termoquímica del IQFR-CSIC.

Al Dr. Juan Z. Dávalos Prado por su paciencia y ayuda en la elaboración de esta tesis, me siento muy honrado de haber sido su tesista.

## RESUMEN

En esta tesis estudiamos tanto la reactividad química intrínseca (procesos de protonación en fase gaseosa) como los mecanismos de fragmentación de los isómeros *orto*-, *meta*- y *para*-hidroxibenzofenonas; **2**, **3** y **4** respectivamente.

La Afinidad Protónica (*PA*) y Basicidad (*GB*) han sido cuantificadas experimentalmente aplicando el Método Cinético Extendido de Cooks (EKCM) en un espectrómetro de masas con fuente de ionización por electrospray (ESI-MS). Encontramos que las afinidades protónicas, en kJ/mol, determinadas guardan la relación,  $PA(\mathbf{2}) = 901.1 \pm 8.4 \leq PA(\mathbf{3}) = 903.4 \pm 8.4 < PA(\mathbf{4}) = 912.6 \pm 8.4$ , resultado que refleja la mayor afinidad protónica del isómero **4** respecto de los isómeros **2** y **3**.

Los experimentos de fragmentación de los isómeros protonados ( $2\text{H}^+$ ,  $3\text{H}^+$  y  $4\text{H}^+$ ) se realizaron mediante la técnica CID (disociación por colisión inducida) acoplada al espectrómetro ESI-MS. Los fragmentos registrados fueron básicamente cationes  $\text{C}_7\text{O}_2\text{H}_5^+$  ( $m/z=121$ ) y  $\text{C}_7\text{OH}_5^+$  ( $m/z=105$ ) en proporciones características a cada isómero (patrones de fragmentación). Estos patrones permiten un reconocimiento isomérico o identificación inequívoca de los isómeros estudiados.

Los resultados experimentales obtenidos fueron racionalizados y dilucidados mediante cálculos mecano-cuánticos al nivel de teoría DFT con el funcional B3LYP y base 6-311++G(d,p). Esta metodología computacional también permitió formular mecanismos de fragmentación, donde la dinámica de los procesos de transferencia protónica estudiados incluye estados termodinámicos estables y de transición.

**Palabras claves:** Hidroxibenzofenona, *PA*, EKCM, ESI-MS, DFT, protonación, fragmentación.

## ABSTRACT

In this thesis, we investigate both the intrinsic chemical reactivity (gas-phase protonation) and fragmentation mechanisms of hydroxybenzophenone isomers: *ortho*-, *meta*- and *para*-compounds denoted as **2**, **3** and **4** respectively.

Gas phase proton-affinity (*PA*) and basicity (*GB*) have been determined experimentally applying Extended Kinetic Cooks Method (EKCM) with a mass spectrometer provided with an electrospray source (ESI-MS). We found out that proton affinities, measured in KJ/mol, keep the next relation:  $PA(\mathbf{2}) = 901.1 \pm 8.4 \leq PA(\mathbf{3}) = 903.4 \pm 8.4 < PA(\mathbf{4}) = 912.6 \pm 8.4$ . The previous outcome reflects the higher proton affinity for **4** than for either **2** or **3**.

Fragmentation experiments of protonated isomers ( $\mathbf{2H}^+$ ,  $\mathbf{3H}^+$  and  $\mathbf{4H}^+$ ) were carried out using CID (“Collision induced dissociation”) technique coupled to mass spectrometer ESI-MS. Obtained spectra showed that the fragmentation patterns included  $C_7O_2H_5^+$  ( $m/z=121$ ) and  $C_7OH_5^+$  ( $m/z=105$ ) cations, with a ratio typical to each isomer considered. These fragmentation patterns allow an isomeric recognition or unambiguous identification of the studied isomers.

The experimental results were rationalized and elucidated by means of computational DFT calculations at B3LYP/6-311++G(d,p) level of theory. This computational methodology also allowed to formulate fragmentation mechanisms, where the dynamics of the proton transfer processes studied included stable thermodynamic and transitional states.

**Keywords:** Hydroxybenzophenone, *PA*, EKCM,ESI-MS, DFT, protonation, fragmentation.

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>RESUMEN</b>	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>iv</b>
<b>1 INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>2 TÉCNICAS EXPERIMENTALES</b>	<b>4</b>
2.1 Espectrometría de masas . . . . .	4
2.2 Principios . . . . .	4
2.3 Fuentes de Ionización . . . . .	5
2.3.1 Fuente de ionización por electro-spray (ESI) . . . . .	5
2.4 Analizadores de masas . . . . .	6
2.4.1 Analizadores Cuadrupolo . . . . .	7
2.5 Detectores . . . . .	8
2.6 Procesamiento de datos . . . . .	8
2.6.1 Conversión analógica-digital . . . . .	8
2.6.2 Procesamiento e Interpretación de datos . . . . .	8
2.7 Sistema de vacío . . . . .	9
2.8 Fragmentación en espectrometría de masas . . . . .	9
2.9 Disociación Inducida por colisión (CID) . . . . .	9
2.10 Espectrómetro de masas triple cuadrupolo (TQ-MS) . . . . .	10
<b>3 MÉTODOS QUÍMICO COMPUTACIONALES</b>	<b>12</b>
3.1 Teoría del funcional de Densidad (DFT, Density Functional Theory) . . . . .	12
3.2 Teorema de Hohenberg-Kohn H-K . . . . .	13
3.3 DFT como un sistema de N electrones no interactuantes . . . . .	14
3.3.1 Energía de correlación-intercambio . . . . .	14
3.3.2 Ecuaciones de Kohn-Sham . . . . .	14
3.4 Conjunto de bases . . . . .	15
3.5 Funcional B3LYP (Becke, 3-parameter, Lee-Yang-Parr.) . . . . .	16
<b>4 ESTUDIO DE LA BASICIDAD (GB) Y AFINIDAD PROTÓNICA (PA) DE LA HIDROXIBENZOFENONA</b>	<b>17</b>

4.1	Determinación Experimental . . . . .	17
4.1.1	Método Cinético extendido de Cooks (EKCM) . . . . .	17
4.2	Detalles experimentales . . . . .	18
4.2.1	Compuestos de referencia empleados. Condiciones Experimentales	19
4.3	Análisis EKCM. Afinidad Protónica <i>PA</i> y Basicidad <i>GB</i> experimentales . .	21
4.4	Análisis estructural de isómeros neutros y protonados . . . . .	23
4.5	Determinación de la Afinidad Protónica vía DFT . . . . .	24
4.5.1	Metodología . . . . .	24
<b>5</b>	<b>ESTUDIO DE LA FRAGMENTACIÓN DE LA HIDROXIBENZOFENONA</b>	
	<b>PROTONADA</b>	<b>28</b>
5.1	Detalles Experimentales . . . . .	28
5.2	Análisis Experimental . . . . .	28
5.3	Método Computacional . . . . .	31
5.4	Análisis energético . . . . .	31
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>35</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>36</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>38</b>

## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

1.1	Isómeros 2-, 3, y 4-hydroxibenzofenona, con el grupo OH en las posiciones <i>orto</i> - (izda, <b>2</b> ), <i>meta</i> - (centro, <b>3</b> ) y <i>para</i> - (derecha, <b>4</b> ), respectivamente. . . .	1
2.1	Espectro de masas del pentano obtenido bajo electro ionización [14]. . . . .	5
2.2	Representación esquemática de un espectrómetro de masas. . . . .	5
2.3	Diagrama de una fuente de electro-spray, donde gas de nitrogeno es usado para desolvatar la muestra [19]. . . . .	6
2.4	Diagrama de una analizador cuadrupolar mostrando como un ión oscila bajo la influencia de campos variables [14]. . . . .	7
2.5	Esquema del espectrómetro TQ del laboratorio de termoquímica del IQFR-CSIC (Madrid). . . . .	10
2.6	Espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (TQ-MS) del laboratorio de Termoquímica del Instituto de Química-Física “Rocasolano”-CSIC, Madrid.	11
4.1	Esquema de la disociación del heterodímero $[B.H.B_{ref(i)}]^+$ . . . . .	17
4.2	Conjunto de gráficos termocinéticos de 2-hidroxibenzofenona, 3-hidroxibenzofenona y 4-hidroxibenzofenona (de arriba hacia abajo). (Izda.) 1er. conjunto, $\ln[BH^+][B_{ref(i)}H^+]$ vs $(PA_{ref(i)}-PA_{ref}^{avg})$ (Derecha) 2do. conjunto, corte-eje Y vs $1/RT_{eff}$ . . . . .	22
4.3	Geometrías de rotámeros neutros <b>2<sub>a</sub></b> , <b>3<sub>a</sub></b> y <b>4<sub>a</sub></b> (Izq.) y protonados <b>2<sub>a</sub>H<sup>+</sup></b> , <b>3<sub>a</sub>H<sup>+</sup></b> y <b>4<sub>a</sub>H<sup>+</sup></b> (Derecha) más estables, optimizadas al nivel B3LYP/6-311++G(d,p). Distancias en Å y ángulos en grados. . . . .	24
4.4	Geometría de los rotámeros neutros (izquierda) y protonados (derecha) de la 2-Hidroxibenzofenona. . . . .	25
4.5	Geometría de los rotámeros neutros (izquierda) y protonados (derecha) de la 3-Hidroxibenzofenona. . . . .	25
4.6	Geometría de los rotámeros neutros (izquierda) y protonados (derecha) de la 4-Hidroxibenzofenona. . . . .	26
5.1	Espectro de masas típico del isómero <b>2</b> fragmentado a una energía $E_{CM}= 1.66$ eV. .	28
5.2	Espectro de masas típico del isómero <b>3</b> fragmentado a una energía $E_{CM}= 3.35$ eV. .	29
5.3	Espectro de masas típico del isómero <b>4</b> fragmentado a una energía $E_{CM}= 2.49$ eV. .	29
5.4	Diagrama de la fragmentación de los isómeros de hidroxibenzofenonas. . .	30
5.5	Patrón de fragmentación CID de isómeros 2-, 3- y 4-hidroxibenzofenonas protonadas.	30

5.6	Rotámeros más estables de las hidroxibenzofenonas protonadas, $2\text{H}^+$ , $3\text{H}^+$ y $4\text{H}^+$ . Los ángulos en grados y distancias en Å. . . . .	32
5.7	Dos diferentes TS para $4\text{H}^+$ , la flecha azul indica el vector desplazamiento de las frecuencias imaginarias. Esta flecha indica, en el caso (a) que la molécula se rompe generando los fragmentos benceno y el catión 121 m/z y en el caso (b) los fragmentos fenol y el catión 105 m/z. . . . .	32
5.8	Diagrama de energías mostrando rutas de fragmentación de los rotámeros (derecha) $2_k\text{H}^+$ (k=a,b, ... g). Estados de transición: (i-k) del rotámero $2_i\text{H}^+$ al $2_k\text{H}^+$ ; $\text{TS}_{nk}$ (n=1,2) previo a la fragmentación. . . . .	33
5.9	Diagrama de energías mostrando rutas de fragmentación de los rotámeros (derecha) $3_k\text{H}^+$ (k=a,b, ... g). Estados de transición: (i-k) del rotámero $3_i\text{H}^+$ al $3_k\text{H}^+$ ; $\text{TS}_{nk}$ (n=1,2) previo a la fragmentación. . . . .	34
5.10	Diagrama de energías mostrando rutas de fragmentación de los rotámeros (derecha) $4_k\text{H}^+$ (k=a,b, ... g). Estados de transición: (i-k) del rotámero $4_i\text{H}^+$ al $4_k\text{H}^+$ ; $\text{TS}_{nk}$ (n=1,2) previo a la fragmentación. . . . .	34
6.1	Geometría de los estados de transición $\text{TS}_{ik}$ para la fragmentación de $2\text{H}^+$ . El subíndice i=1,2 hace referencia al canal de fragmentación I y II, mientras k=a,b,c,... al rotámero que se fragmenta. . . . .	38
6.2	Geometría de los estados de transición que conectan dos rotámeros diferentes de $2\text{H}^+$ , denotados como i-j, con i,j= a,b,c,d ... haciendo referencia a los diferentes conformeros de $2\text{H}^+$ . En algunos casos se muestra una flecha azul que indica como este estado de transición se desplaza a su estado final. . . . .	39
6.3	Geometría de los estados de transición $\text{TS}_{ik}$ para la fragmentación de $3\text{H}^+$ . El subíndice i=1,2 hace referencia al canal de fragmentación I y II, mientras k=a,b,c,... al rotámero que se fragmenta. . . . .	40
6.4	Geometría de los estados de transición que conectan dos rotámeros diferentes de $3\text{H}^+$ , denotados como i-j, con i,j= a,b,c,d, ... haciendo referencia a los diferentes conformeros de $3\text{H}^+$ . En algunos casos se muestra una flecha azul que indica como este estado de transición se desplaza a su estado final. . . . .	41
6.5	Geometría de los estados de transición $\text{TS}_{ik}$ para la fragmentación de la $4\text{H}^+$ . El subíndice i=1,2 hace referencia al canal de fragmentación I y II, mientras k=a,b,c,... al rotámero que se fragmenta. . . . .	41
6.6	Geometría de los estados de transición que conectan dos rotámeros diferentes de $4\text{H}^+$ , denotados como i-j, con i,j= a,b,c,d, ... haciendo referencia a los diferentes conformeros de $4\text{H}^+$ . En algunos casos se muestra una flecha azul que indica como este estado de transición se desplaza a su estado final. . . . .	42

## ÍNDICE DE TABLAS

4.1	Cantidades termodinámicas de los compuestos de referencia en fase gaseosa usados para determinar la basicidad de <b>2</b> y <b>3</b> . . . . .	19
4.2	Cantidades termodinámicas de los compuestos de referencia en fase gaseosa usados para determinar la basicidad de <b>4</b> . . . . .	20
4.3	Condiciones experimentales específicas de las referencias usadas para determinar <i>PA</i> en <b>2</b> y <b>3</b> , lo valores en negrita pertenecen a 2- Hidroxibenzofenona mientras los valores en cursiva a 3- Hidroxibenzofenona . . . . .	20
4.4	Condiciones experimentales específicas de las referencias usadas para determinar <i>PA</i> en <b>4</b> . . . . .	21
4.5	Valores de Afinidad Protónica <i>PA</i> , Basicidad <i>GB</i> y entropía de protonación $\Delta_p S^0$ experimentales (EKCM). . . . .	23
4.6	Valores promedio de Entalpía ( $H_{prom}$ ) y Energía de Gibbs ( $G_{prom}$ ) para las especies neutras y protonadas de las Hidroxibenzofenonas estudiadas vía DFT	26
4.7	Valores de Afinidad Protónica <i>PA</i> , Basicidad <i>GB</i> y entropía de protonación $\Delta_p S^0$ experimentales (EKCM). Entre paréntesis, valores calculados <sup>a</sup> . . . . .	26
5.1	Tasas promedio entre la intensidad de formación de los cationes 105 m/z y 121 m/z ( $I_{105}^+/I_{121}^+$ ) para los diferentes isómeros . . . . .	31
6.1	Valores de entalpía, energía de Gibbs (ambos en Hartree) y porcentaje poblacional de los isómeros neutros y protonados de las hidroxibenzofenonas 2-, 3- y 4- usando cálculos computacionales vía DFT con la funcional B3LYP/6-311 ++G(d,p). . . . .	43
6.2	Niveles de energía de los estados de transición ( $TS_{nk}$ ) para la fragmentación de los isómeros <b>2</b> , <b>3</b> y <b>4</b> usando cálculos computacionales vía DFT con la funcional B3LYP/6-311 ++G(d,p). Donde n= 1,2 denota si el estado pertenece a la ruta I ó II de fragmentación y k=a,b,c,. . . el conformero que se fragmenta. Estados de transición: (i-k) conectan dos rotámeros. Los niveles están medidos respecto al nivel $2_a H^+$ , $3_a H^+$ y $4_a H^+$ para cada cada isómero respectivamente. . . . .	44

## ABREVIATURAS

<b>ADC</b>	Conversor Análogo-digital
<b>B3LYP</b>	Becke, three-parameter, Lee-Yang-Parr
<b>CI</b>	Ionización química
<b>CID</b>	Disociación de colisión inducida
<b>DFT</b>	Teoría de funcional de densidad
<b>ECD</b>	Electron colission dissociation
<b>EI</b>	Electro-ionización
<b>EKCM</b>	Método cinético extendido de Cooks
<b>ESI</b>	Fuente de Ionización de electro-spray
<b>GB</b>	Basicidad en fase gaseosa
<b>GTO</b>	Orbitales tipo Gausiannas
<b>IQFR</b>	Instituto Química Física Rocasolano
<b>IT</b>	Trampa de iones
<b>IRMP</b>	Infra red multi photon dissociation
<b>LDI</b>	Desorción laser
<b>NIST</b>	National institute of standards and technology
<b>PA</b>	Afinidad Protónica
<b>STO</b>	Orbitales tipo Slater
<b>TS</b>	Estados de transición
<b>TOF</b>	Tiempo de vuelo
<b>TQ</b>	Triple cuadrupolo
<b>MS</b>	Espectrómetro de masas

## CAPÍTULO 1:

### INTRODUCCIÓN

Diversos estudios acerca de la hidroxibenzofenona y sus derivados revelan que estos son de gran importancia científica y tecnológica, por ejemplo, es utilizada en la síntesis de anti-inflamatorios [1] y de algunas drogas anti-cancerígenas [2], respecto del cual podemos mencionar estudios que muestran a benzofenonas como inhibidores de la proliferación de células tumorales [3]. Además, debido a su alta capacidad para absorber energía en el rango UV [4], se emplea en la fabricación de bloqueadores solares y como aditivo para evitar la degradación del olor y el color en plásticos, jabones y perfumes.

La Hidroxibenzofenona presenta 3 isómeros posicionales, según la posición del grupo hidroxilo OH en uno de los anillos bencénicos; esto es 2-(u *orto*-), 3-(o *meta*-) y 4-(o *para*-) hidroxibenzofenona y a los que denominamos en adelante como **2**, **3** y **4** respectivamente (Ver Fig. 1.1).

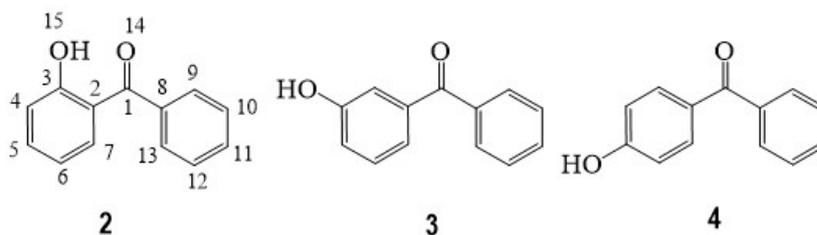
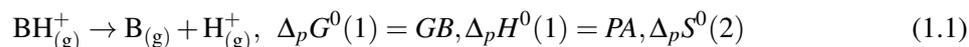


Figura 1.1: Isómeros 2-, 3, y 4-hidroxibenzofenona, con el grupo OH en las posiciones *orto*- (izda, **2**), *meta*- (centro, **3**) y *para*- (derecha, **4**), respectivamente.

Uno de los procesos relevantes en los que participan las hidroxibenzofenonas, al igual que muchos otros compuestos, es el intercambio de protones entre sitios activos moleculares, esto es reacciones que involucran la cesión (acidez/desprotonación) o captación (basicidad/protonación) de protones. Estas reacciones son particularmente importantes en procesos biológicos como la fosforilación de proteínas [5], interacción entre ligandos y receptores [6], etc. En este contexto, la caracterización de la capacidad intrínseca de un compuesto para ceder o captar protones desde uno de sus sitios activos es crucial a la hora de dilucidar la reactividad química del mismo. Esa capacidad propia del compuesto queda definida por reacciones exotérmicas de desprotonación o protonación en fase gaseosa y son cuantificadas por magnitudes termodinámicas como cambios de entalpías, energías de Gibbs y entropías de reacción. En el caso particular de la protonación de una molécula al que denominaremos “base B”, se define como basicidad  $GB$  de la misma al cambio de la energía de Gibbs de la

siguiente reacción (de protonación) en fase gaseosa:



Los correspondientes cambios en la entalpía y entropía de la reacción (1) se refieren a la entalpía ( $\Delta_p H^0$ ) y entropía ( $\Delta_p S^0$ ) de protonación.  $\Delta_p H^0$  se denomina también como Afinidad Protónica, *PA*.

Numerosas investigaciones han sido llevadas a cabo para determinar sitios preferenciales donde el protón se enlaza a una molécula receptora. Estos estudios incluyen un amplio abanico de especies que van desde moléculas muy simples como el monóxido de carbono [7] hasta las muy complejas tales como péptidos y proteínas [8]. Varias de estas investigaciones muestran que los sitios activos de protonación son aquellos termodinámicamente favorables, esto es sitios dentro de la molécula donde el protón se enlaza para dar paso a un ión estable. Sin embargo, varios experimentos, particularmente usando espectrometría de masas, muestran que existen moléculas que pueden ser protonadas en sitios termodinámicamente poco favorables. Estos resultados revelan que la protonación puede ser un proceso termodinámico y cinéticamente competitivo [9].

El proceso de protonación también modifica sustancialmente la estructura y la estabilidad termodinámica de la molécula receptora, pese a que métodos potentes de análisis químico, como las espectrometrías de masas, identifican más bien especies moleculares protonadas (o desprotonadas) y recurren para su identificación inequívoca a técnicas de fragmentación controlada.

Es muy común que la fragmentación de especies protonadas tenga lugar cuando el protón migra desde su sitio preferente a otro dentro de la molécula y es justo en este lugar estratégico donde la molécula se rompe y se generan distintos fragmentos. Un ejemplo de esto se aprecia en la protonación de la amida, donde se ha determinado que la protonación ocurre en el oxígeno del grupo carbonilo  $>\text{C}=\text{O}$  [10], pero la fragmentación tiene lugar solo cuando el protón migra hacia el nitrógeno de la amida, a pesar de que las especies N-protonadas tengan una energía mayor a las especies O-protonadas [11]. El caso anterior se repite muy a menudo en distintas moléculas y esto ha dado lugar al denominado “Modelo del protón libre” [12] que permite describir la movilidad del protón a través de las moléculas protonadas.

A pesar de que las propiedades termoquímicas (estabilidad intrínseca) y de reactividad por desprotonación (acidez) de los isómeros de las hidroxibenzofenonas en fase gaseosa ya han sido estudiadas y determinadas [13]; el estudio sistemático de la reactividad química por protonación y la dinámica de fragmentación de estos compuestos apenas han sido abordados.

El objetivo de esta tesis se centra pues tanto en la investigación de la reactividad por protonación de isómeros de hidroxibenzofenonas, como en los mecanismos de fragmentación de las mismos. Para lograr estos objetivos combinamos técnicas experimentales (espectrometría de masas) y computacionales (cálculos DFT mecano-cuánticos), sirviendo estos últimos para dilucidar, interpretar y articular la consistencia de los resultados experimentales.

Los experimentos se realizaron utilizando un espectrómetro de masas con fuente de ionización por electrospray (MS/ESI), y los resultados obtenidos fueron tratados por el método cinético extendido de Cooks (EKCM) que permitió la determinación experimental de la afinidad protónica  $PA$ , basicidad  $GB$  y el entropía en la protonación  $\Delta_p S^0$ , en fase gaseosa, de los isómeros estudiados. La fragmentación de las especies protonadas se hizo también en el espectrómetro MS/ESI utilizando la técnica CID (colisión inducida) y los resultados obtenidos muestran patrones de fragmentación característico al compuesto analizado.

El análisis computacional de las propiedades estructurales y energéticas de las especies estudiadas se hizo utilizando la teoría mecano-cuántica del Funcional de Densidad o DFT al nivel B3LYP (Becke 3 parameter and the Lee, Yang, Parr) y base de Pople, 6-311++ G(d,p), sin restricciones de simetría. Las frecuencias armónicas fueron también calculadas al mismo nivel sin aplicar escala alguna.

## **CAPÍTULO 2:**

### **TÉCNICAS EXPERIMENTALES**

En el presente capítulo se desarrollan características básicas de la espectrometría de masas, herramienta que fue utilizada para el desarrollo de la parte experimental de este trabajo.

#### **2.1 Espectrometría de masas**

La espectrometría de masas es una técnica analítica basada en la medición de la relación masa – carga ( $m/z$ ) de los iones producidos de un compuesto bajo estudio [14]. Es usada, por ejemplo, para detectar y determinar la cantidad de un analito, también para el estudio de rasgos estructurales [15], la composición y parámetros termodinámicos [16] de una muestra. La espectrometría de masas debido algunas características muy importantes que posee, tales como: alta sensibilidad, versatilidad, grandes límites de detección y una diversidad de aplicaciones; ha ganado una gran acogida en muchos campos como la física atómica, la biología, la ciencia forense [17], el monitoreo de procesos y alimentos, el estudio de la contaminación, la medicina [18], entre otros.

#### **2.2 Principios**

El primer paso en el análisis de compuestos bajo espectrometría de masas, es la creación de iones. Los iones son partículas eléctricamente cargadas y como tales pueden ser conducidas haciendo uso de campos eléctricos y magnéticos. Un espectrómetro de masas funciona bajo este principio. Los iones son producidos mediante fuentes de ionización y conducidos a una cámara de análisis y detección a baja presión o vacío. Los iones una vez detectados son clasificados de acuerdo a la relación masa-carga ( $m/z$ ) que poseen, obteniéndose así lo que se denomina un espectro de masas, el cual muestra la abundancia relativa de cada ión versus su relación  $m/z$  (Figura 2.1). En términos generales, un espectrómetro de masas siempre presenta los siguientes elementos: una fuente de ionización (para esta tesis se empleó una fuente de ionización de electro-spray o ESI), uno o más analizadores, un detector (que genera las señales que registra los valores  $m/z$  y la abundancia de los iones) y finalmente un sistema de procesamiento de datos que produce el espectro de masas [19].

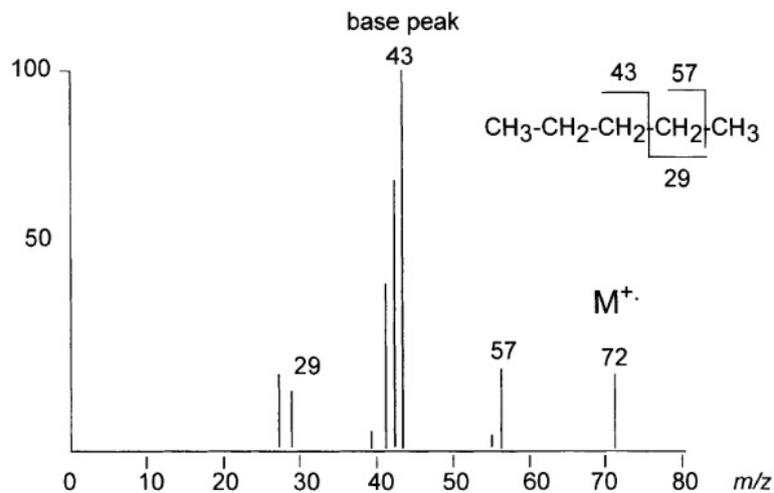


Figura 2.1: Espectro de masas del pentano obtenido bajo electro ionización [14].

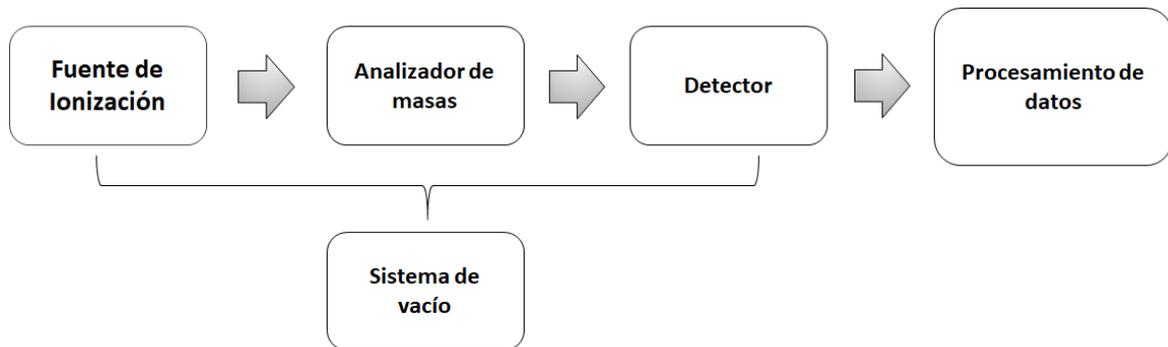


Figura 2.2: Representación esquemática de un espectrómetro de masas.

A continuación, se pasa a describir cada elemento de un espectrómetro de masas en detalle:

## 2.3 Fuentes de Ionización

Las moléculas a estudiar en un espectrómetro de masas deben ser primero ionizadas antes de ser debidamente analizadas y detectadas. Justamente, el rol de las fuentes de ionización es convertir una especie neutra en sus iones valiéndose de diversas técnicas. Existen diversos métodos de ionización entre los que podemos encontrar: la electro-ionización (EI), la ionización química (CI), la desorción laser (LDI) y el electro-spray (ESI) [20]. Esta última será discutida en más detalle pues fue la que se empleó durante la realización de nuestros experimentos.

### 2.3.1 Fuente de ionización por electro-spray (ESI)

Es una fuente del tipo “soft” de amplio uso. Fue concebida a finales de 1960 por Malcolm Dole y posteriormente desarrollada a partir de experimentos realizados por John Fenn (al que concedieron el

Premio Nobel del 2000 por esta contribución) y otros colaboradores en la década de 1980 [14]. Al principio su uso estuvo dedicado exclusivamente al análisis de proteínas, luego se extendió al estudio de otros polímeros e incluso en moléculas más pequeñas [19]. Su alta sensibilidad le ha permitido ser empleado en aplicaciones industriales y biológicas [21]. Un esquema de la fuente de electro-spray se muestra en la figura 2.3. En esta técnica se hace pasar la solución de la muestra en estudio a través de una aguja capilar a un flujo promedio de 1 a 10  $\mu\text{Lmin}^{-1}$ . Esta aguja capilar se mantiene a un alto voltaje (4-5 kV) respecto a un electrodo situado a 0.3-2 cm, el campo eléctrico del orden de  $10^6 \text{Vm}^{-1}$  generado induce una acumulación de carga en la superficie de las gotas ubicadas en el extremo del capilar los cuales eventualmente se dispersarán creando una fina niebla de gotas cargadas (spray). Se inyecta un gas (aire o nitrógeno) a baja presión, denominado gas de nebulización, para que la dispersión del spray se limite a un pequeño espacio. Mientras las gotitas cargadas viajan, un contra-flujo de gas seco (típicamente  $\text{N}_2$ ) es aplicado haciendo que el solvente se evapore, la evaporación continua hasta que en un punto determinado la repulsión electrostática se haga tan fuerte que las gotas se desintegren y los iones se esparzan y pasen a una fase gaseosa y así puedan ingresar al analizador del espectrómetro donde serán discriminados según su relación carga/masa,  $m/z$  [19].

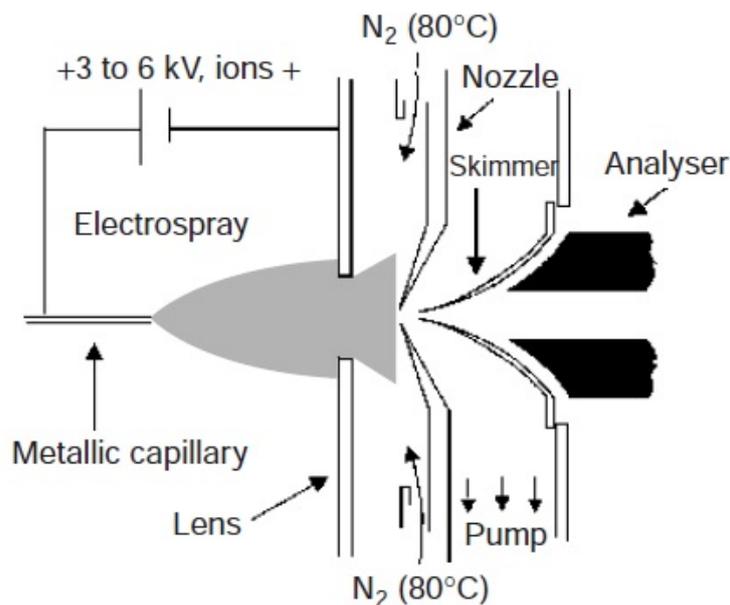


Figura 2.3: Diagrama de una fuente de electro-spray, donde gas de nitrógeno es usado para desolvatar la muestra [19].

## 2.4 Analizadores de masas

Una vez generados los iones y ya en fase gaseosa necesitan ser discriminados de acuerdo a su relación masa-carga ( $m/z$ ), para este propósito el analizador de masas se vale de la aplicación de campos eléctricos y magnéticos. En el mercado hay una variedad considerable de tipos de analizadores, cada

uno operando bajo principios particulares [19], entre ellos destacan: el de tiempo de vuelo (TOF), sector magnético (B), trampa de iones (IT) y analizadores cuadrupolo (Q), este último usado para nuestros experimentos.

### 2.4.1 Analizadores Cuadrupolo

Los espectrómetros de masa del tipo cuadrupolo son ampliamente usados, principalmente para el análisis de moléculas orgánicas [20], estos tienen una serie de ventajas sobre otros analizadores de masas incluyendo su bajo costo y un menor tamaño [14].

Los analizadores cuadrupolares son dispositivos formados por 4 barras situados en un arreglo circular o idealmente hiperbólico [19]. Estas barras son dispuestas de forma paralela tal como se muestra en la figura 2.4. Las barras adyacentes están polarizadas con signo distinto (potenciales opuestos) mientras las opuestas están conectadas al mismo potencial. El potencial que se aplica contiene dos partes, una constante  $U$  y otra alterna  $u$  oscilante en el rango de radio frecuencia ( $\omega$ ) con una amplitud  $V_{RF}$ . Los iones al ingresar al cuadrupolo experimentarán fuerzas en la dirección  $x$  e  $y$  (considerando la dirección  $z$  paralela a las barras), oscilando de un lado a otro, de tal manera que solo iones con una relación  $m/z$  dentro de un rango del potencial pre-establecido (el cual se puede controlar variando los valores de  $U$  y  $V_{RF}$ ) tendrán una trayectoria que les permite atravesar todo el dispositivo cuadrupolar. Los otros iones saldrán de este dispositivo y no serán detectados.

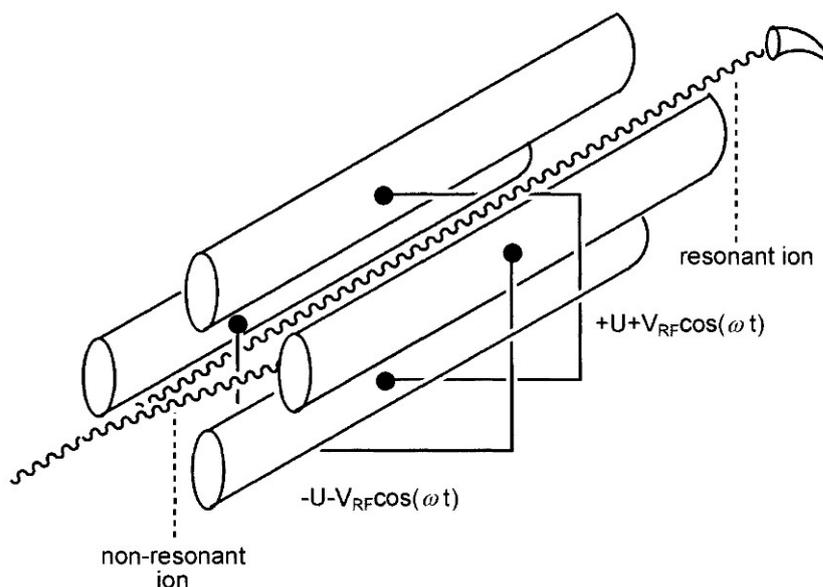


Figura 2.4: Diagrama de un analizador cuadrupolar mostrando cómo un ion oscila bajo la influencia de campos variables [14].

## 2.5 Detectores

Una vez discriminados, en el analizador de masas, los iones que salen deben de ser detectados por un dispositivo (detector) que produce señales con intensidad proporcional a la abundancia de los iones entrantes [19]. Diversas clases de dispositivos son usados como detectores, algunos están basados en la medición de la corriente eléctrica producida cuando los iones impactan en el detector (tapa de Faraday) y otros en la medición de la corriente generada por iones secundarios (multiplicador de electrones) [20]. Debido a que el número de iones que salen del analizador es muy pequeño, un detector requiere sistemas para amplificar este número. Los detectores se pueden dividir en dos grupos: aquellos que cuentan iones con diferentes masas en un mismo punto (point ion collector), pero separados temporalmente y aquellos en los que todos los iones llegan simultáneamente a lo largo del detector y son identificados dependiendo del lugar en donde impacten (array collectors).

## 2.6 Procesamiento de datos

El funcionamiento de los espectrómetros de masas está controlado por softwares específicos que se pueden resumir en 3 funciones básicas [14]:

1. Control del espectrómetro.
2. Adquisición y procesamiento de datos.
3. Interpretación de datos.

Una vez que la muestra es introducida, todas las funciones restantes están controladas por un computador. Esto incluye la calibración y la optimización de las señales del detector.

### 2.6.1 Conversión analógica-digital

Debido a que un espectrómetro de masa adquiere información de forma analógica, se requiere el uso de un conversor analógico-digital (ADC) para convertir las señales del detector en formato digital. La corriente de los iones registrada por el detector es convertida a una señal digital, amplificada y filtrada (se remueve el ruido de frecuencias altas), y luego convertida en una imagen de Intensidad vs  $m/z$  vía comparación de datos obtenidos en experimentos de calibración previos.

### 2.6.2 Procesamiento e Interpretación de datos

La interpretación y procesamiento de datos son significativamente ayudados por el uso de programas específicos. Secciones de un espectro de masas pueden ser normalizados y suavizados. Múltiples algoritmos se han desarrollado para suavizar los espectros, para remover el ruido de señales no deseadas, calcular la composición de un ión dado teniendo en cuenta los elementos de la muestra,

calcular la abundancia de un compuesto así como comparar su espectro con otros ya registrados en una base de datos [20].

## 2.7 Sistema de vacío

Todos los espectrómetros de masas tienen como un elemento importante dentro de sus componentes a las bombas de vacío. Estas incluyen bombas mecánicas rotatorias que hacen pre-vacíos (hasta  $10^{-2}$  mBar) a las turbomoleculares con las que se pueden alcanzar vacíos mejores que  $10^{-6}$  mBar. Las presiones a las cuales trabajan estos sistemas de vacío varían de un espectrómetro a otro, en los espectrómetros del tipo cuadrupolar operan habitualmente en un rango de  $10^{-3}$  a  $10^{-6}$  mBar. Es importante crear vacío dentro de los espectrómetros para evitar colisiones y reacciones de los iones con moléculas de gas residual durante el viaje desde la fuente hasta el detector [19].

## 2.8 Fragmentación en espectrometría de masas

Fue a finales de la década del 60 cuando se empezó a usar la fragmentación [22] para la identificación de especies en espectrometría de masas. Una característica muy importante de los espectrómetros que cuentan con dispositivos de fragmentación es que son capaces de aislar un ión deseado de entre todos los que entran al analizador de masas en un momento dado.

La fragmentación no solo es empleada para determinar la estructura de una muestra dada, también es usada para el estudio de energética molecular en fase gaseosa o en la determinación de propiedades intrínsecas. Si se controla con precisión las energías de fragmentación junto con las técnicas adecuadas se puede determinar la energía umbral de disociación [23], la acidez y basicidad de un compuesto [24], el potencial de ionización [25], etc.

Las técnicas de fragmentación son usadas en muchos campos de investigación por ejemplo: el farmacológico, donde se estudia productos naturales, en la química analítica y a nivel industrial. Entre las técnicas más destacables tenemos: CID (Collision Induced Dissociation), EI (Electron Impact), IRMP (Infra Red Multi Photon Dissociation) y ECD (Electron Collision Dissociation).

## 2.9 Disociación Inducida por colisión (CID)

La información estructural puede ser obtenida a partir de un ión por medio de la disociación inducida por colisión (CID) usando un gas de colisión [26]. En CID, los iones en cuestión son seleccionados como iones precursores y luego son dirigidos a una cámara de colisión, donde chocan con moléculas de gas por ejemplo nitrógeno o argón para producir una serie de fragmentos [27].

En una visión general el proceso de CID puede resumirse en 2 pasos importantes. El primero el cual es muy rápido ( $10^{-14}$  a  $10^{-16}$ s) y corresponde a la colisión entre el ión y la molécula "target" o blanco cuando una fracción de la energía traslacional del ión es convertida en energía interna, llevando al ión a un estado excitado. El segundo paso es la descomposición del ión activado. Una redistribución de la energía entre sus modos normales de vibración conduce a la fragmentación del ión en el lugar donde

sus enlaces son más débiles [28].

## 2.10 Espectrómetro de masas triple cuadrupolo (TQ-MS)

El espectrómetro triple cuadrupolo (TQ-MS) es un arreglo “tándem”, el diseño de este equipo se muestra en la figura 2.5. El primer y tercer cuadrupolo seleccionan lo iones de acuerdo a su valor masa-carga y el segundo cuadrupolo, el cual trasmite todos los iones, sirve como una cámara de colisión [19].

El primer cuadrupolo (Q1) tiene como tarea seleccionar los iones precursores después de que han sido ionizados por ejemplo mediante ESI. Después estos iones son llevados a una celda de colisión (Q2), típicamente este cuadrupolo trabaja a una presión de  $10^{-1}$  mBar debido a la presencia de un gas de colisión. Finalmente el tercer cuadrupolo (Q3) proporciona un medio para analizar todos los productos que emergen de Q2. Se pueden diseñar múltiples experimentos dependiendo de como se configura cada cuadrupolo, por ejemplo:

1. “Product Ion Scan” Se selecciona un ión en Q1, luego se fragmenta en Q2 y a través de un rango deseado se seleccionan los iones en Q3. Aporta información estructural.
2. “Neutral Scan Loss” Se selecciona un determinado rango en Q1, se fragmenta en Q2 y se sincroniza en Q3. Se emplea para identificar compuestos con el mismo grupo funcional.
3. “Selected Ion Monitoring” En Q1 se selecciona un ión específico y se fragmenta en Q2, y se selecciona un único fragmento en Q3.
4. “Precursor Scan” Primero se selecciona un rango de masas en Q1, se fragmentan en Q2 y se selecciona en Q3 la masa de algún producto que debería formarse. Da pista acerca de determinados analitos en función de grupos funcionales perdidos.

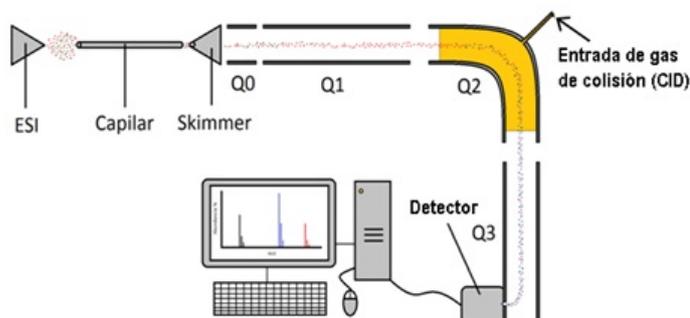


Figura 2.5: Esquema del espectrómetro TQ del laboratorio de termoquímica del IQFR-CSIC (Madrid).

Para el desarrollo de la presente tesis, los experimentos se realizaron utilizando un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo TQ Varian/Agilent MS-320 (Figura 2.6) equipado con fuente de ionización por electrospray (ESI). El rango detectable mediante este dispositivo está entre 10 y 2000 m/z, con una resolución ligeramente inferior a 1 Da.

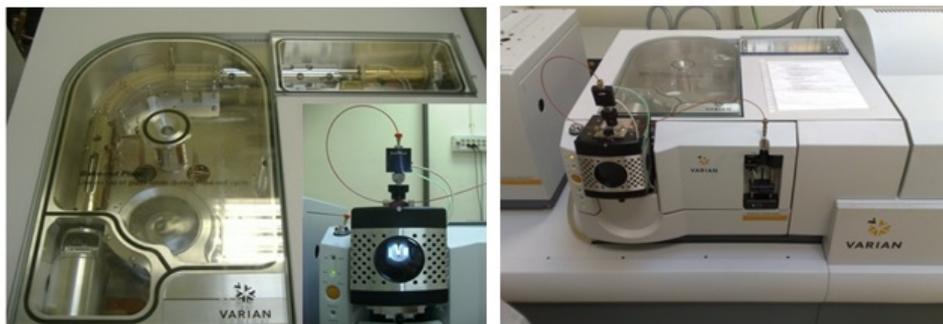


Figura 2.6: Espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (TQ-MS) del laboratorio de Termoquímica del Instituto de Química-Física “Rocasolano”-CSIC, Madrid.

## CAPÍTULO 3:

### MÉTODOS QUÍMICO COMPUTACIONALES

Los cálculos computacionales de todas las especies estudiadas (incluyendo análisis conformacionales) y la dinámica de fragmentación de las protonadas se realizaron empleando el programa de cálculo Gaussian 09 [29], instalado tanto en PCs convencionales como en los “clusters” LADON-HIDRA del IQFR-Madrid. En este capítulo se describen brevemente aspectos generales de la química computacional, centrado en la Teoría del Funcional de Densidad (DFT); metodología utilizada en este trabajo.

#### 3.1 Teoría del funcional de Densidad (DFT, Density Functional Theory)

Existen diversos métodos computacionales para estudiar y predecir estructuras, niveles de energía y propiedades físico-químicas de átomos y moléculas [30]. Uno de estos métodos es la teoría de funcional de densidad o simplemente DFT. En los últimos años la DFT ha experimentado un gran éxito y auge en diversas áreas que comprenden desde la biología hasta la minerología [31]. En la presente tesis se hace uso de este método, así que repasaremos de forma escueta las bases teóricas de la teoría de funcional de densidad.

La versatilidad y flexibilidad de la DFT recae en su marco conceptual, los dos elementos más importantes para entender la DFT son el teorema de Hohenberg-Kohn y las ecuaciones de Kohn-Sham. Para entender estos dos conceptos, antes tenemos que dar un paso atrás a los fundamentos de la mecánica cuántica.

En mecánica cuántica toda la información disponible en un sistema se encuentra en su función de onda  $\psi$  [32], esta función es obtenida al resolver la ecuación de Schrödinger. Normalmente estamos solo interesados en la estructura electrónica de átomos, moléculas y sólidos, por lo tanto  $\psi$  dependerá solamente de las coordenadas electrónicas.

Para un sistema de  $N$  electrones la ecuación de Schrödinger queda definida por:

$$\left[ \sum_1^N \left( -\frac{\hbar^2 \nabla_i^2}{2m} + v(r_i) \right) + \sum_{i < j} U(r_i, r_j) \right] \psi(r_1, r_2, \dots, r_N) = E \psi(r_1, r_2, \dots, r_N), \quad (3.1)$$

donde  $U(r_i, r_j)$  es la interacción electrón-electrón y  $v(r_i)$  es la interacción que siente el electrón  $i$  debido a la configuración de los núcleos dentro del sistema. Se definen los operadores:

$$\hat{U} = \sum_{i < j} U(r_i, r_j) \quad (3.2)$$

el operador de energía cinética

$$\hat{T} = -\frac{\hbar^2}{2m} \sum_i \nabla_i^2 \quad (3.3)$$

y el operador del potencial externo

$$\hat{V} = \sum_i v(r_i) \quad (3.4)$$

La forma tradicional de resolver un sistema cuántico se puede resumir en el siguiente esquema [31]

$$v(\mathbf{r}) \Rightarrow \psi(r_1, r_2, \dots, r_N) \Rightarrow \text{observables}$$

se especifica el sistema escogiendo  $v(\mathbf{r})$ , se introduce el potencial en la ecuación de Schrödinger, al resolver se obtiene  $\psi$  y luego se calculan los valores esperados de los diferentes observables.

Uno de estos observables es la densidad electrónica  $n(\mathbf{r})$

$$n(\mathbf{r}) = N \int d^3 r_2 \int d^3 r_3 \dots \int d^3 r_N \psi^*(r, r_2, \dots, r_N) \psi(r, r_2, \dots, r_N) \quad (3.5)$$

La teoría de funcional de densidad promueve la densidad  $n(\mathbf{r})$  como pieza clave en su teoría, proporciona una forma de lidiar con los operadores  $\hat{T}$  y  $\hat{U}$  y convierte un problema de  $N$  electrones con  $\hat{U}$  en un sistema de un solo electrón sin  $\hat{U}$  [30]. El siguiente esquema representa el modo que emplea la DFT para resolver un sistema

$$n(\mathbf{r}) \Rightarrow \psi(r_1, r_2, \dots, r_N) \Rightarrow v(\mathbf{r}) \quad (3.6)$$

## 3.2 Teorema de Hohenberg-Kohn H-K

Esta sección puede ser dividida en tres sentencias:

i) Dado la densidad electrónica del estado fundamental  $n_0(\mathbf{r})$  es posible calcular la función de onda del estado fundamental  $\psi_0$  [33]. Esto significa que  $\psi_0$  es funcional de  $n_0$  y como consecuencia los observables en el nivel fundamental  $O_0$  también son funcionales de  $n_0$

$$\psi_0(r_1, r_2, \dots, r_N) = \Psi[n_0(\mathbf{r})] \quad (3.7)$$

$$O_0 = O[n_0] \quad (3.8)$$

La anterior definición se conoce como el primer teorema de H-K.

ii) Quizás el más importante observable es la energía. La energía se calcula por medio de la siguiente ecuación

$$E_{v,0} = E_v[n_0] = \langle \psi[n_0] | \hat{H} | \psi[n_0] \rangle \quad (3.9)$$

Siendo  $n_0$  un extremo de la funcional, dado una densidad electrónica distinta  $n'$  [34], tenemos

$$E_v[n_0] \leq E_v[n'] \quad (3.10)$$

Este el segundo teorema de H-K

iii) Los operadores de energía cinética e interacción son descritos por operadores universales [31], lo que permite escribir  $E_v$  como

$$E_v[n] = T[n] + U[n] + V[n] = F[n] + V[n] \quad (3.11)$$

donde  $T[n]$ ,  $U[n]$  son funcionales de  $n$  que no dependen de  $v(r)$ , y

$$V[n] = \int d^3 r n(\mathbf{r}) v(\mathbf{r}) \quad (3.12)$$

## 3.3 DFT como un sistema de N electrones no interactuantes

### 3.3.1 Energía de correlación-intercambio

La forma de resolver un sistema en DFT, es mediante aproximaciones. Como punto de partida se comienza dividiendo la funcional de energía cinética  $T[n]$  en dos partes, una de ellas representa la energía cinética de partículas no interactuantes con densidad  $n$ , al que denotamos  $T_s[n]$  y otra parte representada por  $T_c[n]$  (la energía cinética de correlación).

$$T[n] = T_s[n] + T_c[n] \quad (3.13)$$

$T_s[n]$  puede ser expresado en terminos de orbitales de una sola partícula  $\phi_i(\mathbf{r})$ , como

$$T_s[n] = -\frac{\hbar^2}{2m} \sum_i^N \int d^3r \phi_i^*(\mathbf{r}) \nabla^2 \phi_i(\mathbf{r}) \quad (3.14)$$

Podemos ahora re-escribir la funcional de energía

$$E[n] = T[n] + U[n] + V[n] = T_s[\phi_i[n]] + U_H[n] + E_{xc}[n] + V[n] \quad (3.15)$$

Donde  $U_H[n]$  es la aproximación electrón-electrón (aproximación Thomas Fermi [35]) cuya expresión es

$$U_H[n] = \frac{e^2}{2} \int d^3r \int d^3r' \frac{n(\mathbf{r})n(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} \quad (3.16)$$

Además  $E_{xc}$  por definición es  $E_{xc} = T - T_s + U - U_H$ , este término es conocido como la energía de correlación-intercambio y se puede descomponer en dos partes  $E_{xc} = E_x + E_c$ , donde  $E_x$  es debido al principio de Pauli (energía de intercambio) [36] y  $E_c$  es debido a las correlaciones ( $T_c$  forma parte de  $E_c$ )

### 3.3.2 Ecuaciones de Kohn-Sham

Debido a que la densidad  $n(\mathbf{r})$  es un extremo de la funcional energía, podemos escribir la siguiente relación [37]

$$0 = \frac{\delta E[n]}{\delta n(\mathbf{r})} = \frac{\delta T_s[n]}{\delta n(\mathbf{r})} + \frac{\delta V[n]}{\delta n(\mathbf{r})} + \frac{\delta U_H[n]}{\delta n(\mathbf{r})} + \frac{\delta E_{xc}[n]}{\delta n(\mathbf{r})} = \frac{\delta T_s[n]}{\delta n(\mathbf{r})} + v(\mathbf{r}) + v_H(\mathbf{r}) + v_{xc}(\mathbf{r}) \quad (3.17)$$

De (3.12) tenemos que  $\delta V/\delta n = v(\mathbf{r})$ , de la ecuación (3.16) podemos extraer el potencial de Hartree  $v_H = \delta U_H/\delta n$ , una vez se haya escogido una aproximación para  $E_{xc}$ , el término  $\delta E_{xc}/\delta n$  puede ser calculado y escrito como  $v_{xc}$  [38].

Ahora si se considera un sistema de partículas no interactuantes en un potencial  $v_s(\mathbf{r})$ , la condición de minimización para este sistema es

$$0 = \frac{\delta E_s[n]}{\delta n(\mathbf{r})} = \frac{\delta T_s[n]}{\delta n(\mathbf{r})} + \frac{\delta V_s[n]}{\delta n(\mathbf{r})} = \frac{\delta T_s[n]}{\delta n(\mathbf{r})} + v_s(\mathbf{r}), \quad (3.18)$$

Al resolver la ecuación anterior obtendremos una densidad electrónica  $n_s(\mathbf{r})$ . Comparando las ecuaciones (3.18) y (3.17),  $n(\mathbf{r}) = n_s(\mathbf{r})$  si se elige  $v_s = v(\mathbf{r}) + v_H(\mathbf{r}) + v_{xc}(\mathbf{r})$ .

Por lo tanto, se puede calcular la densidad en un sistema de  $N$  electrones interactuantes en un potencial  $v(\mathbf{r})$  reemplazándolo por un sistema no interactuante en un potencial  $v_s(\mathbf{r})$ .

La ecuación de Schrödinger de este sistema auxiliar es

$$\left[ -\frac{\hbar^2 \nabla^2}{2m} + v_s(\mathbf{r}) \right] \phi_i(\mathbf{r}) = \epsilon_i \phi_i(\mathbf{r}), \quad (3.19)$$

y sus orbitales reproducen la densidad  $n(\mathbf{r})$  del sistema original por medio de

$$n(\mathbf{r}) = n_s(\mathbf{r}) = \sum_i^N |\phi_i(\mathbf{r})|^2, \quad (3.20)$$

Las ecuaciones (3.19) y (3.20) son las ecuaciones de Kohn-Sham (KS). Ya que  $v_H$  y  $v_{xc}$  depende de  $n$ , el cual depende de  $\phi_i$ , que a su vez depende de  $v_s$ , el problema de resolver las ecuaciones de K-S no es un problema lineal. La forma convencional de resolver este problema es proponer un  $n(\mathbf{r})$ , calcular el correspondiente  $v_s(\mathbf{r})$ , resolver la ecuación (3.19). De este cálculo se obtiene una nueva densidad usando (3.20) y el proceso comienza de nuevo hasta que converga (diferentes criterios de convergencia pueden ser empleados, tales como comparar la energía, la densidad o algún otro observable).

### 3.4 Conjunto de bases

En lugar de calcular analíticamente los orbitales K-S de la ecuación (3.19), el problema se reduce a representar estos orbitales como una combinación lineal en un conjunto de bases y determinar los coeficientes que acompañan a las funciones base (elementos de un conjunto base).

Los dos tipos de funciones de base más empleados son los orbitales tipo slater (STO) y los orbitales tipo gaussiano (GTO). Los orbitales tipo slater tiene la siguiente forma [39]:

$$\chi_{\xi,n,l,m}(r, \theta, \phi) = N Y_{l,m}(\theta, \phi) r^{n-1} e^{-\xi r} \quad (3.21)$$

Donde  $N$  es una constante de normalización,  $Y_{l,m}$  son las funciones armónicos esféricos y  $\xi$  es el exponente orbital de Slater. Estas funciones son útiles para describir orbitales atómicos ya que presentan ciertas características como decaer proporcionalmente a  $e^{-ar}$  lejos del núcleo; sin embargo en la práctica se emplean las funciones gaussianas por ser mucho más eficientes y simples en el cálculo de integrales. La forma de los orbitales gaussianos es [39]

$$\chi_{\xi,n,l,m}(r, \theta, \phi) = N Y_{l,m}(\theta, \phi) r^{2n-2-l} e^{-\xi r} \quad (3.22)$$

$$\chi_{\xi,l_x,l_y,l_z}^{\xi}(x,y,z) = N x^{l_x} y^{l_y} z^{l_z} e^{-\xi r^2} \quad (3.23)$$

Las ecuaciones (3.22) y (3.23) son, respectivamente, las representaciones en coordenadas esféricas y cartesianas de los GTO. Donde la suma de los números  $l_x$ ,  $l_y$  y  $l_z$  determina el tipo de orbital ( $l_x + l_y + l_z = 1$  es un orbital tipo p).

La anterior definición de GTO en química cuántica se conocen como funciones gaussianas primitivas. Funciones de base que resultan de la combinación lineal de dos o más gaussianas primitivas son usadas frecuentemente, estas se denominan funciones contraídas. Así la notación STO-2G se refiere a que se ha empleado dos gaussianas primitivas para expresar una función de base; STO-3G ha usado

3 gaussianas primitivas y así sucesivamente.

Con el fin de mejorar los cálculos para determinar las propiedades de un sistema, se multiplica el número de funciones de base, es decir, más de una gaussiana contraída es usada por orbital atómico, normalmente esta modificación se hace para los electrones de valencia, así se tienen las bases 3-21 G, 6-31G, 6-311G, etc. Por ejemplo la última notación utiliza 6 gaussianas primitivas para representar los orbitales internos y 3 conjuntos de orbitales contraídos con 3, 1 y 1 gaussianas primitivas.

Para mejorar la calidad de los conjuntos de bases se incluyen otras mejoras tales como:

- Las funciones de polarización, se adicionan orbitales con mayor momento angular que los orbitales de valencia requeridos, de esta forma, se modifica la forma geométrica de las funciones base para describir enlaces químicos en cualquier dirección dada [40]. En este tipo de funciones bases tenemos 3-21G\*, 6-31G\*, 6-31G\*\*, DVP, TZP, cc-pVDZ, cc-pVTZ.
- Las funciones difusas, permiten a los orbitales ocupar un espacio mayor, son importantes porque permiten describir a los electrones muy distantes al núcleo [40], se puede predecir así propiedades de aniones o la formación de puentes de hidrógeno. Ejemplos de estos conjuntos de base son 4-31+G, 6-31+G.

### 3.5 Funcional B3LYP (Becke, 3-parameter, Lee-Yang-Parr.)

B3LYP es un tipo de funcional híbrida desarrollada a finales de los años 80. Esta aproximación trata de resolver el potencial de correlación intercambio  $E_{XC}$  incorporando métodos de aproximación propios de Hartree Fock (H-F) y de la teoría DFT [41].

La forma del funcional B3LYP [42] es:

$$E^{B3LYP} = (1 - a)E_x^{LSDA} + aE_x^{HF} + b\Delta E_x^{B88} + cE_c^{LYP} + (1 - c)E_c^{VWN} \quad (3.24)$$

donde,  $a = 0.20$ ,  $b = 0.72$  y  $c = 0.81$ .  $E_x^{LSDA}$  es la aproximación de correlación-intercambio-densidad-local,  $E_x^{HF}$  es la funcional de intercambio Hartree Fock,  $\Delta E_x^{B88}$  la funcional de corrección intercambio Becke's 1988,  $E_c^{LYP}$  funcional de correlación de gradiente corregida de Lee y  $E_c^{VWN}$  la funcional de correlación de Vosko.

B3LYP es popular por muchas razones, fue uno de los primeros métodos DFT que fue una mejora significativa sobre Hartree-Fock. Es generalmente más rápido que la mayoría de las técnicas post Hartree-Fock y produce resultados comparables. En un nivel más fundamental, no está tan parametrizado como otros híbridos funcionales, teniendo solo 3 donde algunos tienen hasta 26. El paper original de Becke es uno de los artículos más citados de todos los tiempos [43], B3LYP está bien establecido en la literatura, con un gran número de aplicaciones que han sido publicadas empleando este método.

## CAPÍTULO 4:

### ESTUDIO DE LA BASICIDAD (*GB*) Y AFINIDAD PROTÓNICA (*PA*) DE LA HIDROXIBENZOFENONA

#### 4.1 Determinación Experimental

En esta sección se describirá detalladamente como se determinó las cantidades *PA*, *GB* y  $\Delta_p S$  a partir de experimentos realizados en un espectrómetro de masas. Esta parte de la tesis está basada casi enteramente en el método cinético de Cooks (EKCM), por ello, empezaremos detallando este método.

##### 4.1.1 Método Cinético extendido de Cooks (EKCM)

El método cinético extendido de Cooks (EKCM) es una versión mejorada del método cinético original desarrollado por el Prof. Cooks [44]. EKCM toma en cuenta efectos entrópicos en la disociación competitiva del heterodímero catiónico (caso de Basicidad)  $[B \cdot H \cdot B_{\text{ref}(i)}]^+$  generado en fase gaseosa y formado por la muestra en cuestión *B* y un conjunto de compuestos de referencia  $B_{\text{ref}(i)}$  cuyas *PA* y *GB* son conocidas. *B* y  $B_{\text{ref}(i)}$  están unidos por un enlace de Hidrógeno *H* y el heterodímero resultante es fragmentado por Colisión Inducida (CID) [45] en la celda de colisión del espectrómetro de masas, produciendo cationes protonados  $BH^+$  de la muestra y de la referencia  $B_{\text{ref}(i)}H^+$  a través de dos canales competitivos de disociación, con constantes de velocidad *k* y  $k_i$ , respectivamente (Ver Figura 4.1). Si la fragmentación secundaria es despreciable, entonces el cociente de la abundancia de los fragmentos catiónicos es igual al cociente de las correspondientes constantes de velocidad (1era. parte de la ecuación 4.1).

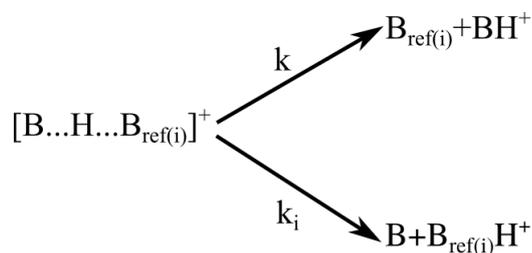


Figura 4.1: Esquema de la disociación del heterodímero  $[B \cdot H \cdot B_{\text{ref}(i)}]^+$

Asumiendo que no existen barreras de activación reversibles, la afinidad protónica *PA* de la muestra estudiada *B* y de las referencias  $PA_{\text{ref}(i)}$  están relacionadas por la ecuación lineal (4.1), donde el procedimiento estadístico considerado fue desarrollado por Armentrout [46], y queda expresada como

sigue,

$$\begin{aligned} \ln\left(\frac{k}{k_i}\right) &= \ln \frac{[\text{BH}^+]}{[\text{B}_{\text{ref}(i)}\text{H}^+]} \\ &= -\frac{(PA_{\text{ref}(i)} - PA_{\text{ref}}^{\text{avg}})}{RT_{\text{eff}}} + \left[ \frac{(PA - PA_{\text{ref}}^{\text{avg}})}{RT_{\text{eff}}} - \frac{\Delta(\Delta S^0)}{R} \right] \end{aligned} \quad (4.1)$$

donde  $PA_{\text{ref}}^{\text{avg}}$  es el promedio de la afinidad protónica de los compuestos de referencia;  $T_{\text{eff}}$  es una temperatura efectiva relacionada con la energía de excitación disociativa de los heterodímeros  $[\text{B}\cdot\text{H}\cdot\text{B}_{\text{ref}(i)}]^+$  [47] y  $R$  es la constante universal de gases. El término entrópico  $\Delta(\Delta S^0)$  puede ser expresado como la diferencia de las entropías de dos bases,  $\Delta(\Delta S^0) \simeq \Delta_p S^0 - \Delta_p S_{\text{ref}(i)}^0$ . Si los compuestos de referencia tienen entropías de protonación similares a la del compuesto B, entonces  $\Delta(\Delta S^0) \simeq \Delta_p S^0 - \Delta_p S_{\text{ref}}^{\text{avg}}$  [48]. Tenemos 3 variables desconocidas en la ecuación (4.1) ( $PA$ ,  $RT_{\text{eff}}$  y  $\Delta_p S^0$ ). Estas magnitudes se pueden obtener a partir del análisis de dos conjuntos de gráficos termocinéticos. El primer conjunto lo constituye gráficos lineales de  $\ln(k/k_i)$  vs  $(PA_{\text{ref}(i)} - PA_{\text{ref}}^{\text{avg}})$  construidos a partir de datos experimentales obtenidos de la fragmentación de los heterodímeros  $[\text{B}\cdot\text{H}\cdot\text{B}_{\text{ref}(i)}]^+$  a distintas energías de colisión  $E_{\text{CM}}$ . Teniendo en cuenta la expresión completa (4.1), a cada recta le podemos asociar una pendiente igual a  $-1/RT_{\text{eff}}$  y un punto de corte con el eje-Y igual a la expresión final entre corchetes. Estos últimos valores (corte eje-Y) se representan en función de aquellos que corresponden a  $1/RT_{\text{eff}}$  para obtener el 2do. gráfico termocinético, el cual está asociado a la expresión entre corchetes de (4.1). El ajuste lineal de esta representación, nos proporciona una pendiente igual a  $(PA - PA_{\text{ref}}^{\text{avg}})$ , y un punto corte con el eje-Y igual a  $-\Delta(\Delta S^0)/R$ . Por otra parte, la basicidad  $GB$  de la especie estudiada se deriva de la ecuación  $GB = PA - T(\Delta_p S^0)$  donde  $T = 298.15$  K, es la temperatura de referencia (25 °C).

## 4.2 Detalles experimentales

Ahora que ya tenemos definido el método que emplearemos para determinar las cantidades termodinámicas que caracterizan a la protonación en fase gaseosa, delinearemos el experimento llevado a cabo. Los experimentos se llevaron a cabo en un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (MS-TQ) Agilent/Varian 320 equipado con una fuente de ionización por electrospray (ESI). Para generar el dímero  $[\text{B}\cdot\text{H}\cdot\text{B}_{\text{ref}}]^+$  se preparó una solución del compuesto estudiado B y la referencia elegida  $\text{B}_{\text{ref}(i)}$  en una mezcla 1:1 de disolventes agua/acetonitrilo hasta alcanzar una concentración final de  $\sim 5 \times 10^{-5}$  M. A esta disolución también se agregó menos de 2  $\mu\text{L}$  de ácido fórmico para facilitar la formación del dímero  $[\text{B}\cdot\text{H}\cdot\text{B}_{\text{ref}}]^+$ . Las disoluciones así formadas se inyectaron directamente a la fuente ESI del espectrómetro, con velocidades de flujo de 10  $\mu\text{L}/\text{min}$ . Las condiciones de ESI, tales como potenciales de aguja y capilar, presión y temperatura de gas  $\text{N}_2$  de secado o desolvatación, fueron optimizados hasta promover la formación de picos-MS intensos del dímero  $[\text{B}\cdot\text{H}\cdot\text{B}_{\text{ref}}]^+$ . Estos fueron aislados en el 1er cuadrupolo (Q1), luego se fragmentaron en el 2do cuadrupolo (Q2) y los fragmentos catiónicos se detectaron y registraron en el 3er cuadrupolo (Q3). Los experimentos de fragmentación CID MS-MS se realizaron usando argón como gas de colisión (0.2 mTorr) a varias energías de colisión  $E_{\text{CM}}$ , las cuales son energías cinéticas del centro de masas calculadas como,  $E_{\text{CM}}$

=  $E_{\text{lab}}[m/(M+m)]$ , donde  $E_{\text{lab}}$  es la energía cinética medible directamente en el espectrómetro, m es la masa del argón y M es la masa del heterodímero catiónico.

#### 4.2.1 Compuestos de referencia empleados. Condiciones Experimentales

Los compuestos 2-, 3-, y 4- hidroxibenzofenonas (B= **2**, **3** y **4**) fueron adquiridas a la compañía Sigma-Aldrich. Los compuestos de referencia  $B_{\text{ref}(i)}$  empleados para los experimentos EKCM fueron adquiridos a Sigma-Aldrich y Alfa-Aesar:  $B_{\text{ref}(i)}$  = 3- y 4-cloroanilina, 1,2,3- y 1,2,4-triazol, pirazol, ciclopropilamina, allilamina y 1-butanamida. Estos compuestos se eligieron teniendo en cuenta la proximidad entre sí de sus afinidades protónicas -cuyos valores son conocidos [49]- a los estimados para los compuestos estudiados y están en un rango de  $868.1 \pm 8.4$  a  $921.5 \pm 8.4$  kJ/mol.

Ahora, pasaremos a especificar los compuestos de referencia usados para cada isómero de hidroxibenzofenona, así como las condiciones experimentales a las que fueron sometidos. Para 2- y 3-hidroxibenzofenona se emplearon los mismos compuestos de referencia.

Tabla 4.1: Cantidades termodinámicas de los compuestos de referencia en fase gaseosa usados para determinar la basicidad de **2** y **3**.

	Referencias	GB (KJ/mol)	PA (KJ/mol)	$\Delta_p S^0 (J/mol.K)$
Ref 1	3-chloroaniline	$836.3 \pm 8.4$	$868.1 \pm 8.4$	$106.3 \pm 8.4$
Ref 2	4-chloroaniline	$842.0 \pm 8.4$	$873.8 \pm 8.4$	$106.7 \pm 8.4$
Ref 3	1,2,3-triazole	$847.4 \pm 8.4$	$879.3 \pm 8.4$	$107.0 \pm 8.4$
Ref 4	1,2,4-triazole	$855.9 \pm 8.4$	$886.0 \pm 8.4$	$100.7 \pm 8.4$
Ref 5	Cyclopropylamine	$860.5 \pm 8.4$	$894.1 \pm 8.4$	$112.7 \pm 8.4$
Ref 6	Pyrazole	$869.9 \pm 8.4$	$904.7 \pm 8.4$	$116.7 \pm 8.4$
	Promedio	$852.0 \pm 8.4^e$	$884.3 \pm 8.4^e$	$108.3 \pm 8.4^e$
	Desv. Estándar	12.4	13.5	5.5
	Desv. t-student <sup>b</sup>	11.9	11.9	11.9
	Armentrout prom. <sup>c</sup>	852	884.3	108.4
	Armentrout Desv. <sup>d</sup>	11.76	11.76	11.76

Tabla 4.2: Cantidades termodinámicas de los compuestos de referencia en fase gaseosa usados para determinar la basicidad de **4**

	Referencias	GB (KJ/mol)	PA (KJ/mol)	$\Delta_p S^0$ (J/mol.K)
Ref 1	1,2,3-triazole	847.4 ± 8.4	879.3 ± 8.4	106.9 ± 8.4
Ref 2	1,2,4-triazole	855.9 ± 8.4	886.0 ± 8.4	100.7 ± 8.4
Ref 3	Pyrazole	860.5 ± 8.4	894.1 ± 8.4	112.7 ± 8.4
Ref 4	Allylamine	875.5 ± 8.4	909.5 ± 8.4	114.0 ± 8.4
Ref 5	1-butanamide	886.8 ± 8.4	921.5 ± 8.4	116.6 ± 8.4
	Promedio	865.2 ± 8.4 <sup>e</sup>	898.1 ± 8.4 <sup>e</sup>	110.2 ± 8.4 <sup>e</sup>
	Desv. Estándar	15.8	17.3	6.4
	Desv. t-student <sup>b</sup>	18.7	18.7	18.7
	Armentrout prom. <sup>c</sup>	859.8	892.2	108.6
	Armentrout Desv. <sup>d</sup>	11.76	11.76	11.76

<sup>a</sup> Tomado de NIST Chemistry Webbook, NIST Standard Reference Database, <http://webbook.nist.gov>

<sup>b</sup> 95% de confianza

<sup>c,d</sup> Tomado de [1]

<sup>e</sup> Se asume una incertidumbre de ± 8.4 J/mol.K (or 2 cal/mol.K).

Ahora detallaremos las condiciones experimentales para cada compuesto de referencia

Tabla 4.3: Condiciones experimentales específicas de las referencias usadas para determinar PA en **2** y **3**, los valores en **negrita** pertenecen a 2- Hidroxibenzofenona mientras los valores en *cursiva* a 3- Hidroxibenzofenona

Referencia	Gas nebulizante		Gas seco		
	Presión psi		Temperatura ° C		
Ref 1	3-chloroaniline	<b>30</b>	<i>25</i>	<b>250</b>	<i>200</i>
Ref 2	4-chloroaniline	<b>15</b>	<i>25</i>	<b>130</b>	<i>200</i>
Ref 3	1,2,3-triazole	<b>20</b>	<i>20</i>	<b>100</b>	<i>250</i>
Ref 4	1,2,4-triazole	<b>15</b>	<i>15</i>	<b>200</b>	<i>250</i>
Ref 5	Pyrazole	<b>10</b>	<i>15</i>	<b>100</b>	<i>200</i>
Ref 6	Cyclopropylamine	<b>10</b>	<i>30</i>	<b>200</b>	<i>300</i>

Tabla 4.4: Condiciones experimentales específicas de las referencias usadas para determinar *PA* en **4**

	Referencia	Gas nebulizante	Gas seco
		Presión psi	Temperatura ° C
Ref 1	1,2,3 triazol	12	100
Ref 2	1,2,4-triazol	15	150
Ref 3	Pirazol	10	200
Ref 4	Allylamina	15	200
Ref 5	1-butanamide	15	200

### 4.3 Análisis EKCM. Afinidad Protónica *PA* y Basicidad *GB* experimentales

Como se vió líneas arribas, tanto para **2** como para **3**, se usaron seis compuestos de referencia con *PA*s en un rango de 868.1 a 904.7 KJ/mol: 3- y 4-cloroanilina, 1,2,3- y 1,2,4-triazol, pirazol y ciclopropilamina. Mientras para **4**, se usaron cinco referencias en un rango de 879.3 a 921.5 KJ/mol: 1,2,3- y 1,2,4-triazol, pirazol y allilamina y 1-butanamida. La intensidad de los picos asociados con los fragmentos catiónicos obtenidos por CID-MS fueron registrados a 9 energías de colisión  $E_{CM}$ , en un rango entre 0.75 y 2.75 eV. El primer conjunto de datos termocinéticos  $\ln\left(\frac{[BH^+]}{[B_{ref}H^+]}\right)$  vs  $(PA_{ref(i)} - PA_{ref(i)}^{avg})$  se representa en la Figura 4.2 para los 3 isómeros de hidroxibenzofenona.  $PA_{ref(i)}^{avg}$ , el valor promedio de las afinidades protónicas de los compuestos de referencia usadas para **2** y **3** es  $884.3 \pm 8.4$  kJ/mol; mientras para **4** es  $898.1 \pm 8.4$  kJ/mol. Los resultados obtenidos para la afinidad protónica *PA* y la entropía de protonación  $\Delta_p S^0$  de los compuestos estudiados fueron obtenidos del ajuste lineal del 2do conjunto de datos termocinéticos, el cual es generado a partir de los valores de puntos de corte con el eje Y y el negativo de las pendientes (igual a  $1/RT_{eff}$ ) obtenidas en el 1er conjunto de datos termocinéticos (Figura 4.2). La Tabla 4.5 incluye los resultados termoquímicos deducidos.

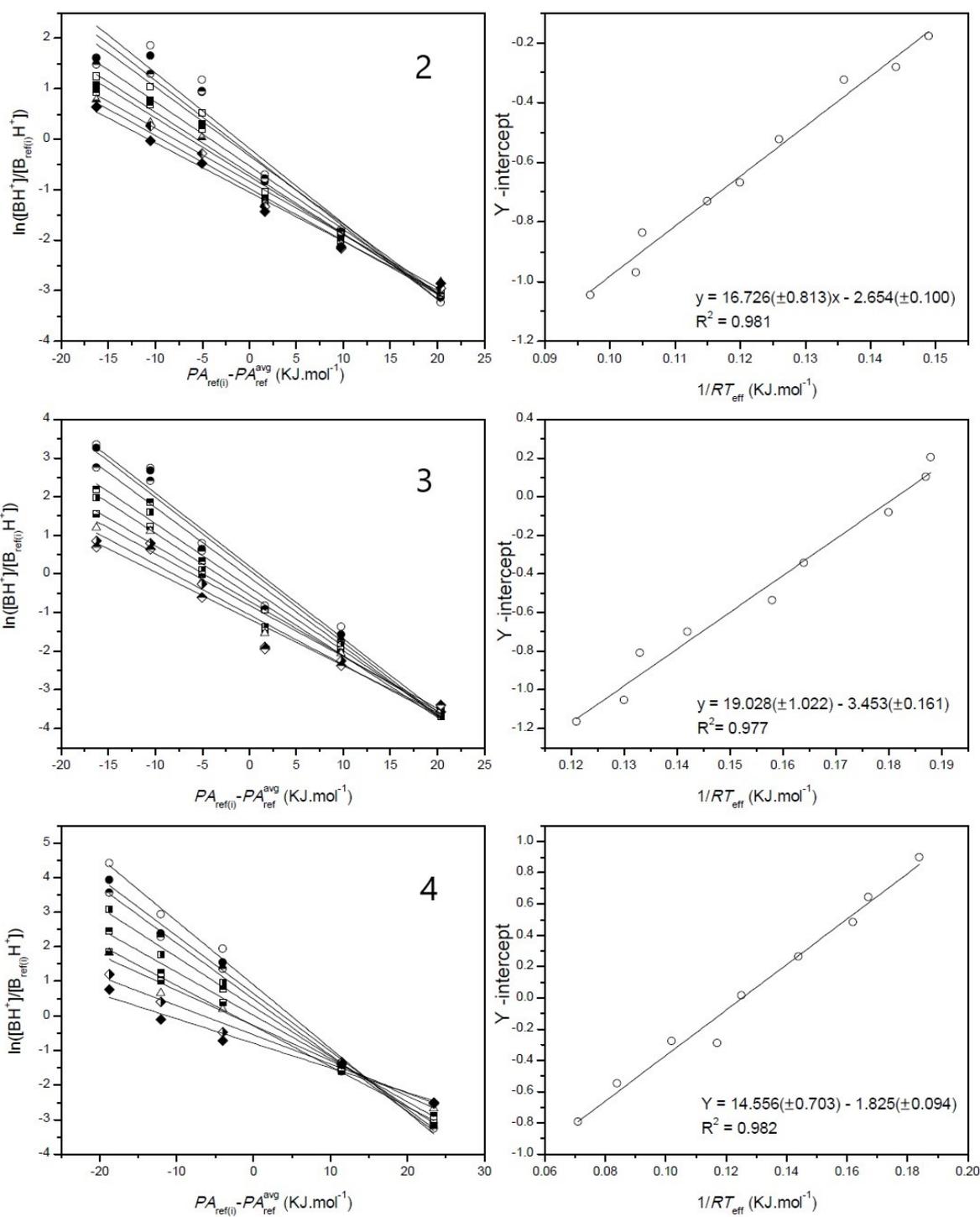


Figura 4.2: Conjunto de gráficos termocinéticos de 2-hidroxibenzofenona, 3-hidroxibenzofenona y 4-hidroxibenzofenona (de arriba hacia abajo). (Izda.) 1er. conjunto,  $\ln[BH^+]/[B_{ref(i)}H^+]$  vs  $(PA_{ref(i)} - PA_{ref}^{avg})$  (Derecha) 2do. conjunto, corte-eje Y vs  $1/RT_{eff}$

Tabla 4.5: Valores de Afinidad Protónica  $PA$ , Basicidad  $GB$  y entropía de protonación  $\Delta_p S^0$  experimentales (EKCM).

	$PA$ (kJ/mol)	$GB$ (kJ/mol) <sup>a</sup>	$\Delta_p S^0$ (J.mol <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup> )
<b>2</b> (2-hidroxibenzofenona)	901.1 ± 8.4	862.2 ± 8.4	130.4 ± 8.4
<b>3</b> (3-hidroxibenzofenona)	903.4 ± 8.4	862.5 ± 8.4	137.0 ± 8.4
<b>4</b> (4-hidroxibenzofenona)	912.6 ± 8.4	875.3 ± 8.4	125.4 ± 8.4

<sup>a</sup> Deducido a partir de la relación  $GB = PA - T(\Delta_p S^0)$  con  $T = 298.15$  K

## 4.4 Análisis estructural de isómeros neutros y protonados

Las hidroxibenzofenonas están caracterizadas por la presencia de un grupo carbonilo ( $>C=O$ ) unido a dos anillos aromáticos: bencénico y fenólico. Estos compuestos presentan conformeros estables vía rotación de sus grupos aromáticos (rotámeros)[13] y las geometrías de los mismos quedan bien definidas por los ángulos diedros  $\omega = D(O_{14}-C_1-C_2-C_3)$ , que describe la rotación del anillo fenólico alrededor del enlace  $C_2-C_1(O)$ , y  $\phi = D(O_{14}-C_1-C_8-C_9)$ , la rotación del anillo bencénico alrededor del enlace  $C_8-C_1(O)$ . La Figura 4.3 muestra los rotámeros más estables tanto de las hidroxibenzofenonas neutras ( $2_a$ ,  $3_a$ , y  $4_a$ ) como de las protonadas ( $2_aH^+$ ,  $3_aH^+$  y  $4_aH^+$ ). Estas últimas se forman por protonación en el grupo carbonilo.

Entre las características conformacionales que observamos en cada especie podemos mencionar:

$2_a$  tiene estructura quelatada, esto es incluye un enlace de hidrógeno  $[OH \cdots O(C)]$  que proporciona a la molécula una considerable estabilidad termodinámica y tiene abundancia relativa de más del 99 % de la población conformacional [13]. Su forma protonada  $2_aH^+$  también es quelatada, con una abundancia similar a la neutra. Respecto de  $2_a$ , la forma protonada  $2_aH^+$  presenta marcadas diferencias geométricas, debido a la acumulación de carga positiva en el carbonilo protonado  $>C=OH^+$ ; en el cual se aprecia un incremento de  $\sim 0.09$  Å en el enlace  $C-O$ , y  $\sim 6^\circ$  en el ángulo de los enlaces que unen los anillos aromáticos, estos últimos enlaces sufren un acortamiento de  $\sim 0.05$  Å.

$3_a$  representa casi el 50% de la población conformacional [13], en cambio su forma protonada  $3_aH^+$  aproximadamente un 29% y sus variaciones geométricas respecto de la neutra son similares a las encontradas para  $2_a$  y  $2_aH^+$ .

$4_a$  tiene dos conformeros energéticamente similares [13]. Su forma protonada más estable  $4_aH^+$  representa casi el 51% de la población conformacional, con variaciones geométricas también similares a los encontrados en los casos anteriores.

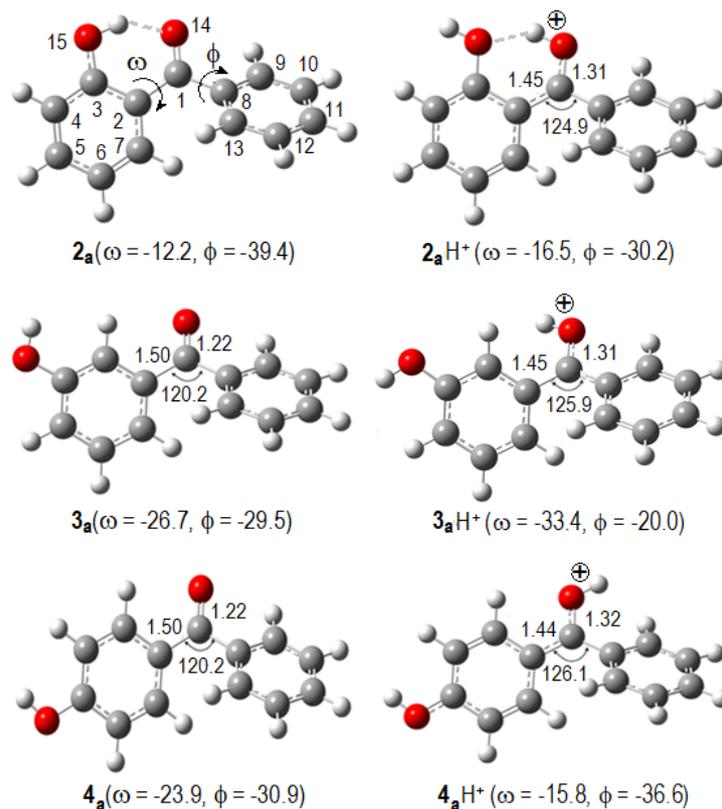


Figura 4.3: Geometrías de rotámeros neutros  $2_a$ ,  $3_a$  y  $4_a$  (Izq.) y protonados  $2_aH^+$ ,  $3_aH^+$  y  $4_aH^+$  (Derecha) más estables, optimizadas al nivel B3LYP/6-311++G(d,p). Distancias en Å y ángulos en grados.

## 4.5 Determinación de la Afinidad Protónica vía DFT

Para obtener las cantidades termodinámicas  $PA$ ,  $GB$  y  $\Delta_p S^0$  a partir de cálculos mecano-cuánticos se hizo uso del programa Gaussian 09 [29], implementándolos en el clúster LADON del IQFR-Madrid. Las geometrías de los compuestos estudiados, tanto neutros como protonados, y de sus correspondientes conforméromos (rotámeros) se optimizaron usando el funcional DFT, B3LYP [50] con base 6-311++G(d,p). Las frecuencias vibracionales también se determinaron a este mismo nivel de cálculo.

### 4.5.1 Metodología

Los pasos que se siguieron para calcular  $PA$ ,  $GB$  y  $\Delta_p S^0$  usando DFT son:

1. Análisis conformacional, todos los conforméromos o rotámeros fueron optimizados y analizados tanto para los compuestos neutros como protonados, cuando la optimización finalizó se extrajeron los valores de entalpía  $H_{298}$  y Energía de Gibbs  $G_{298}$  para cada especie (Ver Anexos tabla 7.1.).
2. A partir de los valores de  $G_{298}$  de cada conforméromo se calculó la población porcentual de cada

uno de ellos. Los valores de  $G$  y  $H$  utilizados para el cálculo de  $PA$  y  $GB$  son las medias ponderadas (Tabla 4.6).

- Con los valores promedio de  $G$  y  $H$  y la ecuación que define la protonación (1.1) se calculó  $PA$  y  $GB$ ; y a partir de  $GB = PA - T(\Delta_p S^0)$  con  $T = 298.15$  K se determinó  $\Delta_p S^0$ .

Las Figuras 4.4, 4.5 y 4.6 muestran todos los rotámeros tanto de las hidroxibenzofenonas neutras (**2**, **3**, y **4**) como de las protonadas ( $2H^+$ ,  $3H^+$  y  $4H^+$ ). La tabla 4.7 muestra los valores de  $PA$  y  $GB$  calculados vía DFT además de los valores determinados experimentalmente con el fin de analizar la consistencia de los mismos.

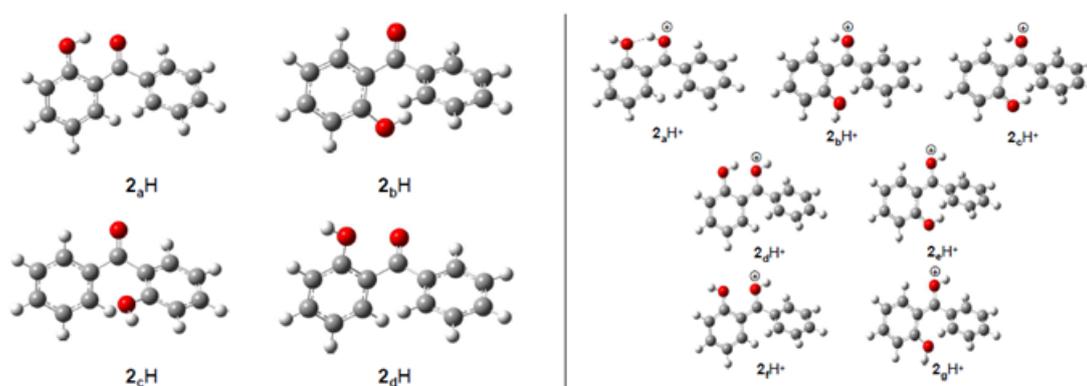


Figura 4.4: Geometría de los rotámeros neutros (izquierda) y protonados (derecha) de la 2-Hidroxibenzofenona.

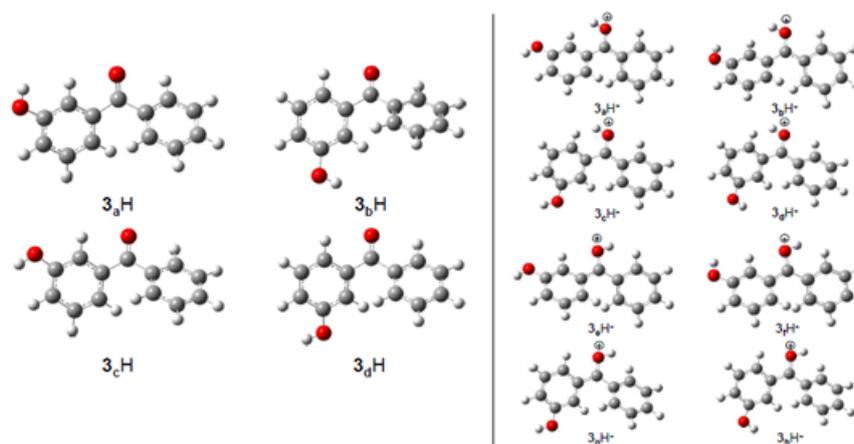


Figura 4.5: Geometría de los rotámeros neutros (izquierda) y protonados (derecha) de la 3-Hidroxibenzofenona.

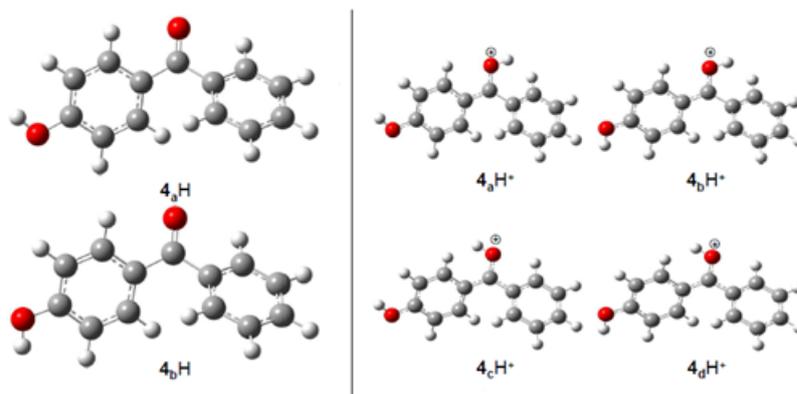


Figura 4.6: Geometría de los rotámeros neutros (izquierda) y protonados (derecha) de la 4-Hidroxibenzofenona.

Tabla 4.6: Valores promedio de Entalpía ( $H_{prom}$ ) y Energía de Gibbs ( $G_{prom}$ ) para las especies neutras y protonadas de las Hidroxibenzofenonas estudiadas vía DFT

	$H_{prom}$ (Hartree)	$G_{prom}$ (Hartree)
<b>2</b>	-651.832	-651.883
<b>2H<sup>+</sup></b>	-652.173	-652.224
<b>3</b>	-651.822	-651.874
<b>3H<sup>+</sup></b>	-652.163	-652.214
<b>4</b>	-651.823	-651.875
<b>4H<sup>+</sup></b>	-652.171	-652.223

Tabla 4.7: Valores de Afinidad Protónica  $PA$ , Basicidad  $GB$  y entropía de protonación  $\Delta_p S^0$  experimentales (EKCM). Entre paréntesis, valores calculados<sup>a</sup>

	$PA$ (kJ/mol)	$GB$ (kJ/mol) <sup>b</sup>	$\Delta_p S^0$ (J.mol <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup> )
<b>2</b> (2-hidroxibenzofenona)	901.1 ± 8.4 (899.8) <sup>a</sup>	862.2 ± 8.4 (868.2)	130.4 ± 8.4 (106.1)
<b>3</b> (3-hidroxibenzofenona)	903.4 ± 8.4 (901.1)	862.5 ± 8.4 (867.5)	137.0 ± 8.4 (108.2)
<b>4</b> (4-hidroxibenzofenona)	912.6 ± 8.4 (919.9)	875.3 ± 8.4 (886.2)	125.4 ± 8.4 (110.5)

<sup>a</sup> A nivel B3LYP/6-311++G(d,p). <sup>b</sup> Deducido a partir de la relación  $GB = PA - T(\Delta_p S^0)$  con  $T = 298.15$  K

Como se puede apreciar los valores experimentales de  $PA$ ,  $GB$  y  $\Delta_p S^0$  son próximos a los calculados teóricamente usando el funcional DFT, B3LYP/6-311++G(d,p), particularmente para los isómeros **2** y **3**. Podemos establecer la relación  $PA(\mathbf{2}) \leq PA(\mathbf{3}) < PA(\mathbf{4})$ , resultado que nos indica la mayor reactividad protónica de **4** comparada a la de los otros isómeros; estos últimos prácticamente tienen

la misma reactividad aunque la pequeña diferencia encontrada estaría relacionada con la mayor estabilidad termodinámica de **2** [13], por la presencia en este isómero de un enlace de hidrógeno. Por otra parte, encontramos también que las hidroxibenzofenonas tienen mayor afinidad protónica que la benzofenona ( $PA = 882.3 \text{ kJ/mol}$ ) [51].

## CAPÍTULO 5:

# ESTUDIO DE LA FRAGMENTACIÓN DE LA HIDROXIBENZOFENONA PROTONADA

## 5.1 Detalles Experimentales

La metodología usada para los experimentos de fragmentación por CID fue similar, excepto la presencia de compuestos de referencia, a la usada para determinar la protonación de los isómeros estudiados. Los parámetros de control del espectrómetro TQ-MS fueron optimizados para maximizar la intensidad de los cationes  $2\text{H}^+$ ,  $3\text{H}^+$  y  $4\text{H}^+$ . Cada uno de estos fueron aislados en el primer cuadrupolo Q1 luego se fragmentaron -mediante CID- en el 2do cuadrupolo Q2 y finalmente los fragmentos formados se analizaron en el 3er cuadrupolo Q3. Los experimentos CID fueron realizados usando argón (0.8 mTorr) como gas de colisión, variando los voltajes de tal manera que las energías de fragmentación  $E_{CM}$  fueron entre 2 y 10 eV en el marco de referencia del centro de masas del sistema. La tasa final de los fragmentos generados representa un promedio de 200 mediciones reproducibles.

## 5.2 Análisis Experimental

Como se indicó en la Sec. 4.4, **2**, **3** y **4** se protonan en su grupo carbonilo  $>\text{C}=\text{O}$  [52] y una vez protonadas ( $2_a\text{H}^+$ ,  $3_a\text{H}^+$  y  $4_a\text{H}^+$ ) se identifican con un pico en 199.1 m/z (catión padre) en sus espectros de masas. La fragmentación CID de los mismos produce dos fragmentos catiónicos identificados en los picos 105 y 121 m/z del correspondiente espectro de masas (Figuras 5.1, 5.2 Y 5.3) cuyas intensidades aumentan conforme se incrementa la energía de disociación.

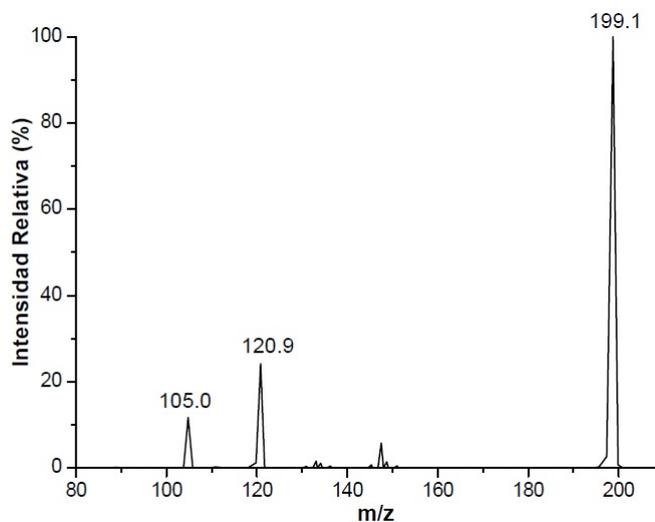


Figura 5.1: Espectro de masas típico del isómero **2** fragmentado a una energía  $E_{CM} = 1.66$  eV.

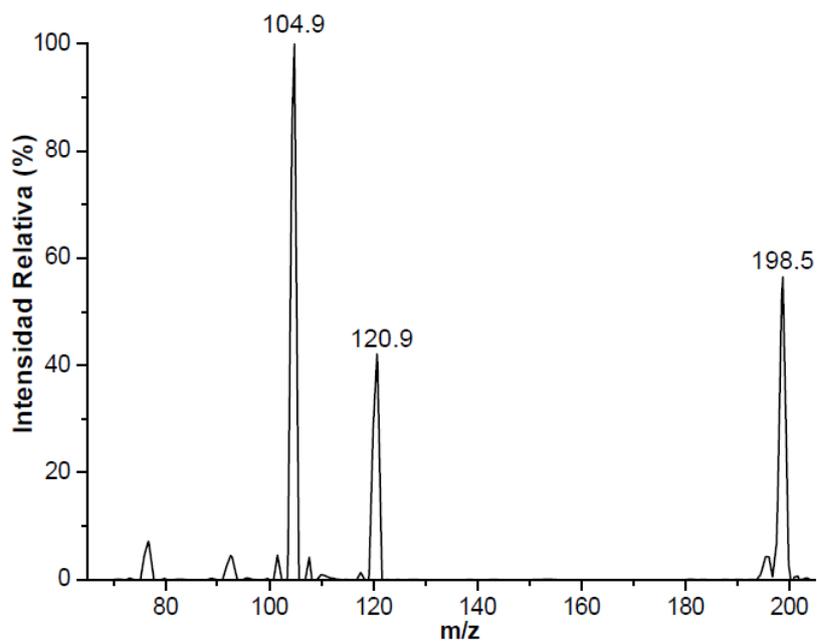


Figura 5.2: Espectro de masas típico del isómero **3** fragmentado a una energía  $E_{CM}= 3.35$  eV.

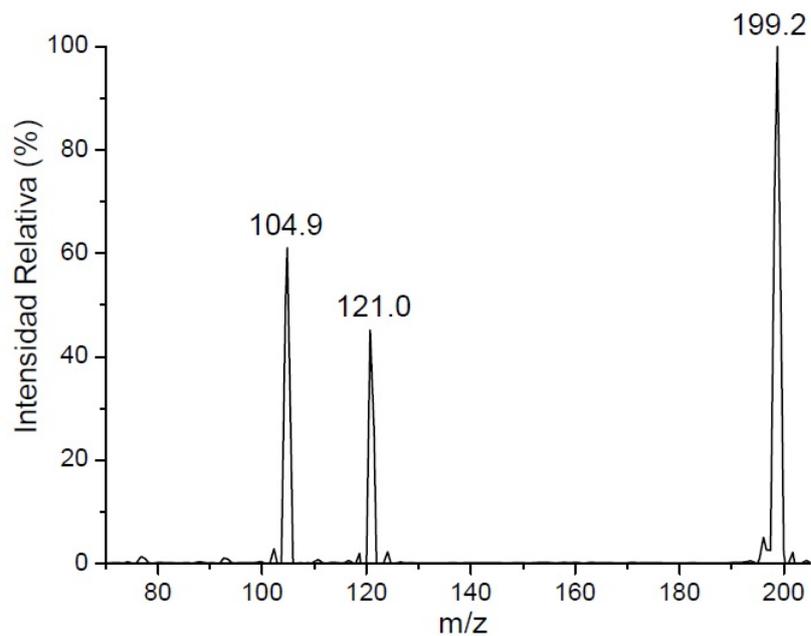


Figura 5.3: Espectro de masas típico del isómero **4** fragmentado a una energía  $E_{CM}= 2.49$ eV.

Como se mencionó líneas arriba existen dos canales competitivos de fragmentación CID, los cuales están esquematizados en la Figura 5.4. El primer canal de disociación (I) produce el catión  $C_7OH_5^+$  (105 m/z) y una molécula neutra de fenol; el 2do canal (II) produce el catión  $C_7O_2H_5^+$  (121 m/z) y una molécula neutra de benceno. La proporción de intensidades de los picos asociados a estos cationes forma un patrón CID característico como se puede observar en la Figura 5.5

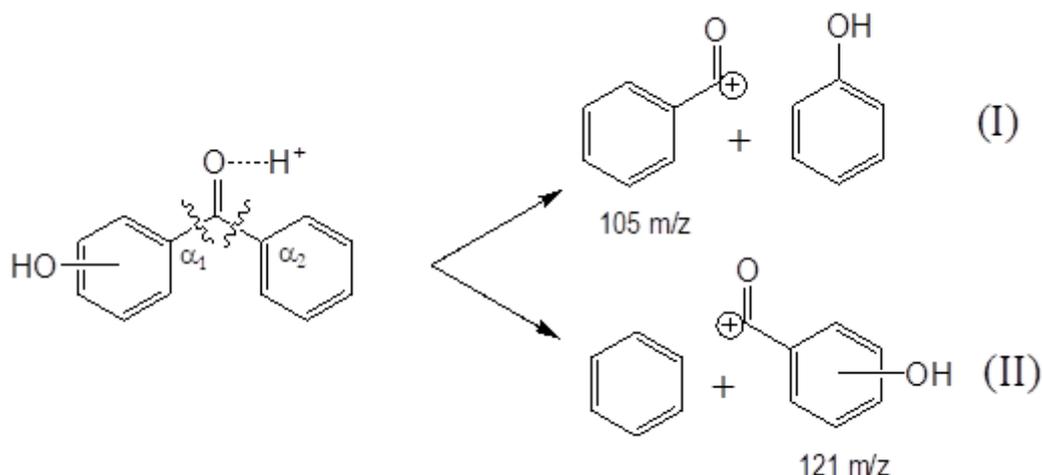


Figura 5.4: Diagrama de la fragmentación de los isómeros de hidroxibenzofenonas.

Teniendo en cuenta el “modelo del protón libre” podemos notar que dependiendo hacia cuál de los carbonos  $C_{\alpha_1}$  o  $C_{\alpha_2}$  de los anillos de benceno migre el protón, tendrá lugar uno de los dos posibles caminos de fragmentación. Los experimentos CID de las hidroxibenzofenonas protonadas  $2H^+$ ,  $3H^+$  y  $4H^+$  variando las energías de fragmentación  $E_{CM}$ , muestran claramente la formación de ambos fragmentos (105 y 121 m/z) con tasas de formación casi independientes de  $E_{CM}$  (Fig. 5.5 y tabla 5.1). Podemos deducir de los patrones de fragmentación que la ruta de fragmentación (II) es la preferida en la fragmentación del isómero  $2H^+$ , mientras la ruta (I) es la preferida para  $3H^+$ . En el caso de  $4H^+$  ambas rutas compiten casi con la misma probabilidad.

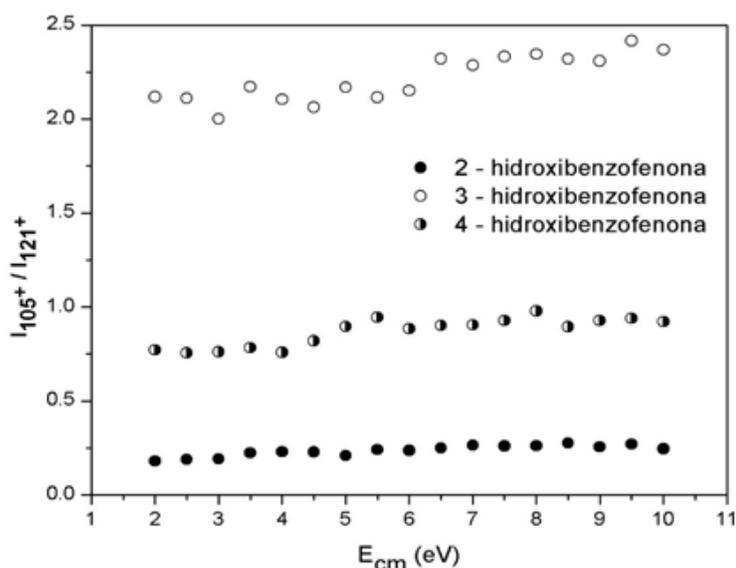


Figura 5.5: Patrón de fragmentación CID de isómeros 2-, 3- y 4-hidroxibenzofenonas protonadas.

Tabla 5.1: Tasas promedio entre la intensidad de formación de los cationes 105 m/z y 121 m/z ( $I_{105}^+/I_{121}^+$ ) para los diferentes isómeros

	$I_{105}^+/I_{121}^+$ de los isómeros de Hidroxibenzofenona		
	2-Hidroxibenzofenona	3-Hidroxibenzofenona	4-Hidroxibenzofenona
Promedio	0.22	2.16	0.84
Desv. Estand.	0.04	0.18	0.10

### 5.3 Método Computacional

Terminada la parte experimental, se usaron cálculos computacionales para contrastar resultados. Aquí los detalles del método empleado.

Los cálculos mecano-cuánticos se llevaron a cabo en el cluster LADON del IQFR, usando el programa Gaussian 09. Las geometrías de los isómeros estudiados se optimizaron usando la teoría de funcional de densidad B3LYP (Becke 3 parameter and the Lee, Yang, Parr) con una base 6-311++G(d,p) sin restricciones de simetría. Las frecuencias armónicas fueron además calculadas al mismo nivel sin aplicar escala alguna. Las estructuras de los estados de transición (TS) se optimizaron también al nivel B3LYP/6-311++G(d,p), usando la metodología QST2 [53] donde las estructuras de transición conectan las estructuras conocidas de los reactantes y los productos. Los TSs están caracterizados por la presencia de una frecuencia imaginaria. Los niveles de teoría empleados en este trabajo se consideran adecuados debido a que proporcionan resultados consistentes con los obtenidos experimentalmente [52].

### 5.4 Análisis energético

A través de cálculos computacionales empleando la teoría DFT se optimizaron las geometrías de los diferentes conformeros (rotámeros) para cada especie de hidroxibenzofenona. En la Figura 5.6 se muestra la geometría de los rotámeros más estables de  $2H^+$ ,  $3H^+$  y  $4H^+$ , en esta figura también se puede apreciar que el lugar donde ocurre la protonación es el oxígeno del grupo carbonilo, confirmando la teoría. Los rotámeros  $2_aH^+$ ,  $3_aH^+$  y  $4_aH^+$  representan respectivamente casi el 99.9%, 29 % y 51 % de sus correspondientes poblaciones conformacionales. Es importante notar que el protón en  $2_aH^+$  forma un enlace de hidrógeno en su componente fenólica, esta propiedad lo excluiría de su comportamiento de “protón-libre” y como veremos más adelante condicionaría su mecanismo de fragmentación. Por otro lado, los rotámeros de  $3H^+$  y  $4H^+$  (y los demás rotámeros  $2H^+$ ) no presentan esta particularidad.

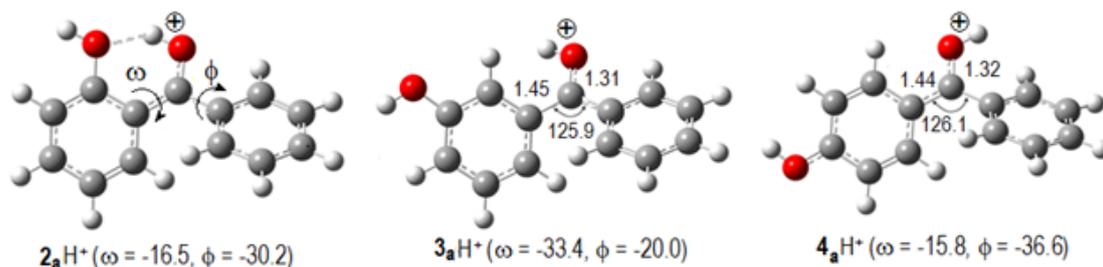


Figura 5.6: Rotámeros más estables de las hidroxibenzofenonas protonadas,  $2H^+$ ,  $3H^+$  y  $4H^+$ . Los ángulos en grados y distancias en Å.

Líneas arriba habíamos dicho que a pesar de que el lugar termodinámicamente más favorable para la protonación es el oxígeno del grupo carbonilo, el comportamiento de la fragmentación hace suponer que el protón migra desde su sitio preferente a alguno de los carbonos  $\alpha$ . Esta suposición es respaldada al analizar el espectro vibracional calculado vía DFT de los estados de transición TS de los diferentes conformeros para cada isómero estudiado. Los modos de vibración de las frecuencias imaginarias de los TS muestran como el protón enlazado inicialmente en el oxígeno del grupo C=O se traslada a alguno de los carbonos alfa. (Figura 5.7). El TS es un estado intermedio entre el estado inicial y final de la fragmentación y observando el comportamiento del modo con frecuencia imaginaria podemos deducir que el enlace entre  $C_\alpha$  y el carbono del grupo C=O se romperá siguiendo una de las posibles rutas descritas anteriormente.

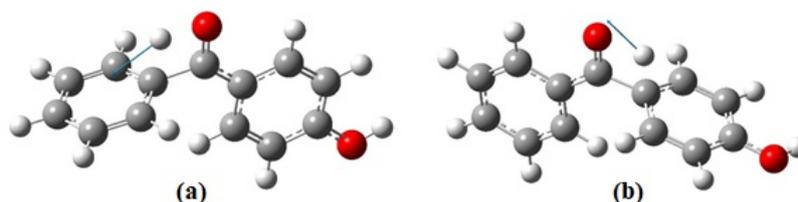


Figura 5.7: Dos diferentes TS para  $4H^+$ , la flecha azul indica el vector desplazamiento de las frecuencias imaginarias. Esta flecha indica, en el caso (a) que la molécula se rompe generando los fragmentos benceno y el catión 121 m/z y en el caso (b) los fragmentos fenol y el catión 105 m/z.

A continuación a través de los valores energéticos obtenidos vía DFT se pudo construir las diferentes rutas energéticas que conectan los rotámeros con los dos productos de la reacción de fragmentación para cada isómero.

**Descripción para entender las imágenes de niveles de energía:** En las tres gráficas siguientes, las cuales representan las rutas energéticas de la fragmentación de los diferentes conformeros protonados de hidroxibenzofenona, cada rotámero está denotado con el sub-índice  $i = a, b, c, d, \dots, g$ , siendo los rotámeros  $2_aH$ ,  $3_aH$  y  $4_aH$  las especies con mayor porcentaje poblacional y los de menor energía (a partir de los cuales se miden los demás niveles de energía). Los niveles TS representan los estados de transición los cuales eventualmente están conectados hacia alguno de los dos estados finales  $105^+$  o  $121^+$ . Los niveles denotados con dos letras p.e. a-b representan estados de transición entre dos

rotámeros diferentes. No todas las transiciones tienen el mismo peso estadístico por esta razón la transición más importantes está resaltada en color rojo.

**Fragmentación de  $2H^+$ :** En la Figura 5.8 se muestra los posibles caminos de fragmentación de  $2H^+$ . El protón del rotámero más estable  $2_aH^+$  está orientado hacia  $C_{1\alpha}$  (grupo fenólico) pero su fragmentación siguiendo la ruta (I) tendría que superar una elevada barrera energética con un estado de transición  $TS_{1a}$  de 327.3 kJ/mol. Esta barrera se ve incrementada por la presencia del puente de hidrógeno antes descrita. En consecuencia, la fragmentación directa de  $2_aH^+$  estaría mermada en favor de la formación de los otros rotámeros de  $2H^+$  previo paso de TSs entre 12 y 58 kJ/mol. Admitiendo que  $2_aH^+$  sufre este proceso de isomerización con “re-equilibrio” poblacional; entonces los rotámeros con los “protones libres” orientados hacia  $C_{1\alpha}$  y que seguirían la ruta (I) de fragmentación representarían aprox. el 15 % de la población conformacional. La proporción de éstos respecto de aquellos que seguirían la ruta (II) sería  $r = 0.18$ , un valor consistente con los resultados experimentales obtenidos (Figura 5.5).

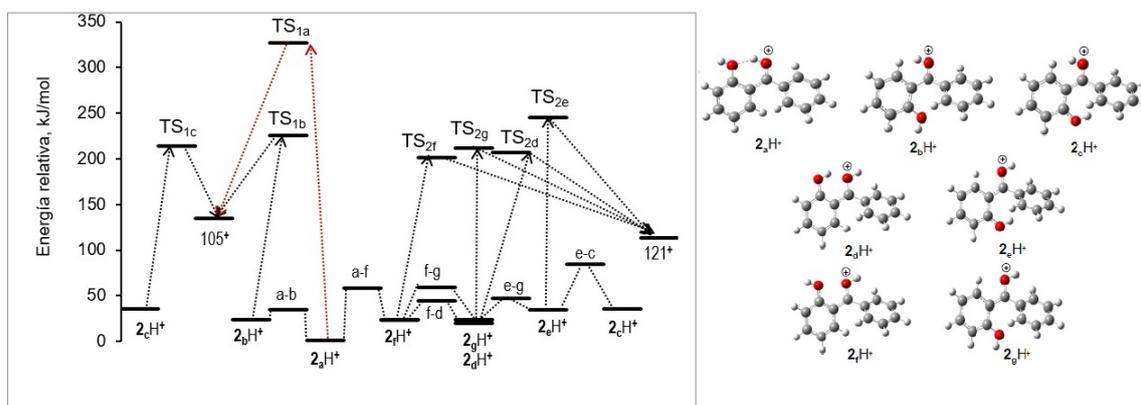


Figura 5.8: Diagrama de energías mostrando rutas de fragmentación de los rotámeros (derecha)  $2_kH^+$  ( $k=a,b, \dots g$ ). Estados de transición: (i-k) del rotámero  $2_iH^+$  al  $2_kH^+$ ;  $TS_{nk}$  ( $n=1,2$ ) previo a la fragmentación.

**Fragmentación de  $3H^+$**  (Figura 5.9): Los rotámeros de  $3H^+$  (incluido el más estable,  $3_aH^+$ ) con el protón orientado hacia el  $C_{\alpha 1}$  representan el 65.5 % de la población conformacional y dado que éstos son “protones-libres” seguirían la ruta de fragmentación (I) superando barreras energéticas con TSs entre 172 y 177 kJ/mol. Los rotámeros con el protón orientado hacia el  $C_{\alpha 2}$  (grupo bencénico) representan el 34.5 % y seguirían la ruta (II) superando barreras con TSs entre 200 y 203 kJ/mol. Como se puede apreciar, los rotámeros que siguen la ruta (I) representan casi el doble de los que siguen la ruta (II) y además se ven favorecidos de superar barreras de casi 30 kJ/mol menos energéticas que estos últimos. Los mecanismos que se describen para la fragmentación de  $3H^+$  reproducen muy bien los resultados experimentales obtenidos (Fig.5.5).

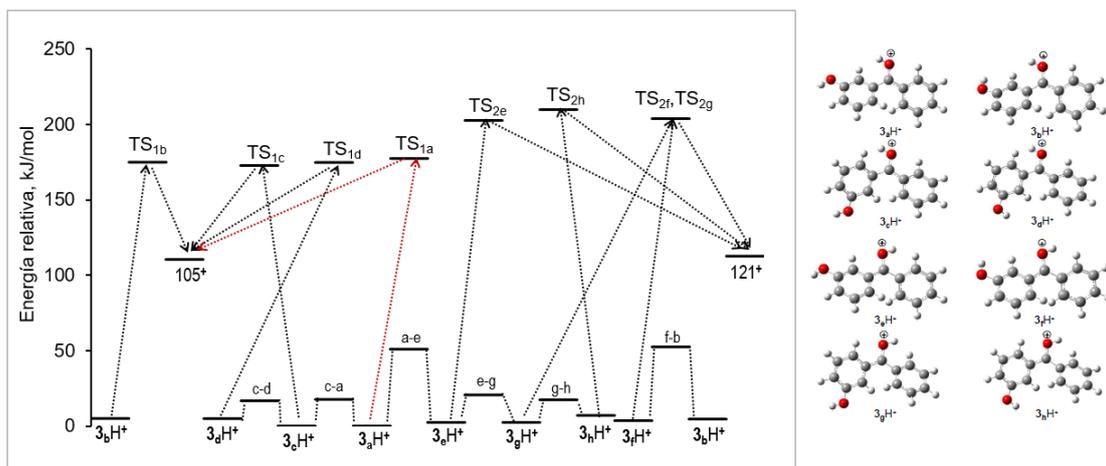


Figura 5.9: Diagrama de energías mostrando rutas de fragmentación de los rotámeros (derecha)  $3_k\text{H}^+$  ( $k=a,b, \dots g$ ). Estados de transición: (i-k) del rotámero  $3_i\text{H}^+$  al  $3_k\text{H}^+$ ;  $\text{TS}_{nk}$  ( $n=1,2$ ) previo a la fragmentación.

**Fragmentación de  $4\text{H}^+$**  (Figura 5.10): Los rotámeros de  $4\text{H}^+$  (incluido el más estable,  $4_a\text{H}^+$ ) con el protón orientado hacia el  $\text{C}_{\alpha 2}$  representan el 91.5 % de la población conformacional y dado que éstos también son “protones-libres” seguirían la ruta de fragmentación (II) superando barreras energéticas con TSs de aprox. 207 kJ/mol. Los rotámeros con el protón orientado hacia el  $\text{C}_{\alpha 1}$ , que seguirían la ruta (I), aunque representan tan solo el 8.5 % de la población se verían compensadas, respecto de las más abundantes, dado que las barreras que deben superar son casi 16 kJ/mol menos energéticas.

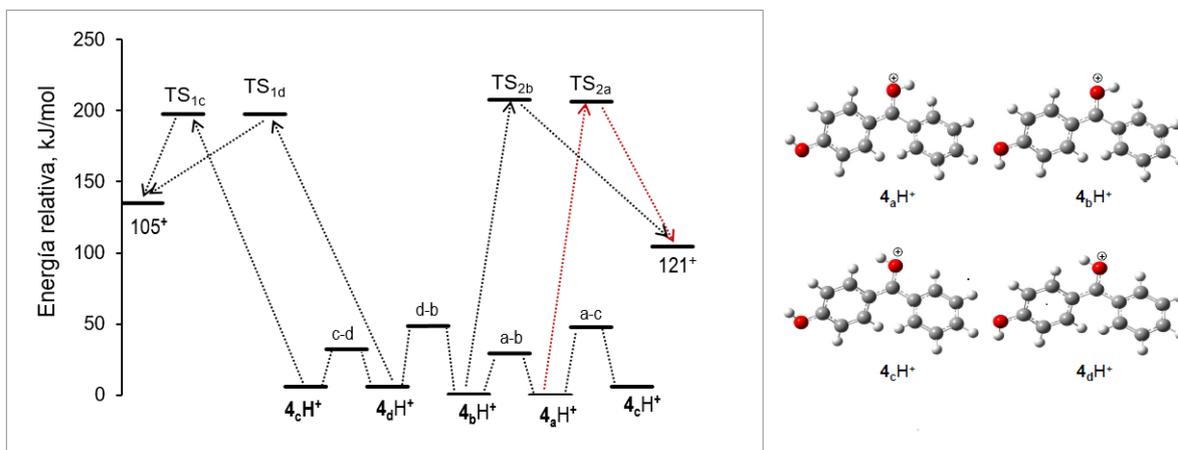


Figura 5.10: Diagrama de energías mostrando rutas de fragmentación de los rotámeros (derecha)  $4_k\text{H}^+$  ( $k=a,b, \dots g$ ). Estados de transición: (i-k) del rotámero  $4_i\text{H}^+$  al  $4_k\text{H}^+$ ;  $\text{TS}_{nk}$  ( $n=1,2$ ) previo a la fragmentación.

## CAPÍTULO 6:

### CONCLUSIONES

1. En esta tesis se estudió la protonación, en fase gaseosa, de los isómeros 2-, 3- y 4- hidroxibenzofenonas (denotadas como **2**, **3** y **4** respectivamente). Los resultados experimentales, obtenidos aplicando el método EKCM en un espectrómetro de masas con fuente ESI, permitieron determinar la afinidad protónica  $PA$ , basicidad  $GB$  y la entropía de protonación  $\Delta_p S^0$  de estos isómeros; cuyas geometrías (incluidas las de sus formas protonadas), fueron analizadas mediante cálculos DFT mecánico cuánticos con el funcional B3LYP y base 6-311++G(d,p). El nivel de cálculo utilizado muestra una buena concordancia teórico-experimental de los resultados obtenidos.
2. Encontramos que las afinidades protónicas, en kJ/mol, determinadas guardan la relación,  $PA(\mathbf{2}) = 901.1 \pm 8.4 \leq PA(\mathbf{3}) = 903.4 \pm 8.4 < PA(\mathbf{4}) = 908.8 \pm 8.4$ , que refleja la mayor afinidad protónica del isómero **4** respecto de los isómeros **2** y **3**.
3. Los mecanismos de fragmentación dilucidados mediante cálculos DFT indican que los isómeros de hidroxibenzofenonas protonadas fragmentan cuando el protón se traslada desde su sitio preferente hacia alguno de los carbonos  $C_\alpha$  dentro de la molécula. Resultado que confirma la teoría del “modelo de protón libre”. Cada isómero protonado presenta una particular tasa de formación de los fragmentos  $C_7OH_5^+$  (105 m/z) y  $C_7O_2H_5^+$  (121 m/z) (patrón de fragmentación).
4. Los patrones de fragmentación de los isómeros estudiados, dependen de la naturaleza de los mismos e involucran barreras de activación características al isómero en cuestión. Esta particularidad permite un análisis isomérico con caracterización inequívoca del isómero analizado.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Khanum, S. A.; Venu, T. D.; Shashikanth, S.; Firdouse, A. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, 14, 5351-5355.
- [2] Suzuki, T.; Kitamura, S.; Khota, R.; Sugihara, K.; Fujimoto, N.; Ohta, S. *Toxicol Appl Pharmacol.* **2005**, 203, 9-17.
- [3] Prabhakar, B.T.; Khanum, S. A.; Jayashree, K.; Salimath, B. P.; Shashikanth, S. *Bioorganic Med. Chem.* **2006**, 14, 435-446.
- [4] Dobashi, Y.; Kondou, J.; Ohkatsu, Y. *Polym. Degrad. Stab.* **2005**, 89, 140-144.
- [5] Ashton, L.; Johannessen, C.; Goodacre, R. *Anal. Chem.* **2011**, 83, 7978-7983.
- [6] Marharyta, P.; Shannon, S.; Emil, A. *Curr. Pharm. Des.* **2013**, 19, 4182-4190.
- [7] Jansen, B.; Ros, P. *Theor. Chim. Acta* **1971**, 21, 199-204.
- [8] Cox, K. A.; Gaskell, S. J.; Morris, M.; Whitting, A. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **1996**, 6, 552-531.
- [9] Chai, Y.; Hu, N.; Pan, Y. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2013**, 24, 1097-1101.
- [10] Charles, C. L. *Acc. Chem. Res.* **1989**, 22, 268-275.
- [11] Lin, H.; Ridge, D. P.; Uggerud, E.; Vulpius, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 2996-3004.
- [12] Mueller, D. R.; Eckersley, M.; Richter, W. J. *Org. Mass. Spectrom.* **1988**, 23, 217-222.
- [13] Dávalos, J. Z.; Guerrero, A.; Herrero, R.; Jiménez, P.; Chana, A.; Abboud, J. L. M.; Lima, C. F. R. A. C.; Santos, L. M. N. B. F.; Lago, A. F. *J. Org. Chem.* **2010**, 75, 2564-2571.
- [14] Downard, K. *Mass spectrometry: a foundation course*, Royal Society of Chemistry, 2007.
- [15] Zhang, Z.; Smith, D. L. *Protein Sci.* **1993**, 2, 522-531.
- [16] Schmidt, C. M.; Savara, A.; Weitz, E.; Geiger, F. M. *J. Phys. Chem. C* **2007**, 111, 8260-8267.
- [17] Ifa, D. R.; Gumaelius, L.; Eberlin, L.; Manicke, N.; Cooks, R. *Analyst* **2007**, 132, 461-467.
- [18] Carr, S. A.; Abbatiello, S. E.; Ackermann, B. L.; Borchers, C.; Domon, B.; Deutsch, E. W.; Grant, R. P.; Hoofnagle, A. N.; Huttenhain, R.; Koomen, J. M. *Mol. Cell. Proteomics* **2014**, 13, 907-917.
- [19] De Hoffmann, E.; Stroobant, V. *Mass spectrometry: principles and applications*, 3rd Edn.; John Wiley & Sons, **2007**.
- [20] Smith, R. M. *Understanding mass spectra: a basic approach*. John Wiley & Sons, 2004.
- [21] Rohner, T. C.; Lion, N.; Girault, H. H. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, 6, 3056-3068.
- [22] Jennings, K. R. *Int. J. Mass Spectrom.* **1968**, 1, 227-235.
- [23] Dávalos, J. Z.; Gonzalez, J.; Guerrero, A.; Hnyk, D.; Holub, J., Oliva, J. M. *J. Phys. Chem. C* **2013**, 117, 1495-1501.
- [24] Guerrero, A.; Baer, T.; Chana, A.; Gonzalez, J.; Dávalos, J. Z. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 9681-9690.
- [25] Baer, T.; Guerrero, A.; Dávalos, J. Z.; Bodi, A. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, 13, 17791-17801.
- [26] Levsen, K.; Schwarz, H. *Mass Spectrom. Rev.* **1983**, 2, 77-148.
- [27] Shukla, A. K.; Futrell, J. H. *Mass Spectrom. Rev.* **1993**, 12, 211-255.
- [28] Holland, J. F.; Enke, C. G.; Allison, J.; Stults, J. T.; Pinkston, J. D.; Newcome, B.; Watson, J. T.

- Anal. Chem.* **1983**, 9, 997-1012.
- [29] Frisch, M. J. y col. Gaussian 09, Revision A.01 Wallingford CT, 2009.
- [30] Sholl, D. S.; Steckel, J. A. *What is density functional theory?* Wiley Online Library, 2009.
- [31] Capelle, K. *A bird's-eye view of density-functional theory*, 2002.
- [32] Griffiths, D. J. *Introduction to quantum mechanics*, Cambridge University Press, 2016.
- [33] Hohenberg, P.; Kohn, W. *Phys. Rev.* **1964**, 136, B864.
- [34] Brunt, B. V. *The calculus of variations*, Springer, 2005.
- [35] March, N. H. *Adv. Phys.* **1957**, 6, 1-101.
- [36] Gunnarsson, O.; Lundqvist, B. I. *Phys. Rev. B* **1976**, 13, 4274.
- [37] Kohn, W.; Sham L. J. *Phys. Rev.* **1965**, 140, A1133.
- [38] Sham, L. J.; Schluter, M. *Phys. Rev. Lett.* **1983**, 51, 1888.
- [39] Foresman, J. B.; Frisch, A. *Exploring chemistry with electronic structure methods: a guide to using Gaussian*, Second Edn.; Gaussian, Inc., 1996.
- [40] Szabo, A.; Ostlund, N. S. *Modern quantum chemistry: introduction to advanced electronic structure theory*, Courier Corporation, 2012.
- [41] Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1993**, 98, 5648-5652.
- [42] Rauk, A. *Orbital interaction theory of organic chemistry*, Second Edn.; John Wiley & Sons, 2004.
- [43] Noorden, R. V.; Maher, B.; Nuzzo R. *Nature News* **2014**, 514, 550-553.
- [44] Cooks, R. G.; Wong, P. S. H. *Acc. Chem. Res.* **1998**, 31, 379-386.
- [45] Cody, R. B.; Burnier, R. C.; Freiser, B. S. *Anal. Chem.* **1982**, 54, 96-101.
- [46] Armentrout, P. B. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2000**, 11, 371-379.
- [47] Ervin, K. M. *Int. J. Mass Spectrom.* **2000**, 195, 271-284.
- [48] Ren, J.; Tan, J. P.; Harper, R. T. *J. Phys. Chem.* **2009**, 113, 10903-10912.
- [49] Linstrom, P. J.; Mallard, P. G.; Eds. NIST Chemistry Webbook, NIST Standard Reference Database Number 69, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg MD, 20899.
- [50] Lee, C.; Yang, W.; Parr, R. G. *Phys. Rev. B* **1988**, 37, 785-789.
- [51] Taft, R. W.; Topsom, R. D. *The Nature and Analysis of Substituent Electronic Effects. Progress in Physical Organic Chemistry: John Wiley and Sons, Inc., 1987; Vol. 16; pp 1.*
- [52] Benoit, F. M.; Harrison, A. G. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 3980-3984.
- [53] Jensen, A. *Theor. Chem. Acc.* **1983**, 63, 269-290.

## ANEXOS

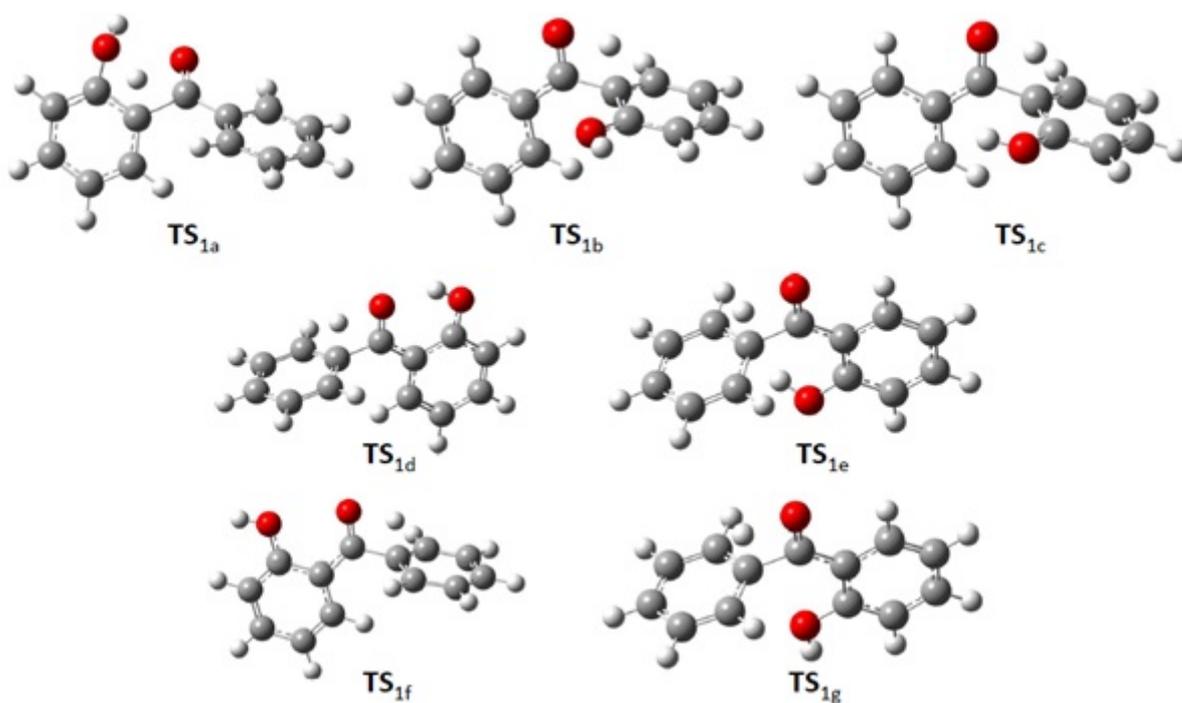


Figura 6.1: Geometría de los estados de transición  $TS_{ik}$  para la fragmentación de  $2H^+$ . El subíndice  $i=1,2$  hace referencia al canal de fragmentación I y II, mientras  $k=a,b,c,\dots$  al rotámero que se fragmenta.

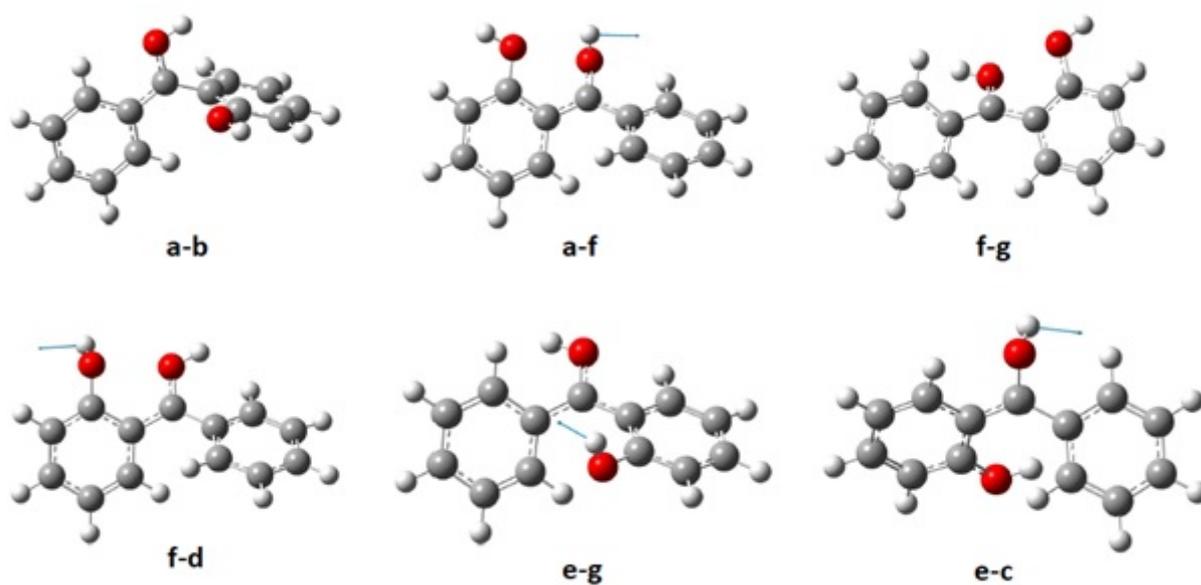


Figura 6.2: Geometría de los estados de transición que conectan dos rotámeros diferentes de  $2H^+$ , denotados como  $i-j$ , con  $i,j= a,b,c,d \dots$  haciendo referencia a los diferentes conformeros de  $2H^+$ . En algunos casos se muestra una flecha azul que indica como este estado de transición se desplaza a su estado final.

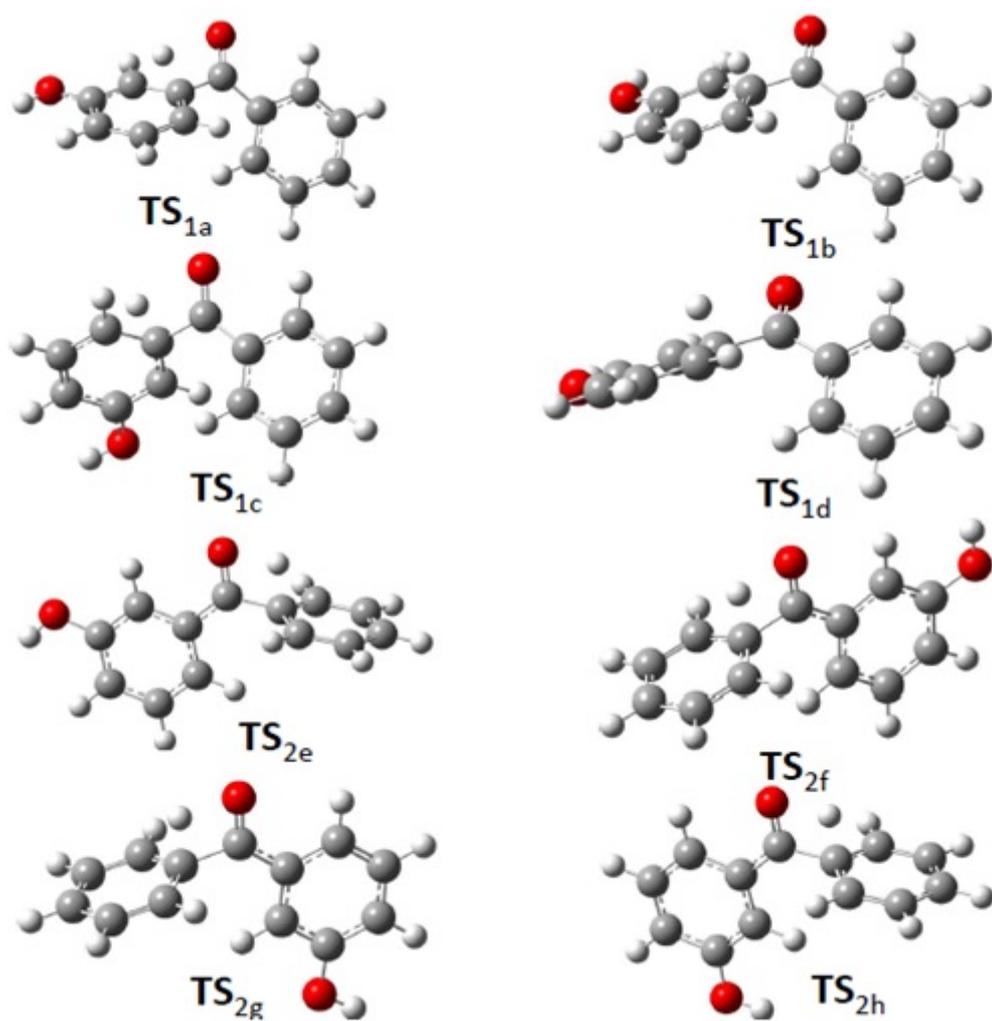


Figura 6.3: Geometría de los estados de transición  $TS_{ik}$  para la fragmentación de  $3H^+$ . El subíndice  $i=1,2$  hace referencia al canal de fragmentación I y II, mientras  $k=a,b,c,\dots$  al rotámero que se fragmenta.

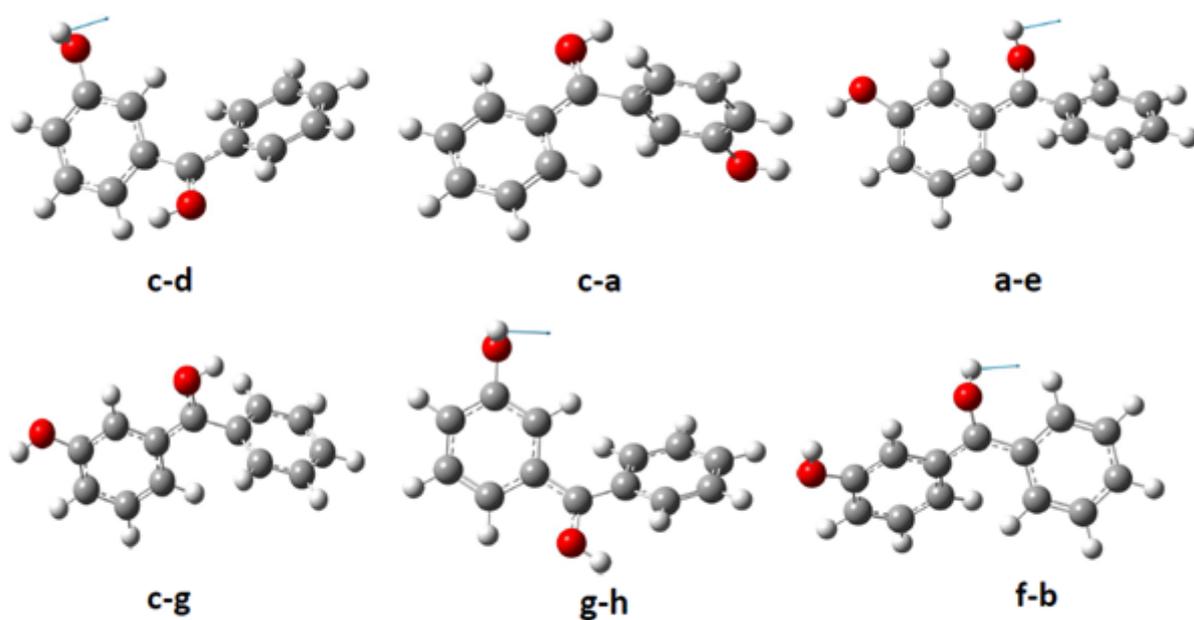


Figura 6.4: Geometría de los estados de transición que conectan dos rotámeros diferentes de  $3\text{H}^+$ , denotados como  $i-j$ , con  $i,j= a,b,c,d, \dots$  haciendo referencia a los diferentes conforméros de  $3\text{H}^+$ . En algunos casos se muestra una flecha azul que indica como este estado de transición se desplaza a su estado final.

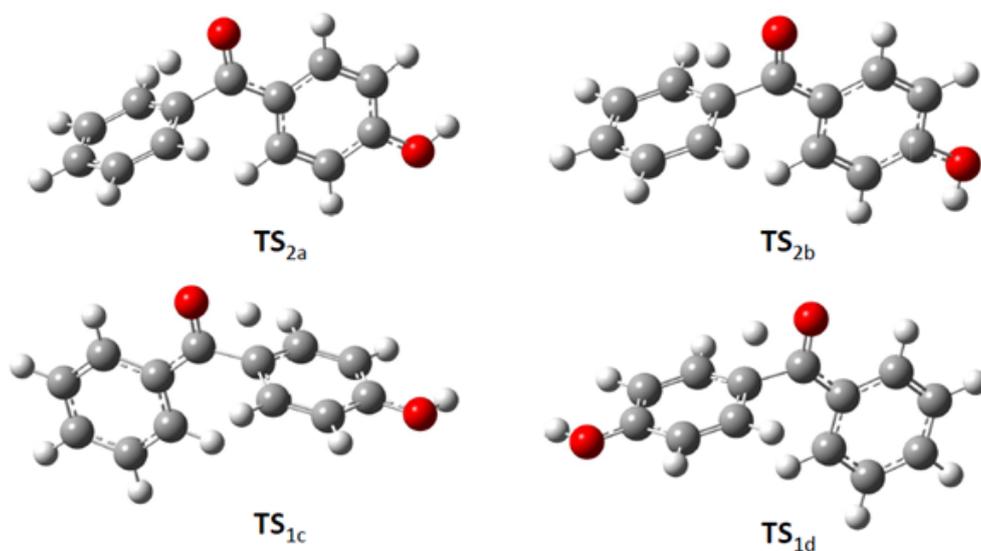


Figura 6.5: Geometría de los estados de transición  $\text{TS}_{ik}$  para la fragmentación de la  $4\text{H}^+$ . El subíndice  $i=1,2$  hace referencia al canal de fragmentación I y II, mientras  $k=a,b,c,\dots$  al rotámero que se fragmenta.

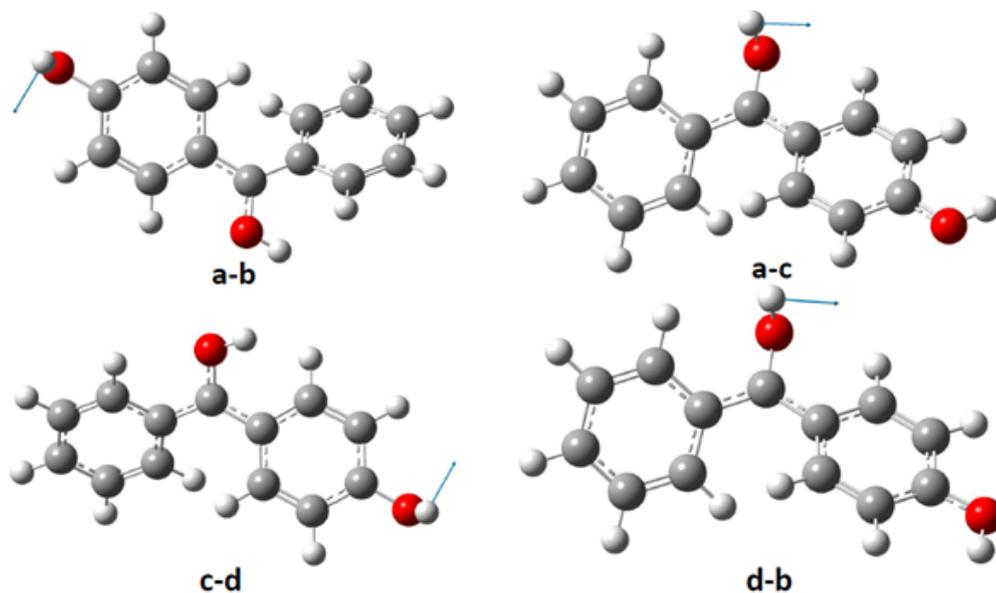


Figura 6.6: Geometría de los estados de transición que conectan dos rotámeros diferentes de  $4H^+$ , denotados como  $i-j$ , con  $i,j= a,b,c,d, \dots$  haciendo referencia a los diferentes conformeros de  $4H^+$ . En algunos casos se muestra una flecha azul que indica como este estado de transición se desplaza a su estado final.

		Entalpía (Ha)	Energía de Gibbs (Ha)	Población (%)	
<b>2- Hidroxibenzofenona</b>	Neutros	$2_a\text{H}$	-651.832449	-651.883250	99.99877
		$2_b\text{H}$	-651.820632	-651.872365	0.00099
		$2_c\text{H}$	-651.818357	-651.870868	0.00020
		$2_d\text{H}$	-651.816542	-651.869384	0.00004
		Promedio	-651.832449	-651.883250	
	Protonados	$2_a\text{H}^+$	-652.171914	-652.223025	99.92140
		$2_b\text{H}^+$	-652.162798	-652.214481	0.01175
		$2_c\text{H}^+$	-652.158367	-652.209823	0.00008
		$2_d\text{H}^+$	-652.164452	-652.215594	0.03817
		$2_e\text{H}^+$	-652.158661	-652.210290	0.00014
		$2_f\text{H}^+$	-652.163095	-652.214747	0.01557
$2_g\text{H}^+$		-652.162907	-652.214579	0.01303	
	Promedio	-652.172812	-652.223924		
<b>3- Hidroxibenzofenona</b>	Neutros	$3_a\text{H}$	-651.822631	-651.874772	49.46273
		$3_b\text{H}$	-651.821541	-651.873784	17.37195
		$3_c\text{H}$	-651.821395	-651.873648	15.04165
		$3_d\text{H}$	-651.821552	-651.873824	18.12368
		Promedio	-651.822060	-651.874259	
	Protonados	$3_a\text{H}^+$	-652.163462	-652.215201	28.90296
		$3_b\text{H}^+$	-652.161620	-652.213397	4.27754
		$3_c\text{H}^+$	-652.163396	-652.215170	27.96944
		$3_d\text{H}^+$	-652.161588	-652.213387	4.23248
		$3_e\text{H}^+$	-652.162612	-652.214445	12.97839
		$3_f\text{H}^+$	-652.162155	-652.213921	7.45088
		$3_g\text{H}^+$	-652.162632	-652.214388	12.21810
		$3_h\text{H}^+$	-652.160869	-652.212665	1.97021
		Promedio	-652.162925	-652.214696	
<b>4- Hidroxibenzofenona</b>	Neutros	$4_a\text{H}$	-651.823772	-651.875854	55.48501
		$4_b\text{H}$	-651.823565	-651.875646	44.51499
		Promedio	-651.823680	-651.875761	
	Protonados	$4_a\text{H}^+$	-652.171982	-652.223602	50.69183
		$4_b\text{H}^+$	-652.171763	-652.223397	40.79890
		$4_c\text{H}^+$	-652.169650	-652.221192	3.94876
		$4_d\text{H}^+$	-652.169794	-652.221328	4.56052
	Promedio	-652.171701	-652.223319		

Tabla 6.1: Valores de entalpía, energía de Gibbs (ambos en Hartree) y porcentaje poblacional de los isómeros neutros y protonados de las hidroxibenzofenonas 2-, 3- y 4- usando cálculos computacionales vía DFT con la funcional B3LYP/6-311 ++G(d,p).

			Energía (KJ/mol)
<b>2- Hidroxibenzofenona</b>	T.S. ruta I	TS <sub>1a</sub>	327.3
		TS <sub>1b</sub>	201.5
		TS <sub>1c</sub>	213.8
	T.S. ruta II	TS <sub>2d</sub>	206.7
		TS <sub>2e</sub>	245.2
		TS <sub>2f</sub>	225.4
		TS <sub>2g</sub>	212.3
	Estados de transición entre conformeros	a-b	34.9
		a-f	58.3
		f-g	59.4
		f-d	44.2
		e-g	47.2
		e-c	84.5
	Productos	105	134.8
121		113.9	
<b>3- Hidroxibenzofenona</b>	T.S. ruta I	TS <sub>1a</sub>	177.3
		TS <sub>1b</sub>	174.7
		TS <sub>1c</sub>	172.6
		TS <sub>1d</sub>	174.7
	T.S. ruta II	TS <sub>2e</sub>	202.6
		TS <sub>2f</sub>	203.6
		TS <sub>2g</sub>	203.6
		TS <sub>2h</sub>	209.7
	Estados de transición entre conformeros	c-d	16.6
		c-a	17.8
		a-e	50.8
		e-g	20.8
		g-h	17.2
		f-b	52.3
Productos	105	110.4	
	121	112.6	
<b>4- Hidroxibenzofenona</b>	T.S. ruta I	TS <sub>2a</sub>	206.6
		TS <sub>2b</sub>	207.5
	T.S. ruta II	TS <sub>1c</sub>	197.5
		TS <sub>1d</sub>	197.5
	Estados de transición entre conformeros	a-b	29.2
		a-c	47.4
		c-d	31.9
		d-b	48.3
	Productos	105	135
		121	104.5

Tabla 6.2: Niveles de energía de los estados de transición (TS<sub>nk</sub>) para la fragmentación de los isómeros **2**, **3** y **4** usando cálculos computacionales vía DFT con la funcional B3LYP/6-311 ++G(d,p). Donde n= 1,2 denota si el estado pertenece a la ruta I ó II de fragmentación y k=a,b,c,... el conformero que se fragmenta. Estados de transición: (i-k) conectan dos rotámeros. Los niveles están medidos respecto al nivel **2<sub>a</sub>H<sup>+</sup>**, **3<sub>a</sub>H<sup>+</sup>** y **4<sub>a</sub>H<sup>+</sup>** para cada cada isómero respectivamente.