

**ESTUDIOS TEÓRICO Y EXPERIMENTAL PARA EVALUAR LA
RELACIÓN ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE-ESTRUCTURA DE
ANILINAS SINTÉTICAS Y LA ALQUILACIÓN INTRAMOLECULAR
DE FRIEDEL-CRAFTS DE ORTO-ALIL-N-BENCILANILINAS**

GEOVANNA TAFURT GARCÍA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS, ESCUELA DE QUÍMICA
LABORATORIO DE CROMATOGRFÍA
BUCARAMANGA
2008**

**ESTUDIOS TEÓRICO Y EXPERIMENTAL PARA EVALUAR LA
RELACIÓN ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE-ESTRUCTURA DE
ANILINAS SINTÉTICAS Y LA ALQUILACIÓN INTRAMOLECULAR
DE FRIEDEL-CRAFTS DE ORTO-ALIL-N-BENCILANILINAS**

Autora:
GEOVANNA TAFURT GARCÍA
(Química, M. Sc)

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
DOCTOR EN QUÍMICA

Directores:
ELENA E. STASHENKO, Química, Ph. D.
JAIRO R. MARTÍNEZ, Químico, Ph. D.

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER,
FACULTAD DE CIENCIAS, ESCUELA DE QUÍMICA
Bucaramanga
2008

AGRADECIMIENTOS

A los profesores *Elena Stashenko* y *Jairo René Martínez*; por cada momento en los que su conocimiento, fuerza y apoyo fueron extendidos para soportar y construir mi formación personal y profesional;

A los evaluadores de este trabajo, los profesores *Martha Cecilia Daza*, *Juan Manuel Urbina*, *Edgar Daza* y *Albeiro Restrepo*, porque sus valiosos aportes y cuestionamientos, permitieron un debate sano y constructivo de ese trabajo de investigación.

Al profesor *Alirio Palma* y al Laboratorio de Síntesis Orgánica (LSO) de la UIS, por su colaboración en la síntesis orgánica y sobretodo, por su gran apoyo en los momentos difíciles.

Al profesor *Vladimir Kouznetsov* y al Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular (LQOBio) de la UIS, por su asistencia en el área de química orgánica.

Al Profesor *Josep María Bofill* de la Universidad de Barcelona, por extenderme su mano y auxiliarme en un área tan compleja, pero tan fascinante como la química teórica.

Al Profesor *Edgar Páez* del Centro de Investigaciones en Catálisis (CICAT) de la UIS, por ser mi primer guía en el amplio camino de la Química.

A la *Escuela de Química* y la *Universidad Industrial de Santander*, por auspiciar mi formación profesional, a través de sus docentes, técnicos y actividades extracurriculares.

A *Leonor Y. Vargas*, por su asistencia en el área de química orgánica.

A *Sandra L. Gómez*, por escucharme y alentarme, por su gran y paciente ayuda en el área de síntesis orgánica.

A *Ciro E. Rozo*, por tener todo el aguante del mundo y la disponibilidad para transmitimos el difícil lenguaje de las máquinas y por hacer menos abrupta la obtención de la información arrojada por ellas.

A *Angélica Candela* y su esposo *Claudio*, quienes me acogieron con mucho cariño y se convirtieron en un gran soporte para mí en tierras desconocidas.

A todos mis compañeros del Laboratorio de Cromatografía de la UIS, que en todos estos años de formación, hicieron parte de mi familia; muchas veces me aconsejaron, guiaron y sustentaron, a todos ellos y en especial a mis amigos, Amner, Amanda, Martica Cervantes, Cristina, Mónica Niño, Adriana Jaimes, Hans, Edwin y al *harén* de Amner (Chechi, Lucía, Carol, Angela, Adriana, Deyni), y a los que ya pasaron (Marta Barrera, José Luis Molina, Libia, Fausto, Beatriz, Juan Pablo), por la alegría y la pujanza, cualidades innatas, en personas llenas de luz.

DEDICATORIA

A Dios; mi fortaleza, amparo, luz e inspiración;

A mis padres; Eliécer Tafurt y Nelcy García; por amarme sin límites;

A mis Hermanos; Elkin, Elmer y Eder; por ser mis amados, aunque ya no tan pequeños;

A mis Amigos; Amner, Amanda, Martica Cervantes, Cristina, Mónica Niño, por aconsejarme y ayudarme a crecer, como le sucede a una niña en formación;

y a todos ellos, por que:

Me han enseñado que en la vida no hay triunfos sin caídas;

Me han enseñado a reír en momentos de amargura;

Me sostuvieron, cuando no tenía fuerzas;

Y por sobre todo, por que les debo ser lo que hoy soy,

Con todo mi corazón, muchas gracias!

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
1. MARCO TEÓRICO	7
1.1 LOS MODELOS QSAR	7
1.1.1 Antioxidantes y métodos para la evaluación de la actividad antioxidante.	10
1.1.2 QSAR y antioxidantes.	13
1.2 Dihidrobenzo[<i>b,e</i>]azepinas y tetrahidrobenzo[<i>b,f</i>]azocinas. Reactividad química en la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts	15
1.2.1 Perfil de reacción.	19
1.2.2 Resolución multivariante de curvas. Optimización mediante mínimos cuadrados alternados (ALS).	20
1.2.2.1 Análisis de componentes principales y métodos de resolución de curvas.	21
1.2.2.2 Número de componentes en la mezcla.	24
1.2.2.3 Optimización restringida de los espectros y de los perfiles de concentración por MCR-ALS (<i>soft modeling</i>).	26
1.2.2.4 Técnica de modelado duro (<i>hard modeling</i>).	30
1.2.2.5 Mezcla de técnicas de modelado blando y duro (MCR-ALS con ajuste cinético).	31
2. DESARROLLO EXPERIMENTAL	32
2.1 OBTENCIÓN DE QSAR	32
2.1.1 Reactivos y materiales.	32
2.1.2 Actividad antioxidante.	34

2.1.2.1	Ensayo con ABTS ⁺ .	34
2.1.2.2	Ensayo con DPPH.	34
2.1.3	Descriptores moleculares.	35
2.1.4	QSAR.	35
2.1.5	Potenciales de ionización.	37
2.1.6	Síntesis de anilinas <u>25</u> , <u>26</u> , <u>33</u> y <u>34</u> .	39
2.1.6.1	Síntesis de aldiminas <u>35-38</u> .	39
2.1.6.2	Síntesis de anilinas <u>25</u> , <u>26</u> , <u>33</u> y <u>34</u> .	40
2.2	Evaluación de la reactividad química en la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts. Obtención de dihidrodibenzo[<i>b,e</i>]azepinas y tetrahidrodibenzo[<i>b,f</i>]azocinas	42
2.2.1	Cinética preliminar mediante GC-FID.	42
2.2.1.1	Análisis GC-FID.	42
2.2.1.2	Análisis GC-MSD.	43
2.2.1.3	Síntesis de las <i>orto</i> -alilanilinas <u>1</u> y <u>2</u> .	44
2.2.1.3.1	Reactivos y materiales.	44
2.2.1.3.2	Síntesis de aldiminas <u>39</u> y <u>40</u> .	45
2.2.1.3.3	Síntesis de <i>N</i> -bencilanilinas <u>41</u> y <u>42</u> .	45
2.2.1.3.4	Síntesis de <i>N</i> -alil- <i>N</i> -bencilanilinas <u>43</u> y <u>44</u> .	46
2.2.1.3.5	Síntesis de <i>orto</i> -alil-anilinas <u>1</u> y <u>2</u> .	47
2.2.2	Estudio teórico de la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts. Obtención de dihidrodibenzo[<i>b,e</i>]azepinas y tetrahidrodibenzo[<i>b,f</i>]azocinas.	48
2.2.3	Aplicación de MCR-ALS en la obtención de parámetros cinéticos de la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts.	49
2.2.3.1	Adquisición de datos.	49
2.2.3.2	Procesamiento previo de las matrices de datos.	50

2.2.3.3	Análisis de componentes principales (PCA).	50
2.2.3.4	Análisis quimiométrico.	51
2.2.3.4.1	Estimados iniciales de los espectros de los compuestos puros.	51
2.2.3.4.2	Optimización MCR-ALS.	51
2.2.3.4.3	Cálculo de las constantes cinéticas por ajuste lineal.	52
3.	RESULTADOS Y ANÁLISIS	53
3.1	OBTENCIÓN DE QSAR	53
3.1.1	Potenciales de ionización (IP).	61
3.2	Evaluación de la reactividad química en la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts. Obtención de dihidrodibenzo[<i>b,e</i>]azepinas y tetrahidrodibenzo[<i>b,f</i>]azocinas	65
3.2.1	Cinética preliminar mediante GC-FID.	65
3.2.2	Estudio teórico de la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts. Obtención de dihidrodibenzo[<i>b,e</i>]azepinas y tetrahidrodibenzo[<i>b,f</i>]azocinas.	75
3.2.3	Aplicación de MCR-ALS en la obtención de parámetros cinéticos de la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts.	87
4.	CONCLUSIONES	98
5.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101
6.	ANEXOS	125

LISTA DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.	Estructuras y pureza de las anilinas <u>13-26</u> .	33
Tabla 2.	Estructuras y pureza de las anilinas <u>27-34</u> .	33
Tabla 3.	IP (IP= $-E_{\text{HOMO}}$) de aminas usadas como moléculas de prueba.	38
Tabla 4.	Actividades antioxidantes experimentales (<i>Exp</i>) y estimadas (<i>Est-CV</i>), con los modelos QSAR.	54
Tabla 5.	IP de las anilinas <u>13-34</u> .	62
Tabla 6.	k_{app} para la ciclación de la <i>orto</i> -alilnilina <u>1</u> .	72
Tabla 7.	Parámetros termodinámicos para la ciclación de la <i>orto</i> -alilnilina <u>1</u> .	73
Tabla 8.	Energías electrónicas (E) en Hartree evaluadas con los niveles de teoría UHF/6-31+G(d) y RMP2/6-311++G(d,p), para R= H.	76
Tabla 9.	Energías electrónicas (E) en Hartree evaluadas con los niveles de teoría UHF/6-31+G(d) y RMP2/6-311++G(d,p), para R= CH ₃ .	77
Tabla 10.	Parámetros cinéticos y de activación calculados al nivel UHF/6-31+G(d) a 298,15 K.	80
Tabla 11.	Distancias interatómicas, en Angstroms, de las especies involucradas en la coordenada de reacción. R: H. (UHF/6-31+G(d)).	83
Tabla 12.	Distancias interatómicas, en Angstroms, de las especies involucradas en la coordenada de reacción. R: CH ₃ . (UHF/6-31+G(d))	83
Tabla 13.	Cargas NBO de los grupos E ⁺ , Ar-R, H para las especies 3, 4, 6, 7, TS1, TS2 y TS3 evaluadas al nivel UHF/6-31+G(d).	86
Tabla 14.	Valores propios obtenidos a partir del PCA de las matrices A ₁ -A ₅ y M ₁ .	90
Tabla 15.	k_{app} promedio para la ciclación de la <i>orto</i> -alilnilina <u>1</u> .	94
Tabla 16.	Parámetros termodinámicos promedio para la ciclación de la <i>orto</i> -alilnilina <u>1</u> .	95
Tabla 17.	k_{app} y parámetros termodinámicos para la ciclación de las <i>orto</i> -alilnilina <u>1</u> y <u>2</u> , obtenidos mediante análisis MCR-ALS de M ₁ .	95

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Tendencia de regresión para el modelo TEAC (3).	56
Figura 2.	Tendencia de regresión para el modelo TEAC (4).	56
Figura 3.	Tendencia de regresión para el modelo Log (1/EC ₅₀) (4).	60
Figura 4.	Tendencia de regresión para el modelo Log (1/EC ₅₀) (5).	60
Figura 5.	Arriba: relación entre los IP y el TEAC. Abajo: Relación entre los IP y el EC ₅₀ .	64
Figura 6.	TIC para la mezcla de reacción con la <i>orto</i> -alilnilina <u>1</u> .	66
Figura 7.	TIC para la mezcla de reacción con la <i>orto</i> -alilnilina <u>2</u> .	66
Figura 8.	Cromatograma típico para la mezcla de reacción con la <i>orto</i> -alilnilina <u>1</u> .	68
Figura 9.	TIC para la mezcla de reacción con la <i>orto</i> -alilnilina <u>1</u> y H ₂ SO ₄ :H ₂ O.	68
Figura 10.	Efecto de la concentración de <i>orto</i> -alilnilina <u>1</u> sobre el rendimiento de dihidrodibenzo[<i>b,e</i>]azepina [46a].	70
Figura 11.	Efecto de la agitación sobre el rendimiento de dihidrodibenzo[<i>b,e</i>]azepina [46a].	70
Figura 12.	Efecto de la temperatura sobre el rendimiento de dihidrodibenzo[<i>b,e</i>]azepina [46a].	71
Figura 13.	Variación de la k_{app} (1/s) con respecto al inverso de la temperatura, 1/T (1/K).	73
Figura 14.	Perfil de energía libre a 298.150 K evaluado al nivel UHF/6-31+G(d) para R: H.	78
Figura 15.	Perfil de energía libre a 298.150 K, evaluado al nivel de teoría UHF/6-31+G(d) para R: CH ₃ .	78
Figura 16.	Perfil de energía libre a 298.150 K evaluado al nivel UHF/6-31+G(d) para R: H. Ciclación.	79

Figura 17.	Perfil de energía libre a 298.150 K evaluado al nivel UHF/6-31+G(d) para R: CH ₃ . Ciclación.	79
Figura 18.	Perfil de energía electrónica sin corrección ZPE, para la formación de <i>4orto</i> , <i>4para</i> , <i>7orto</i> y <i>7para</i> a partir de <i>3orto</i> , <i>3para</i> , <i>6orto</i> y <i>6para</i> .	81
Figura 19.	Estructuras de las especies <i>3*</i> , TS1, <i>4</i> , <i>3</i> , TS2, <i>6</i> , <i>6*</i> , TS3 y <i>7</i> , para R: H, evaluadas al nivel UHF/6-31+G(d).	84
Figura 20	Estructuras de las especies <i>3orto</i> , TS1 <i>orto</i> , <i>4orto</i> , <i>3para</i> , TS1 <i>para</i> , <i>4para</i> , <i>3*</i> , TS2, <i>6</i> , <i>6orto</i> , TS3 <i>orto</i> , <i>7orto</i> , <i>6para</i> , TS3 <i>para</i> y <i>7para</i> , para R: CH ₃ , evaluadas al nivel UHF/6-31+G(d).	85
Figura 21	Representación tridimensional de los datos UV-Vis.	89
Figura 22	Espectros extraídos por MCR-ALS (S^T).	91
Figura 23	Perfiles de concentración a 30°C extraídos por MCR-ALS (C).	93
Figura 24	Variación promedio de la k_{app} (1/s) con respecto al inverso de la temperatura, $1/T$ (1/K) para la <i>orto</i> -alilnilina <u>1</u> .	94
Figura 25	Variación promedio de la k_{app} (1/s) con respecto al inverso de la temperatura, $1/T$ (1/K) para las ciclaciones de la <i>orto</i> -alilnilina <u>1</u> (arriba) y <i>orto</i> -alilnilina <u>2</u> (abajo).	96

LISTA DE ESQUEMAS

	Pág.
Esquema 1. Estructura de las <i>orto</i> -alilánilinas <u>1</u> y <u>2</u> .	5
Esquema 2. Estructuras de las moléculas de DPPH [·] y ABTS ⁺ .	12
Esquema 3. Estructuras de algunas dibenzazepinas.	15
Esquema 4. Dibenzazepinas y tetrahidrodibenzo[<i>b,f</i>]azocinas sintetizadas en el LSOF de la UIS.	16
Esquema 5. Ruta propuesta para la alquilación electrofílica intramolecular de <i>orto</i> -alilánilinas en condiciones ácidas.	17
Esquema 6. Aminas usadas como moléculas de prueba.	38
Esquema 7. Síntesis de aldiminas <u>35</u> - <u>38</u> .	40
Esquema 8. Síntesis de anilinas <u>25</u> , <u>26</u> , <u>33</u> y <u>34</u> .	41
Esquema 9. Síntesis de aldiminas <u>39</u> y <u>40</u> .	45
Esquema 10. Síntesis de <i>N</i> -bencilánilinas <u>41</u> y <u>42</u> .	46
Esquema 11. Síntesis de <i>N</i> -alil- <i>N</i> -bencilánilinas <u>43</u> y <u>44</u> .	46
Esquema 12. Síntesis de <i>orto</i> -alil-anilinas <u>1</u> y <u>2</u> .	47
Esquema 13. Productos de la alquilación intramolecular de <i>orto</i> -alilánilinas <u>1</u> y <u>2</u> .	65
Esquema 14. Algunos intermediarios en la alquilación intramolecular de la <i>orto</i> -alilánilina <u>1</u> .	69
Esquema 15. Etapas principales de la alquilación electrofílica intramolecular de las <i>orto</i> -alilánilinas <u>1</u> y <u>2</u> .	76
Esquema 16. Estructuras que indican la nomenclatura utilizada en las Tablas 11-13.	82
Esquema 17. Ciclación electrofílica intramolecular de las <i>orto</i> -alilánilinas <u>1</u> y <u>2</u> (A), en presencia de H ₂ SO ₄ concentrado.	88

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1.	Gráficas obtenidas en la evaluación de la actividad antioxidante de las anilinas usadas como conjunto de prueba. 125
Anexo 2.	Descriptores teóricos utilizados en las QSAR de TEAC. 134
Anexo 3.	Descriptores teóricos utilizados en las QSAR de EC ₅₀ . 140
Anexo 4.	Resultados de las síntesis de las anilinas <u>25</u> , <u>26</u> , <u>33</u> y <u>34</u> . 144
Anexo 5.	Espectros de masas obtenidos de las especies detectadas por GC-MSD, en la alquilación electrofílica intramolecular de las <i>orto</i> -alilnilinas <u>1</u> y <u>2</u> . 159
Anexo 6.	Resultados de las síntesis de las <i>orto</i> -alilnilinas <u>1</u> y <u>2</u> . 169
Anexo 7.	Gráficas cinéticas experimentales y estimadas mediante Ln ((Ce)/(Ce-Ct)) vs t, para cada T. Seguimiento de la concentración de dihidrodibenzo[<i>b,e</i>]azepina [46a], mediante GC-FID. 183
Anexo 8.	Gráficas cinéticas experimentales de la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts para las <i>orto</i> -alilnilinas <u>1</u> y <u>2</u> , estimadas mediante MCR-ALS. Algoritmos utilizados en MCR-ALS. 186

ABREVIATURAS

ABTS	Ácido-2,2'-azino-bis(3-etil-benzo-tiazolino-6-sulfónico)
ANN	<i>Artificial Neural Network</i> (Red neuronal artificial)
AP	Antioxidantes preventivos
ARC	Antioxidantes de ruptura de cadena
BDE	<i>Bond Dissociation Enthalpy</i> (Entalpía de disociación de enlace)
BEP	Bell-Evans-Polanyi
BHA	<i>Butyl-Hydroxy-Anisole</i> (Butilhidroxianisol)
BHT	<i>Butyl-Hydroxy-Toluene</i> (Butilhidroxitolueno)
CEP	<i>Compact Effective Potentials</i>
CHP	Curtin-Hammett <i>Principle</i>
CPSA	<i>Charged Partial Surface Area</i>
DNA	<i>Desoxyribo-Nucleic Acid</i> (Ácido desoxirribonucleico)
DODPA	<i>p,p'-Diocetyldiphenylamine</i> (<i>p-p'</i> -Diocildifenilamina)
DPPH	2,2-Difenil-1-picrilhidracilo.
EC ₅₀	<i>Equivalent Concentration</i> (Concentración equivalente)
E	Energía total o interna del sistema
E _a	Energía de activación
EE	Energía electrónica
EFA	<i>Evolving Factor Analysis</i> (Análisis de factores emergentes)
E _{HOMO}	Energía del orbital HOMO
E _{LUMO}	Energía del orbital LUMO
E _{SOMO}	Energía del orbital SOMO
ESR	<i>Electron Spin Resonance</i>
ESS	<i>Explained Sum of Squares</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FRAP	<i>Ferric Reducing Ability of Plasma</i>

GC-FID	Cromatografía de gases de alta resolución acoplada al detector de ionización en llama
GC-MSD	Cromatografía de gases de alta resolución acoplada a espectrometría de masas
HOMO	<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i> (Orbital molecular ocupado más alto)
HP	Hewlett-Packard
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografía líquida de alta eficiencia)
HTS	<i>High Throughput Screening</i> (Barrido de alto rendimiento)
IP	<i>Ionization Potential</i> (Potencial de ionización)
FT-IR	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier
IRC	<i>Intrinsic Reaction Coordinate</i> (Coordenada de reacción intrínseca)
ISMA	<i>Interactive Self-modeling Mixture Analysis</i> .
LNO	<i>Leave N Out</i> (Excluyendo N moléculas)
LOF	<i>Lack of Fit</i> (Falta de ajuste)
LOO	<i>Leave One Out</i> (Excluyendo una molécula)
LQOBio	Laboratorio de Química Orgánica y Biomolecular, UIS
LSO	Laboratorio de Síntesis Orgánica, UIS
LUMO	<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i> (Orbital molecular desocupado más bajo)
MCR-ALS	Resolución Multivariante de Curvas con optimización mediante Mínimos Cuadrados Alternados
MD	Momento bipolar
MLR	<i>Multiple or Multivariate Lineal Regresión</i> (Regresión lineal múltiple o multivariable)
MSE	<i>Explained Mean Square</i>
NBO	<i>Natural Bonding Orbital</i>
OM	Orbitales Moleculares
ORAC	<i>Oxygen radical absorbance capacity</i>
MSR	<i>Residual Mean Square</i>

PC	<i>Principal Components</i> (Componentes principales)
PCA	<i>Principal Component Analysis</i> (Análisis de Componentes Principales)
PCL	<i>Photochemiluminescence</i>
PCR	<i>Principal Components Regresion</i> (Regresión lineal de componentes principales)
PES	<i>Potential Energy Surface</i> (Superficie de energía potencial)
PG	<i>Propyl-Gallate</i> (Galato de propilo)
PLS	<i>Partial Least Squares</i> (Mínimos cuadrados parciales)
PNN	<i>Polynomial Neural Network</i> (Red neuronal polinómica)
PNSA	<i>Atomic Charge Weighted Partial Negative Surface Area</i>
PPSA	<i>Total Charge Weighted Partial Positively Charged Surface Area</i>
QSAR	<i>Quantitative(s) Structure Activity Relationship(s)</i> (Relación cuantitativa entre estructura y actividad)
QSPR	<i>Quantitative(s) Structure Property Relationship(s)</i> (Relación cuantitativa entre estructura y propiedad)
RE	<i>Relative Error</i>
RHF	<i>Restricted Hartree-Fock</i>
RMN ¹ H	Resonancia magnética nuclear de protón
RMN ¹³ C	Resonancia magnética nuclear de carbono-13
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i> (Especies reactivas de oxígeno)
RPM	Revoluciones por minuto
RSS	<i>Residual or Unexplained Sum of Squares</i>
S _E AR	Sustitución aromática electrofílica
SAR	<i>Structure Activity Relationship(s)</i> (Relación entre estructura y actividad)
SE	<i>Standard Error</i> (Error del valor estimado)
SIMPLISMA	<i>SIMPLe-to-use Interactive Self-modeling Mixture Analysis</i>
SOMO	<i>Single Occupied Molecular Orbital</i> (Orbital molecular ocupado por un electrón)
SSQ	Suma sobre todos los cuadrados

STDI	Estándar Interno
TBHQ	<i>ter-Butyl-Hydroxy-Quinone</i> (Ter-butil-hidroxi-quinona)
TEAC	<i>Trolox Equivalent Antioxidant Activity</i> (Actividad antioxidante equivalente al Trolox)
TIC	<i>Total Ionic Current</i>
TLC	<i>Thin Layer Chromatography</i>
TRAP	<i>Total radical-trapping antioxidant parameter</i>
TS	<i>Transition State</i> (Estado de transición)
TST	<i>Transition State Theory</i> (Teoría del estado de transición)
UHF	<i>Unrestricted</i> Hartree-Fock
UV-Vis	Espectroscopía Ultravioleta-Visible
VAT	Umbral Adiabático Vibracional
WH	Winstein-Holness
WIPO	<i>World Intellectual Property Organization</i>
ZPE	<i>Zero point Energy</i>
ΔH_0	Cambio de entalpía a 0 K
ΔE_{VAT}	Cambio de energía a 0 K (Umbral Adiabático Vibracional)
α_{zz}	Polarizabilidad en la orientación zz

TITULO: Estudios teórico y experimental para evaluar la relación actividad antioxidante-estructura de anilinas sintéticas y la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts de *orto*-alil-*n*-bencilanilinas.*

AUTOR: Geovanna Tafurt García.**

PALABRAS CLAVES: Actividad antioxidante, ABTS, DPPH, QSAR, Alquilación intramolecular, MCR-ALS.

CONTENIDO: En el presente estudio, se evaluaron las actividades antioxidantes de 22 anilinas sintéticas, por medio de los ensayos con los radicales ABTS^{•+} y DPPH[•]. Basados en los datos de actividad antioxidante y descriptores teóricos derivados de las estructuras moleculares optimizadas, se elaboraron diferentes modelos QSAR. Los descriptores relacionados con la energía electrónica (EE y α_{zz}) y la distribución de carga (PPSA-2), permitieron obtener modelos QSAR con ajuste lineal y capacidad de predicción adecuados. Mientras que, los modelos basados en descriptores constitucionales, topológicos, contenido de información y componentes principales, aunque en ocasiones, tienen un ajuste lineal bueno, casi siempre presentan una capacidad de predicción baja, lo cual indica que estos descriptores utilizados como variables independientes, poseen poca relación con el mecanismo antioxidante.

En este trabajo también se reportan los estudios experimental y teórico de la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts de *orto*-alil-*n*-bencilanilinas, que explican desde los puntos cinético y termodinámico la producción de dihidrodibenzo[*b,e*]azepinas y tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocinas. La parte experimental en condiciones heterogéneas se llevó a cabo por GC-FID, mientras que la espectroscopia UV-Vis con análisis quimiométrico MCR-ALS, se usaron para examinar las condiciones de reacción en fase homogénea e *in situ*. Con los resultados obtenidos se pudo concluir que: la variación de parámetros como: constantes de velocidad y energías de activación, hicieron posible evidenciar los efectos de: sustituyente, temperatura, velocidad de agitación y concentración, sobre la velocidad y selectividad de la reacción. La optimización mediante el algoritmo MCR-ALS, condujo a la estimación de espectros y perfiles de concentración, imposibles de obtener mediante análisis tradicional UV-Vis, debido a la poca selectividad en las características espectrales. El estudio teórico se realizó con base en las coordenadas de reacción relacionadas con las ciclaciones intramoleculares 7-*exo-trig* y 8-*exo-trig*, y con el reordenamiento 1,2-H.

*Tesis de Grado presentada como requisito para optar al título de Doctora en Química.

**Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Directores: Elena E. Stashenko. Jairo R. Martínez.

TITLE: Theoretical and experimental studies for evaluating the structure–antioxidant activity relationship of synthetic anilines and Friedel-Crafts intramolecular alkylation of *ortho*-allyl-*N*-benzylanilines.*

AUTHOR: Geovanna Tafurt García.**

KEYWORDS: Antioxidant activity, ABTS, DPPH, QSAR, Intramolecular alkylation, MCR-ALS.

DESCRIPTION: In the present study, 22 synthetic anilines were evaluated for scavenging of ABTS and DPPH radicals. Based on these data, different QSAR models were developed using theoretical descriptors derived from optimized molecular structures. The QSAR model with electronic energy (EE), total charge weighted partial positively charged surface area (PPSA-2), and exact polarizability (α_{zz}) as descriptors showed satisfactory predictive performance by internal and external validation procedures. While, TEAC models based on constitutional, topological, information content or principal component or PC as descriptors have sometimes a good fit but they always have an unreliable prediction capacity, *i.e.*, their relationship with antioxidant mechanism is difficult.

In this work, the experimental and theoretical studies of intramolecular Friedel-Crafts alkylation of *ortho*-allyl-*N*-benzylanilines are reported; the results explain the formation of dihydrodibenz[*b,e*]azepine and tetrahydrodibenz[*b,f*]azocine isomers since points of view kinetic and thermodynamic. The experimental part in heterogeneous conditions was done by GC-FID, the UV-Vis spectroscopy with MCR-ALS chemometric analysis was used for analysis of the homogeneous phase and *in-situ* conditions. With the results were possible conclude that: the variation of parameters as rate constants and activation energies, shown the substituent, temperature, agitation speed and concentration effects on velocity and selectivity of reaction. The optimization by MCR-ALS of data matrix obtained from intramolecular Friedel-Crafts alkylation of *ortho*-allyl-*N*-benzylanilines, in homogeneous phase and *in situ* by UV-Vis, could be able the estimation of spectra and concentration profiles of the main species of this reaction. The theoretical study was done based on the reaction coordinates related with the 7-*exo-trig* and 8-*exo-trig* intramolecular cyclizations and 1,2-H shift.

*Research work (Doctoral thesis).

**Faculty of Sciences. School of chemistry. Directors: Elena E. Stashenko. Jairo R. Martínez.

INTRODUCCIÓN

La síntesis orgánica ha sido una de las herramientas más importantes para la industria química en la obtención de sustancias para usos potenciales como agentes terapéuticos, preservantes, pesticidas, combustibles, polímeros, colorantes, fragancias, antioxidantes, antidepresivos y antimicrobianos, entre otros. La síntesis tradicional o convencional de tales sustancias se realiza con base en modificaciones estructurales sobre moléculas de origen natural y/o sintético que han presentado actividad alta, entre un grupo mayor que inicialmente se selecciona de forma aleatoria [1,2]. Tal procedimiento generalmente requiere mayor costo y tiempo, del que se emplea en las industrias químicas con técnicas automatizadas [3-5].

Los inconvenientes de los procesos sintéticos relacionados con el costo y el tiempo requerido para la elaboración de los productos deseados, a su vez, dependen de los reactivos utilizados y el rendimiento o la selectividad de los procesos sintéticos. Generalmente, cuando los rendimientos y las selectividades son bajas, se requiere la inversión de tiempo adicional para el avance de la reacción y/o para la purificación, lo que, junto con el uso de nuevas condiciones de reacción (reactivos, temperatura, solventes) conducen al aumento de los costos de producción. En la industria farmacéutica, por ejemplo, el costo promedio para el desarrollo de un medicamento nuevo ha incrementado significativamente desde 4 millones de dólares en 1962 hasta 500 millones de dólares en el año 2000. Tal aumento ha sido atribuido en parte, al cumplimiento de los requisitos reglamentarios exigidos por organismos como la *Food and Drug Administration* (FDA), y al hecho adicional de que se requiere un tiempo aproximado entre 12 y 17 años, desde el inicio de la investigación hasta la aprobación final del medicamento [6].

Hoy en día, se utilizan herramientas computacionales que ayudan a disminuir el tiempo y, por ende, el costo del desarrollo de nuevos medicamentos; queda atrás el método clásico—

hagamos un cambio sobre un compuesto ya existente o sinteticemos uno nuevo y veamos qué sucede-. Debido al incremento de la capacidad de procesamiento y la disminución de los costos, las herramientas computacionales han tenido un gran impacto sobre el problema del diseño de moléculas. Estas herramientas permiten a través del modelamiento molecular, determinar la incidencia de los atributos estructurales sobre la reactividad observada. En los procesos automatizados tales como secuenciamiento de DNA, química combinatoria, barrido de alto rendimiento (HTS, *High-Throughput Screening*), relación entre estructura y actividad (SAR, *Structure Activity Relationship*) y relación cuantitativa entre estructura y propiedad (QSPR, *Quantitative Structure Property Relationship*), entre otros, las herramientas computacionales con base en los conceptos de mecánica molecular, química cuántica y teoría de grafos, efectúan diversos papeles, entre los cuales se encuentran los siguientes: consulta en bases de datos, dibujo de estructuras moleculares, conversión de estructuras bidimensionales a tridimensionales, visualización molecular, refinamiento estructural e investigación conformacional y de dinámica molecular, entre otros [7-10].

Los Laboratorios de Síntesis Orgánica (LSO), de Química Orgánica y Biomolecular (LQOBio) y de Cromatografía, vinculados al Centro de Investigación en Biomoléculas (CIBIMOL), de la Escuela de Química de la Universidad Industrial de Santander (UIS), han dirigido esfuerzos para tratar de encontrar entre las sustancias sintéticas nitrogenadas, moléculas con actividades biológicas comparables con las de las utilizadas comercialmente. Así, por ejemplo, las dihidrodibenzo[*b,e*]azepinas, podrían tener uso como antidepresivos, antimaníacos o anticonvulsivos, puesto que son compuestos tricíclicos nitrogenados similares a la imipramina y la carbamazepina [11-16]. Las *homoalilaminas*, han presentado actividad antifúngica [17,18] y las quinolinas por su parte, poseen actividad antibacterial y antiparasitaria [19]. Adicionalmente, las *N*-bencilanilinas, utilizadas como precursoras de los compuestos antes mencionados, han presentado actividad antioxidante, antiarrítmica y antimicótica [20-26]. Bajo este contexto, las herramientas computacionales podrían ser utilizadas para orientar la síntesis hacia compuestos con mayor actividad y además ayudarían a la explicación de la distribución de productos, para el caso de reacciones con selectividad baja, entre otros posibles usos. Con respecto a esto, el LQOBio, ya ha

realizado estudios para obtener SAR, tendientes a encontrar moléculas con actividad antifúngica [27,28]. Adicionalmente, teniendo en cuenta la experiencia que el laboratorio de Cromatografía posee en la determinación de la actividad antioxidante [29,30], el uso de relaciones cuantitativas entre la actividad y la estructura (QSAR, *Quantitative Structure Activity Relationships*) podría resultar de gran provecho, puesto que los modelos matemáticos obtenidos ayudarían a la predicción de la capacidad antioxidante de moléculas, aún antes de ser sintetizadas en el laboratorio [31-36].

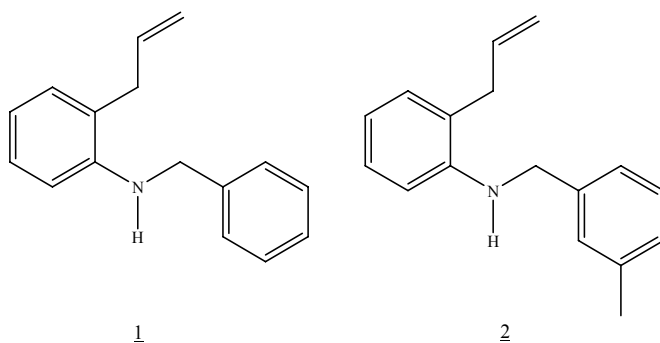
Para ejecutar una síntesis orientada, se utilizan generalmente como punto de partida QSAR [31-33,37]. Una vez elaborados, los QSAR permiten la predicción de la actividad de moléculas similares a las empleadas en el diseño del modelo matemático. Debido a esto, se han constituido en una forma útil para la obtención de sustancias que pueden ser aprovechadas en diferentes campos, incluyendo el de los antioxidantes. Por ello, en este trabajo de investigación se emplearon QSAR para guiar la síntesis hacia anilinas con capacidades antioxidantes comparables con antioxidantes de referencia utilizados comercialmente como la vitamina E, el BHA, la TBHQ y el BHT [38-40]. Las relaciones cuantitativas se elaboraron entre parámetros estructurales, calculados computacionalmente con los programas MOLDES y Gaussian 03, y la actividad antioxidante de anilinas sintéticas usadas como moléculas de prueba. Esta actividad se evaluó mediante ensayos colorimétricos con el catión radical del ácido-2,2'-azino-bis(3-etil-benzo-tiazolino-6-sulfónico) (ABTS) y el radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH).

Los resultados obtenidos en esta tesis, a partir de las relaciones actividad antioxidante-estructura de las anilinas sintéticas evaluadas, permitieron verificar la importancia de los descriptores teóricos relacionados con la energía electrónica y la distribución de carga, en la predicción de la actividad antioxidante, así como también, confirmar la importancia de los parámetros estadísticos relacionados con las validaciones externa e interna, para desarrollar modelos QSAR con capacidad predictiva aceptable.

Juntamente con lo anterior, los químicos, con base en los fundamentos teóricos sobre reactividad, selectividad, efecto de los sustituyentes y los datos cinéticos y termodinámicos, entre otros, tratan de proponer mecanismos, a través de los cuales dan explicación a la distribución de los productos obtenidos en las reacciones químicas. En la mayoría de los casos, las velocidades de reacción, limitadas por la presencia de barreras de energía entre los reactivos y el estado de transición, junto con las condiciones de equilibrio, son las que determinan las relaciones entre productos. Por lo tanto, para el desarrollo de directrices que permitan racionalizar y/o predecir las transformaciones sucedidas en una reacción, se hace necesario el seguimiento riguroso de todas las etapas elementales, a lo largo de la coordenada de reacción [41-43]. Sin embargo, ya que la información explícita sobre los detalles energéticos y estructurales de todos los intermediarios y estructuras de transición en una reacción particular, por medios experimentales, sólo ha sido posible en pocos casos [44], la química computacional constituye una técnica útil para representar el mecanismo de una transformación química mediante perfiles de reacción. Tales perfiles ilustran la forma en la cual la energía del sistema cambia, en función de la coordenada de reacción [45].

Para construir el perfil de una reacción química, se necesitan datos obtenidos experimentalmente mediante el seguimiento cinético y datos teóricos-computacionales que se fundamentan en la mecánica clásica y/o la química cuántica [46-49], que ayuden a predecir la energía de las especies involucradas en la reacción (reactivos, productos, intermedios y estados de transición). En este contexto, es importante resaltar la gran aplicabilidad que hoy día tiene el método de Resolución Multivariante de Curvas con optimización mediante Mínimos Cuadrados Alternados (MCR-ALS) para el análisis de datos obtenidos a partir del seguimiento cinético experimental [50-55]. Este método utiliza técnicas quimiométricas como el Análisis de Componentes Principales (PCA, *Principal Component Analysis*), Análisis de Factores Emergentes (EFA, *Evolving Factor Analysis*) y el algoritmo SIMPLISMA (*SIMPL*e-to-use *Interactive Self-modeling Mixture Analysis*), para el tratamiento de datos.

En el LSO se han obtenido dihidrodibenzo $[b,e]$ azepinas como productos mayoritarios de la ciclación electrofílica intramolecular de *orto*-alilnilinas en condiciones ácidas [11]. Sin embargo, en la misma reacción también se producen tetrahidrodibenzo $[b,f]$ azocinas y dibenzo $[b,e]$ azepinas, lo cual aumenta el costo de producción, por la purificación requerida. Teniendo en cuenta que la distribución de productos en una reacción es explicada con base en los conceptos de controles cinético y termodinámico, y que en muchos casos las medidas cinéticas experimentales no permiten obtener información sobre algunas especies involucradas en la reacción y explicar los factores estéricos y/o electrónicos relacionados con los sustituyentes, en esta investigación se construyeron las etapas principales de la alquilación electrofílica intramolecular de las *orto*-alilnilinas 1 (2-alil-*N*-bencilanilina) y 2 (2-alil-*N*-(3-metilbencil)anilina), indicadas en el **Esquema 1**, con base en los datos experimentales extraídos del estudio cinético mediante GC-FID y UV-Vis, y datos computacionales como energías de reactivos, productos, intermediarios y estados de transición, obtenidos a través del modelamiento molecular, usando el método y el conjunto base UHF/6-31+(d) del programa *Gaussian 03*.



Esquema 1. Estructura de las *orto*-alilnilinas 1 y 2.

Los resultados obtenidos en este trabajo, a partir de los estudios experimental y teórico de la alquilación electrofílica intramolecular de las *orto*-alilnilinas 1 y 2, permitieron explicar la obtención de dihidrodibenzo $[b,e]$ azepinas y tetrahidrodibenzo $[b,f]$ azocinas, desde los puntos de vista cinético y termodinámico. Así, la variación de parámetros como constantes

de velocidad y energías de activación, hicieron posible evidenciar los efectos del sustituyente, la temperatura, la velocidad de agitación y la concentración, sobre la velocidad y selectividad de la reacción.

Los resultados parciales de esta investigación han sido divulgados en el CIBIMOL y publicados en las memorias de diferentes congresos nacionales e internacionales y a través de un artículo en una revista indexada internacional, a saber:

1. Elena E. Stashenko, Jairo R. Martínez, **Geovanna Tafurt-García**, Alirio Palma, Josep Maria Bofill. A computational study and valence bond approach to the intramolecular electrophilic aromatic substitution mechanism of *ortho*-allyl-*N*-benzylanilines. *Tetrahedron* **2008**, 64, 7407-7418.
2. **Geovanna Tafurt**, Joseph Bofill, Alirio Palma, Jairo Martínez y Elena Stashenko. “Estudio teórico de la ciclación de *orto*-alilalanilinas en fase gaseosa”. En: Resúmenes del XXXIII Congreso de Químicos Teóricos de Expresión Latina, La Habana, Cuba, septiembre 17-21, QUITEL **2007**.
3. **G. Tafurt**, J.R. Martínez, V. Kouznetsov y E.E. Stashenko. “Relación entre la capacidad antioxidante *in vitro*, los potenciales de ionización y los descriptores teóricos de bencilaminas sintéticas”. En: Resúmenes del XXVII Congreso Latinoamericano de Química y VI Congreso Internacional de Química e Ingeniería Química, La Habana, Cuba, octubre 16-20, **2006**.
4. **G. Tafurt**, J.R. Martínez, V. Kouznetsov y E.E. Stashenko. “Relationship between the *in vitro* antioxidant activities, the ionization potentials and the theoretical descriptors of synthetic benzylamines”. En: Abstracts International Congress on Analytical Sciences, Moscow, Russia, June 25-30, ICAS-**2006**.
5. **Geovanna Tafurt**, Jairo Martínez, Leonor Vargas, Vladimir Kouznetsov and Elena Stashenko. “Determination of the antioxidant activity of benzylamines by ABTS and DPPH assays”. En: Resúmenes del XXXI Congreso de Químicos Teóricos de Expresión Latina, Isla de Margarita, Venezuela, octubre 2-6, QUITEL **2005**.
6. **G. Tafurt**, J.J. Castillo, L.Y. Vargas, V. Kouznetsov, J.R. Martínez y E.E. Stashenko. “Evaluación de la capacidad antioxidante *in vitro* de bencilaminas y aceites esenciales utilizando los ensayos con ABTS y DPPH”. En: Resúmenes del XIII Congreso Colombiano de Química, Cartagena de Indias, Colombia, octubre 15-17, **2004**.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 LOS MODELOS QSAR

Los QSAR son modelos de regresión que ayudan a relacionar de forma cuantitativa descriptores obtenidos a partir de la estructura química y/o parámetros fisicoquímicos, con medidas experimentales de actividad [31]. Los QSAR y los métodos relacionados, históricamente han sido aplicados por compañías farmacéuticas y de pesticidas para diseñar compuestos biológicamente activos. Sin embargo, hoy en día, se han estado aplicando en un número amplio de disciplinas científicas que incluyen química, biología y toxicología, puesto que son considerados como herramientas científicas confiables para predecir y clasificar las actividades de las sustancias químicas, aún antes de ser sintetizadas [32,56-60]. Así, organizaciones gubernamentales de Australia, Canadá, USA, Dinamarca, Alemania, Japón y Holanda, las utilizan en un contexto regulatorio para predecir las propiedades físicas o químicas, la toxicidad sobre especies acuáticas y los efectos sobre la salud, de sustancias químicas de interés [61].

En un sentido amplio, el inicio de los modelos QSAR data aproximadamente de 1870, con Crum-Brown y Fraser, quienes se anticiparon a la idea de que la respuesta biológica es función de la estructura química. Luego, hacia finales del siglo XIX, Meyer y Overton lograron un adelanto cuando usaron los coeficientes de partición aceite-agua, como escala hidrofóbica para explicar la acción narcótica de moléculas orgánicas sencillas. Posteriormente, la formulación de las constantes numéricas para los efectos electrónicos de los sustituyentes, realizada por Hammett y Taft, permitió la definición de las constantes alifáticas y estéricas, σ y E_s , respectivamente. Finalmente, en la primera década de los 60's, gracias a la disponibilidad de computadores para el análisis de regresión entre las constantes de los sustituyentes y las respuestas biológicas, S. M. Free y J. W. Wilson desarrollaron relaciones QSAR con el uso de descriptores nominales. Sin embargo, el primer galardonado en el área de química médica por el laboratorio Smissman-Bristol debido al desarrollo de modelos QSAR fue C. Hansch [31,62-67].

Para construir un modelo QSAR, generalmente se deben realizar los siguientes pasos [8,31,32,37,47,68-70]:

1. Reunir un conjunto de moléculas de entrenamiento. El número de moléculas usadas para construir el modelo QSAR debe ser suficiente para asegurar la estabilidad estadística. Las actividades de tales moléculas, deben estar distribuidas uniformemente a través del intervalo de valores de actividades y las moléculas seleccionadas como conjunto de entrenamiento deben poseer la diversidad estructural adecuada para cubrir el espacio químico asociado con la actividad biológica en estudio. Además, los modelos SAR, pueden tolerar relaciones de compuestos activos : inactivos que varíen entre 3:1 (*i.e.* 75% de activos) y 1:2 (*i.e.* 33% de activos).
2. Calcular, escoger y/o determinar los descriptores teóricos y/o parámetros fisicoquímicos, que se puedan relacionar de manera apropiada con la actividad. Los programas de modelamiento molecular disponibles comercialmente permiten la evaluación de múltiples descriptores teóricos y parámetros fisicoquímicos. Mediante herramientas estadísticas se escogen aquellos descriptores que sean más significativos en la medida de la actividad. Convencionalmente, los descriptores moleculares teóricos se dividen en clases diferentes, de acuerdo con su complejidad o método de cálculo [71-99]:

✚ Descriptores deducidos con base en la mecánica cuántica: energía electrónica total (EE), energía de los orbitales de frontera HOMO (E_{HOMO}), LUMO (E_{LUMO}) y SOMO (E_{SOMO}), potenciales de ionización (IP, *ionization potentials*), entalpías de disociación de enlace (BDE), densidades de carga y espín, polarizabilidad y momento dipolar (MD).

✚ Descriptores derivados a partir de la estructura molecular: constitucionales, topológicos (Randic, Wiener, Balaban, Kier y Hall), geométricos y de distribución de carga (*e.g.* CPSA, *Charged Partial Surface Area*).

- ✚ Descriptores obtenidos con base en las propiedades fisicoquímicas: hidrofóbicos, solubilidad, electrónicos y estéricos.
 - ✚ Descriptores químicos de dimensión alta: mapas estéricos y de potencial electrostático y datos espectroscópicos.
3. Aplicar métodos estadísticos que correlacionen los cambios en la estructura con las variaciones en la actividad biológica. Aunque la relación entre un descriptor molecular y la actividad biológica puede ser lineal o no, hoy en día, es una práctica común para construir modelos QSAR utilizar métodos tales como los de regresión lineal múltiple o multivariable (MLR, *Multiple o Multivariate Lineal Regression*) y de mínimos cuadrados parciales (PLS, *Partial Least Squares*). Para modelos no lineales, las redes neuronales polinomiales (PNN, *Polynomial Neural Network*), ofrecen una alternativa que combina los mejores rasgos de las redes neuronales artificiales (ANNs, *Artificial Neural Networks*). Los procedimientos MLR/PLS también se utilizan para elaborar modelos no lineales, debido a que proveen la no linealidad inherente de las ANN. Ya que generalmente el número de descriptores excede el número de moléculas, se deben utilizar métodos estadísticos como el de componentes principales (PC, *Principal Components*) que se encargan de transformar la dimensionalidad desde el espacio de descriptores hacia el espacio también llamado de componentes principales.
4. Validación del modelo. Teniendo en cuenta que los modelos QSAR son desarrollados para la predicción de la actividad, se han diseñado varios métodos para validar su calidad. Estos métodos han sido apoyados por el *International Council of Chemical Associations* (ICCA)/*European Chemical Industry Council* (CEFIC) en la reunión denominada: “*Regulatory Acceptance of QSARs for Human Health and Environment Endpoints*” realizada en Setubal-Portugal, en el año 2002 [100,101]. Generalmente, se distinguen dos tipos de procedimientos para validación: los de validación interna y los de validación externa. En el primer procedimiento se utilizan las mismas moléculas con

las que se construyó el modelo matemático para la validación, mientras que mediante el segundo se usa un grupo de moléculas diferente. A través de la validación, la calidad de un modelo QSAR se puede evaluar en términos de varias medidas estadísticas como r^2 y q^2 . Un modelo es considerado estadísticamente significativo si $r^2 \geq 0.9$. El valor de q^2 se deriva a partir del procedimiento de validación cruzada, en el cual, se excluye una fracción de moléculas del conjunto de entrenamiento y con el modelo matemático generado a partir de las moléculas remanentes, se predice la actividad de las moléculas excluidas. Se conocen metodologías de validación cruzada, excluyendo una molécula del conjunto de entrenamiento, en cuyo caso se denomina LOO, *Leave One Out*, o excluyendo un grupo de N moléculas del conjunto de entrenamiento, en cuyo caso se llama LNO, *Leave N Out*. Normalmente, se considera que un modelo QSAR posee una habilidad predictiva significativa cuando presenta un valor de $q_{\text{LOO}}^2 > 0.5$. Adicionalmente, los valores del error estándar, pueden emplearse como medida de la precisión y habilidad predictiva de un modelo QSAR.

1.1.1 Antioxidantes y métodos para la evaluación de la actividad antioxidante.

Un antioxidante se define de forma general como “cualquier sustancia que cuando está presente en concentraciones bajas, inhibe o previene la oxidación de un sustrato”. De igual modo, desde el punto de vista biológico se define como “aquel compuesto que protege a los sistemas vivos de los agentes que causan deterioro oxidativo” [102].

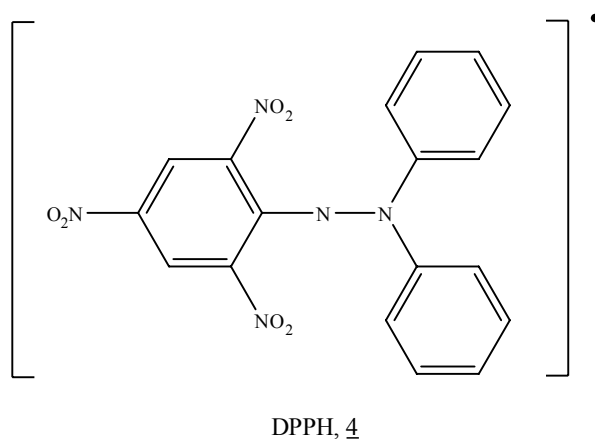
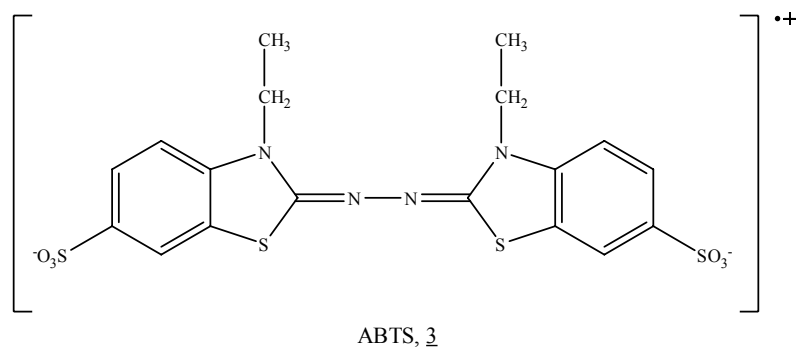
Según su origen, los antioxidantes pueden ser clasificados como naturales o sintéticos. El término “natural”, generalmente se refiere a sustancias que pueden ser extraídas de plantas o tejidos animales, o aquellas que se forman como consecuencia de la cocción o procesamiento de los alimentos. La mayoría de los antioxidantes naturales son derivados fenólicos, por ejemplo, tocoferoles, cumarinas, flavonoides, ácidos fenólicos y gálicos [103-108]. Sin embargo a los carotenoides y terpenoides también se les ha determinado algún tipo de actividad antioxidante [91,109]. Los antioxidantes sintéticos comerciales

usados en grasas y aceites son en su mayoría fenoles, a los cuales se les han introducido diversos grupos alquílicos para aumentar su solubilidad. Entre los más utilizados se encuentran el BHA, el BHT, la TBHQ y el PG [38-40,110].

Sustancias sintéticas nitrogenadas como las diarilaminas, las *N*-bencilanilinas, los aminofenoles, las dihidropiridinas, los benzoimidazoles y las nitronas también han presentado actividad antioxidante [111-115]. Las *N*-bencilanilinas y en particular las arilaminas, tales como la *p,p'*-dioctildifenilamina (DODPA), se han utilizado como antioxidantes en lubricantes sintéticos, especialmente en motores de turbina a gas de las aeronaves, en donde los ésteres orgánicos representan uno de los grupos más ampliamente usados como lubricantes [23-26].

Los antioxidantes, según el mecanismo de acción se dividen en dos tipos: de ruptura de cadena (ARC) y preventivos (AP). Los ARC, conocidos también como antioxidantes primarios, inhiben la etapa de propagación cuando le transfieren un átomo de hidrógeno a los radicales generados durante la oxidación ($R\cdot$, $RO\cdot$, $RO_2\cdot$ o especies reactivas de oxígeno (ROS)), reduciéndolos [116-119]. Los AP, conocidos como antioxidantes secundarios, previenen la etapa de iniciación al atrapar o formar complejos con sustancias iniciadoras como oxígeno singulete, oxígeno triplete o iones metálicos, además pueden actuar como sinergistas con los ARC. Los sinergistas son compuestos que aunque tienen poca o nula actividad antioxidante, aumentan la actividad de los ARC. Algunos ejemplos de sinergistas son la lecitina, los aminoácidos y los ácidos cítrico, fosfórico, citracónico y fumárico [120].

La capacidad antioxidante de una sustancia de origen sintético o natural, se puede evaluar a través de dos ensayos generales [121,122]: la capacidad para evitar el deterioro oxidativo, y la reactividad hacia radicales. Los resultados obtenidos en el primer tipo de ensayo no indican el posible modo de acción de la sustancia evaluada, sino solamente la capacidad protectora que ejerce sobre el sistema modelo utilizado; los resultados conseguidos a partir del segundo ensayo, permiten deducir si las sustancias evaluadas podrían actuar como antioxidantes de ruptura de cadena.



Esquema 2. Estructuras de las moléculas de DPPH $\cdot$ y ABTS $^{+\cdot}$.

Para evaluar la reactividad hacia radicales que posee un compuesto o una mezcla de procedencia biológica, orgánica e inorgánica, por medio de la transferencia de electrones y/o átomos de hidrógeno, se pueden utilizar los ensayos colorimétricos con los radicales ABTS $^{+\cdot}$ y DPPH $\cdot$ (ver **Esquema 2**) [123-152], entre otros métodos, a saber: el TRAP (*Total radical-trapping antioxidant parameter*), el ORAC (*Oxygen radical absorbance capacity*), el FRAP (*Ferric reducing ability of plasma*), la PCL (*Photochemiluminescence*), la ESR (*Electron spin resonance*, cambios en la concentración de radicales) y en general, la capacidad para desactivar ROS y específicamente radicales alquilo, alcoxilo y peroxilo [111,112,114,140,153,154]. A partir del ensayo con ABTS $^{+\cdot}$, se obtiene la capacidad

antioxidante relativa al Trolox (TEAC, mmol Trolox/mmol antioxidante), mientras que, a través del ensayo con DPPH[·], se obtiene la concentración efectiva con la cual se disminuye en un 50% la concentración inicial de DPPH[·] (EC₅₀, mmol antioxidante/mmol iniciales de DPPH[·]). La TEAC y EC₅₀ son resultados cuantitativos y reproducibles de la reactividad hacia radicales, que pueden ser usados en el desarrollo de QSAR y SAR para estimar la actividad antioxidante. Sin embargo, la reactividad hacia el DPPH ha sido la más utilizada en relaciones QSAR [86,92,155-158].

1.1.2 QSAR y antioxidantes.

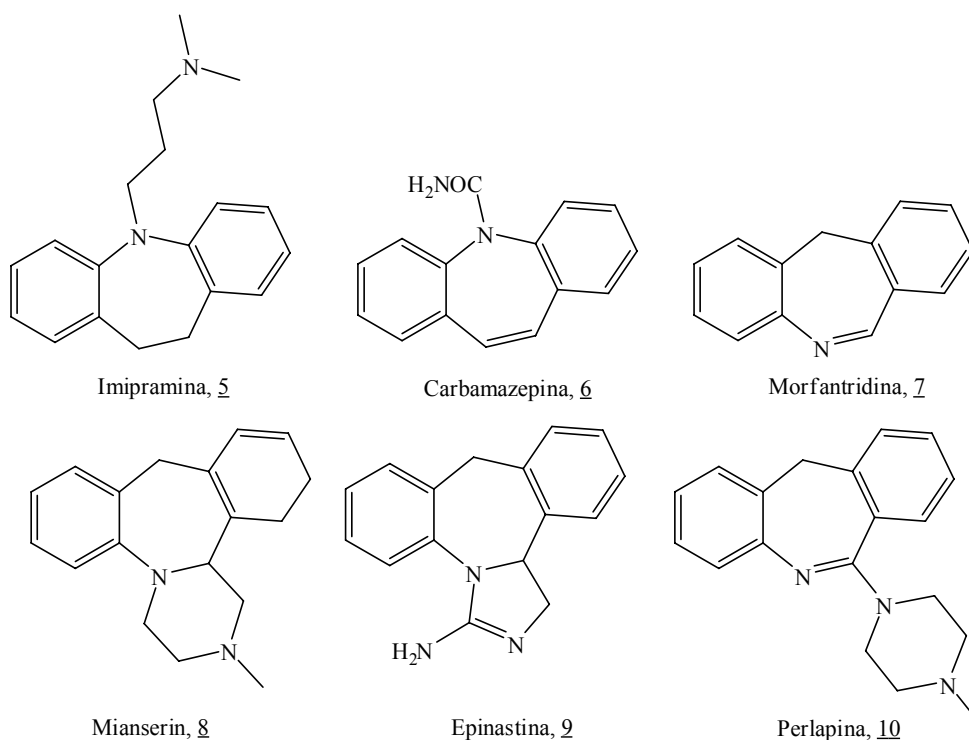
QSAR y SAR han sido desarrolladas para relacionar la actividad antioxidante *in vitro* de compuestos como fenoles, ácidos gálicos, cumarinas, flavonoides y carotenoides con descriptores cuantitativos obtenidos a partir de la estructura molecular [86,88,90-92,95, 155,159-161]. Descriptores mecano-cuánticos como la BDE, el IP, las E_{HOMO}, E_{LUMO} y E_{SOMO}, y las densidades electrónica y de espín, se han utilizado para la elaboración de QSAR que describen la actividad hacia radicales tales como DPPH, ABTS, alquilo, alcoxilo y peroxilo, mediante mecanismos de transferencia de hidrógenos y/o electrones [86-98,162,163]. Sin embargo, cabe resaltar, que muy pocos QSAR y SAR se han elaborado para predecir la actividad antioxidante de amino-derivados [89,94,96-99,164-167].

En adición a lo anterior, un breve análisis de los registros consignados en bases de datos como *Scopus* entre 1985-2007 y en *Web of Science* entre 1999-2007, relacionados con publicaciones sobre QSAR-antioxidante (palabra de búsqueda: *QSAR antioxidant*) indica una tendencia al aumento en el número de publicaciones que se presentan en forma de artículos y *reviews*, escritos en idiomas como el inglés y el chino [168,169]. Las investigaciones son publicadas preferencialmente en revistas como *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, *Free Radical Biology and Medicine*, *Quantitative Structure Activity Relationships*, *QSAR and Combinatorial Science*, *Free Radical Research*, *Journal of*

Molecular Modeling, THEOCHEM, Journal of Pharmaceutical Sciences, European Journal of Medicinal Chemistry y Journal of Medicinal Chemistry. Los autores están asociados con instituciones ubicadas en países como China, EE.UU., Japón, Canadá, Grecia, India, España, Brasil, Croacia e Inglaterra. Los temas sobre los que se fundamentan las publicaciones son bioquímica, biología molecular, química médica, farmacología, farmacia, química orgánica, y toxicología, entre otras. Adicionalmente, se puede acceder a 2409 publicaciones en forma de textos completos, tesis, repositorios, conferencias y artículos pre-impresos, a través de las páginas web de universidades o instituciones científicas. Además, 129 patentes relacionadas con QSAR-antioxidante se detectaron en la base de datos *Scopus*, 67 de las cuales se encuentran en la oficina de patentes de los EE.UU., 48 en la organización mundial para la propiedad intelectual, *World Intellectual Property Organization* (WIPO), 13 en la oficina de patentes de Europa y 1 en la oficina de patentes del Reino Unido [168].

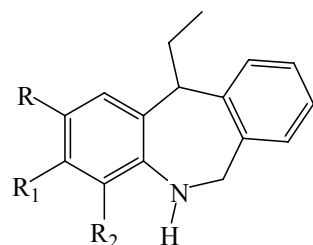
1.2 Dihidrodibenzo[b,e]azepinas y tetrahidrodibenzo[b,f]azocinas. Reactividad química en la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts

Las dibenzazepinas son moléculas tricíclicas, que pueden ser saturadas e insaturadas. Las saturadas son conocidas como dihidrodibenzazepinas, siendo la imipramina (5) un ejemplo clásico de este género. Mientras que, las insaturadas son denominadas dibenzazepinas, dentro de las cuales se encuentra la carbamazepina (6). En el **Esquema 3** se indican las estructuras de las dibenzazepinas, morfantridina (7), mianserin (8), epinastina (9) y perlapina (10). Las moléculas 7-10 son consideradas como dibenzo[b,e]azepinas, debido a la ubicación de los anillos bencénicos con respecto al anillo heptacíclico nitrogenado (anillo azepínico). En general, se conoce que las dibenzazepinas pueden actuar como agentes depresivos del sistema nervioso central, causando diversos efectos, entre los que se encuentran: anestésico, sedativo, hipnótico, ansiolítico, anticonvulsante y antisicótico [170-175].



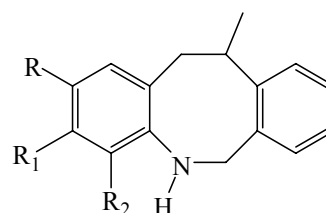
Esquema 3. Estructuras de algunas dibenzazepinas.

Recientemente, en el LSOF de la UIS, fueron obtenidas las dihidrodibenzo[*b,e*]azepinas 11 indicadas en el **Esquema 4**, a través de las siguientes etapas consecutivas [11]: 1. Preparación de *N*-bencilanilinas a partir de anilinas sustituidas y cloruro de bencilo; 2. Obtención de *N*-alil-*N*-bencilanilinas partiendo de *N*-bencilanilinas sustituidas y bromuro de alilo; 3. Transposición amino-Claisen de *N*-alil-*N*-bencilanilinas, promovida por ácidos de Lewis; y 4. Alquilación electrofílica intramolecular de las *orto*-alilanilinas en condiciones de catálisis ácida. Sin embargo, en algunas reacciones, también se obtuvieron las tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocinas 12 [11].



Dihydrodibenzo[*b,e*]azepinas, 11

- a) $R=R_1=R_2=H$
- b) $R=R_1=H, R_2=Cl$
- c) $R=F, R_1=R_2=H$
- d) $R=Cl, R_1=R_2=H$
- e) $R=H, R_1=Cl, R_2=CH_3$
- f) $R=R_1=Cl, R_2=H$



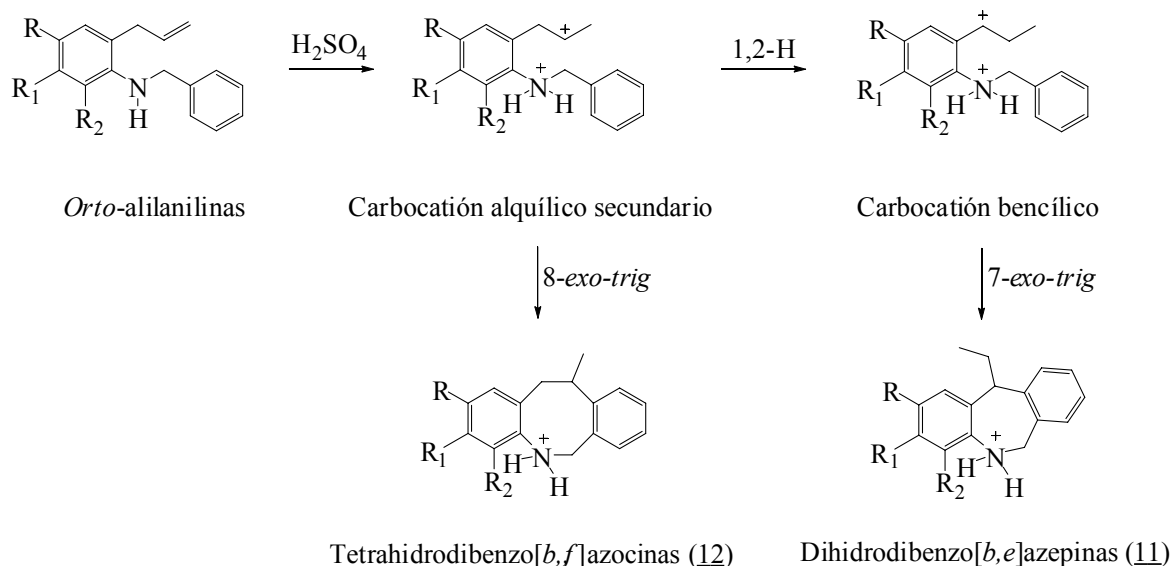
Tetrahydrodibenzo[*b,f*]azocinas, 12

- g) $R=R_2=F, R_1=H$
- c) $R=F, R_1=R_2=H$
- f) $R=R_1=Cl, R_2=H$

Esquema 4. Dibenzazepinas y tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocinas sintetizadas en el LSOF de la UIS.

Según lo indicado en el **Esquema 5**, la obtención de 11 se puede explicar con base en la formación de un carbocatión bencílico a partir de un carbocatión alquílico secundario, producto de la adición de un protón al fragmento alílico de la *orto*-alilanilinas. Así mismo, la producción de 12 se fundamenta en la alquilación electrofílica intramolecular (sustitución aromática electrófila), sucedida directamente sobre el carbocatión alquílico secundario. En general, la producción de 11 es referida como un proceso de control termodinámico y la obtención de 12 es representada como un proceso de control cinético [11].

En la literatura científica, se expresa que una reacción está controlada cinéticamente, cuando las proporciones en que se obtienen los productos, están determinadas por sus velocidades relativas de formación ($[kT/h]\exp[-\Delta G^\ddagger/RT]$). Es indudable que las reacciones con estructuras de transición de energía alta deben proceder más lentamente que aquellas con estructuras de transición de energía menor. Pero, si se requiere un análisis cuantitativo más riguroso, se deben involucrar modelos sofisticados que describan relaciones entre las propiedades del estado de transición y la cinética de la reacción. De tales modelos, el más versátil es el de la teoría del estado de transición (TST, *Transition State Theory*). Por otro lado, si una o más etapas de la reacción son reversibles o si los productos son fácilmente interconvertibles, su composición puede estar determinada por su estabilidad termodinámica relativa ($-\Delta G = RT\ln K$, en donde $-\Delta G = \Delta H - T\Delta S$). En este caso, se indica que la reacción está controlada termodinámicamente y las proporciones relativas de los productos pueden ser determinadas por la relación de sus factores de Boltzman (Factor de Boltzmann = $\exp[-E/RT]$) (E = energía total o interna del sistema) [41,42,49,176-178].



Esquema 5. Ruta propuesta para la alquilación electrofílica intramolecular de *orto*-alilanilinas en condiciones ácidas.

En general, pueden presentarse como mínimo cuatro casos de perfiles de energía para la sustitución aromática electrofílica (S_EAr), a saber: 1, donde el paso determinante de la velocidad es la generación del electrófilo; 2 y 3, en los cuales la formación del complejo σ , es la etapa más lenta y el estado de transición (TS, *Transition State*), puede ser estructuralmente similar al reactivo (*late*) o al producto (*earlier*); y 4, en donde el paso limitante de la reacción es la remoción del protón para la aromatización del sistema [41]. Las etapas que involucran la formación de complejos π , cuya presencia en reacciones de S_EAr , ha sido comprobada en diversas investigaciones [179-183], pueden o no tenerse en cuenta para la construcción de perfiles, debido a que no son etapas determinantes de la velocidad global de reacción [41,176]. Adicionalmente, cabe resaltar que las investigaciones realizadas por J. Kochi, desde el punto de vista térmico y fotoquímico, le permitieron considerar que la formación del complejo σ se podía llevar a cabo a través de dos pasos, con un paso inicial de transferencia de electrones [45,184,185].

Debido al amplio uso de las reacciones de S_EAr en síntesis, y al hecho general, de que la reactividad y la selectividad están determinadas por factores electrónicos y estéricos, ha resultado de gran interés científico tratar de explicar desde el punto de vista experimental y teórico, la distribución de productos en las S_EAr . Así, en la literatura, se encuentran reportados ejemplos de estudios experimentales del mecanismo de reacción con base en datos cinéticos que evalúan los efectos isotópicos, del solvente y del sustituyente [186-193], y estudios teóricos que involucran o no el complejo de transferencia de carga propuesto por J. Kochi [194-214]. Adicionalmente, cabe anotar que las reglas de Baldwin, el postulado de Hammond y el principio de Curtin-Hammett/Winstein-Holness, son conceptos que pueden emplearse para ayudar a explicar la reactividad y selectividad de las reacciones en general [41,45,176,215,216].

Aunque la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts, es un ejemplo específico de S_EAr , en los reportes científicos se encuentra abundante información, únicamente relacionada con síntesis y cinética [217-221]. Sin embargo, desde el punto de vista teórico, solo se halló el reporte de D. Tantillo, relacionado con las S_EAr intramoleculares [222]. Hecho que resalta

la necesidad de añadir evidencia para la explicación teórica sobre la distribución de productos en este tipo de reacciones. Es importante recalcar que V.V. Kouznetsov y A. Palma se encuentran entre los autores principales que han realizado publicaciones relacionadas con alquilación intramolecular de Friedel-Crafts, promovida por ácido sulfúrico. Esta ruta sintética ha sido utilizada por ellos para obtener diferentes derivados nitrogenados entre los que encuentran además, espirodihidroquinolinas, tetrahidroisoquinolinas y espirojulolidinas [12,223-232].

1.2.1 Perfil de reacción.

Los perfiles de reacción ilustran la forma en la cual la energía del sistema cambia, en función de la coordenada de reacción. Es decir, muestran las variaciones energéticas asociadas con las transformaciones desde reactivos hasta productos a través de TS y/o intermediarios. Sin embargo, cuando la coordenada de reacción no está bien definida debido al gran número de movimientos de doblamiento y alargamiento que pueden presentarse en una molécula con N átomos, se utilizan superficies de energía potencial (PES, *Potential Energy Surface*), para la localización confiable de mínimos y puntos de silla. Tanto los mínimos como los puntos de silla, son puntos estacionarios sobre la PES y debido a esto, en estos puntos, la primera derivada de la energía potencial ($\delta V/\delta R_i$) con respecto a las coordenadas internas es igual a cero. Para los mínimos, ubicados sobre los valles de la PES, los valores propios de la matriz de la segunda derivada ($\delta^2 V/\delta R_i$), también denominada matriz de *Hess* o *Hessiana*, deben ser positivos, *i.e.*, la PES debe ser cóncava hacia arriba. Mientras que, para puntos de silla localizados sobre montañas o elevaciones que atraviesan la PES, debe existir únicamente un valor propio negativo de la matriz *Hessiana*. El vector propio, asociado al valor propio negativo, indica la dirección del movimiento, *i.e.*, es la coordenada o trayectoria de reacción en el punto de silla [45-47,233-235].

Hay dos procedimientos básicos para calcular trayectorias de reacción. El primer tipo, se refiere a métodos para optimizar trayectorias y encontrar TS, en los cuales, la investigación se realiza sin el conocimiento previo del TS. En el segundo tipo de procedimientos, se empieza en un punto de silla de primer orden sobre el PES y con base en éste se determina la coordenada de reacción sobre la trayectoria descendente más inclinada hacia reactivos y productos. Aunque el procedimiento de trayectoria descendente más inclinada puede ser obtenido en cualquier sistema de coordenadas, cuando se utiliza un sistema de coordenadas cartesianas ponderado con respecto a la masa (*Mass-Weighted*), el procedimiento se conoce como coordenada de reacción intrínseca (IRC, *Intrinsic Reaction Coordinate*). Los algoritmos utilizados para el cálculo de trayectorias de reacción pueden ser clasificados como explícitos o implícitos. Los métodos explícitos, realizan cada paso, únicamente con base en la derivada del punto inicial; los implícitos, toman la información de las derivadas en los puntos iniciales y finales, en cada paso del procedimiento, por lo que son más difíciles de implementar [236-242].

La predicción computacional exacta de las energías de una reacción química (el cambio de entalpía a 0K, ΔH_0 y el ΔE_{VAT} umbral adiabático vibracional), requiere la adición de las energías vibracionales en el punto cero E_{ZPE} , a las energías electrónicas [243]. Para la determinación de la energía del sistema, se pueden utilizar programas computacionales como *Spartan*, *Gaussian* e *Hyperchem*, cuyos métodos se fundamentan en la mecánica molecular, estructura electrónica y funcionales de densidad. Estos dos últimos, utilizan conjuntos base que representan los orbitales moleculares en diferentes niveles de complejidad matemática [46,242].

1.2.2 Resolución Multivariante de Curvas. Optimización mediante Mínimos Cuadrados Alternados (ALS).

Los llamados Métodos Multivariantes de Resolución de Curvas (MCR) comprenden un conjunto de técnicas quimiométricas que permiten obtener una aproximación del

comportamiento del sistema a partir del análisis matemático de los datos experimentales haciendo muy pocas (o ninguna) hipótesis previas sobre la naturaleza o la composición del sistema en estudio. La principal importancia de MCR radica en su utilidad para el seguimiento espectroscópico de una mezcla de reacción, cuyas especies no presentan longitudes de onda selectivas, *i.e.*, el solapamiento espectral entre las bandas correspondientes a diferentes compuestos está presente. Los últimos avances en esta herramienta quimiométrica están relacionados con el modelamiento de procesos cinéticos a través de algoritmos cuyo ajuste con los datos experimentales puede realizarse a través de un modelamiento blando o duro (*Soft modeling o Hard modeling*) [50-54].

Entre los principales autores que trabajan en el área de MCR-ALS están R. Tauler, M. Esteban, J.M. Díaz-Cruz, C. Arino y A. De Juan, los cuales están asociados con instituciones ubicadas principalmente en España. Los temas sobre los que se fundamentan sus publicaciones son: química analítica, bioquímica, genética, biología molecular, ciencias ambientales y matemáticas. A través de Internet se logra acceder gratuitamente a los algoritmos de MCR-ALS que se pueden implementar fácilmente mediante MATLAB [55,168]. A continuación se detallan los fundamentos teóricos de las técnicas quimiométricas empleadas en MCR-ALS.

1.2.2.1 Análisis de Componentes Principales y Métodos de Resolución de Curvas.

El análisis de componentes principales (PCA, *Principal Component Analysis*) [50], permite la descomposición de una matriz de datos D, de la siguiente forma:

$$D = UV^T + E = \check{D} + E \quad \text{Ecuación 1}$$

La descomposición obtenida por PCA origina las matrices ortogonales U y V^T. Donde U y V son las matrices de resultados (*scores*) y cargas (*loadings*), obtenidas para el número de PC seleccionados. E es la matriz de error residual o ruido y $\check{D}$ es la matriz de datos estimada.

La diferencia entre la matriz de datos original D y la matriz de datos reproducida $\hat{D}$ correspondiente a E , se calcula para conocer el nivel de varianza residual no explicada por el número de PC deducidos. Para una matriz de datos bilinear (matriz de datos experimentales que se puede expresar como el producto de una matriz de concentraciones por otra matriz que contenga la señal pura de las especies presentes. Esta condición se satisface para la mayoría de las técnicas espectroscópicas si se cumple la Ley de Lambert-Beer), E debería ser el nivel de ruido o error experimental para el número correcto de PC. Ahora bien, asumiendo que las matrices de datos espectroscópicos obtenidos en el proceso de análisis de experimentos son bilineales, es decir:

$$D = CA$$

Ecuación 2

$$d_{ij} = \sum_k c_{ik} a_{kj}$$

Donde D es la matriz de datos que contiene los espectros adquiridos de forma ordenada a lo largo del proceso (d_{ij} es el componente de la matriz D en la posición ij). C y A son las matrices de los perfiles de concentración y de los espectros de los componentes químicos puros, para el conjunto de componentes espectroscópicamente activos en el intervalo estudiado (c_{ik} es el componente de la matriz C en la posición ik , a_{kj} es el componente de la matriz A en la posición kj). Las dimensiones de las matrices son C ($NS \times NC$) y A ($NC \times NW$), donde NS es el número de espectros adquiridos, NW es el número de canales espectroscópicos (longitudes de onda), y NC es el número de los componentes químicos en la mezcla. El objetivo de MCR es obtener a partir de D las matrices reales C y A físicamente significativas, *i.e.*, soluciones con formas razonables para los espectros y los perfiles de concentración. Tal tarea no puede realizarse sólo con la descomposición mediante el PCA, si no se introduce información adicional. Ya que la **Ecuación 3** tiene un número infinito de soluciones para cualquier matriz de transformación arbitraria T , se presentan ambigüedades rotacionales y de intensidad al resolver C y A , si no se suministra información adicional para restringir el número de soluciones posibles. Ésta es entonces la tarea general de los MCR.

$$\tilde{D} = UV^T = UTT^{-1}V^T = CA$$

Ecuación 3

Ambigüedad de intensidad

Hay una ambigüedad de la intensidad intrínseca a todas las soluciones de los MCR, ya que para cualquier escalar m , se tiene:

$$d_{ij} = \sum c_{ik} a_{kj} + e_{ij}$$

Ecuación 4

$$c_{ik} a_{kj} = \left(c_{ik} m \right) \left(1/m a_{kj} \right) = c'_{ik} a'_{kj}$$

Donde e_{ij} es el componente de la matriz E en la posición ij , c'_{ik} es múltiplo del componente c_{ik} y a'_{kj} es el inverso del múltiplo del componente a_{kj} .

Esto significa que las concentraciones y los espectros estimados se escalarán por algún factor desconocido m , propio para cada componente. Esto no representa un problema serio en análisis cualitativo, pero si lo es para la cuantificación. Normalmente la ambigüedad de intensidad en datos bilineales puede eliminarse utilizando restricciones de sistema cerrado para las concentraciones, normalización o restricciones de igualdad (conocimiento externo, ya sea acerca de los espectros o de los perfiles de concentración).

Ambigüedad de rotación

Esta ambigüedad más importante que la de intensidad, se presenta cuando hay dos o más componentes superpuestos que además son linealmente independientes. El espectro estimado para cualquiera de estos componentes será una combinación lineal desconocida de los componentes verdaderos;

$$a'_k = \sum t_k a_k$$

Ecuación 5

Donde t_k son las constantes de rotación desconocidas, a_k son las unidades verdaderas de los espectros de los componentes puros y a'_k son los espectros estimados para cada uno de los componentes puros.

Selectividad

Para aquellas ventanas de tiempo, durante la corrida de un proceso, donde hay únicamente un componente, no hay ambigüedad rotacional. Esto significa que el PCA o cualquier otra solución proporcionarán las formas correctas para los perfiles de concentración y espectrales. En este último caso, únicamente estará presente la ambigüedad de la intensidad. Para remover la ambigüedad rotacional, es importante detectar las regiones donde la selectividad está presente, porque en estas regiones los espectros y los perfiles de concentración tienen la forma correcta.

En el caso en que el problema químico no permita aplicar ese tipo de restricciones, las soluciones obtenidas se verán inevitablemente afectadas por la ambigüedad. Por lo tanto, surge la necesidad de estimar el intervalo o banda de posibles soluciones obtenidas para el perfil de cada especie en particular. Esta banda está delimitada por límites máximos y mínimos. Estos límites pueden definirse de diferente forma. Uno de los algoritmos más simples para la evaluación de los límites de las bandas (*band boundaries*) se basa en la optimización de una función objetivo que se define por la relación entre la contribución de la señal de cada especie con el total de la señal medida. Implementando diferentes restricciones durante la optimización se reduce considerablemente el ancho o límite de las bandas de las soluciones posibles.

1.2.2.2 Número de componentes en la mezcla.

La determinación de este número está relacionada con la evaluación del nivel de varianza causada por otras fuentes diferentes a la muestra (*e.g.* dispersión de la luz). Si los

componentes químicos tienen una contribución más grande que la del ruido (cambios en la línea base y el *background*), entonces, el número de componentes químicos puede inicialmente estimarse por la comparación de sus respectivos valores singulares (*singular values*). Los valores singulares relacionados con la absorción del *background* y los cambios en la línea base se obtienen en el análisis de las regiones espectrales donde los componentes químicos no absorben. Los valores singulares relacionados con los componentes químicos de interés se obtienen del análisis de las regiones espectrales entre las bandas de absorción. El número de componentes estimados de esta forma se comprueba mediante análisis de factores emergentes (EFA, *evolving factor analysis*) y/o SIMPLISMA (*SIMPL*e-to-use *Interactive Self-modeling Mixture Analysis*). Luego, a través de la optimización con mínimos cuadrados alternados (ALS, *Alternating Least Squared*) se busca aquella solución que se ajuste bien a los datos y tenga significado físico.

Selectividad del sistema y estimación inicial de los perfiles de concentración por EFA

La idea básica de este procedimiento es proporcionar una estimación inicial de los perfiles de concentración, examinando la forma en que los valores singulares asociados con estos componentes evolucionan (o emergen) y cambian en magnitud en el sentido del avance del proceso (EFA *forward*) o en el sentido contrario (EFA *backward*). En este procedimiento, la detección de la presencia de intervalos de selectividad puede resolver la *ambigüedad rotacional*. Otros métodos usados para detectar la selectividad del sistema son el análisis de rango local (*local rank analysis*), análisis de factores por ventanas (*window factor analysis*) y análisis de factores emergentes con ventana móvil de tamaño fijo (*fixed-size moving window evolving factor analysis*).

SIMPLISMA

Método de relativa facilidad de uso en comparación con el análisis de factores basado en la técnica ISMA. Este método permite hallar variables puras en un conjunto de datos experimentales sin la necesidad de realizar el PCA. En términos espectroscópicos una

variable pura es aquella cuya intensidad se debe únicamente a uno de los componentes de la mezcla (*e.g.* un número de onda para FT-IR, etc.) [51,54].

El procedimiento se basa en la evaluación de la desviación estándar relativa de las columnas de la matriz de datos. Una desviación estándar relativa grande indica una pureza alta de la columna. En primer lugar se halla la columna con la desviación estándar relativa mayor. La segunda variable de pureza mayor, además de poseer la siguiente desviación estándar más alta, debe presentar una correlación mínima con la primera variable pura encontrada. Para el análisis de las siguientes variables puras se aplica un factor de ponderación que se evalúa a través de una función para calcular determinantes. Este factor de ponderación indica la independencia entre las variables calculadas y las analizadas. A mayor independencia mayor valor y viceversa.

1.2.2.3 Optimización restringida de los espectros y de los perfiles de concentración por MCR-ALS (*soft modeling*).

A partir de los resultados de EFA o SIMPLISMA se puede obtener la ventana o intervalo de existencia de cada componente, así como también los perfiles de concentración. Estos espectros y perfiles de concentración se utilizan como valores iniciales en un procedimiento de optimización ALS con restricciones. En cada iteración de la optimización se obtiene una nueva estimación de la matriz de espectros A y de la matriz de perfiles de concentración C , para lo cual se usan las dos ecuaciones siguientes:

$$A = C^+ \check{D}$$

Ecuación 6

$$C = \check{D} A^+$$

Ecuación 7

Donde las matrices C^+ y A^+ son las matrices pseudo inversas de C y A . La selección del número correcto de componentes en el cálculo de $\check{D}$ es esencial. El uso de esta matriz en vez de la matriz de datos experimental, D , mejora la estabilidad de los cálculos, ya que en

Ŋ ha sido sustraído el ruido. Para limitar el número de soluciones posibles para estas ecuaciones, se puede aplicar el siguiente conjunto de restricciones.

- *Restricciones para los perfiles de concentración.*
 - a. *No negatividad*: los perfiles de concentración deben ser positivos.
 - b. *Forma*: cuando se conoce la forma característica de los perfiles de concentración de los diferentes componentes, ellos pueden ser usados como restricciones. Un ejemplo típico es la unimodalidad (únicamente un pico por perfil).
 - c. *Sistema cerrado*: en todo momento, la suma de las concentraciones de las especies presentes (o de algunas de ellas) es igual a una constante.

- *Restricciones sobre los valores espectrales*
 - a. *No-negatividad*: los valores espectrales son forzados a ser positivos. Esta condición no se aplica para la derivada de los espectros.

- *Evaluando el número de componentes*

Uno de los aspectos primordiales en la aplicación de MCR es la determinación del número de factores que causan la variabilidad observada en los datos experimentales, lo cual puede tomarse como el rango químico de la matriz de respuestas (*chemical rank*), si se supone que contribuciones como la del ruido instrumental, no son importantes.

En el análisis de *rank* asociado con las matrices de datos obtenidas en el estudio de una reacción química se mostró que el *rank* es igual a $\min(r+1, c)$, donde r es el número de reacciones independientes en el sistema químico y c es el número de especies absorbentes. Por lo tanto, cuando $r+1 < c$, hay deficiencia de *rank*. Cuando el sistema analizado proviene de procesos en evolución, el conjunto de datos obtenidos frecuentemente resulta deficiente de *rank*, es decir, el número de contribuciones significativas a la varianza de los datos, es menor que el número real de especies químicas presentes en el sistema. La deficiencia de *rank* puede ser causada por varias razones, a saber: los perfiles de concentración pueden ser linealmente dependientes de acuerdo con las ecuaciones de balance de masa derivadas de las reacciones químicas, y el solapamiento, tanto en los

espectros como en los perfiles de concentración. Este último puede ser el caso de procesos en los cuales dos o más especies se forman o se consumen durante la reacción a igual velocidad, produciendo perfiles de concentración de igual forma.

La deficiencia de *rank* puede resolverse siguiendo dos metodologías: (a) la construcción de una matriz aumentada ($\mathbf{M}$), ensamblando distintas submatrices correspondientes al análisis del proceso bajo distintas condiciones iniciales linealmente independientes y (b) la perturbación del sistema, por la adición de un componente (reactivo o producto) o una mezcla de ellos durante el proceso. Según M. Amrhein *et al.*, con estas dos procedimientos se consigue un aumento de *rank*, puesto que, se introducen perfiles de concentración cinéticamente independientes, de tal forma que, matemáticamente para el caso (a) se tiene que, el $\text{rank}(\mathbf{M}) = \text{rank}(\check{\mathbf{C}}) = \min(r+m, c)$, y para el (b) el $\text{rank}(\underline{\mathbf{M}}) = \text{rank}(\underline{\check{\mathbf{C}}}) = \min(r+m, c)$ [244]. Donde $\check{\mathbf{C}}$ es la matriz de concentraciones compuesta por submatrices de cada experimento, $\underline{\mathbf{M}}$ es la matriz de datos elaborada con base en la perturbación de la reacción, $\underline{\check{\mathbf{C}}}$ es la matriz de concentración extraída a partir de $\underline{\mathbf{M}}$ y m es el número de submatrices, corridas o condiciones experimentales diferentes.

En general, si el número de componentes es incierto, la optimización con ALS se realiza para todas las posibilidades en números de componentes. Se considera que el número correcto de componentes es aquel que proporciona el mejor ajuste a la matriz de datos experimental $\mathbf{D}$ y soluciones físicamente significativas.

Adicionalmente, hay dos restricciones que pueden ser utilizadas en el análisis de matrices aumentadas:

- *Los componentes comunes tienen un único espectro en todas las matrices de datos que corresponden a sesiones experimentales con diferentes condiciones iniciales:* esta restricción tiene un efecto importante sobre la solución de los perfiles de concentración y de los espectros, en términos de cuantificación. De esta forma se remueven la escala y la ambigüedad de intensidad.

- *Componentes con concentración cero*: cuando no se sabe si un componente está presente en una corrida específica, entonces la concentración de tal componente en C es forzada a ser igual a cero. La pregunta acerca de la presencia o ausencia de un cierto componente en una sesión experimental puede responderse por la inspección de los resultados del análisis individual MCR-ALS sobre cada una de las matrices que conforman la matriz aumentada.

🚦 Parámetros que expresan la calidad del ajuste MCR-ALS

Existen diferentes parámetros a partir de los cuales se puede obtener información acerca de la bondad del ajuste realizado mediante MCR-ALS. Entre ellos se encuentran: LOF (*lack of fit*), R^2 y r [54]. El LOF expresa la falta de ajuste entre las matrices D y $\vec{D}$, y R^2 representa el porcentaje de varianza explicada por $\vec{D}$, a saber:

$$LOF = \sqrt{\frac{\sum_i \sum_j (d_{ij} - \vec{d}_{ij})^2}{\sum_i \sum_j d_{ij}^2}} \quad \text{Ecuación 8}$$

$$R^2 = \frac{\sum_i \sum_j \vec{d}_{ij}^2}{\sum_i \sum_j d_{ij}^2} \quad \text{Ecuación 9}$$

Donde d_{ij} y $\vec{d}_{ij}$ representan cada uno de los elementos de la matrices D y $\vec{D}$.

Adicionalmente, para el caso en el que se posea información acerca de los perfiles espectrales reales de los componentes puros, es conveniente utilizar el criterio de similitud r , que evalúa la correlación existente entre los perfiles espectrales estimados mediante MCR-ALS ($\hat{S}_i$) y los espectros puros reales (S_i), así:

$$r = \cos \gamma = \frac{\vec{S_i}^T \vec{S_i}}{\|\vec{S_i}\| \|\vec{S_i}\|} \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde γ es el ángulo definido por los vectores asociados con $\hat{S}_i$ y S_i .

1.2.2.4 Técnica de modelado duro (*hard modeling*).

Las técnicas de modelado duro para el ajuste de datos experimentales se basan en relaciones matemáticas que describen de forma cuantitativa las medidas. En cinética química, el análisis mediante estas técnicas de modelado con mínimos cuadrados, está basado en el conocimiento del modelo cinético o mecanismo de reacción que describe cuantitativamente la reacción, *i.e.*, las concentraciones de las especies presentes en el sistema [52,53].

El ajuste mediante mínimos cuadrados consiste en encontrar el conjunto de parámetros para los cuales la suma sobre todos los cuadrados (SSQ) de los elementos de la matriz de error, E, es mínima. Esta suma crucial es función de los datos experimentales, D, el modelo y los parámetros, a saber:

$$\text{SSQ} = f(\text{D, modelo, parámetros}) \quad \text{Ecuación 11}$$

Hay dos tipos de parámetros: (a) las constantes de velocidad, que junto con el modelo cinético, definen la matriz de concentraciones C y; (b) las absorptividades molares de todas las especies reactantes, que son elementos de la matriz A^+ y parámetros lineales. Sin embargo, la SSQ puede definirse únicamente en función de los parámetros no lineales (las constantes de velocidad).

El aspecto más difícil del modelado duro es la determinación del modelo cinético correcto. El proceso de ajuste de varios modelos y comparar los resultados puede ser tedioso.

Usualmente se escoge el modelo más simple que ajuste adecuadamente los datos con el menor error posible, lo que no prueba necesariamente que el modelo sea correcto. Además, resulta importante reconocer que el modelado duro basado en el mecanismo de reacción no describirá artefactos tales como la deriva de la línea base. De tal forma que, si los datos son directamente analizados ignorando la interferencia, los resultados tendrán un gran porcentaje de error.

1.2.2.5 Mezcla de técnicas de modelado blando y duro (MCR-ALS con ajuste cinético).

Otra posibilidad para el análisis de datos espectroscópicos procedentes de la monitorización de reacciones consiste en una estrategia capaz de combinar los métodos de modelado blando y duro. Así, la flexibilidad ligada a los métodos de modelado blando permite modelar contribuciones diferentes a aquellas relacionadas con el proceso de reacción estudiado o analizar simultáneamente experimentos diferentes, mientras que, gracias al modelado duro, es posible obtener las constantes cinéticas vinculadas a la reacción [52,53].

Los perfiles cinéticos (C) obtenidos en el modelado blando son los parámetros de entrada para un ajuste cinético multivariable. El ajuste se hace directamente sobre los perfiles de concentración sin tener en cuenta las contribuciones espectrales (parámetros lineales). Los perfiles cinéticos resultantes reemplazan los perfiles derivados mediante MCR-ALS convencional y como información adicional se obtienen las constantes de velocidad del proceso. Al incluir el paso del ajuste cinético del modelado duro en el procedimiento de resolución, decrece significativamente la ambigüedad rotacional asociada con la técnica de modelado suave. Además, permite analizar sistemas en los cuales se desconoce la concentración de partida de los reactivos. Por otra parte, algunas de las especies presentes en el sistema pueden modelarse de manera blanda (aquellas que no están vinculadas al modelo cinético subyacente), mientras que, las especies de interés son ajustadas al modelo cinético propuesto. De todas maneras, la obtención de buenos resultados está condicionada a la correcta selección del modelo que se emplea como restricción.

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Este trabajo se elaborará en dos etapas generales, a saber: (1) el establecimiento de los QSAR entre las capacidades antioxidantes y los descriptores teóricos de anilinas sintéticas 13-34; y (2) la construcción del perfil de la alquilación electrofílica intramolecular de las *orto*-alilanilinas 1 y 2, con base en datos cinéticos y computacionales.

2.1 OBTENCIÓN DE QSAR

La capacidad antioxidante de las anilinas 13-34, se evaluó con los ensayos colorimétricos que utilizan los radicales DPPH[•] y ABTS^{•+}. El ensayo con el radical DPPH[•] se efectuó según el procedimiento de W. Brand-Williams, *et al.* [124]. La prueba con el cation radical ABTS^{•+} se ejecutó de acuerdo con el método reportado por R. Re, *et al.* [125]. Los blancos se realizaron por adición de alícuotas de los solventes. Los datos fueron adquiridos en un espectrofotómetro VIS JENWAY 6300 con cubetas plásticas desechables (1 cm x 1 cm x 4.5 cm). Los valores de TEAC y EC₅₀ obtenidos, se relacionaron a través de modelos de regresión lineal múltiple con los descriptores teóricos apropiados, calculados para las estructuras de las anilinas 13-34, por medio de los programas MOLDES (Tartu State University, Tartu, Estonia) [8] y *Gaussian* 03 [245]. Las gráficas obtenidas en la evaluación de la actividad antioxidante para las anilinas 25, 26, 33 y 34 se indican en el **Anexo 1**.

2.1.1 Reactivos y materiales.

La vitamina E (97%) fue adquirida de Aldrich Chemical Co (Milwaukee WI 53233, USA); el DPPH y ABTS^{•+} fueron obtenidos de Sigma-Aldrich Chemie GmbH (89552 Steinheim, Germany 49-7329-970); el metanol y el etanol, grado HPLC, se obtuvieron de Mallinckrodt (Phillipsburg, NJ 08865, USA). Las anilinas fueron sintetizadas por L. Y. Vargas (13-24 y 27-32) y G. Tafurt (25, 26, 33 y 34) en el LQOBio de la UIS, bajo la dirección del Prof. Dr. V. Kouznetsov. En las **Tablas 1 y 2** se indican la estructura y la pureza de las anilinas 13-34.

Tabla 1. Estructuras y pureza de las anilinas 13-26.

Anilina	Pureza por GC (%)	Ar				Piridilo
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	
<u>13</u>	98	H	H	CH ₃	H	2' (α)
<u>14</u>	99	H	H	CH ₃	H	3' (β)
<u>15</u>	99	H	H	CH ₃	H	4' (γ)
<u>16</u>	90	H	CH ₃	H	CH ₃	2' (α)
<u>17</u>	98	H	CH ₃	H	CH ₃	3' (β)
<u>18</u>	99	H	CH ₃	H	CH ₃	4' (γ)
<u>19</u>	98	H	H	I	H	2' (α)
<u>20</u>	99	H	H	I	H	3' (β)
<u>21</u>	99	H	H	I	H	4' (γ)
<u>22</u>	95	H	NO ₂	H	H	2' (α)
<u>23</u>	97	H	NO ₂	H	H	3' (β)
<u>24</u>	96	H	NO ₂	H	H	4' (γ)
<u>25</u>	96	H	H	OCH ₃	H	4' (γ)
<u>26</u>	93	OCH ₃	H	H	H	4' (γ)

Tabla 2. Estructuras y pureza de las anilinas 27-34.

N-Bencilanilina	Pureza por GC (%)	Ar				Ar'	
		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₁ '	R ₂ '
<u>27</u>	99	H	H	CH ₃	H	NH ₂	H
<u>28</u>	90	H	H	H	H	H	N(CH ₃) ₂
<u>29</u>	98	H	H	H	H	OCH ₃	OH
<u>30</u>	96	H	H	H	H	H	OH
<u>31</u>	99	H	H	H	H	H	OCH ₃
<u>32</u>	97	H	NO ₂	H	H	H	OCH ₃
<u>33</u>	91	H	H	OCH ₃	H	OCH ₃	OH
<u>34</u>	96	OCH ₃	H	H	H	OCH ₃	OH

2.1.2 Actividad antioxidante.

2.1.2.1 Ensayo con ABTS⁺.

Se disolvió ABTS (38.5 mg) en agua destilada (10 mL) y se adicionó persulfato de potasio (6.90 mg). La solución final se dejó en reposo, durante 20 horas a temperatura ambiente y en la oscuridad, con el objeto de obtener el cation radical ABTS⁺. Una alícuota de la solución de ABTS⁺, se diluyó en etanol hasta conseguir una absorbancia de 0.70 ($\pm$ 0.20) a 734 nm. Se realizó una curva de calibración con el antioxidante de referencia Trolox, para lo cual se graficó la disminución de la absorbancia (dA), producida 6 min después de la adición de 30 μ L de mezclas patrón (0.25-1.98 mM) sobre 3 mL de la solución de ABTS⁺ (0.70 $\pm$ 0.20). Una vez obtenida la ecuación de regresión lineal (dA vs mmol de Trolox), se prepararon cinco mezclas de concentración conocida de cada una de las anilinas 13-34, y se evaluó la disminución que tales mezclas causaban en la absorbancia de la solución de ABTS⁺, así como con el Trolox. La TEAC de las anilinas 13-34 se estimó con respecto al Trolox (mmol Trolox/mmol anilina), utilizando la relación entre la pendientes de la curvas de las anilinas (gráfica dA vs mmol anilina) y la del Trolox (gráfica dA vs mmol Trolox).

2.1.2.2 Ensayo con DPPH.

Inicialmente, se elaboró una curva de calibración (λ = 514 nm), con soluciones patrón de DPPH[•] disuelto en etanol. Una vez obtenida la ecuación de regresión lineal entre la absorbancia y la concentración de DPPH[•] (μ M), se tomaron 2.5 mL de la solución de DPPH[•] (90 $\pm$ 5 μ M), para realizar las respectivas mediciones de actividad antioxidante. Primero se llevó a cabo la medición del estado estacionario, que en este caso se define como el tiempo en el cual la absorbancia o concentración de DPPH[•] deja de disminuir (o en su defecto la disminución entre dos lecturas consecutivas es menor del 10%), después de la adición de 0.5 mL de solución de la sustancia a evaluar sobre solución de DPPH[•] (2.5 mL, 90 $\pm$ 5 μ M). Mediante este procedimiento se estimaron los estados estacionarios para cinco valores de concentraciones diferentes de las anilinas 13-34. Con base en los datos obtenidos

(absorbancia DPPH vs tiempo), se elaboraron las gráficas de DPPH remanente (%) vs EC (concentración efectiva, μM anilina/ μM DPPH inicial), a partir de las que se interpolaron los valores de las EC_{50} (μM anilina/ μM DPPH inicial), para las anilinas 13-34.

2.1.3 Descriptores moleculares.

Mediante el *software* MOLDES (Tartu State University, Tartu - Stonia) [8], se obtuvieron 86 descriptores moleculares con base en las geometrías optimizadas de las anilinas 13-34 (constitucionales, geométricos, topológicos, de información y de distribución de carga). Con el programa Gaussian 03W [245], se utilizaron el método computacional y el conjunto base: Restricted Hartree-Fock, RHF y CEP-31G [246], para el cálculo de los descriptores mecano-cuánticos: EE, E_{HOMO} , E_{LUMO} , MD y polarizabilidad en la orientación zz (α_{zz}).

2.1.4 QSAR.

Los descriptores teóricos apropiados para construir los modelos se seleccionaron a través de procedimientos matemáticos incluidos en el programa STATISTICA 6.0 (Stat Soft, Inc, Tulsa – EE.UU.), entre los cuales se encuentran técnicas de MLR y PCA. La regresión lineal de componentes principales (PCR, *Principal Components Regression*) y la MLR se utilizaron para establecer las relaciones cuantitativas entre las capacidades antioxidantes medidas experimentalmente y los descriptores teóricos escogidos. La QSAR con mejor capacidad de predicción y ajuste lineal se estableció mediante parámetros como: $q^2_{\text{CV-LOO}}$ (derivado del procedimiento de validación cruzada LOO), el error estándar del valor estimado (SE), el valor de Fisher con el 95% límite de confianza (F) y r^2 , calculados para las anilinas 13-34. Las ecuaciones utilizadas se indican a continuación [31]:

$$q^2_{\text{CV-LOO}} = \frac{\text{SD} - \text{PRESS}}{\text{SD}} \quad \text{Ecuación 12}$$

$$SD = \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2$$

Ecuación 13

$$PRESS = \sum_{i=1}^n (y_i - y_i^*)^2$$

Ecuación 14

$$r^2 = \frac{ESS}{SD}$$

Ecuación 15

$$ESS = \sum_{i=1}^n (y_{iest} - \bar{y})^2$$

Ecuación 16

$$F(v_1 v_2) = \frac{MSE}{MSR}$$

Ecuación 17

$$RSS = \sum_{i=1}^n (y_i - y_{iest})^2$$

Ecuación 18

Donde;

y_i : actividad antioxidante medida experimentalmente (TEAC, EC₅₀); $\bar{y}$: valor promedio de la actividad antioxidante experimental para los n casos (moléculas); y_{iest} : valor estimado de la actividad antioxidante para el caso i incluído en la ecuación de MRL; y_i^* : actividad antioxidante estimada para el caso i excluído en el diseño de la ecuación de MRL mediante validación cruzada LOO; MSE: *explained mean square*, equivale a ESS *explained sum of squares*; MSR: *residual mean square*, equivale a RSS/(n-2) (*residual or unexplained sum of squares*); v_1 : p grados de libertad de MSE correspondientes a las variables independientes de la ecuación; y v_2 : $n-p-1$ grados de libertad de MSR.

Para el primer modelo matemático de TEAC, se seleccionaron 8 descriptores mediante MLR *backward* entre 14 descriptores y la TEAC. Estos 14 se escogieron entre 28 que presentaron coeficientes de autocorrelación menor que 0.8. El segundo modelo de TEAC se elaboró con base en 9 PC, extraídos de la MLR *forward* entre 17 PC y los valores de TEAC. Estos últimos PC resultaron del PCA inverso sobre los 28 descriptores anteriormente mencionados. Los modelos 3 y 4 de TEAC fueron elaborados sin algún

procedimiento especial para la selección de los descriptores, que además se utilizaron sin autoescalado. Los descriptores utilizados se indican en el **Anexo 2**.

Para el diseño del primer modelo de EC₅₀, se eligieron 12 descriptores moleculares (autoescalados según las **Ecuaciones 19 y 20**), mediante un procedimiento de regresión lineal múltiple MLR *backward* entre 14 descriptores y la EC₅₀. Estos 14 se extrajeron entre 28, por exhibir el mayor grado de correlación con la EC₅₀. A su vez, los 28 descriptores se seleccionaron a partir de la matriz de correlación de los 87 descriptores totales por exhibir coeficientes de autocorrelación inferiores a 0.8 (la matriz no contenía a α_{zz} y 3 de los descriptores computados que no presentaron desviación estándar). Los modelos 2-5 de EC₅₀, fueron elaborados sin algún procedimiento especial para la selección de los descriptores y sin autoescalado. Los descriptores utilizados se indican en el **Anexo 3**.

$$X_{ij}^* = \left[\frac{X_{ij} - \bar{X}_j}{\sigma_j} \right] \quad \text{Ecuación 19}$$

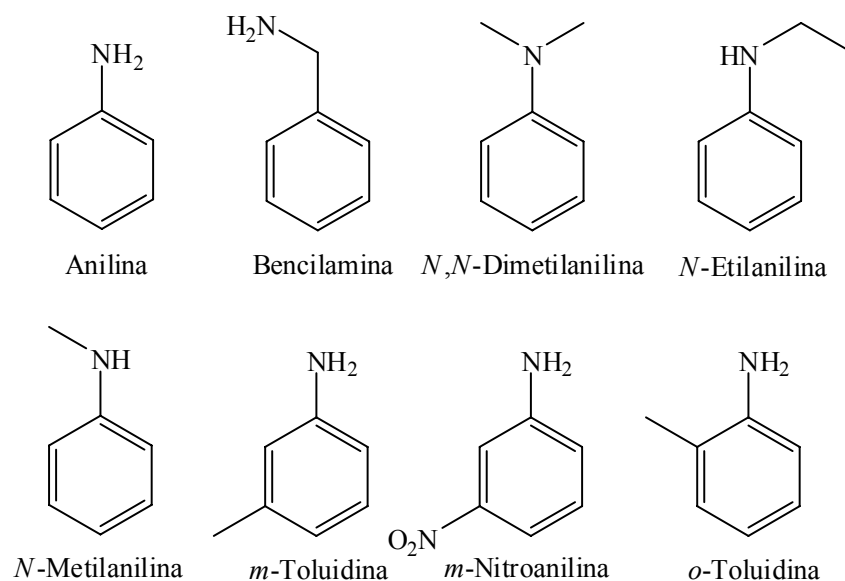
$$\sigma_j = \sqrt{\sum \left[\frac{(X_{ij} - \bar{X}_j)^2}{(N-1)} \right]} \quad \text{Ecuación 20}$$

Donde; X_{ij}^* : valor autoescalado para la fila i de la variable j; $\bar{X}_j$: valor promedio de la variable j para los N casos; y σ_j : valor de la desviación estándar.

2.1.5 Potenciales de ionización (IP).

Los IP de las anilinas 13-34 se obtuvieron mediante el cálculo computacional de las energías de los orbitales moleculares HOMO (teorema de Koopman) [45]. Para tal efecto se utilizaron el método RHF y el conjunto base CEP-121G del programa Gaussian 03W [245,246]. El conjunto base CEP-121G fue escogido previamente entre los conjuntos SDD,

LANDL2DZ y LANL2MB, ya que al ser valorado en las moléculas de prueba indicadas en el **Esquema 6**, presentó la mayor exactitud, según lo mostrado en la **Tabla 3**. Las moléculas de ensayo fueron escogidas entre las aminas cuyos IP en fase gaseosa aparecen reportados en el *Handbook of Chemistry and Physics* [247].



Esquema 6. Aminas usadas como moléculas de prueba.

Tabla 3. IP (IP= $-E_{\text{HOMO}}$) de aminas usadas como moléculas de prueba.

Nombre	IP (ev)							
	IP ^a	Método						Error
		LANL2DZ	Error	SDD	Error	CEP121G	Error	
Anilina	7.72	7.79	-0.91	7.80	-0.98	7.78	-0.77	22.79
Bencilamina	8.64	8.99	-4.09	9.00	-4.17	8.98	-3.89	12.84
<i>N,N</i> -Dimetilanilina	7.12	7.47	-4.91	7.47	-4.98	7.46	-4.78	20.06
<i>N</i> -Etilanilina	7.67	7.57	1.30	7.58	1.22	7.57	1.36	17.57
<i>N</i> -Metilanilina	7.24	7.60	-5.03	7.61	-5.10	7.60	-4.91	19.75
<i>m</i> -Toluidina	7.5	7.72	-2.88	7.72	-2.95	7.71	-2.75	21.32
<i>m</i> -Nitroanilina	8.31	8.75	-5.33	8.76	-5.40	8.72	-4.92	19.04
<i>o</i> -Toluidina	7.44	7.67	-3.05	7.67	-3.12	7.66	-2.97	21.49
			3.44 ^b		3.49		-2.96	19.36

^aObtenidos del *Handbook of Chemistry and Physics* como los IP en fase gaseosa.

^bValor promedio de los errores relativos de las aminas utilizadas como moléculas de prueba.

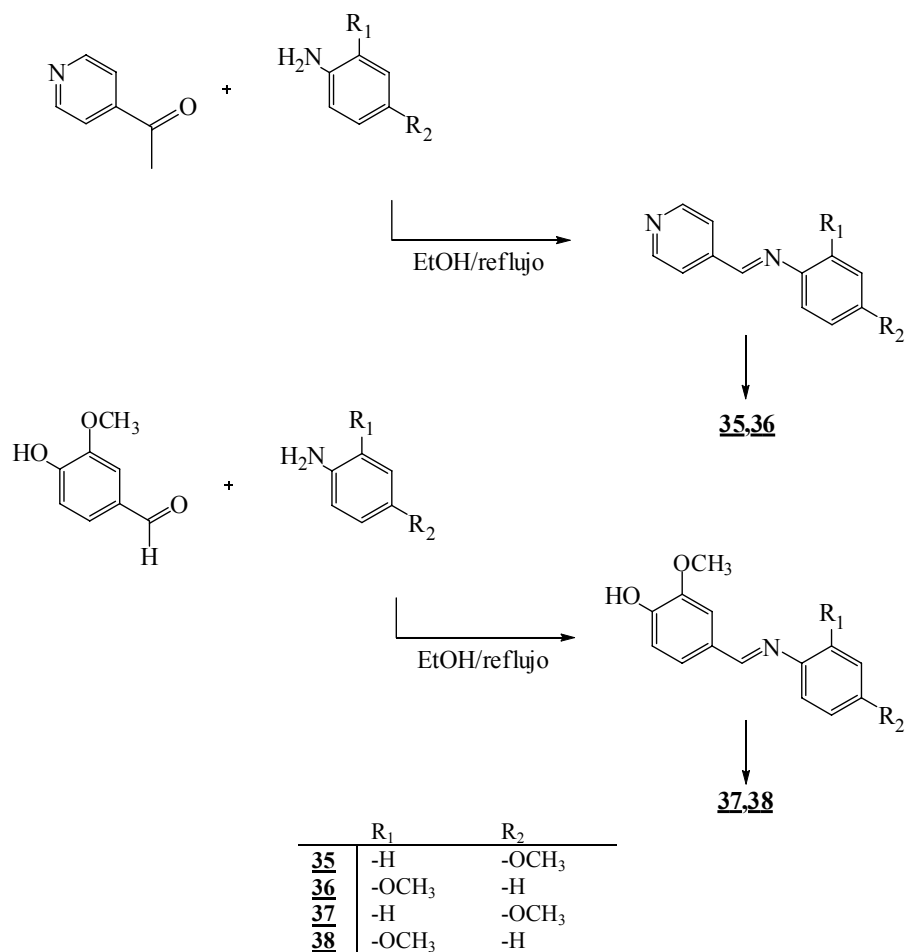
2.1.6 SÍNTESIS DE ANILINAS 25, 26, 33 y 34.

Con base en las actividades antioxidantes de las anilinas 13-24 y 27-32, utilizadas como moléculas de entrenamiento en los QSAR, se orientó la síntesis hacia las anilinas 25, 26, 33 y 34, bajo la guía del Prof. Dr. V. Kouznetsov. En el **Anexo 4** se muestran los resultados obtenidos en estas síntesis.

Los reactivos empleados en las diferentes reacciones y como eluyentes para cromatografía en columna fueron grado Síntesis de J.T. Baker, Mallinckrodt, Aldrich y Merck, usados sin purificación adicional. El metanol y tolueno se secaron previamente a su uso. El metanol se mantuvo en reflujo sobre virutas de magnesio por 4 horas, se destiló y recogió sobre tamiz molecular de 4 Å. El tolueno se mantuvo en reflujo sobre cloruro de calcio anhidro por 6 horas, se destiló y recogió sobre sodio metálico. El avance de las reacciones se controló por cromatografía de capa fina sobre cromatofolios AL-TLC de silica gel 60 F254 (Merck), que se revelaron en una cámara UV-Vis (CAMAG), a la longitud de onda de 254 nm. La evaporación a sequedad se realizó en un equipo Büchi (*Vacuum controller* V-800, *Rotavapor* R-205, *Heating bath* B-490). Los puntos de fusión (no corregidos) de las sustancias cristalinas obtenidas se determinaron en un fusiómetro FISHER-JOHNS. Los espectros de infrarrojo se tomaron en el espectrofotómetro BRUKER TENSOR 27 FTIR, empleando pastillas de bromuro de potasio para las sustancias sólidas y ventanas de cloruro de cesio para las sustancias líquidas. Los cromatogramas y los espectros de masas se registraron en un cromatógrafo de gases HP 5890A Serie II acoplado a un detector selectivo de masas HP 5972 (70 eV). Los espectros de resonancia magnética nuclear de la anilina 22 se obtuvieron en un equipo Bruker-Avance DRX 400 (400 MHz RMN ^1H , 100 MHz RMN ^{13}C), usando CDCl_3 como solvente y referencia interna.

2.1.6.1 Síntesis de aldminas 35-38.

A través de reacciones de condensación se obtuvieron las aldminas 35-38, indicadas en el **Esquema 7**.

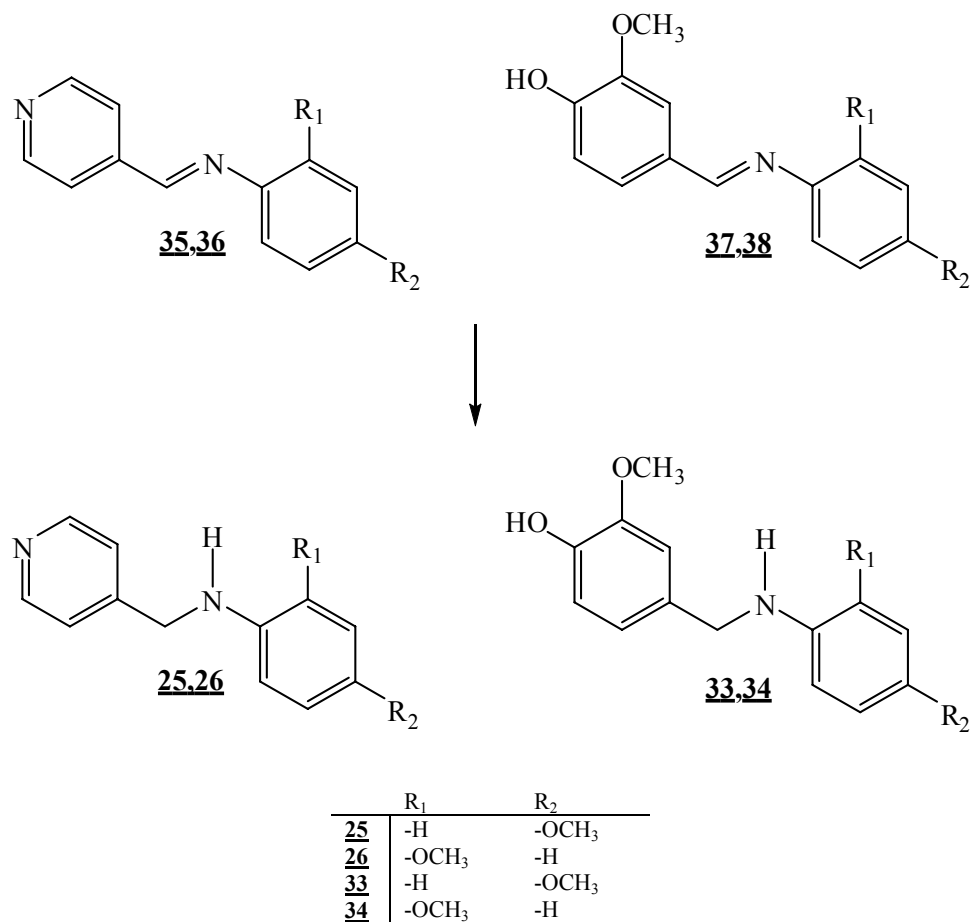


Esquema 7. Síntesis de aldiminas 35-38.

La anilina (16 mmol) y el aldehído (16 mmol) se homogeneizaron en etanol (50 mL) a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla se calentó a reflujo durante 24 h, se concentró al vacío y el producto se usó sin purificación para la síntesis de la anilina correspondiente.

2.1.6.2 Síntesis de anilinas 25, 26, 33 y 34.

Las aldiminas 35-38 se transformaron a sus respectivas anilinas 25, 26, 33 y 34, en presencia de borohidruro de sodio (NaBH₄), según lo expuesto en el **Esquema 8**.



Esquema 8. Síntesis de anilinas 25, 26, 33 y 34.

La reacción se llevó a cabo en un balón fondo redondo de 250 mL con la aldimina (2 mmol) disuelta en metanol. Porciones de NaBH₄ sólido (6 mmol) se adicionaron a la solución mantenida en agitación sobre un baño de hielo. El final de la reacción fue confirmado por GC-FID. Se adicionó agua (50 mL), y el producto fue extraído con diclorometano (3x50 mL). La solución se secó con sulfato de sodio anhidro y para su limpieza se hizo pasar a través de una columna rellena con gel de sílice. El extracto así obtenido se evaporó por rotación hasta sequedad y se caracterizó por IR y GC-MSD.

2.2 Evaluación de la reactividad química en la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts. Obtención de dihidrodibenzo[*b,e*]azepinas y tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocinas

2.2.1 Cinética preliminar mediante GC-FID.

La *orto*-alilnilina **1** disuelta en cloroformo (1 mL) se adicionó sobre ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄, 1 mL), mantenido previamente en un reactor de vidrio borosilicato (1 cm de id), con control de agitación y temperatura. Los ensayos se realizaron por triplicado, para relaciones molares [H₂SO₄]/[*orto*-alilnilina] de 43, 64, 86 y 107; velocidades de agitación de 1000, 1250 y 1600 rpm y temperaturas de 0, 10, 20 y 30 °C. El seguimiento tipo *batch* de la reacción se realizó a partir de la extracción de alícuotas (10 µL) de la fase de H₂SO₄, a intervalos de tiempo predeterminados. Para realizar esto último se detuvo la agitación. Las alícuotas fueron neutralizadas sobre solución de carbonato de sodio (Na₂CO₃, 1 mL, 4% p/v), lavadas con agua (10 mL) y extraídas con cloroformo (1 mL). Una alícuota de cloroformo (400 µL) se adicionó sobre la solución del estándar interno difenilamina (STDI, 100 µL, 5±1E-03 M), que previamente se depositó en un tubo cónico *eppendorf*. La solución final se colocó en un vial (500 µL), se inyectó (1.0 µL) y analizó por GC-FID. Los analitos fueron identificados mediante GC-MSD.

Los parámetros cinéticos se determinaron con base en las gráficas que expresaban el cambio de concentración de dihidrodibenzo[*b,e*]azepina con el tiempo. A partir del ajuste de las gráficas $\ln((C_e)/(C_e - C_t))$ vs tiempo (s) se obtuvieron las constantes de velocidad $k(T)$ y el orden de reacción. Donde, C_e y C_t son las concentraciones de dihidrodibenz[*b,e*]azepina en el equilibrio y en el tiempo t , respectivamente.

2.2.1.1 Análisis GC-FID.

Para el análisis de los productos de la reacción de ciclación, se utilizó un cromatógrafo de gases modelo HP-5890A *Series II* (Hewlett-Packard, Palo Alto, California, EE.UU.),

acoplado a un FID (*Hewlett-Packard*, Palo Alto, California, EE.UU.), dotado con un puerto de inyección *split/splitless* (*split* 5:1), sistema de inyección automática HP 6890 Series (*Hewlett-Packard*, Palo Alto, California, EE.UU.) y un sistema computarizado de datos MSChemStation Rev. A.06.03 [509] (*Hewlett-Packard*, Palo Alto, California, EE.UU.).

Se empleó una columna HP-5 (*Hewlett-Packard*, Palo Alto, California, EE.UU.), con fase estacionaria de 5%-fenilpoli(metilsiloxano) de 30 m x 0.32 mm (d.i.) x 0.25 μm (d_f) y helio (99.995%, *Aga Fano S.A.*, Bucaramanga, Colombia) como gas de arrastre (1 mL/min, 50 °C), con una presión de entrada en la cabeza de la columna de 105 kPa. La temperatura del horno se programó desde 100 °C (5 min), luego a 10 °C/min hasta 250 °C (20 min).

2.2.1.2 Análisis GC-MSD.

Para el reconocimiento de los productos de la reacción de ciclación (ver **Anexo 5**), se utilizó un cromatógrafo de gases modelo HP-5890A *Series II* (*Hewlett-Packard*, Palo Alto, California, EE.UU.), acoplado a un FID y a un detector selectivo de masas HP 5972 (*Hewlett-Packard*, Palo Alto, California, EE.UU.), dotado con un puerto de inyección *split/splitless* (*split* 30:1), sistema de inyección automática HP 6890 Series (*Hewlett-Packard*, Palo Alto, California, EE.UU.) y un sistema computarizado de datos MSChemStation Rev. G1701BA Version B.01.00 (*Hewlett-Packard*, Palo Alto, California, EE.UU.), con las bibliotecas de espectros de masas de NBS75K y Wiley 138K.

Se empleó una columna HP-5MS (*Hewlett-Packard*, Palo Alto, California, EE.UU.), con fase estacionaria de 5%-fenilpoli(metilsiloxano) de 30 m x 0.32 mm (d.i.) x 0.25 μm (d_f) y helio (99.995%, *Aga Fano S.A.*, Bucaramanga, Colombia) como gas de arrastre (1 mL/min, 50 °C), con una presión de entrada en la cabeza de la columna de 105 kPa. La temperatura del horno se programó desde 100 °C (3 min), luego a 10 °C/min hasta 200 °C (5 min) y a 15 °C/min hasta 280 °C (40 min). Las temperaturas de la cámara de ionización y de la línea de transferencia fueron 180 y 285 °C, respectivamente. Los espectros de masas se obtuvieron por impacto de electrones (EI, 70 eV), usando un analizador cuadrupolar, las

corrientes iónicas reconstruidas se extrajeron por barrido automático de radiofrecuencia, en el intervalo de masas m/z 40-410, a 2.11 scan s^{-1} .

2.2.1.3 Síntesis de las *orto*-alilanilinas 1 y 2.

Las *orto*-alilanilinas 1 y 2, utilizadas en los ensayos cinéticos descritos en el **Numeral 2.2.1** se prepararon bajo la orientación del Dr. A. Palma (LSO-UIS), a través de las siguientes reacciones consecutivas reportadas por J. Jaimes y S.L. Gómez [11,248]: 1. Preparación de aldiminas; 2. Elaboración de *N*-bencilanilinas; 3. Obtención de *N*-alil-*N*-bencilanilinas; y 4. Transposición amino-Claisen de *N*-alil-*N*-bencilanilinas, promovida por ácidos de Lewis. En el **Anexo 6** se muestran los resultados obtenidos en estas síntesis.

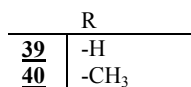
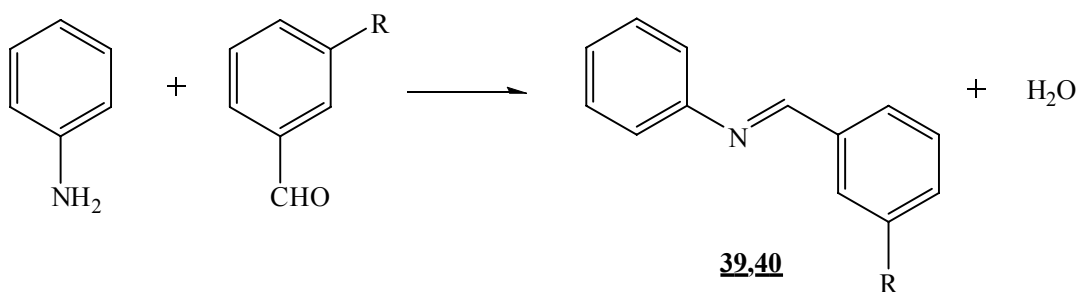
2.2.1.3.1 Reactivos y materiales.

Los reactivos empleados en las diferentes reacciones y como eluyentes para cromatografía en columna fueron grado síntesis, de J.T. Baker, Mallinckrodt, Aldrich, Merck, Fluka y Riedel-de Haën, usados sin purificación adicional. El metanol y la acetona se secaron previamente a su uso. El metanol se mantuvo en reflujo sobre virutas de magnesio por 4 horas, se destiló y recogió sobre tamiz molecular de 4 Å. La acetona se mantuvo en reflujo sobre cloruro de calcio anhidro por 6 horas, se destiló y recogió sobre el mismo desecante. El avance de las reacciones se controló por cromatografía de capa fina sobre cromatofolios AL-TLC de sílica gel 60 F254 (Merck), que se revelaron en una cámara UV-Vis marca CAMAG a 254 nm. La separación y la purificación de los productos obtenidos se realizaron por cromatografía en columna, utilizando gel de sílice (60-230 Mesh) como soporte y eluyendo con mezclas de heptano-acetato de etilo, con aumento gradual de la polaridad. Para concentrar las mezclas de reacción se utilizó un rotaevaporador Büchi B-169. Los espectros IR se adquirieron en los espectrofotómetros NICOLET AVATAR 360 FTIR y BRUKER TENSOR 27 FTIR, empleando pastillas de bromuro de potasio para las sustancias sólidas y ventanas de cloruro de cesio para las sustancias líquidas. Los

cromatogramas y los espectros de masas se registraron en un cromatógrafo de gases HP 5890A Serie II acoplado a un detector selectivo de masas HP 5972 (70 eV).

2.2.1.3.2 Síntesis de aldiminas 39 y 40.

Las aldiminas 39 y 40, indicadas en el **Esquema 9**, se obtuvieron a través de reacciones de condensación.

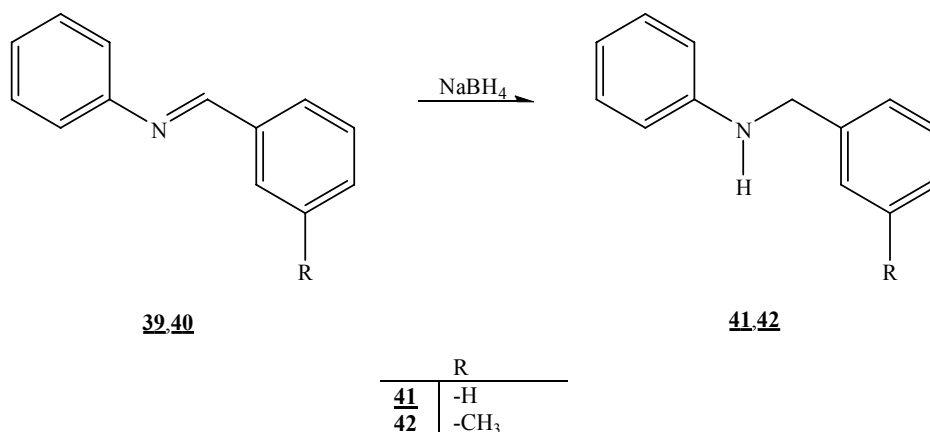


Esquema 9. Síntesis de aldiminas 39 y 40.

La anilina (51.48 mmol) y el aldehído (51.48 mmol) se homogeneizaron en etanol (50 mL) a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla se calentó a reflujo durante 8 h. Luego, se concentró al vacío y el producto fue utilizado sin purificación para la síntesis de las *N*-bencilanilinas 41 y 42.

2.2.1.3.3 Síntesis de *N*-bencilanilinas 41 y 42.

Las aldiminas 39 y 40 se transformaron en las *N*-bencilanilinas 41 y 42, mediante reacciones de reducción con NaBH₄, según lo expuesto en el **Esquema 10**.

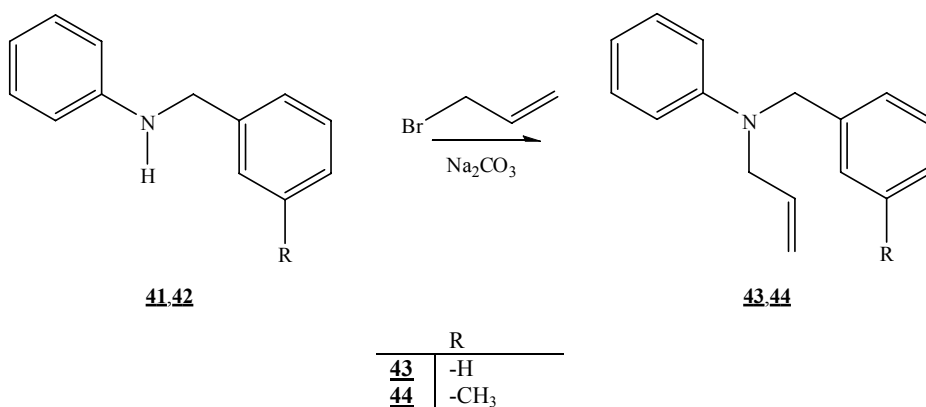


Esquema 10. Síntesis de *N*-bencilanilinas 41 y 42.

La reacción se llevó a cabo en un balón fondo redondo de 250 mL con la aldimina (18.10 mmol) disuelta en metanol. Porciones de NaBH₄ sólido (54.31 mmol) se adicionaron a la solución mantenida en agitación. Después de 6 horas se adicionó agua y se mantuvo en reflujo durante 10 horas. El final de la reacción se confirmó por GC-FID. El producto fue extraído con diclorometano (3x50 mL) y recogido sobre sulfato de sodio anhidro. Luego, se hizo pasar a través de una columna rellena con gel de sílice. El extracto se evaporó por rotación hasta sequedad y se caracterizó por IR y GC-MSD.

2.2.1.3.4 Síntesis de *N*-alil-*N*-bencilanilinas 43 y 44.

Las *N*-alil-*N*-bencilanilinas 43 y 44 fueron obtenidas como se muestra en el **Esquema 11**.

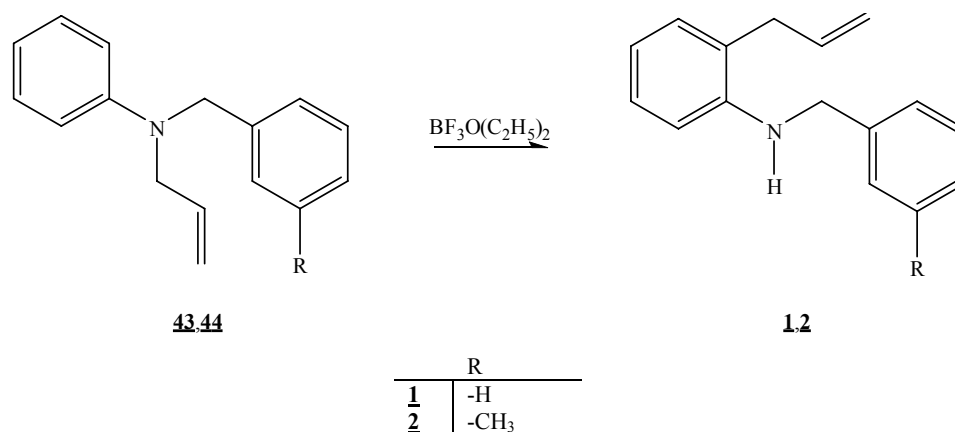


Esquema 11. Síntesis de *N*-alil-*N*-bencilanilinas 43 y 44.

La reacción se llevó a cabo en un balón fondo redondo de dos bocas de 100 mL con la amina (10.26 mmol) disuelta en acetona anhidra. Na_2CO_3 (15.37 mmol) y bromuro de alilo (15.37 mmol) se adicionaron a la solución mantenida en agitación. Después del reflujo (24 h), el final de la reacción fue confirmado por TLC y la solución fue filtrada. El extracto se evaporó por rotación hasta sequedad. La *N*-alil-*N*-bencilanilina se purificó por cromatografía en columna rellena con gel de sílice por elución con *n*-heptano.

2.2.1.3.5 Síntesis de *orto*-alilanilinas 1 y 2.

Las *orto*-alilanilinas 1 y 2 se obtuvieron a través de reacciones de transposición amino-Claisen sobre las *N*-alil-*N*-bencilanilinas 43 y 44, en presencia de dieterato de trifluoruro de boro ($\text{BF}_3\text{O}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$), según se indica en el **Esquema 12**.



Esquema 12. Síntesis de *orto*-alilanilinas 1 y 2.

La reacción se llevó a cabo en un balón fondo redondo de 100 mL con la *N*-alil-*N*-bencilanilina (5.65 mmol) disuelta en dieterato de trifluoruro de boro (8.68 mmol). Después del reflujo (5 h, $150 \pm 10^\circ\text{C}$), el final de la reacción fue confirmado por TLC. Se adicionó una solución acuosa de Na_2CO_3 (pH de la solución final 9). El producto fue extraído con cloroformo (3x50 mL), recogido sobre sulfato de sodio anhidro. Luego se hizo pasar a través de una columna rellena con gel de sílice. El extracto se evaporó por rotación hasta sequedad. La *orto*-alilanilina se purificó sobre cromatografía en columna rellena con gel de sílice por elución con *n*-heptano y se caracterizó por IR y GC-MSD.

2.2.2 Estudio teórico de la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts. Obtención de dihidrodibenzo[b,e]azepinas y tetrahidrodibenzo[b,f]azocinas.

Los cálculos teóricos de las ciclaciones intramoleculares *7-exo-trig* y *8-exo-trig*, y del reordenamiento 1,2 de hidruro (1,2-H) resaltados en el **Esquema 15**, se realizaron con el *software* Gaussian 03 [245]. Los puntos estacionarios optimizados se obtuvieron y caracterizaron totalmente al nivel de teoría UHF/6-31+G(d), como estructuras con *spin* igual a cero. Las geometrías optimizadas de los estados de transición presentaron una única frecuencia imaginaria, que correlaciona con el modo vibracional esperado. Los cálculos de la IRC, se llevaron a cabo con el fin de verificar cuáles de las estructuras conformacionales de los reactantes y productos se conectaban con las geometrías encontradas para los estados de transición. Las frecuencias y las correcciones en el punto cero (ZPE) se calcularon usando la aproximación armónica sin escalar. Sin embargo los factores de escalamiento para ΔH y ΔS con el método usado son 0.8905 y 0.8978 a 298 K y 1 atm [249]. Los efectos del conjunto base y el método sobre las energías relativas se evaluaron mediante cálculos de energía puntuales (*single point*), con RMP2/6-311++G(d,p). La estructura electrónica de algunos puntos estacionarios se determinó mediante la técnica de partición de la población denominada análisis de orbitales de enlace naturales (NBO), también implementada en el *software* Gaussian 03. La teoría clásica del estado de transición (TST) se utilizó para obtener los parámetros cinéticos. La constante de velocidad $k(T)$, se calculó suponiendo que el coeficiente de transmisión (e) era igual a la unidad, como se expresa a través de la **Ecuación 21** [250]:

$$k(T) = \left[k_B T/h \right] * \left[\exp \left(-\Delta G^\ddagger / RT \right) \right] \quad \text{Ecuación 21}$$

Donde k_B , h y R son las constantes de Boltzman, Planck y universal de los gases, respectivamente, y $\Delta G^\ddagger(T)$ es la energía libre de activación en el estado estándar a la temperatura absoluta T .

Las energías de activación (E_a) y los factores de Arrhenius (A), se calcularon con base en las **Ecuaciones 22 y 23**, respectivamente, derivadas a partir de la TST.

$$E_a = \Delta H^\ddagger(T) + RT \quad \text{Ecuación 22}$$

$$A = \left[ek_B T/h \right] * \left[\exp \left(\Delta S^\ddagger(T)/R \right) \right] \quad \text{Ecuación 23}$$

En este trabajo no se realizaron estudios conformacionales, pero se prestó especial atención a las conformaciones reactivas deducidas a partir de los cálculos IRC.

2.2.3 Aplicación de MCR-ALS en la obtención de parámetros cinéticos de la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts.

2.2.3.1 Adquisición de datos.

La *orto*-alilanilina (0.20 mg) se adicionó sobre H_2SO_4 (2 mL), mantenido en una cubeta de vidrio borosilicato para UV-Vis (1 cm x 1 cm x 4 cm), con control de temperatura. Los ensayos se realizaron por triplicado, para temperaturas de 20, 30, 40, 50 y 60 °C. La detección se llevó a cabo en un espectrofotómetro UV-Vis Cary 500 de doble haz, versión 8.01, software 02.00(25). Los espectros de absorción se registraron desde 200 hasta 500 nm, cada 1 nm. Para cada experimento, los datos fueron adquiridos a intervalos de 10 minutos hasta el final de la reacción. *i.e.*, hasta que la banda de referencia, característica del grupo cromóforo C=N (265-300 nm, transición $n \rightarrow \pi^*$, dibenzo[*b,e*]azepina) [251,252], se mantuvo relativamente constante.

Temperaturas entre 20 y 60 °C, fueron utilizadas para adecuar la viscosidad de la mezcla y los tiempos de reacción. La relación molar H_2SO_4 /*orto*-alilanilina ($3.76E-2/8.97E-7$) se escogió para asegurar el registro de las señales en un intervalo apropiado de absorbancias (valores de absorbancia entre 0 y 4).

2.2.3.2 Procesamiento previo de las matrices de datos.

Los datos experimentales UV-Vis se ordenaron en matrices, cuyas filas se asignaron a los valores de absorbancias de los espectros registrados en diferentes tiempos de reacción y las columnas fueron las longitudes de onda. Las siguientes matrices se obtuvieron A_1 (99x96, 92x96; *orto*-alilnilinas 1 y 2, respectivamente), A_2 (93x96, 25x96), A_3 (24x96, 17x96), A_4 (17x96, 10 x 96), A_5 (10x96, 9x96), correspondientes a experimentos con temperaturas de 20, 30, 40, 50 y 60 C, respectivamente. El número de filas en las matrices correspondió con los diferentes tiempos de reacción para cada experimento. A mayor temperatura, el tiempo de reacción y el número de filas de la matriz de datos disminuía. El mismo número de columnas para todas las matrices se relacionó con 96 longitudes de onda desde 205 hasta 300 nm. La región del espectro entre 300 y 500 nm se descartó del análisis puesto que la $d^2A/d\lambda^2$ mostró variaciones similares con las regiones del espectro de no absorción (ruido), y por lo tanto no proveían información acerca de la reacción en estudio. Las matrices de datos aumentadas con columnas discretas (M_1) se construyeron a partir de las matrices A_1 - A_5 , con las siguientes dimensiones: 243x96 para la *orto*-alilnilina 1 y 153x96 para la *orto*-alilnilina 2. Para M_1 , el número de columnas correspondía con cada una de las longitudes de onda, que fueron las mismas para A_1 - A_5 . Mientras que, el número de filas equivalía a la suma de las filas de A_1 - A_5 . En este caso, el número de columnas fue menor al número de filas, a este tipo de matrices aumentadas se les denomina “matrices aumentadas con columnas discretas”.

2.2.3.3 Análisis de componentes principales (PCA).

El PCA se realizó mediante el programa STATISTICA 6.0. El número de componentes químicos presentes en la mezcla que aportaron variación a la señal UV-Vis, se estimó con base en la inspección de la varianza de los valores propios (*eigenvalues*), extraídos a partir del PCA sobre las matrices A_1 - A_5 y M_1 . En este análisis se supone que los valores singulares asociados con los componentes químicos son mucho más grandes que los debidos a contribuciones tales como la deriva instrumental o el error experimental.

2.2.3.4 Análisis quimiométrico.

Todos los tratamientos quimiométricos se llevaron a cabo empleando el programa MATLAB en su versión 7.0.0.19920. Las subrutinas utilizadas para aplicar PURE (algoritmo basado en SIMPLISMA) y ALS se adquirieron en forma gratuita de la página web del grupo de quimiometría y equilibrio en solución de la universidad de Barcelona [55].

2.2.3.4.1 Estimados iniciales de los espectros de los compuestos puros.

Los estimados iniciales de los espectros de los compuestos puros se obtuvieron por análisis exploratorio para la detección de las variables más puras con los algoritmos PURE y ALS. Primero, el algoritmo PURE se aplicó sobre la matriz $\mathbf{A}_1$ para extraer los estimados iniciales de los espectros de los componentes puros presentes en la reacción. Luego, con el algoritmo ALS se optimizaron los espectros y perfiles de concentración para cada uno de los componentes. Aunque los perfiles de concentración conseguidos no describieron correctamente la evolución de todas las especies en función del tiempo, el reactivo y algunos productos, presentaron una aproximación satisfactoria.

2.2.3.4.2 Optimización MCR-ALS.

Las siguientes restricciones (*constrains*) se aplicaron para la iteración del algoritmo ALS con el objeto de obtener resultados consistentes con el problema químico y restringir el número de posibles soluciones: a) los espectros y los perfiles de concentración de cada componente deben ser no-negativos; y b) el sistema de reacción en relación con la concentración analítica total debe ser cerrado. El porcentaje de varianza R^2 y el error de ajuste LOF, se utilizaron como parámetros para evaluar la calidad del resultado al aplicar el algoritmo ALS.

2.2.3.4.3 Cálculo de las constantes cinéticas por ajuste lineal.

Las subrutinas utilizadas para la obtención de las constantes cinéticas gentilmente suministradas por Iván Darío Ordóñez, ingeniero químico de la UIS, se hicieron de la siguiente forma: primero, se elaboró una función conformada por las ecuaciones diferenciales de cada compuesto de acuerdo con el modelo cinético de la reacción química. Las bases de este modelo cinético se fundamentaron en el conocimiento previo del sistema mediante análisis de la reacción con GC-MSD y en los resultados de la optimización MCR-ALS. La función se integró numéricamente con ODE 23 (subrutina para resolver ecuaciones diferenciales ordinarias basada en el algoritmo Runge-Kutta de MATLAB) para obtener la matriz **M** de los perfiles de concentración estimados o simulados con base en el modelo cinético, las constantes de velocidad y las concentraciones iniciales de los compuestos reactantes. El método *fminsearch* de MATLAB basado en el algoritmo Nelder-Mead se utilizó para encontrar las constantes de velocidad que proporcionaron el mejor ajuste entre los perfiles de concentración simulados (**M**) y los obtenidos mediante MCR-ALS (**C**). Se usaron valores iniciales razonables de las constantes de velocidad para el refinamiento logrado de forma iterativa. Estos valores fueron obtenidos a través del análisis previo de la reacción con GC-MSD y UV-Vis. El porcentaje de error relativo RE, calculado con base en la **Ecuación 24**, se usó como parámetro para evaluar la calidad del ajuste [54].

$$RE = \sqrt{\frac{\sum_i \sum_j (m_{ij} - c_{ij})^2}{\sum_i \sum_j (c_{ij})^2}} \times 100 \quad \text{Ecuación 24}$$

Donde; m_{ij} : Elementos de la matriz **M**; y c_{ij} : Elementos de la matriz **C**.

A continuación se exponen los resultados de: (1) el establecimiento de los QSAR entre las capacidades antioxidantes y los descriptores teóricos de anilinas sintéticas 13-34; y (2) la alquilación electrofílica intramolecular de las *orto*-alilanilinas 1 y 2.

3 RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 OBTENCIÓN DE QSAR

Los valores de TEAC y EC_{50} experimentales y estimados para las anilinas 13-34 se muestran en la **Tabla 4**. La capacidad antioxidante evaluada como TEAC y EC_{50} está relacionada con la facilidad de transferencia de electrones y átomos de hidrógeno desde el antioxidante hasta el catión radical $ABTS^{+}$ o radical DPPH, *i.e.*, con la facilidad de oxidación y estabilidad del antioxidante [122,124,125,132]. Teniendo en cuenta que una molécula con reactividades altas hacia el $ABTS^{+}$ y el DPPH· debe tener un valor de TEAC más alto que 1 y un valor de EC_{50} más bajo que el mismo [122-125], entonces, en el conjunto de moléculas de entrenamiento (*training set*, anilinas 13-24 y 27-32), únicamente 29, presentó una reactividad aceptable ($TEAC = 0.86$, $EC_{50} = 0.23$), *i.e.*, la introducción del grupo hidroxilo en la estructura de las aminas aromáticas aumentó su habilidad como antioxidante (reactividad hacia radicales), probablemente por la disminución de los IP y las BDE (N-H y O-H) [94,99,114,155,162,167]. Así, moléculas fueron más reactivas que aquellas en las que únicamente se encuentran como sustituyentes radicales alquílicos. En la misma tabla se puede observar que el reemplazo de un grupo hidroxilo (30) por un grupo metoxi (31), decreció la actividad antioxidante drásticamente.

Ya que uno de los objetivos más relevantes en el desarrollo de modelos QSAR es adquirir conocimiento previo de la actividad de las sustancias que aun no han sido evaluadas, o para las cuales no se dispone de datos experimentales, a continuación se presentan los resultados obtenidos en la elaboración de modelos QSAR multidimensionales para la predicción de la TEAC y la EC_{50} con sus respectivos parámetros estadísticos, para el análisis de la complejidad, exactitud, estabilidad y capacidad de predicción. Las anilinas 13-24 y 27-32 se usaron como *training set* y las anilinas 25, 26, 33 y 34 como moléculas de prueba (*test set*).

Tabla 4. Actividades antioxidantes experimentales (*Exp*) y estimadas (*Est-CV*), con los modelos QSAR.

ID ^a	TEAC <i>Exp</i> ^b	TEAC <i>Est-CV</i> (1)	TEAC <i>Est-CV</i> (2)	TEAC <i>Est-CV</i> (3)	TEAC <i>Est-CV</i> (4)	EC ₅₀ <i>Exp</i> ^c	Log(1/EC ₅₀) <i>Exp</i>	EC ₅₀ <i>Est-CV</i> (1)	EC ₅₀ <i>Est-CV</i> (2)	Log(1/EC ₅₀) <i>Est-CV</i> (3)	Log(1/EC ₅₀) <i>Est-CV</i> (4)	Log(1/EC ₅₀) <i>Est-CV</i> (5)
13	0.81	0.65	0.86	0.74	0.60	40.00	-1.60	-43.69	98.65	-1.41	-1.94	-1.76
14	0.53	0.71	0.56	0.64	0.60	95.00	-1.98	41.77	98.76	-1.41	-1.80	-1.59
15	0.67	0.62	0.63	0.67	0.60	90.00	-1.95	114.21	82.10	-1.35	-1.75	-1.53
16	0.42	0.60	0.31	0.75	0.66	23.60	-1.37	115.02	65.85	-1.26	-1.50	-1.32
17	0.78	0.76	0.92	0.79	0.65	224.00	-2.35	193.92	33.00	-1.12	-1.41	-1.24
18	0.79	0.62	0.66	0.76	0.62	115.80	-2.06	45.81	57.74	-1.20	-1.50	-1.32
19	0.24	0.32	0.26	0.36	0.24	436.00	-2.64	379.53	363.43	-2.52	-2.69	-3.16
20	0.24	0.24	0.35	0.15	0.23	396.00	-2.60	433.33	382.56	-2.57	-2.54	-2.91
21	0.05	-0.23	-0.09	0.24	0.27	438.00	-2.64	446.96	360.53	-2.51	-2.53	-2.86
22	0.00 ^e	-0.17	-0.09	-0.06	-0.03	707.47	-2.85	721.69	422.52	-2.90	-2.71	-2.48
23	0.00 ^e	0.00	0.03	-0.21	0.01	406.71	-2.61	450.94	543.09	-3.14	-2.92	-2.71
24	0.00 ^e	0.22	0.03	-0.09	-0.08	357.30	-2.55	309.22	531.16	-3.06	-2.92	-2.72
25^d	0.87	-0.20	1.01	0.67	0.67	1.79	-0.25	-3346.99	39.65	-1.15	-0.87	-0.88
26^d	0.88	-0.40	0.78	0.74	0.69	23.37	-1.37	-3633.00	8.51	-1.02	-0.66	-0.77
27	0.92	1.08	0.90	0.49	0.92	7.00	-0.85	64.04	59.10	-1.27	-1.27	-1.04
28	1.52	1.20	1.32	0.88	1.13	13.40	-1.13	-37.53	70.16	-1.27	-1.58	-1.64
29	0.86	0.41	0.99	0.98	0.84	0.23	0.65	-53.79	-38.78	-1.48	-0.26	-1.23
30	0.60	0.19	0.56	0.50	0.43	23.47	-1.37	43.26	209.48	-1.83	-2.17	-2.02
31	0.33	0.48	0.50	0.81	0.72	83.40	-1.92	370.91	97.76	-1.34	-1.55	-1.44
32	0.00 ^e	-0.38	-0.02	0.29	0.01	375.40	-2.57	124.32	373.90	-2.65	-1.83	-2.02
33^d	2.15	0.62	0.53	1.45	2.10	0.23	0.64	-494.81	-309.46	0.13	6.98	0.85
34^d	1.16	0.52	0.49	1.50	1.89	0.33	0.48	-805.67	-374.63	0.39	8.47	1.22

^aID: identificación de la anilina.

^bTEAC promedio (mmol Trolox/mmol anilina).

^cEC₅₀ promedio (μM anilina/μM DPPH inicial).

^dAnilinas utilizadas como conjunto de prueba (validación externa).

^eValores experimentales menores a 0.005 mmol Trolox/mmol anilina.

$$\text{TEAC (1)} = (0.49 \pm 0.03) + (-2.2 \pm 0.5) \text{RNH} + (0.9 \pm 0.3) \text{WI} + (1.5 \pm 0.3) \text{CIC} + (0.9 \pm 0.2) \text{PPSA-2} + (-0.6 \pm 0.1) \text{PNSA-3} + (0.27 \pm 0.08) \text{MD} + (-0.4 \pm 0.1) \text{E}_{\text{LUMO}} + (3.6 \pm 0.7) \text{EE}$$

n= 18	r ² = 0.93	SE= 0.22	F(8,9)= 25.89	q ² _{CV-LOO} = 0.68	SEcv= 0.23
n= 22	q ² _{CV-LOO} = -0.06		SEcv= 0.54		

$$\text{TEAC (2)} = (0.49 \pm 0.02) + (-0.047 \pm 0.005) \text{PC}_1 + (-0.111 \pm 0.005) \text{PC}_2 + (-0.039 \pm 0.008) \text{PC}_4 + (0.04 \pm 0.02) \text{PC}_5 + (-0.45 \pm 0.05) \text{PC}_8 + (-0.41 \pm 0.06) \text{PC}_9 + (0.33 \pm 0.09) \text{PC}_{11} + (-2.3 \pm 0.5) \text{PC}_{14} + (-7 \pm 2) \text{PC}_{16}$$

n= 18	r ² = 0.98	SE= 0.11	F(9,8)= 86.62	q ² _{CV-LOO} = 0.94	SEcv= 0.10
n= 22	q ² _{CV-LOO} = 0.46		SEcv= 0.39		

$$\text{TEAC (3)} = (0.012 \pm 0.003) \alpha_{zz} + (0.009 \pm 0.002) \text{PPSA-2} + (0.019 \pm 0.004) \text{EE}$$

n= 18	r ² = 0.88	SE= 0.24	F(3,15)= 37.78	q ² _{CV-LOO} = 0.61	SEcv= 0.26
n= 22	q ² _{CV-LOO} = 0.70		SEcv= 0.29		

$$\text{TEAC (4)} = (0.18 \pm 0.04) \alpha_{zz} + (0.008 \pm 0.002) \text{PPSA-2} + (-2.8\text{E-}03 \pm 6\text{E-}04) \alpha_{zz}^2 + (-9\text{E-}05 \pm 1\text{E-}05) \text{EE}^2 + (1.1\text{E-}05 \pm 2\text{E-}06) \alpha_{zz}^3$$

n= 18	r ² = 0.94	SE= 0.15	F(5,13)= 60.16	q ² _{CV-LOO} = 0.82	SEcv= 0.17
n= 22	q ² _{CV-LOO} = 0.81		SEcv= 0.23		

Donde [8]:

RNH: *relative number of H atoms*; WI: *Wiener index*; CIC (orden 0): *complementary information content* (orden 0); PPSA-2: *total charge weighted partial positively charged surface area*; PNSA-3: *atomic charge weighted partial negative surface area*; PC_i: componentes principales utilizados como variables independientes para elaborar el modelo TEAC 2. PC₁ y PC₂, presentaron el mayor grado de contribución para la predicción de la variable independiente, están constituidos de la siguiente forma: PC₁: los descriptores que contribuyeron más en sentido negativo fueron: *relative number of C atoms*, *moment of inertia A*, *PNSA-2 total charge weighted PNSA*, *PNSA-3*, *FNSA-3 fractional PNSA (PNSA-3/TMSA)*, *MD*, *E_{HOMO}*, *E_{LUMO}* y *EE*. Los descriptores con aporte mayor en el sentido positivo fueron: *WI*, *Kier shape index (order 1)*, *3D-Kier shape index (order 3)*, *3D-information content (order 0)* y *DPSA-2 difference in CPSAs (PPSA2-PNSA2)*. PC₂: los descriptores con mayor peso en el sentido negativo fueron: *number of atoms*, *RNH*, *number of single bonds*, *CIC (order 0)*, *CIC (order 1)*, *PPSA-2*, *FPSA-3 fractional PPSA (PPSA-3/TMSA)* y *E_{HOMO}*. Los descriptores que más contribuyeron en sentido positivo fueron: *molecular weight* y *PNSA-1 partial negative surface area*.

Las **Figuras 1 y 2** muestran las tendencias de regresión para los modelos TEAC 3 y 4, con los mejores resultados para el modelo TEAC 4.

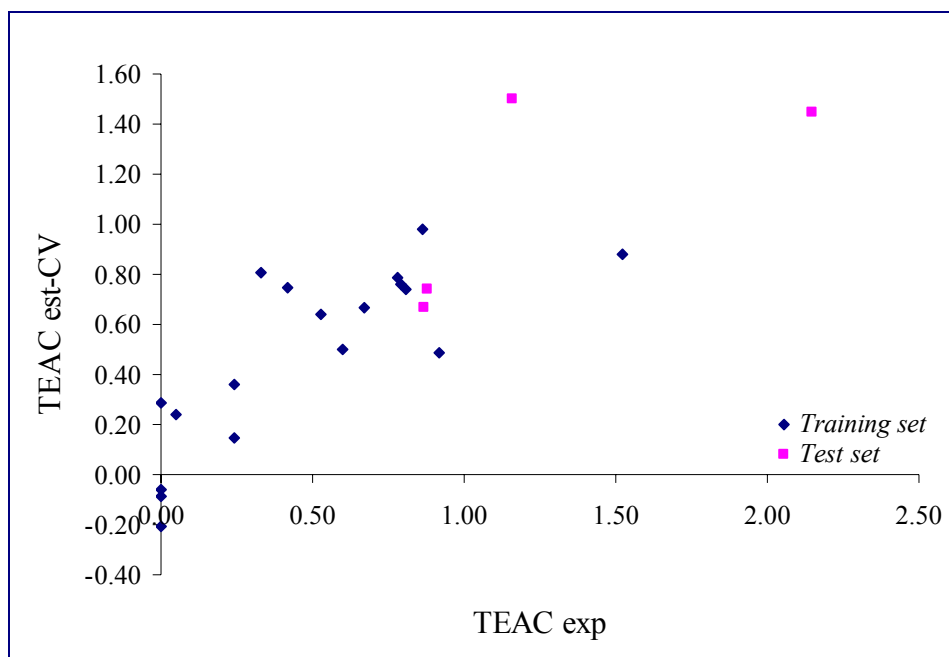


Figura 1. Tendencia de regresión para el modelo TEAC (3).

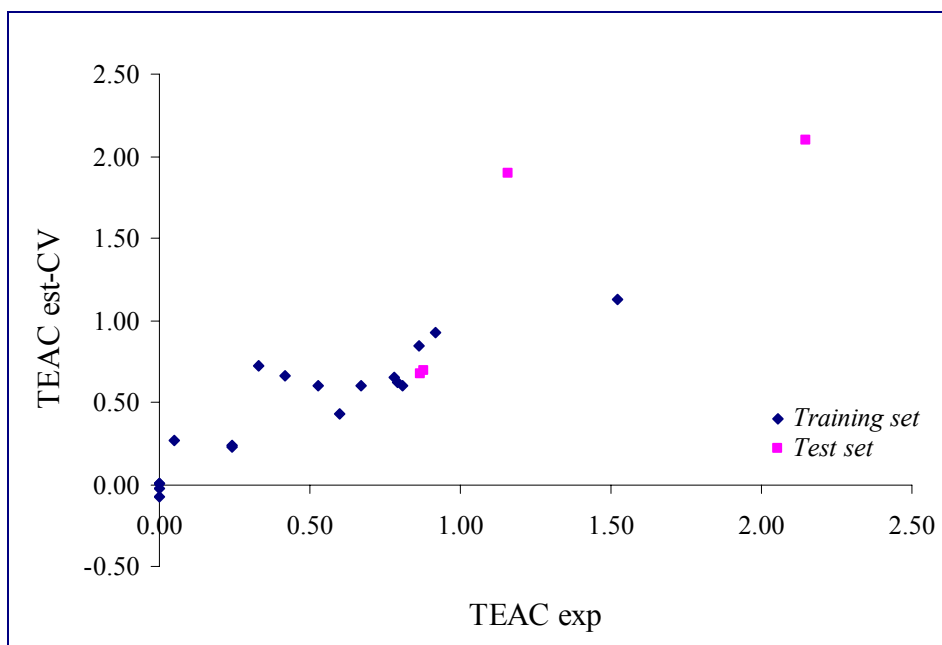


Figura 2. Tendencia de regresión para el modelo TEAC (4).

Para el modelo 1, se estableció que 25, 26, 33 y 34 fueron *outliers* (casos donde la predicción es errónea, *i.e.*, el residuo, que corresponde a la diferencia entre el valor observado y el valor estimado, sobrepasa las dos desviaciones estándar). En este modelo sobresalieron RNH y EE como descriptores o variables independientes con una influencia importante en la predicción de la TEAC para las anilinas 13-30. Aunque, RNH, WI y CIC lograron una contribución alta, su relación lineal con la actividad antioxidante no fue hecho suficiente para pensar que esta actividad estuviera altamente relacionada con un mecanismo físico [8]. Sin embargo, cabe anotar que los cambios topológicos de una molécula (medidos mediante WI, CIC, entre otros índices topológicos), pueden estar relacionados con los cambios en la geometría y entonces actúan como una medida de la forma que la molécula presenta al interactuar con otras moléculas. Adicionalmente, los cambios en ramificación pueden afectar la distribución de carga electrónica, lo que se refleja como cambios en la reactividad o la polaridad [253]. La gran diferencia entre los valores de r^2 y q^2_{CV-LOO} ($n=18$ y $n=22$), indicó la pobre capacidad predictiva del modelo, aun más marcado para la validación externa y la posibilidad de un sobreajuste (*overfitting*), *i.e.* de un exceso de variables independientes [254].

El modelo 2 aportó resultados un poco más aceptables en las validaciones interna y externa, con respecto al modelo 1 (aunque con 33 y 34 como *outliers*). Se resalta la importancia de los descriptores constitucionales, topológicos, geométricos y de distribución de carga, relacionados con los PC₁ y PC₂, en el ajuste lineal para la predicción de la actividad antioxidante (ver **Anexo 2 y 3** los descriptores relacionados con los PC). Aunque, los PC permitieron la obtención de un buen ajuste lineal, la interpretación complicó la posibilidad de su aplicación en el procedimiento de validación, haciéndolo algo engorroso y/o defectuoso. Esto último, junto al *overfitting*, pudieron ser las causas de la diferencia considerable entre r^2 y q^2_{CV-LOO} ($n=22$).

Finalmente, en los modelos TEAC 3 y 4, se identificaron 33 y 34, respectivamente, como *outliers*. Las diferencias en los valores de r^2 y q^2_{CV-LOO} ($n=18$ y $n=22$), indicaron una estabilidad considerable de los modelos y la posibilidad de su uso para predicciones

consistentes de la TEAC. Se demostró o verificó, además, la importancia de los descriptores α_{zz} , PPSA-2 y EE en la predicción de la actividad antioxidante. Es importante resaltar la contribución de los términos relacionados con las potencias de los descriptores α_{zz} y EE en el modelo TEAC 4, para lograr un mejor ajuste en relación con el modelo de TEAC 3, *i.e.*, una función matemática polinómica podría llegar a describir mejor la relación entre la TEAC y este tipo de descriptores.

La α_{zz} es un descriptor basado en la segunda derivada de la energía con respecto al campo eléctrico, que representa la distribución de los electrones. Esta distribución electrónica que se evidencia mediante la deslocalización de la carga, el dipolo y los efectos inductivos, podría ser uno de los principales mecanismos de la TEAC. De tal forma que, nucleófilos suaves con electronegatividad baja son fácilmente polarizables, *i.e.*, se oxidan más rápido y poseen valores altos de α_{zz} [255,256].

La variable PPSA-2 describe las interacciones intermoleculares polares originadas por las diferencias de cargas entre moléculas; estas interacciones varían de acuerdo con la fracción de cada átomo expuesta [82,83]. Así, las moléculas con valores altos de PPSA-2, tendrán una interacción intermolecular alta y por lo tanto, se oxidarán más rápidamente. Adicionalmente, la distribución de carga electrónica, resulta en algunos casos una mejor medida de la ramificación y por lo tanto de la forma, en comparación con los descriptores topológicos típicos [253]. Finalmente, la contribución que tuvo el descriptor mecano-cuántico EE, en la predicción de la actividad antioxidante, se debe al hecho ya conocido, según la teoría de perturbación molecular, que la energía es una medida directa de la reactividad química [41].

Los resultados obtenidos en la elaboración de modelos QSAR multidimensionales para la predicción de la EC₅₀ fueron los siguientes:

$$EC_{50} (1) = (213 \pm 8.4) + (3000 \pm 1000) NA + (-4400 \pm 600) RNH + (3000 \pm 700) NBR + (3800 \pm 980) NSB + (-500 \pm 119) MW + (-4600 \pm 910) CIC + (900 \pm 143) PPSA-2 + (460 \pm 98) PNSA-1 + (400 \pm 79) FPSA-3 + (-140 \pm 41) E_{HOMO} + (-1100 \pm 149) E_{LUMO} + (5100 \pm 659) EE$$

$n=18$	$r^2=0.97$	$SE=211.77$	$F(12,5)=48.34$	$q^2_{CV-LOO}=0.75$	$SEcv=102.36$
$n=22$		$q^2_{CV-LOO}=-27.91$	$SEcv=1080.12$		

$$EC_{50} (2) = (-6 \pm 1)PPSA-2 + (0.13 \pm 0.02)EE^2 + (5E-04 \pm 1E-04)EE^3$$

$n=18$	$r^2=0.87$	$SE=104.92$	$F(3,15)=42.35$	$q^2_{CV-LOO}=0.69$	$SEcv=112.77$
$n=22$		$q^2_{CV-LOO}=0.47$	$SEcv=145.70$		

$$\text{Log}(1/EC_{50}) (3) = (0.024 \pm 0.006)PPSA-2 + (0.044 \pm 0.006)EE$$

$n=18$	$r^2=0.92$	$SE=0.61$	$F(2,16)=98.54$	$q^2_{CV-LOO}=0.32$	$SEcv=0.70$
$n=22$		$q^2_{CV-LOO}=0.61$	$SEcv=0.68$		

$$\text{Log}(1/EC_{50}) (4) = (-0.013 \pm 0.003)\alpha_{zz} + (-1.3E-04 \pm 3E-05)EE^2 + (5.8E-07 \pm 7E-08)PPSA-2^3$$

$n=18$	$r^2=0.97$	$SE=0.42$	$F(3,15)=145.3$	$q^2_{CV-LOO}=0.68$	$SEcv=0.48$
$n=22$		$q^2_{CV-LOO}=-3.21$	$SEcv=2.23$		

$$\text{Log}(1/EC_{50}) (5) = (-0.017 \pm 0.008)\alpha_{zz} + (0.029 \pm 0.006)PPSA-2 + (0.031 \pm 0.008)EE$$

$n=18$	$r^2=0.94$	$SE=0.55$	$F(3,15)=82.32$	$q^2_{CV-LOO}=0.42$	$SEcv=0.65$
$n=22$		$q^2_{CV-LOO}=0.66$	$SEcv=0.63$		

Donde:

NA: *Number of atoms*;

NBR: *Number of benzene rings*;

NSB: *Number of single bonds*; y

MW: *Molecular weight*.

En las **Figuras 3 y 4** se observan las tendencias de regresión para los modelos Log (1/EC₅₀) 4 y 5, con los mejores resultados de ajuste y validación interna. Sin embargo, éstos fueron aún menos satisfactorios en relación con los de la TEAC.

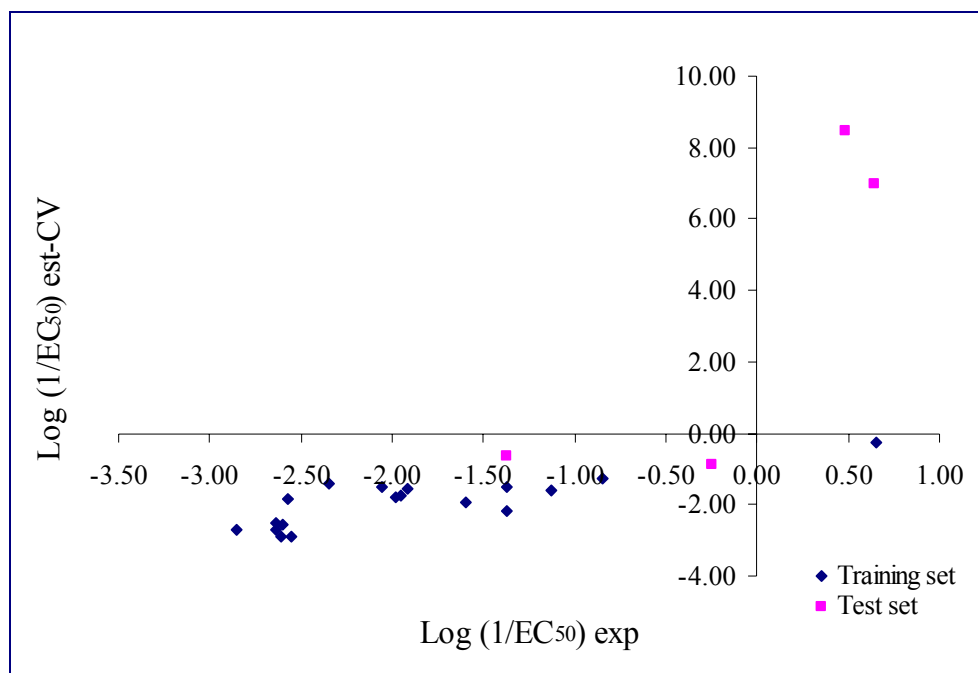


Figura 3. Tendencia de regresión para el modelo $\text{Log}(1/\text{EC}_{50})$ (4).

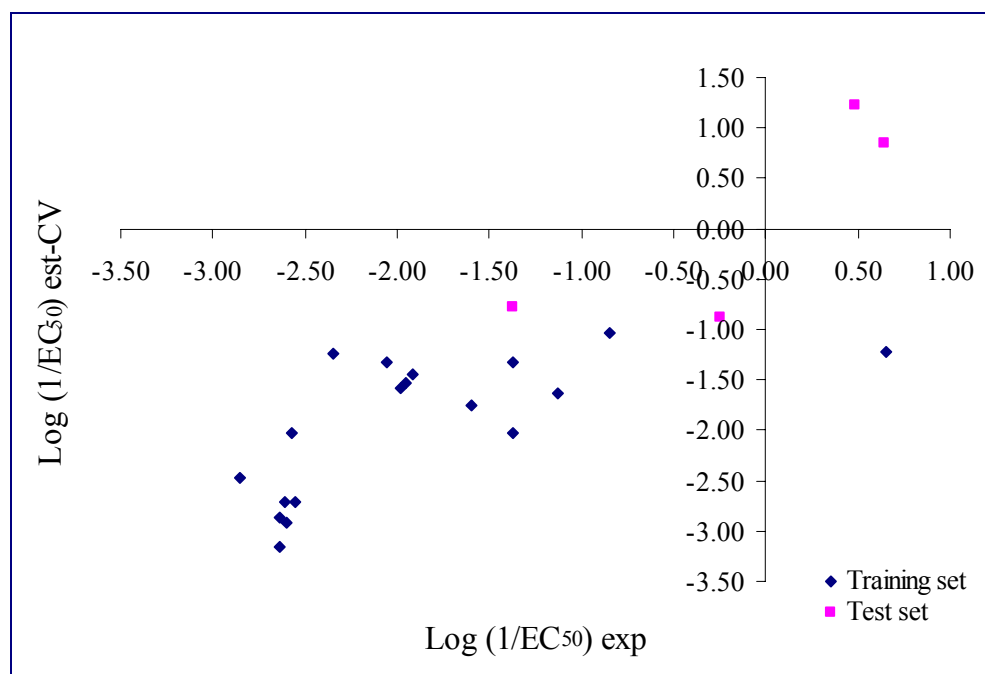


Figura 4. Tendencia de regresión para el modelo $\text{Log}(1/\text{EC}_{50})$ (5).

Para el modelo 1 de EC₅₀ se estableció que 25, 26 y 31-34 fueron *outliers*. En este modelo, los descriptores EE, RNH y CIC presentaron una contribución alta en la predicción de la EC₅₀. Para el modelo 2 se encontró que 17, 22-24, 30, 33 y 34 fueron *outliers*. De nuevo, mediante los modelos 2-5, se hizo evidente la importancia de los descriptores PPSA-2, EE y α_{ZZ} , como variables importantes para la predicción de la actividad antioxidante. En general, las diferencias en los valores de r^2 y q^2_{CV-LOO} (n= 18 y n= 22), indicaron que las predicciones derivadas mediante los modelos EC₅₀ fueron poco confiables y sugieren la necesidad de realizar experimentos más exactos o la obtención de descriptores adicionales para lograr una interpretación directa del mecanismo de reacción (reactividad hacia el radical DPPH).

3.1.1 Potenciales de ionización (IP).

Los IP verticales ($-E_{HOMO}$) de las anilinas 13-34 que se evaluaron computacionalmente al nivel RHF/CEP-121G/LANL2DZ se indican en la **Tabla 5** [245,246]. El uso del teorema de Koopman se prefirió sobre la estimación de los IP adiabáticos (diferencia de EE entre las moléculas neutra e ionizada [45,94,95]), ya que según los datos indicados en la **Tabla 3** (ver **Numeral 2.1.5**), el error relativo de los IP para las anilinas utilizadas como moléculas de ensayo, fue relativamente bajo. La correlación alta entre los IP calculados al nivel RHF/CEP-121G y RHF/LANL2DZ, sugirió el uso de cualquiera de los dos resultados para establecer una relación con la actividad antioxidante.

Las anilinas 19-21, 22-24 y 32, con sustituyentes electroatrayentes (yodo y nitro) presentaron los IP más elevados, puesto que al ser moléculas más estables, es decir las energías de los orbitales moleculares (OM) son bajas, requieren un suministro mayor de energía para la remoción de electrones. El caso contrario ocurrió con 27 y 28 que poseen grupos electrodonantes amino y metilo. Sin embargo, el resto de las anilinas (29-31), con electrodonantes (hidroxi, metoxi), exhibieron IP relativamente altos, quizás porque con estos sustituyentes la estabilización de los OM es mayor, en relación con los otros

sustituyentes electrodonantes; una situación similar se presentó en las moléculas que además poseían un anillo de piridina (13, 14, 17, 18, con excepción de 13 y 16).

Tabla 5. IP de las anilinas 13-34.

Anilina	IP (eV)		TEAC <i>Exp</i> ^c	EC ₅₀ <i>Exp</i> ^d
	RHF/CEP-121G	RHF/LANL2DZ		
<u>13</u>	7.45	7.43	0.81	40.00
<u>14</u>	7.73	7.73	0.53	95.00
<u>15</u>	7.75	7.75	0.67	90.00
<u>16</u>	7.52	7.51	0.42	23.60
<u>17</u>	7.80	7.81	0.78	224.00
<u>18</u>	7.82	7.82	0.79	115.80
<u>19</u>	7.92	7.76	0.24	436.00
<u>20</u>	8.04	8.03	0.24	396.00
<u>21</u>	8.04	8.05	0.05	438.00
<u>22</u>	8.51	8.52	0.00 ^b	707.47
<u>23</u>	8.70	8.73	0.00 ^b	406.71
<u>24</u>	8.80	8.83	0.00 ^b	357.30
<u>25</u> ^a	7.91	7.60	0.87	1.79
<u>26</u> ^a	7.69	7.69	0.88	23.37
<u>27</u>	7.43	7.48	0.92	7.00
<u>28</u>	7.36	7.34	1.52	13.40
<u>29</u>	7.89	7.89	0.86	0.23
<u>30</u>	7.80	7.80	0.60	23.47
<u>31</u>	7.73	7.75	0.33	83.40
<u>32</u>	8.52	8.55	0.00 ^b	375.40
<u>33</u> ^a	7.56	7.54	2.15	0.23
<u>34</u> ^a	7.61	7.61	1.16	0.33

^aAnilinas utilizadas como conjunto de prueba (validación externa).

^bValores experimentales menores a 0.005 mmol Trolox/mmol anilina.

^cTEAC promedio (mmol Trolox/mmol anilina).

^dEC₅₀ promedio (μM anilina/μM DPPH inicial).

En general, no se recomienda la búsqueda de anilinas que posean grupos yodo, nitro y/o piridinio para posibles usos como antioxidantes, ya que los aumentos tan notorios de los IP se vieron reflejados proporcionalmente en las actividades antioxidantes bajas (valores bajos de TEAC y altos de EC₅₀). Aunque se evidenció que las anilinas del *training set* con sustituyentes amino y dimetilamino (27 y 28) fueron las que presentaron TEAC mayores, también mostraron IP con valores relativamente bajos, lo que indica una capacidad de oxidación muy alta (poco conveniente, desde el punto de vista de estabilidad en condiciones atmosféricas normales y desde el punto de vista de formación de aductos con el

ADN [94,167,257]). Debido a ésto, se sugirió la exploración de anilinas con grupos funcionales hidroxilo, que aumentan la actividad antioxidante, con una reducción ligera en los IP, como fue el caso para 29 y 30. Al comparar estas dos últimas moléculas, se concluyó que la introducción del grupo metoxilo en la posición *meta* (29) proporciona un aumento moderado del IP (30→29, 0.09), un incremento notorio del TEAC (0.26) y una disminución igualmente evidente del EC₅₀ (23.24). De igual modo, la sustitución en la posición *para* del grupo metoxilo (31) por hidroxilo (30) ocasiona una elevación del IP (31→30, 0.07), aumento en el TEAC (0.27) y disminución en el EC₅₀ (59.93).

Otra de las rutas sintéticas recomendadas para la exploración de anilinas con capacidad antioxidante sería la de los compuestos con anillos de γ -piridina (15 y 18) o β -pidina (14 y 17). A pesar de su TEAC moderadamente buena no es conveniente la exploración de anilinas con α -piridinas debido a sus IP bajos (13 y 16). La introducción de dos grupos metilo en posiciones *meta* del anillo bencénico no sólo aumentó los IP sino la capacidad antioxidante evaluada como TEAC (17 y 18), por lo que la sustitución con otros grupos electrodonantes resultaría favorable (hidroxilo, metoxilo, metilo), para la obtención de posibles candidatos a antioxidantes.

Ya que la tendencia general indicó que la disminución de los IP origina un aumento en el TEAC y un descenso en el EC₅₀, en este caso las moléculas 17, 18 y 29 podrían ser utilizadas como guía en la búsqueda de sustancias con actividad antioxidante. Por tal motivo en este trabajo se sintetizaron las anilinas 25, 26, 33 y 34 del *test set*, con lo cual se logró un mejoramiento notorio de las actividades antioxidantes.

Finalmente, ya que la correlación entre los IP y los valores de TEAC y EC₅₀ fue media, *i.e.* los valores de R² fueron 0.52 y 0.60, respectivamente (ver **Figura 5**), se puede decir que la transferencia de electrones (oxidación), no es el mecanismo predominante en la actividad antioxidante (TEAC y EC₅₀) de las anilinas 13-34, pero juega un papel importante o estadísticamente significativo, que permite evaluar las relaciones actividad-estructura y verificar la posible estabilidad bajo condiciones atmosféricas normales.

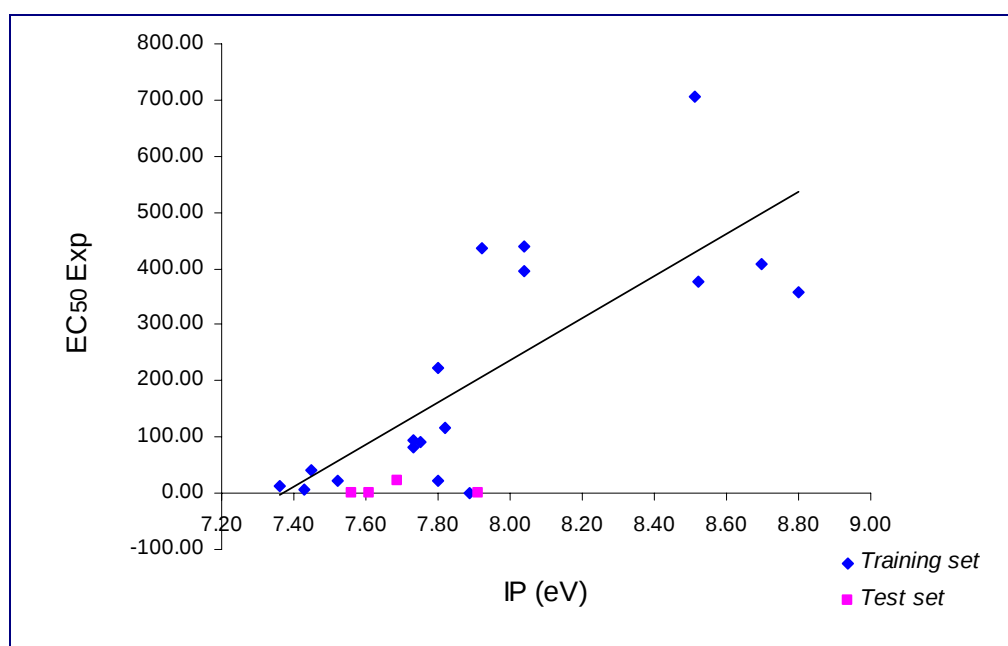
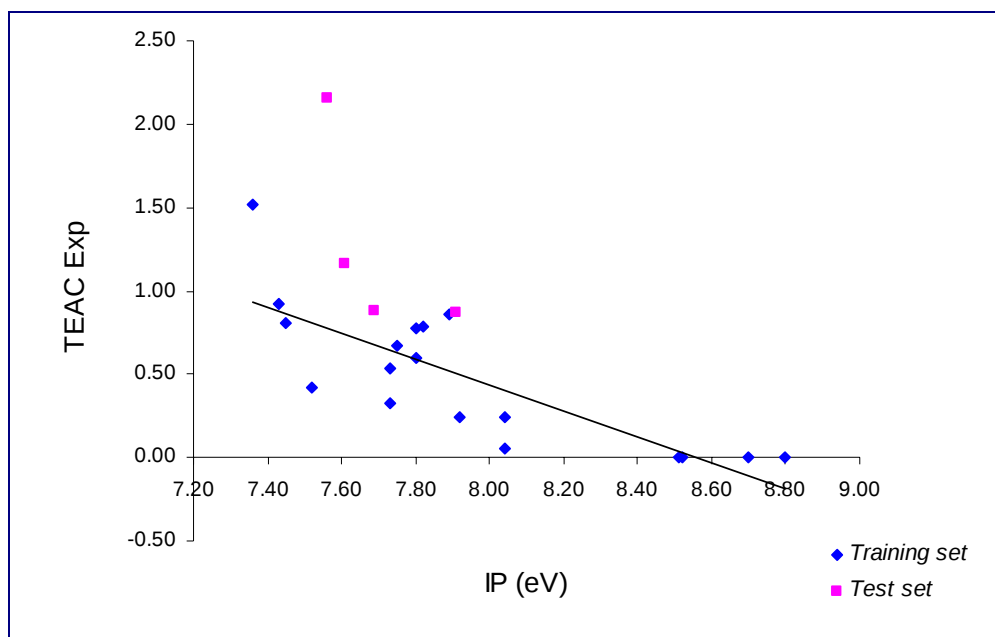
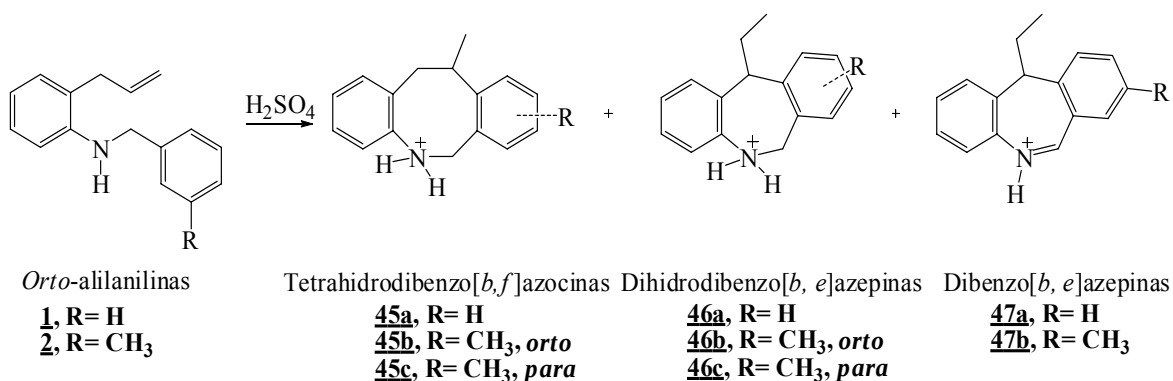


Figura 5. Arriba: relación entre los IP y el TEAC. Abajo: Relación entre los IP y el EC₅₀.

3.2 Evaluación de la reactividad química en la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts. Obtención de dihidrodibenzo[*b,e*]azepinas y tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocinas

3.2.1 Cinética preliminar mediante GC-FID.

Los productos principales obtenidos en la alquilación intramolecular de las *orto*-alilanilinas 1 y 2, que se detectaron mediante GC-FID después de un tiempo en el cual la reacción alcanza el equilibrio (concentración de azepina relativamente constante), se indican en el **Esquema 13**. Las corrientes iónicas totales (TIC) de las mezclas de reacción en el equilibrio se analizaron por GC-MSD para verificar la identidad de los productos, reportados previamente por J. Jaimes y S.L. Gómez [11,248], (ver **Figuras 6 y 7**). Los espectros de masas de cada uno de los compuestos se presentan en el **Anexo 5**.



Esquema 13. Productos de la alquilación intramolecular de *orto*-alilanilinas 1 y 2. *Orto*- y *para*- se refieren a la sustitución del grupo R- con respecto a la ciclación electrofílica intramolecular.

En la **Figura 6** se puede observar que los productos de la alquilación intramolecular de la *orto*-alilanilina 1, detectados por GC-FID y GC-MSD fueron: 11-etil-11*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [47a], 11-metil-5,6,11,12-tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina [45a] y 11-etil-6,11-dihidro-5*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [46a]; [46a] fue el producto de reacción

mayoritario (ciclación 7-*exo-trig*), con un rendimiento de 73.9 ± 0.6 %, seguido por [45a] (ciclación 8-*exo-trig*) y [47a] (16.2 ± 0.9 y 8 ± 1 %, respectivamente).

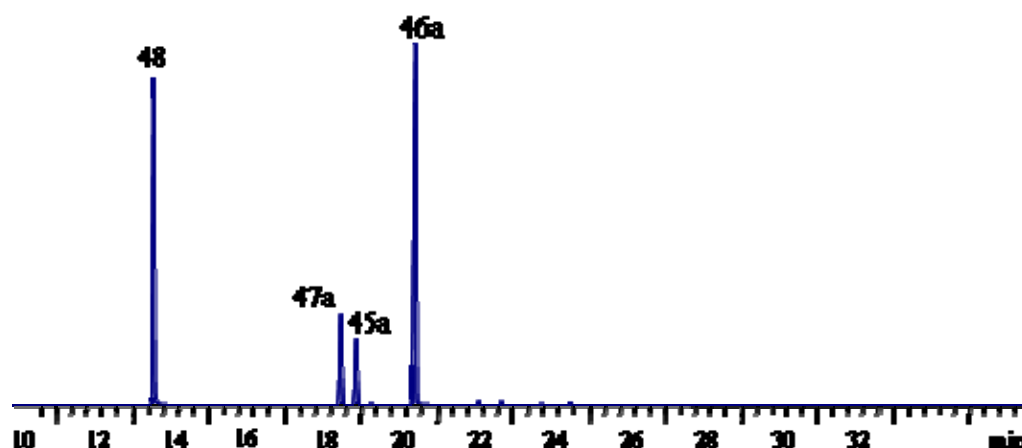


Figura 6. TIC para la mezcla de reacción con la *orto*-alilanilina 1. Relación Molar H_2SO_4 /*orto*-alilanilina: 86. STDI [48]; 11-etil-11*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [47a]; 11-metil-5,6,11,12-tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina [45a] y 11-etil-6,11-dihidro-5*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [46a].

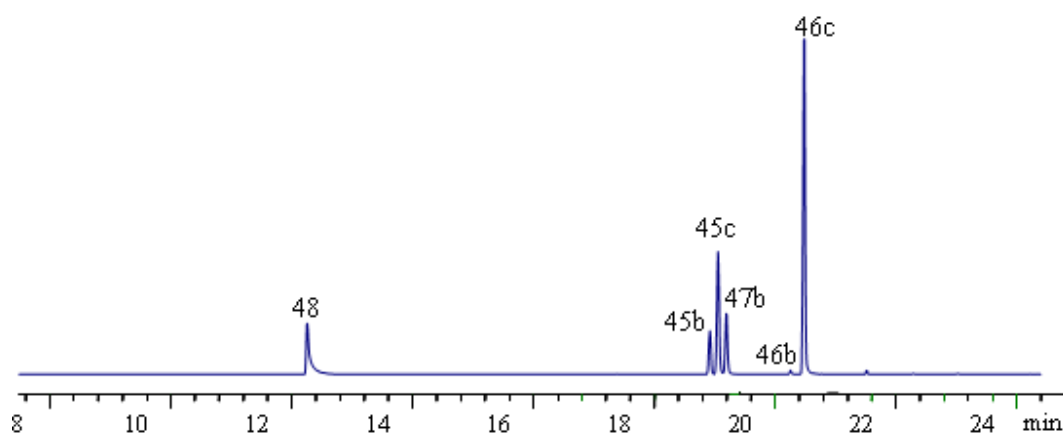


Figura 7. TIC para la mezcla de reacción con la *orto*-alilanilina 2. Relación Molar H_2SO_4 /*orto*-alilanilina: 86. STDI [48]; 10,11-dimetil-5,6,11,12-tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina [45b]; 8,11-dimetil-5,6,11,12-tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina [45c]; 11-etil-8-metil-11*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [47b]; 11-etil-10-metil-6,11-dihidro-5*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [46b] y 11-etil-8-metil-6,11-dihidro-5*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [46c].

Los productos principales de la alquilación intramolecular de la *orto*-alilanilina 2 fueron los siguientes compuestos (**Figura 7**): 10,11-dimetil-5,6,11,12-tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina

[45b], 8,11-dimetil-5,6,11,12-tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina [45c], 11-etil-8-metil-11*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [47b], 11-etil-10-metil-6,11-dihidro-5*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [46b] y 11-etil-8-metil-6,11-dihidro-5*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [46c]. [45b] y [46b], con rendimientos de 4 y 1%, resultaron de la sustitución (8-*exo-trig* y 7-*exo-trig*, respectivamente) en posición *orto* con respecto al radical metilo, mientras que, [45c] y [46c], con 24 y 52 % de rendimiento, fueron productos de la sustitución en posición *para*, [47b] presentó un rendimiento del 19 %.

La relación en la distribución de productos *para/orto* (azocina *para/orto*: 6 y azepina *para/orto*: 49), podría explicarse desde el punto de vista termodinámico, al aplicar el principio de Curtin-Hammett/Winstein-Holness, sobre el equilibrio conformacional de las especies reactivas que los originan [216]. Para alcanzar este último propósito, en el **Numeral 3.2.2** se abordarán algunas consideraciones teóricas al respecto.

Los valores de las constantes de velocidad (k_{app}) y de los parámetros de activación (E_a , $\Delta H^\ddagger$, $\log A$, $\Delta S^\ddagger$) aparentes u observados para la *orto*-alilnilina 1, se obtuvieron como información preliminar confiable para establecer puntos de comparación o de partida con los datos extraídos de procedimientos teóricos o quimiométricos (*Guassian* o MCR-ALS **Numerales 3.2.2 y 3.2.3**). Para lograr lo propuesto, se determinaron a través de GC-FID y GC-MSD las especies que intervienen en la reacción y se analizaron el efecto de la concentración, la velocidad de agitación y la temperatura sobre el rendimiento de dihidrodibenzo[*b,e*]azepina. Para la *orto*-alilnilina 2, no se obtuvieron datos preliminares mediante GC-FID debido a que la alta velocidad de reacción requería una velocidad de muestreo muy alta.

En la **Figura 8** se indican las especies principales presentes en la alquilación intramolecular de la *orto*-alilnilina 1, que se detectaron mediante GC-FID en un tiempo de reacción intermedio o previo al equilibrio. La TIC de una mezcla de reacción se analizó por GC-MSD para verificar la identidad de los productos (**Figura 9**).

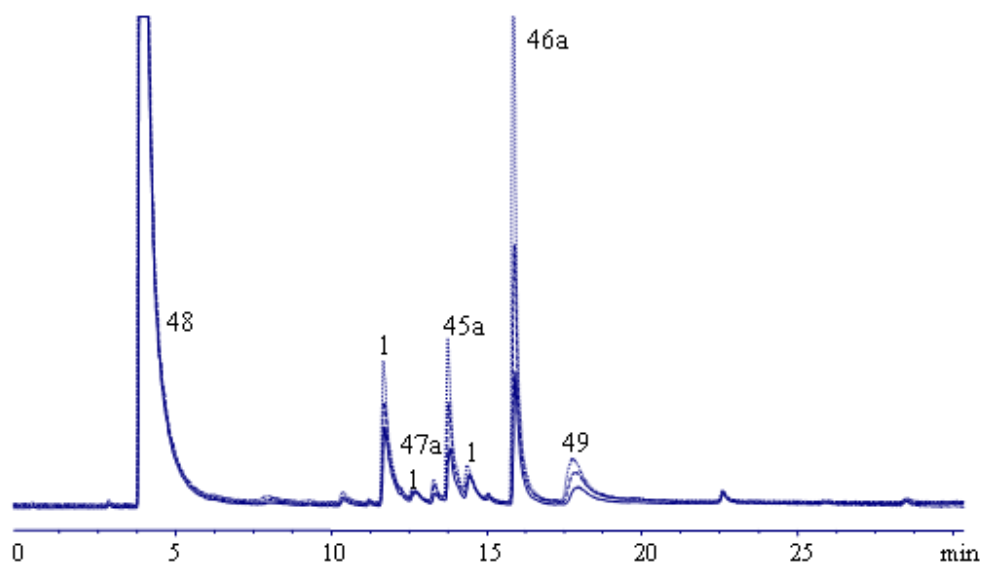


Figura 8. Cromatograma típico para la mezcla de reacción con la *orto*-alililanilina 1. Relación Molar H_2SO_4 /*orto*-alililanilina: 86. T: 0°C . STDI [48]; 11-etil-11*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [47a]; 11-metil-5,6,11,12-tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina [45a]; 11-etil-6,11-dihidro-5*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [46a]; isómeros *orto*-alililanilina [1] y 1-(2-(bencilamino)fenil)propan-2-ol [49].

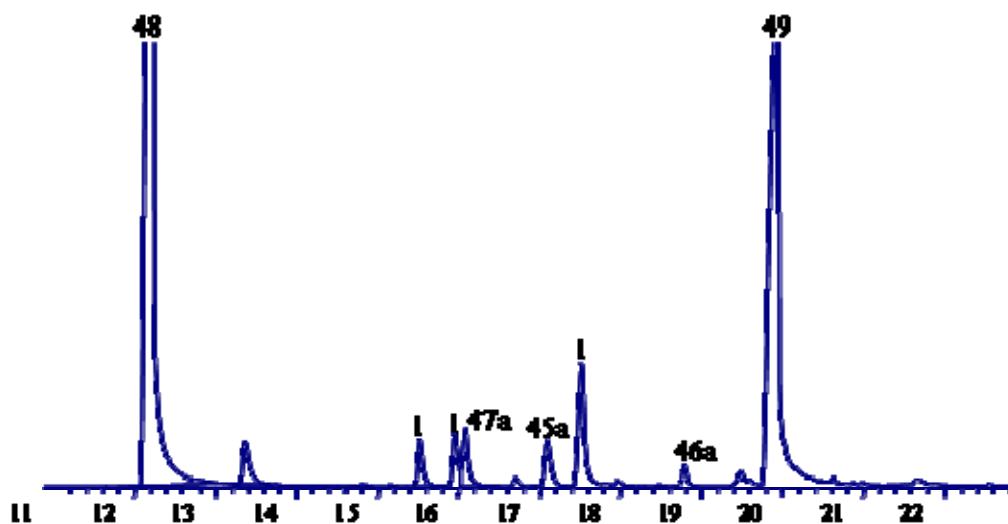
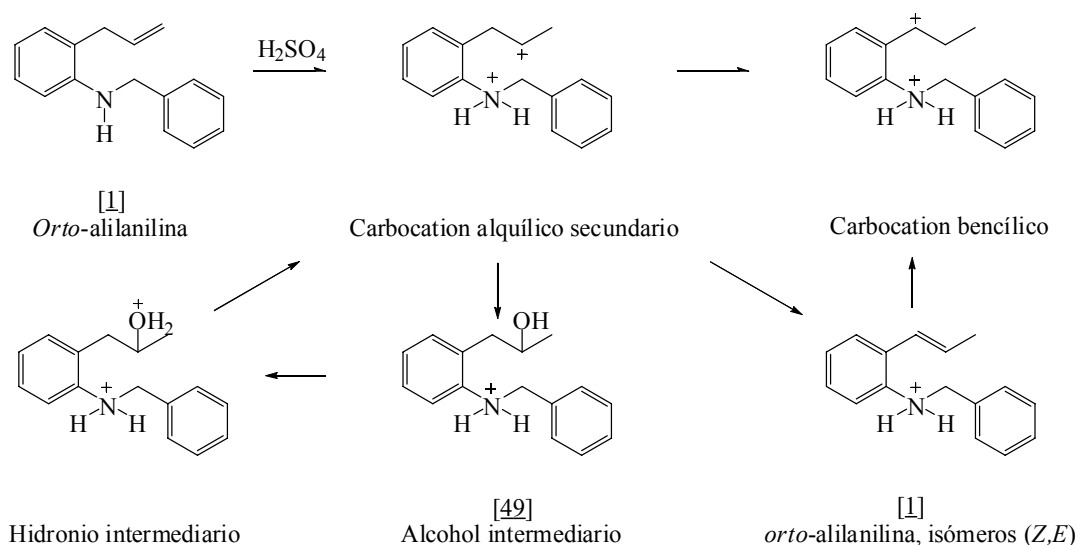


Figura 9. TIC para la mezcla de reacción con la *orto*-alililanilina 1 y H_2SO_4 : H_2O (3:1 v/v). Relación Molar H_2SO_4 /*orto*-alililanilina: 65, T: 30°C STDI [48]; 11-etil-11*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [47a]; 11-metil-5,6,11,12-tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina [45a]; 11-etil-6,11-dihidro-5*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [46a]; isómeros de *orto*-alililanilina [1] y 1-(2-(bencilamino)fenil)propan-2-ol [49].

Las especies detectadas por GC-FID que intervienen en la alquilación intramolecular de la *orto*-alililanilina **1** fueron (ver **Figuras 8 y 9**): *orto*-alililanilina e isómeros [**1**], 11-metil-5,6,11,12-tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina [**45a**], 11-etil-6,11-dihidro-5*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [**46a**], 11-etil-11*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [**47a**] y 1-(2-(bencilamino)fenil)propan-2-ol [**49**]. Además de confirmarse la formación de [**45a**], [**46a**] y [**47a**], se evidenció la obtención de especies intermedias como [**1**] y [**49**]. La similitud entre los espectros de masas de las especies [**1**], indica que probablemente sean isómeros constitucionales de la *orto*-alililanilina **1**. Mientras que, hechos como la fragmentación exhibida por [**49**], con la pérdida de un ion-fragmento de 17 unidades (*m/z*) y la reacción llevada a cabo con una concentración alta de agua (**Figura 9**), permitieron proponer que esta especie fuese probablemente un alcohol, producto de la adición cinética del anión hidroxilo sobre el carbocatión alquílico secundario (ver **Esquema 14**). Los espectros de masas respectivos se presentan en el **Anexo 5**.



Esquema 14. Algunos intermediarios en la alquilación intramolecular de la *orto*-alililanilina **1**.

En las **Figuras 10-12** se pueden observar los efectos de la concentración, la velocidad de agitación y la temperatura sobre el rendimiento de dihidrodibenzo[*b,e*]azepina en la alquilación electrofílica intramolecular de la *orto*-alililanilina **1**.

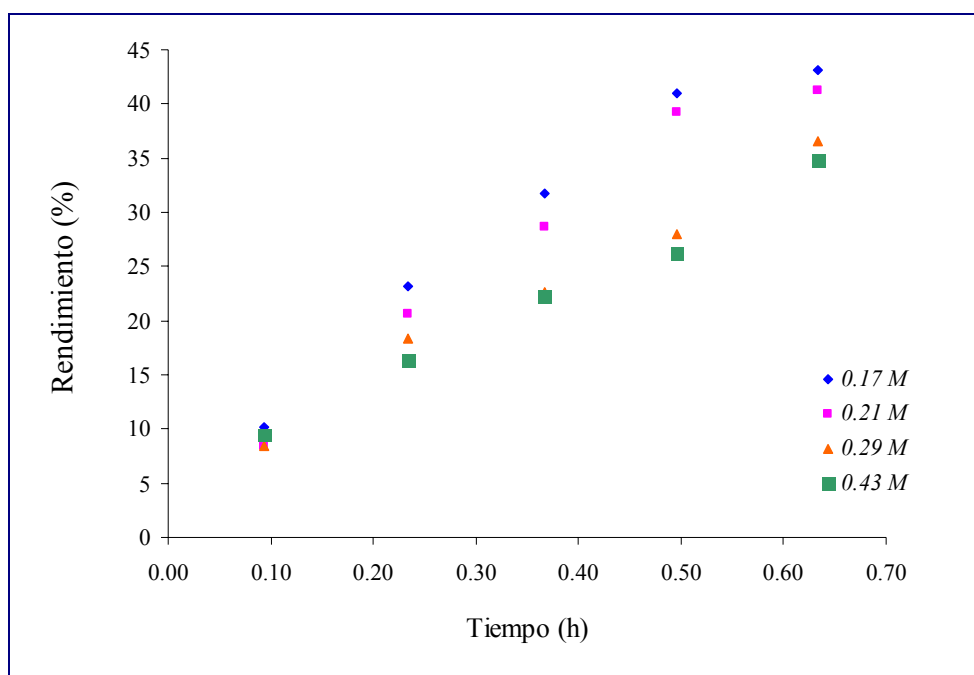


Figura 10. Efecto de la concentración de *orto*-alilanilina 1 sobre el rendimiento de dihidrodibenzo[*b,e*]azepina [46a]. T: 20°C; H₂SO₄: 18 M; 1250 rpm.

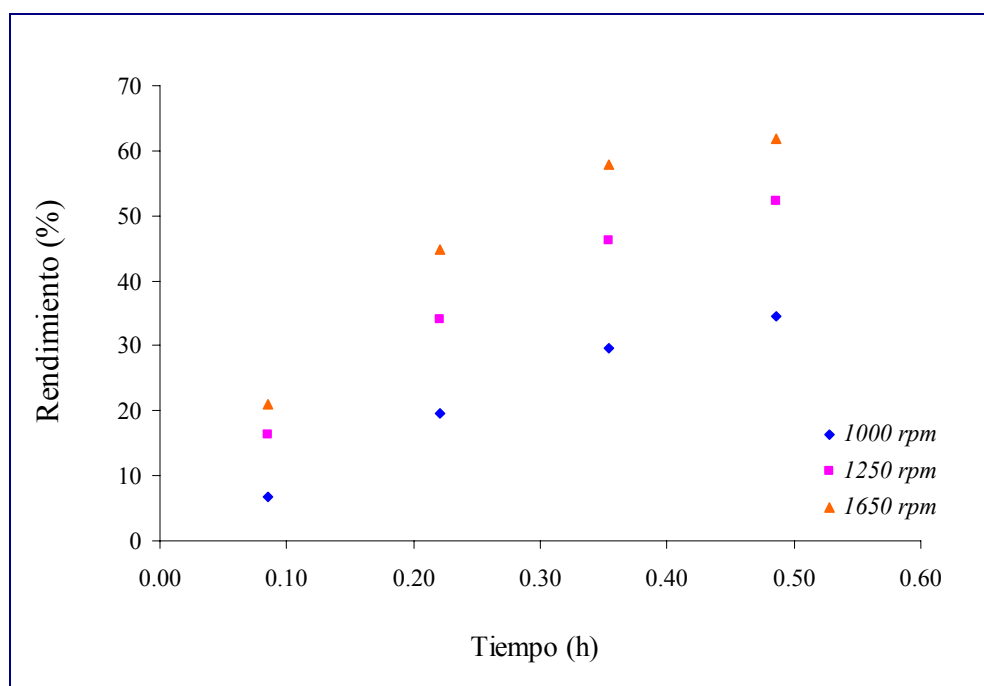


Figura 11. Efecto de la agitación sobre el rendimiento de dihidrodibenzo[*b,e*]azepina [46a]. T: 30°C; *orto*-alilanilina 1: 0.21 M; H₂SO₄: 18 M.

Los parámetros cinéticos verdaderos para la alquilación electrofílica intramolecular de la *orto*-alililanilina **1** en medio heterogéneo (*e.g.* líquido-líquido), podrían ser estimados únicamente con base en: (i) condiciones experimentales donde se elimine la resistencia a la transferencia de masa, (ii) el conocimiento sobre la fase en donde ocurre la reacción y (iii) de acuerdo con la clasificación de reacciones heterogéneas de L. K. Doraiswamy *et al.*, el establecimiento del orden de reacción (muy lenta, lenta, rápida e instantánea) [258]. Entonces, la disminución en el rendimiento de dihidrodibenzo[*b,e*]azepina a medida que aumentó la concentración de *orto*-alililanilina **1**, como se indica en la **Figura 10** y el incremento de la velocidad de reacción con la agitación, según se muestra en la **Figura 11**, permitieron deducir que a 1250 *rpm* la resistencia a la transferencia de masa se elimina sólo, para concentraciones de *orto*-alililanilina **1** menores o iguales a 0.17 M. Mientras que, para concentraciones de *orto*-alililanilina **1** de 0.21 M, la velocidad de reacción es controlada cinéticamente sólo con velocidades de agitación mayores o iguales a 1650 *rpm*. Finalmente, en la **Figura 12**, es posible notar el efecto directamente proporcional de la temperatura sobre la velocidad de reacción.

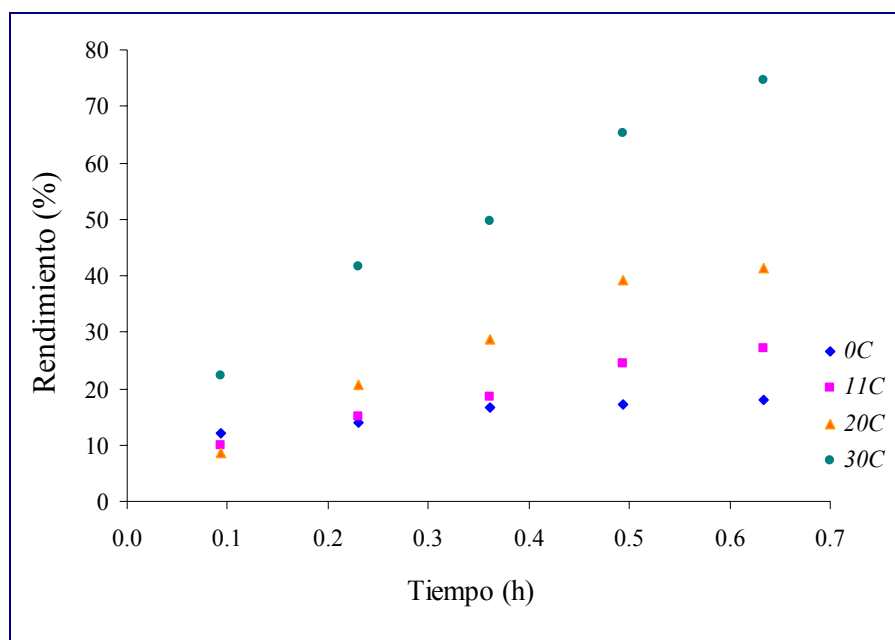


Figura 12. Efecto de la temperatura sobre el rendimiento de dihidrodibenzo[*b,e*]azepina [46a]. *Orto*-alililanilina **1**: 0.21 M; H₂SO₄: 18 M; 1250 *rpm*.

Las constantes de velocidad aparentes (k_{app}) calculadas para cada temperatura, con base en el ajuste de las gráficas de $\ln [(Ce)/(Ce-Ct)]$ vs tiempo de la dihidrodibenzo[*b,e*]azepina, que están relacionadas con varias etapas del mecanismo complejo de la alquilación intramolecular, se indican en la **Tabla 6**. Los parámetros, energía de activación (E_a), $\log A$, $\Delta H^\ddagger$ y $\Delta S^\ddagger$ que se muestran en la **Tabla 7**, se obtuvieron a partir de la ecuación de Arrhenius al graficar $\ln k_{app}$ vs $1/T$, como se indica en la **Figura 13** [45]. En el **Anexo 7** se incluyen las gráficas $\ln ((Ce)/(Ce-Ct))$ vs t , estimadas para cada T .

Tabla 6. k_{app} para la ciclación de la *orto*-alililanilina 1.

T(K)	$k_{app} \times 10^4 (s^{-1})^a$	Error de ajuste(%) ^b	$k_{app \text{ prom}} \times 10^4 (s^{-1})^c$	Desvest $\times 10^4 (s^{-1})^d$	CV ^e %
273	0.51	12.9	0.58	0.08	13.02
273	0.57	7.3			
273	0.66	8.3			
283	1.20	7.5	1.13	0.06	5.09
283	1.10	7.3			
283	1.10	5.3			
293	3.10	13.9	2.9	0.6	20.4
293	3.30	12.2			
293	2.20	10.3			
303	6.00	8.5	5.7	0.3	5.1
303	5.50	8.4			
303	5.50	8.1			

^a $V = k_{app}[\text{orto-alililanilina}]$. $k_{app} = k_{app}^* [H_2SO_4]^n$. ^bError de ajuste (%) = $(\sum (M_i - C_i)^2 / \sum (C_i)^2)$; M_i = concentración calculada con base en la ecuación $\ln [(Ce)/(Ce-Ct)]$ vs t ; C_i = concentración experimental de dihidrodibenzo[*b,e*]azepina. ^cprom = promedio. ^dDesviación estándar. ^eCoficiente de varianza = $(\text{Desvest} \times 100) / (\text{promedio})$. *Orto*-alililanilina 1: 0.21 M; H_2SO_4 : 18 M; 1250 rpm.

Las constantes de velocidad mostradas en la **Tabla 6**, siguen la bien conocida *regla del pulgar (rule of thumb)*, la cual indica que el incremento de la temperatura en 10°C, causa un aumento en la velocidad de reacción que varía entre 2 y 3 veces [45,259]. Los órdenes determinados para las k_{app} entre 10^{-5} - $10^{-4} s^{-1}$, se encuentran entre los valores intermedios de las k_{app} reportadas en la literatura para las siguientes reacciones: formólisis de 5-aril-1-pentiltosilatos (10^{-5} - 10^{-4} , k_{obs}), sustitución de cloruro de benzoilo por el ión benzoato (10^{-4} - 10^{-3} , k_{obs}), oxidación de alcohol bencílico (10^{-4} - 10^{-2} , k_{-1}), oxidación de 5-vinil-2-norborneno

(10^{-6} - 10^{-5} , k_{obs}), clorometilación de benceno y tolueno (10^{-6} - 10^{-5} , k_I) y para la alquilación electrofílica intramolecular de diarilhomobenzoquinonas (10^{-6} - 10^{-2} , k_I M⁻¹ s⁻¹), entre otras reacciones [217,260-264].

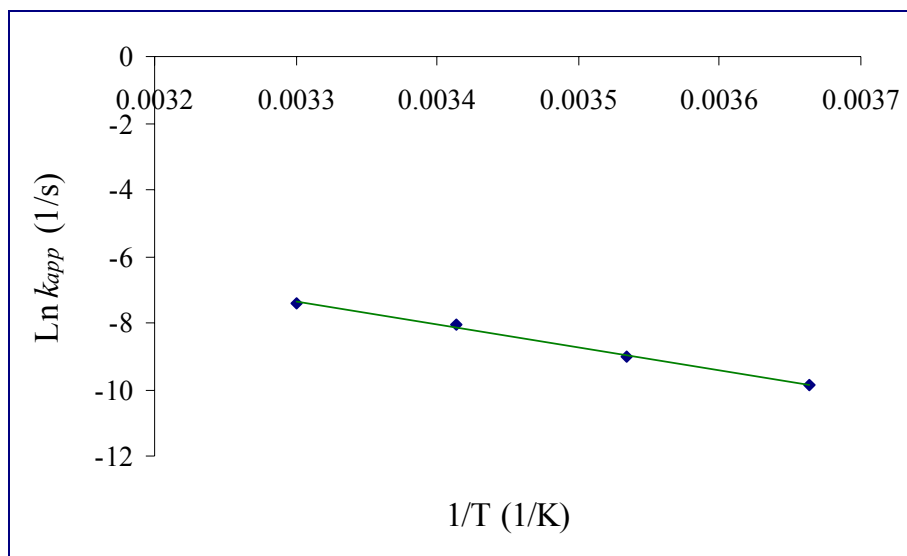


Figura 13. Variación de la k_{app} (1/s) con respecto al inverso de la temperatura, $1/T$ (1/K).

Tabla 7. Parámetros termodinámicos para la ciclación de la *orto*-alilanilina 1.

Parámetro	Valor	Valor promedio	Desvest ^a	CV %
Ea (kcal/mol)	14	13	1	9
	13			
	12			
$\Delta H^\ddagger$ (kcal/mol) T= 298K	13	12	1	9
	12			
	11			
logA (s ⁻¹)	6.7	5.9	0.9	14.5
	6.1			
	5.0			
$\Delta S^\ddagger$ (cal/mol.K) T= 298K	-28	-31	4	-13
	-30			
	-36			

^aDesviación estándar

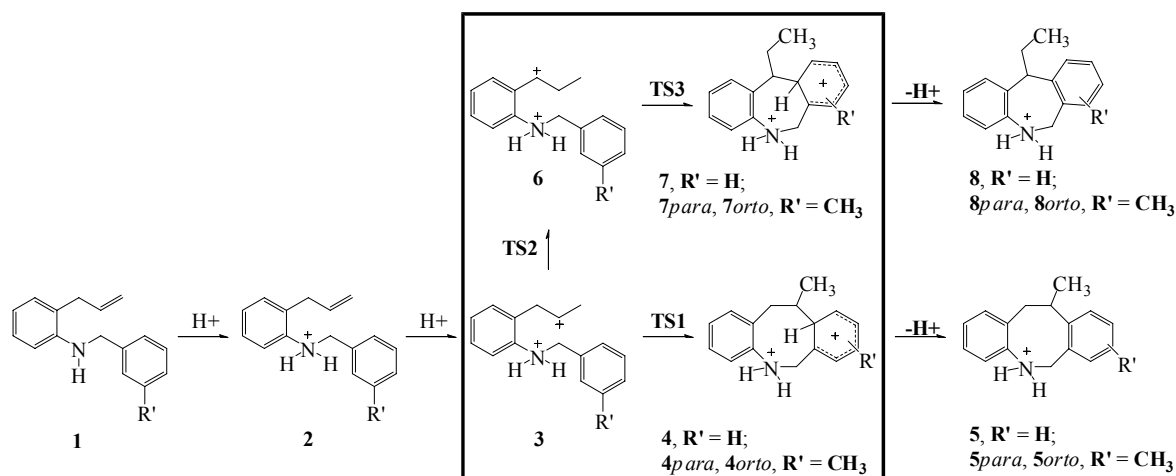
Los datos de la **Tabla 7**, sugieren que en el estado de transición no hay rompimiento sustancial de algún enlace, ya que los valores de E_a y $\Delta H^\ddagger$, son relativamente bajos al compararlos con las energías de enlace C-C o C-H (81 y 98 kcal/mol [41]); o por el contrario, que la energía necesaria para la ruptura del enlace se compensa por la formación de otro. Adicionalmente, como se esperaba, la alquilación intramolecular conduce a una pérdida de entropía ($-\Delta S^\ddagger$), puesto que requiere un estado de transición con una estructura altamente ordenada, de una entropía más baja que la de los reactivos [45]. Además, el factor de frecuencia o frecuencia de colisión (A), presenta un orden entre 10^5 y 10^6 (s^{-1}), por debajo de los valores encontrados para reacciones bimoleculares (10^{11} - 10^7 $M^{-1}min^{-1}$), en donde la etapa limitante de la velocidad de reacción depende en un grado alto de la frecuencia de colisión [259].

3.2.2 Estudio teórico de la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts. Obtención de dihidrodibenzo[*b,e*]azepinas y tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocinas.

Energías.

En las **Tablas 8** y **9** se reportan los valores de las energías electrónicas (E), las energías vibracionales en el punto cero (ZPE), las entalpías (H) y las entropías (S), para los puntos estacionarios, mínimos y estados de transición en fase gaseosa, de las coordenadas de reacción resaltadas en el **Esquema 15**.

De acuerdo con la **Tabla 8** (R= H) la energía electrónica de **4** (0.0130, energía relativa a la especie **6** en Hartree) es más grande que la del carbocatión secundario **3** (0.0122), lo mismo sucede con **7** (0.0112) en relación con el carbocatión **6** (0.0000), pero **6** tiene energía más baja que **3**. Entonces puede proponerse que el efecto entálpico en el reordenamiento 1,2 de hidruro (1,2-H), de **3**→**6** ($\Delta H = -0.0124$ Hartree, $\Delta S = -0.814 \text{ calmol}^{-1}\text{K}^{-1}$, $\Delta G = -7.537 \text{ kcalmol}^{-1}$) es más grande que en **3**→**4** ($\Delta H = -0.0013$ Hartree, $\Delta S = -16.886 \text{ calmol}^{-1}\text{K}^{-1}$, $\Delta G = 4.215 \text{ kcalmol}^{-1}$) y que en **6**→**7** ($\Delta H = 0.0097$ Hartree, $\Delta S = -13.344 \text{ calmol}^{-1}\text{K}^{-1}$, $\Delta G = 10.038 \text{ kcalmol}^{-1}$). La poca pérdida de entropía causada en el reordenamiento 1,2-H, se compensa por el efecto entálpico, de tal forma que es el único proceso que llega a ser exotérmico (las ciclaciones no lo son). Cuando R= CH₃ (**Tabla 9**), las especies **4orto**, **4para**, **6**, **7orto** y **7para** son energéticamente más estables que **3**. En este caso, la introducción del grupo CH₃ incrementa el efecto entálpico y compensa la pérdida de entropía de las ciclaciones, de tal manera que estas etapas llegan a ser exotérmicas (excepto en **6**→**7orto**). Así, en la etapa de **3**→**4para** ($\Delta H = -0.0124$ Hartree, $\Delta S = -10.361 \text{ calmol}^{-1}\text{K}^{-1}$, $\Delta G = -4.665 \text{ kcalmol}^{-1}$), el efecto entálpico es más grande que en **6**→**7para** ($\Delta H = -0.0085$ Hartree, $\Delta S = -12.516 \text{ calmol}^{-1}\text{K}^{-1}$, $\Delta G = -1.620 \text{ kcalmol}^{-1}$), **3**→**4orto** ($\Delta H = -0.0067$ Hartree, $\Delta S = -12.721 \text{ calmol}^{-1}\text{K}^{-1}$, $\Delta G = -0.410 \text{ kcalmol}^{-1}$), **3**→**6** ($\Delta H = -0.0057$ Hartree, $\Delta S = 4.684 \text{ calmol}^{-1}\text{K}^{-1}$, $\Delta G = -4.978 \text{ kcalmol}^{-1}$) y en **6**→**7orto** ($\Delta H = 0.0001$ Hartree, $\Delta S = -15.081 \text{ calmol}^{-1}\text{K}^{-1}$, $\Delta G = 4.557 \text{ kcalmol}^{-1}$).



Esquema 15. Etapas principales de la alquilación electrofílica intramolecular de las *orto*-alilanilinas 1 y 2.

Tabla 8. Energías electrónicas (E) en Hartree evaluadas con los niveles de teoría UHF/6-31+G(d) y RMP2/6-311++G(d,p), para R= H. Entalpías (H) en Hartree y entropías (S) en calmol⁻¹K⁻¹ a 298.150 K, evaluadas con los niveles de teoría UHF/6-31+G(d).

Especie	E = Eelec+ZPE ^a	E = Eelec+ZPE ^{a,b}	H ^a	S ^a	E = Eelec ^c
1	-669.923336	0.563951	-669.908215	124.088	-670.370525
2	-670.291689	0.195598	-670.276510	123.552	-670.757048
3	-670.475104	0.012183	-670.458914	129.751	-670.951816
3*	-670.473822	0.013465	-670.458144	123.168	-670.952231
TS1	-670.463106	0.024181	-670.449056	113.243	-670.943323
4	-670.474267	0.01302	-670.460220	112.865	-670.956631
5	-670.289036	0.198251	-670.458914	129.740	-670.757824
TS2	-670.464169	0.023118	-670.448537	126.727	-670.942100
6	-670.487287	0.000000	-670.471312	128.937	-670.965649
6*	-670.480583	0.006704	-670.464737	127.002	-670.959446
TS3	-670.458760	0.028527	-670.444406	114.433	-670.938174
7	-670.476098	0.011189	-670.461655	115.593	-670.957455
8	-670.301043	0.186244	-670.287064	113.224	-670.764933

^aUHF/6-31+G(d); ^bEnergías relativas a la especie **6**; ^cRMP2/6-311++G(d,p); *Representa un conformero de energía más alta que la energía del conformero en el estado basal.

Tabla 9. Energías electrónicas (E) en Hartree evaluadas con los niveles de teoría UHF/6-31+G(d) y RMP2/6-311++G(d,p), para R= CH₃. Entalpías (H) en Hartree y entropías (S) en calmol⁻¹K⁻¹ a 298.150 K, evaluadas con los niveles de teoría UHF/6-31+G(d).

Especie	E = Elec+ZPE ^a	E = Elec+ZPE ^{a,b}	H ^a	S ^a	E = Elec ^c
1	-708.933208	0.568843	-708.916233	133.903	-709.418585
2	-709.300970	0.201082	-709.283973	133.424	-709.804730
3	-709.489113	0.012939	-709.471633	132.252	-710.005874
3orto	-709.484581	0.017471	-709.467262	130.667	-710.001707
TS1orto	-709.479241	0.022810	-709.463458	120.915	-709.997945
4orto	-709.493929	0.008123	-709.478330	119.531	-710.015525
3para	-709.485076	0.016977	-709.467730	131.143	-710.002250
TS1para	-709.480303	0.021748	-709.464300	123.842	-709.998666
4para	-709.499786	0.002266	-709.483990	121.891	-710.021106
5orto	-709.278496	0.223556	-709.263667	116.067	-709.786577
5para	-709.298519	0.203533	-709.283198	121.090	-709.805557
3*	-709.482585	0.019467	-709.464619	138.785	-709.997976
TS2	-709.471810	0.030242	-709.454521	134.065	-709.988759
6	-709.495006	0.007046	-709.477341	136.936	-710.012431
6orto	-709.491542	0.010509	-709.473938	135.268	-710.008989
TS3orto	-709.470856	0.031196	-709.454672	123.558	-709.988979
7orto	-709.493215	0.008836	-709.477244	121.855	-710.014295
6para	-709.491128	0.010926	-709.473518	135.670	-710.008532
TS3para	-709.475732	0.026324	-709.459511	123.879	-709.993574
7para	-709.502052	0.000000	-709.485870	124.420	-710.022501
8orto	-709.304007	0.198045	-709.288533	119.611	-709.810788
8para	-709.310423	0.191628	-709.294564	123.610	-709.812706

^aUHF/6-31+G(d); ^bEnergías relativas a la especie **7para**; ^cRMP2/6-311++G(d,p); * Representa un conformero de energía más alta que la energía del conformero en el estado basal; *orto* y *para*: nomenclatura utilizada aquí para describir la posición relativa del sustituyente R y el enlace final que se forma durante la alquilación.

Los cambios en energía libre requeridos para obtener **4**, **4para**, **4orto**, **7**, **7para** y **7orto**, a partir de los carbocationes **3** y **6**, mediante procesos de ciclación y de reordenamiento 1,2-H se muestran en las **Figuras 14-17**. Así, cuando R= H, las etapas de ciclación son procesos endotérmicos pero la introducción del grupo metilo (R= CH₃), proporciona mayor estabilidad a **4para**, **4orto** y **7para** y las ciclaciones se convierten en procesos exotérmicos. Entonces, es posible considerar que cuando R= H, los estados de transición **TS1** y **TS3** presentan geometrías similares a los productos **4** y **7** (carácter *late*, según el principio de Hammond y Bell-Evans-Polanyi (BEP) [265]). Esto último puede tomarse como una de las herramientas para explicar por qué la introducción del grupo metilo cambia la espontaneidad del proceso de ciclación y se transforma en exotérmico.

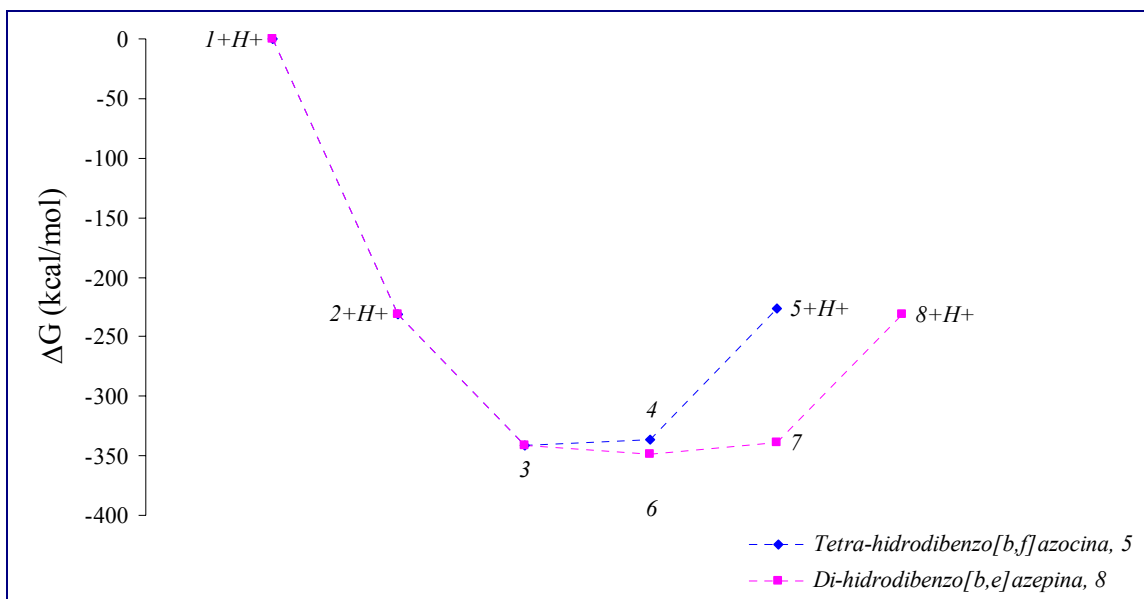


Figura 14. Perfil de energía libre a 298.150 K evaluado al nivel UHF/6-31+G(d) para R= H. Los valores de energía libre en kcalmol⁻¹ relativos a **1+H⁺**, de los puntos estacionarios encontrados, a saber: **1+H⁺**, 0.00; **2+H⁺**, -230.95; **3**, -340.98; **4**, -336.77; **5+H⁺**, -226.22; **6**, -345.58; **7**, -338.48 y **8+H⁺**, -231.49.

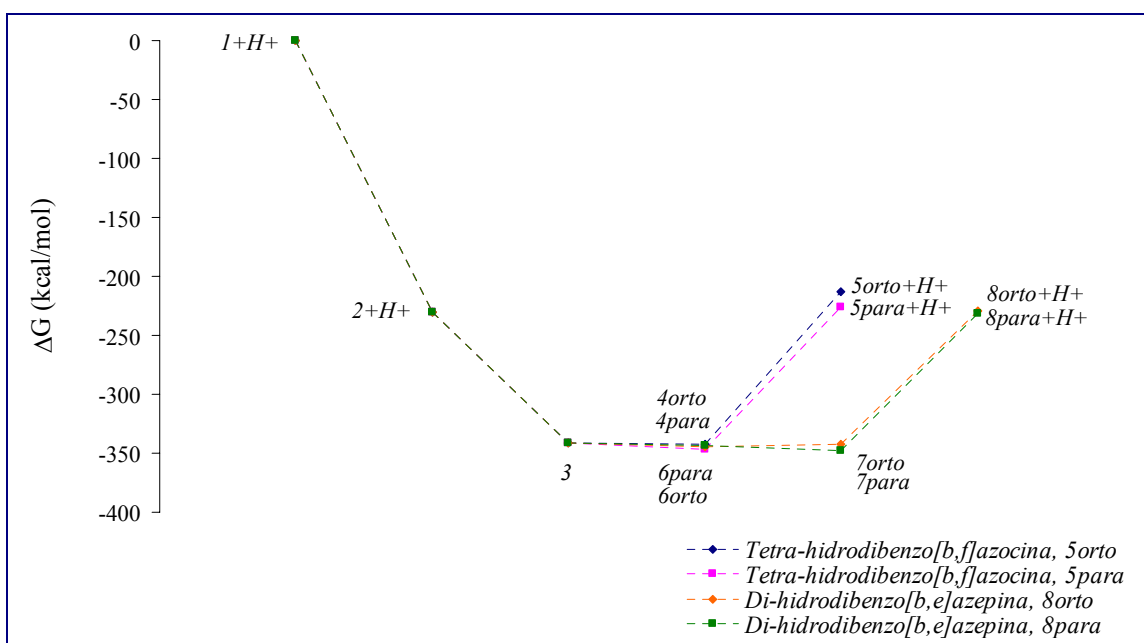


Figura 15. Perfil de energía libre a 298.150 K, evaluados al nivel de teoría UHF/6-31+G(d) para R= CH₃. Los valores de energía libre en kcalmol⁻¹ relativos a **1+H⁺**, de los puntos estacionarios encontrados, a saber: **1+H⁺**, 0.00; **2+H⁺**, -230.62; **3**, -341.75; **4orto**, -342.16; **4para**, -346.41; **5orto + H⁺**, -212.70; **5para + H⁺**, -226.45; **6orto**, -344.10; **6para**, -343.95; **7orto**, -342.17; **7para**, -348.35, **8orto + H⁺**, -229.36 y **8para + H⁺**, -231.30.

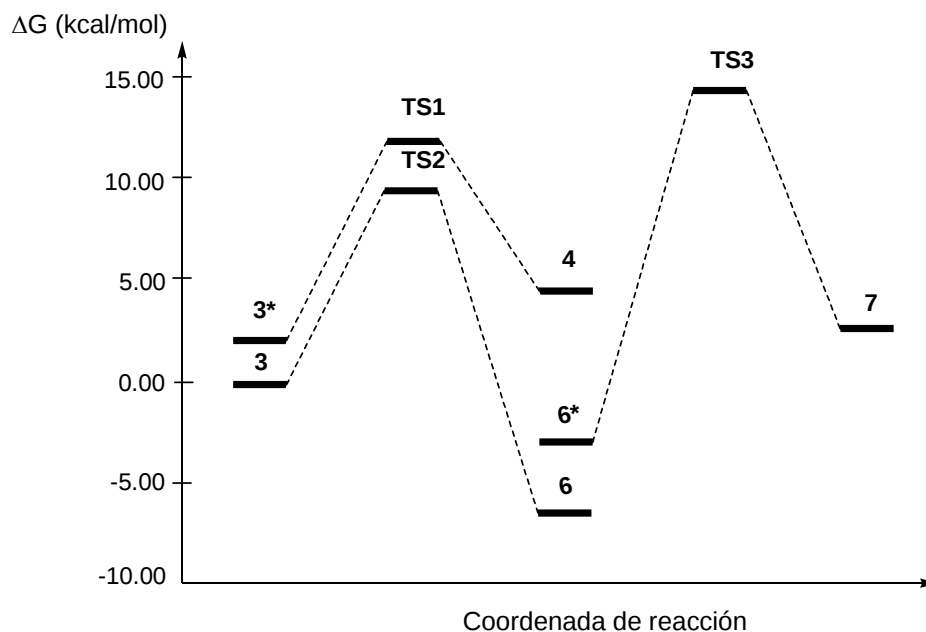


Figura 16. Perfil de energía libre a 298.150 K evaluado al nivel UHF/6-31+G(d) para R= H. Ciclación. Los valores de energía libre en kcalmol⁻¹ relativos a 3, de los puntos estacionarios encontrados, a saber: **3***, 2.44; **TS1**, 11.10; **4**, 4.21; **3**, 0.00; **TS2**, 7.41; **6**, -7.54; **6***, -2.84; **TS3**, 13.67 y **7**, 2.50.

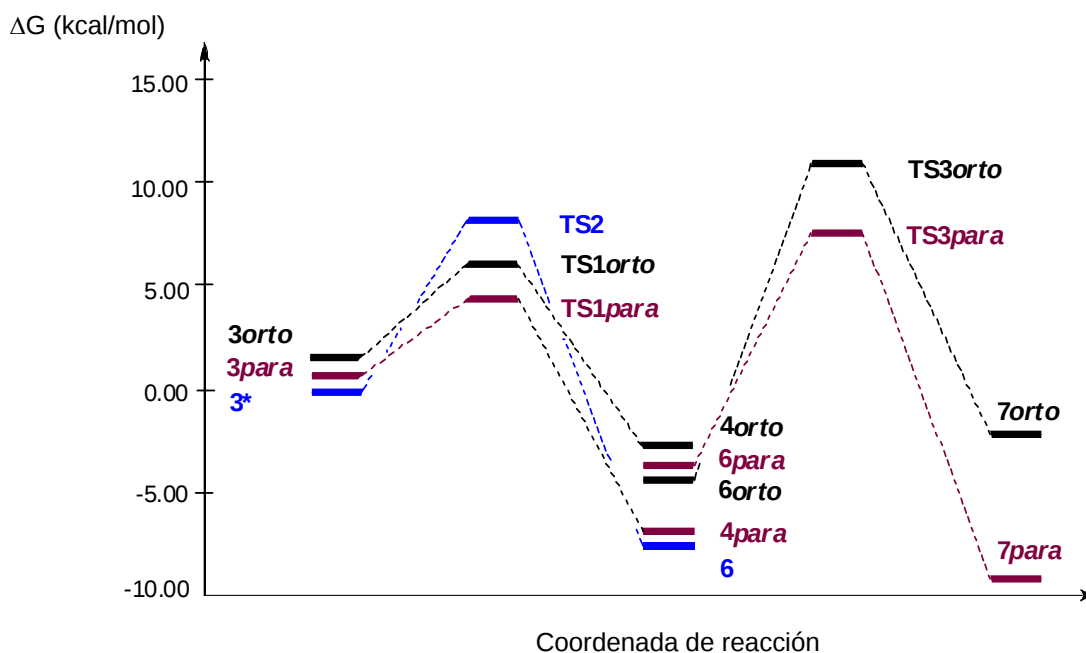


Figura 17. Perfil de energía libre a 298.150 K evaluado al nivel UHF/6-31+G(d) para R= CH₃. Ciclación. Los valores de energía libre en kcalmol⁻¹ relativos a 3*, de los puntos estacionarios encontrados, a saber: **3orto**, 0.76; **TS1orto**, 6.06; **4orto**, -2.86; **3para**, 0.33; **TS1para**, 4.66; **4para**, -7.12; **3***, 0.00; **TS2**, 7.74; **6**, -7.43; **6orto**, -4.80; **TS3orto**, 10.78; **7orto**, -2.87; **6para**, -4.66; **TS3para**, 7.65 y **7para**, -9.05.

Las consideraciones previas también pueden ser utilizadas para explicar el hecho de que cuando R= CH₃, no mejora la selectividad hacia alguno de los productos, sino que se ve aumentada tanto la formación de dihidrodibenz[*b,e*]azepina (**6**→**7***para*) como de tetrahidrodibenz[*b,f*]azocinas (**3**→**4***orto* y **3**→**4***para*), *i.e.*, las velocidades de formación son más altas y las energías de activación más bajas, en relación con R= H. Por otro lado, ya que el reordenamiento 1,2-H desde **3**→**6** (proceso concertado donde el estado de transición involucra tres átomos [41]), con R= CH₃ no mejora su exotermicidad, *i.e.*, este grupo no tiene influencia alguna sobre esta etapa, se puede proponer con base en los resultados de D. Tantillo [222], que la introducción de sustituyentes electrodonores en posiciones con directa influencia sobre la estabilidad de los carbocationes **3** ó **6** (*e.g.* sobre el anillo aromático del grupo alilo), podría cambiar la velocidad y energía de activación de la etapa **3**→**6**, lo que mejoraría la selectividad de la ciclación hacia la obtención de dihidrodibenz[*b,e*]azepinas.

Tabla 10. Parámetros cinéticos y de activación calculados al nivel UHF/6-31+G(d) a 298.15 K.

Etapas	$\Delta H^\ddagger$ (kcal mol ⁻¹)	$\Delta S^\ddagger$ (cal mol ⁻¹ K ⁻¹)	$\Delta G^\ddagger$ (kcal mol ⁻¹)	Log A (s ⁻¹)	k (s ⁻¹)	Ea (kcal mol ⁻¹)
R= H						
3 → 4	5.70	-9.93	8.66	10.624	2.78x10 ⁶	6.30
3 → 6	6.51	-3.01	7.41	12.135	2.30x10 ⁷	7.10
6 → 7	12.76	-12.57	16.5	10.046	4.96x10 ⁰	13.35
R=CH₃						
(3 → 4) <i>para</i>	2.16	-7.30	4.33	11.198	4.14x10 ⁹	2.75
(3 → 4) <i>orto</i>	2.39	-9.75	5.29	10.662	8.17x10 ⁸	2.98
3 → 6	6.34	-4.72	7.74	11.762	1.31x10 ⁷	6.93
(6 → 7) <i>para</i>	8.79	-11.79	12.30	10.216	5.94x10 ³	9.38
(6 → 7) <i>orto</i>	12.09	-11.71	15.58	10.234	2.35x10 ¹	12.68

Orto y *para*: nomenclatura utilizada aquí para describir la posición relativa del sustituyente R y el enlace final que se forma durante la alquilación.

Los parámetros cinéticos para las etapas de reacción estudiadas se muestran en la **Tabla 10**. Como se puede observar, tanto para R= H como para R= CH₃, las etapas para la generación

de **4**, **4para** y **4orto** tienen velocidades de reacción más altas que para la obtención de **7**, **7para** y **7orto**. Los valores de $\Delta H^\ddagger$ y $\Delta S^\ddagger$ indican que en los pasos **6**→**7**, **6**→**7para** y **6**→**7orto**, hay una probabilidad menor de adquirir la estructura conformacional adecuada que se conecta con los estados de transición respectivos, en relación con las etapas de **3**→**4**, **3**→**4para** y **3**→**4orto**. En adición, cuando R= H, el desplazamiento 1,2-H desde **3**→**6** es la etapa de reacción más rápida, mientras que para R= CH₃, las ciclaciones **3**→**4para** y **3**→**4orto** son las que presentan valores más altos en las constantes de velocidad. Estos resultados son coherentes con los reportados por A. Milet y D. Tantillo para sustituyentes electrodonores; además están relacionados con el hecho de que el aumento de la estabilidad en la población de conformeros que se conectan con los estados de transición conduce a un incremento en la velocidad de reacción [222,266].

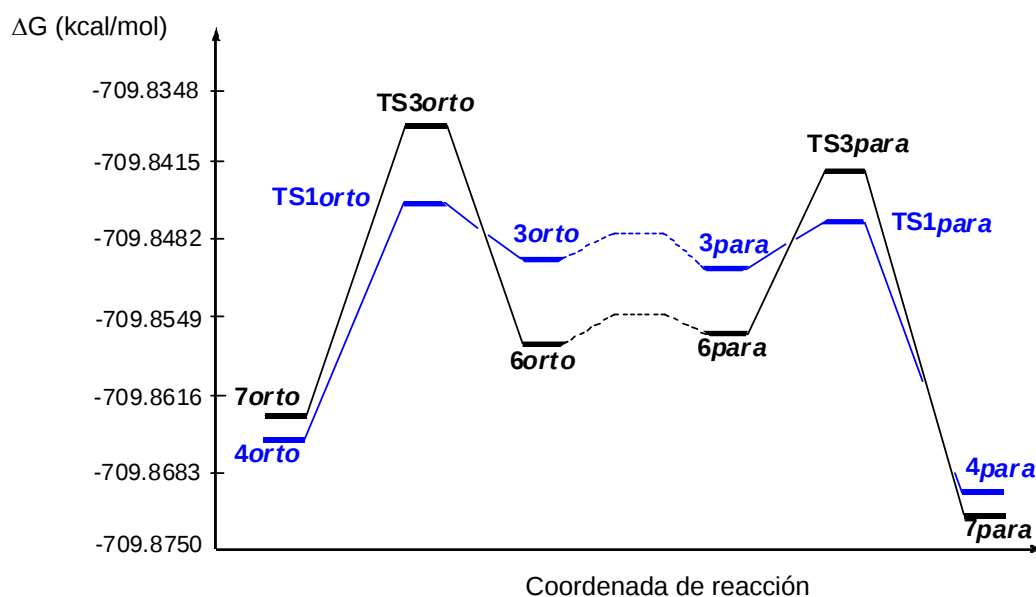


Figura 18. Perfil de energía electrónica sin corrección ZPE, para la formación de **4orto** (-709.864204), **4para** (-709.869571), **7orto** (-709.862960) y **7para** (-709.871117) a partir de **3orto** (-709.849096), **3para** (-709.849613), **6orto** (-709.857380) y **6para** (-709.856948), respectivamente. **TS1orto** (-709.846218), **TS1para** (-709.846875), **TS3orto** (-709.837678) y **TS3para** (-709.842242).

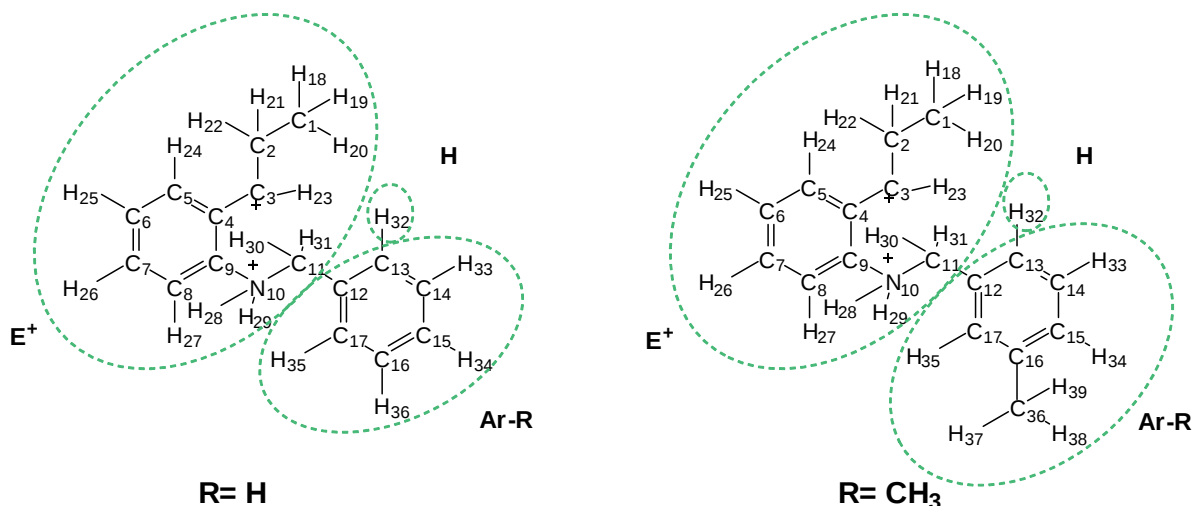
La obtención de **4orto**, **4para**, **7orto** y **7para** se puede explicar con base en el equilibrio termodinámico entre los conformeros **3orto-3para** y **6orto-6para**, respectivamente. A partir de los datos mostrados en la **Figura 18**, se puede proponer lo siguiente: “si las energías de activación para las ciclaciones desde **3orto**→**4orto**, **3para**→**4para**, **6orto**→**7orto** y **6para**→**7para**, son mayores que las energías de activación requeridas para las isomerizaciones entre **3orto**→**3para** y **6orto**→**6para**, entonces el principio de Curtin-Hammett/Winstein-Holness (CH/WH) [216], puede ser utilizado para la explicación de la obtención preferencial de **4para** y **7para** en relación con **4orto** y **7orto**. Así, mediante la **Ecuación 25**, extraída por analogía con la reportada por J. Seeman a partir del enunciado de CH/WH [216], fue posible estimar las relaciones de productos cuando R= CH₃, a saber: **4para/4orto**= 10.59 y **7para/7orto**= 197.76, tendencia similar a la que se encontró en el análisis de los productos de reacción por GC-FID (ver **Numeral 3.2.1**).

$$\text{para/orto} = \exp((G_{\text{TSorto}} - G_{\text{TSpara}})/0.592488)$$

Ecuación 25

🚧 Geometrías y cargas.

Las principales distancias interatómicas y cargas NBO de las geometrías optimizadas se indican en las **Tablas 11-13**. La nomenclatura utilizada se muestra en el **Esquema 16**.



Esquema 16. Estructuras que indican la nomenclatura utilizada en las **Tablas 11-13**.

Tabla 11. Distancias interatómicas, en Angstroms, de las especies involucradas en la coordenada de reacción. R= H. (UHF/6-31+G(d)).

Enlace ^a	Especies ^b								
	3	3*	TS1	4	TS2	6	6*	TS3	7
C ₂ -C ₁₃	- <i>b</i>	3.352	2.181	1.622	- <i>c</i>	- <i>c</i>	3.857	2.910	2.620
C ₃ -C ₁₃	- <i>b</i>	3.688	2.934	2.666	- <i>c</i>	- <i>c</i>	4.367	2.195	1.610
C ₁₃ -C ₁₄	1.386	1.388	1.414	1.487	1.386	1.385	1.386	1.410	1.486
C ₁₄ -C ₁₅	1.388	1.392	1.383	1.358	1.389	1.389	1.390	1.388	1.358
C ₁₅ -C ₁₆	1.388	1.386	1.384	1.398	1.388	1.389	1.389	1.381	1.399
C ₁₆ -C ₁₇	1.386	1.392	1.408	1.423	1.386	1.385	1.387	1.413	1.423
C ₁₇ -C ₁₂	1.393	1.389	1.370	1.352	1.393	1.394	1.393	1.364	1.348
C ₂ -H ₂₂	- <i>c</i>	- <i>c</i>	- <i>c</i>	- <i>c</i>	1.325	1.090	1.093	1.093	1.090
C ₁₃ -H ₃₂	1.078	1.079	1.078	1.090	1.078	1.078	1.078	1.076	1.094

^a La nomenclatura se indica en el Esquema 16. ^b Las estructuras se muestran en el Esquema 15. ^c Distancias de enlace mayor que 4.0 Å. *Orto* y *para*: nomenclatura utilizada aquí para describir la posición relativa del sustituyente R y el enlace final que se forma durante la alquilación.

Tabla 12. Distancias interatómicas, en Angstroms, de las especies involucradas en la coordenada de reacción. R= CH₃. (UHF/6-31+G(d)).

Enlace ^a	Especies ^b														
	3orto	TS1orto	4orto	3para	TS1para	4para	3*	TS2	6	6orto	TS3orto	7orto	6para	TS3para	7para
C ₂ -C ₁₃	3.924	3.716	3.513	3.132	2.342	1.609	- <i>c</i>	- <i>c</i>	- <i>c</i>	4.046	4.848	- <i>c</i>	3.818	2.989	2.617
C ₂ -C ₁₇	3.187	2.322	1.623	3.955	3.745	3.568	- <i>c</i>	- <i>c</i>	- <i>c</i>	3.823	3.004	2.614	4.145	4.910	- <i>c</i>
C ₃ -C ₁₃	4.430	4.386	4.384	3.556	3.032	2.662	- <i>c</i>	- <i>c</i>	- <i>c</i>	3.732	3.657	- <i>c</i>	4.347	2.324	1.604
C ₃ -C ₁₇	3.596	3.019	2.664	4.468	4.448	4.487	- <i>c</i>	- <i>c</i>	- <i>c</i>	4.366	2.277	1.589	3.815	3.718	- <i>c</i>
C ₁₃ -C ₁₄	1.395	1.411	1.435	1.388	1.405	1.490	1.387	1.387	1.387	1.389	1.414	1.434	1.388	1.404	1.489
C ₁₄ -C ₁₅	1.382	1.374	1.379	1.390	1.382	1.350	1.386	1.386	1.386	1.386	1.372	1.378	1.386	1.387	1.350
C ₁₅ -C ₁₆	1.400	1.400	1.381	1.391	1.391	1.413	1.395	1.395	1.395	1.397	1.402	1.381	1.397	1.388	1.414
C ₁₆ -C ₁₇	1.391	1.409	1.498	1.400	1.414	1.437	1.390	1.390	1.390	1.390	1.414	1.501	1.390	1.419	1.438
C ₁₇ -C ₁₂	1.403	1.426	1.502	1.386	1.371	1.346	1.393	1.393	1.393	1.396	1.429	1.504	1.395	1.365	1.343
C ₂ -H ₂₂	- <i>c</i>	- <i>c</i>	- <i>c</i>	- <i>c</i>	- <i>c</i>	- <i>c</i>	- <i>c</i>	1.332	1.090	1.093	1.093	1.089	1.093	1.094	1.090
C ₁₃ -H ₃₂	1.075	1.075	1.074	1.079	1.078	1.090	1.078	1.078	1.078	1.077	1.075	1.074	1.077	1.076	1.093

^a La nomenclatura se indica en el Esquema 16. ^b Las estructuras se muestran en el Esquema 15. ^c Distancias de enlace mayor que 4.0 Å. *orto*- y *para*- nomenclatura utilizada aquí para describir la posición relativa del sustituyente R y el enlace final que se forma durante la alquilación.

Las geometrías optimizadas de los puntos estacionarios, mínimos y TS de las ciclaciones intramoleculares 7-*exo-trig* y 8-*exo-trig* y del reordenamiento 1,2-H, para las *orto*-alilanilinas 1 y 2, se muestran en las **Figuras 19** y **20**. Es importante anotar que los cálculos IRC indicaron que, para el caso de las ciclaciones, los TS se conectaron con conformeros que poseen estructura diferente a los del estado electrónico fundamental (energía más baja). Los valores de distancias intermoleculares para **TS1**, **TS1para**, **TS1orto**, **TS2**, **TS3**, **TS3para** y **TS3orto** fueron intermedias entre los centros de reacción, así: la distancia C₂-C₁₃ fue 2.18 Å en **TS1**; 2.34 Å en **TS1para** y C₂-C₁₇ fue 2.32 Å en **TS1orto**. La distancia C₃-C₁₃ fue 2.20 Å en **TS3**; 2.32 Å en **TS3para** y C₃-C₁₇ fue 2.28 Å en **TS3orto**. Estas distancias exhibieron valores similares a las obtenidas por D. Tantillo *et al.* para la alquilación electrofílica intramolecular de diarilhomobenzoquinonas y por A. Milet *et al.* en las ciclaciones intramoleculares de radicales alquílicos fluorados [222,266].

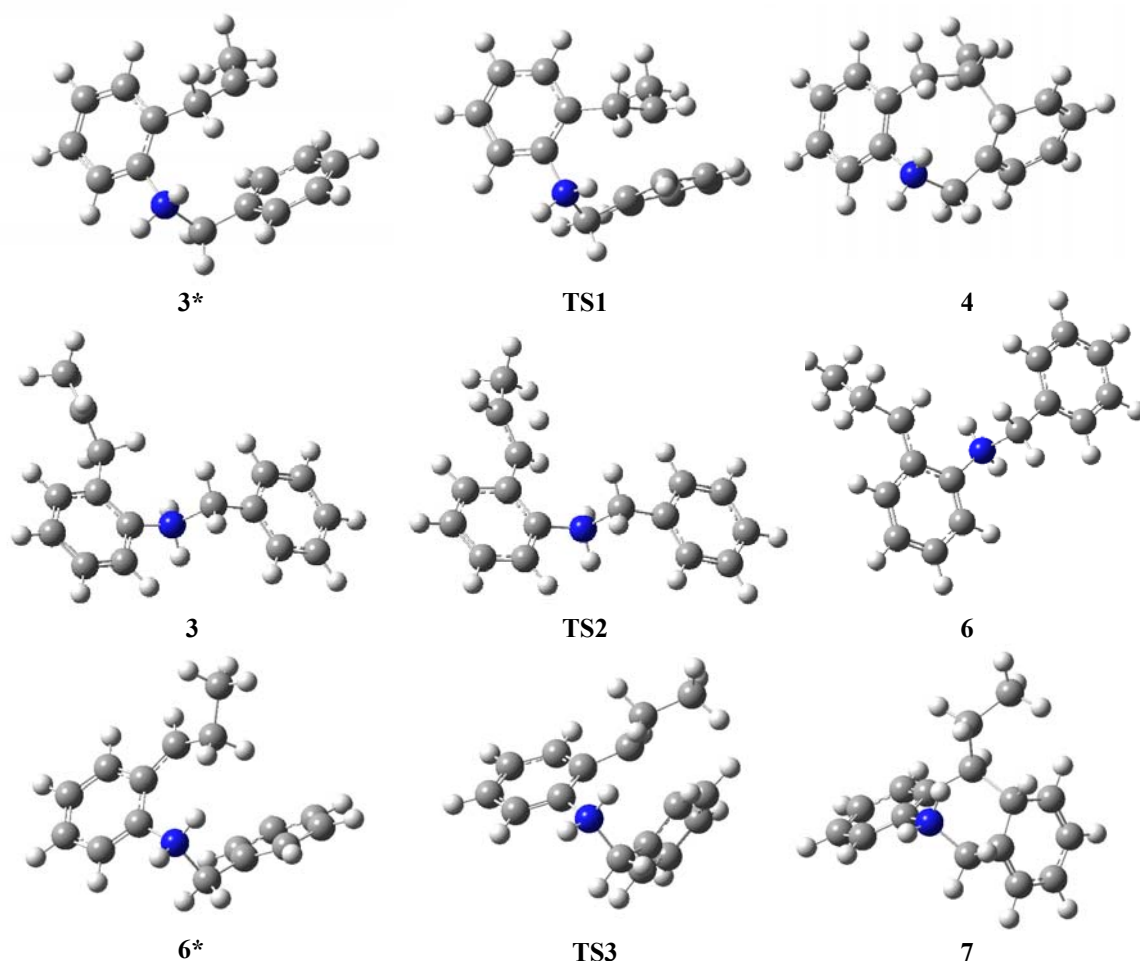


Figura 19. Estructuras de las especies **3***, **TS1**, **4**, **3**, **TS2**, **6**, **6***, **TS3** y **7**, para R: H, evaluadas al nivel UHF/6-31+G(d).

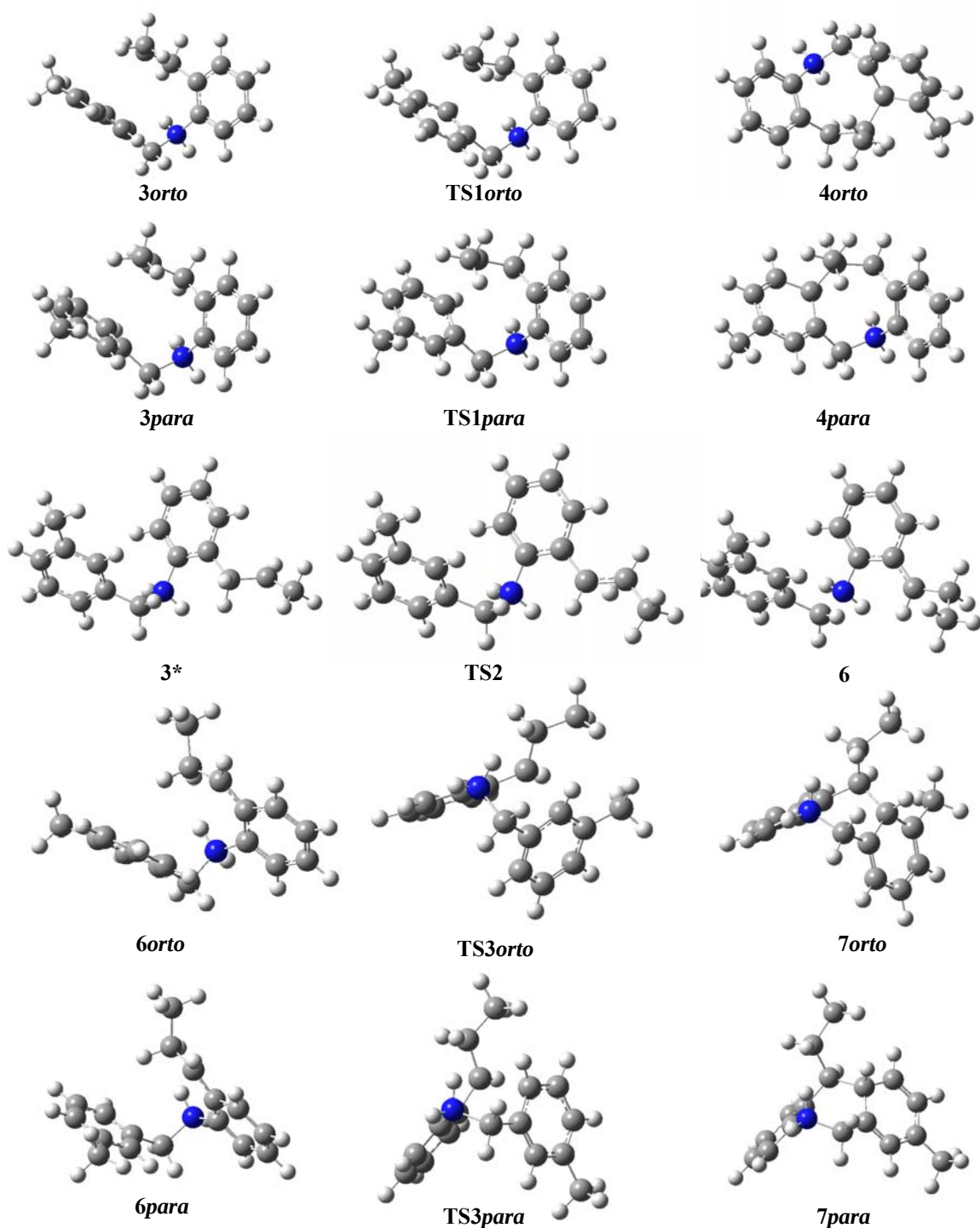


Figura 20. Estructuras de las especies **3orto**, **TS1orto**, **4orto**, **3para**, **TS1para**, **4para**, **3***, **TS2**, **6**, **6orto**, **TS3orto**, **7orto**, **6para**, **TS3para** y **7para**, para R: CH₃. UHF/6-31+G(d).

Tanto para R = H como para R = CH₃, C₂-H₂₂ y C₃-H₂₂ fueron 1.33 Å y 1.30 Å en **TS2**. Además, cuando R= H, se observaron los cambios en las distancias debido a rehibridación de la siguiente forma: para las ciclaciones en C₁₂-C₁₃ y C₁₃-C₁₄ (**3*** → **4**, **4**

Tabla 13. Cargas NBO de los grupos E⁺, Ar-R, H para las especies **3**, **4**, **6**, **7**, TS1, TS2 y TS3, evaluadas al nivel UHF/6-31+G(d).

Grupo ^a	Especies ^b					
	3 ^c		TS2		6 ^c	
	R = H	R = CH ₃	R = H	R = CH ₃	R = H	R = CH ₃
E ⁺	1.926	1.933	1.922	1.911	1.909	1.913
Ar-R	-0.151	-0.187	-0.151	-0.150	-0.140	-0.150
H	0.224	0.255	0.225	0.237	0.230	0.239

	TS1		TS3			
	R = H	R = CH ₃	R = CH ₃	R = H	R = CH ₃	R = CH ₃
		<i>orto</i>	<i>para</i>		<i>orto</i>	<i>para</i>
E ⁺	1.628	1.691	1.705	1.599	1.621	1.657
Ar-R	0.102	0.042	0.037	0.119	0.118	0.070
H	0.272	0.266	0.259	0.279	0.263	0.268

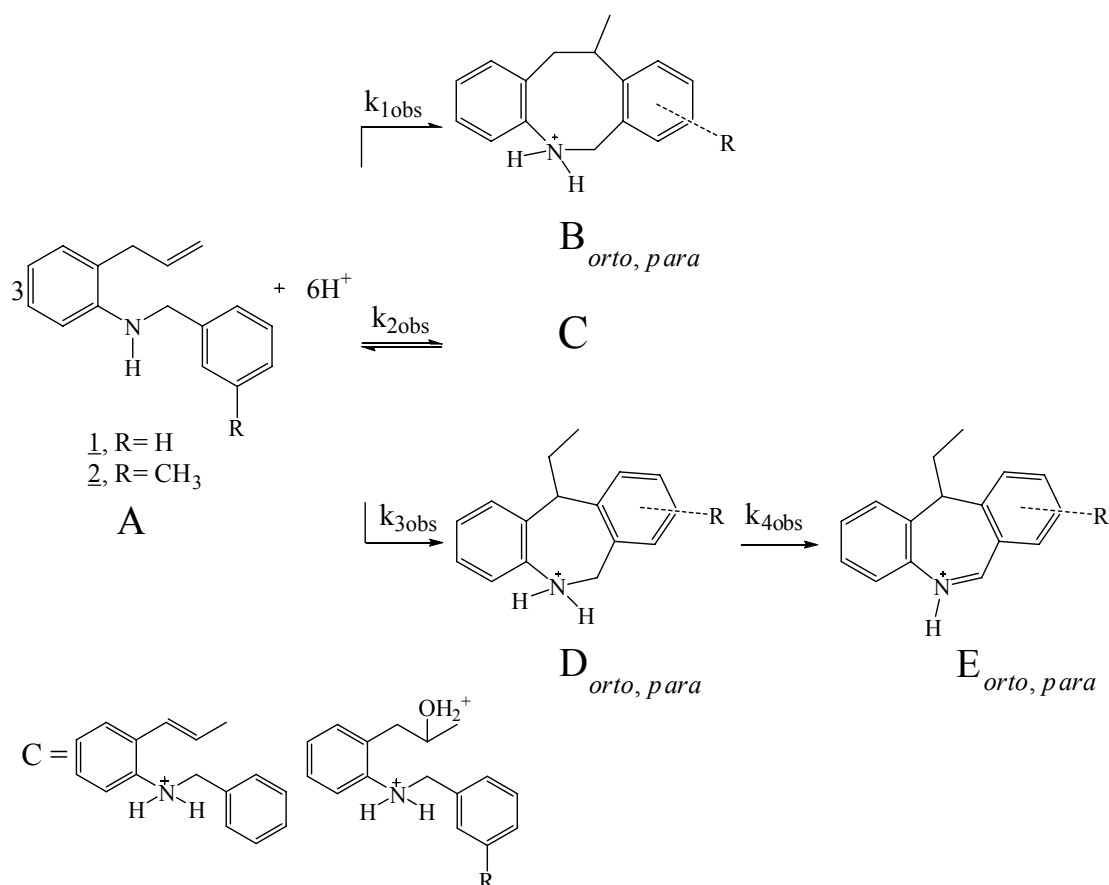
	4		7			
	R = H	R = CH ₃	R = CH ₃	R = H	R = CH ₃	R = CH ₃
		<i>orto</i>	<i>para</i>		<i>orto</i>	<i>para</i>
E ⁺	1.186	1.169	1.161	1.146	1.103	1.129
Ar-R	0.516	0.555	0.548	0.537	0.620	0.567
H	0.299	0.277	0.291	0.317	0.277	0.307

Las principales cargas NBO de las geometrías optimizadas se muestran en la **Tabla 13**. Como se indica, durante el reordenamiento 1,2-H, (**3**→**TS2**→**6**) no existió un cambio significativo en la distribución de cargas. Así, **E**⁺ presentó carga positiva cercana a 2

(cargas sobre el carbono y nitrógeno), **Ar-R** exhibió una carga negativa pequeña que se incrementó levemente por la introducción del grupo CH₃ y **H** tuvo carga positiva. En los estados de transición **TS1** y **TS3**, localizados para las ciclaciones 8-*exo-trig* (**3**^{*}→**TS1**→**4**) y 7-*exo-trig* (**6**^{*}→**TS3**→**7**), la carga positiva se redujo en **E**⁺ y se aumentó en **Ar-R** y **H**, con respecto a las especies de partida **3**^{*} y **6**^{*}. Además, se nota que la introducción del grupo metilo, implicó que el grupo **Ar-R** presentara un valor menor de la carga positiva para **TS1** y **TS3**, debido a la densidad electrónica cedida por él. En las especies **4** y **7**, **E**⁺ exhibió una carga positiva cercana a 1 (carga sobre el nitrógeno), **H** tuvo la carga positiva más alta en relación con las otras especies analizadas, lo cual evidenció el incremento de su carácter ácido a medida que transcurrían las ciclaciones. La carga positiva de **Ar-R** no tuvo un cambio significativo entre **4** y **7**, o por la introducción del grupo metilo. Sin embargo, se hizo evidente que **Ar-R** aumentó la densidad de carga positiva en las ciclaciones 8-*exo-trig* y 7-*exo-trig*. En resumen, para R= H y CH₃, durante las ciclaciones y el reordenamiento 1,2-H, hubo un incremento en carga negativa de **E**⁺ y carga positiva de los grupos **Ar-R** y **H**, *i.e.*, la densidad electrónica se transfirió desde **Ar-R** y **H** hacia **E**⁺, pero en una mayor proporción para las etapas de ciclación. Así, los cambios en carga positiva o negativa fueron más evidentes para **TS1** y **TS3** que sobre **TS2**.

3.2.3 Aplicación de MCR-ALS en la obtención de parámetros cinéticos de la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts.

El **Esquema 17** describe en una forma simplificada la reactividad involucrada en la ciclación electrofílica intramolecular de las *orto*-alilanilinas **1** y **2** (**A**), en presencia de H₂SO₄ concentrado. Ya que cada etapa no puede asignarse a una reacción simple, sino a varias reacciones complejas que ocurren simultáneamente, los valores de las constantes de velocidad y de cualquier otro parámetro de activación deben ser considerados como valores aparentes u observados, que informan acerca de las etapas de reacción que pueden discriminarse de forma espectroscópica. Estos valores aparentes son extremadamente útiles para comparar el efecto de los factores estéricos y/o electrónicos de los sustituyentes sobre la ciclación electrofílica intramolecular de las *orto*-alilanilinas **1** y **2**.



Esquema 17. Ciclación electrofílica intramolecular de las *orto*-alilanilinas 1 y 2 (A) en presencia de H₂SO₄ concentrado. (B) tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocinio; (C, intermedio) *orto*-propenobencilanilinio ú *orto*-isopropilhidroniobencilanilinio; (D) dihidrodibenzo[*b,e*]azepinio y (E) dibenzo[*b,e*]azepinio.

En la **Figura 21** se muestran los espectros UV-Vis desde 205 hasta 300 nm para las reacciones de alquilación intramolecular de Friedel-Crafts de las *orto*-alilanilinas 1 y 2 con H₂SO₄ a 60 °C. Las bandas entre 205-245 y 245-285 nm corresponden a transiciones entre orbitales $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$, respectivamente. Las diferencias en absorción (ϵ , absortividad) están relacionadas con la mayor probabilidad de transición entre los orbitales $\pi \rightarrow \pi^*$ en relación con las transiciones entre $n \rightarrow \pi^*$, ya que los orbitales n poseen una orientación espacial desfavorable con respecto a los orbitales π [251,252]. En la figura se nota también, una leve disminución en la absorción de la banda ubicada entre 205-225 nm, el aumento de las bandas entre 225-285 nm relacionadas con el intermediario (C) y los productos (B, D, E) y la aparición de una banda entre 275-285 nm asociada mayoritariamente con las transiciones $n \rightarrow \pi^*$ [251,252].

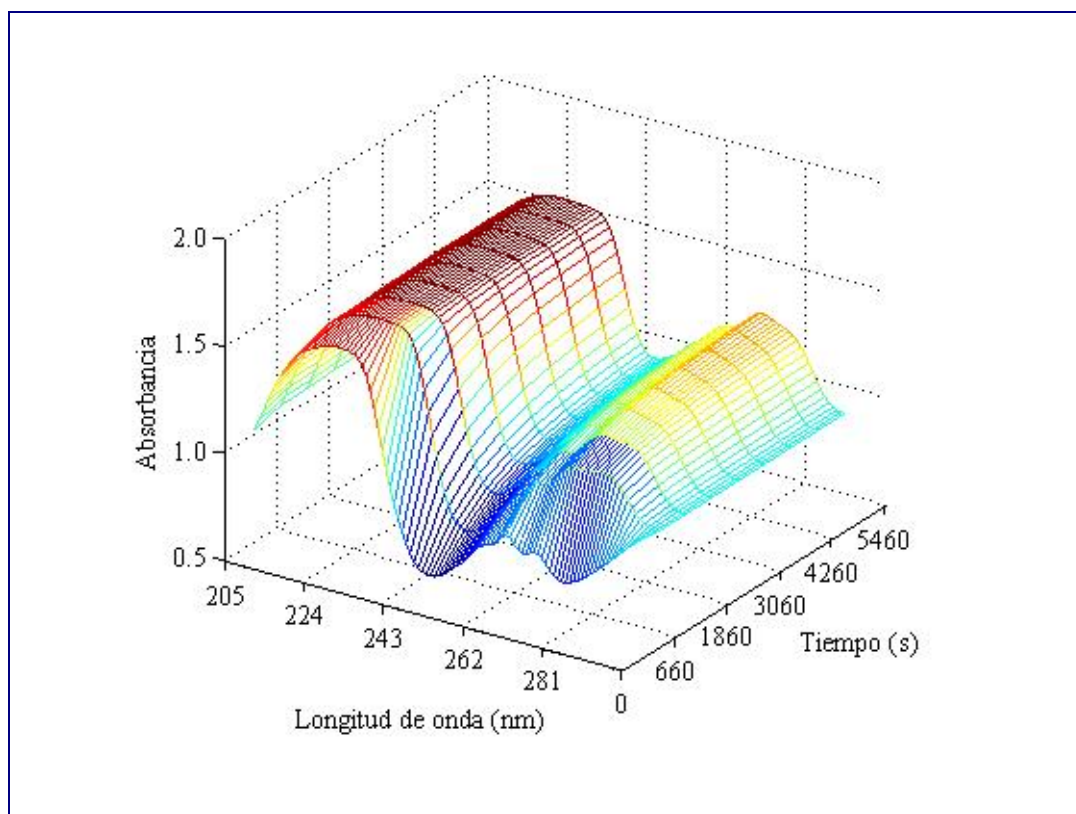
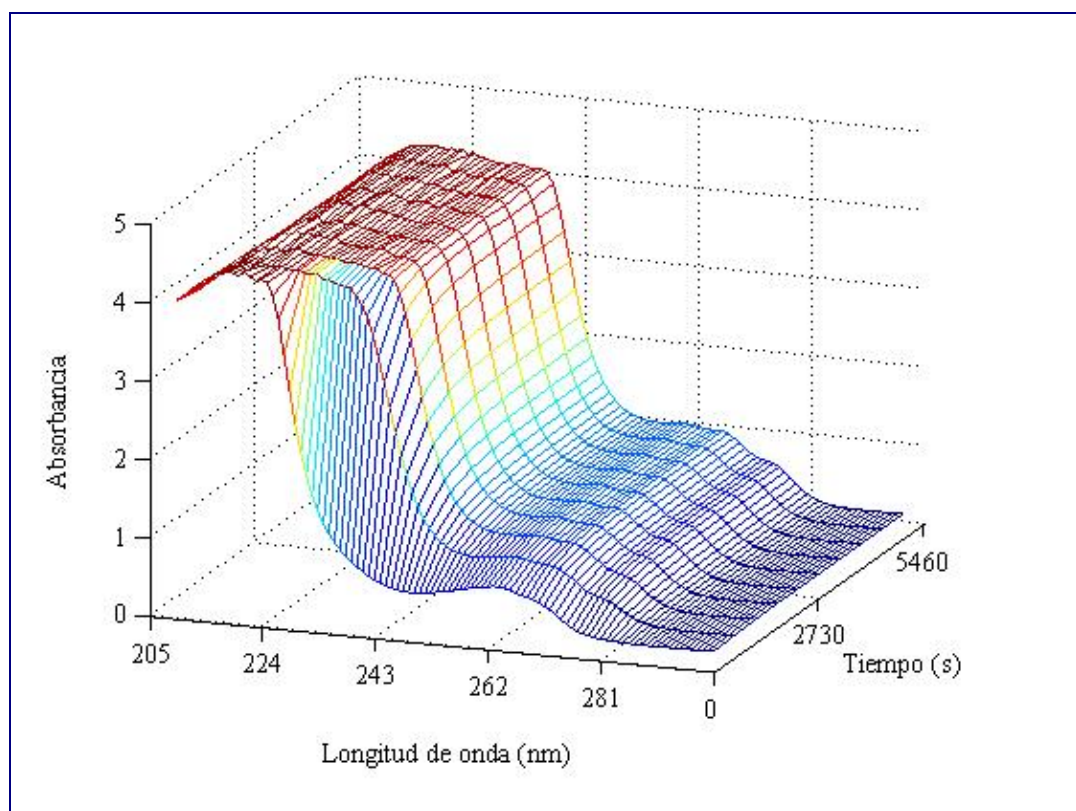


Figura 21. Representación tridimensional de los datos UV-Vis. H_2SO_4 /*orto*-alilanilina, [2mL: 0.20mg]; $T = 60^\circ\text{C}$. Arriba: *orto*-alilanilina 1. Abajo: *orto*-alilanilina 2.

En la **Tabla 14** se indican los valores propios (*eigenvalues*) obtenidos a partir del PCA sobre las matrices de datos $\mathbf{A}_1$ - $\mathbf{A}_5$ y $\mathbf{M}_1$. Se encontró que hasta el tercer y el cuarto valor propio aportaron contribuciones significativas a la varianza total. Ya que el número de especies presentes en la reacción es mayor que 4 (Ver **Esquema 17**); se dice entonces que la información contenida en las matrices de datos $\mathbf{A}_1$ - $\mathbf{A}_5$ es deficiente (deficiencia de *rank* o de orden), para realizar el análisis quimiométrico. Para tratar de eliminar esta deficiencia se recurrió a la propuesto por M. Amrhein *et al.*, y se construyeron las matrices aumentadas con columnas discretas $\mathbf{M}_1$, con lo que se logró un incremento hasta el cuarto valor singular [244]. Aunque la deficiencia en la resolución del número de especies que intervienen en la reacción no se eliminó totalmente (probablemente por solapamiento en espectros y perfiles de concentración), si se logró una mejora leve que permitió la descripción del comportamiento de una cuarta especie para todas las matrices de datos ($\mathbf{A}_1$ - $\mathbf{A}_5$). Es factible que sea necesario recurrir a la introducción de espectros de los compuestos puros obtenidos experimentalmente y/o a la adquisición de datos UV-Vis a intervalos de tiempos menores de 10 min, que permitan una manifestación mejor de los rasgos espectrales de los compuestos puros (selectividad).

Tabla 14. Valores propios obtenidos a partir del PCA de las matrices $\mathbf{A}_1$ - $\mathbf{A}_5$ y $\mathbf{M}_1$.

Matriz	Orto-alilanolina	1	2	3	4	5
$\mathbf{A}_1$ [20 °C]	(1)	83.23	6.89	2.42	1.49	0.29
$\mathbf{A}_2$ [30 °C]	(1)	79.21	10.16	3.18	0.82	0.47
$\mathbf{A}_3$ [40 °C]	(1)	76.49	7.95	4.90	1.66	1.00
$\mathbf{A}_4$ [50 °C]	(1)	62.56	22.75	2.82	1.58	1.22
$\mathbf{A}_5$ [60 °C]	(1)	85.69	4.40	2.16	1.31	0.96
$\mathbf{M}_1$ [$\mathbf{A}_1$ - $\mathbf{A}_5$]	(1)	54.62	25.36	8.66	4.84	1.43
$\mathbf{A}_1$ [20 °C]	(2)	64.28	23.57	5.48	1.90	0.47
$\mathbf{A}_2$ [30 °C]	(2)	73.37	17.95	2.80	1.20	0.46
$\mathbf{A}_3$ [40 °C]	(2)	70.53	16.92	6.59	1.73	0.19
$\mathbf{A}_4$ [50 °C]	(2)	76.50	17.15	1.79	0.32	0.24
$\mathbf{A}_5$ [60 °C]	(2)	84.00	11.25	0.70	0.04	0.01
$\mathbf{M}_1$ [$\mathbf{A}_1$ - $\mathbf{A}_5$]	(2)	56.45	21.53	9.95	3.52	1.80

La optimización de $\mathbf{M}_1$ mediante MCR-ALS con restricciones (*no-negatividad* para espectros y perfiles de concentración y *concentración inicial*), permitió la extracción de las matrices $\mathbf{C}$ (243x4; 153x96; orto-alilanolinas 1 y 2) y $\mathbf{S}^T$ (4x96), las cuales contenían los perfiles de concentración y los espectros, para cuatro compuestos que intervenían en

la reacción para cada una de las temperaturas evaluadas. En cuanto a la calidad del ajuste ofrecida por la optimización MCR-ALS, se encontró que el producto CS^T expresó el 99.80% y el 99.87% de la varianza relacionada con M_1 (R^2 , **Numeral 1.2.2.**, **Ecuación 9**) y el LOF presentó valores de 4.25% y 3.03% (*orto*-alililanilinas 1 y 2) (**Numeral 1.2.2.**, **Ecuación 8**). Lo anterior indicó que la mayoría de la variabilidad asociada con los datos experimentales puede ser representada mediante el producto CS^T . Es necesario anotar que debido a la imposibilidad de obtener los espectros experimentales de los compuestos puros, para cada una de las especies que intervienen en la reacción, no se calculó el criterio de similitud (r , **Numeral 1.2.2.**, **Ecuación 10**).

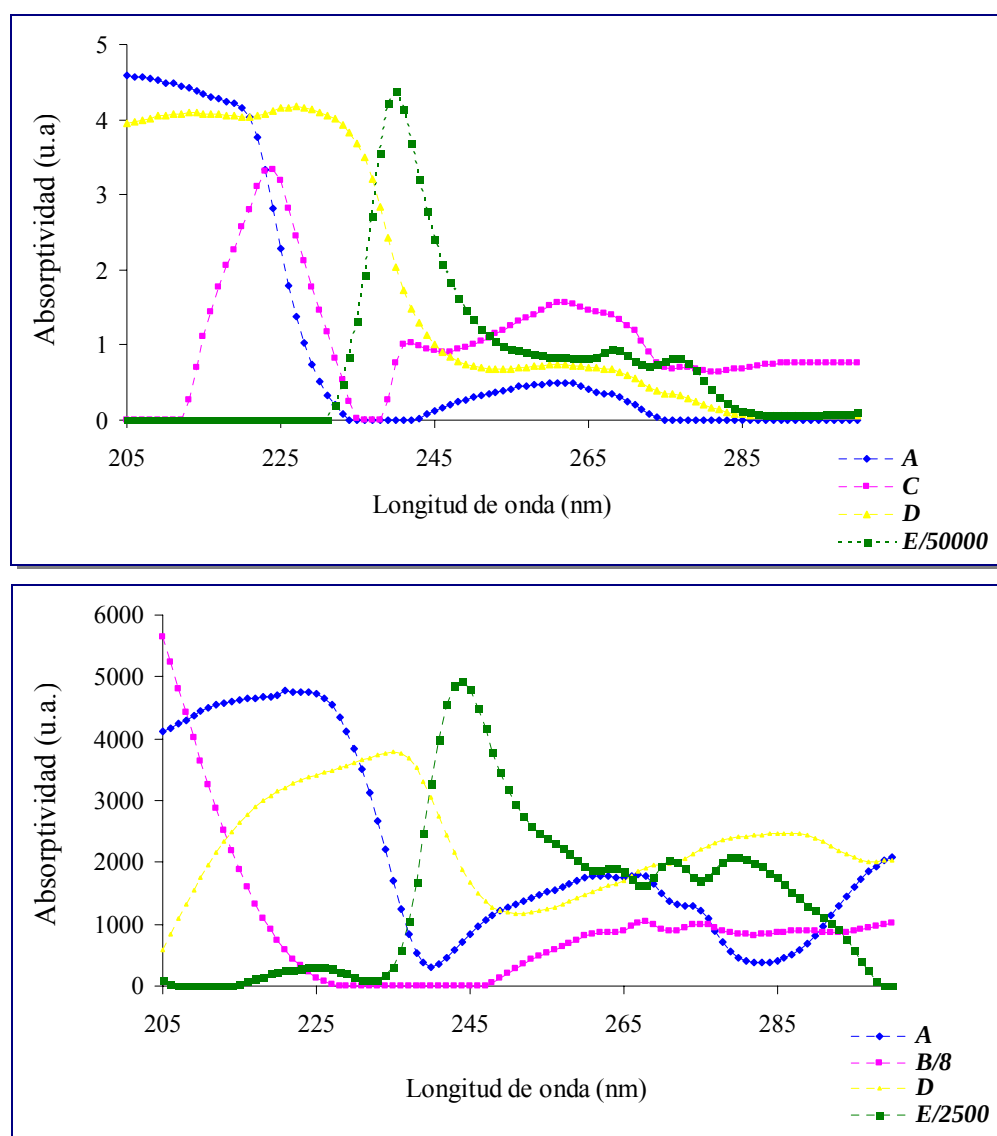


Figura 22. Espectros extraídos por MCR-ALS (S^1). Ciclación de, arriba: *orto*-alililanilina 1, abajo: *orto*-alililanilina 2. (A) *Orto*-alililanilina; (B) tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina; (C) intermedio; (D) dihidrodibenzo[*b,e*]azepina y (E) dibenzo[*b,e*]azepina.

Los espectros extraídos al optimizar las matrices $\mathbf{M}_1$ mediante MCR-ALS, se muestran en la **Figura 22**. La asignación de cada espectro al compuesto respectivo se hizo por correspondencia con los perfiles de concentración. Así, los espectros de las *orto*-alilanilinas 1 y 2 se relacionaron con los compuestos cuyos perfiles de concentración decrecían con el tiempo. El espectro del intermedio se asignó al perfil que inicialmente aumentaba y que luego disminuía. La discriminación entre los espectros de B, D y E, se realizó teniendo en cuenta que D era el producto mayoritario, seguido de B y E (GC-FID, GC-MSD, **Numeral 3.2.1.**). En general, debido al intervalo de longitudes de onda de absorción que se observó, las bandas espectrales correspondían a transiciones entre orbitales $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$ [251,252]. La ausencia de especificidad, *i.e.*, regiones espectrales características para cada compuesto y la absorptividad alta de E, se encontraron entre los rasgos más notorios.

En la **Figura 23** se indican los perfiles de concentración obtenidos a 30°C para la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts de las *orto*-alilanilinas 1 y 2. Los perfiles extraídos sin postulación previa de un modelo químico, reprodujeron satisfactoriamente la relación molar y la temperatura que se usó para cada experimento (ver **Anexo 8**). Para la reacción con la *orto*-alilanilina 1, se extrajeron de forma adecuada los perfiles de A, D y E. Sin embargo, debido a la deficiencia de *rank* y la poca selectividad de los espectros, el perfil de concentración de C, cuya presencia se verificó mediante GC-FID, se superponen en el intervalo de tiempos finales, con el de otro producto (probablemente con B que es la especie sin resolver y que desde el punto de vista mecanístico se obtendría en una reacción paralela, con una velocidad de formación similar a la de C, ver **Esquema 17**). Con respecto a la alquilación de la *orto*-alilanilina 2, se obtuvieron satisfactoriamente las concentraciones de A, B, D y E y al igual que por GC-FID no se detectó C. La obtención de isómeros de B y D, detectadas por GC-FID y GC-MSD, no se verificó mediante UV-Vis (MCR-ALS), debido a la deficiencia de *rank* ocasionada por la poca selectividad de los espectros de especies isómeras, además de las relaciones estequiométricas en que se encuentran presentes, las cuales desde el punto de vista experimental (GC-FID) y teórico (Computacional-*Gaussian*) fueron 6 y 11 para las azocinas *para/orto* y 49 y 198 para las azepinas *para/orto* (ver **Numerales 3.2.1 y 3.2.2**).

Es importante resaltar que debido a la velocidad de formación relativamente alta para D, únicamente los datos experimentales tomados para temperaturas entre 20-40°C fueron útiles para el cálculo de constantes de velocidad, *i.e.*, poseen los puntos experimentales suficientes para un ajuste matemático adecuado, teniendo en cuenta el intervalo tiempo para la toma de datos (ver **Anexo 8**).

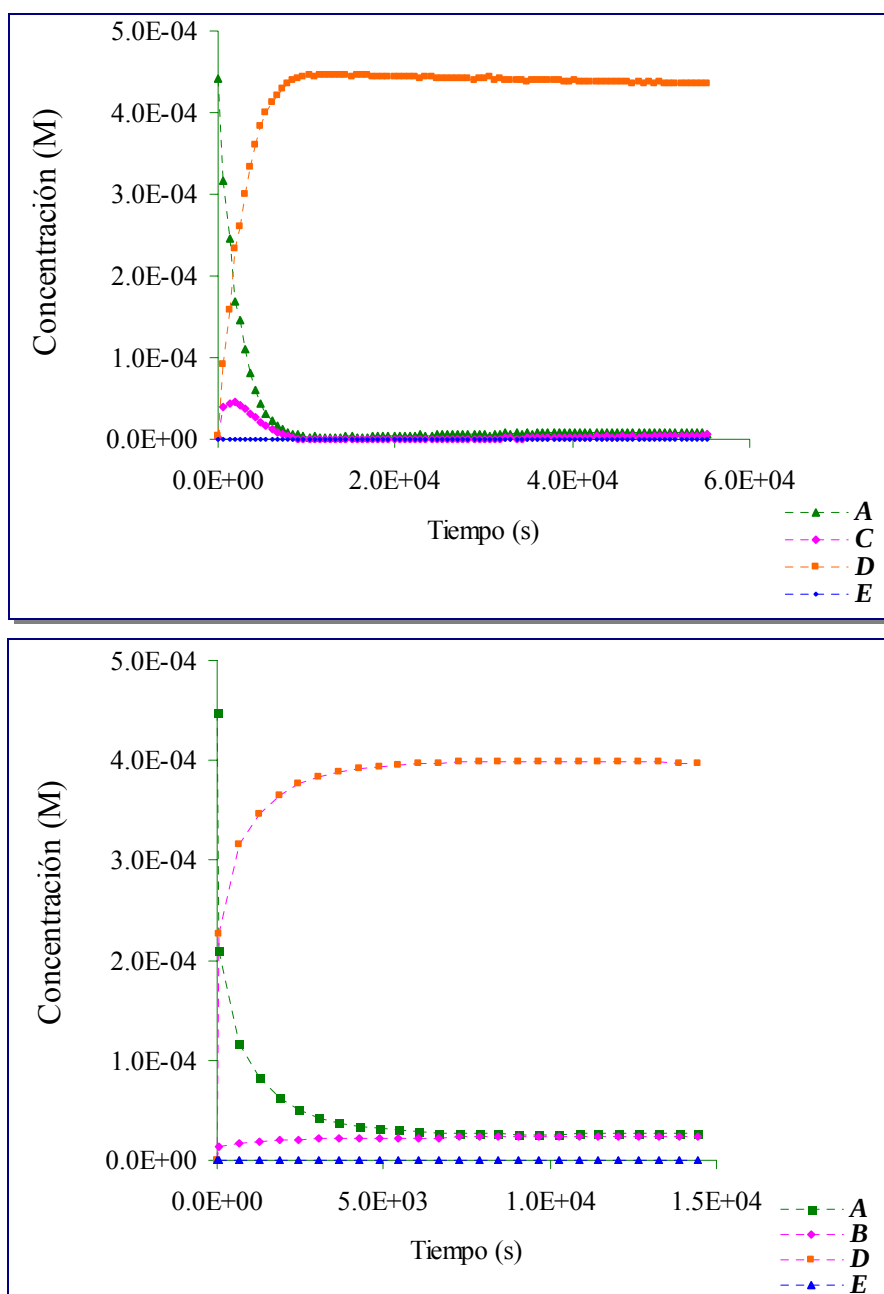


Figura 23. Perfiles de concentración a 30°C extraídos por MCR-ALS (C). Ciclación de, arriba: *orto*-alilililina 1, abajo: *orto*-alilililina 2. (A) *Orto*-alililililina; (B) tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina; (C) intermedio; (D) dihidrodibenzo[*b,e*]azepina y (E) dibenzo[*b,e*]azepina.

La repetitibilidad del procedimiento MCR-ALS se estableció con base en la alquilación intramolecular de la *orto*-alililanilina 1, los resultados que se muestran en las **Tablas 15** y **16** y en la **Figura 24**, presentan una desviación estándar aceptable, en donde además, se mantiene la linealidad del parámetro k_{app} .

Tabla 15. k_{app} promedio para la ciclación de la *orto*-alililanilina 1.

T(K)	$k_{app} \times 10^3 \text{ (s}^{-1}\text{)}^a$	Error de ajuste(%) ^b	$k_{app \text{ prom}} \times 10^3 \text{ (s}^{-1}\text{)}^c$	Desvest $\times 10^3 \text{ (s}^{-1}\text{)}^d$	CV ^e %
293	0.20	3.06	0.13	0.06	46.79
293	0.09	3.58			
293	0.10	4.13			
303	0.40	1.57	0.41	0.07	17.27
303	0.48	11.50			
303	0.34	13.19			
313	1.00	1.46	0.8	0.2	27.5
313	0.60	4.19			
313	0.69	5.40			

^a $V = k_{app}[\text{orto-alililanilina}]$. $k_{app} = k_{app}^*[\text{H}_2\text{SO}_4]^n$. ^bError de ajuste (%) = $(\sum (M_i - C_i)^2 / \sum (C_i)^2)$; M_i = concentración calculada con base en la ecuación $\text{Ln} [(C_e)/(C_e - C_t)]$ vs t ; C_i = concentración experimental de dihidrodibenzo[*b,e*]azepina obtenida por MCR-ALS. *Orto*-alililanilina 1 = $4.48\text{E-}4$ M; H_2SO_4 = 37 M. ^cprom = promedio. ^dDesviación estándar. ^eCoefficiente de varianza = $(\text{Desvest} \times 100) / (\text{promedio})$.

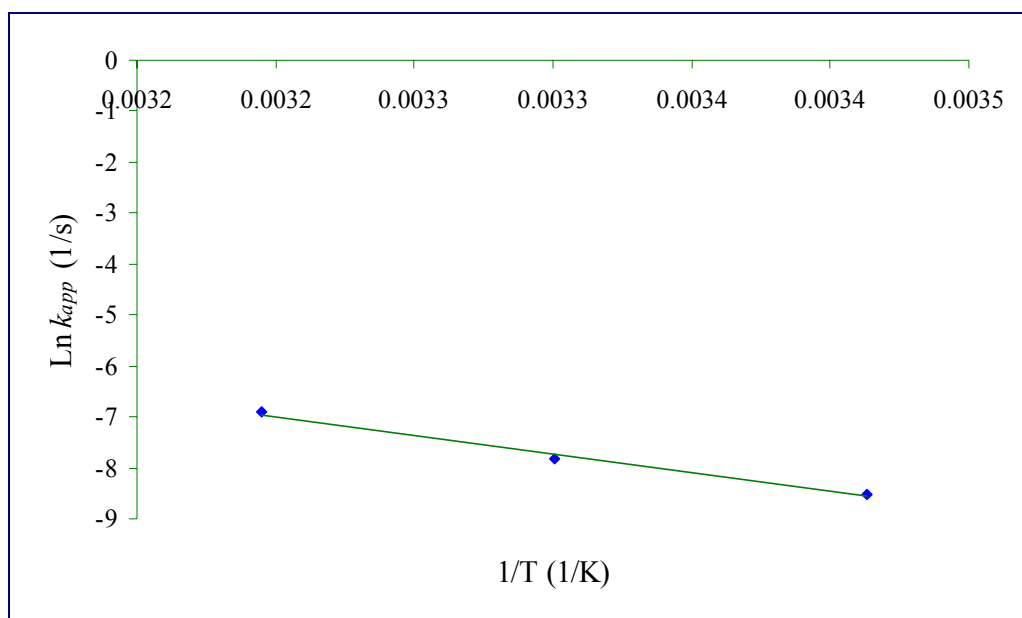


Figura 24. Variación promedio de la k_{app} (1/s) con respecto al inverso de la temperatura, $1/T$ (1/K) para la ciclación de la *orto*-alililanilina 1.

Tabla 16. Parámetros termodinámicos promedio para la ciclación de la *orto*-alilnililina 1.

Parámetro	Valor	Valor promedio	Desvest	CV %
Ea (kcal/mol)	15	17	2	10
	18			
	17			
$\Delta H^\ddagger$ (kcal/mol) T= 298K	14	16	2	10
	17			
	17			
logA (s⁻¹)	7	8	1	13
	9			
	9			
$\Delta S^\ddagger$ (cal/mol.K) T= 298K	-26	-20	5	-26
	-17			
	-16			

Las k_{app} calculadas para cada temperatura con base en el ajuste de las gráficas de Ln [(Ce)/(Ce-Ct)] vs tiempo para D, a partir de la alquilación intramolecular de las *orto*-alilnililina 1 y 2, se indican en la **Tabla 17** (ver **Numeral 2.2.3.4.3**). El uso de la ecuación de Arrhenius o gráficas de Eyring (ver **Figura 25**), se recomienda como una validación química independiente de la calidad de la información cinética extraída. De tal forma que, la buena linealidad obtenida es una prueba de la consistencia del parámetro k_{app} y por ende del proceso empleado en su estimación [53].

Tabla 17. k_{app} y parámetros termodinámicos para la ciclación de las *orto*-alilnililina 1 y 2, obtenidos mediante MCR-ALS de M₁. Seguimiento de D, por UV-Vis.

T(K)	$k_{app} \times 10^3$ (s ⁻¹) ^a	Error de ajuste(%) ^b	Ea (kcal/mol)	$\Delta H^\ddagger$ (kcal/mol) T= 298K	logA (s ⁻¹)	$\Delta S^\ddagger$ (cal/mol.K) T= 298K
293 (<u>1</u>)	0.20	3.06	15	14	7	-26
303 (<u>1</u>)	0.40	1.57				
313 (<u>1</u>)	1.00	1.46				
293 (<u>2</u>)	1.00	6.25	13	12	6	-29
303 (<u>2</u>)	2.00	9.72				
313 (<u>2</u>)	4.00	8.12				

^aV = k_{app} [*orto*-alilnililina]. $k_{app} = k_{app}^*[\text{H}_2\text{SO}_4]^n$. ^bError de ajuste (%) = $(\sum (M_i - C_i)^2 / \sum (C_i)^2)$; M_i = concentración calculada con base en la ecuación Ln [(Ce)/(Ce-Ct)] vs t; C_i = concentración experimental de dihidrodibenzo[*b,e*]azepina obtenida por MCR-ALS. *Orto*-alilnililina = 4.48E-4 M; H₂SO₄ = 37 M.

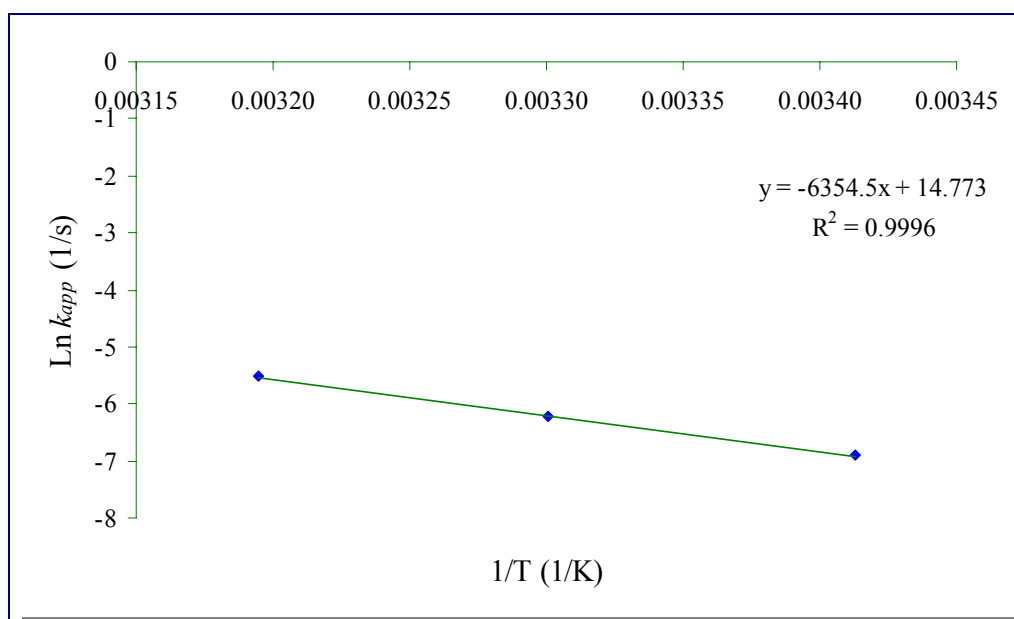
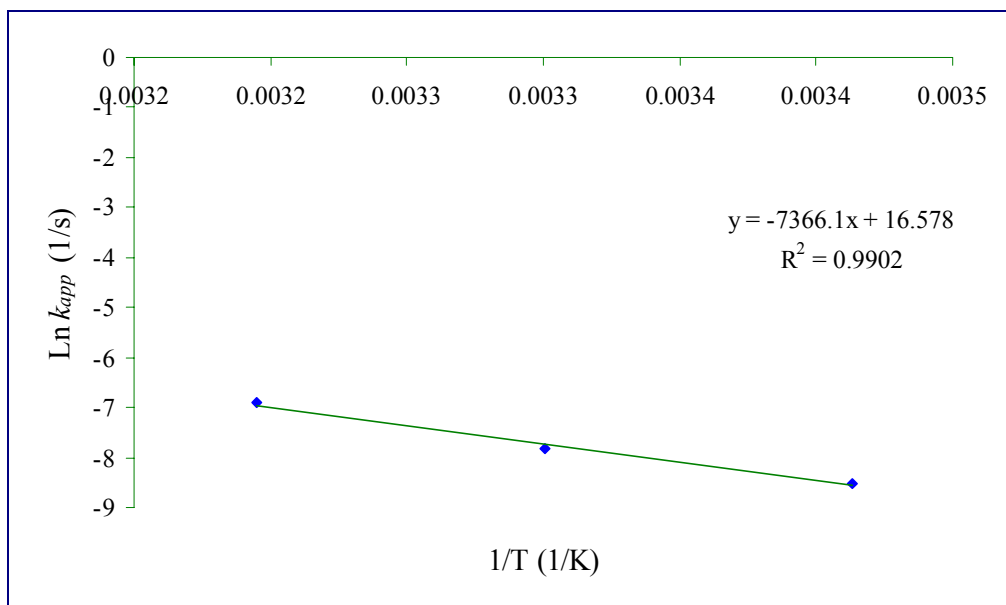


Figura 25. Variación promedio de la k_{app} (1/s) con respecto al inverso de la temperatura, $1/T$ (1/K) para las ciclaciones de la *orto*-alilanilina 1 (arriba) y *orto*-alilanilina 2 (abajo).

Las constantes de velocidad mostradas en la **Tabla 17** siguen la *regla del pulgar* [45,259], al igual que los parámetros cinéticos extraídos por GC-FID para la *orto*-alilanilina 1. La alquilación intramolecular de la *orto*-alilanilina 2, es aproximadamente 5 veces más rápida (k_{app} ; 10^{-3}), en relación con la de la *orto*-alilanilina 1 (k_{app} ; 10^{-4}). Esto último corresponde con una disminución en la energía de activación para la alquilación intramolecular de la *orto*-alilanilina 2 entre 1-2 kcal/mol.

Los factores electrónicos involucrados en el efecto del sustituyente sobre la velocidad de reacción fueron tratados en el **Numeral 3.2.2**. De igual forma, el análisis de los parámetros de activación es análogo al deducido en el **Numeral 3.2.1**. Sin embargo, cabe resaltar que la alquilación intramolecular de la *orto*-alilanilina 2, requiere una menor energía (E_a , $\Delta H^\ddagger$) y frecuencia de colisión ($\log A$), pero conduce a una pérdida de entropía mayor ($\Delta S^\ddagger$), en relación con la *orto*-alilanilina 1.

4 CONCLUSIONES

✚ En esta tesis se reportan las QSAR entre las actividades antioxidantes evaluadas como TEAC y EC₅₀, con los descriptores teóricos moleculares de las anilinas 13-34. El objetivo fue desarrollar modelos QSAR con capacidad predictiva verificable mediante validación externa e interna, con el propósito de obtener una estimación confiable de valores de actividades antioxidantes, para ser utilizados fundamentalmente en pruebas *screening* de anilinas, antes de la síntesis. Ya que la validación predictiva es la única forma de juzgar la confiabilidad del modelo para nuevos compuestos, en este caso, únicamente los modelos QSAR con base en la TEAC pueden ser útiles para propósitos de predicción.

- ❖ Aunque los valores TEAC estimados para las anilinas 13-34, se consideran estadísticamente confiables y el modelo QSAR validado está basado en descriptores moleculares con una interpretación química razonable, es necesario tener en cuenta que las TEAC estimadas deben ser consideradas confiables únicamente para aquellas anilinas que caigan en el dominio químico sobre el cual se elaboró el modelo.
- ❖ Los descriptores relacionados con la energía electrónica (EE y α_{zz}) y la distribución de carga (PPSA-2), permitieron obtener modelos TEAC con ajuste lineal y capacidad de predicción adecuados. De otro lado, los modelos basados en descriptores constitucionales, topológicos, contenido de información y componentes principales, aunque en ocasiones tienen un ajuste lineal bueno, casi siempre presentan una capacidad de predicción baja, lo cual indica que estos descriptores utilizados como variables independientes poseen poca relación con el mecanismo antioxidante.
- ❖ Los IP calculados mediante RHF/CEP-121G o RHF/LANL2DZ para las anilinas 13-34, permitieron obtener relaciones actividad-estructura aceptables, que pueden ser utilizadas con propósitos predictivos o de orientación en la síntesis de antioxidantes que presenten estabilidad bajo condiciones atmosféricas normales.

✚ En este trabajo también se reportan los estudios experimental y teórico de la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts de las *orto*-alilnilinas *N*-bencilo sustituidas 1 y 2, que explican la producción de dihidrodibenzo[*b,e*]azepinas y tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocinas. La parte experimental en condiciones heterogéneas se llevó a cabo por GC-FID, mientras que la espectroscopia UV-Vis con análisis quimiométrico MCR-ALS, se usaron para examinar las condiciones de reacción en fase homogénea e *in situ*. El estudio teórico se realizó con base en las coordenadas de reacción relacionadas con las ciclaciones intramoleculares *7-exo-trig* y *8-exo-trig*, y con el reordenamiento 1,2-H.

- ❖ El estudio de la alquilación intramolecular de la *orto*-alilnilina 1 en fase heterogénea permitió determinar la influencia de condiciones como velocidad de agitación, concentración y temperatura sobre la velocidad y/o el rendimiento de la reacción, así como también la detección de las especies que intervienen, como intermedios (*orto*-alilnilina 1) o isómeros (*orto*-alilnilina 2), que podrían ser postuladas en la ruta mecanística. Las k_{app} obtenidas pueden utilizarse como parámetros cinéticos iniciales o aproximados en la búsqueda de los parámetros cinéticos verdaderos en condiciones *in situ*.
- ❖ El estudio teórico de las coordenadas de reacción relacionadas con las ciclaciones intramoleculares *7-exo-trig* y *8-exo-trig* y con el reordenamiento 1,2-H, permitió explicar desde el punto de vista energético la distribución de los productos obtenidos experimentalmente y la influencia del sustituyente en dicha distribución, además de las siguientes conclusiones:
 - UHF/6-31+G(d) reproduce bien los resultados experimentales relacionados con la velocidad y selectividad de los productos formados en las ciclaciones de las *orto*-alilnilinas 1 y 2. En este caso la combinación del método y el conjunto base permiten obtener resultados confiables con un esfuerzo computacional moderado y la posible extensión del estudio hacia *orto*-alilnilinas con grupos alquílicos ubicados sobre los anillos aromáticos. Sin embargo, el estudio

relacionado con sustituyentes que posean elementos con números atómicos altos, requeriría la evaluación de otros métodos y/o conjuntos base.

- Los factores que juegan un papel determinante en la velocidad y selectividad de estas ciclaciones están relacionados con la capacidad que tiene el sustituyente, en este caso el grupo metilo, para estabilizar la conformación que se conecta con el estado de transición.
 - El principio de Curtin-Hammett/Winstein-Holness permitió explicar, con base en el equilibrio conformacional, la relación entre los isómeros *orto/para* de las dihidrodibenzo[*b,e*]azepinas y tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocinas, para la alquilación intramolecular de la *orto*-alilnilina 2.
 - La alta similitud encontrada en los valores de energía de activación para la alquilación intramolecular de la *orto*-alilnilina 1, entre la aplicación del procedimiento teórico (**6**→**7**, 13.35 kcal/mol, computacional) y el experimental (13 ± 1 kcal/mol, GC-FID y 17 ± 2 kcal/mol, MCR-ALS), permitió verificar que el estado de transición involucrado en la etapa determinante de la velocidad de reacción no está relacionado con una ruptura de enlace.
- ❖ La optimización mediante el algoritmo MCR-ALS de los datos obtenidos en la alquilación intramolecular de las *orto*-alilnilinas 1 y 2, en fase homogénea e *in situ*, condujo a la estimación de espectros y perfiles de concentración, imposibles de obtener mediante análisis tradicional UV-Vis, debido a la poca selectividad en las características espectrales. Ya que las ambigüedades de intensidad y rotación están presentes, se debe suponer que a pesar de las restricciones impuestas sobre el sistema, la solución encontrada es una entre todas las soluciones posibles. Sin embargo, la linealidad de los parámetros cinéticos y la adecuada correlación con respecto a los datos extraídos de los estudios teóricos (modelamiento molecular-*Gaussian*) y en fase heterogénea (GC-FID), permitieron determinar la consistencia de la optimización mediante MCR-ALS en la obtención de los perfiles de concentración de la dihidrodibenzo[*b,e*]azepina.

5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MACCOSS, M. and BAILLIE, T.A. Organic chemistry in drug discovery. *Science*, **2004**, 303, p.p. 1810-1813.
2. COOPER, E.L. Drug discovery, CAM and natural products. *eCAM*, **2004**, 1, p.p. 1-3.
3. RAPPE, A.K. and CASEWIT C.J. Molecular mechanics across chemistry. University Science Books. Sausalito, **1997**, p.p. 167, 188-189.
4. DREWS, J. Drug discovery: A historical perspective. *Science*, **2000**, 287, p.p. 1960-1964.
5. SCHREIBER, S.L. Target-oriented and diversity-oriented organic synthesis in drug discovery. *Science*, **2000**, 287, p.p. 1964-1969.
6. Online: www.netsci.org/scgi-bin/Courseware. [Fecha de consulta: octubre de 2006].
7. JORGENSEN, W.L. The many roles of computation in drug discovery. *Science*, **2004**, 303, p.p. 1813-1818.
8. KARELSON, M. Molecular descriptors in QSAR/QSPR. John Wiley & Sons. New York, **2000**, 430 p.
9. MÜLLER, W.R.; SZYMANSKI, K.; KNOP, J.V. and TRINAJSTIC, N. Molecular topological index. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1990**, 30, p.p. 160-163.
10. GUTMAN, I.; MILUN, M. and TRINAJSTIC, N. Graph theory and molecular orbitals. 19. Nonparametric resonance energies of arbitrary conjugated systems. *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, p.p. 1692-1704.
11. JAIMES, J. Extensión de la transposición amino-Claisen a la preparación de derivados de la 6,11-dihidrodibenzo[*b,e*]azepina. Trabajo de grado (Maestría en Química). Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, **2004**.
12. PALMA, A.; BARAJAS, J.J.; KOUZNETSOV, V.V.; STASHENKO, E.; BAHASAS, A. and AMARO, L.J. New and efficient synthesis, of 6,11-dihydro-11-ethyl-5H-dibenz[*b,e*]azepine derivatives starting from *n*-benzylanilines via amino-Claisen and Friedel-Crafts methodologies. *Synlett*, **2004**, 15, p.p. 2721-2724.
13. ANRIG, C. The adverse effects of chemical treatment of depression in children. *Dynamic Chiropractic*, **2005**, 23, p.p. 20-21.

14. MATSON, J.L.; LUKE, M.A. and MAYVILLE, S.B. The effects of antiepileptic medications on the social skills of individuals with mental retardation. *Research in Developmental Disabilities*, **2004**, 5(2), p.p. 219-228.
15. CONRY, J.A. Epilepsy treatment drugs and diet. *The Exceptional Parent*, **1999**, 29, p.p. 64-66.
16. CURRY, W.J. and KULLING, D.L. Newer antiepileptic drugs: gabapentin, lamotrigine, felbamate, topiramate and fosphenytoin. *American Family Physician*, **1998**, 57(3), p.p. 513-520.
17. URBINA, J.M.; CORTÉS, J.C.G.; PALMA, A.; LÓPEZ, S.N.; ZACCHINO, S.A.; ENRIZ, R.D.; RIBAS, J.C. and KOUZNETSOV, V.V. Inhibitors of the fungal cell wall. Synthesis of 4-aryl-4-*n*-arylamine-1-butenes and related compounds with inhibitory activities on β (1-3) glucan and chitin synthases. *Bioorg. Med. Chem.*, **2000**, 8, p.p. 691-698.
18. VARGAS L.Y.; CASTELLI, M.; KOUZNETSOV, V.; URBINA, J.M.; LÓPEZ, S.; SORTINO, M.; ENRIZ, R. and RIBAS, J.C. *In vitro* antifungal activity of new series of homoallylamines and related compounds with inhibitory properties of the synthesis of fungal cell wall polymers. *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11, p.p. 1531-1550.
19. KOUZNETSOV, V.; VARGAS, L.; TIBADUIZA, B.; OCHOA, C.; MONTERO, D.; NOGAL, J.J.; FERNANDEZ, C.; MUELAS, S.; GÓMEZ, A. and BAHAS, A. 4-Aryl(benzyl)amino-4-heteroarylbut-1-enes as building blocks in heterocyclic synthesis. 4.1 Synthesis of 4,6-dimethyl-5-nitro(amino)-2-pyridylquinolines and their antiparasitic activities. *Arch. Pharm.*, **2004**, 337, p.p. 127-132.
20. NUSSBAUMER, P.; DORFSTIITTER, G.; GRASSBERGER, M.A.; LEITNER, I.; MEINGASSNER, J.G.; THIRRING, K. and STILTZ, A. Synthesis and structure-activity relationships of phenyl-substituted benzylamine antimycotics: a novel benzylbenzylamine antifungal agent for systemic treatment. *J. Med. Chem.*, **1993**, 36, p.p. 2115-2120.
21. MEINDL, W.; ANGERER, E.; SCHONENBERGER, H. and RUCKDESCHL, G. Benzylamines: synthesis and evaluation of antimycobacterial properties. *J. Med. Chem.*, **1984**, 27, p.p. 1111-1118.
22. REMY, D.C.; VAN SAUN, W.A. and ENGELHARDT E.L. Antiarrhythmic agents. 2-, 3-, and 4-substituted benzylamines. *J. Med. Chem.*, **1975**, 18, p.p. 142-148.
23. MUKMENEVA, N.A.; CHEREZOVA, E.N.; RUSINA, I.F.; SHANINA, E.L. and ZAIKOV, G.E. Arylamines substituted with 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzyl

- fragments: synthesis and inhibiting properties. *Polym. Degrad. Stab.*, **2000**, 68, p.p. 121-125.
24. YAO, J. Evaluation of sodium acetylacetonate as a synergist for arylamine antioxidants in synthetic lubricants. *Tribol. Int.*, **1997**, 30(11), p.p. 795–799.
 25. YAO, J. and DONG, J. Evaluation of sodium stearate as a synergist for arylamine antioxidants in synthetic lubricants. *Thermochim. Acta*, **1995**, 262, p.p. 157-163.
 26. HU, J.; WEI, X.; YAO, J. and HAN-ZONG, Z. Evaluation of molybdate ester as a synergist for arylamine antioxidant in lubricants. *Tribol. Int.*, **2006**, 39, p.p. 1469–1473.
 27. SUVIRE, F.; SORTINO, M.; KOUZNETSOV, V.; VARGAS, L.; ZACCHINO, S.; MORA, U. and ENRIZ, R. Structure–activity relationship study of homoallylamines and related derivatives acting as antifungal agents. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, p.p. 1851–1862.
 28. VILLAGRA, S.; BERNINI, M.; RODRIGUEZ, A.; ZACCHINO, S.; KOUZNETSOV, V. and ENRIZ, R. Conformational and electronic study of homoallylamines with inhibitory properties against polymers of fungal cell wall. *THEOCHEM*, **2003**, 666–667, p.p. 587–598.
 29. STASHENKO, E.; JARAMILLO, B. and MARTÍNEZ, J. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its *in vitro* antioxidant activity. *J. Chrom. A.*, **2004**, 1025(1), p.p. 93-103.
 30. STASHENKO, E.; PUERTAS, M. and MARTINEZ, J. SPME determination of volatile aldehydes for evaluation of *in-vitro* antioxidant activity. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2002**, 373(1-2), p.p. 70-74.
 31. LIVINGSTONE, D. Data analysis for chemists. Applications to QSAR and chemical Product design. Oxford University Press, New York, **1995**, 239 p.
 32. PERKINS, R.; FANG, H.; TONG, W. and WELSH, W.J.; Quantitative structure-activity relationship methods: perspectives on drug discovery and toxicology. *Environ. Toxicol. Chem.*, **2003**, 22, p.p. 1666-1679.
 33. BLOCK, J.H. Physicochemical properties in relation to biological action. En: DELGADO, J. N.; and REMERS, W. A. Textbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry. Lippincott-Raven, Philadelphia, p.p. 3-42.
 34. CHENG, Z.; REN, J.; LI, Y. and CHEN, Z. Study on the multiple mechanisms underlying the reaction between hydroxyl radical and phenolic compounds by

- qualitative structure and activity relationship. *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, 10, p.p. 4067-4073.
35. LIEN, E.; REN, S.; BUI, H. and WANG, R. Quantitative structure-activity relationship analysis of phenolic antioxidants. *Free Radical Biol. Med.*, **1999**, 26, p.p. 285-294.
36. NICULESCU-DUVAYZ, I.; SIMON, Z.; TIRIAC, S.; IONESCU, A.; MRACEC, M. and VOICULETZ, N. Quantitative structure-activity relationship (QSAR) applications in chemical carcinogenesis. III. QSAR analysis of some phenolic antioxidants. *Neoplasma*, **1985**, 32, p.p. 695-707.
37. ADAMS, M.J. Chemometrics in analytical spectroscopy. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1995**, 216 p.
38. VALENZUELA, A. and NIETO, S. Synthetic and natural antioxidants: food quality protectors. *Grasas y Aceites*, **1996**, 47, p.p. 186-196.
39. MADHAVI, D.; DESHPANDE, S. and SALUNKHE, D. Food antioxidants: technological and health perspectives. Marcel Dekker, New York, **1996**, p.p. 267-359.
40. MAESTRO, R. and BORJA, R. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. *Grasas y Aceites*, **1993**, 44, p.p. 101-106.
41. CAREY, F.A. and SUNDBERG, R.J. Advanced organic chemistry. Part A: structure and mechanisms. Third edition. Plenum Press, New York, **1990**, 802 p.
42. CRAMER, C.J. Essentials of computational chemistry. Theories and models. John Wiley & Sons, England, **2002**, p.p. 474-476.
43. KOCH, W. and HOLTHAUSEN, M.C. A chemist's guide to density functional theory. John Wiley & Sons, **2001**, 293 p.
44. HUBIG, S.M. and KOCHI, J.K. Direct observation of the Wheland intermediate in electrophilic aromatic substitution. Reversible formation of nitrosoarenium cations. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, p.p. 8279-8288.
45. PROSS, A. Theoretical and physical principles of organic reactivity. John Wiley & Sons, New York, **1995**, 294 p.
46. YOUNG, D. Computational chemistry. A practical guide for applying techniques to real world problems. John Wiley & Sons, New York, **2001**, 381 p.
47. LEACH, A.L. Molecular modelling. Principles and applications. Second edition. Pearson Education Limited, Great Britain, **2001**, 744 p.

48. SZABO, A. and OSTLUND, N.S. Modern quantum chemistry: introduction to advanced electronic structure theory. Macmillan Publishing Co., New York, **1982**, 446 p.
49. GOODMAN, J.M. Chemical applications of molecular modelling. Royal Society of Chemistry, Cambridge, **1998**, 211 p.
50. TAULER, R.; KOWALSKI, B. and FLEMING, S. Multivariate curve resolution applied to spectral data from multiple runs of an industrial process. *Anal. Chem.*, **1993**, 65, p.p. 2040-2047.
51. WINDIG, W. and GUILMENT, J. Interactive self-modeling mixture analysis. *Anal. Chem.*, **1991**, 63, p.p. 1425-1432.
52. DE JUAN, A.; MAEDER, M.; MARTÍNEZ, M. and TAULER, R. Combining hard- and soft modelling to solve kinetic problems. *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, **2000**, 54, p.p. 123-141.
53. _____. Application of a novel resolution approach combining soft- and hard- modelling features to investigate temperature-dependent kinetic processes. *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 442, p.p. 337-350.
54. GARRIDO, M.E. Seguimiento cuantitativo de reacciones de resinas epoxi mediante espectroscopía de infrarrojo cercano y métodos de resolución de curvas. Tarragona, **2006**. Online: http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_URV/AVAILABLE/TDX-0309107-095005/. [Fecha de consulta: agosto de 2007]
55. <http://www.ub.edu/mcr/welcome.html>. [Fecha de consulta: agosto de 2007]
56. NAGY, P.I.; TOKARSKI, J. and HOPFINGER, A.J. Molecular shape and QSAR analyses of a family of substituted dichlorodiphenyl aromatase inhibitors. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1994**, 34, p.p. 1190-1197.
57. AMIC, D.; DAVIDOVIC-AMIC, D.; BESLO, D. and TRINAJSTIC, N. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Croat. Chem. Acta*, **2003**, 76, p.p. 55-61.
58. SMIESKO, M. and BENFENATI, E. Predictive models for aquatic toxicity of aldehydes designed for various model chemistries. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **2004**, 44, p.p. 976-984.
59. MARTIN, Y.C. A practitioner's perspective of the role of quantitative structure-activity analysis in medicinal chemistry. *J. Med. Chem.*, **1981**, 24, p.p. 229-237.

60. WOLD, S. and DUNN, W.J. Multivariate quantitative structure-activity relationships (QSAR): conditions for their applicability. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1983**, 23, p.p. 6-13.
61. WALKER, J.D.; CARLSEN, L.; HULZEBOS, E. and SIMON-HETTICH, B. Global government applications of analogues, SARs and QSARs to predict aquatic toxicity, chemical or physical properties, environmental fate parameters and health effects of organic chemicals. *SAR QSAR Environ. Res.*, **2002**, 13, p.p. 607-616.
62. HANSCH, C. On the structure of medicinal chemistry. *J. Med. Chem.*, **1976**, 19, p.p. 1-6.
63. HANSCH, C.; LEO, A. and ELKINS, D. Computerized management of structure-activity data. I. Multivariate analysis of biological data. *J. Chem. Doc.*, **1974**, 14, p.p. 57-61.
64. JURIS, P.C.; STOUCH, T.R.; CZERWINSKI, M. and NARVAEZ, J.N. Computer-assisted studies of molecular structure-biological activity relationships. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1985**, 25, p.p. 296-308.
65. HANSCH, C. Quantitative structure-activity relationships and the unnamed science. *Acc. Chem. Res.*, **1993**, 26, p.p. 147-153.
66. KUBINYI, H. and KEHRHAHN, O.H. Quantitative structure-activity relationship. 3. A comparison of different Free-Wilson models. *J. Med. Chem.*, **1976**, 19, p.p. 1040-1049.
67. WEI, D.B.; ZHANG, A.Q.; HAN, S.K. and WANG, L.S. Joint QSAR analysis using the Free-Wilson approach and quantum chemical parameters. *SAR QSAR Environ. Res.*, **2001**, 12, p.p. 471-479.
68. STONE, M. and JONATHAN, P. Statistical thinking and technique for QSAR and related studies. Part I: general theory. *J. Chemom.*, **1993**, 7, p.p. 455-475.
69. _____. Statistical thinking and technique for QSAR and related studies. Part II: specific methods. *J. Chemom.*, **1994**, 8, p.p. 1-20.
70. ROSENKRANZ, H.S. and CUNNINGHAM, A.R. SAR modeling of unbalanced data sets. *SAR QSAR Environ. Res.*, **2001**, 12, p.p. 267-214.
71. BRUGGER, W.E.; STUPER, A.J. and JURIS, P.C. Generation of descriptors from molecular structures. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1976**, 16, p.p. 105-110.
72. MARTIN, Y.C. and PANAS, H.N. Mathematical considerations in series design. *J. Med. Chem.*, **1979**, 22, p.p. 784-791.

73. SZYMANSKI, K.; MUELLER, W.R.; KNOP, J.V. and TRINAJSTIC, N. On Randić's molecular identification numbers. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1985**, 25, p.p. 413-415.
74. KLEIN, D.J.; MIHALIC, Z.; PLAVSIC, D. and TRINAJSTIC, N. Molecular topological index: a relation with the Wiener index. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1992**, 32, p.p. 304-305.
75. KIER, L.B.; HALL, L.H. and FRAZER, J.W. Design of molecules from quantitative structure-activity relationship models. 1. Information transfer between path and vertex degree counts. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1993**, 33, p.p. 143-147.
76. _____ . Design of molecules from quantitative structure-activity relationship models. 2. Derivation and proof of information transfer relating equations. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1993**, 33, p.p. 148-152.
77. ESTRADA, E.; GUEVARA, N.; GUTMAN, I. and RODRIGUEZ, L. Molecular connectivity indices of iterated line graphs. A new source of descriptors for QSPR and QSAR studies. *SAR QSAR Environ. Res.*, **1998**, 9, p.p. 229-240.
78. LUCIC, B. and TRINAJSTIC, N. New developments in QSPR/QSAR modeling based on topological indices. *SAR QSAR Environ. Res.*, **1997**, 7, p.p. 45-62.
79. MACINA, O.T.; SUSSMAN, N.B.; CLAYCAMP, H.G. and GRANT, S.G. Physicochemical and graph theoretical descriptors in developmental toxicity SAR: a comparative study. *SAR QSAR Environ. Res.*, **2001**, 11, p.p. 345-362.
80. BALABAN, A.T. Topological and stereochemical molecular descriptors for databases useful in QSAR, similarity/dissimilarity and drug design. *SAR QSAR Environ. Res.*, **1998**, 8, p.p. 1-21.
81. RANDIC, M. and BASAK, S.C. On Use of the Variable Connectivity Index $^1\chi^f$ in QSAR: Toxicity of Aliphatic Ethers. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **2001**, 41, p.p. 614-618.
82. STANTON, D.T.; DIMITROV, S.; GRANCHAROV, V.; and MEKENYAN, O.G. Charged partial surface area (CPSA) descriptors QSAR applications. *SAR QSAR Environ. Res.*, **2002**, 13, p.p. 341-351.
83. STANTON, D.T. and JURIS, P.C. Development and use of charged partial surface area structural descriptors in computer-assisted quantitative structure-property relationship studies. *Anal. Chem.*, **1990**, 62, p.p. 2323-2329.
84. HANSCH, C. and KURUP, A. QSAR of Chemical Polarizability and Nerve Toxicity. 2. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **2003**, 43, p.p. 1647-1651.

85. HANSCH, C.; STEINMETZ, W.E.; LEO, A.J.; MEKAPATI, S.B.; KURUP, A. and HOEKMAN, D. On the role of polarizability in chemical-biological interactions. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **2003**, 43, p.p. 120-125.
86. JI, H.F.; ZHANG, H.Y. and SHEN, L. Proton dissociation is important to understanding structure–activity relationships of gallic acid antioxidants. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, p.p. 4095–4098.
87. WANG, L.F.; SONG, Y.G.; ZHANG, X.F. and LIU, Y. An exploratory theoretical elucidation on the peroxy-radical scavenging mechanism and structure–activity relationship of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, 16, p.p. 3241–3244.
88. REIS, M.; LOBATO, B.; LAMEIRA, J.; SANTOS, A.S. and ALVES, C.N. A theoretical study of phenolic compounds with antioxidant properties. *Eur. J. Med. Chem.*, **2007**, 42, p.p. 440-446.
89. ZHANG, H.Y. and WANG, L.F. Theoretical elucidation on structure–antioxidant activity relationships for indolinic hydroxylamines. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2002**, 12, p.p. 225–227.
90. _____. Theoretical elucidation of structure–activity relationship for coumarins to scavenge peroxy radical. *THEOCHEM*, **2004**, 673, p.p. 199–202.
91. SOFFERS, A.E.M.F.; VAN HAANDEL, M.J.H.; BOERSMA, M.G.; TYRAKOWSKA, B.; LAANE, C. and RIETJENS, I.M.C.M. Antioxidant activities of carotenoids: quantitative relationships between theoretical calculations and experimental literature data. *Free Radical Res.*, **1999**, 30, pp. 233-240.
92. YAMAGAMI, C.; AKAMATSU, M.; MOTOHASHI, N.; HAMADA, S. and TANAHASHI, T. Quantitative structure–activity relationship studies for antioxidant hydroxybenzalacetones by quantum chemical and 3-D-QSAR(CoMFA) analyses. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, 15, p.p. 2845–2850.
93. KATARINA, N.M. Mechanistic studies of phenolic antioxidants in reaction with nitrogen- and oxygen-centered radicals. *THEOCHEM*, **2007**, 818, p.p. 141–150.
94. WRIGHT, J.; JOHNSON, E. and Di LABIO, J. Predicting the activity of phenolic antioxidant: theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, p.p. 1173-1183.
95. HUSSAIN, H.H.; BABIC, G.; DURST, T.; WRIGHT, J.S.; FLUERARU, M.; CHICHIRAU, A. and CHEPELEV, L.L. Development of novel antioxidants: design, síntesis, and reactivity. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, p.p. 7023-7032.

96. MACFAUL, P.A.; INGOLD, K.U. and LUSZTYK, J. Kinetic solvent effects on hydrogen atom abstraction from phenol, aniline, and diphenylamine. The importance of hydrogen bonding on their radical-trapping (antioxidants) activities. *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, p.p. 1316-1321.
97. LITWINIENKO, G. and INGOLD, K.U. Abnormal solvent effects on hydrogen atom abstractions. 1. The reactions of phenols with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) in alcohols. *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, p.p. 3433-3438.
98. INGOLD, K.U. and WRIGHT, J.S. Understanding trends in C-H, N-H, and O-H bond dissociation enthalpies. *J. Chem. Edu.*, **2000**, 77(8), p.p. 1062-1064.
99. PRATT, D.A.; DILABIO, G.A.; VALGIMIGLI, L.; PEDULLI, G.F. and INGOLD, K.U. Substituent effects on the bond dissociation enthalpies of aromatic amines. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, p.p. 11085-11092.
100. HULZEBOS, E.; SIJM D.; TRAAS T.; POSTHUMUS R. and MASLANKIEWICZ L. Validity and validation of expert (Q)SAR systems. *SAR QSAR Environ. Res.*, **2005**, 16, p.p. 385-401.
101. KOLOSSOV, E. and STANFORTH, R. The quality of QSAR models: problems and solutions. *SAR QSAR Environ. Res.*, **2007**, 18, p.p. 89-100.
102. MAKINEN, M. Lipid hydroperoxides: effects of tocopherols and ascorbic acid on their formation and decomposition. Helsinki, **2002**, academic dissertation. Online: <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/maa/skemi/vk/makinen/>. [Fecha de consulta: Julio 2002]
103. CHU, N. and BIJUN, X. Evaluation of the antioxidant and pro-oxidant effects of tea catechin oxypolymers. *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, 48, p.p. 6362-6366.
104. SHIOWY, W. and HONG, J. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, 48, p.p. 5677-5684.
105. SHAHIDI, F. Natural phenolic antioxidants and their food applications. *Lipid Technol.*, **2000**, 12, p.p. 80-84.
106. GAMEL, T.H.; KIRITSAKIS, A. and PETRAKIS, C.H. Effect of phenolic extracts on trans fatty acid formation during frying. *Grasas y Aceites*, **1999**, 50, p.p. 421-425.
107. ÖZCAN, M. Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extracts on natural olive and sesame oils. *Grasas y Aceites*, **1999**, 50, p.p. 355-358.

108. DAMECHKI, M.; SOTIROPOULOU, S. and TSIMIDOU, M. Antioxidant and pro-oxidant factors in oregano and rosemary gourmet olive oils. *Grasas y Aceites*, **2001**, 52, p.p. 207-213.
109. FOTI, M.C. and INGOLD, K.U. Mechanism of inhibition of lipid peroxidation by γ -terpinene, an unusual and potentially useful hydrocarbon antioxidant. *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, 51(9), p.p. 2758-2765.
110. HEATH, H.B. Source book of flavors. Van Nostrand Reinhold, New York, **1981**, p.p. 5-6.
111. BURTON, A.; INGOLD, K.U. and WALTON, J.C. Absolute rate constants for the reactions of primary alkyl radicals with aromatic amines. *J. Org. Chem.*, **1996**, 61, p.p. 3778-3782.
112. YU, M.J.; MCCOWAN, J.R.; PHEBUS, L.A.; TOWNER, R.D.; HO, P.P.K.; KEITH, P.T.; LUTTMAN, C.A.; SAUNDERS, R.D.; RUTERBORIES, K.J.; LINDSTROM, T.D.; WIKEL, J.H.; MORGAN, E. and HAHN, R.A. Benzylamine antioxidants: relationship between structure, peroxy radical scavenging, lipid peroxidation inhibition, and cytoprotection. *J. Med. Chem.*, **1993**, 36, p.p. 1262-1271.
113. BECKER, D.A.; LEY, J.J.; ECHEGOYEN, L. and ALVARADO, R. Stilbazulenyl nitron (STAZN): a nitronyl-substituted hydrocarbon with the potency of classical phenolic chain-breaking antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.*, **2002**, 124, p.p. 4678-4684.
114. KSENDZOVA, G.A.; SOROKIN, V.L.; EDIMECHEVA, I.P. and SHADYRO, O.I. Reactions of arylamine and aminophenol derivatives, and riboflavin with organic radicals. *Free Radical Res.*, **2004**, 38, p.p. 1183-1190.
115. VALENZUELA, V.; SANTANDER, P.; CAMARGO, C.; SQUELLA, J.A.; LOPEZ-ALARCON, C. and NUÑEZ-VERGARA, L.J. 1,4-Dihydropyridines: reactivity of nitrosoaryl and nitroaryl derivatives with alkylperoxy radicals and ABTS radical cation. *Free Radical Res.*, **2004**, 38, p.p. 715-727.
116. NIKI, E. Free Radicals in the 1900's: from *in vitro* to *in vivo*. *Free Radical Res.*, **2000**, 33, p.p. 693-704.
117. APEL, K. and HIRT, H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, **2004**, 55, p.p. 373-399.
118. KOHEN, R. and NYSKA, A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic pathology*, **2002**, 30(6), p.p. 620-650.

119. CHOE, E. and MIN, D.B. Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **2006**, 46, p.p. 1–22.
120. MCCLEMENTS, D.J. and DECKER, E.A. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *Concise Reviews in Food Science*, **2000**, 65, p.p. 1270-1282.
121. SCHWARZ, K.; BERTELSEN, G.; NISSEN, L.R.; GARDNER, P.T; HEINONEN, M.I.; HOPIA, A.; HUYNH-BA, T.; LAMBELET, P.; MCPHAIL, D.; SKIBSTED, L.H. and TIJBURG, L. Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *Eur. Food Res. Technol.*, **2001**, 212, p.p. 319-328.
122. NIKI, E. and NOGUCHI, N. Evaluation of antioxidant capacity. What capacity is being measured by which method? *IUBMB Life*, **2000**, 50, p.p. 323–329.
123. HOGG, J.S.; LOHMANN, D.H. and RUSELL, K.E. The kinetics of reaction of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl with phenols. *Can. J. Chem.*, **1961**, 39, p.p. 1588-1594.
124. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E. and BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. u. Technol.*, **1995**, 28, p.p. 25-30.
125. RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M. and RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.*, **1999**, 26, p.p. 1231-1237.
126. VAN DER BERG, R.; HAENEN, G.R.M.M.; VAN DER BERG, H; VAN DER VIJGH, W. and BAST, A. The predictive value of the antioxidant capacity of structurally related flavonoids using the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. *Food Chem.*, **2000**, 70, p.p. 391-395.
127. DA PORTO, C.; CALLIGARIS, S.; CELOTTI, E. and NICOLI, M.C. Antiradical properties of commercial cognacs assessed by the DPPH[•] test. *J. Agric. Food Chem.*, **2000**, 48, p.p. 4241-4245.
128. PAREJO, I.; VILADOMAT, F.; BASTIDA, J.; ROSAS-ROMERO, A.; FLERLAGE, N.; BURILLO, J. and CODINA, C. Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled mediterranean herbs and aromatic plants. *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, 50, p.p. 6882-6890.
129. SHIMOJI, Y.; TAMURA, Y.; NAKAMURA, Y.; NANDA, K.; NISHIDAI, S.; NISHIKAWA, Y.; ISHIHARA, N.; UENAKAI, K. and OHIGASHI, H. Isolation and

- identification of DPPH radical scavenging compounds in Korosu (japanese unpolished rice vinegar). *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, 50, p.p. 6501-6503.
130. SOARES, D.G.; ANDREAZZA, A.C. and SALVADOR, M. Sequestering ability of butylated hydroxytoluene, propyl gallate, resveratrol, and vitamins C and E against ABTS, DPPH and hydroxyl free radicals in chemical and biological systems. *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, 51, p.p. 1077-1080.
 131. GOUPY, P.; DUFOUR, C.; LOONIS, M. and DANGLES, O. Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical. *J. Agric. Food Chem.*, **2003**, 51, p.p. 615-622.
 132. LÓPEZ-ALARCÓN, C.; NAVARRETE, P.; CAMARGO, C.; SQUELLA, J.A. and NÚÑEZ-VERGARA, L.J. Reactivity of 1,4-dihydropyridines toward alkyl, alkylperoxyl radicals, and ABTS radical cation. *Chem. Res. Toxicol.*, **2003**, 16, p.p. 208-215.
 133. SUJA, K.P.; JAYALEKSHMY, A. and ARUMUGHAN, C. Free radical scavenging behavior of antioxidant compounds of sesame (*Sesamun indicum* L.) in DPPH system. *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, 52, p.p. 912-915.
 134. PRYOR, W.A.; CORNICELLI, J.A.; DEVALL, L.J.; TAIT, B.; TRIVEDI, B.K.; WITIAK, D.T. and WU, M. A rapid screening test to determine the antioxidant potencies of natural and synthetic antioxidants. *J. Org. Chem.*, **1993**, 58, p.p. 3521-3532.
 135. HAZELL, J.E. and RUSELL, K.E. The reaction of 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl with secondary amines. *Can. J. Chem.*, **1958**, 36, p.p. 1729-1734.
 136. MARSDEN, B. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, **1958**, 181 p.p. 1199-1200.
 137. MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, **2004**, 26(2), p.p. 211-219.
 138. JANASZEWSKA, A. and BARTOSZ, G. Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **2002**, 62, p.p. 231-236.
 139. BOMPADRE, S.; LEONE, L.; POLITI, A. and BATTINO, M. Improved FIA-ABTS method for antioxidant capacity determination in different biological simples. *Free Radical Res.*, **2004**, 38(8), p.p. 831-838.

140. SCHLESIER, K.; HARWAT, M.; BÖHM, V. and BITSCH, R. Assessment of antioxidant activity by using different *in vitro* methods. *Free Radical Res.*, **2002**, 36(2), p.p. 177–187.
141. CASTRO, I.A.; ROGERO, M.M.; JUNQUEIRA, R.M. and CARRAPEIRO, M.M. Free radical scavenger and antioxidant capacity correlation of α -tocopherol and Trolox measured by three *in vitro* methodologies. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, **2006**, 57(1/2), p.p. 75–82.
142. BARTOSZ, G.; JANASZEWSKA, A.; ERTEL, D. and BARTOSZ, M. Simple determination of peroxy radical-trapping capacity. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **1998**, 46(3), p.p. 519–528.
143. HERRAIZ, T. and GALISTEO, J. Endogenous and dietary indoles: a class of antioxidants and radical scavengers in the ABTS assay. *Free Radical Res.*, **2004**, 38(3), p.p. 323–331.
144. CHAN, T.S.; GALATI, G.; PANNALA, A.S.; RICE-EVANS, C. and O'BRIEN, P.J. Simultaneous detection of the antioxidant and pro-oxidant activity of dietary polyphenolics in a peroxidase system. *Free Radical Res.*, **2003**, 37(7), p.p. 787–794.
145. KIM, D. and LEE, C.Y. Comprehensive study on vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of various polyphenolics in scavenging a free radical and its structural relationship. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **2004**, 44, p.p. 253–273.
146. AYHAN-KILCIGIL, G.; KUS, C.; ÇOBAN, T.; CAN-EKE, B.; ÖZBEY, S. and ISCAN, M. Synthesis, antioxidant and radical scavenging activities of novel benzimidazoles. *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2005**, 20(5), p.p. 503–514.
147. FRIAA, O. and BRAULT, D. Kinetics of the reaction between the antioxidant Trolox and the free radical DPPH $\cdot$ in semi-aqueous solution. *Org. Biomol. Chem.*, **2006**, 4, p.p. 2417–2423.
148. BRANCHI, B.; GALLI, C. and GENTILI, P. Kinetics of oxidation of benzyl alcohols by the dication and radical cation of ABTS. Comparison with laccase–ABTS oxidations: an apparent paradox. *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, 3, p.p. 2604–2614.
149. FOTI, M.C. and DAQUINO, C. Kinetic and thermodynamic parameters for the equilibrium reactions of phenols with the DPPH radical. *Chem. Commun.*, **2006**, p.p. 3252–3254.
150. ZHANG, H.Y. and JI, H.F. How vitamin E scavenges DPPH radicals in polar protic media. *New J. Chem.*, **2006**, 30, p.p. 503–504.

151. NAKANISHI, I.; KAWASHIMA, T.; OHKUBO, K.; KANAZAWA, H.; INAMI, K.; MOCHIZUKI, M.; FUKUHARA, K.; OKUDA, H.; OZAWA, T.; ITOH, S.; FUKUZUMI, S. and IKOTA, N. Electron-transfer mechanism in radical-scavenging reactions by a vitamin E model in a protic medium. *Org. Biomol. Chem.*, **2005**, 3, p.p. 626–629.
152. BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W. and BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method. *Lebensm. Wiss. U. Technol.*, **1997**, 30, p.p. 609–615.
153. ANTOLOVICH, M.; PRENZLER, P.D.; PATSALIDES, E.; MCDONALD, S. and ROBARDS, K. Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, **2002**, 127, p.p. 183–198.
154. SARIAHMETOGLU, M.; WHEATLEY, R.A.; CAKICI, I.; KANZIK, I. and TOWNSHEND, A. Flow injection analysis for monitoring antioxidant effects on luminol chemiluminescence of reactive oxygen species. *Anal. Lett.*, **2003**, 36(4), p.p. 749–765.
155. KHLEBNIKOV, A.; SCHEPETKIN, I.A.; DOMINA, N.G.; KIRPOTINA, L.N. and QUINN, M.T. Improved quantitative structure–activity relationship models to predict antioxidant activity of flavonoids in chemical, enzymatic, and cellular systems. *Bioorg. Med. Chem.*, **2007**, 15, p.p. 1749–1770.
156. ZOETE, V.; VEZIN, H.; BAILLY, F.; VERGOTEN, G.; and CATTEAU, J.P. and BERNIER, J.L. 4-Mercaptoimidazoles derived from the naturally occurring antioxidant ovothiols 2. Computational and experimental approach of the radical scavenging mechanism. *Free Radical Res.*, **2000**, 32, p.p. 525–533.
157. WANG, L.F. and ZHANG, H.Y. Unexpected role of 5-OH in DPPH radical-scavenging activity of 4-thiaflavans. Revealed by theoretical calculations *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14, p.p. 2609–2611.
158. YAMAGAMI, C.; MOTOHASHI, N.; EMOTO, T.; HAMASAKI, A.; TANAHASHI, T.; NAGAKURA, N. and TAKEUCHI, Y. Quantitative structure–activity relationship analyses of antioxidant and free radical scavenging activities for hydroxybenzalacetones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, 14, p.p. 5629–5633.
159. HEIM, K.E.; TAGLIAFERRO, A.R. and BOBILYA, D.J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nut. Biochem.* **2002**, 13, p.p. 572–584.
160. TEIXEIRA, S.; SIQUET, C.; ALVES, C.; BOAL, I.; MARQUES, M.P.; BORGES, F.; LIMA, J.L.F.C. and REIS, S. Structure–property studies on the antioxidant activity of flavonoids present in diet. *Free Radical Biol. Med.*, **2005**, 39, p.p. 1099–1108.

161. SIQUET, C.; PAIVA-MARTINS, F.; LIMA, J.L.F.C.; REIS, S. and BORGES, F. Antioxidant profile of dihydroxy- and trihydroxyphenolic acids. A structure–activity relationship study. *Free Radical Res.*, **2006**, 40(4), p.p. 433–442.
162. LUCARINI, M.; PEDRIELLI, P.; PEDULLI, G.F.; VALGIMIGLI, L.; GIGMES, D. and TORDO, P. Bond dissociation energies of the N-H bond and rate constants for the reaction with alkyl, alkoxyl, and peroxy radicals of phenothiazines and related compounds. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, p.p. 11546–11553.
163. PRATT, D.A.; DILABIO, G.A. MULDER, P. and INGOLD, K.U. Bond strengths of toluenes, anilines, and phenols: to Hammett or not. *Acc. Chem. Res.* **2004**, 37, p.p. 334–340.
164. RADOMSKI, J.L. The primary aromatic amines: their biological properties and structure activity relationships. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **1979**, 19, p.p.129–157.
165. YU, M.J.; MCCOWAN, J.R.; PHEBUS, L.A.; TOWNER, R.D.; HO, P.P.K.; KEITH, P.T.; LUTTMAN, C.A.; SAUNDERS, R.D.; RUTERBORIES, K.J.; LINDSTROM, T.D.; WIKEL, J.H.; MORGAN, E. and HAHN, R.A. Benzylamine antioxidants: relationship between structure, peroxy radical scavenging, lipid peroxidation inhibition, and cytoprotection. *J. Med. Chem.*, **1993**, 36, p.p. 1262–1271.
166. KÁLAI, T.; KHAN, M.; BALOG, M.; KUTALA, V.K.; KUPPUSAMY, P. and HIDEG, K. Structure–activity studies on the protection of trimetazidine derivatives modified with nitroxides and their precursors from myocardial ischemia–reperfusion injury. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**, 14, p.p. 5510–5516.
167. PRATT, D.A.; DILABIO, G.A.; BRIGATI, G.; PEDULLI, G.F. and VALGIMIGLI, L. 5-pyrimidols: novel chain-breaking antioxidants more effective than phenols. *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, p.p. 4625–4626.
168. Base de datos Elsevier (Scopus), [Online: <http://try.scopus.com>]. [Fecha de consulta: diciembre de 2007].
169. Base de datos Web of Science (ISI Web of Knowledge, Thomson), [Online: <http://portal.isiknowledge.com>]. [Fecha de consulta: agosto de 2007].
170. MARTIN, A.R.; PARADKAR, V.M.; PENG, G.W.; SPETH, R.C.; YAMAMURA, H.I. and HORN, A.S. Conformationally restricted tricyclic antidepressants. 1. Octahydrodibenzazepinonaphthyridines as rigid imipramine analogues. *J. Med. Chem.*, **1980**, 23, p.p. 865–873.
171. EBERLEIN, W.G.; TRUMMLITZ, G.; ENGEL, W.W.; SCHMIDT, G.; PELZER, H. and MAYER, N. Tricyclic compounds as selective antimuscarinics. 1. Structural

- requirements for selectivity toward the muscarinic acetylcholine receptor in a series of pirenzepine and imipramine analogues. *J. Med. Chem.*, **1987**, 30, p.p. 1378-1382.
172. HINO, K.; NAGAI, Y.; UNO, H.; MASUDA, Y.; OKA, M. and KARASAWA, T. A novel class of potential central nervous system agents. 3-phenyl-2-(1-piperazinyl)-5H-1-benzazepines. *J. Med. Chem.*, **1988**, 31, p.p. 107-117.
 173. MASSA, S.; ARTICO, M.; MAI, A.; CORELLI, F.; BOTTA, M.; TAFIR, A.; PANTALEONI, G.C.; GIORGI, R.; COPPOLINO, M.F.; CAGNOTTO, A. and SKORUPSKA, M. Pyrrolbenzodiazepines and related system. 2. Synthesis and biological properties of isonoraptazepine derivatives. *J. Med. Chem.*, **1992**, 35, p.p. 4533-4541.
 174. TER LAAK, A.M.; VENHORST, J.; DONNÉ-OP DEN KELDER, G.M. and TIMMERMAN, H. The histamine H₁-receptor antagonist binding site. A stereoselective pharmacophoric model based upon (semi-)rigid H₁-antagonists and including a known interaction site on the receptor. *J. Med. Chem.*, **1995**, 38, p.p. 3351-3360.
 175. WIKSTRÖM, H.V.; MENSONIDES-HARSEMA, M.M.; CREMERS, T.I.F.H.; MOLTZEN, E.K. and ARNT, J. Synthesis and pharmacological testing of 1,2,3,4,10,14b-hexahydro-6-methoxy-2-methyldibenzo[*c,f*]pyrazino[1,2-*a*]azepin and its enantiomers in comparison with the two antidepressants mianserin and mirtazapine. *J. Med. Chem.*, **2002**, 45, p.p. 3280-3285.
 176. MARCH, J. Advanced organic chemistry. Reactions, mechanisms, and structure. Fourth edition. John Wiley & Sons, New York, **1992**, 1495 p.
 177. SYKES, P. A guidebook to mechanisms in organic chemistry. Sixth edition. Longman Scientific & Technical, John Wiley & Sons, USA, **1985**, 416 p.
 178. WHITE, J.D.; DEMNITZ, F.W.J.; ODA, H.; HASSLER, C. and SNYDER, J.P. Conformational study of the intramolecular Diels-Alder reaction of a pentadienyl acrylate. Theoretical evaluation of kinetic and thermodynamic control. *Org. Lett.*, **2000**, 2, p.p. 3313-3316.
 179. OLAH, G.A.; SCHLOSBERG, R.H.; PORTER, R.D.; MO, Y.K.; KELLY, D.P. and MATEESCU, G.D. Stable carbocations. CXXIV. The benzenium ion and monoalkylbenzenium ions. *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94, p.p. 2034-2043.
 180. OLAH, G.A. Mechanism of electrophilic aromatic substitutions. *Acc. Chem. Res.*, **1971**, 4, p.p. 240-248.
 181. RIDD, J.H. Mechanism of aromatic nitration. *Acc. Chem. Res.*, **1971**, 4, p.p. 248-253.

182. BANTHORPE, D.V. π complexes as reaction intermediates. *Chem. Rev.*, **1970**, 70, p.p. 295-322.
183. GILLIOM, R.D. Introduction to physical organic chemistry. Addison-Wesley Publishing Company, Massachusetts, **1970**, p.p. 227-237.
184. HUBIG, S.M.; LINDEMAN, S.V. and KOCHI, J.K. Charge-transfer bonding in metal-arene coordination coordination. *Chem. Rev.*, **2000**, 200-202, p.p. 831-873.
185. KOCHI, J.K. Electrophilic aromatic substitution: electron transfer routes in side chain substitution. *Tetrahedron Lett.*, **1975**, 16, p.p. 41-44.
186. SMITH, K. and EL-HITI, G.A. Regioselective control of electrophilic aromatic substitution reactions. *Curr. Org. Synth.*, **2004**, 1, p.p. 253-274.
187. NONOYAMA, N.; IWAYA, M. and SUZUKI, H. Mechanistic duality of the side-chain substitution in electrophilic aromatic nitration. Unexpected large difference in deuterium isotope effect k_H/k_D between the side-chain nitration and nitroxylation of deuterated p-xylenes. *Tetrahedron Lett.*, **2000**, 41, p.p. 229-233.
188. DEHAAN, F.P.; DJAPUTRA, M.; GRINSTAFF, M.W.; KAUFMAN, C.R.; KEITHLY, J.C.; KUMAR, A.; KUWAYAMA, M.K.; MACKNET, K.D.; NA, J.; PATEL, B.R.; PINKERTON, B.J.; TIDWELL, J.H. and VILLAHERMOSA, R.M. Electrophilic aromatic substitution. 13.1 Kinetics and spectroscopy of the chloromethylation of benzene and toluene with methoxyacetyl chloride or chloromethyl methyl ether and aluminum chloride in nitromethane or tin tetrachloride in dichloromethane. The methoxymethyl cation as a remarkably selective common electrophile. *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, p.p. 2694-2703.
189. BRODNEY, M.A. and PADW, A. Electrophilic aromatic substitution on pyridine rings. Intramolecular cyclization using *N*-acyliminium ions. *Tetrahedron Lett.*, **1997**, 38, p.p. 6153-6156.
190. KIM, J.N. and RYU, E.K. Lewis acid promoted electrophilic aromatic substitution reaction of nitrile oxide: increase of the electrophilicity of carbon atom of nitrile oxide by Lewis acid complexation. *Tetrahedron Lett.*, **1993**, 34, p.p. 3567-3570.
191. PEDERSEN, E.B.; PETERSEN, T.E. TORSELL, K. and LAWESSON, S.O. Relationship between the properties of radical cations and the rate constants and the substitution patterns in electrophilic aromatic substitution. *Tetrahedron*, **1973**, 29, p.p. 579-584.
192. OLAH, G.A.; TASHIRO, M. and KOBAYASHI, S. Aromatic substitution. XXVII. Friedel-Crafts benzylation of toluene and benzene with substituted benzyl chlorides. Substituent effects in the electrophilic substituting agent affecting the nature of the

- transition state as reflected by substrate and positional selectivity. *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, 92, p.p. 6369-6371.
193. HANNA, S.B.; JERMINI, C. and ZOLLINGER, H. The relationship between kinetic hydrogen isotope effects and transition state symmetry in electrophilic aromatic substitution. *Tetrahedron Lett.*, **1969**, 10, p.p. 4415-4416.
 194. TAYLOR, R. and SMITH, G.G. A method for assessing electrophilic substituent effects in the gas-phase, and the correlation with reactivity in the condensed-phase. *Tetrahedron*, **1963**, 19, p.p. 937-947.
 195. GEERLINGS, P.; VOS, A.M. and SCHOONHEYDT, R.A. A computational and conceptual DFT approach to the kinetics of acid zeolite catalyzed electrophilic aromatic substitution reactions. *THEOCHEM*, **2006**, 762, p.p. 69-78.
 196. SOKOLOV, A.V. New aspects of electrophilic aromatic substitution mechanism: computational model of nitration reaction. *Int. J. Quantum Chem.*, **2004**, 100, p.p. 1-12.
 197. VEKTARIENE, A. and VEKTARIS, G. Quantum chemical estimation of reactivity of 2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzodiazepin-2(1H)-ones in electrophilic aromatic substitution. *Heteroat. Chem.*, **2004**, 15, p.p. 263-270.
 198. VOS, A.M.; SCHOONHEYDT, R.A.; DE PROFT, F. and GEERLINGS, P. DFT study on the electrophilic aromatic substitution catalyzed by Lewis acids. *J. Catal.*, **2003**, 220, p.p. 333-346.
 199. HIRAO, H. and OHWADA, T. Theoretical study of reactivities in electrophilic aromatic substitution reactions: reactive hybrid orbital analysis. *J. Phys. Chem. A.*, **2003**, 107, p.p. 2875-2881.
 200. VOS, A.M.; NULENS, K.H.L.; DE PROFT, F.; SCHOONHEYDT, R.A. and GEERLINGS, P. Reactivity descriptors and rate constants for electrophilic aromatic substitution: acid zeolite catalyzed methylation of benzene and toluene. *J. Phys. Chem. B.*, **2002**, 106, p.p. 2026-2034.
 201. PANKRATOV, A.N. Electrophilic aromatic substitution regioselectivity for benzene derivatives in terms of cationic localization energies from semiempirical quantum chemical computations. *THEOCHEM*, **2000**, 507, p.p. 239-244.
 202. FUSTER, F.; SEVIN, A. and SILVI, B. Topological analysis of the electron localization function (ELF) applied to the electrophilic aromatic substitution. *J. Phys. Chem. A*, **2000**, 104, p.p. 852-858.
 203. HEIDRICH, D. The transition state of electrophilic aromatic substitution in the gas phase. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **1999**, 1, p.p. 2209-2211.

204. WANG, D.Z. and STREITWIESER, A. An *ab initio* study of electrophilic aromatic substitution. *Theor. Chem. Acc.*, **1999**, 102, p.p. 78-86.
205. BACIOCCHI, E. and MANDOLINI, L. The model for the transition state of electrophilic aromatic substitutions: σ -complex or excited charge-transfer complex? a mise au point. *Tetrahedron*, **1987**, 43, p.p. 4035-4041.
206. KIKUCHI, O. Reaction potential map analysis of electrophilic aromatic substitution reactions. *THEOCHEM*, **1986**, 138, p.p. 121-129.
207. FERNANDEZ, J.T. and SORDO, T.L. On the mechanism of electrophilic aromatic substitutions. *THEOCHEM*, **1985**, 120, p.p. 3-7.
208. ELLIOTT, R.J.; SACKWILD, V. and RICHARDS, W.G. Quantitative frontier orbital theory: Part I. Electrophilic aromatic substitution. *THEOCHEM*, **1982**, 86, p.p. 301-314.
209. VON SZENTPÁLY, L. Electrophilic aromatic substitution: a free-electron approach. *Chem. Phys. Lett.*, **1981**, 77, p.p. 352-358.
210. GANDOUR, R.D. A comparison of the relative energies of isomeric intermediates formed in electrophilic, radical, and nucleophilic aromatic substitution reactions. *Tetrahedron*, **1980**, 36, p.p. 1001-1009.
211. HEHRE, W.J. and HIBERTY, P.C. Theoretical approaches to aromatic electrophilic substitution processes. II. Intermediates in electrophilic fluorination. *J. Am. Chem. Soc.*, **1974**, 96, p.p. 7163-7165.
212. BANCROFT, K.C.C. and HOWE, G.R. A mathematical model for the direct field electrostatic effect in electrophilic aromatic substitution. *Tetrahedron Lett.*, **1970**, 11, p.p. 2035-2038.
213. JAKUBETZ, W. and SCHUSTER, P. LCAO-MO calculations on chemical reaction pathways—I: hydrogen bonding and charge transfer in π -complexes of electrophilic aromatic substitution. *Tetrahedron*, **1971**, 27, p.p. 101-112.
214. NAGAKURA, S. Charge transfer mechanism of heterolytic aromatic substitution. *Tetrahedron*, **1963**, 19, p.p. 361-377.
215. BALDWIN, J.E.; THOMAS, R.C.; KRUSE, L.I. and SILBERMAN, L. Rules for ring closure: ring formation by conjugate addition of oxygen nucleophiles. *J. Org. Chem.*, **1977**, 42, p.p. 3846-3852.

216. SEEMAN, J. Effect of conformational change on reactivity in organic chemistry. Evaluations, applications, and extensions of Curtin-Hammet/Winstein-Holness kinetics. *Chem. Rev.*, **1983**, 83, p.p. 83-134.
217. KOIZUMI, T.; HARADA, K.; MOCHIZUKI, E.; KOKUBO, K. and OSHIMA, T. Kinetic evidence for remote π -aryl participation in the BF_3 -catalyzed rearrangement of [2+2] photocycloadducts of diarylhomobenzoquinones with diphenylacetylene. *Org. Lett.* **2004**, 6, p.p. 4081-4084.
218. SUNDBERG, R.J. and LAURINO, J.P. Cyclization of 2-[N-(methylsulfonyl)anilino]acetaldehyde diethyl acetals to indoles. Evidence for stereoelectronic effects in intramolecular electrophilic aromatic substitution. *J. Org. Chem.*, **1984**, 49, p.p. 249-254.
219. MONTI, S.A. and WHITE, G.L. Intramolecular Friedel-Crafts reaction of 3-cyclohexen-1-acetyl chloride and its 4-methyl analog. *J. Org. Chem.*, **1975**, 40, p.p. 215-217.
220. SÁNCHEZ, J.D.; RAMOS, M.T. and AVENDAÑO, C. Intramolecular Friedel-Crafts type reactions involving N-acyliminium ions derived from glycine templates. *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, p.p. 5731-5735.
221. ISHIKAWA, T.; MANABE, S.; AIKAWA, T.; KUDO, T. and SAITO, S. Intramolecular catalytic Friedel-Crafts reactions with allenyl cations for the synthesis of quinolines and their analogues. *Org. Lett.*, **2004**, 6, p.p. 2361-2364.
222. WANG, S.C. and TANTILLO, D.J. Substituent effects on Tandem Alkenyl Migration/Electrophilic Aromatic Substitution Reactions: A Theoretical Study. *J. Org. Chem.* **2007**, 72, p.p. 8394-8401.
223. KOUZNETSOV, V.V.; ZUBKOV, F.I.; NIKITINA, E.V. and AVELLANEDA, L. D. Intramolecular alkene Friedel-Crafts cyclization of 1-allyl-1-*n*-(*ortho*-alkylphenylamino)cyclohexanes. A useful route to alkyl substituted dihydrospiro [(1*H*)quinoline-2,1'-cyclohexanes]. Unprecedented *ipso*-substitution of alkyl groups. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, 45, p.p. 1981-1984.
224. Base de datos Elsevier (Scopus), [Online: <http://try.scopus.com>]. [Fecha de consulta: enero de 2008].
225. Base de datos Web of Science (ISI Web of Knowledge, Thomson), [Online: <http://portal.isiknowledge.com>]. [Fecha de consulta: enero de 2008].
226. ZUBKOV, F.I.; NIKITINA, E.V.; KOUZNETSOV, V.V. and AVELLANEDA, L. D. Experimental evidence for intramolecular *ipso* substitution of alkyl groups. *Eur. J. Org. Chem.*, **2004**, 24, p.p. 5064-5074.

227. MENDEZ, L.Y.V. and KOUZNETSOV, V.V. An efficient synthesis of new 1-*H*-4'-methyl-3',4'-dihydrospiro[piperidine-4,2'(1'*H*)quinoline] scaffolds. *Tetrahedron Lett.*, **2007**, 48(14), p.p. 2509-2512.
228. KOUZNETSOV, V.V.; DIAZ, B.; SANABRIA, C.M.; VARGAS, L.Y.; POVEDA, J.C.; STASHENKO, E.E.; BAHSAS, A. and AMARO-LUIS, J. Synthesis and transformations of new spiro-4-piperidines. Acetyl migration in 1-acetyl-1'-benzyl-4-methyl-3,4-dihydrospiro[(1'*H*)quinoline-2,4'-piperidines] under debenzilation conditions. *Lett. Org. Chem.*, **2005**, 2(1), p.p. 29-32.
229. KOUZNETSOV, V.; PALMA, A.; ROZO, W.; STASHENKO, E.; BAHSAS, A. and AMARO-LUIS, J. Chemistry of N-functionalized spirodihydroquinolines. Unusual access to the 3-methyl-4-(2-oxo-pyrrolidinyl-1)spiro[indane-1,1'-cyclohexanes] from 1-(3-cyanopropyl)-3,4-dihydrospiro[quinoline-2,1'-cyclohexanes]. *Tetrahedron*, **2003**, 59(3), p.p. 419-425.
230. PALMA, A.; AGREDO, J.S.; CARRILLO, C.; KOUZNETSOV, V.; STASHENKO, E.; BAHSAS, A. and AMARO-LUIS, J. Studies directed to the synthesis of new C-5 spiroannulated julolidines. *Tetrahedron*, **2002**, 58(43), p.p. 8719-8727.
231. KOUZNETSOV, V.; PALMA, A.; ROZO, W.; STASHENKO, E.; BAHSAS, A. and AMARO-LUIS, J. A Simple and efficient preparation of 3,4-dialkylsubstituted tetrahydroisoquinoline using cyclopropylethyliden benzylamine. *Synth. Commun.*, **2002**, 32(19), p.p. 2965-2971.
232. PALMA, A.; CARRILLO, C.; STASHENKO, E.; KOUZNETSOV, V.; BAHSAS, A. and AMARO-LUIS, J. Unexpected and novel synthesis of spirojulolidines via intramolecular cyclization of N-carbethoxymethyl spirotetrahydroquinolines catalyzed by PPA. *Tetrahedron Lett.*, **2001**, 42(36), p.p. 6247-6249.
233. EPIOTIS, N.D. and SHAIK, S. Qualitative potential energy surfaces. 1. Theory. *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 100, p.p. 1-8.
234. AGMON, N. Perpendicular effects on transition states. 2. Energy profiles and reaction surfaces. *J. Org. Chem.*, **1987**, 52, p.p. 2192-2195.
235. HRATCHIAN, H.P. and SCHLEGEL, H.B. Accurate reaction paths using a Hessian based predictor-corrector integrator. *J. Chem. Phys.*, **2004**, 120, p.p. 9918-9924.
236. _____. Following reaction pathways using a damped classical trajectory algorithm. *J. Phys. Chem.*, **2002**, 106, p.p. 165-169.
237. FUKUI, K. The path of chemical reactions-the IRC approach. *Acc. Chem. Res.*, **1981**, 14, p.p. 363-368.

238. GONZALEZ, C.; and SCHLEGEL, H.B. Reaction path following in mass-weighted internal coordinates. *J. Phys. Chem.*, **1990**, 94, p.p. 5523-5527.
239. AYALA, P.Y. and SCHLEGEL, H.B. A combined method for determining reaction paths, minima, and transition state geometries. *J. Chem. Phys.*, **1997**, 107, p.p. 375-384.
240. CHUANG, Y.Y. and TRUHLAR, D.G. Reaction-path dynamics in redundant internal coordinates. *J. Phys. Chem.*, **1998**, 102, p.p. 242-247.
241. QUAPP, W.; HIRSCH, M. and HEIDRICH, D. An approach to reaction path branching using valley-ridge inflection points of potential-energy surfaces. *Theor. Chem. Acc.*, **2004**, 112, p.p. 40-51.
242. FORESMAN, J.B. and FRISCH, A. Exploring chemistry with electronic structure methods. Second edition. P.A. Gaussian, Pittsburgh, **1996**, 302 p.
243. DUNNING, T.H.; HARDING, L.B.; BAIR, R.A.; EADES, R.A. and SHEPARD, R.L. Theoretical studies of the energetics and mechanisms of chemical reactions: abstraction reactions. *J. Phys. Chem.*, **1986**, 90, p.p. 344-356.
244. AMRHEIN, M.; SRINIVASAN, B.; BONVIN, D. and SCHUMACHER, M.M. On the rank deficiency and rank augmentation of the spectral measurement matrix. *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, **1996**, 33, p.p. 17-33.
245. FRISCH, M.J.; TRUCKS, G.W.; SCHLEGEL, H.B.; SCUSERIA, G.E.; ROBB, M.A.; CHEESEMAN, J.R.; MONTGOMERY, JR., J.A.; VREVEN, T.; KUDIN, K.N.; BURANT, J.C.; MILLAM, J.M.; IYENGAR, S.S.; TOMASI, J.; BARONE, V.; MENNUCCI, B.; COSSI, M.; SCALMANI, G.; REGA, N.; PETERSSON, G.A.; NAKATSUJI, H.; HADA, M.; EHARA, M.; TOYOTA, K.; FUKUDA, R.; HASEGAWA, J.; ISHIDA, M.; NAKAJIMA, T.; HONDA, Y.; KITAO, O.; NAKAI, H.; KLENE, M.; LI, X.; KNOX, J.E.; HRATCHIAN, H.P.; CROSS, J.B.; ADAMO, C.; JARAMILLO, J.; GOMPERTS, R.; STRATMANN, R.E.; YAZYEV, O.; AUSTIN, A.J.; CAMMI, R.; POMELLI, C.; OCHTERSKI, J.W.; AYALA, P.Y.; MOROKUMA, K.; VOTH, G.A.; SALVADOR, P.; DANNENBERG, J.J.; ZAKRZEWSKI, V.G.; DAPPRICH, S.; DANIELS, A.D.; STRAIN, M.C.; FARKAS, O.; MALICK, D.K.; RABUCK, A.D.; RAGHAVACHARI, K.; FORESMAN, J.B.; ORTIZ, J.V.; CUI, Q.; BABOUL, A.G.; CLIFFORD, S.; CIOŚŁOWSKI, J.; STEFANOV, B.B.; LIU, G.; LIASHENKO, A.; PISKORZ, P.; KOMAROMI, I.; MARTIN, R.L.; FOX, D.J.; KEITH, T.; AL-LAHAM, M.A.; PENG, C.Y.; NANAYAKKARA, A.; CHALLACOMBE, M.; GILL, P.M.W.; JOHNSON, B.; CHEN, W.; WONG, M.W.; GONZALEZ, C. and POPLE, J.A. Gaussian, Wallingford CT, 2004. Gaussian 03, Revision C.01.

246. STEVENS, W.J.; BASCH, H. and KRAUSS M. Compact effective potentials and efficient shared-exponent basis sets for the first- and second-row atoms. *J. Chem. Phys.*, **1984**, 81(12), p.p. 6026-6033.
247. LIDE, D.R. and FREDERIKSE, H.P.R.; (Editores). CRC Handbook of Chemistry and Physics. 78th EDITION. CRC PRESS, Boca raton (USA), **1997**.
248. GÓMEZ, S.L. Las *orto*-alilanilinas *N*-bencilosustituido como precursores apropiados en la síntesis de nuevas 2-fenil(aril)-4-hidroxitetrahidro-1-benzoazepinas. Trabajo de grado (Maestría en Química). Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, **2007**.
249. IRIKURA, K.K. Computational thermochemistry: prediction and estimation of molecular thermodynamics. (ACS Symposium Series 677); Irikura, K. K., and Frurip, D. J., American Chemical Society: Washington, DC, **1998**.
250. SÁNCHEZ, C.; QUIJANO, J. and NOTARIO, R. Theoretical study of the thermolysis reaction of methyl β -hydrocarboxylates in the gas phase. *J. Phys. Org. Chem.*, **2004**, 17, p.p. 294-302.
251. CREWS P.; RODRÍGUEZ, J. and JASPARS, M. Organic structure analysis. Oxford University Press. New York, **1998**, p.p. 349-371.
252. BANWELL, C.N. Fundamentos de espectroscopia molecular. Ediciones del Castillo S.A. Madrid, **1977**, p.p. 216-219.
253. STANTON, D.T. On the physical interpretation of QSAR models. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **2003**, 43, p.p. 1423-1433.
254. LUCIC, B. and TRINAJSTIC, N. Multivariate regression outperforms several robust architectures of neural networks in QSAR modeling. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1999**, 39, p.p. 121-132.
255. PARR, R.G. and PEARSON, R.G. Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity. *J. Am. Chem. Soc.*, **1983**, 105, p.p. 7512-7516.
256. SCHULTZ, T.W.; CARLSON, R.E.; CRONIN, M.T.D.; HERMENS, J.L.M.; JOHNSON, R.; O'BRIEN, P.J.; ROBERTS, D.W.; SIRAKI, A.; WALLACE, K.B. and VEITH, G.D. A conceptual framework for predicting the toxicity of reactive chemicals: modeling soft electrophilicity. *SAR QSAR Environ. Res.*, **2006**, 17, p.p. 413-428.
257. SARTOR, V.; HENDERSON, P.T.; and SCHUSTER, G.B. Radical cation transport and reaction in RNA/DNA hybrid duplexes: effect of global structure on reactivity. *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, p.p. 11027.

258. DORAISWAMY, L.K. and SHARMA, M.M. Heterogeneous reaction: analysis, examples, and reactor design. Volume 2: Fluid-fluid-solid reactions. Wiley-interscience publication, John Wiley & Sons, New York, **1984**, 374 p.
259. CONNORS, K.A. Chemical kinetics. The study of reaction rates in solution. VCH publishers, New York, **1990**, 480 p.
260. COREY, E.J. and KILBOURNE-SAUERS, C. The structure of the transition state for electrophilic aromatic substitution. *J. Am. Chem. Soc.*, **1957**, 79(1), p.p. 248-250.
261. KUO, C.S. and JWO, J.J. Inverse phase transfer catalysis. Kinetics and mechanism of the pyridine 1-oxide-catalyzed substitution reaction of benzoyl chloride and benzoate ion in a two-phase water/dichloromethane medium. *J. Org. Chem.*, **1992**, 57, p.p. 1991-1995.
262. JOSHI, S.R.; KATARIA, K.L.; SAWANT, S.B. and JOSHI, J.B. Kinetics of oxidation of benzyl alcohol with dilute nitric acid. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2005**, 44, p.p. 325-333.
263. WANG, M.L.; HUANG, T.H. and WU, W.T. Kinetics of the oxidation of 5-vinyl-2-norbornene under two-phase-transfer catalysis conditions. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2002**, 41, p.p. 518-523.
264. DEHAAN, F.P.; DJAPUTRA, M.; GRINSTAFF, M.W.; KAUFMAN, C.R.; KEITHLY, J.C.; KUMAR, A.; KUWAYAMA, M.K.; MACKNET, K.D.; NA, J.; PATEL, B.R.; PINKERTON, M.J.; TIDWELL, J.H. and VILLAHERMOSA, R.M. Electrophilic aromatic substitution. 13. Kinetics and spectroscopy of the chloromethylation of benzene and toluene with methoxyacetyl chloride or chloromethyl methyl ether and aluminum chloride in nitromethane or tin tetrachloride in dichloromethane. The methoxymethyl cation as a remarkably selective common electrophile. *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, p.p. 2694-2703.
265. DEWARD, M.J.S. The molecular orbital theory of organic chemistry. Ed Mc Graw Hill, New York, **1969**, 484 p.
266. MILET, A. and ARNAUD, R. Cyclizations of 4-pentenyl, 5-hexenyl, 6-heptenyl, and 7-octenyl fluorinated radicals: A density functional theory theoretical study. *J. Org. Chem.*, **2001**, 66, p.p. 6074-6082.

ANEXO 1 (A1)

Gráficas obtenidas en la evaluación de la actividad antioxidante de las anilinas usadas como conjunto de prueba.

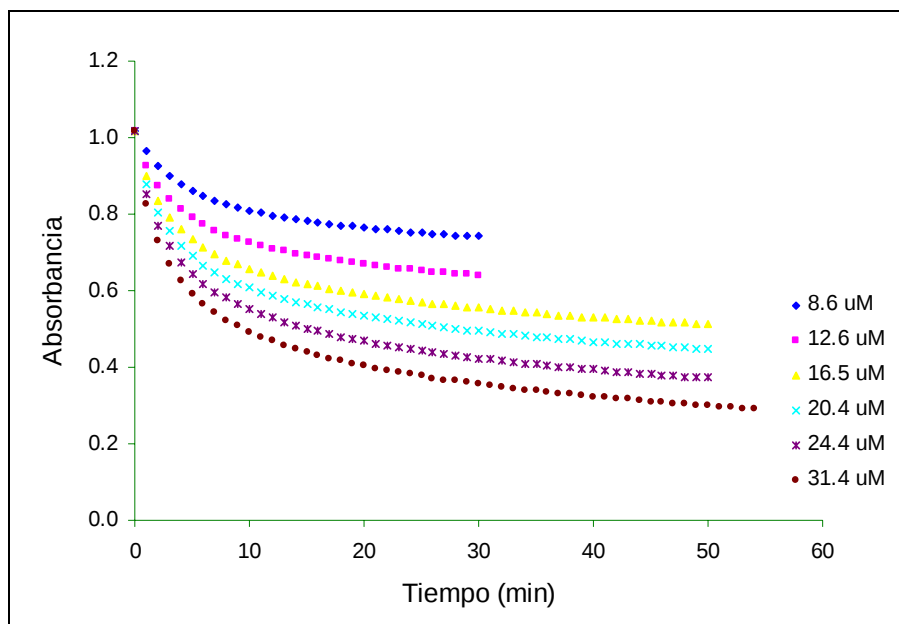


Figura A1_1. Efecto de la concentración de la anilina 33 sobre la disminución de la absorbancia DPPH con el tiempo.

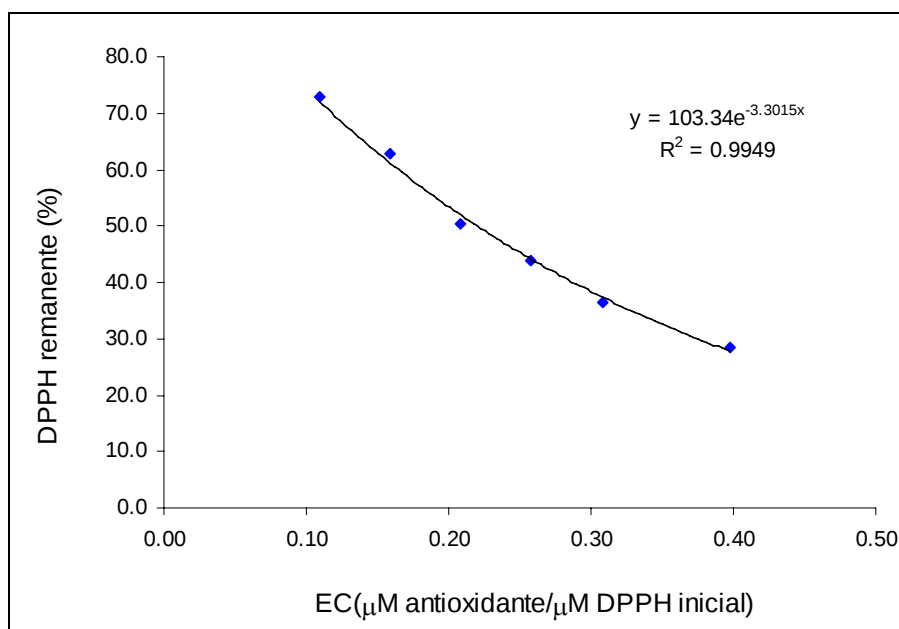


Figura A1_2. Efecto de la concentración efectiva de la anilina 33 sobre el porcentaje de DPPH remanente.

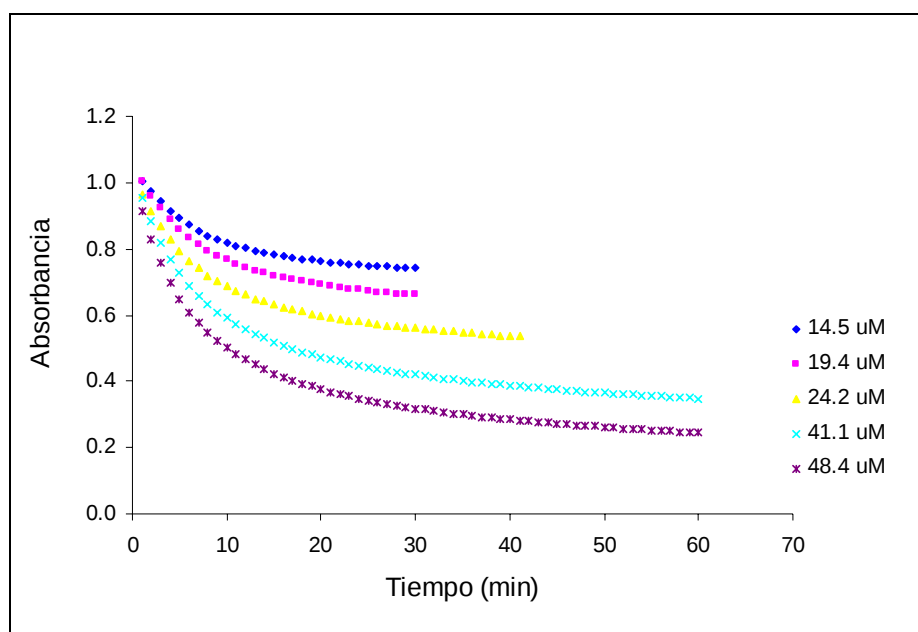


Figura A1_3. Efecto de la concentración de la anilina 34 sobre la disminución de la absorbancia DPPH con el tiempo.

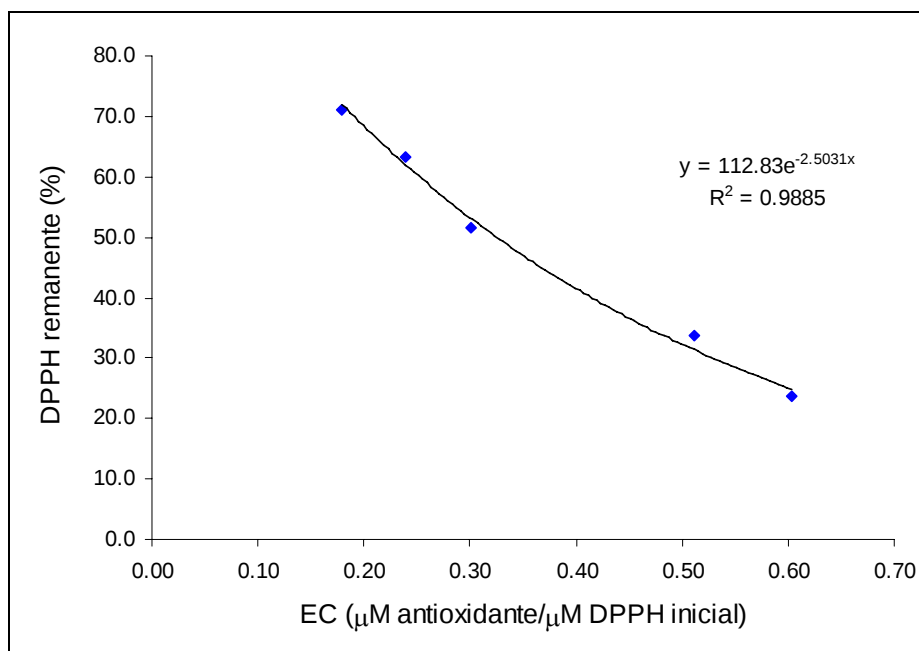


Figura A1_4. Efecto de la concentración efectiva de la anilina 34 sobre el porcentaje de DPPH remanente.

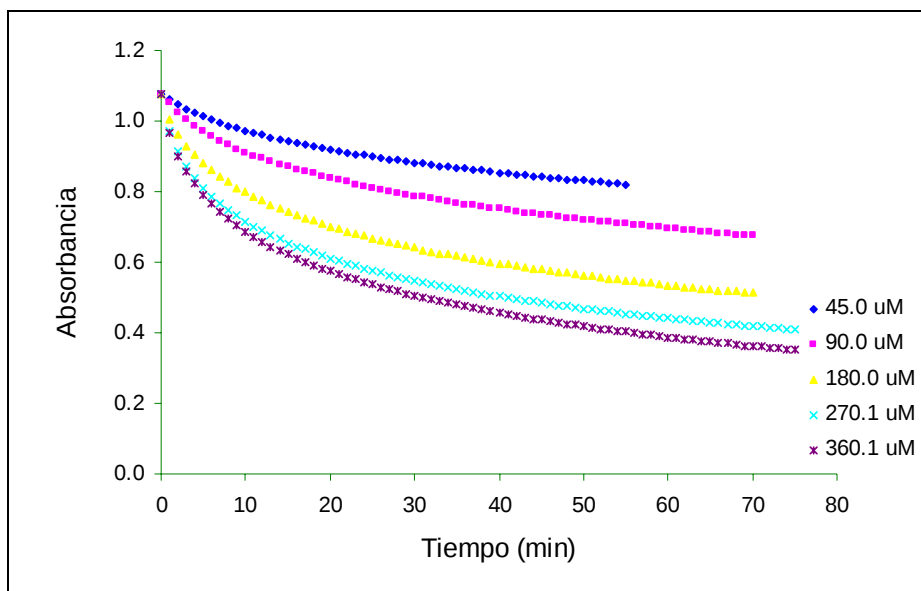


Figura A1_5. Efecto de la concentración de la anilina 25 sobre la disminución de la absorbancia DPPH con el tiempo.

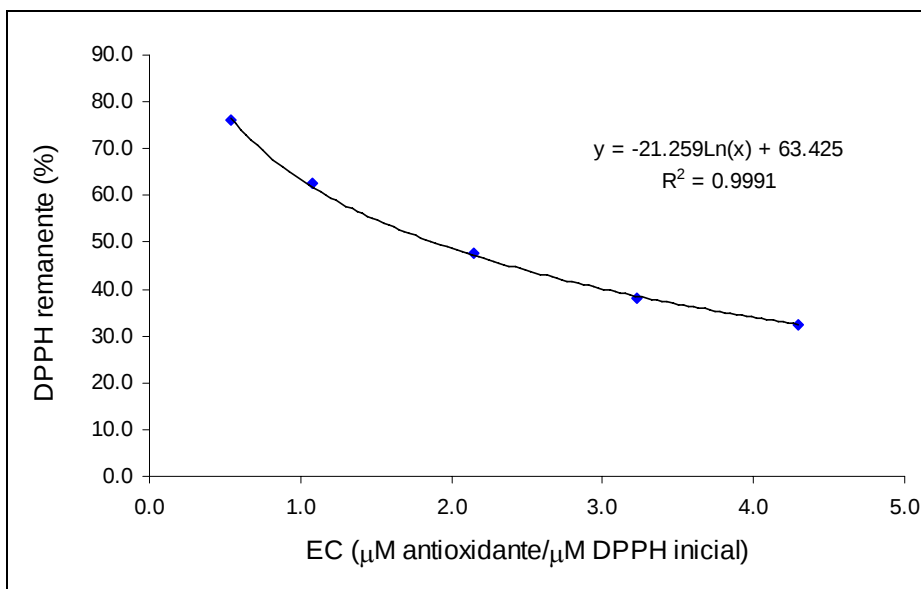


Figura A1_6. Efecto de la concentración efectiva de la anilina 25 sobre el porcentaje de DPPH remanente.

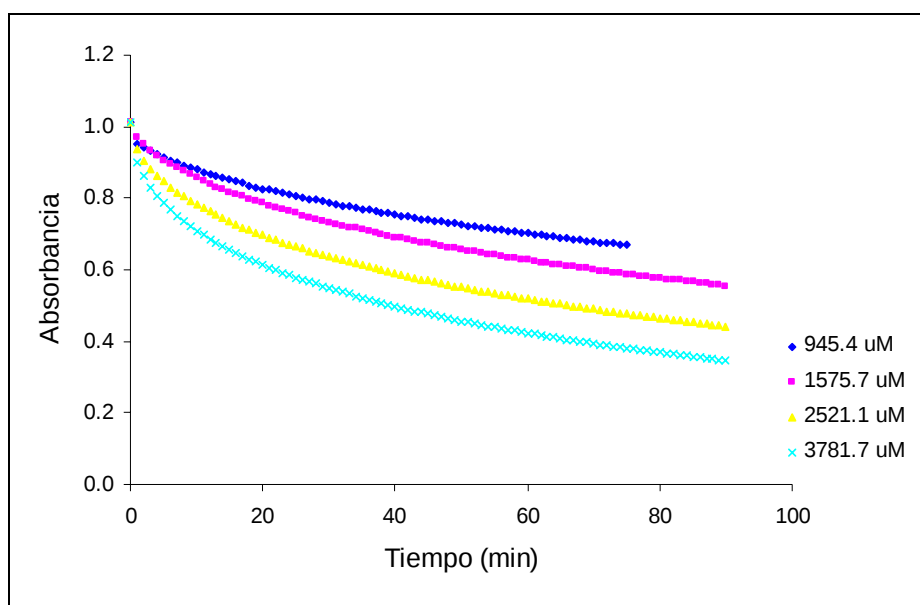


Figura A1_7. Efecto de la concentración de la anilina 26 sobre la disminución de la absorbancia DPPH con el tiempo.

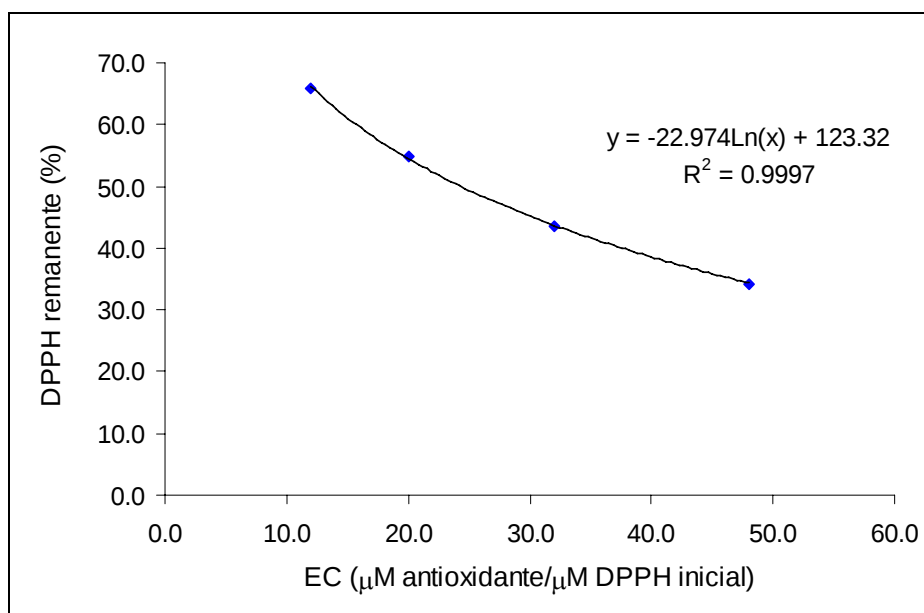


Figura A1_8. Efecto de la concentración efectiva de la anilina 26 sobre el porcentaje de DPPH remanente.

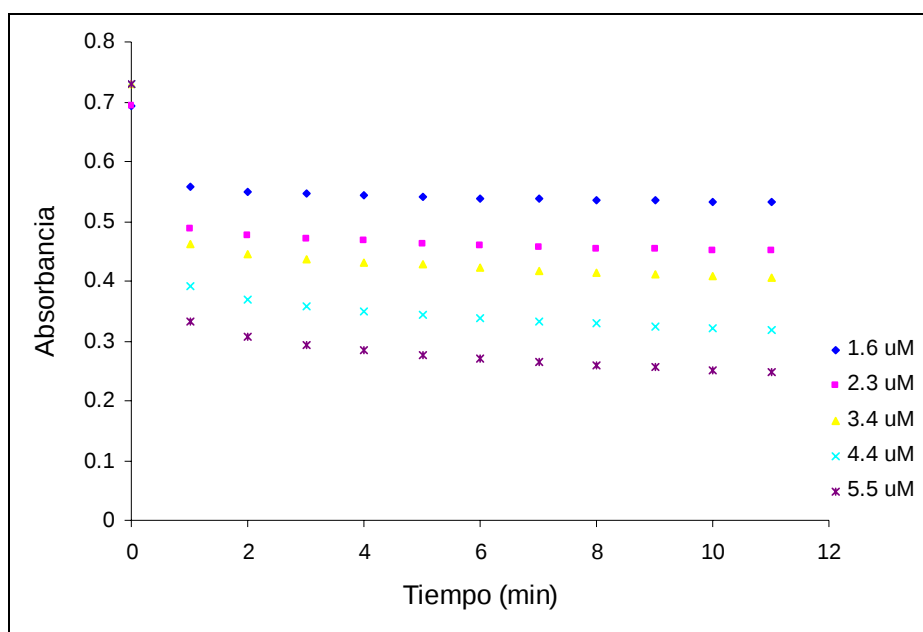


Figura A1_9. Efecto de la concentración de la anilina 33 sobre la disminución de la absorbancia ABTS^+ con el tiempo.

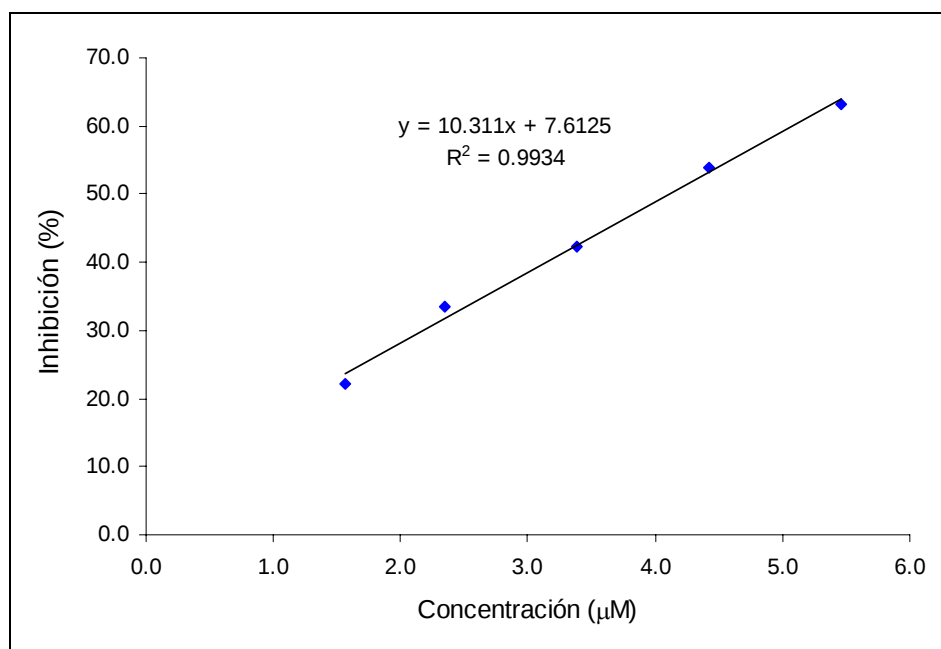


Figura A1_10. Efecto de la concentración de la anilina 33 sobre la inhibición de ABTS^+ .

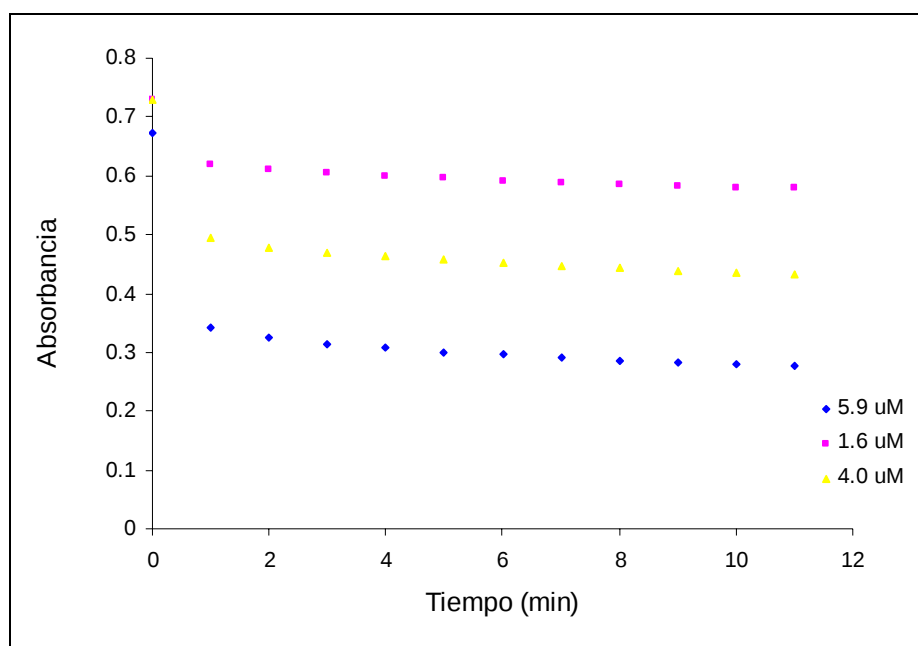


Figura A1_11. Efecto de la concentración de la anilina 34 sobre la disminución de la absorbancia ABTS^+ con el tiempo.

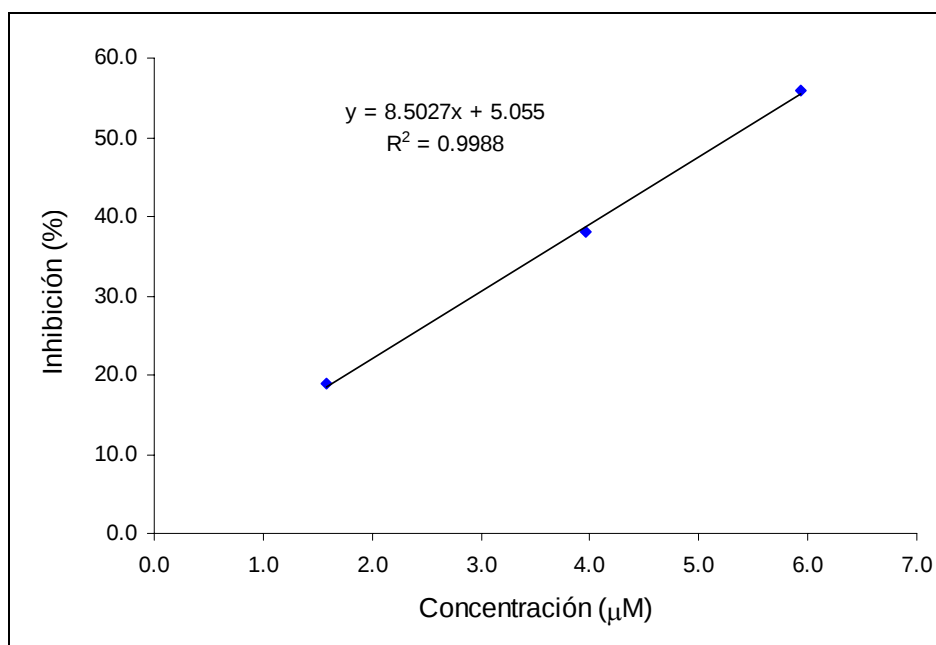


Figura A1_12. Efecto de la concentración de la anilina 34 sobre la inhibición de ABTS^+ .

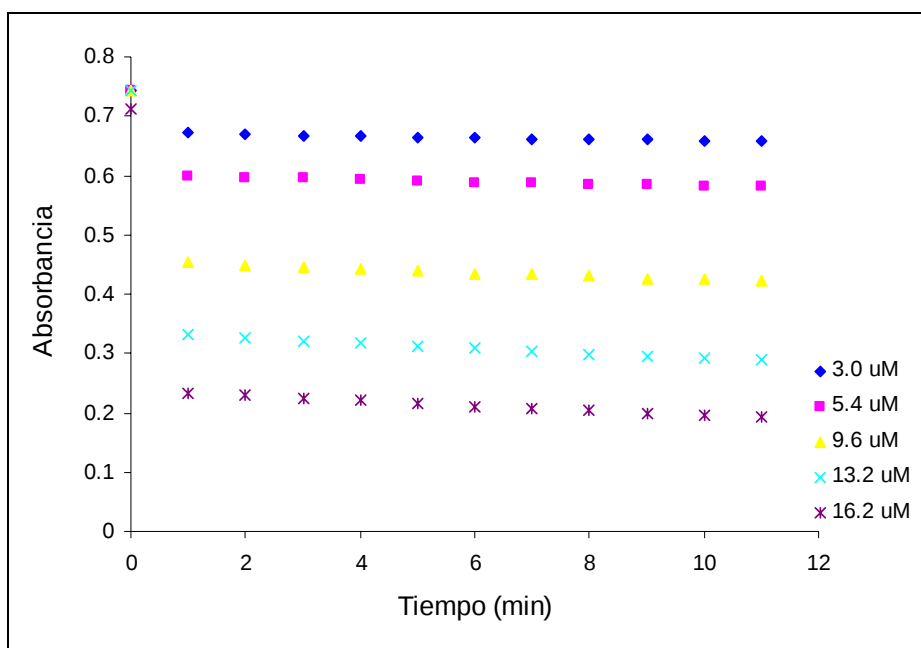


Figura A1_13. Efecto de la concentración de la anilina 25 sobre la disminución de la absorbancia ABTS^+ con el tiempo.

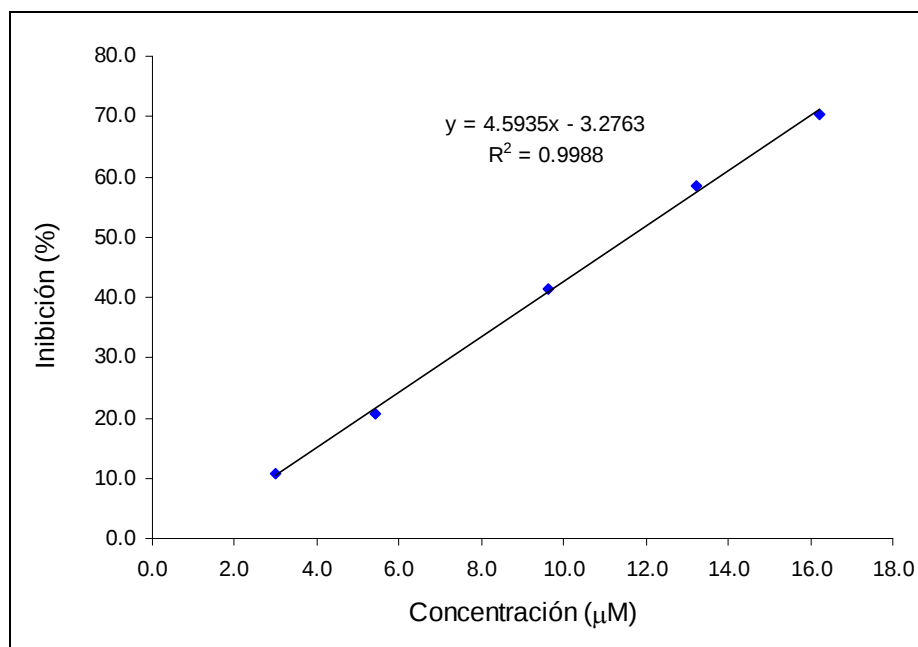


Figura A1_14. Efecto de la concentración de la anilina 25 sobre la inhibición de ABTS^+ .

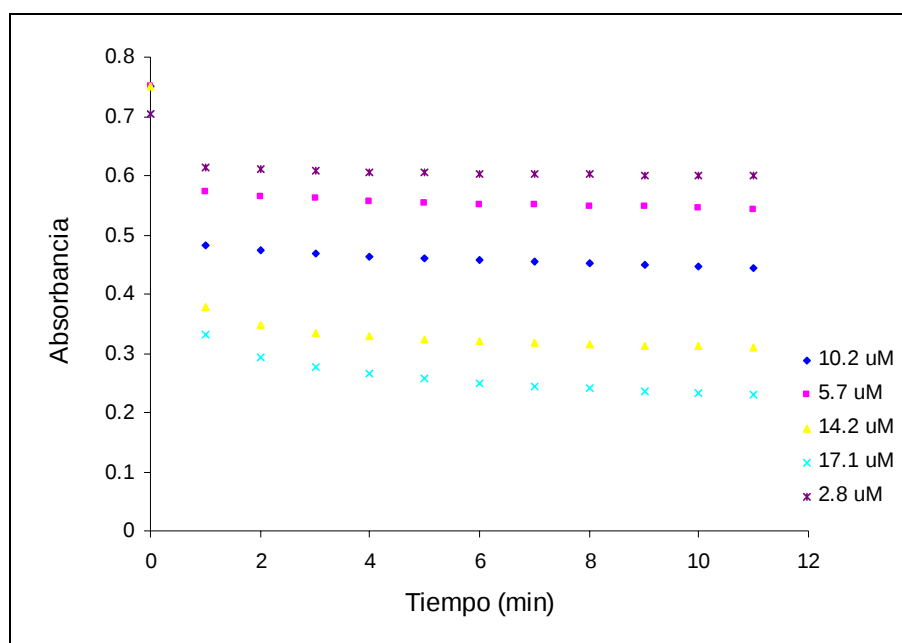


Figura A1_15. Efecto de la concentración de la anilina 26 sobre la disminución de la absorbancia ABTS^+ con el tiempo.

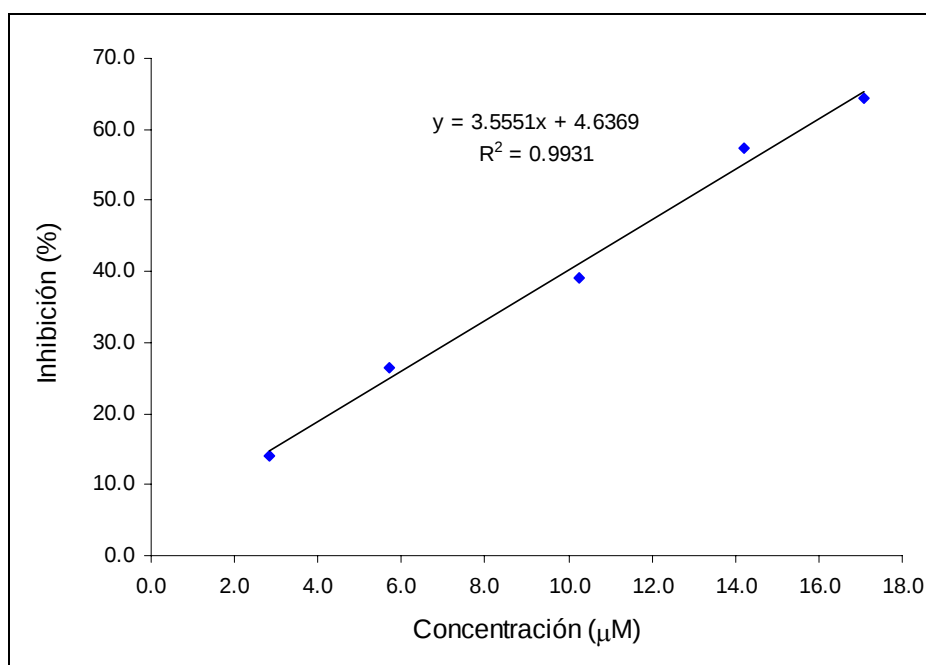


Figura A1_16. Efecto de la concentración de la anilina 26 sobre la inhibición de ABTS^+ .

ANEXO 2 (A2)

Descriptores teóricos utilizados en las QSAR de TEAC.

Tabla A2_1. Valores de los 8 descriptores autoescalados escogidos para construir el modelo TEAC 1.

Anilina	Descriptor							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<u>13</u>	0.575	-0.858	-0.105	-0.221	0.916	0.052	0.310	0.906
<u>14</u>	0.575	-0.858	-0.105	-0.248	0.597	-0.816	0.290	0.907
<u>15</u>	0.575	-0.858	-0.105	-0.158	0.778	-0.670	0.388	0.907
<u>16</u>	0.983	-0.238	0.824	0.418	0.892	-0.571	0.429	0.473
<u>17</u>	0.983	-0.238	0.824	0.473	0.573	-0.781	0.284	0.474
<u>18</u>	0.983	-0.238	0.824	0.410	0.612	-0.752	0.375	0.474
<u>19</u>	-0.836	-0.858	-1.296	-1.568	0.787	0.668	0.252	0.647
<u>20</u>	-0.836	-0.858	-1.296	-1.614	0.418	-0.277	0.101	0.647
<u>21</u>	-0.836	-0.858	-1.296	-1.556	0.512	-1.167	0.165	0.647
<u>22</u>	-1.550	0.686	-1.020	-0.216	-1.006	1.642	-1.795	-1.287
<u>23</u>	-1.550	0.686	-1.020	-0.446	-1.518	1.473	-1.871	-1.287
<u>24</u>	-1.550	0.915	-1.020	-0.347	-1.531	1.305	-1.565	-1.287
<u>27</u>	0.983	-0.105	1.115	0.464	0.612	-0.708	0.993	0.473
<u>28</u>	1.321	0.915	2.069	0.851	0.906	0.210	1.077	0.042
<u>29</u>	0.244	0.667	0.742	2.297	-1.615	-0.580	0.872	-0.901
<u>30</u>	0.139	-0.858	-0.259	-0.430	-0.582	-0.710	0.643	0.552
<u>31</u>	0.602	0.019	0.604	0.586	0.310	-0.409	0.794	0.120
<u>32</u>	-0.808	2.935	0.515	1.305	-1.658	2.090	-1.744	-2.506

Descriptor:

1-Relative number of H atoms, **2**-Wiener index, **3**-Complementary Information content (order 0), **4**-PPSA-2 Total charge weighted PPSA, **5**-PNSA-3 Atomic charge weighted PNSA, **6**-Momento dipolar (Debye), **7**- E_{LUMO} (Hartree), **8**-Energía electrónica total a 0K (Hartree).

Tabla A2_2. Valores de los 9 componentes principales, PC (*factor coordinates of cases*), utilizados para construir el modelo TEAC 2.

Anilina	Componente principal								
	PC1	PC2	PC4	PC5	PC8	PC9	PC11	PC14	PC16
<u>13</u>	-3.66836	-0.47079	1.31779	0.71927	-0.06744	-0.29605	-0.00526	0.00936	-0.00422
<u>14</u>	-3.48477	-0.19040	1.54755	0.15834	0.11663	-0.28206	-0.11966	0.03610	0.00155
<u>15</u>	-3.74028	-0.41154	1.56804	0.21560	0.01570	0.32033	0.08500	-0.04162	-0.00120
<u>16</u>	-1.14967	-2.75829	1.55280	-0.26626	0.13070	0.04255	-0.16064	0.04476	0.02317
<u>17</u>	-0.97025	-2.69238	1.83617	-0.64511	0.24369	-0.11660	0.04072	-0.03801	-0.01254
<u>18</u>	-1.06245	-2.73677	1.88664	-0.67382	0.20554	0.15614	0.19837	-0.00710	-0.00681
<u>19</u>	-1.44724	4.13668	-1.90233	0.07724	-0.25441	0.21025	0.19963	0.03255	-0.00877
<u>20</u>	-1.54224	4.30370	-1.79550	-0.39328	-0.03816	-0.18323	0.12880	-0.05766	0.02118
<u>21</u>	-1.78996	4.13947	-1.89616	-0.79105	0.17771	-0.01425	-0.30858	0.02442	-0.01251
<u>22</u>	3.28161	2.65467	2.01649	0.53986	-0.15965	0.22150	-0.35244	-0.05379	-0.00040
<u>23</u>	3.59327	2.92820	2.42348	0.08651	-0.06442	-0.25442	0.07353	0.01976	-0.00063
<u>24</u>	3.25333	2.98729	2.11420	0.39548	-0.38269	0.17076	0.16949	0.03092	0.00116
<u>27</u>	-1.11833	-2.77488	-1.51828	0.50217	-0.11885	0.24254	0.21425	0.01076	0.00357
<u>28</u>	1.27858	-4.45523	-2.22622	1.67863	-0.55457	-0.29581	-0.09847	-0.01464	-0.00443
<u>29</u>	2.98891	-3.10000	-1.30007	-2.53650	-0.52479	-0.06672	-0.05093	-0.00055	-0.00011
<u>30</u>	-2.47230	1.08306	-2.19437	0.07474	0.37407	-0.27292	0.08465	-0.01111	-0.00099
<u>31</u>	-0.76764	-1.70057	-2.12814	0.45036	0.22539	0.48541	-0.18973	0.01216	0.00207
<u>32</u>	8.81780	-0.94222	-1.30207	0.40783	0.67554	-0.06741	0.09127	0.00369	-0.00010

Descriptores usados para PCA:

1-Number of atoms, **2**-Relative number of C atoms, **3**-Relative number of H atoms, **4**-Number of benzene rings, **5**-Number of single bonds, **6**-Relative number of single bonds, **7**-Molecular weight, **8**-Wiener index, **9**-Kier&Hall index (order 0), **10**-Kier shape index (order 1), **11**-Complementary Information content (order 0), **12**-Information content (order 1), **13**-Complementary Information content (order 1), **14**-3D-Kier&Hall index (order 0), **15**-3D-Kier shape index (order 3), **16**-3D-Information content (order 0), **17**-Moment of inertia A, **18**-PPSA-2 Total charge weighted PPSA, **19**-PNSA-1 Partial negative surface area, **20**-PNSA-2 Total charge weighted PNSA, **21**-PNSA-3 Atomic charge weighted PNSA, **22**-DPSA-2 Difference in CPSAs (PPSA2-PNSA2), **23**-FPSA-3 Fractional PPSA (PPSA-3/TMSA), **24**-FNPA-3 Fractional PNSA (PNSA-3/TMSA), **25**-Momento dipolar (Debye), **26**- E_{HOMO} (Hartree), **27**- E_{LUMO} (Hartree) y **28**-Energía electrónica total a 0K (Hartree).

Tabla A2_3. Valores de los vectores propios (*eigenvector*) utilizados para construir el modelo TEAC 2.

Descriptor	Factor								
	1	2	4	5	8	9	11	14	16
1	0.091297	-0.325335	-0.018668	0.117575	0.047913	-0.076441	0.062935	-0.064516	0.047035
2	-0.220227	0.144323	-0.244817	-0.215001	0.573066	-0.047529	0.042104	0.037636	-0.087612
3	-0.152944	-0.294956	-0.049876	0.035969	0.186133	-0.152462	0.195117	0.071359	0.150329
4	0.099290	-0.172373	-0.361934	0.094069	0.095659	0.051930	0.207085	0.040391	0.031927
5	-0.002353	-0.294250	0.171177	0.028022	-0.023183	-0.153583	-0.042803	-0.116728	0.023820
6	-0.128408	-0.074308	0.331927	-0.107742	-0.133193	-0.137897	-0.179458	0.059102	-0.107032
7	0.051693	0.221162	-0.248844	-0.219941	-0.198552	0.074125	0.066528	-0.098445	-0.109811
8	0.293336	-0.076884	-0.000097	0.167054	0.134204	0.029240	0.014473	0.488418	-0.698552
9	0.102416	-0.006047	-0.251672	-0.157703	-0.090703	0.026985	0.080224	-0.129503	-0.055914
10	0.290737	-0.068929	-0.076794	0.001325	-0.045576	0.078375	-0.049711	0.000790	0.125520
11	0.014976	-0.338133	-0.069135	0.125233	-0.026485	-0.124786	0.122943	-0.193412	-0.172342
12	0.123887	-0.174739	0.321669	-0.202853	0.232643	-0.087235	0.398144	0.054824	0.070685
13	0.038380	-0.294960	-0.220370	0.269409	-0.091683	-0.053547	-0.164127	-0.147671	-0.084114
14	0.102399	-0.006003	-0.251719	-0.157535	-0.090411	0.026937	0.079878	-0.130502	-0.057340
15	0.224854	0.006191	-0.214439	0.094090	0.240437	0.150128	0.130753	-0.021240	0.176983
16	0.269223	-0.121726	0.127770	0.042518	0.211406	0.070409	-0.149337	0.246965	0.388273
17	-0.211697	0.108018	-0.171162	0.296288	-0.135061	-0.050287	0.044241	-0.137332	0.098527
18	0.135511	-0.288407	0.005897	-0.227127	-0.158734	0.127758	-0.266808	-0.150337	-0.107034
19	0.155653	0.257318	-0.208803	0.125363	0.012491	-0.285538	-0.179412	0.120506	0.004373
20	-0.262428	-0.081122	0.210403	0.016018	-0.107409	0.318570	0.185691	-0.020384	-0.138558
21	-0.247181	-0.080053	-0.054148	0.273274	0.076319	0.269747	-0.211204	0.040104	0.189819
22	0.228819	-0.188121	-0.093689	-0.185484	-0.074213	-0.048727	-0.295861	-0.108295	-0.019143
23	-0.050913	-0.230607	-0.134088	-0.243842	0.051674	0.436265	0.169153	-0.103259	-0.028453
24	-0.223521	-0.097062	-0.054484	0.309865	0.164565	0.335655	-0.271056	0.081637	-0.131649
25	0.241084	0.114190	0.101388	0.444558	-0.257595	0.028962	0.442822	-0.062078	0.034124
26	-0.212520	-0.201436	-0.171478	0.020978	0.037964	-0.508360	-0.025669	0.049044	0.027915
27	-0.209654	-0.178364	-0.245922	-0.182475	-0.448703	0.029305	0.123158	0.674621	0.201656
28	-0.299313	-0.025918	-0.055597	-0.009820	-0.015363	-0.125443	0.182827	-0.128201	-0.266245

Tabla A2_4. Valores de los 28 descriptores moleculares autoescalados escogidos para realizar PCA del modelo TEAC 2.

Anilina	Descriptor																											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
13	-0.29	0.41	0.58	-0.69	0.20	0.81	-0.89	-0.86	-1.10	-1.21	-0.11	-0.17	-0.27	-1.10	-1.37	-0.72	0.93	-0.22	-0.93	1.06	0.92	-0.67	0.36	0.90	0.05	1.45	0.31	0.91
14	-0.29	0.41	0.58	-0.69	0.20	0.81	-0.89	-0.86	-1.10	-1.21	-0.11	0.17	-0.47	-1.10	-1.37	-0.72	1.13	-0.25	-0.83	0.99	0.60	-0.66	0.04	0.57	-0.82	0.54	0.29	0.91
15	-0.29	0.41	0.58	-0.69	0.20	0.81	-0.89	-0.86	-1.10	-1.21	-0.11	0.17	-0.47	-1.10	-1.37	-0.72	1.41	-0.16	-1.19	1.27	0.78	-0.72	0.54	0.74	-0.67	0.40	0.39	0.91
16	0.83	-0.41	0.98	-0.69	1.51	1.49	-0.53	-0.24	0.29	-0.10	0.82	1.08	0.37	0.29	-0.10	0.42	-1.02	0.42	-1.06	0.98	0.89	-0.13	-0.01	0.95	-0.57	0.52	0.43	0.47
17	0.83	-0.41	0.98	-0.69	1.51	1.49	-0.53	-0.24	0.29	-0.10	0.82	1.42	0.17	0.29	-0.10	0.42	-1.07	0.47	-1.15	1.06	0.57	-0.12	-0.15	0.63	-0.78	0.39	0.28	0.47
18	0.83	-0.41	0.98	-0.69	1.51	1.49	-0.53	-0.24	0.29	-0.10	0.82	1.42	0.17	0.29	-0.10	0.42	-1.07	0.41	-1.31	1.19	0.61	-0.23	0.06	0.63	-0.75	0.23	0.38	0.47
19	-1.42	1.41	-0.84	-0.69	-1.12	-0.02	2.00	-0.86	1.22	-0.40	-1.30	-1.26	-0.97	1.22	0.60	-1.00	0.38	-1.57	1.31	-0.13	0.79	-1.17	-1.04	0.76	0.67	-0.04	0.25	0.65
20	-1.42	1.41	-0.84	-0.69	-1.12	-0.02	2.00	-0.86	1.22	-0.40	-1.30	-0.93	-1.17	1.22	0.60	-1.00	0.98	-1.61	1.29	-0.10	0.42	-1.22	-1.36	0.35	-0.28	-0.15	0.10	0.65
21	-1.42	1.41	-0.84	-0.69	-1.12	-0.02	2.00	-0.86	1.22	-0.40	-1.30	-0.93	-1.17	1.22	0.60	-1.00	0.97	-1.56	1.27	-0.08	0.51	-1.18	-1.26	0.47	-1.17	-0.27	0.17	0.65
22	-0.67	-1.08	-1.55	-0.69	-0.68	-0.31	-0.09	0.69	-0.70	0.53	-1.02	0.00	-0.82	-0.70	0.03	0.69	-1.02	-0.22	0.85	-0.77	-1.01	0.19	-0.75	-0.97	1.64	-1.51	-1.80	-1.29
23	-0.67	-1.08	-1.55	-0.69	-0.68	-0.31	-0.09	0.69	-0.70	0.53	-1.02	0.33	-1.02	-0.70	0.03	0.69	-1.41	-0.45	0.79	-0.71	-1.52	-0.02	-1.19	-1.63	1.47	-1.64	-1.87	-1.29
24	-0.67	-1.08	-1.55	-0.69	-0.68	-0.31	-0.09	0.92	-0.70	0.53	-1.02	0.33	-1.02	-0.70	0.03	0.69	0.31	-0.35	0.74	-0.59	-1.53	0.00	-0.85	-1.56	1.31	-2.17	-1.57	-1.29
27	0.83	-0.41	0.98	1.37	0.20	-0.78	-0.53	-0.11	-0.15	-0.07	1.12	-0.27	1.19	-0.15	-0.02	-0.43	0.05	0.46	-0.61	0.32	0.61	0.21	1.05	0.62	-0.71	1.08	0.99	0.47
28	1.96	-1.08	1.32	1.37	1.51	-0.02	-0.17	0.92	1.28	1.05	2.07	0.07	2.40	1.28	1.25	0.73	0.10	0.85	-0.06	-0.25	0.91	0.78	-0.02	1.04	0.21	0.92	1.08	0.04
29	0.83	-0.41	0.24	1.37	0.20	-0.78	-0.09	0.67	0.27	1.00	0.74	0.55	0.69	0.27	-0.04	0.66	-1.03	2.30	-0.50	-1.08	-1.62	2.31	2.04	-1.66	-0.58	0.30	0.87	-0.90
30	-0.67	1.62	0.14	1.37	-1.56	-2.03	-0.86	-0.86	-1.74	-1.17	-0.26	-2.22	0.51	-1.74	-1.29	-1.53	1.12	-0.43	0.24	-0.49	-0.58	-0.11	1.57	-0.88	-0.71	0.53	0.64	0.55
31	0.46	0.66	0.60	1.37	-0.24	-1.06	-0.50	0.02	-0.29	-0.07	0.60	-1.08	1.21	-0.29	-0.02	-0.23	0.56	0.59	-0.34	-0.07	0.31	0.49	1.23	0.32	-0.41	0.61	0.79	0.12
32	1.21	-1.41	-0.81	1.37	0.20	-1.25	0.66	2.94	1.51	2.79	0.52	1.33	0.69	1.51	2.65	2.63	-1.33	1.31	1.49	-2.60	-1.66	2.24	-0.26	-1.26	2.09	-1.19	-1.74	-2.51

1-Number of atoms, 2-Relative number of C atoms, 3-Relative number of H atoms, 4-Number of benzene rings, 5-Number of single bonds, 6-Relative number of single bonds, 7-Molecular weight, 8-Wiener index, 9-Kier&Hall index (order 0), 10-Kier shape index (order 1), 11-Complementary Information content (order 0), 12-Information content (order 1), 13-Complementary Information content (order 1), 14-3D-Kier&Hall index (order 0), 15-3D-Kier shape index (order 3), 16-3D-Information content (order 0), 17-Moment of inertia A, 18-PPSA-2 Total charge weighted PPSA, 19-PNSA-1 Partial negative surface area, 20-PNSA-2 Total charge weighted PNSA, 21-PNSA-3 Atomic charge weighted PNSA, 22-DPSA-2 Difference in CPSAs (PPSA2-PNSA2), 23-FPSA-3 Fractional PPSA (PPSA-3/TMSA), 24-FNSA-3 Fractional PNSA (PNSA-3/TMSA), 25-Momento dipolar (Debye), 26-E_{HOMO}(Hartree), 27-E_{LUMO}(Hartree) y 28-Energía electrónica total a 0K (Hartree).

Tabla A2_5. Valores de los descriptores usados para elaborar el modelo TEAC 3.

Anilina	Descriptor		
	α_{zz}	PPSA-2	EE
<u>13</u>	129.274	118.701	-98.580
<u>14</u>	120.562	117.919	-98.573
<u>15</u>	121.728	120.501	-98.573
<u>16</u>	124.113	137.093	-105.218
<u>17</u>	128.243	138.659	-105.214
<u>18</u>	127.905	136.843	-105.214
<u>19</u>	129.479	79.941	-102.559
<u>20</u>	117.508	78.601	-102.554
<u>21</u>	118.766	80.285	-102.554
<u>22</u>	116.549	118.853	-132.199
<u>23</u>	112.414	112.208	-132.195
<u>24</u>	116.990	115.073	-132.201
<u>27</u>	108.194	138.412	-105.228
<u>28</u>	147.241	149.561	-111.837
<u>29</u>	135.025	191.174	-126.290
<u>30</u>	122.706	112.677	-104.007
<u>31</u>	132.377	141.909	-110.629
<u>32</u>	135.134	162.622	-150.890

Tabla A2_6. Valores de los descriptores usados para elaborar el modelo TEAC 4.

Anilina	Descriptor				
	α_{zz}	PPSA-2	α_{zz}^2	EE ²	α_{zz}^3
<u>13</u>	129.274	118.701	16711.767	9718.034	2160396.977
<u>14</u>	120.562	117.919	14535.196	9716.580	1752392.281
<u>15</u>	121.728	120.501	14817.706	9716.659	1803729.714
<u>16</u>	124.113	137.093	15404.037	11070.912	1911841.216
<u>17</u>	128.243	138.659	16446.267	11070.038	2109118.625
<u>18</u>	127.905	136.843	16359.689	11070.023	2092486.025
<u>19</u>	129.479	79.941	16764.811	10518.278	2170691.021
<u>20</u>	117.508	78.601	13808.130	10517.372	1622565.748
<u>21</u>	118.766	80.285	14105.363	10517.378	1675237.513
<u>22</u>	116.549	118.853	13583.669	17476.700	1583163.085
<u>23</u>	112.414	112.208	12636.907	17475.561	1420565.308
<u>24</u>	116.990	115.073	13686.660	17477.174	1601202.365
<u>27</u>	108.194	138.412	11705.942	11072.847	1266512.649
<u>28</u>	147.241	149.561	21679.912	12507.447	3192171.935
<u>29</u>	135.025	191.174	18231.751	15949.264	2461742.128
<u>30</u>	122.706	112.677	15056.762	10817.418	1847555.091
<u>31</u>	132.377	141.909	17523.670	12238.817	2319730.881
<u>32</u>	135.134	162.622	18261.198	22767.826	2467708.725

ANEXO 3 (A3)

Descriptores teóricos utilizados en las QSAR de EC₅₀.

Tabla A3_1. Valores de los 12 descriptores autoescalados escogidos para realizar el modelo de EC₅₀ 1.

Anilina	Descriptor											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<u>13</u>	-0.291	0.575	-0.687	0.195	-0.890	-0.105	-0.221	-0.932	0.355	1.451	0.310	0.906
<u>14</u>	-0.291	0.575	-0.687	0.195	-0.890	-0.105	-0.248	-0.825	0.036	0.542	0.290	0.907
<u>15</u>	-0.291	0.575	-0.687	0.195	-0.890	-0.105	-0.158	-1.192	0.544	0.398	0.388	0.907
<u>16</u>	0.833	0.983	-0.687	1.510	-0.527	0.824	0.418	-1.059	-0.010	0.518	0.429	0.473
<u>17</u>	0.833	0.983	-0.687	1.510	-0.527	0.824	0.473	-1.149	-0.150	0.393	0.284	0.474
<u>18</u>	0.833	0.983	-0.687	1.510	-0.527	0.824	0.410	-1.311	0.056	0.232	0.375	0.474
<u>19</u>	-1.415	-0.836	-0.687	-1.120	2.001	-1.296	-1.568	1.309	-1.038	-0.038	0.252	0.647
<u>20</u>	-1.415	-0.836	-0.687	-1.120	2.001	-1.296	-1.614	1.292	-1.358	-0.147	0.101	0.647
<u>21</u>	-1.415	-0.836	-0.687	-1.120	2.001	-1.296	-1.556	1.268	-1.258	-0.269	0.165	0.647
<u>22</u>	-0.666	-1.550	-0.687	-0.682	-0.089	-1.020	-0.216	0.845	-0.752	-1.513	-1.795	-1.287
<u>23</u>	-0.666	-1.550	-0.687	-0.682	-0.089	-1.020	-0.446	0.791	-1.191	-1.644	-1.871	-1.287
<u>24</u>	-0.666	-1.550	-0.687	-0.682	-0.089	-1.020	-0.347	0.735	-0.852	-2.170	-1.565	-1.287
<u>27</u>	0.833	0.983	1.374	0.195	-0.527	1.115	0.464	-0.606	1.052	1.078	0.993	0.473
<u>28</u>	1.957	1.321	1.374	1.510	-0.165	2.069	0.851	-0.059	-0.023	0.919	1.077	0.042
<u>29</u>	0.833	0.244	1.374	0.195	-0.088	0.742	2.297	-0.498	2.044	0.301	0.872	-0.901
<u>30</u>	-0.666	0.139	1.374	-1.559	-0.864	-0.259	-0.430	0.243	1.573	0.530	0.643	0.552
<u>31</u>	0.458	0.602	1.374	-0.244	-0.502	0.604	0.586	-0.339	1.229	0.609	0.794	0.120
<u>32</u>	1.207	-0.808	1.374	0.195	0.661	0.515	1.305	1.486	-0.256	-1.192	-1.744	-2.506

Descriptor:

1-Number of atoms, 2- Relative number of H atoms, 3- Number of benzene rings, 4- Number of single bonds, 5- Molecular weight, 6- Complementary Information content (order 0), 7- PPSA-2 Total charge weighted PPSA, 8- PNSA-1 Partial negative surface area, 9- FPSA-3 Fractional PPSA (PPSA-3/TMSA), 10- E_{HOMO}(Hartree), 11- E_{LUMO}(Hartree), 12- EE a 0K (Hartree).

Tabla A3_2. Valores de los 3 descriptores seleccionados para el modelo de EC₅₀ 2.

Anilina	Descriptor		
	PPSA-2	EE ²	EE ³
<u>13</u>	118.701	9718.034	-958004.645
<u>14</u>	117.919	9716.580	-957789.719
<u>15</u>	120.501	9716.659	-957801.292
<u>16</u>	137.093	11070.912	-1164863.660
<u>17</u>	138.659	11070.038	-1164725.690
<u>18</u>	136.843	11070.023	-1164723.310
<u>19</u>	79.941	10518.278	-1078740.410
<u>20</u>	78.601	10517.372	-1078601.120
<u>21</u>	80.285	10517.378	-1078601.990
<u>22</u>	118.853	17476.700	-2310410.560
<u>23</u>	112.208	17475.561	-2310184.680
<u>24</u>	115.073	17477.174	-2310504.440
<u>27</u>	138.412	11072.847	-1165169.030
<u>28</u>	149.561	12507.447	-1398791.520
<u>29</u>	191.174	15949.264	-2014238.810
<u>30</u>	112.677	10817.418	-1125085.140
<u>31</u>	141.909	12238.817	-1353970.290
<u>32</u>	162.622	22767.826	-3435439.760

Tabla A3_3. Valores de los 2 descriptores escogidos para el modelo de Log (1/EC₅₀) 3.

Anilina	Descriptor	
	PPSA-2	EE
<u>13</u>	118.701	-98.580
<u>14</u>	117.919	-98.573
<u>15</u>	120.501	-98.573
<u>16</u>	137.093	-105.218
<u>17</u>	138.659	-105.214
<u>18</u>	136.843	-105.214
<u>19</u>	79.941	-102.559
<u>20</u>	78.601	-102.554
<u>21</u>	80.285	-102.554
<u>22</u>	118.853	-132.199
<u>23</u>	112.208	-132.195
<u>24</u>	115.073	-132.201
<u>27</u>	138.412	-105.228
<u>28</u>	149.561	-111.837
<u>29</u>	191.174	-126.290
<u>30</u>	112.677	-104.007
<u>31</u>	141.909	-110.629
<u>32</u>	162.622	-150.890

Tabla A3_4. Valores de los 3 descriptores del modelo de Log (1/EC₅₀) 4.

Anilina	Descriptor		
	α_{zz}	EE ²	PPSA-2 ³
<u>13</u>	129.274	9718.034	1672489.610
<u>14</u>	120.562	9716.580	1639649.790
<u>15</u>	121.728	9716.659	1749745.270
<u>16</u>	124.113	11070.912	2576583.750
<u>17</u>	128.243	11070.038	2665877.210
<u>18</u>	127.905	11070.023	2562528.210
<u>19</u>	129.479	10518.278	510867.786
<u>20</u>	117.508	10517.372	485608.989
<u>21</u>	118.766	10517.378	517484.362
<u>22</u>	116.549	17476.700	1678907.980
<u>23</u>	112.414	17475.561	1412780.650
<u>24</u>	116.990	17477.174	1523788.210
<u>27</u>	108.194	11072.847	2651665.100
<u>28</u>	147.241	12507.447	3345483.130
<u>29</u>	135.025	15949.264	6986890.870
<u>30</u>	122.706	10817.418	1430574.640
<u>31</u>	132.377	12238.817	2857805.910
<u>32</u>	135.134	22767.826	4300719.780

Tabla A3_5. Valores de los 3 descriptores del modelo de Log (1/EC₅₀) 5.

Anilina	Descriptor		
	α_{zz}	PPSA-2	EE
<u>13</u>	129.274	118.701	-98.580
<u>14</u>	120.562	117.919	-98.573
<u>15</u>	121.728	120.501	-98.573
<u>16</u>	124.113	137.093	-105.218
<u>17</u>	128.243	138.659	-105.214
<u>18</u>	127.905	136.843	-105.214
<u>19</u>	129.479	79.941	-102.559
<u>20</u>	117.508	78.601	-102.554
<u>21</u>	118.766	80.285	-102.554
<u>22</u>	116.549	118.853	-132.199
<u>23</u>	112.414	112.208	-132.195
<u>24</u>	116.990	115.073	-132.201
<u>27</u>	108.194	138.412	-105.228
<u>28</u>	147.241	149.561	-111.837
<u>29</u>	135.025	191.174	-126.290
<u>30</u>	122.706	112.677	-104.007
<u>31</u>	132.377	141.909	-110.629
<u>32</u>	135.134	162.622	-150.890

ANEXO 4 (A4)

Resultados de las síntesis de las anilinas 25, 26, 33 y 34.

Tabla A4_1. Rendimientos de las aldminas 35-38 y de las anilinas 25, 26, 33 y 34.

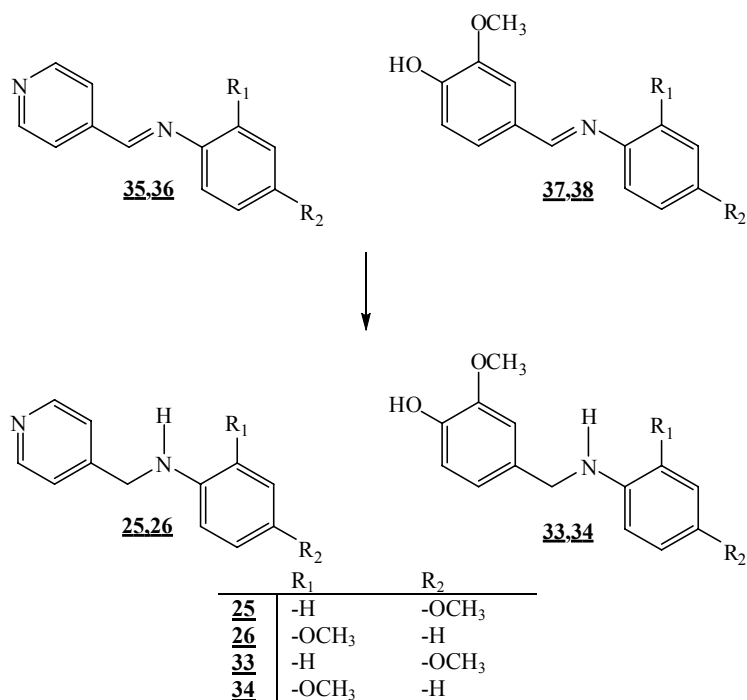
Compuesto	ID	Rendimiento (%) ^a	Aspecto
Aldiminas	<u>35</u>	98	- ^b
	<u>36</u>	93	- ^b
	<u>37</u>	98	- ^b
	<u>38</u>	60	- ^b
Anilinas	<u>25</u>	90	Cristales canela claro, pf 72-74 °C
	<u>26</u>	50	Aceite amarillo oscuro
	<u>33</u>	30	Cristales amarillo claro, pf 101-103 °C
	<u>34</u>	50	Cristales blancos, pf 98-99 °C

^aRendimientos calculados con base en GC-FID. ^bNo se realizó la anotación respectiva.

Tabla A4_2. Señales características de los espectros IR para las anilinas 25, 26, 33 y 34.

Anilina	Bandas de absorción por vibración, cm ⁻¹					
	Tensión N-H	Tensión =C-H Ar	Flexión N-H	Tensión C-N	Tensión C=C	Tensión -C-H
(<u>25</u>)	3297	- ^a	1604	1241	1511	2965-2835
(<u>26</u>)	3421	3067	1601	1224	1515	2938-2835
(<u>33</u>)	3423	3020	1611	1227	1513	2956-2842
(<u>34</u>)	3401	2968	1607	1239	1514	2941-2840

^aSeñal de baja intensidad alrededor de 3000 cm⁻¹



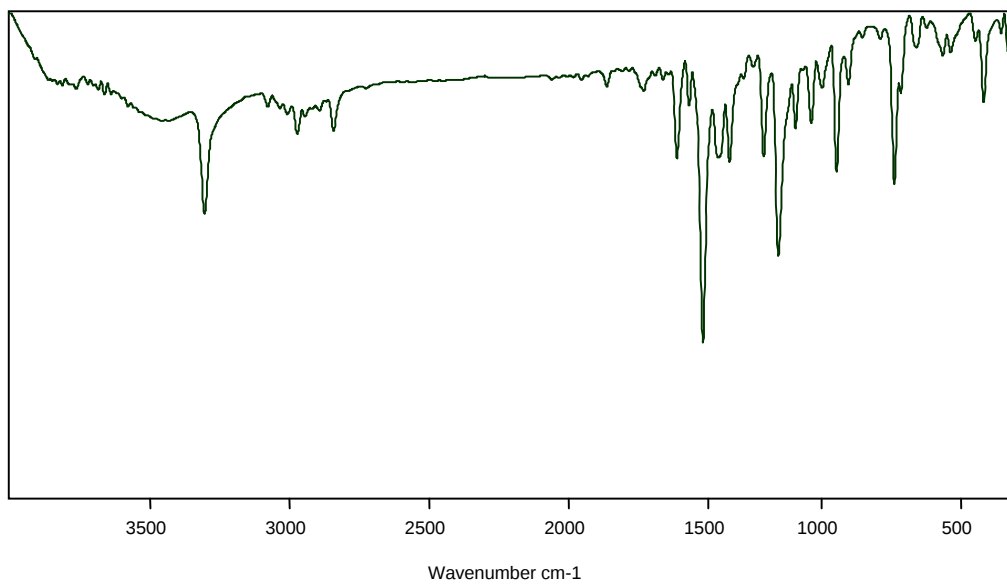


Figura A4_1. Espectro IR de la anilina 25.

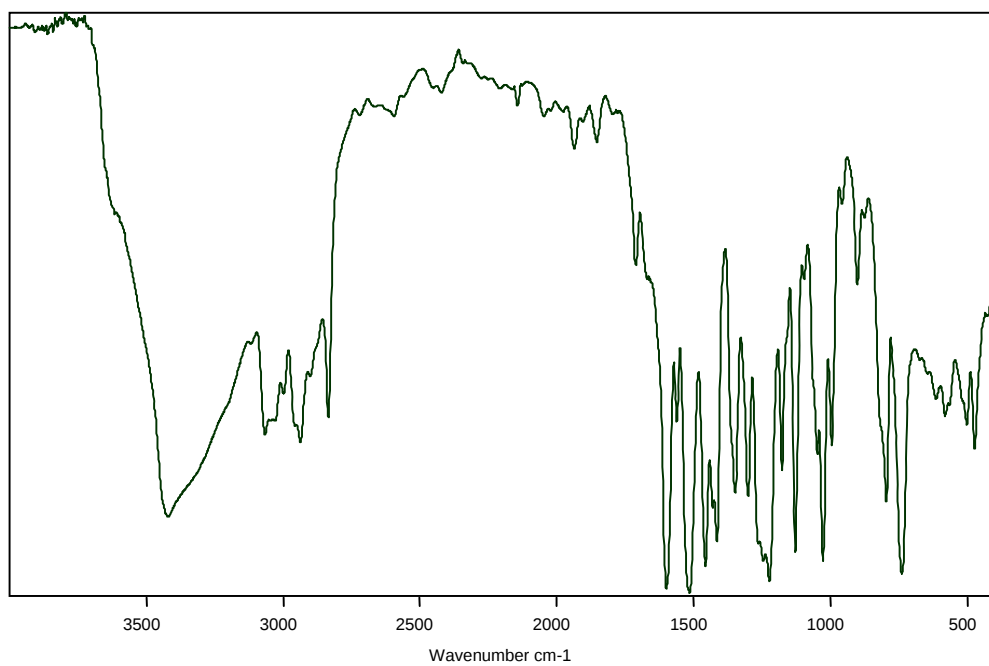


Figura A4_2. Espectro IR de la anilina 26.

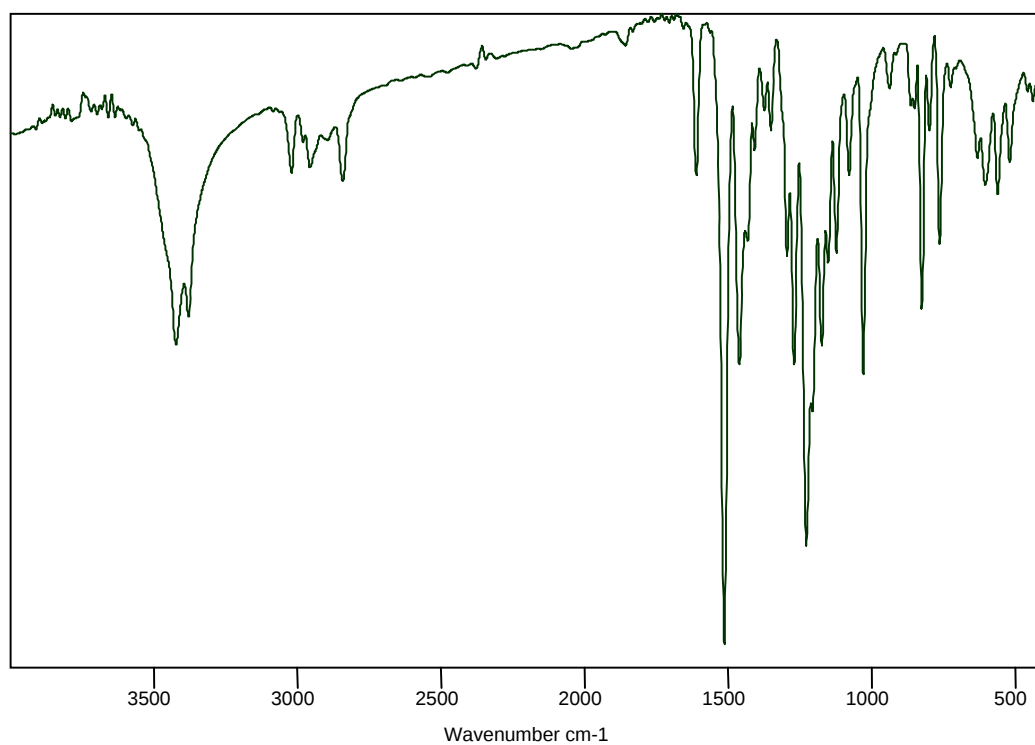


Figura A4_3. Espectro IR de la anilina 33.

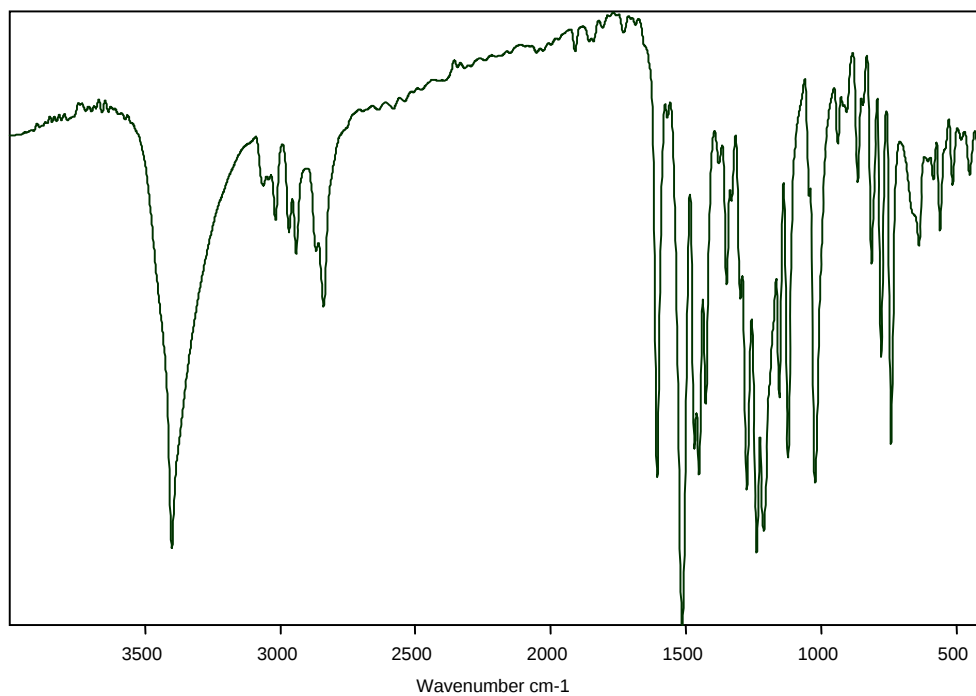


Figura A4_4. Espectro IR de la anilina 34.

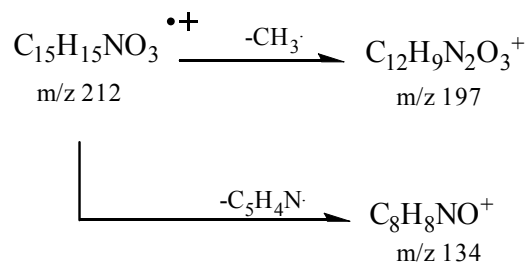
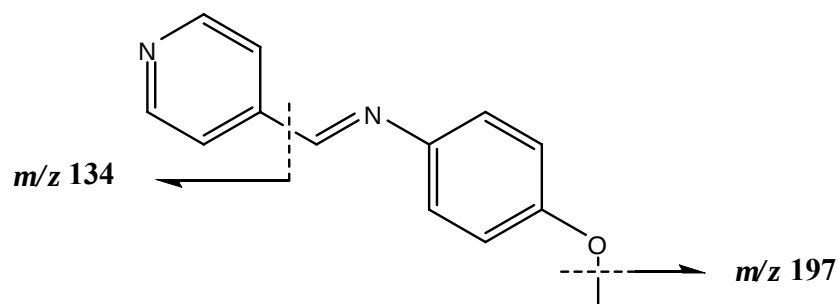
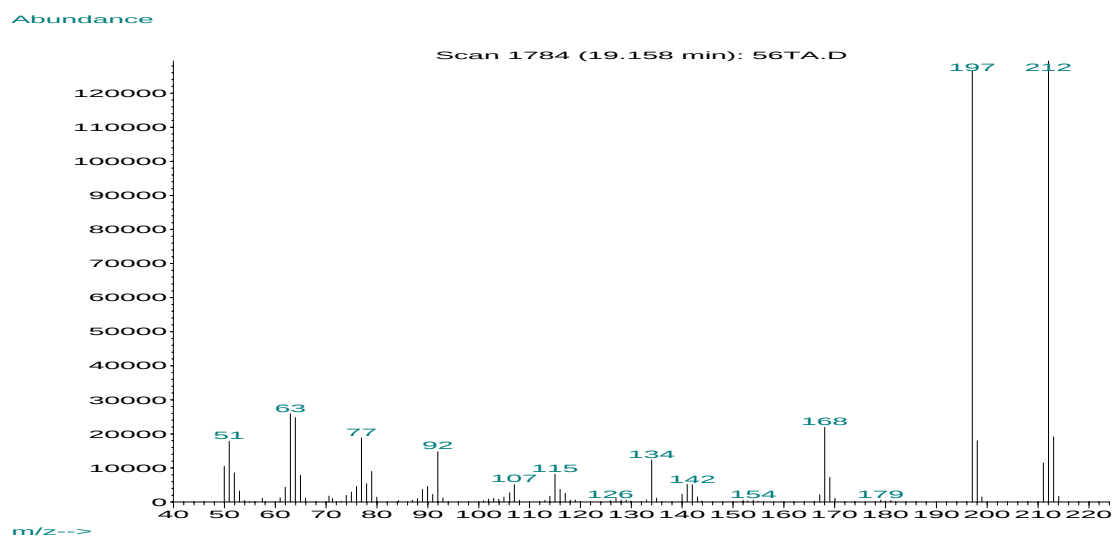


Figura A4_5. Espectro de masas de la aldimimina 35 (4-Metoxifenil)-piridin-4-ilmetilenamina).

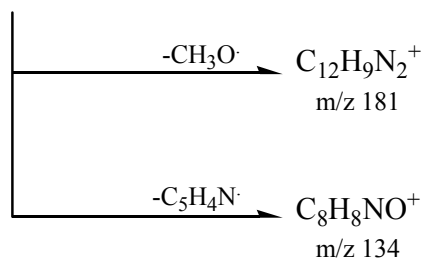
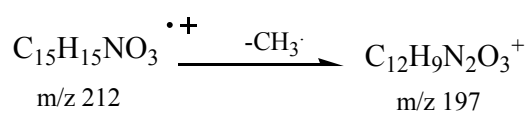
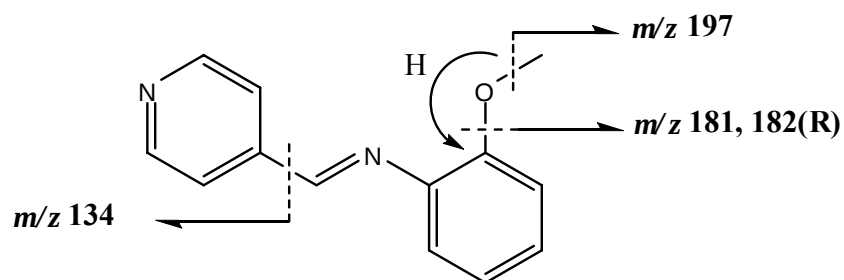
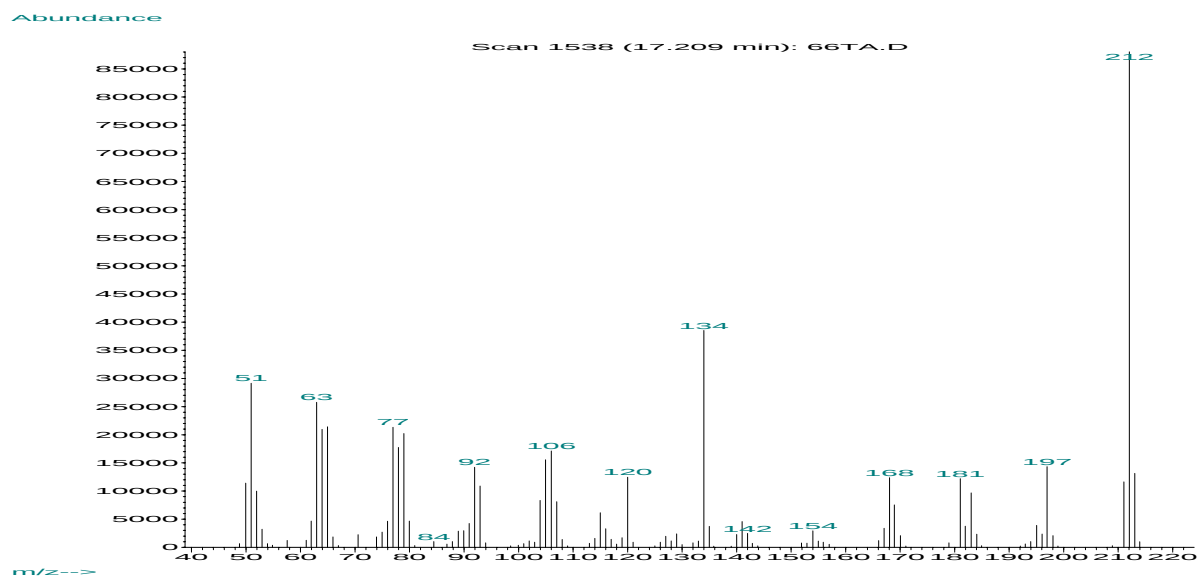


Figura A4_6. Espectro de masas de la aldimimina 36 (2-Metoxifenil)-piridin-4-ilmetilenamina). R: reordenamiento de hidrógeno.

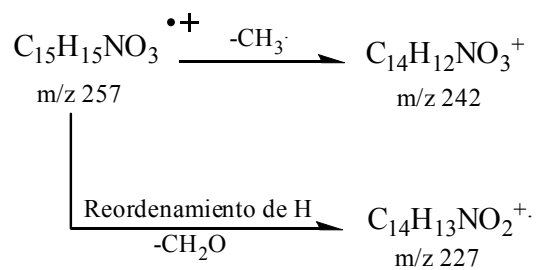
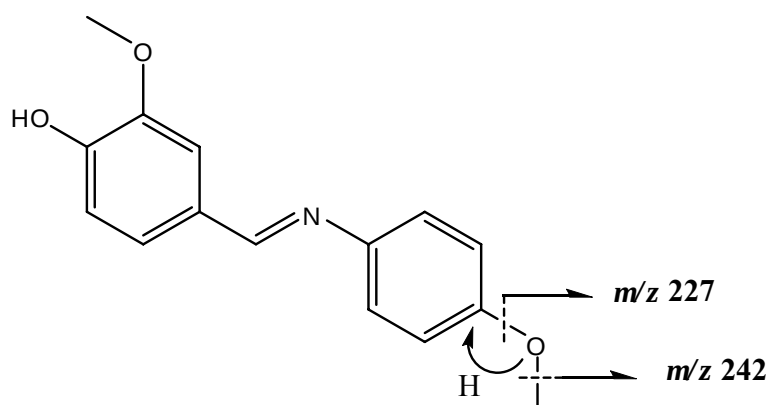
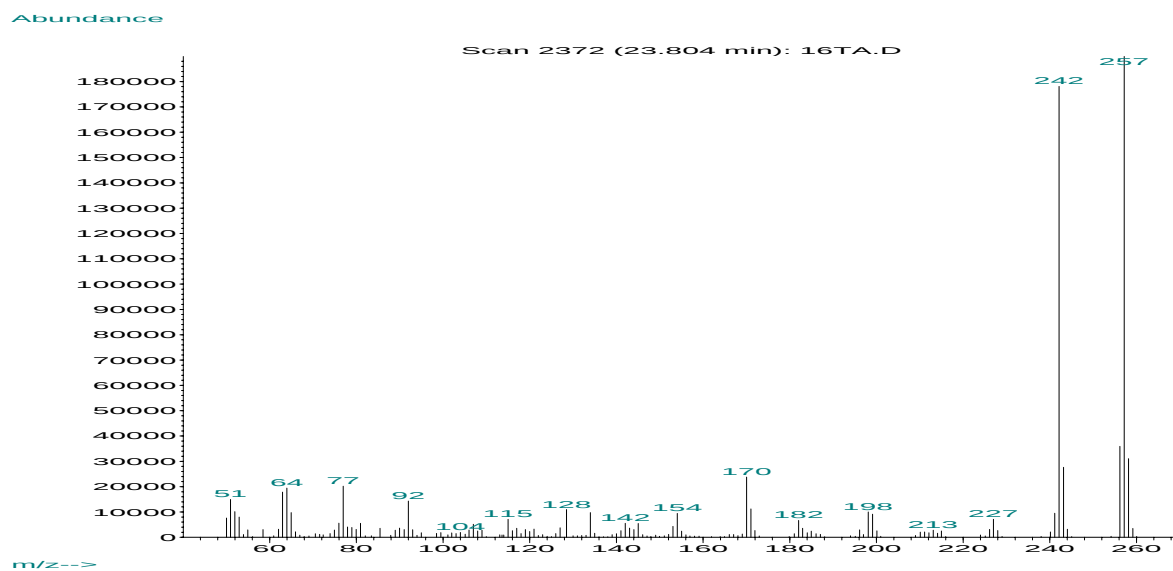


Figura A4_7. Espectro de masas de la aldimimina 37 (2-Metoxi-4-[(4-metoxifenilimino)-metil]-fenol).

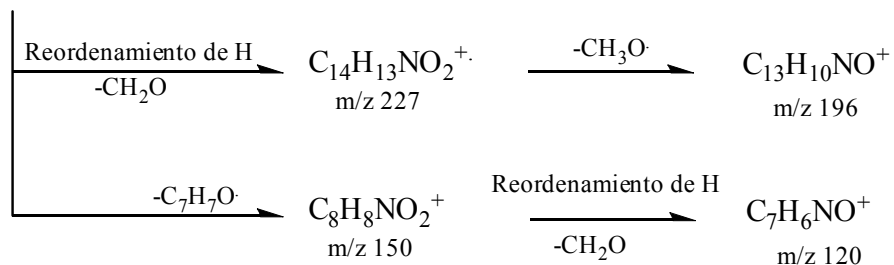
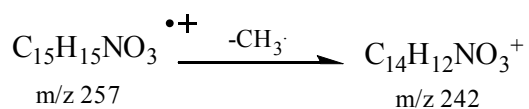
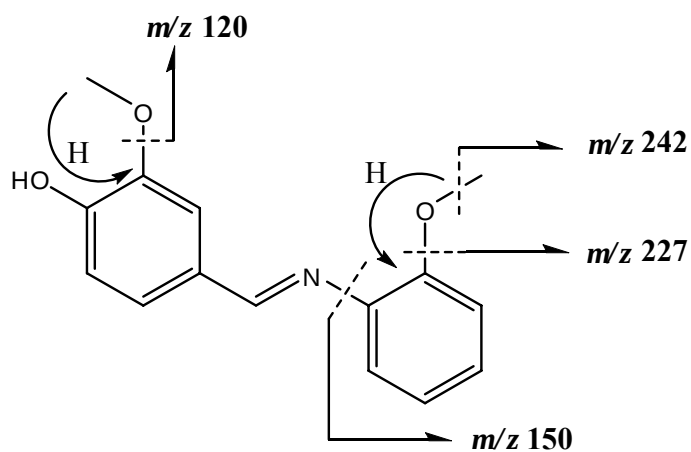
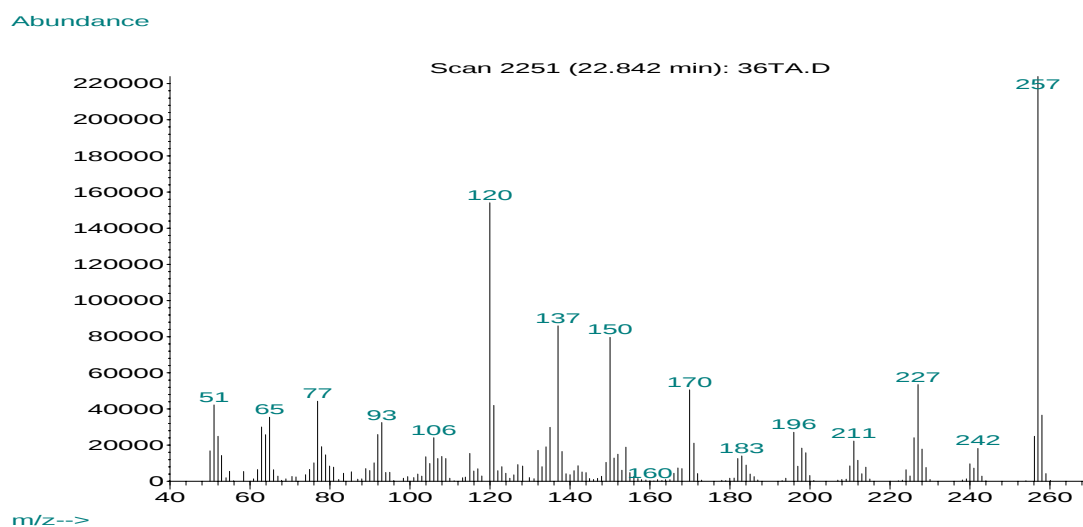


Figura A4_8. Espectro de masas de la aldimimina 38 (2-Metoxi-4-[(2-metoxifenilimino)-metil]-fenol).

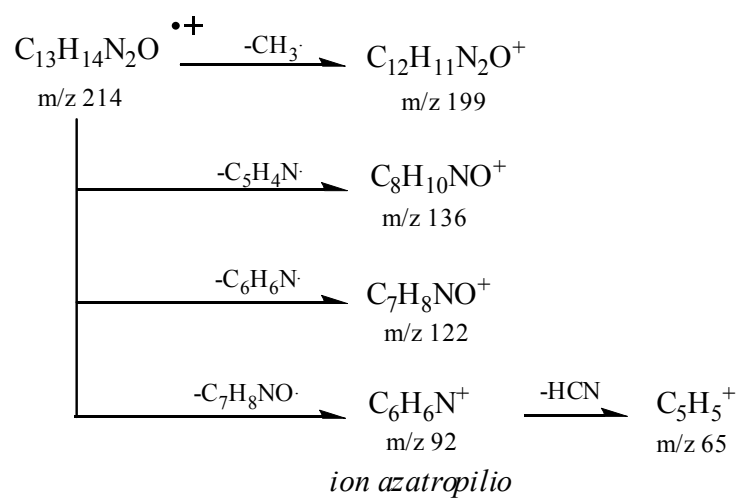
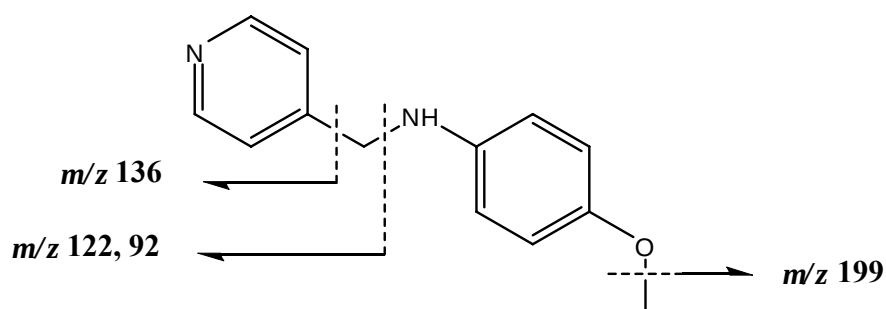
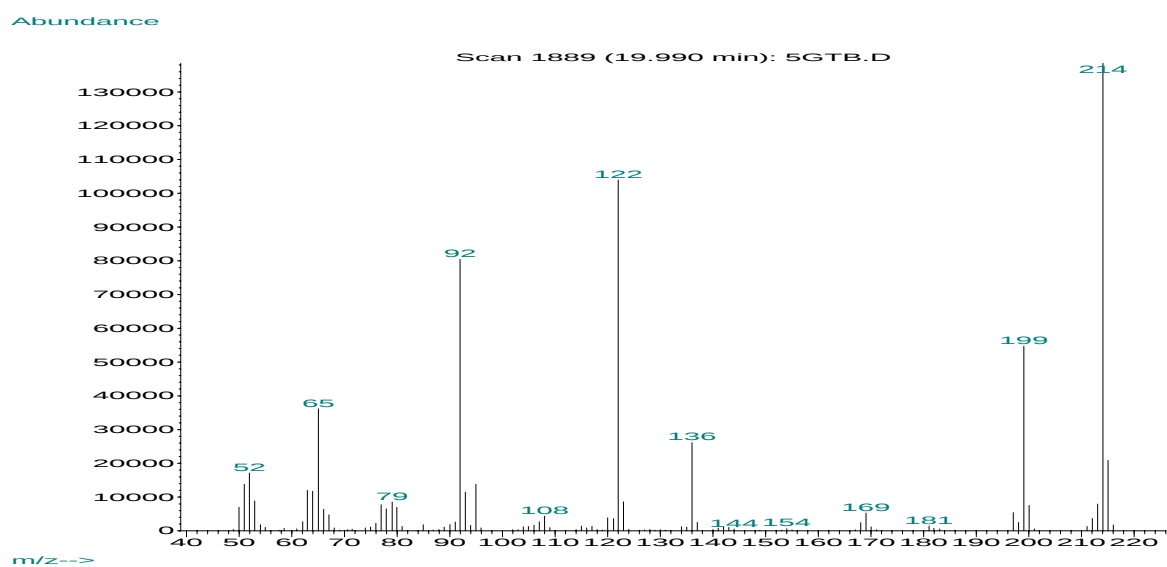


Figura A4_9. Espectro de masas de la anilina 25 (4-Metoxifenil)-piridin-4-ilmetil-amina).

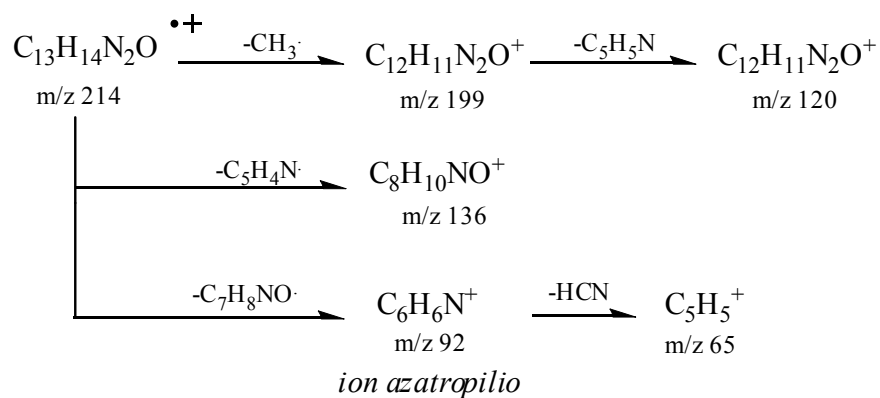
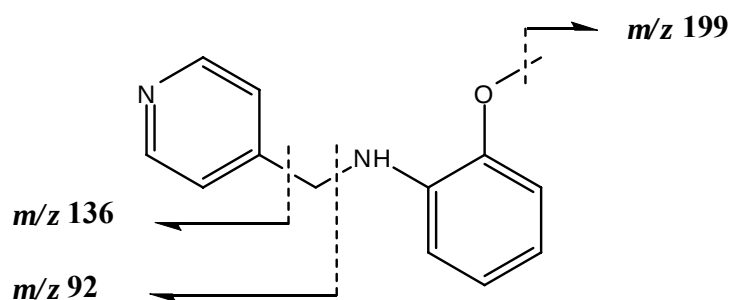
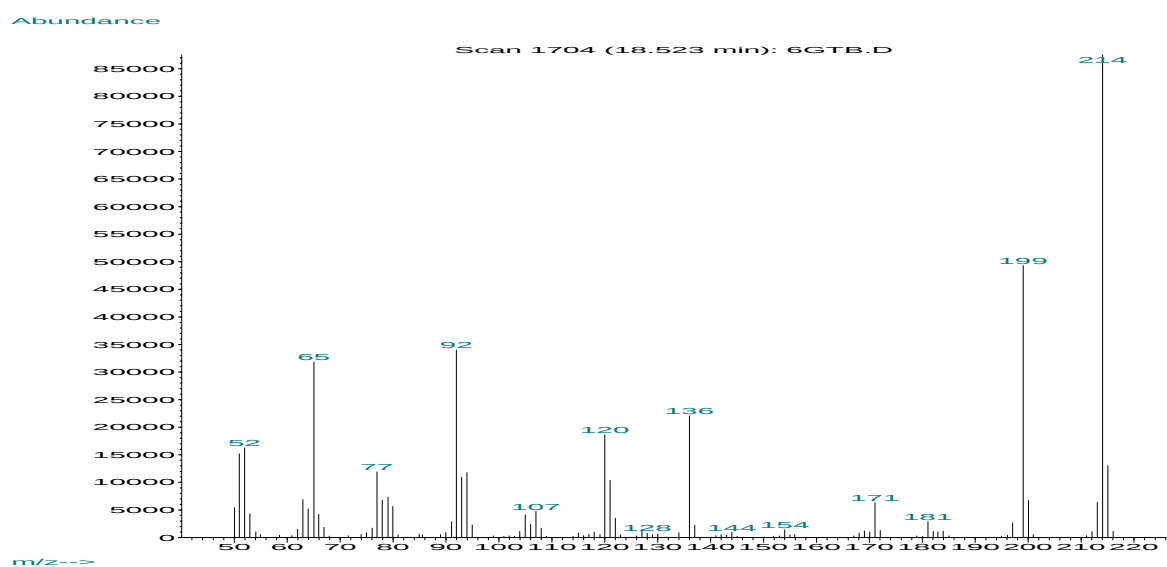


Figura A4_10. Espectro de masas de la anilina 26 (2-Metoxifenil)-piridin-4-ilmetilamina).

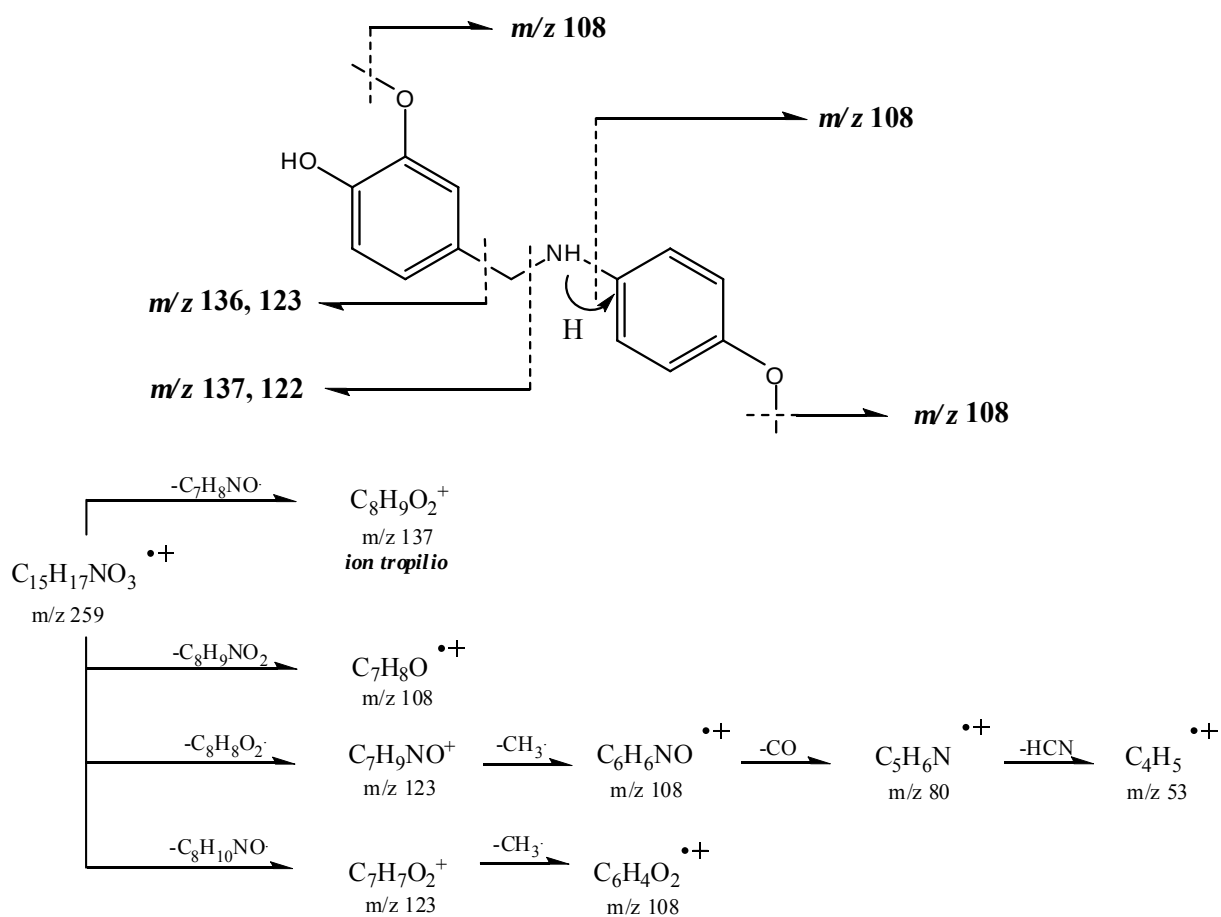
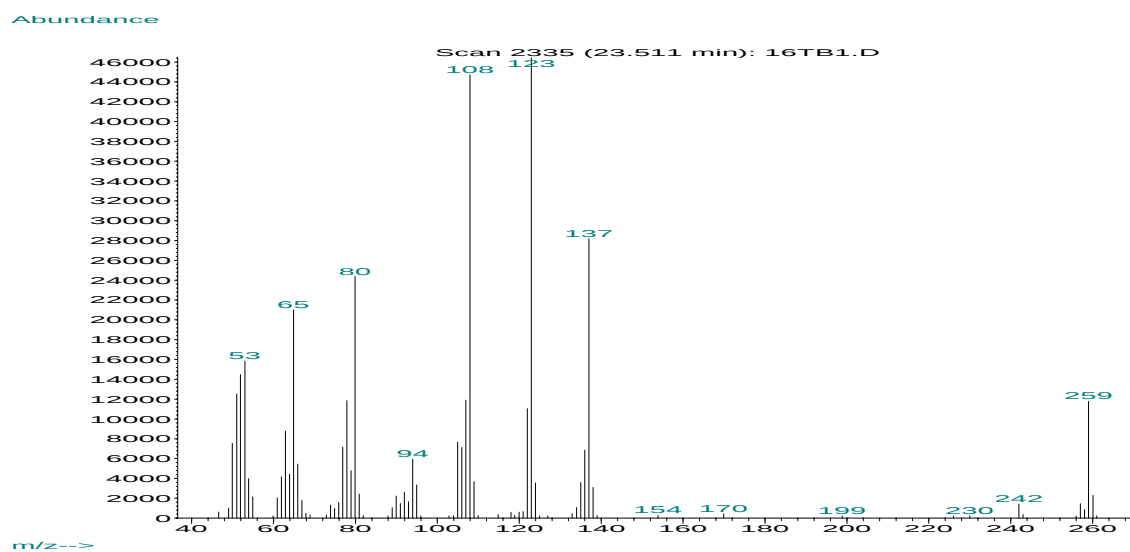


Figura A4_11. Espectro de masas de la anilina 33 (2-Metoxi-4-[(4-metoxi-fenilamino)-metil]-fenol).

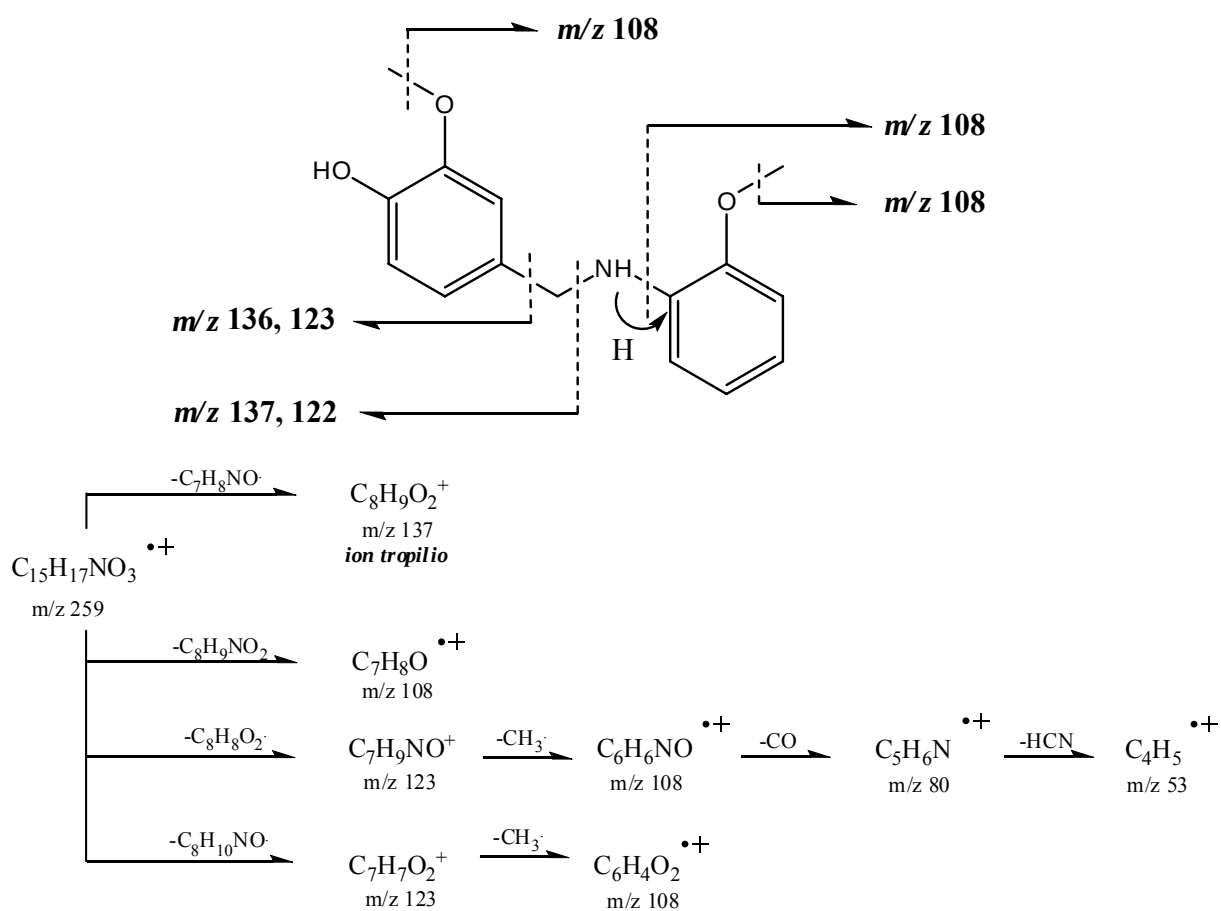
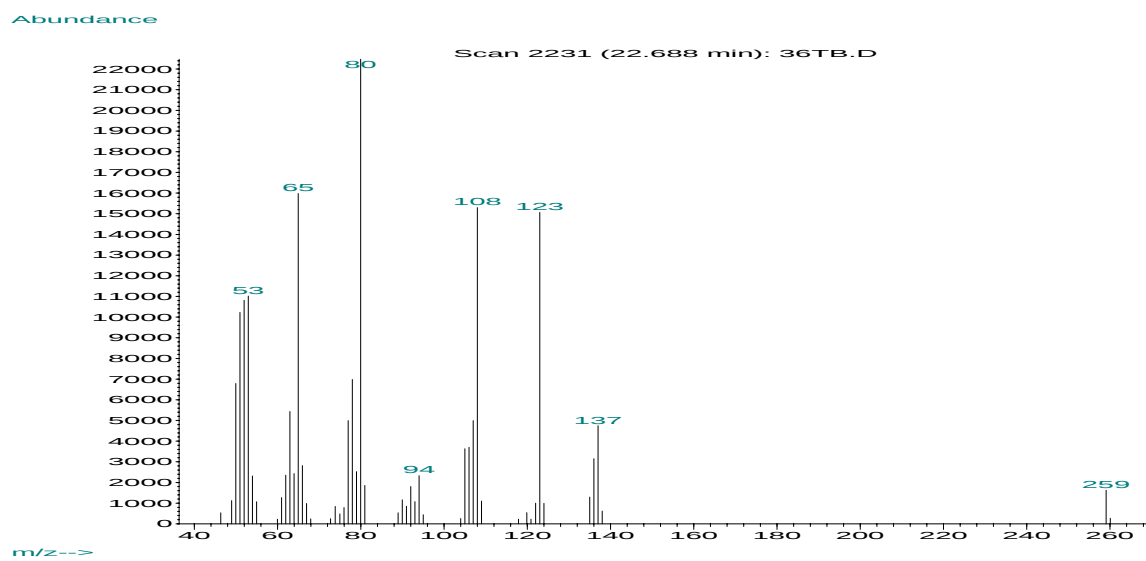
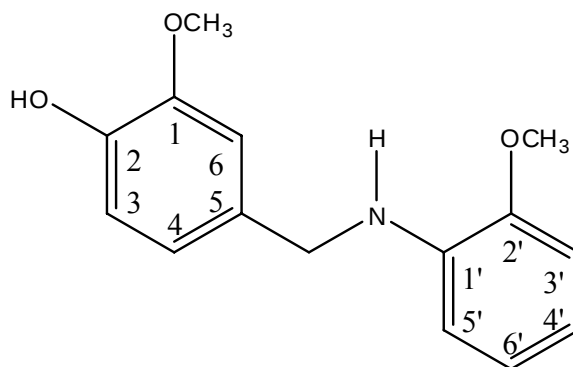


Figura A4_12. Espectro de masas de la anilina 34 (2-Metoxi-4-[(2-metoxifenilamino)-metil]-fenol).



$$\delta^1\text{H} = 7.27 + \sum S_i$$

$$\delta^{13}\text{C} = 128.7 + \sum S_i$$

$$\delta = (\sigma_{\text{inicial}} + \sigma_{\text{final}})/2$$

$$J = (\sigma_1 - \sigma_2) \cdot B$$

^1H RMN (400 MHz) δ (ppm) 6.92 (1H, s, 6-Har), 6.88 (2H, m, 3,4-Har), 6.85 (1H, m, 5'-Har), 6.79 (1H, dd, $J = 7.9, 1.4$ Hz, 3'-Har), 6.68 (1H, m, 4'-Har), 6.63 (1H, dd, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 6'-Har), 5.55 (1H, s, -OH), 4.60 (1H, s, -NH), 4.25 (2H, s, -CH₂-), 3.87 (1H, s, -OCH₃-), 3.84 (1H, s, -OCH₃-); ^{13}C RMN (100 MHz) δ 121.27, 120.52, 116.78, 114.27, 110.27, 110.27, 109.37, 55.93, 55.39, 48.21 ppm.

Esquema A4_1. Desplazamientos químicos (δ , ppm) y constantes de acoplamiento (J , Hz) en los espectros de RMN- ^1H y RMN- ^{13}C de la anilina 34.

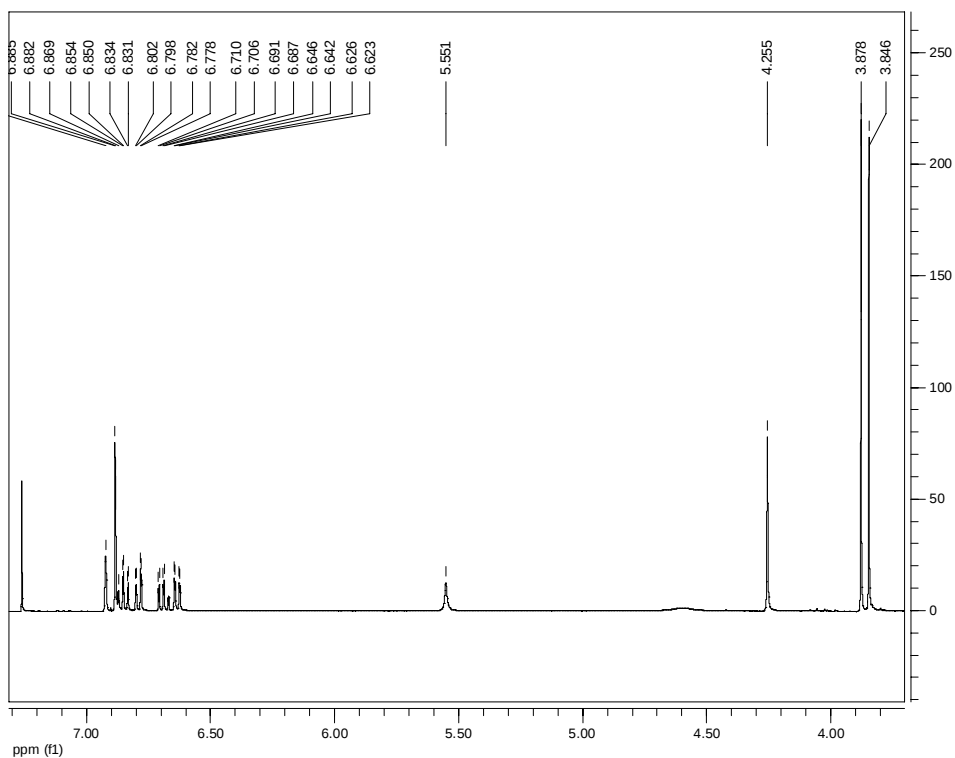


Figura A4_13a. Espectro de RMN- ^1H de la anilina 34.

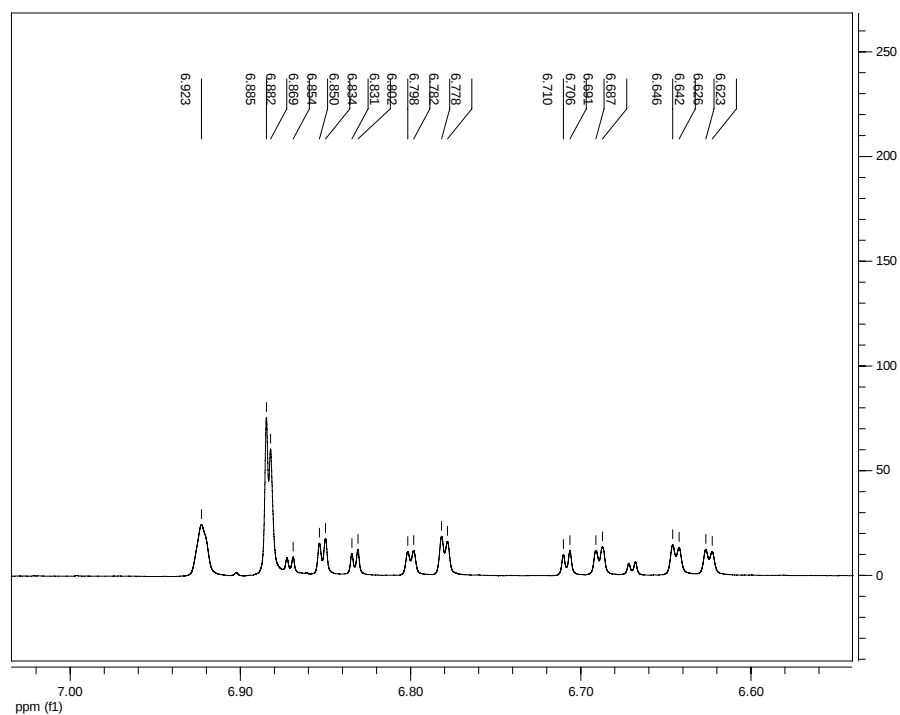


Figura A4_13b. Expansión 1 del espectro de RMN- ^1H de la anilina 34.

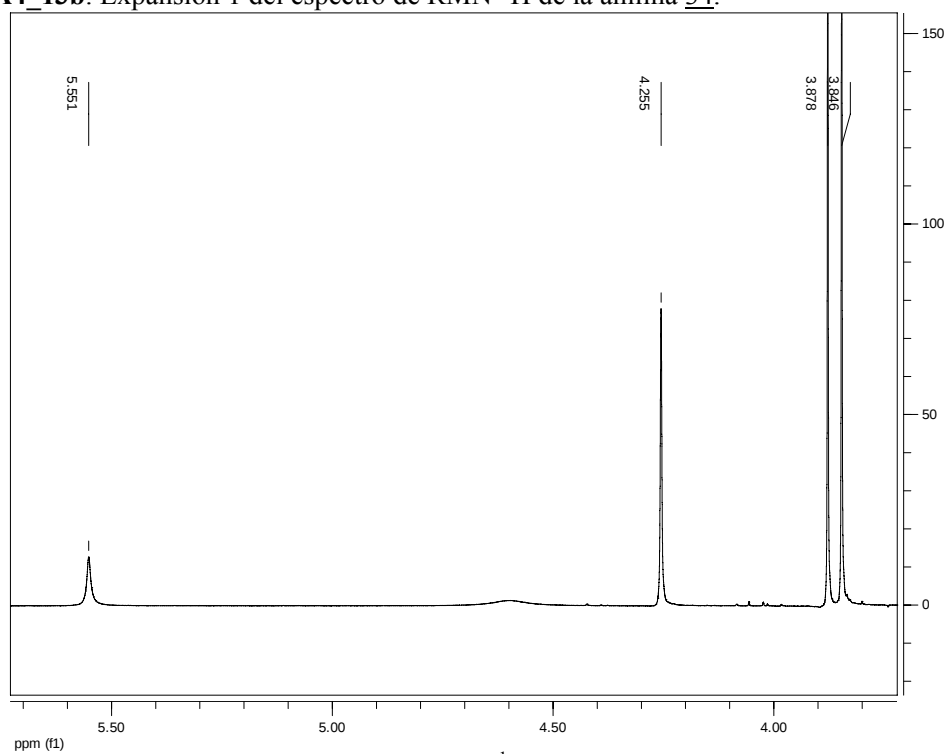


Figura A4_13c. Expansión 2 del espectro de RMN- ^1H de la anilina 34.

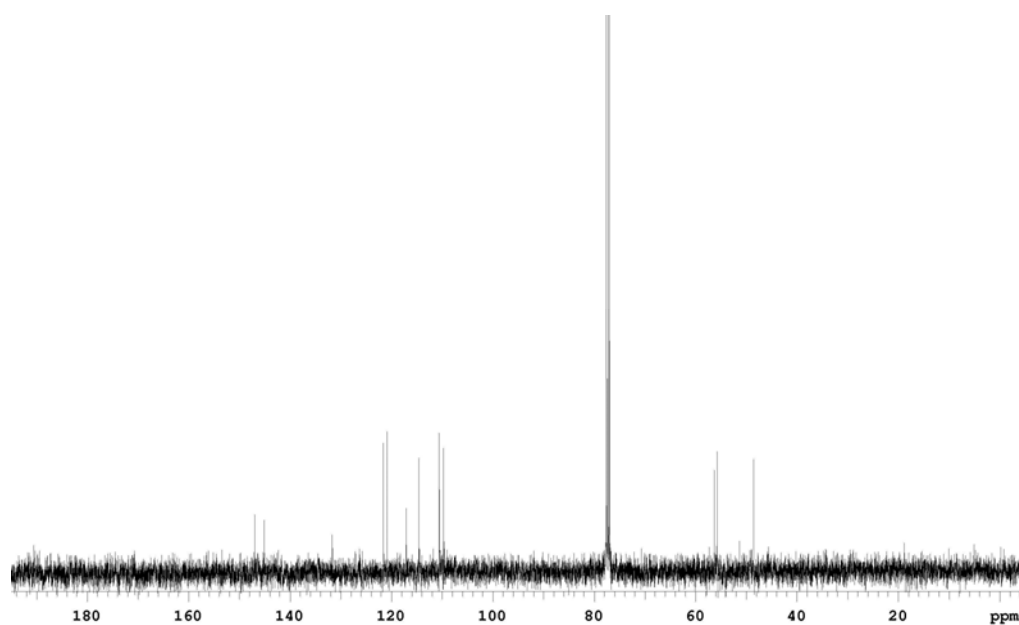


Figura A4_14. Espectro de RMN- ^{13}C de la anilina 34.

ANEXO 5 (A5)

Espectros de masas obtenidos de las especies detectadas por GC-MSD, en la alquilación electrofílica intramolecular de las *orto*-alililanilinas 1 y 2.

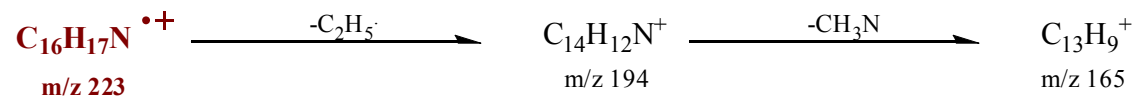
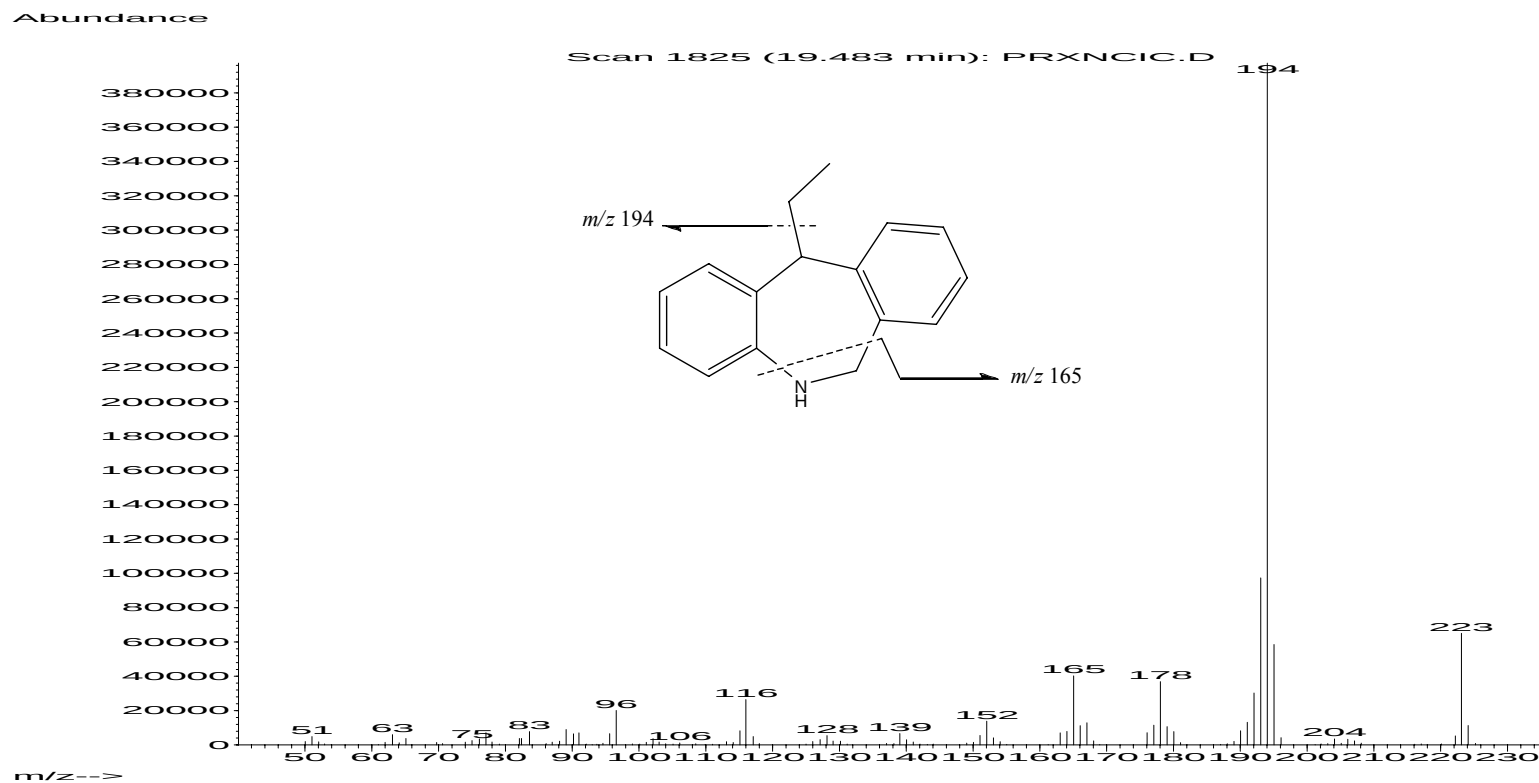


Figura A5_1. Espectro de masas de la 11-etil-6,11-dihidro-5H-dibenzo[b,e]azepina [46a]

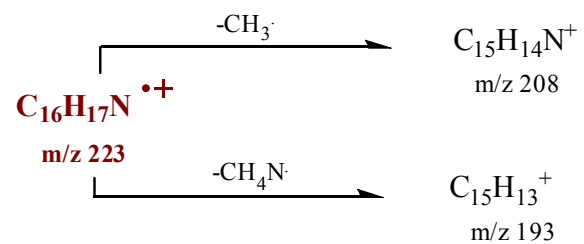
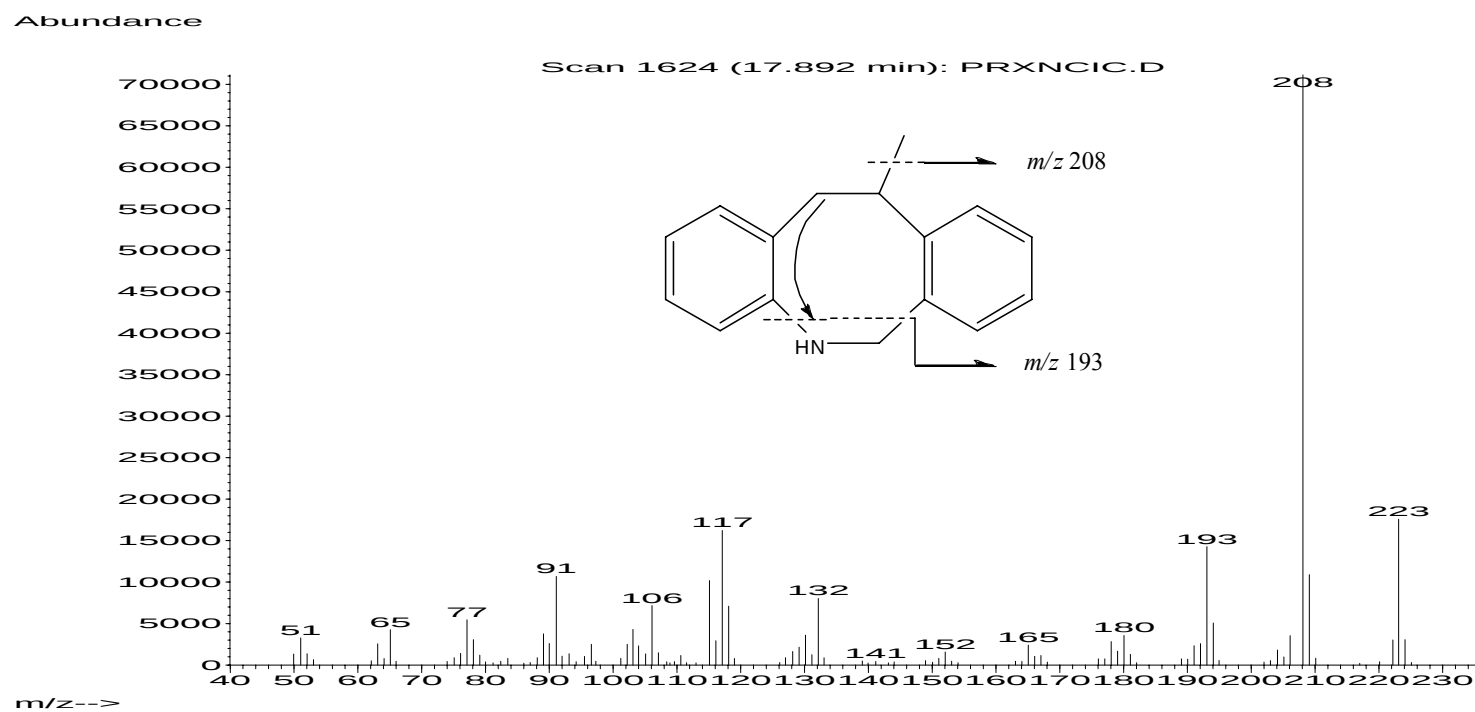


Figura A5_2. Espectro de masas de la 11-metil-5,6,11,12-tetrahidrodibenzo[b,f]azocina [45a].

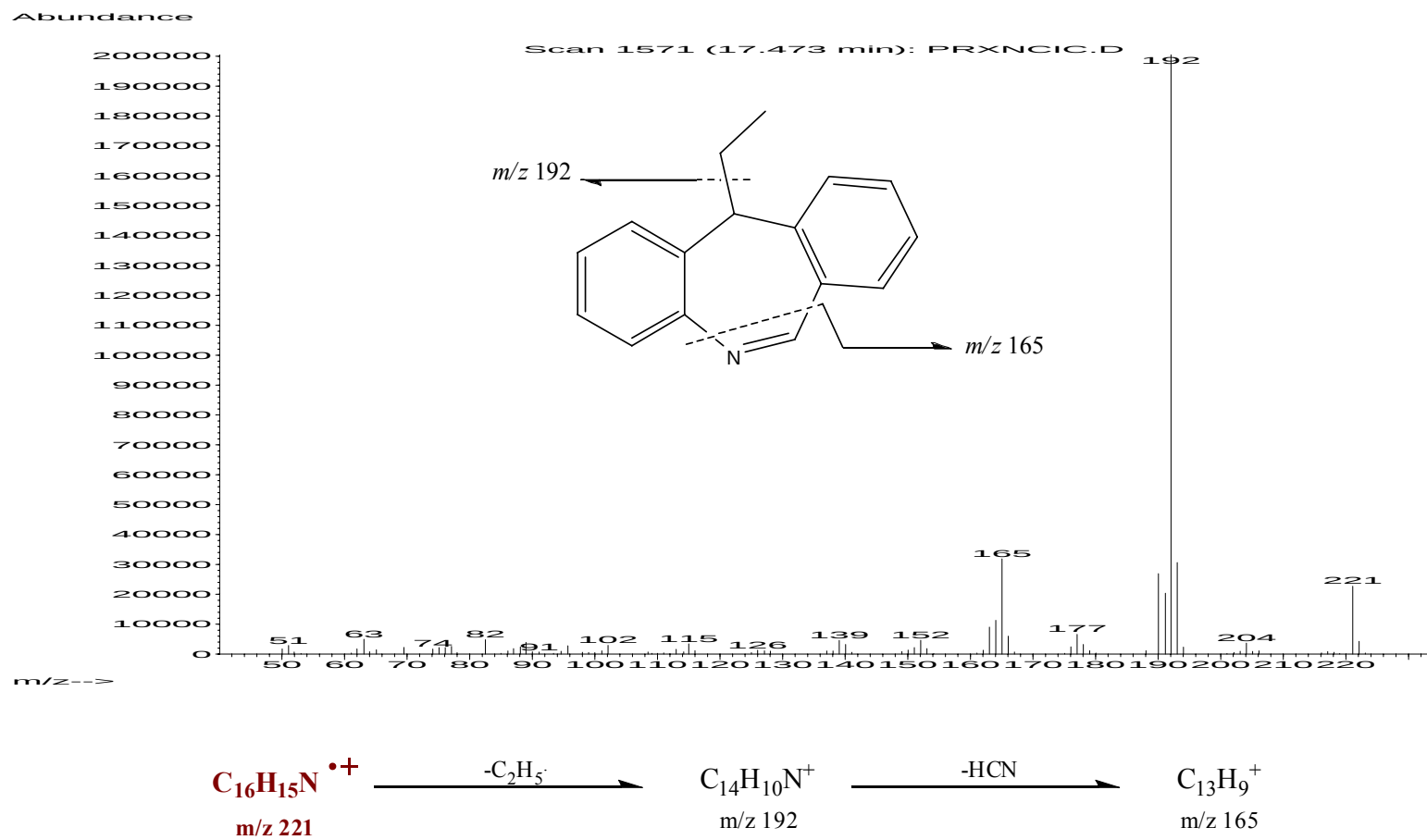


Figura A5_3. Espectro de masas de la 11-etil-11*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [47a].

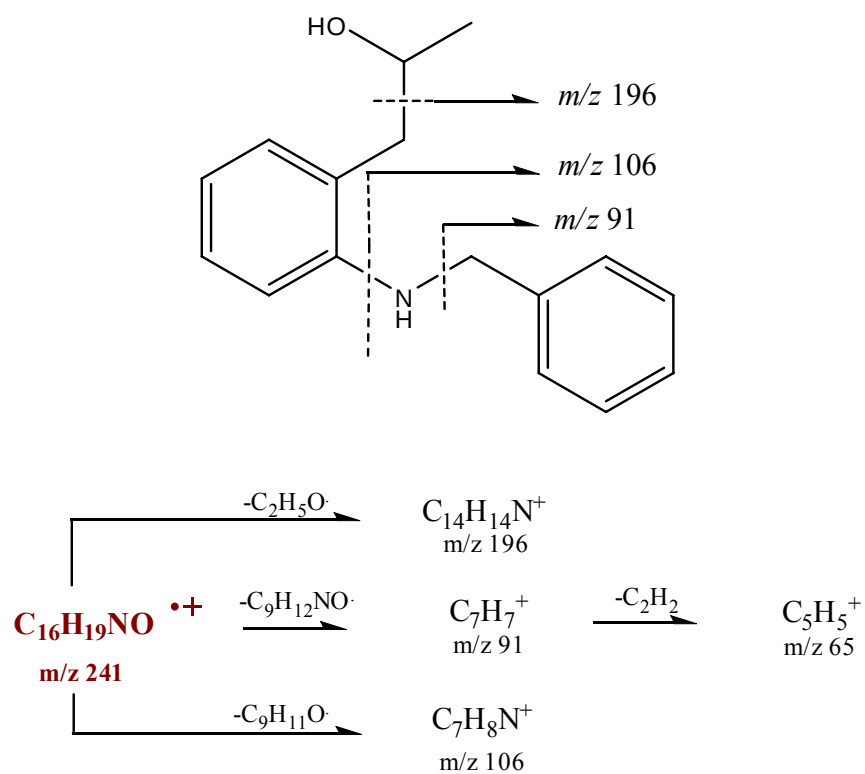
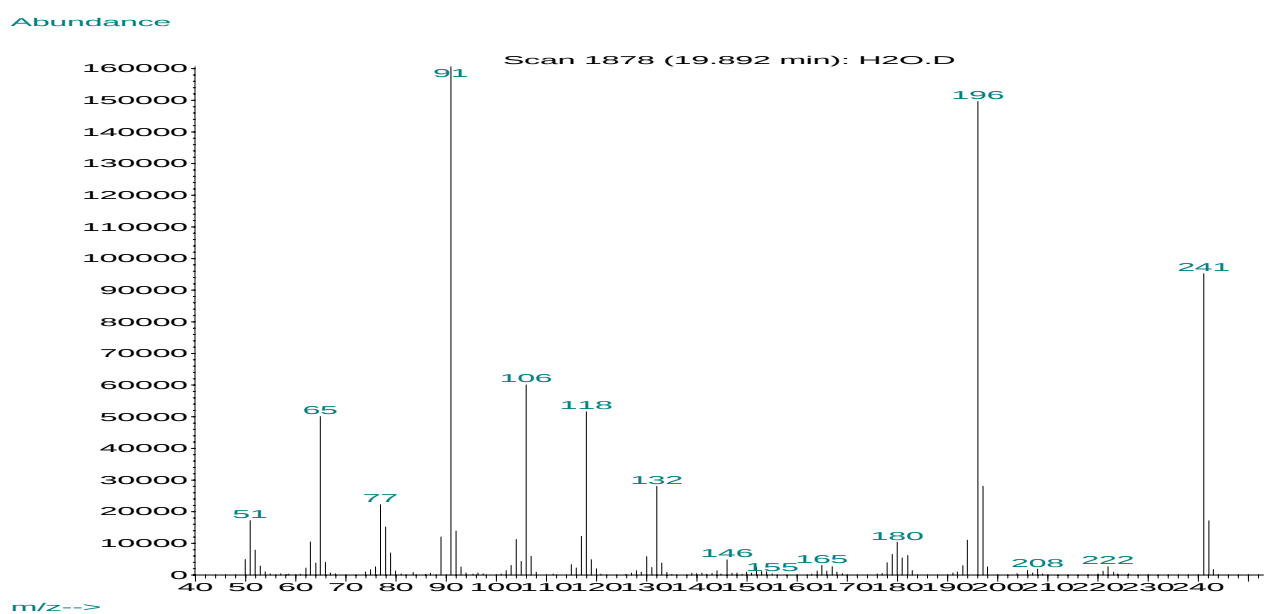


Figura A5_4. Espectro de masas del intermediario propuesto (*1-(2-(benzilamino)fenil)propan-2-ol*) [49].

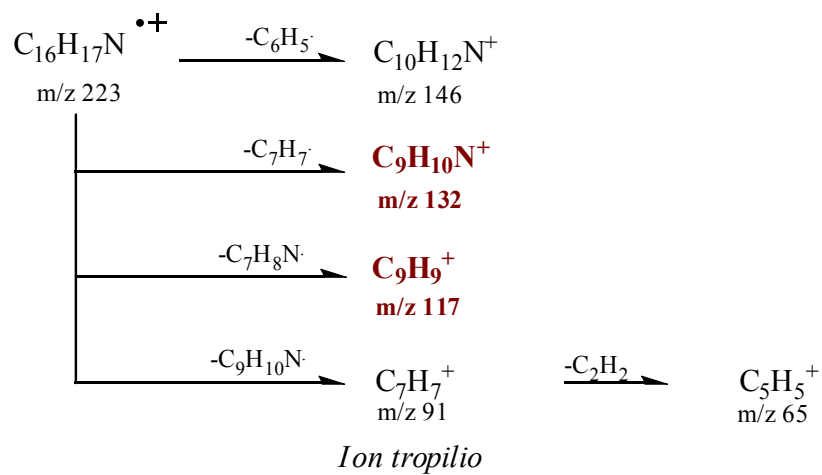
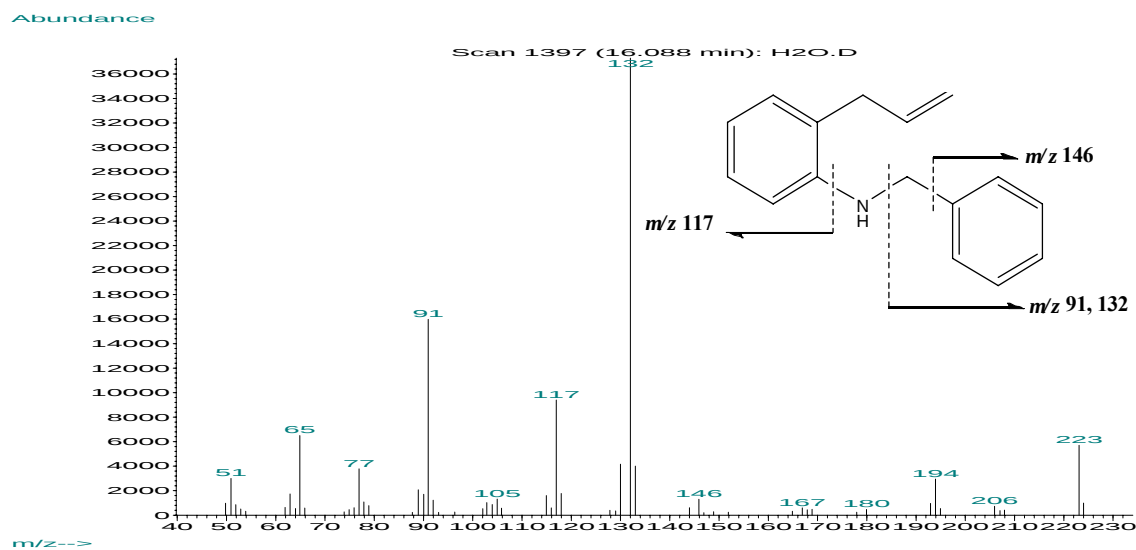
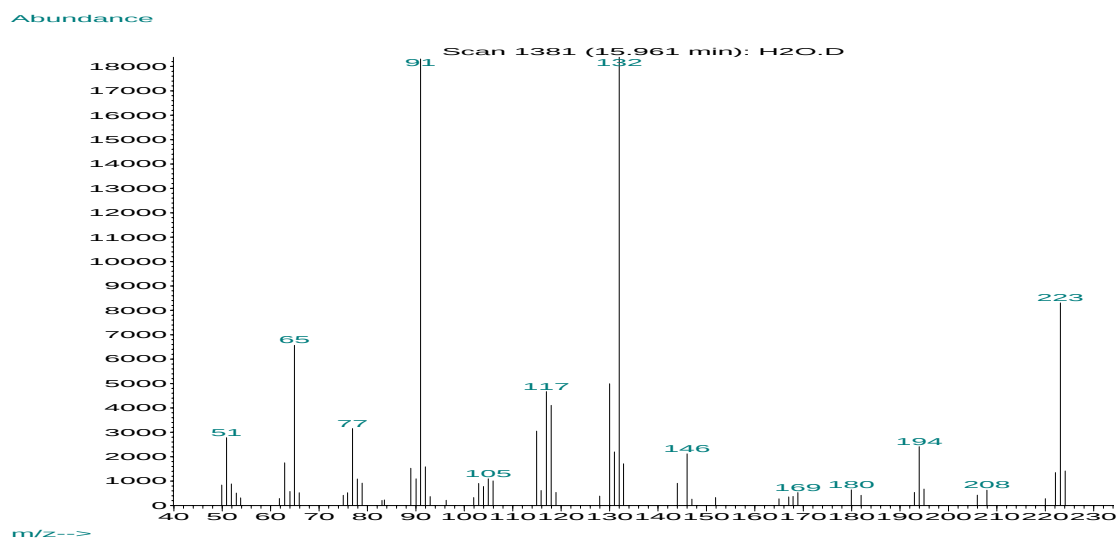


Figura A5_5. Espectro de masas de las *orto*-alilanilinas isómeras de [1].

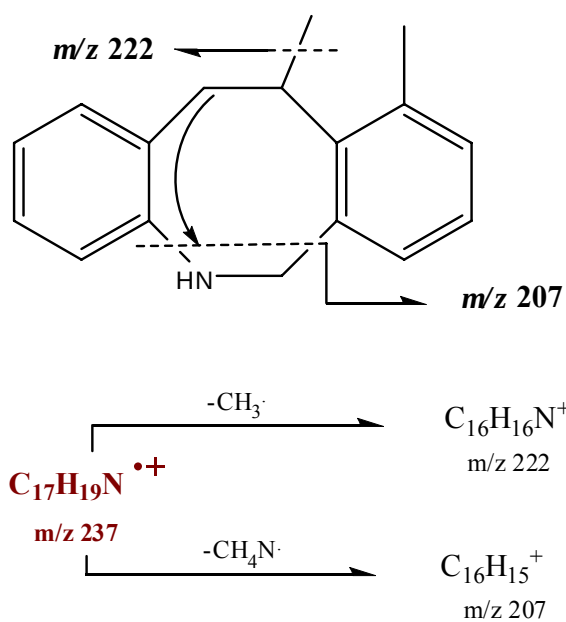
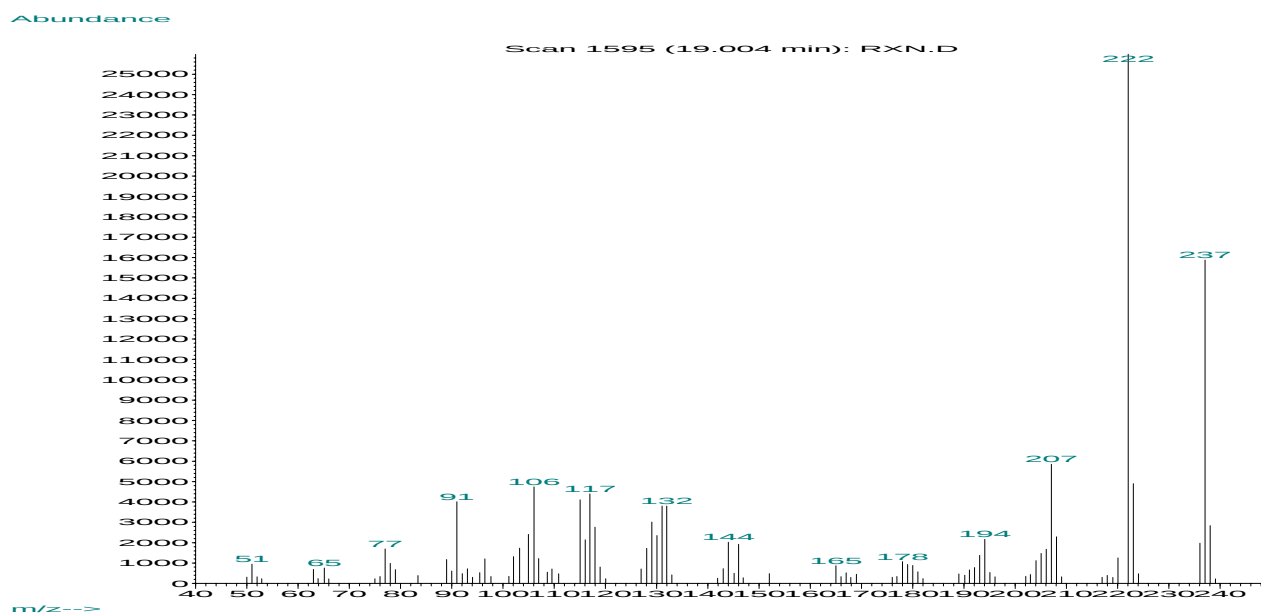


Figura A5_6. Espectro de masas de la 10,11-dimetil-5,6,11,12-tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina [45b].

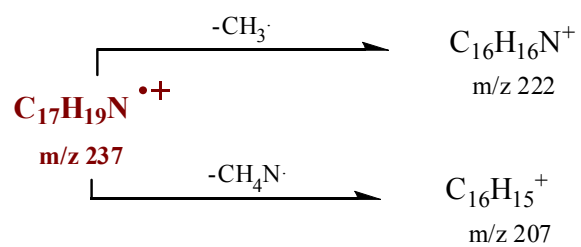
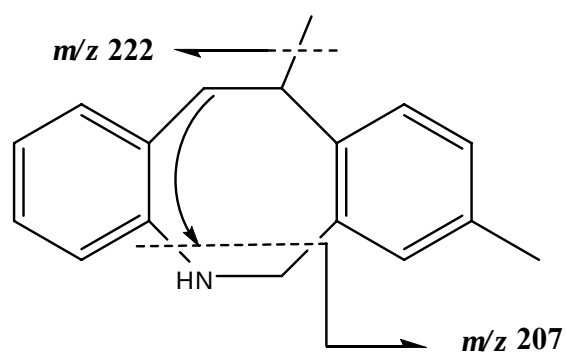
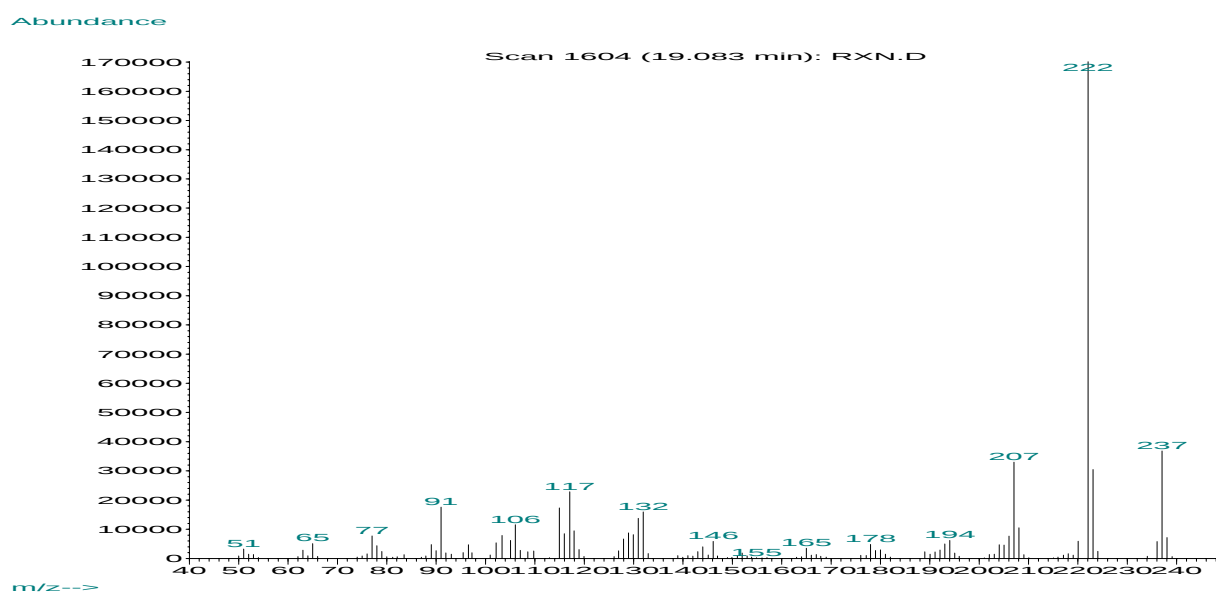


Figura A5_7. Espectro de masas de la 8,11-dimetill-5,6,11,12-tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina [45c].

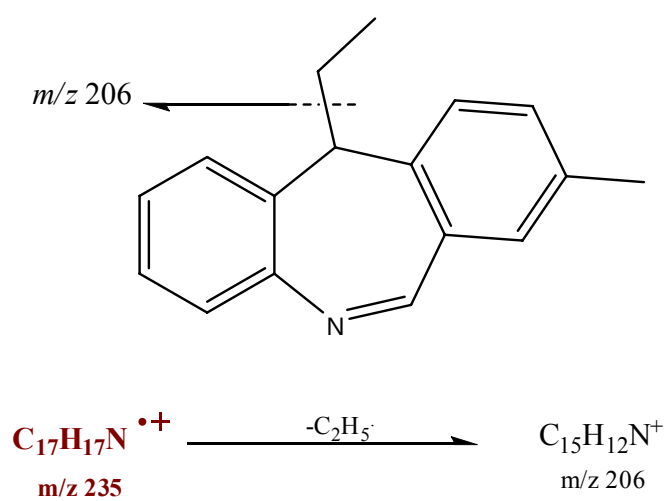
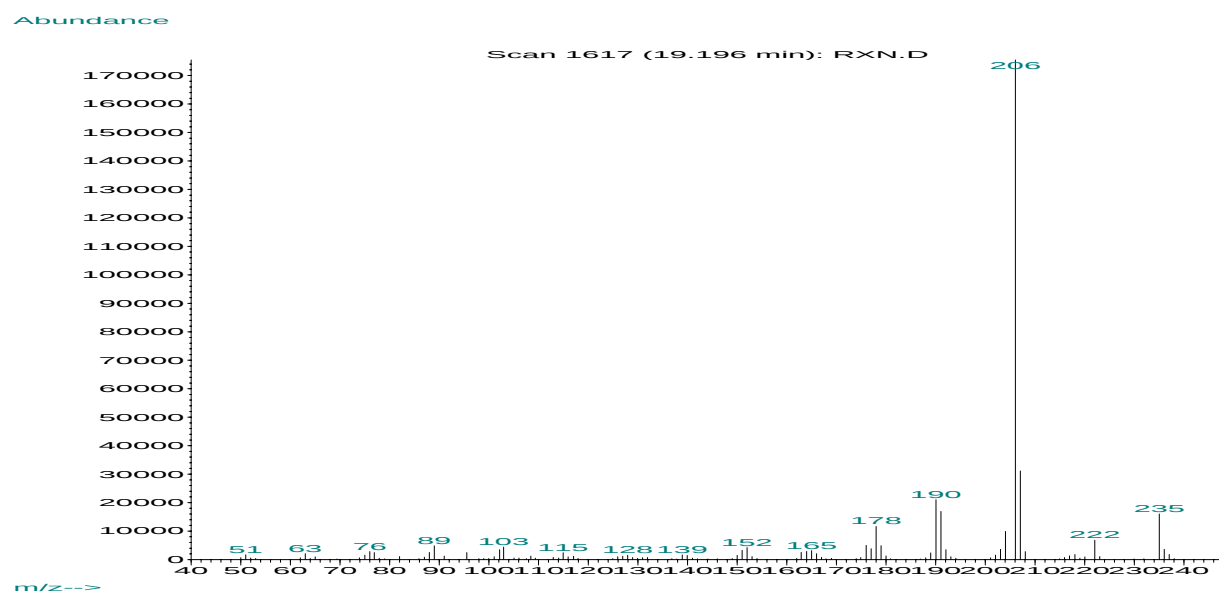


Figura A5_8. Espectro de masas de la (*E*)-11-etil-8-metil-11*H*-dibenzo[*b,e*]azepina [47b].

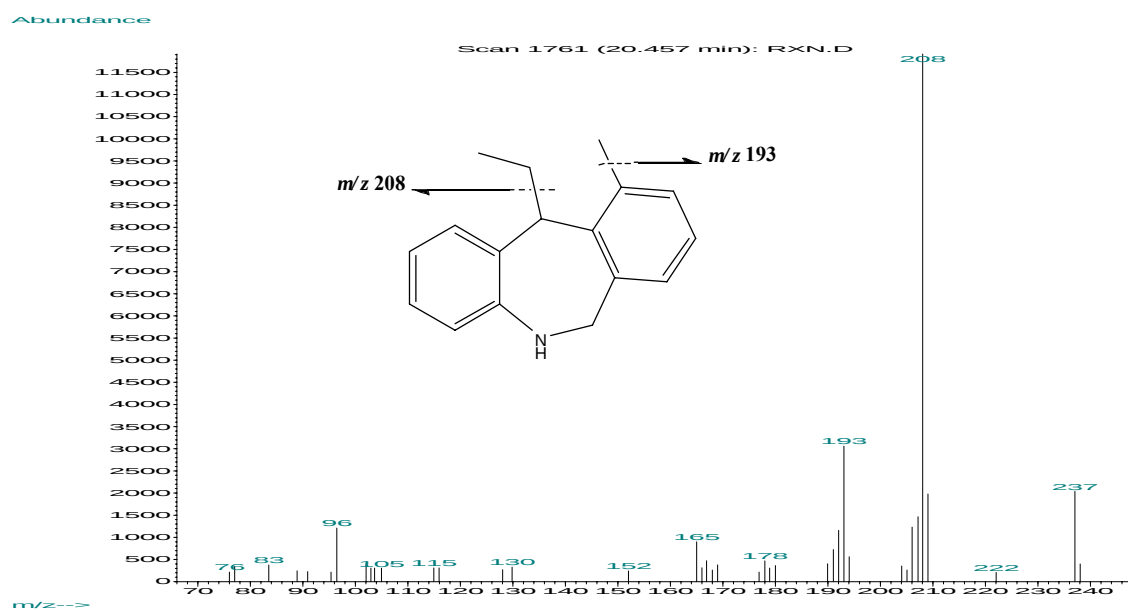


Figura A5_9. Espectro de masas de la 11-etil-10-metil-6,11-dihidro-5H-dibenzo[b,e]azepina [46b].

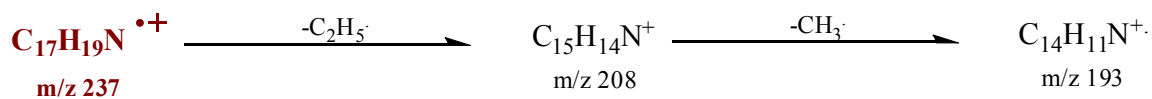
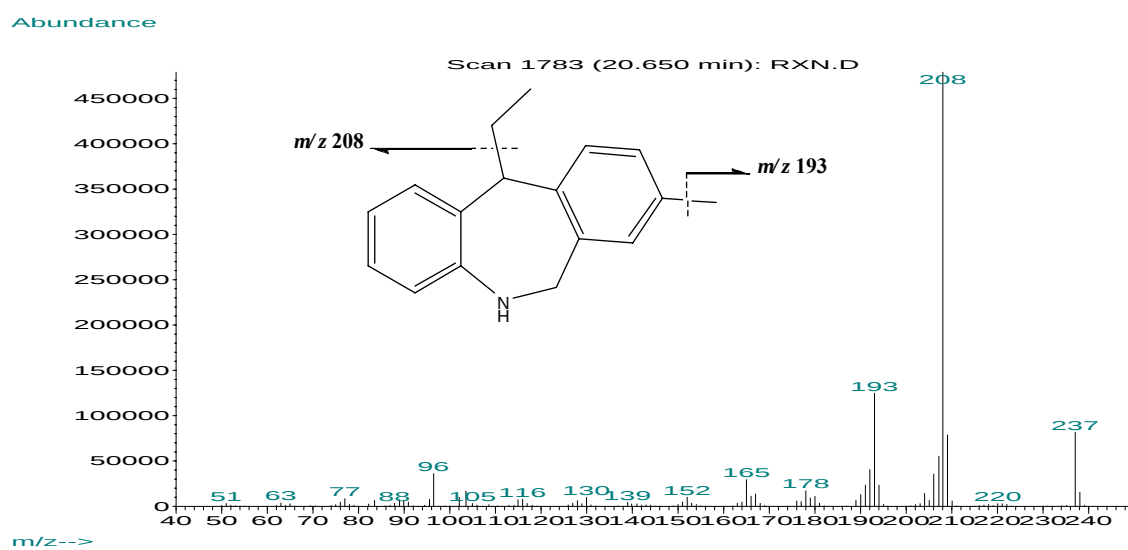


Figura A5_10. Espectro de masas de la 11-etil-8-metil-6,11-dihidro-5H-dibenzo[b,e]azepina [46c].

ANEXO 6 (A6)

Resultados de las síntesis de las *orto*-alilánilinas 1 y 2.

Tabla A6_1. Rendimientos de: aldiminas 39,40; *N*-bencilanilinas 41,42; *N*-alil-*N*-bencilanilinas 43,44 y *orto*-alilanilinas 1,2.

Compuesto	ID	Rendimiento (%) ^a	Aspecto
Aldimina	<u>39</u>	95	Sólido, amarillo
	<u>40</u>	96	Líquido, semiviscoso, marrón
<i>N</i>-Bencilanilina	<u>41</u>	97	Líquido, semiviscoso, marrón
	<u>42</u>	95	Líquido, semiviscoso, marrón
<i>N</i>-Alil-<i>N</i>-bencilanilina	<u>43</u>	50	Líquido, semiviscoso, amarillo traslúcido
	<u>44</u>	59	Líquido, semiviscoso, amarillo traslúcido
<i>orto</i>-Alilanilina	<u>1</u>	72	Líquido, semiviscoso, amarillo traslúcido
	<u>2</u>	70	Líquido, semiviscoso, amarillo traslúcido

^aRendimientos calculados con base en GC-FID

Tabla A6_2. Señales características de los espectros IR para: aldiminas 39, 40; *N*-bencilanilinas 41, 42; *N*-alil-*N*-bencilanilinas 43, 44 y *orto*-alilanilinas 1, 2.

Compuesto	ID	Bandas de absorción por vibración, cm ⁻¹				
		Tensión N-H	Tensión =C-H Ar.	Flexión N-H	Tensión C=N	Tensión -C-H
Aldimina	<u>39</u>	-	3060-3027	-	1630	2889
	<u>40</u>	-	3059-3026	-	1628	2893-2864
<i>N</i>-Bencilanilina	<u>41</u>	3419	3053-3026	1602	-	2842
	<u>42</u>	3420	3050-3021	1603	-	2859
<i>N</i>-Alil-<i>N</i>-bencilanilina	<u>43</u>	-	3061-3027	-	-	2859
	<u>44</u>	-	3026	-	-	2861, 2920
<i>orto</i>-Alilanilina	<u>1</u>	3439	3065-3030	1512	-	2975, 2844
	<u>2</u>	3439	3021	1509	-	2974, 2917

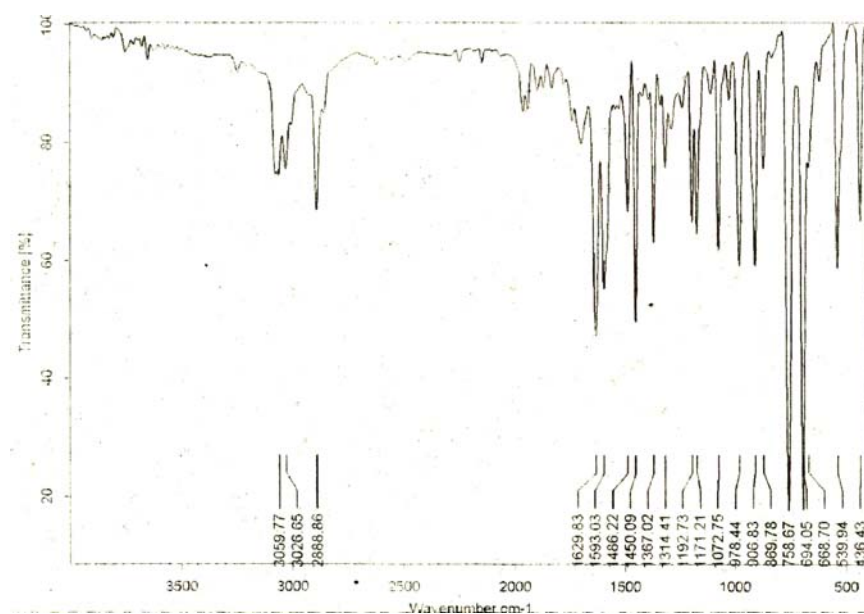


Figura A6_1. Espectro IR de la aldimimina 39.

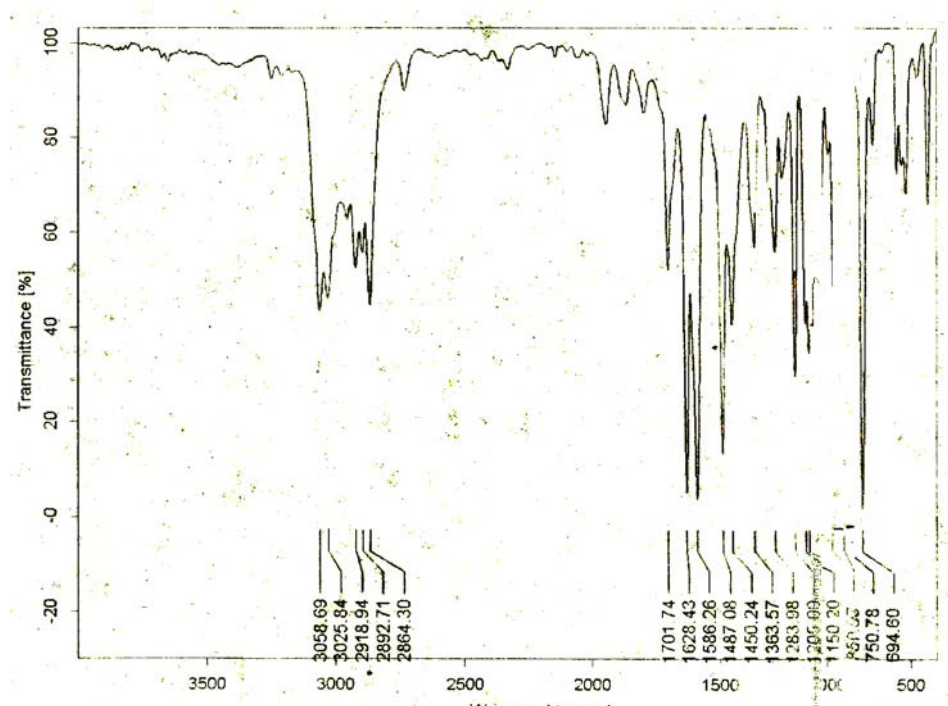


Figura A6_2. Espectro IR de la aldimimina 40.

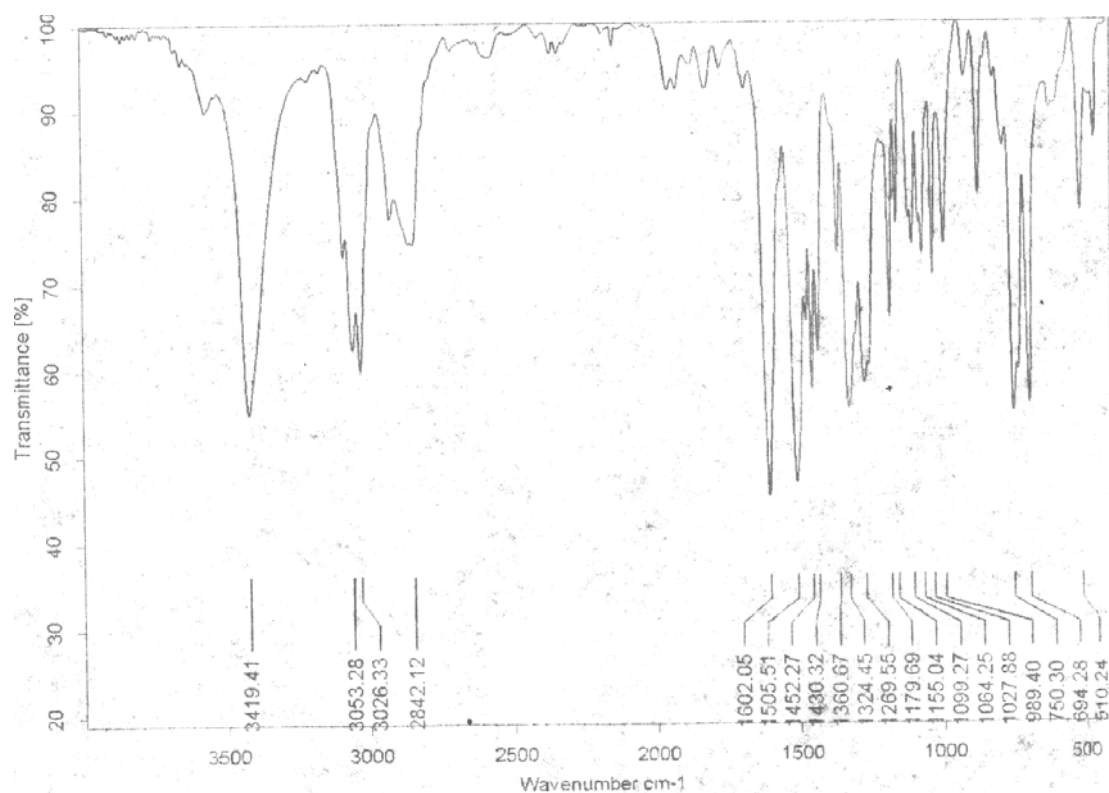


Figura A6_3. Espectro IR de la *N*-bencilanilina 41.

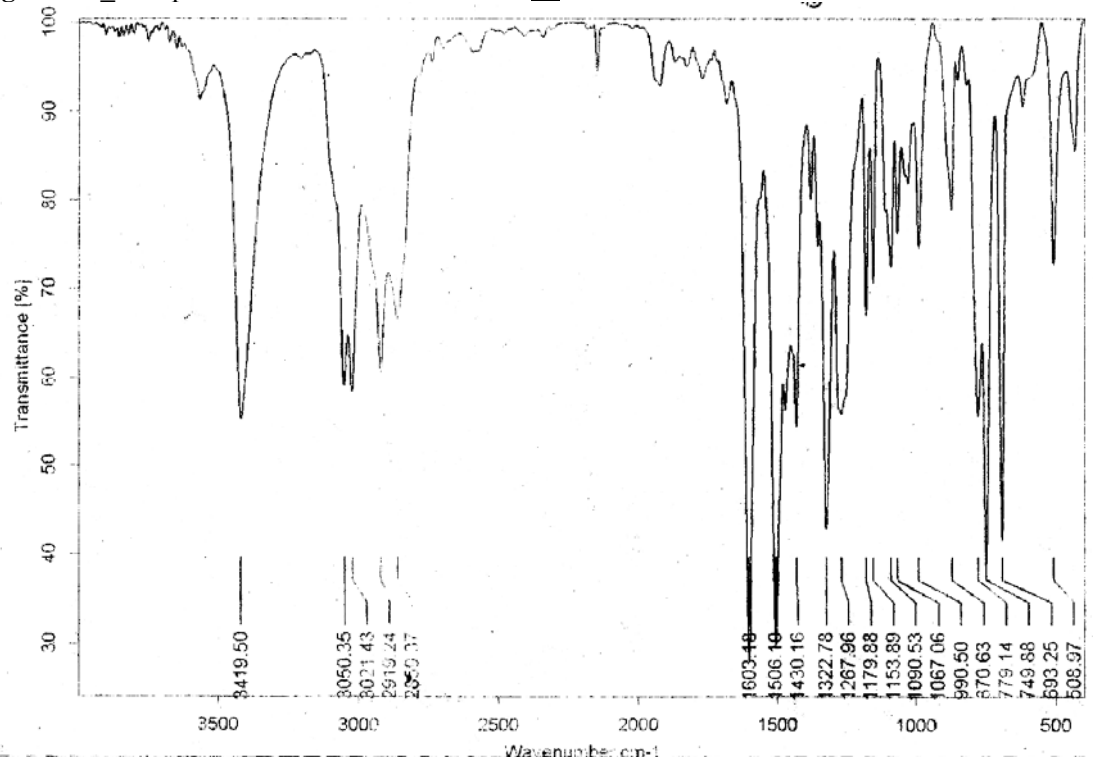


Figura A6_4. Espectro IR de la *N*-bencilanilina 42.

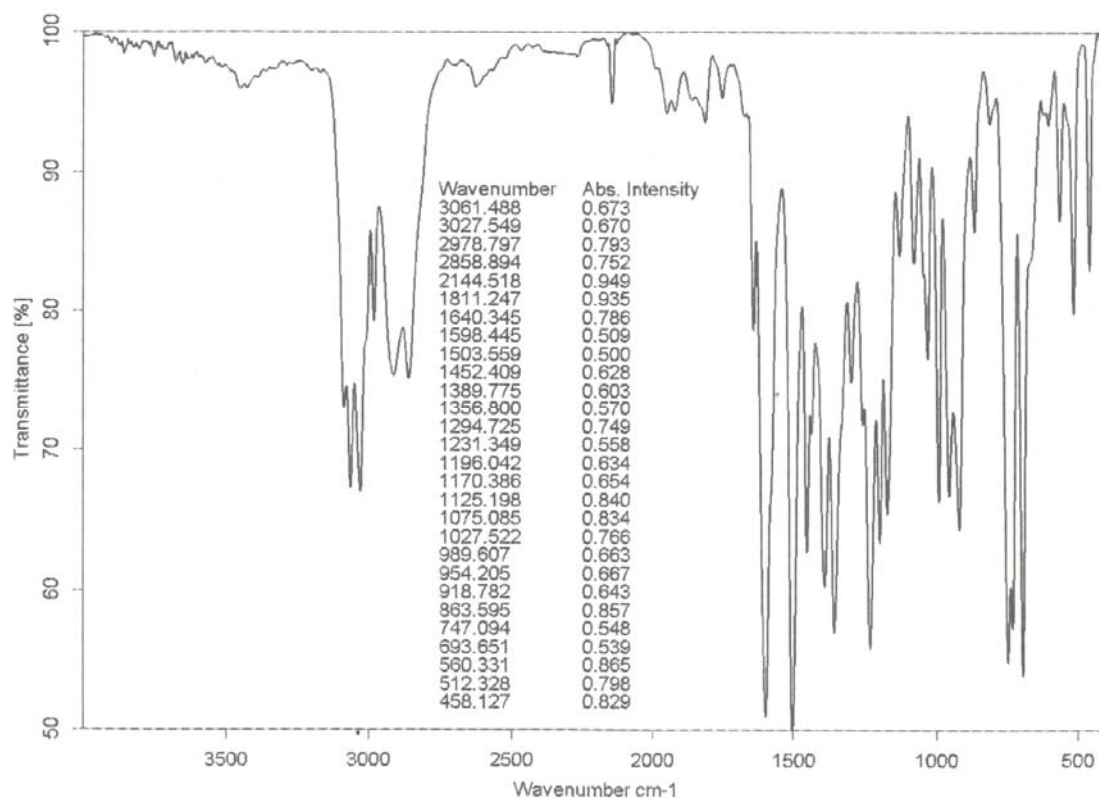


Figura A6_5. Espectro IR de la *N*-alil-*N*-bencilanilina 43.

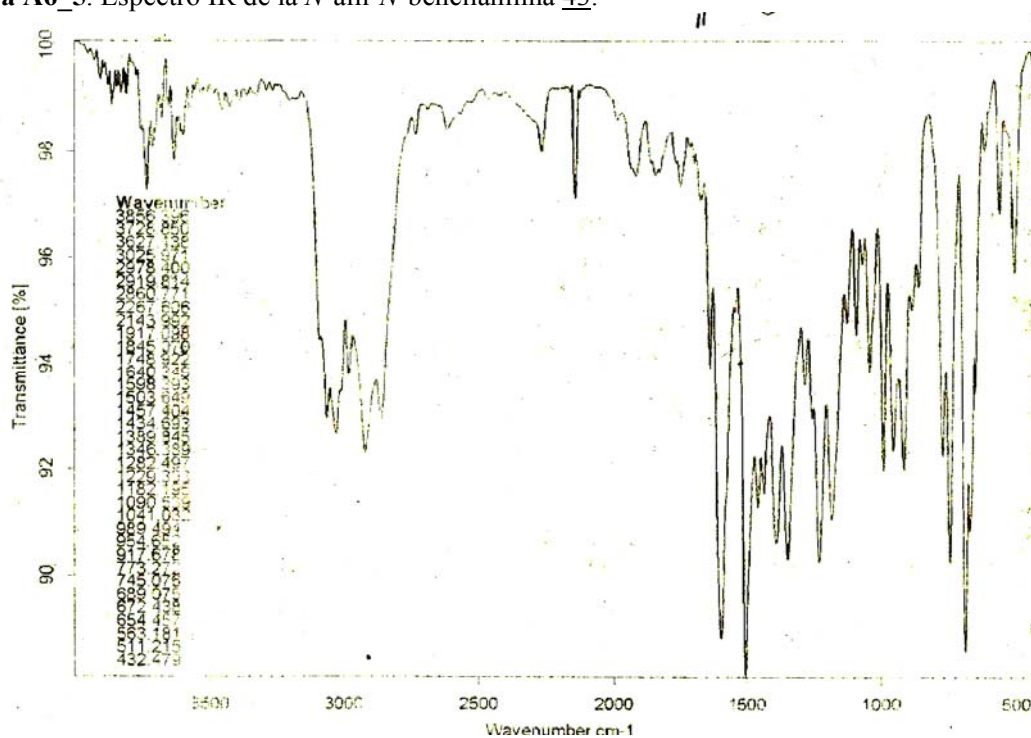


Figura A6_6. Espectro IR de la *N*-alil-*N*-bencilanilina 44.

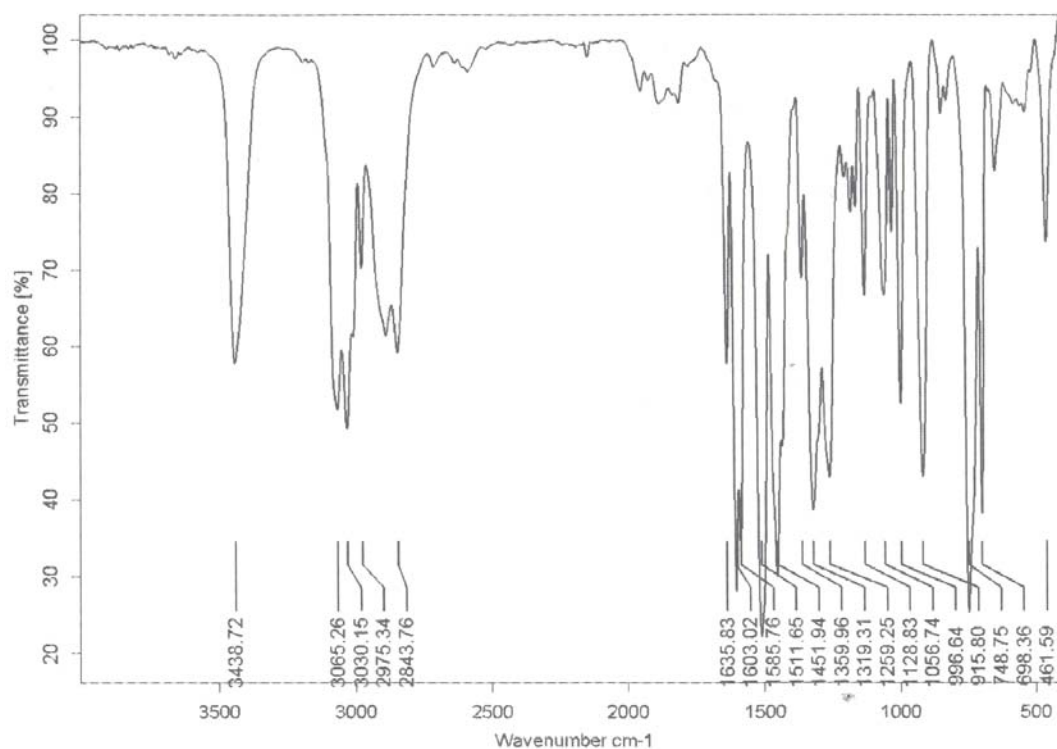


Figura A6_7. Espectro IR de la *orto*-alilililina 1.

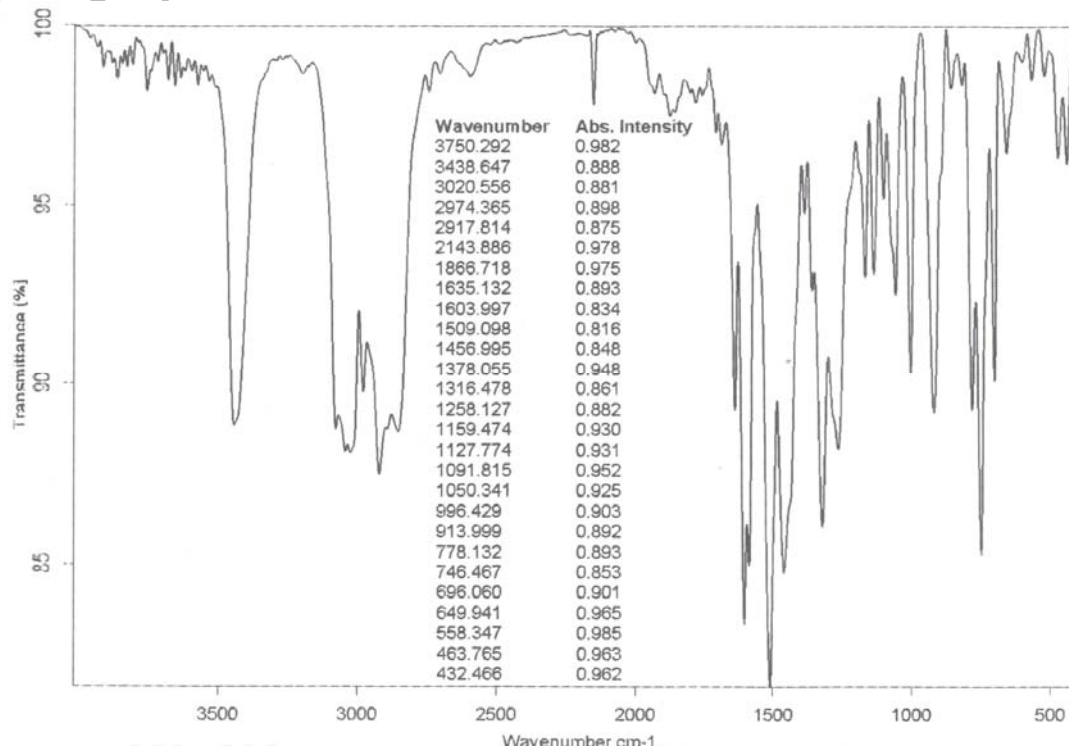


Figura A6_8. Espectro IR de la *orto*-alilililina 2.

Abundance

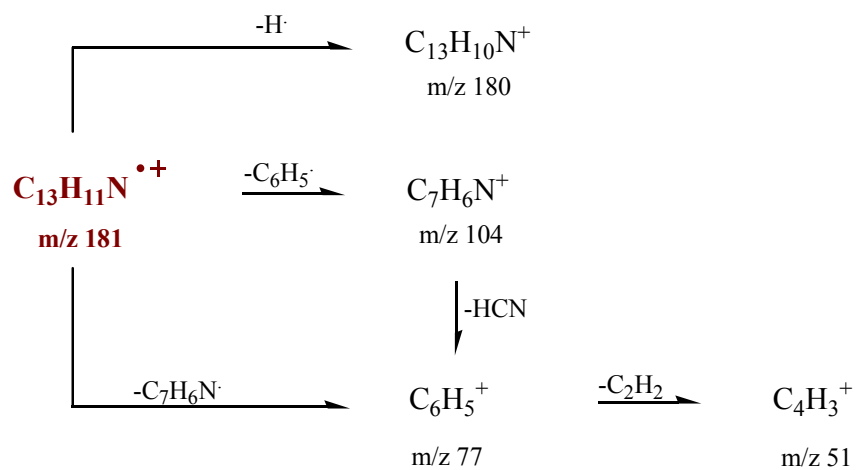
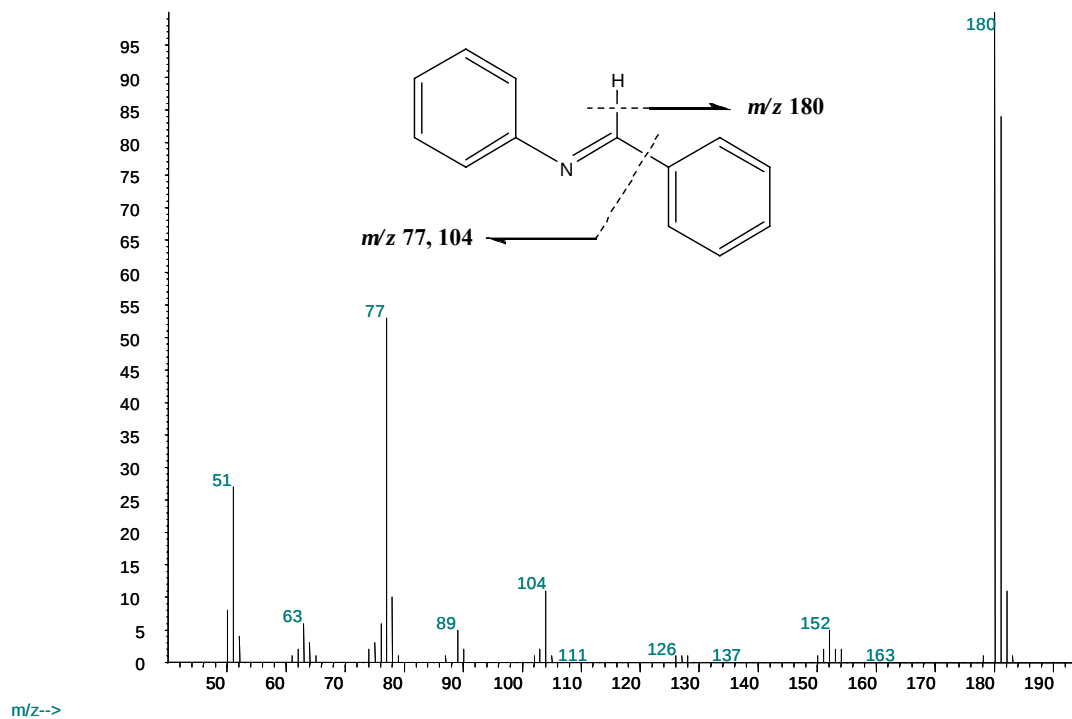


Figura A6_9. Espectro de masas de la aldimimina **39** (Bencilidenoanilina).

Abundance

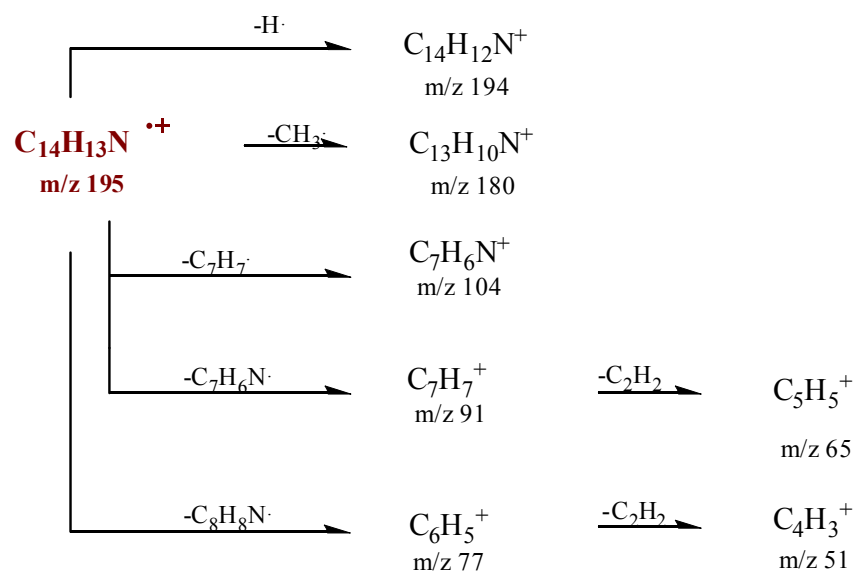
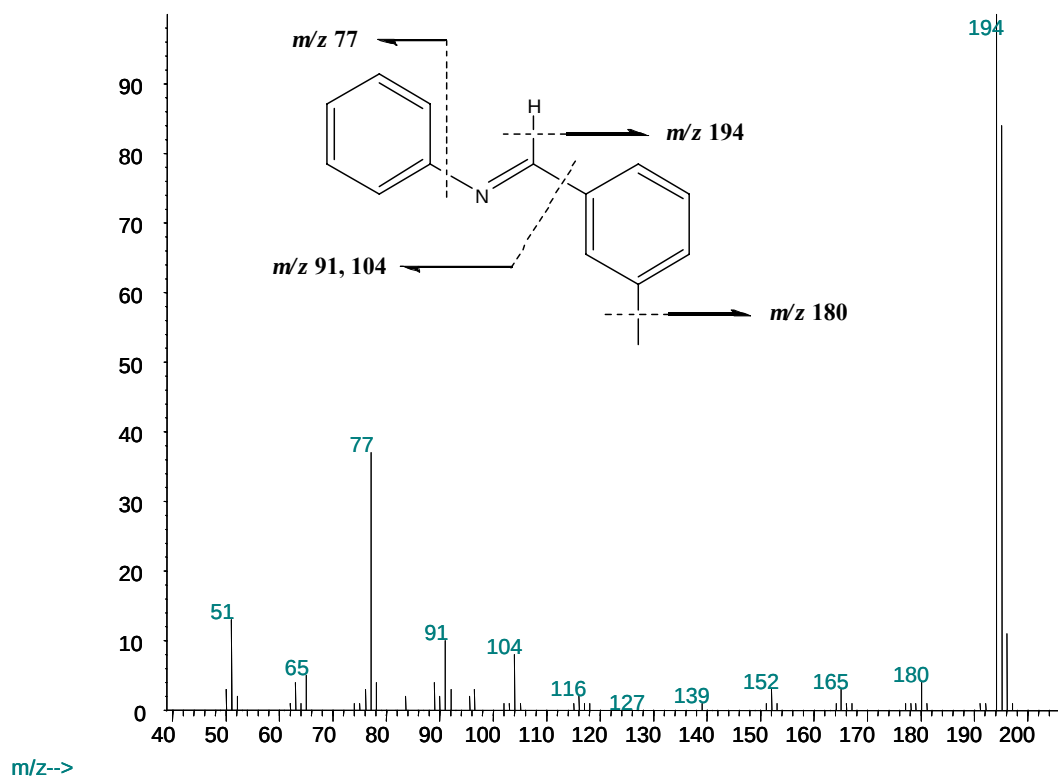


Figura A6_10. Espectro de masas de la aldimimina 40 ((3-Metilbencilideno)anilina).

Abundance

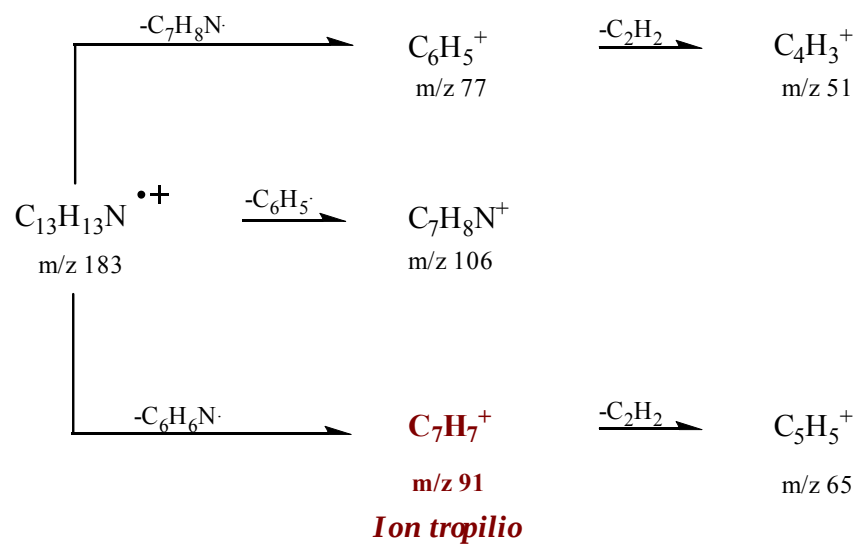
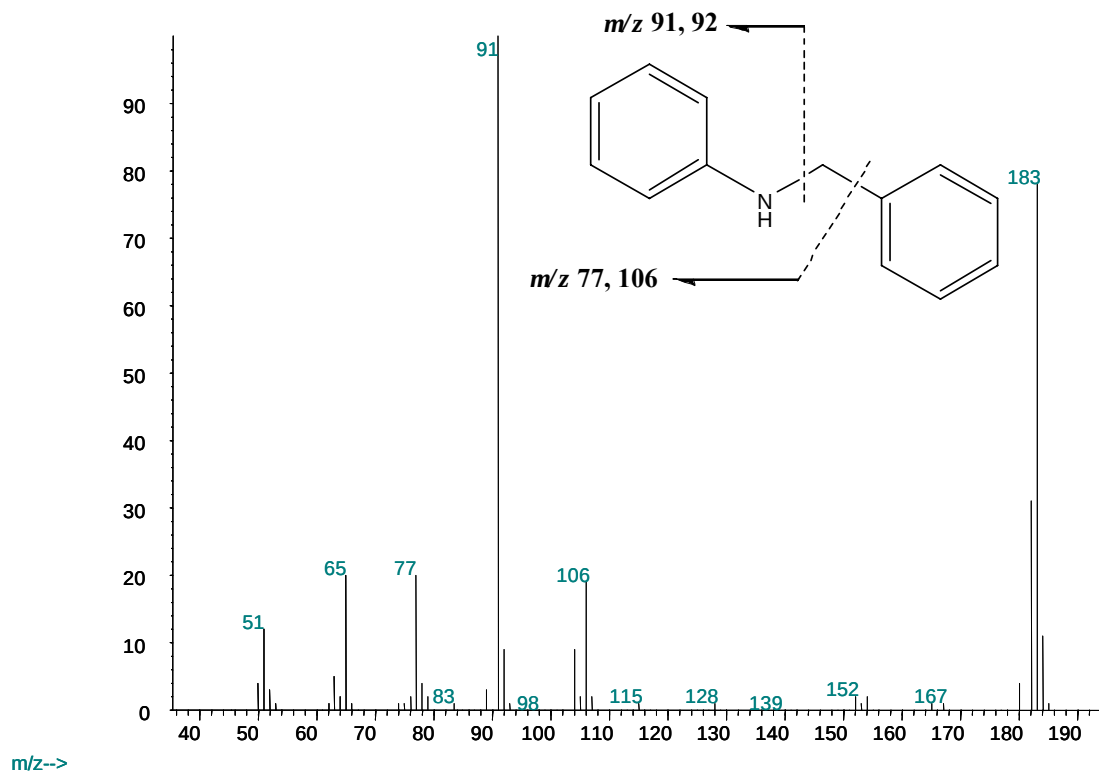


Figura A6_11. Espectro de masas de la *N*-bencilanilina 41 (*N*-Bencilanilina).

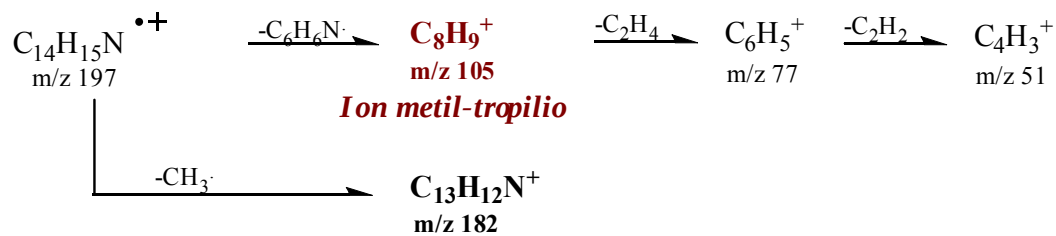
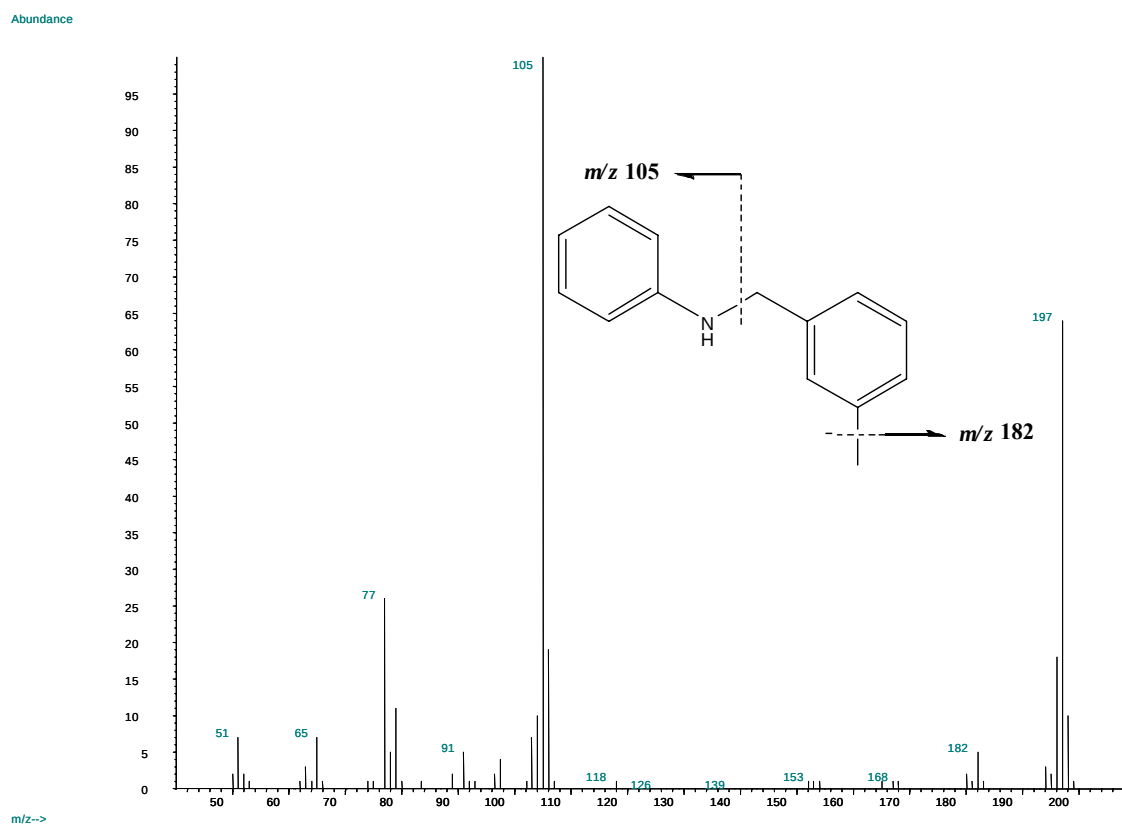


Figura A6_12. Espectro de masas de la *N*-bencilanilina 42 (*N*-3-Metilbencil)anilina).

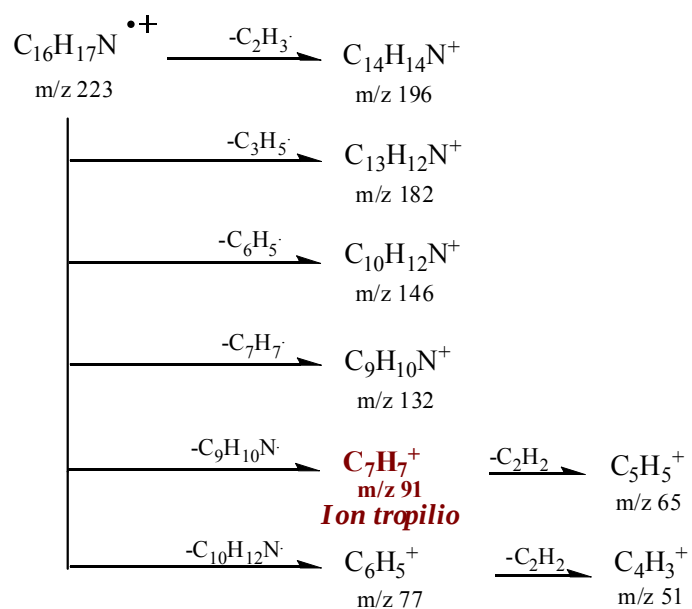
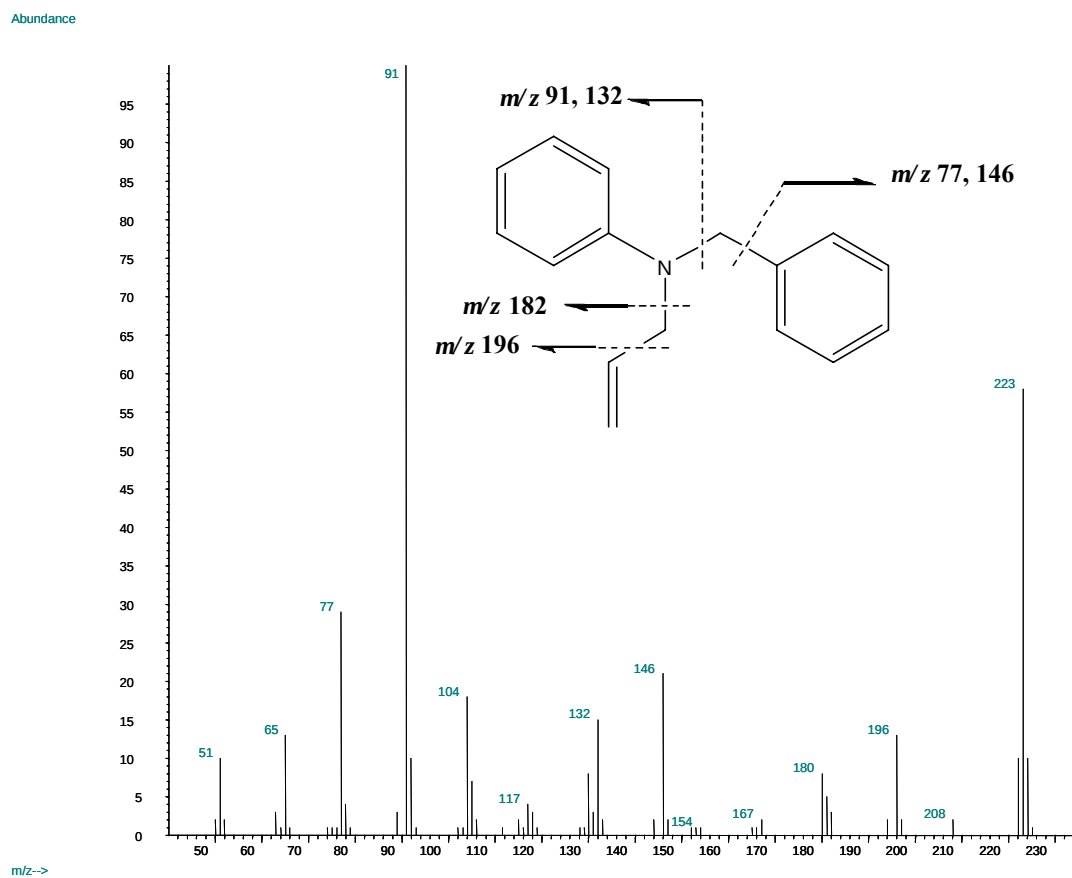


Figura A6_13. Espectro de masas de la *N*-alil-*N*-bencilanilina 43 (*N*-Alil-*N*-bencilanilina).

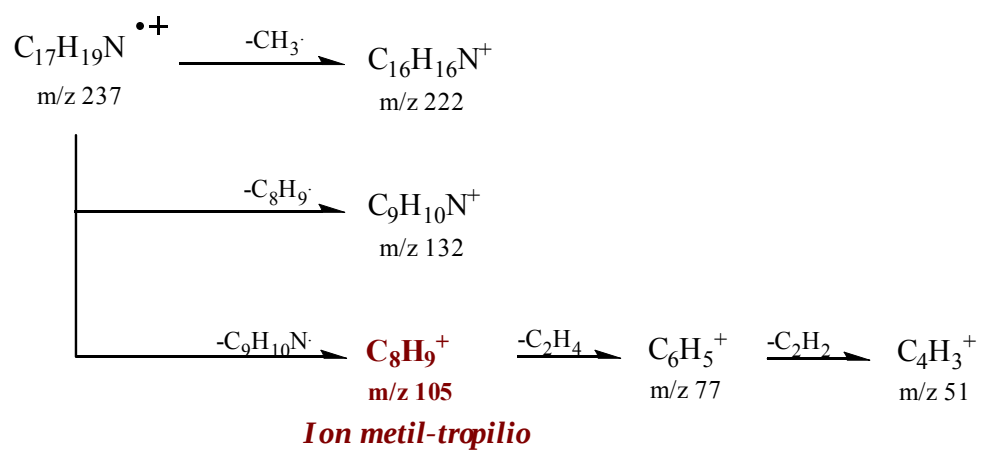
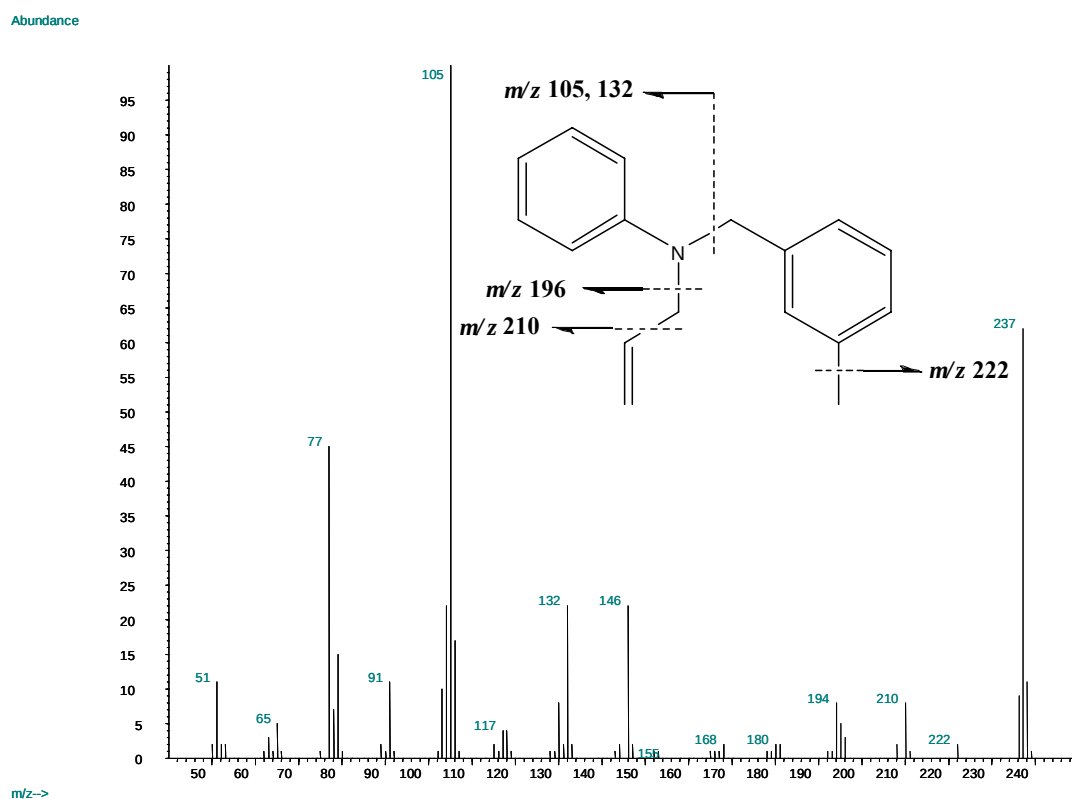


Figura A6_14. Espectro de masas de la *N*-alil-*N*-bencilanilina 44 (*N*-Alil-(*N*-3-metilbencil)anilina).

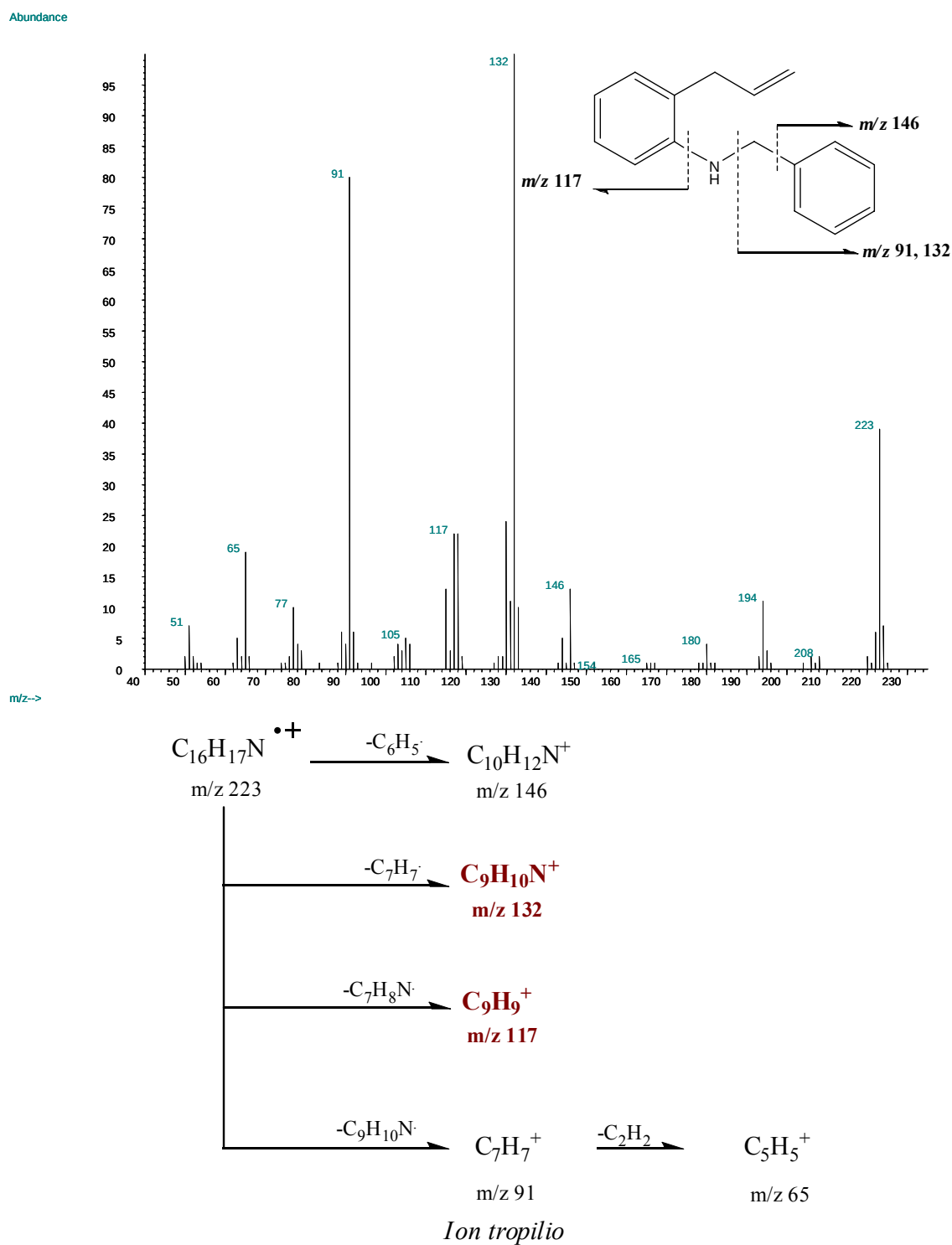


Figura A6_15. Espectro de masas de la *orto*-alilalanilina **1** (*N*-(2-Alilfenil)-bencilamina).

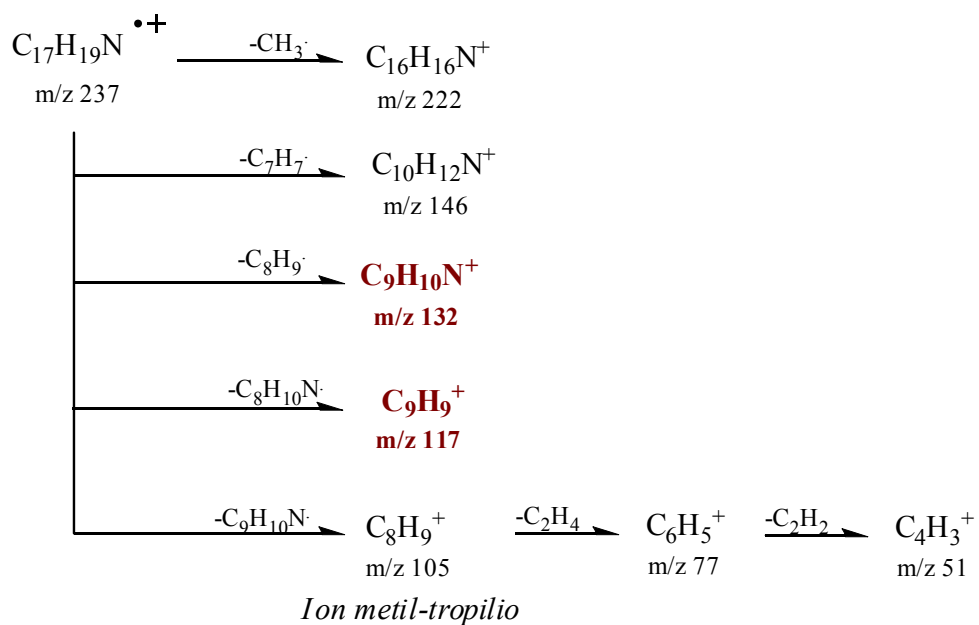
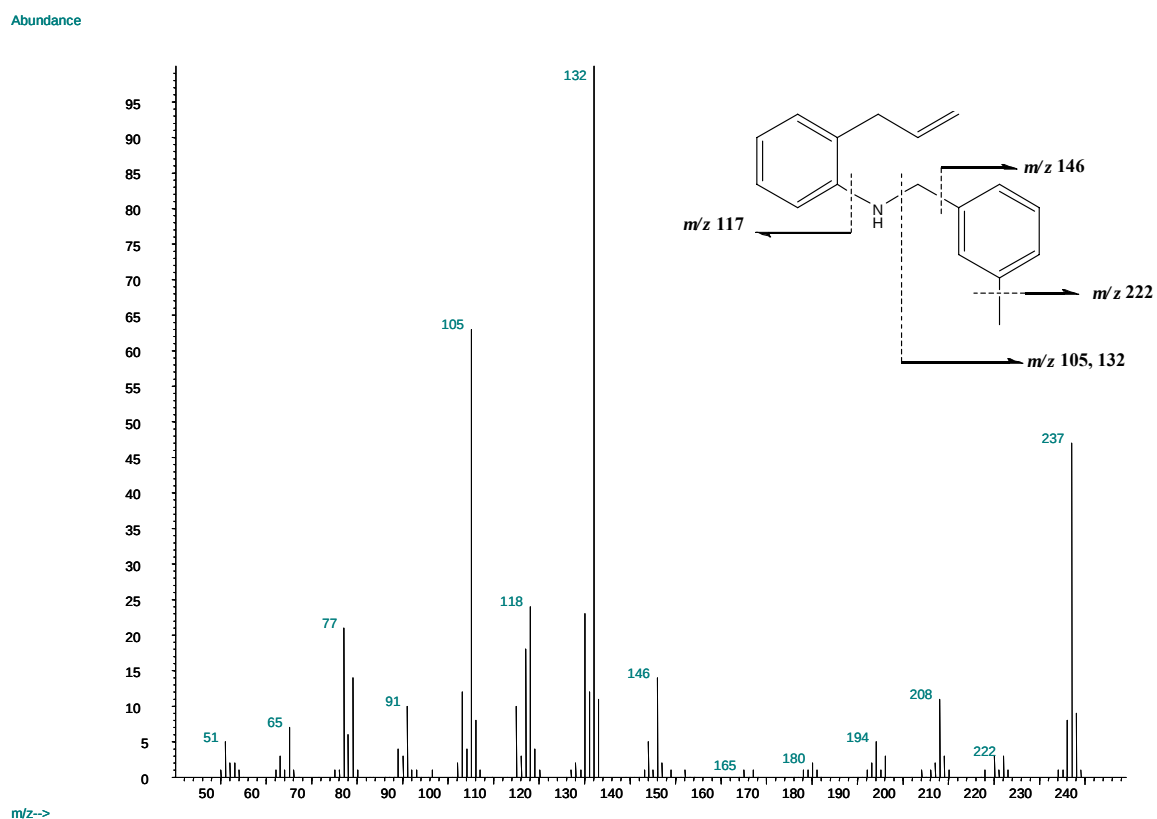


Figura A6_16. Espectro de masas de la *orto*-alilalanilina 2 (*N*-2-Alilfenil-3-metilbencilamina).

ANEXO 7 (A7)

Gráficas cinéticas experimentales y estimadas mediante $\ln ((C_e)/(C_e-C_t))$ vs t , para cada T. Seguimiento de la concentración de dihidrodibenzo[*b,e*]azepina [46a], mediante GC-FID.

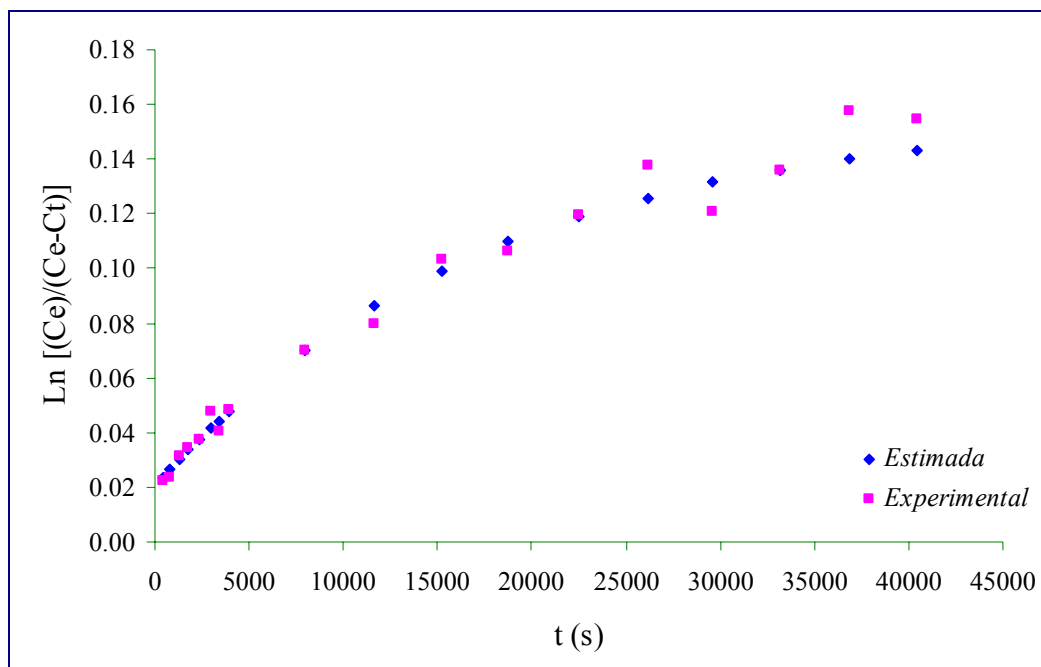


Figura A7_1. Gráfica cinética $\text{Ln} [(Ce)/(Ce-Ct)]$ vs t ; $\text{H}_2\text{SO}_4 = 18 \text{ M}$; *orto*-alilnilina $\underline{1} = 0.21 \text{ M}$ $T = 0^\circ\text{C}$. GC-FID. Seguimiento de dihidrodibenzo[*b,e*]azepina [46a].

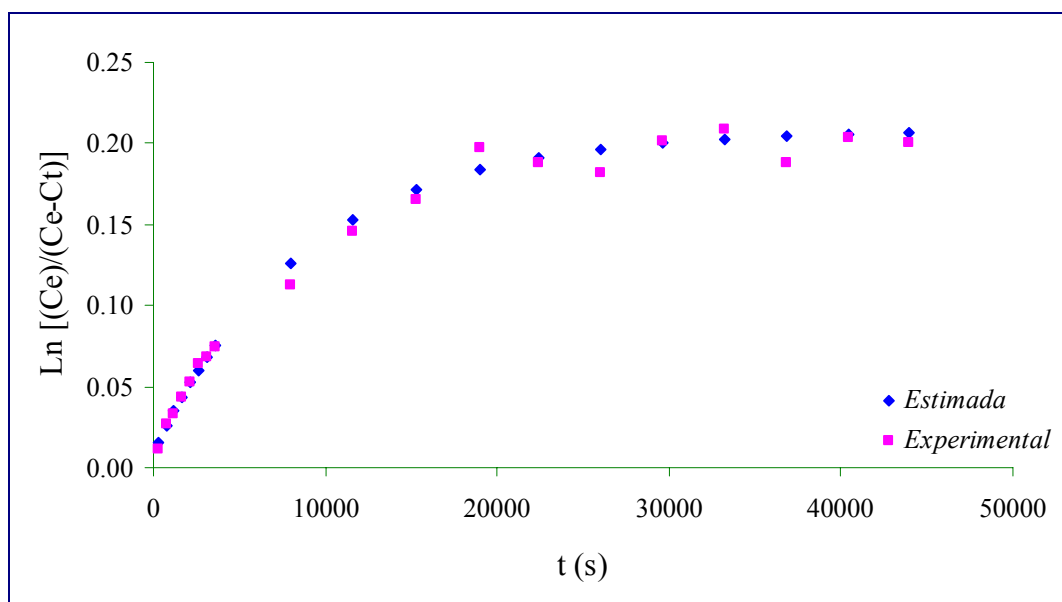


Figura A7_2. Gráfica cinética $\text{Ln} [(Ce)/(Ce-Ct)]$ vs t ; $\text{H}_2\text{SO}_4 = 18 \text{ M}$; *orto*-alilnilina $\underline{1} = 0.21 \text{ M}$. $T = 10^\circ\text{C}$. GC-FID. Seguimiento de dihidrodibenzo[*b,e*]azepina [46a].

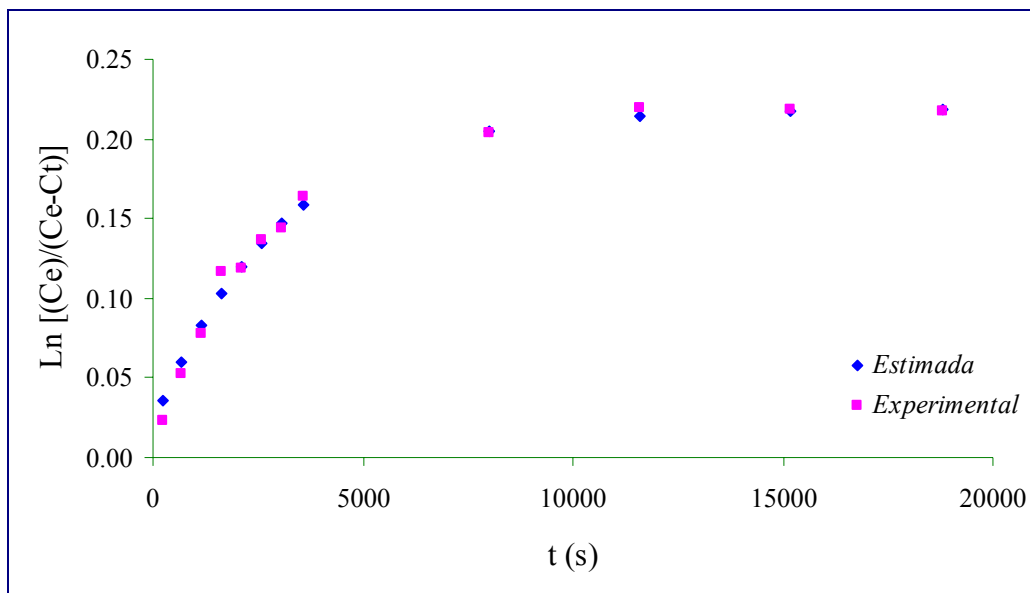


Figura A7_3. Gráfica cinética $\text{Ln} [(Ce)/(Ce-Ct)]$ vs t ; $\text{H}_2\text{SO}_4 = 18 \text{ M}$; *orto*-alilanilina $\underline{1} = 0.21 \text{ M}$. $T = 20^\circ\text{C}$. GC-FID. Seguimiento de dihidrodibenzo[*b,e*]azepina [46a].

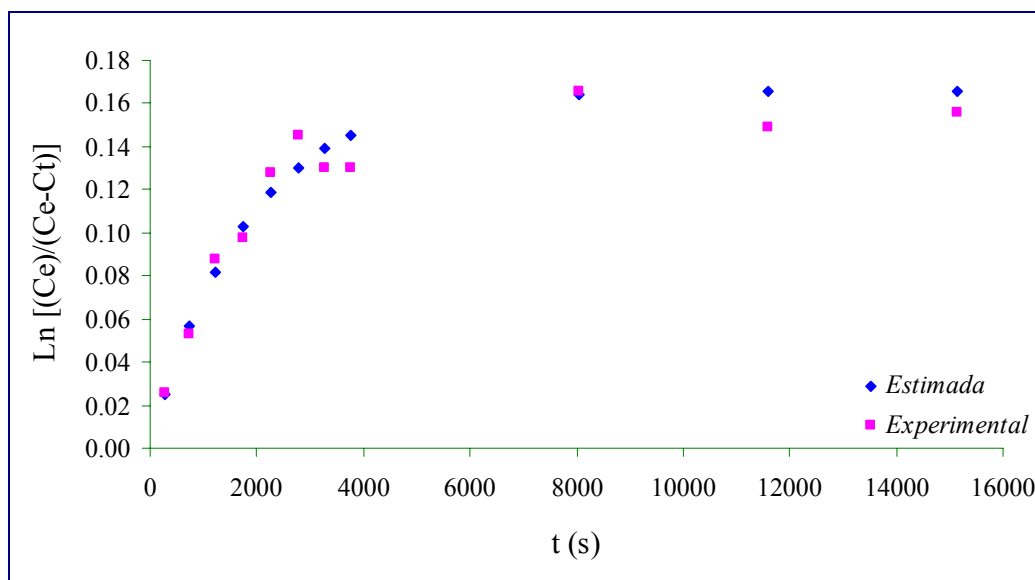


Figura A7_4. Gráfica cinética $\text{Ln} [(Ce)/(Ce-Ct)]$ vs t ; $\text{H}_2\text{SO}_4 = 18 \text{ M}$; *orto*-alilanilina $\underline{1} = 0.21 \text{ M}$. $T = 30^\circ\text{C}$. GC-FID. Seguimiento de dihidrodibenzo[*b,e*]azepina [46a].

ANEXO 8 (A8)

Gráficas cinéticas experimentales de la alquilación intramolecular de Friedel-Crafts para las *orto*-alilanilinas 1 y 2, estimadas mediante MCR-ALS.
Algoritmos utilizados en MCR-ALS.

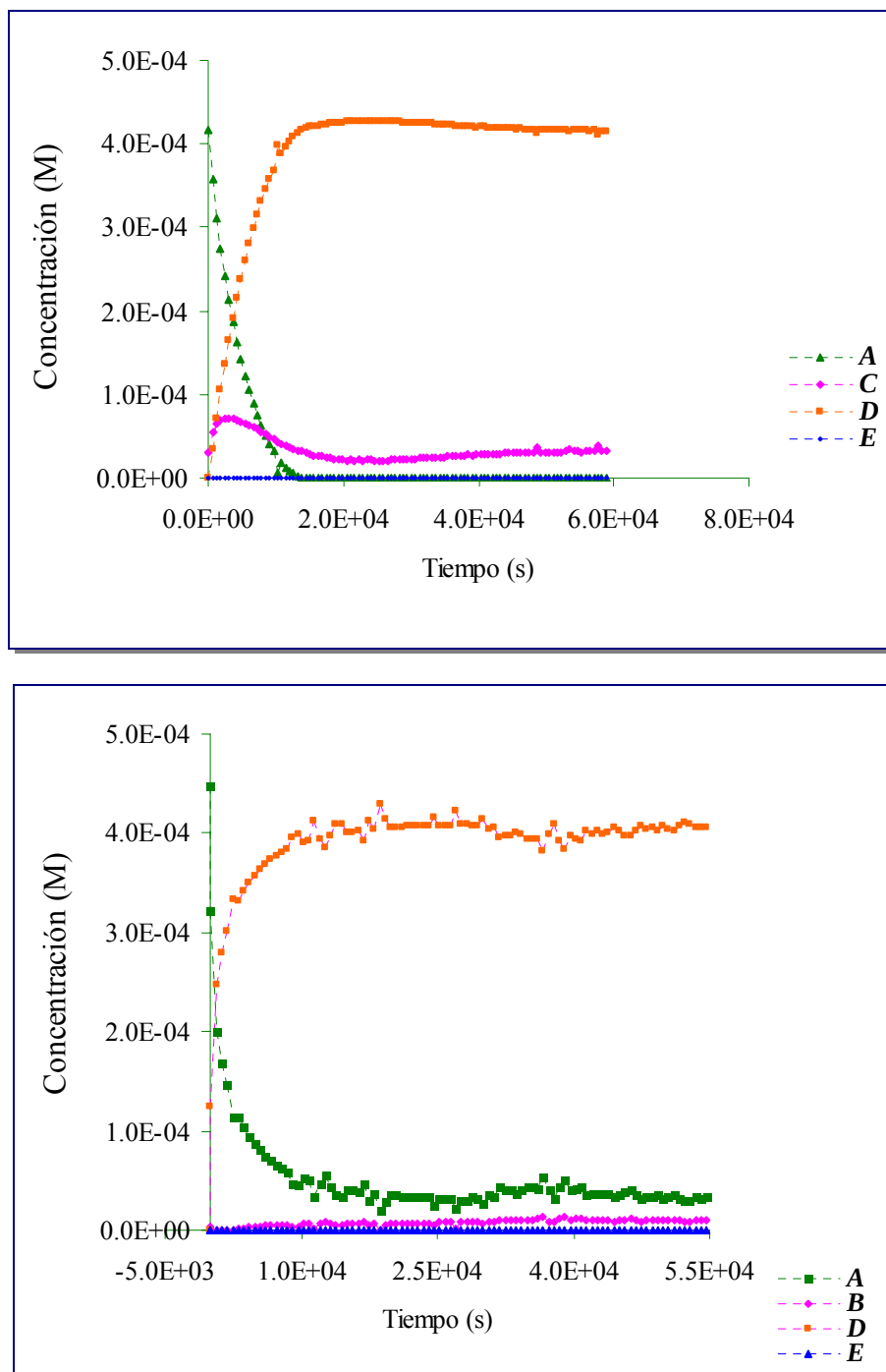


Figura A8_1. Perfiles de concentración a 20°C extraídos por MCR-ALS (M_1). Arriba: *Orto*-alililanilina 1. Abajo: *Orto*-alililanilina 2. (A) *Orto*-alililanilina; (B) tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina; (C, intermedio) *orto*-propeno-bencilanilina ú *orto*-isopropilhidronio-bencilanilina; (D) dihidrodibenzo[*b,e*]azepina y (E) dibenzo[*b,e*]azepina.

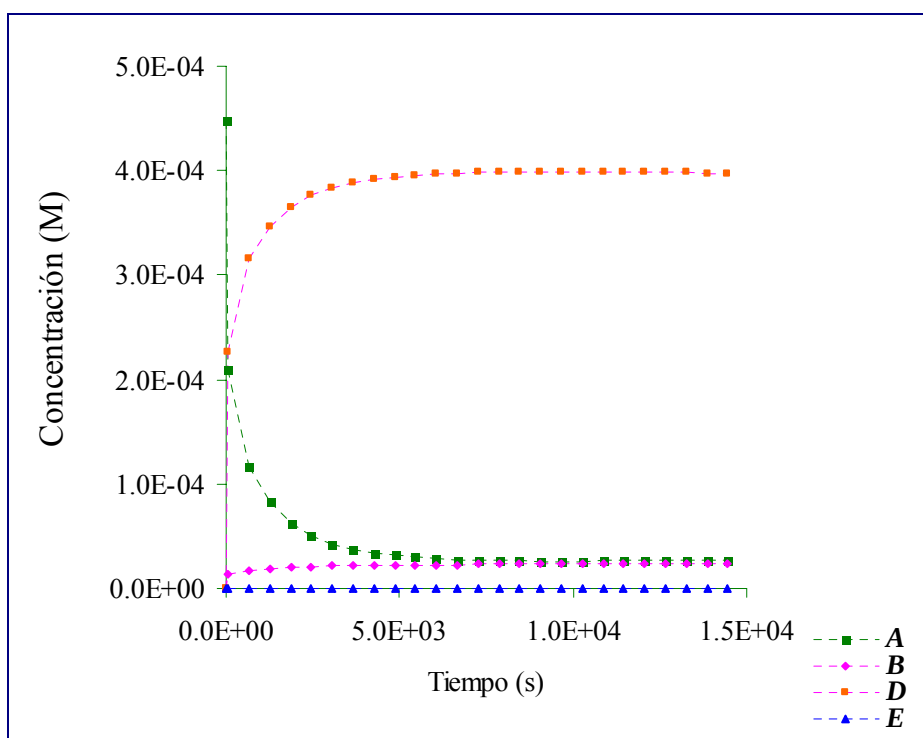
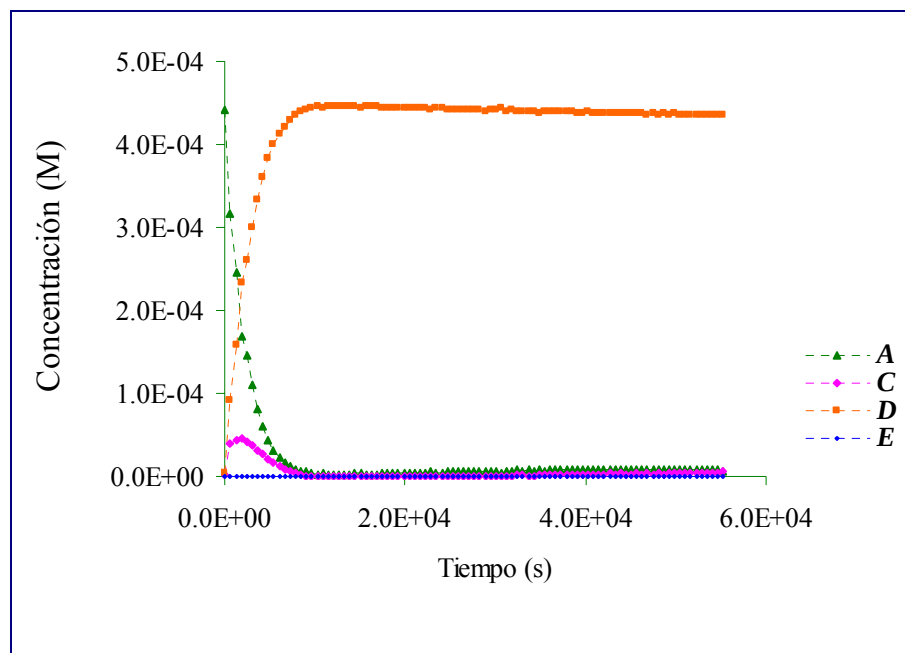


Figura A8_2. Perfiles de concentración a 30°C extraídos por MCR-ALS (M_1). *Orto*-alilanolina 1. Arriba: *Orto*-alilanolina 1. Abajo: *Orto*-alilanolina 2. (A) *Orto*-alilanolina; (B) tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina; (C, intermedio) *orto*-propeno-bencilanolina ú *orto*-isopropilhidronio-bencilanolina; (D) dihidrodibenzo[*b,e*]azepina y (E) dibenzo[*b,e*]azepina.

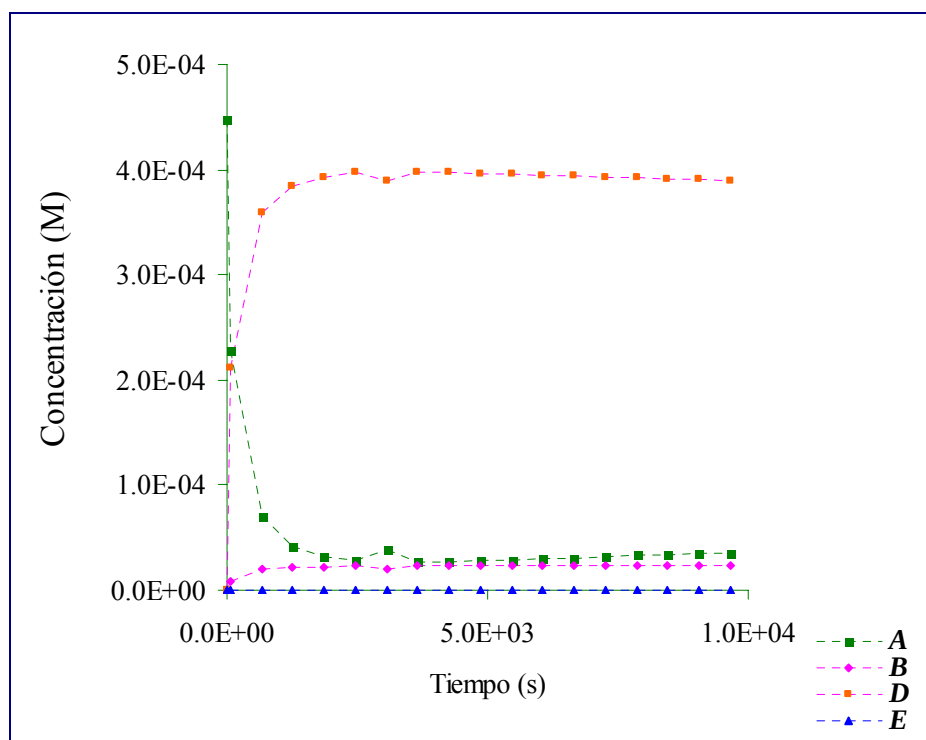
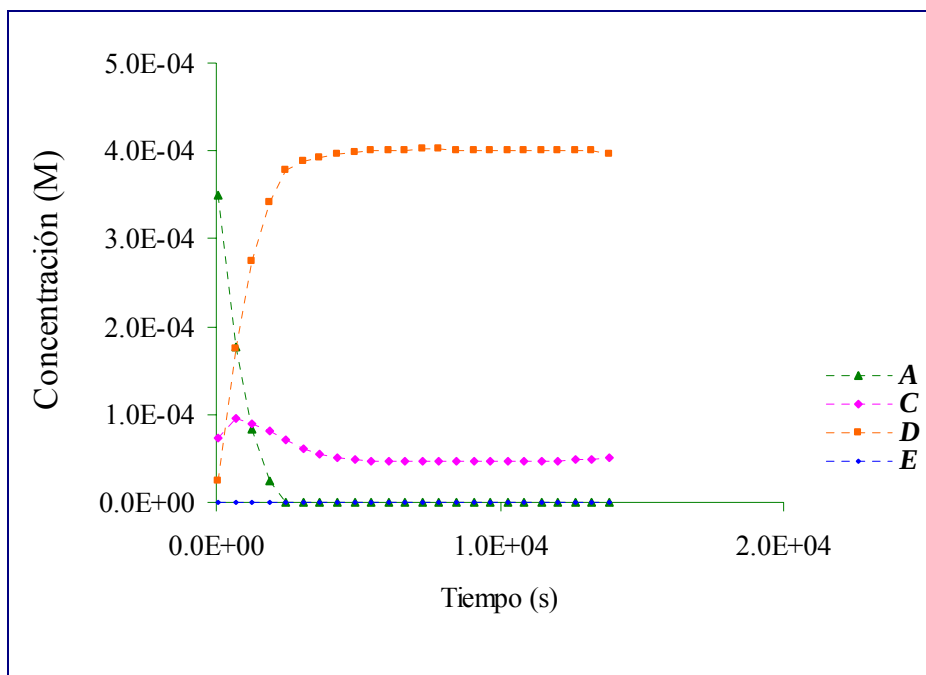


Figura A8_3. Perfiles de concentración a 40°C extraídos por MCR-ALS (M_1). *Orto*-alilanolina 1. Arriba: *Orto*-alilanolina 1. Abajo: *Orto*-alilanolina 2. (A) *Orto*-alilanolina; (B) tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina; (C, intermedio) *orto*-propeno-bencilanolina ú *orto*-isopropilhidronio-bencilanolina; (D) dihidrodibenzo[*b,e*]azepina y (E) dibenzo[*b,e*]azepina.

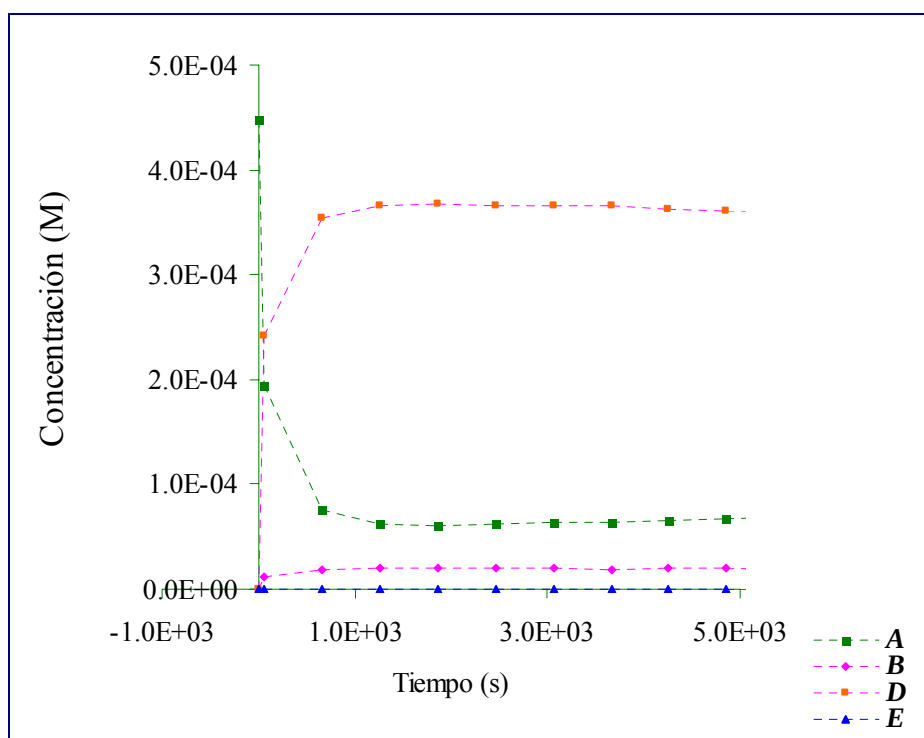
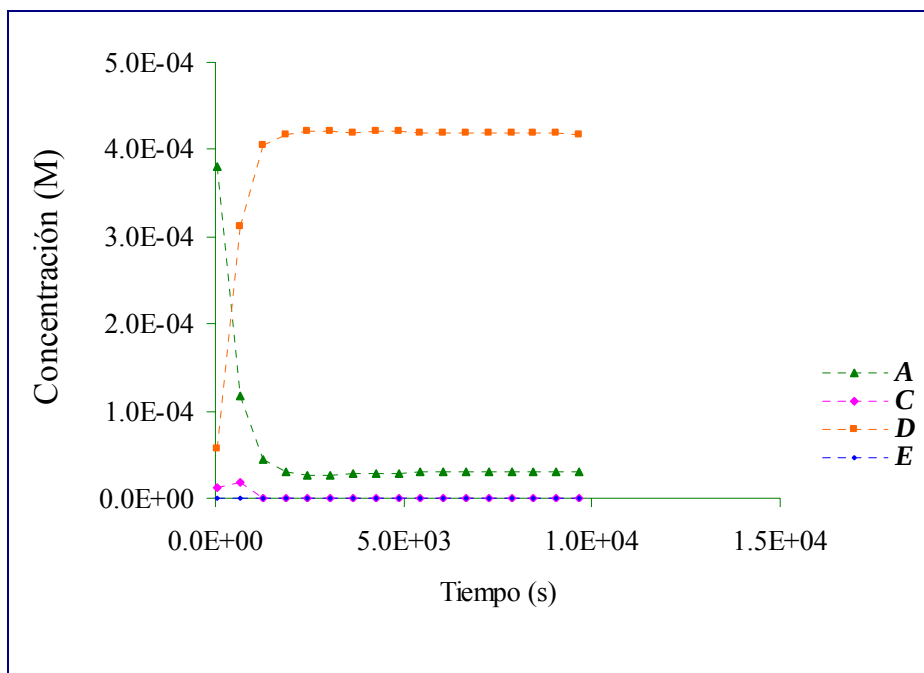


Figura A8_4. Perfiles de concentración a 50°C extraídos por MCR-ALS (M_1). *Orto*-alilanolina 1. Arriba: *Orto*-alilanolina 1. Abajo: *Orto*-alilanolina 2. (A) *Orto*-alilanolina; (B) tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina; (C, intermedio) *orto*-propeno-bencilanolina ú *orto*-isopropilhidronio-bencilanolina; (D) dihidrodibenzo[*b,e*]azepina y (E) dibenzo[*b,e*]azepina.

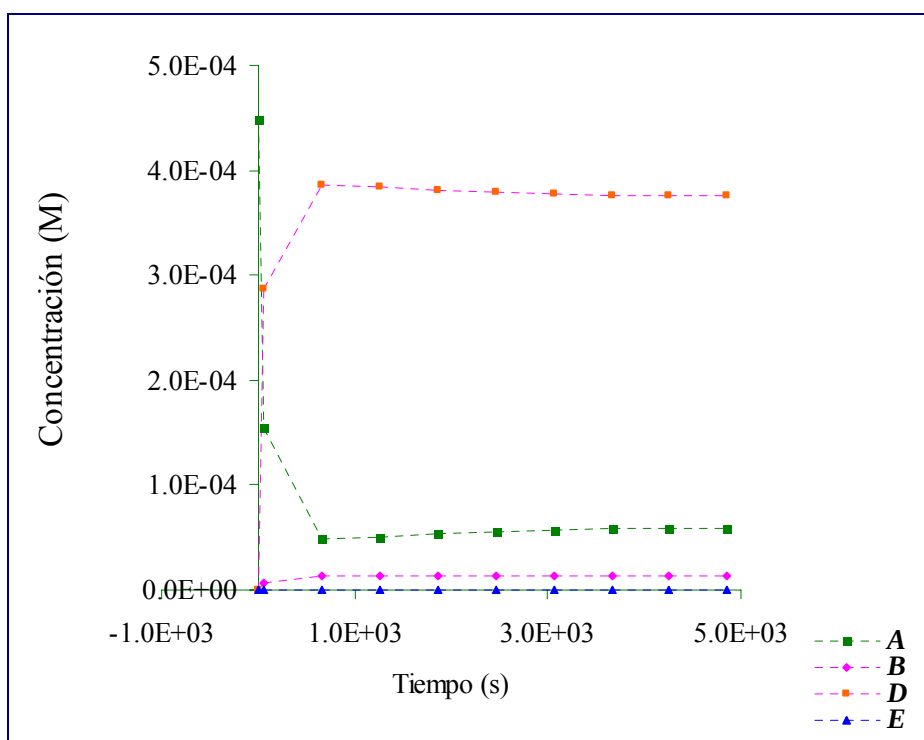
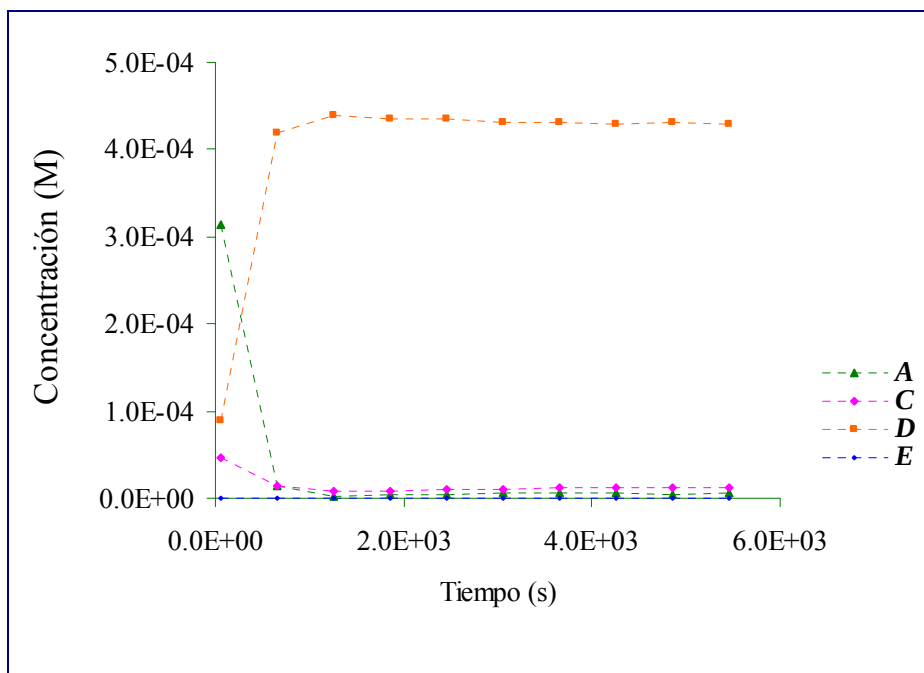


Figura A8_5. Perfiles de concentración a 60°C extraídos por MCR-ALS (M_1). *Orto*-alilanolina 1. Arriba: *Orto*-alilanolina 1. Abajo: *Orto*-alilanolina 2. (A) *Orto*-alilanolina; (B) tetrahidrodibenzo[*b,f*]azocina; (C, intermedio) *orto*-propeno-bencilanolina ú *orto*-isopropilhidronio-bencilanolina; (D) dihidrodibenzo[*b,e*]azepina y (E) dibenzo[*b,e*]azepina.

ALGORITMO: PURE_ Roma Tauler and Anna de Juan

```
function [sp,imp,p]=pure(d,nr,f)
% [sp,imp]=pure(d,nr,f)
% sp purest row/column profiles
% imp indexes of purest variables
% d data matrix; nr (rank) number of pure components to search
% if d(nspectra,nwave) imp gives purest nwave => sp are conc. profiles (nr,nspectra)
% if d(nwave,nspectra) imp gives purest nspectra => sp are spectra profiles (nr,nwave)
% f percent of noise allowed respect maximum of the average spectrum given in % (i.e. 1% or 0.1%)
close all
[nrow,ncol]=size(d);

% calculation of the purity spectrum

f=f/100;
s=std(d);
m=mean(d);
ll=s.*s+m.*m;
f=max(m)*f;
p=s./(m+f);

[mp,imp(1)]=max(p);

disp('first purest variable: ');disp(imp(1))

% calculation of the correlation matrix
% l=sqrt(m.*m+(s+f).*(s+f));

l=sqrt((s.*s+(m+f).*(m+f)));
% dl=d./(l'*ones(1,ncol));
for j=1:ncol,
dl(:,j)=d(:,j)./l(j);
end
c=(dl'*dl)./nrow;

% calculation of the weights
% first weight

w(1,:)=ll./(l.*l);
p(1,:)=w(1,:).*p(1,:);
s(1,:)=w(1,:).*s(1,:);
figure(1)
subplot(3,1,1),plot(m)
title('unweigthed mean, std and first pure spectrum')
subplot(3,1,2),plot(s)
subplot(3,1,3),plot(p)

pause

% next weights

for i=2:nr,

for j=1:ncol,
```

```

[dm]=wmat(c,imp,i,j);
w(i,j)=det(dm);
p(i,j)=p(1,j).*w(i,j);
s(i,j)=s(1,j).*w(i,j);
end

% next purest and standard deviation spectrum

% plot(p(i,:))
% plot(s(i,:))
% title('sd and purest spectrum')
figure(i)
subplot(2,1,1),plot(p(i,:))
title('next pure spectrum and std dev. spectrum')
subplot(2,1,2),plot(s(i,:))
pause

[mp(i),imp(i)]=max(p(i,:));
disp('next purest variable: ');disp(imp(i))
end

for i=1:nr,
    impi=imp(i);
    sp(1:nrow,i)=d(1:nrow,impi);
end

figure(nr+1)
sp=normv2(sp');
plot(sp')
figure(nr+2)
plot(p')

end

```

ALGORITMO: ALS_Roma Tauler and Anna de Juan

```
function [copt,sopt,sdopt,ropt,areaopt,rtopt]=als(d,x0,nexp,nit,tolsigma,isp,csel,ssel,vclos1,vclos2);

%** Multivariate Curve Resolution (MCR) - Alternating Least Squares (ALS) *****
%
%function [copt,sopt,sdopt,ropt,areaopt,rtopt]=als(d,x0,nexp,nit,tolsigma,isp,csel,ssel,vclos1,vclos2);
%
%   where
%
% INPUT VALUES:
%
%   d : experimental data matrix
%   x0: initial estimates of the concentration profiles
%       or of the species spectra
%   nexp: number of data matrices analyzed simultaneously
%   nit: maximum number of iterations (50 is the default)
%   tolsigma: convergence criterion in the difference of sd of residuals
%            between iterations (0.1% is the default)
%   isp: correspondence among the species in the experiments
%   csel: matrix including the equality constraints (selective channels
%         or known values) in the conc matrix
%         0 values = non-present; >0 known or selective values; 'inf' or 'NaN' unknown values
%   ssel: matrix including the equality constraints (selective channels
%         or known values) in the abss matrix
%         0 values = non-present; >0 known or selective values; 'inf' or 'NaN' unknown values
%   vclos1: vector of variable closure constants for conc profiles
%   vclos2: the same as vclos1 when two closure conditions are applied
%
% OUTPUT VALUES:
%
%   copt: optimized species concentrations
%   sopt: optimized species spectra
%   ropt: residuals d - copt*sopt at the optimum
%   sdopt: standard deviation of fitting residuals at the optimum
%   areaopt: areas of concentration profiles (only for quantitation)
%   rtopt: ratio of areas (only for quantitation)
%
%function [copt,sopt,sdopt,ropt,areaopt,rtopt]=als(d,x0,nexp,nit,tolsigma,isp,csel,ssel,vclos1,vclos2);
%
%*****
%*****
% other important variables
% nrow number of rows (spectra) in d
% ncol number of columns (channels, wavelengths) in d
% ils kind of initial estimate provided from efa;
%   ils = 1 initial estimates of concentrations;
%   ils = 2 initial estimates of spectra
% nsign is the total number of significant species
% nexp number of experiments simultaneously analyzed
% nspec number of species in each experiment
% ishape = 0,1,2 data structure (see below)

clc;close

disp('% *****')
disp('% MATLAB program MCR-ALS:          *')
```

```

disp('% multivariate curve resolution (MCR)      *')
disp('% alternating least squares (ALS)          *')
disp('% written by Roma Tauler and Anna de Juan  *')
disp('% last update, December 2003              *')
disp('% Chemometrics and Solution Equilibria group *')
disp('% University of Barcelona                  *')
disp('% Department of Analytical Chemistry        *')
disp('% Diagonal 647, Barcelona 08028            *')
disp('% e-mail roma@quimio.qui.ub.es             *')
disp('% *****')

% A) DATA PREPARATION AND INPUT

if nargin<2,
    disp(' ');disp(' ');disp(' ');disp(' ');
    disp('Input arguments are lower than needed to start!!')
    disp('At least two input arguments are needed')
    disp('Syntax: [copt,sopt,sdopt,rtopt,ropt]=als(d,x0,nit,tolsigma,isp,msel,E,vclos);')
    disp(' ');disp(' ');disp(' ');disp(' ');
    return
end

[nrow,ncol]=size(d);

% check dimensions of initial estimates

[nrow2,ncol2]=size(x0);

if nrow2==nrow, nsign=ncol2; ils=1;end
if ncol2==nrow, nsign=nrow2; x0=x0'; ils=1; end

if ncol2==ncol, nsign=nrow2; ils=2;end
if nrow2==ncol, nsign=ncol2; x0=x0'; ils=2; end

% *****
% PLOT THE RAW DATA
% *****

subplot(2,1,2);plot(d);title('Columns of raw data matrix');
subplot(2,1,1);plot(d');title('Rows (spectra) of raw data matrix');

disp('***** Press any key to continue *****');pause;

close

if ils==1,
    conc=x0;
    [nrow,nsign]=size(conc);
    abss=conc\d;
end

if ils==2,
    abss=x0;
    [nsign,ncol]=size(abss);
    conc=d/abss;
end

% *****

```

```

% PLOT INITIAL ESTIMATIONS OF CONCENTRATION AND SPECTRA PROFILES
% *****

if ils==1,
subplot(2,1,1);plot(conc);title('Initial estimates of the concentration profiles')
subplot(2,1,2);plot(abss');title('Unconstrained spectra calculated by LS (iteration 1)')
end

if ils==2,
subplot(2,1,2);plot(abss');title('Initial estimates of the spectra')
subplot(2,1,1);plot(conc);title('Unconstrained concentration profiles calculated by LS (iteration 1)')
end

disp('***** Press any key to continue *****');pause;

close

% INITIALIZATIONS

if nargin<3,nexp=1;end
if isempty(nexp)|nexp==0,nexp=1;end
if nargin<4,nit=50;end
if isempty(nit)| nit==0,nit=50;end
if nargin<5,tolsigma=0.1;end
if isempty(tolsigma) | tolsigma==0,tolsigma=0.1;end
if nargin<6 & nexp==1,isp=ones(1,nsign);end
if nargin<6 & nexp>1,isp=ones(nexp,nsign);end
if isempty(isp) | isp==0, isp=ones(1,nsign);end
if nargin<7,csel=[];end
if nargin<8,ssel=[];end
if nargin<9,vclos1=0;end
if nargin<10,vclos2=0;end
if nargin<8,scons='n';end
if nargin<7,ccons='n';end
if nexp==1,
    ncinic(nexp)=1;
    ncfin(nexp)=ncol;
    nrinic(nexp)=1;
    nrfin(nexp)=nrow;
end

scons='y'; % all the spectra matrices the same constraints
ccons='y'; % all the concentration matrices the same constraints
niter=0;% iterations counter
idev=0;% divergence counter
idevmax=10;% maximum number of diverging iterations
answer='n'; % default answer
ineg=0;% used for non-negativity constraints
imod=0;% used for unimodality constraints
iclos0=0;% used for closure constraints
iassim=0;% used for shape constraints
datamod=99;% in three-way type of matrix augmentation (1=row,2=column)
matr=1;% one matrix
matc=1;% one matrix
vclos1n=0;% used for closure constraints
vclos2n=0;% used for closure constraints
inorm=0;% no normalizatio (when closurfe is applied)
type_csel=[]; %no equality/lower than constraints in concentrations

```

```

type_ssel=[]; %no equality/lower than constraints in spectra

%*****
% DEFINITION OF THE DATA SET
%*****

totalconc(1:nsign,1:nexp)=ones(nsign,nexp);

% IN SIMULTANEOUS ANALYSIS OF SEVERAL SAMPLES
% ENTER NUMBER OF SPECTRA

if nexp > 1,
disp(' ')
disp('CLASSIFICATION OF THREE-WAY DATA SETS')
disp('Column-wise augmented data matrix (1)')
disp('Row-wise augmented data matrix (2)')
disp('Column- and row-wise augmented data matrix (3)')
disp(' ')
datamod = input('Define your data set ');

if datamod == 1

    matr = 1;
    ncinic(1)=1;
    ncfin(1)=ncol;
    matc = nexp;
    nrinic(1)=1;

    for i=1:matc,

        disp(' ')
        disp(['C matrix, submatrix number ', num2str(i)]);
        nrsol(i)=input('Enter the number of rows: ');
        nrfin(1)=nrsol(1);

        if i>1,
            nrinic(i)=nrfin(i-1)+1;
            nrfin(i)=nrinic(i)+nrsol(i)-1;
        end
        ncinic(i)=1;
        ncfin(i)=ncol;
    end
end

if datamod == 2

    matc = 1;
    nrinic(1)=1;
    nrfin(1)=nrow;
    matr = nexp;
    ncinic(1) = 1;

    for i=1:matr,

        disp(' ')
        disp(['S matrix, submatrix number ', num2str(i)]);
        ncsol(i)=input('Enter the number of columns: ');
        ncfin(1)=ncsol(1);

```

```

        if i>1, ncinic(i)=ncfin(i-1)+1;
            ncfin(i)=ncinic(i)+ncsol(i)-1; end

    end

end

if datamod == 3

matc = input('How many submatrices has the C matrix? ')
matr = input('How many submatrices has the S matrix? ')

if matc*matr ~= nexp
error('Warning: nr. of submatrices in C x nr. of submatrices in S should be equal to nexp')
end

nrinic(1)=1;

    for i=1:matc,

        disp(' ')
        disp(['C matrix, submatrix number ', num2str(i)]);
        nrsol(i)=input('Enter the number of rows: ');
        nrfin(1)=nrsol(1);
        if i>1, nrinic(i)=nrfin(i-1)+1;
            nrfin(i)=nrinic(i)+nrsol(i)-1; end

    end

ncinic(1) = 1;

    for i=1:matr,

        disp(' ')
        disp(['S matrix, submatrix number ', num2str(i)]);
        ncsol(i)=input('Enter the number of columns: ');
        ncfin(1)=ncsol(1);
        if i>1, ncinic(i)=ncfin(i-1)+1;
            ncfin(i)=ncinic(i)+ncsol(i)-1; end

    end

end

else

% WHEN ONLY ONE EXPERIMENT IS PRESENT EVERYTHING IS CLEAR

    nrsol(1)=nrow;
    nrinic(1)=1;
    nrfin(1)=nrsol(1);
    nesp(1)=nsign;
    matr = 1;
    matc = 1;
    isp(1,1:nsign)=ones(1,nsign);
    ishape=0;

end

```

```

disp('speciation');isp

% *****
% INPUT TYPE OF CONSTRAINTS
% *****

while answer == 'n' | answer == 'N'
clc
disp(' ')
disp('INPUT TYPE OF CONSTRAINTS TO BE APPLIED')
disp('None (0)')
disp('Non-negativity (1)')
disp('Unimodality (2)')
disp('Closure (3)')
disp('Equality (known) / Lower than (selectivity) constraints in conc profiles (4)')
disp('Equality (known) / Lower than (selectivity) constraints in spectra profiles (5)')
disp('Shape constraints (6)')
disp('Three-way data structure constraints (7)')
disp(' ')
disp('Enter a vector with the selected constraints, e.g. [1,3,5] ')
wcons = input('Enter the constraints to be applied in the optimization: ');

if matc>1
ccons = input('Do you want to apply the same constraints to all C submatrices? (y/n) ','s');
end

if matr>1
scons = input('Do you want to apply the same constraints to all S submatrices? (y/n) ','s');
end

% *****
% B) SELECTION OF CONSTRAINTS
% *****

% *****
% NON-NEGATIVITY CONSTRAINTS
% *****

c1 = find(wcons == 1);
if ~isempty(c1)
disp(' ')
ineg=input('Enter the non-negativity constraints (1=conc / 2=conc and spectra / 3=spectra ): ');
disp(' ')

if ineg==3|ineg ==2

disp(' ')
disp('SELECTION OF THE NON-NEGATIVITY IMPLEMENTATION FOR
SPECTRA')

disp('Warning: nnls or fnnls algorithms can constrain all or none of the present species.')
disp('Constraint of some selected species is only possible with the "forced to zero"
option')

disp(' ')
ialgs=input('Enter the selected algorithm for spectra (0 = forced to zero / 1 = nnls / 2 =
fnnls) ');

```

```

if scons=='y' | nexp == 1

    if ialgs == 0
        disp(' ')
        nspneg=input('How many spectra should be positive? ');
        if nspneg == nsign
            spneg = ones(nsign,matr);
        else
            spnegr= input('Enter a vector with the positive spectra (e.g. sp 1 and 3 [1,0,1])
');
            spneg = spnegr*ones(1,matr);
        end
    else
        spneg = ones(nsign,matr);
    end
end

if scons == 'n'
    spneg=[];
    for i=1:matr
        disp(' ')
        disp(['S submatrix number ' num2str(i)])
        selneg = input('Apply non-negativity? (y/n)','s');
        if selneg == 'y'
            if ialgs == 0
                nspneg=input('How many spectra should be positive? ');
                if nspneg == nsign
                    spneg(:,i) = ones(nsign,1);
                else
                    spneg(:,i)= input('Enter a vector with the positive spectra (e.g. sp 1 and 3
[1,0,1]) ');
                end
            else
                spneg(:,i) = ones(nsign,1);
            end
        end
        if selneg == 'n'
            spneg(:,i) = zeros(nsign,1);
        end
    end
end

if ineg==1|ineg==2

    disp(' ')
    disp('SELECTION OF THE NON-NEGATIVITY IMPLEMENTATION FOR CONC
PROFILES')
    disp('Warning: nnls or fnnls algorithms can constrain all or none of the present species.')
    disp('Constraint of some selected species is only possible with the "forced to zero"
option')
    disp(' ')
    ialg=input('Enter the selected algorithm for conc (0 = forced to zero / 1 = nnls / 2 =
fnnls) ');

    if ccons=='y' | nexp == 1

```

```

        if ialg == 0
            ncneg=input('How many conc profiles should be positive? ');
            if ncneg == nsign
                cneg = ones(matc,nsign);
            else
                cnegr= input('Enter a vector with the positive conc profiles (e.g. conc 1 and 3
[1,0,1]) ');
                cneg = ones(matc,1)*cnegr;
            end
        else
            cneg = ones(matc,nsign);
        end
    end

    if ccons == 'n'
        cneg=[];
        for i=1:matc
            disp(' ')
            disp(['C submatrix number ' num2str(i)])
            selcneg = input('Apply non-negativity? (y/n)','s');
            if selcneg == 'y'
                if ialg == 0
                    ncneg=input('How many conc profiles should be positive? ');
                    if ncneg == nsign
                        cneg(i,:) = ones(1,nsign);
                    else
                        cneg(i,:)= input('Enter a vector with the positive conc profiles (e.g. sp 1 and 3
[1,0,1]) ');
                    end
                else
                    cneg(i,:) = ones(1,nsign);
                end
            end
            if selcneg == 'n'
                cneg(i,:) = zeros(1,nsign);
            end
        end
    end
end

else
    cneg=zeros(matc,nsign);
    spneg = zeros(nsign,matr);
    ialg = 99;
    ialgs = 99;

end

% *****
% UNIMODALITY CONSTRAINT
% *****

c2 = find(wcons == 2);
if ~isempty(c2)
    disp(' ')
    disp('Unimodality constraint applied to: ')

```

```

disp(' 1 : concentration profiles')
disp(' 2 : spectra')
disp(' 3 : concentration profiles and spectra')

imod=input('Unimodal conc (1), spec(2), conc and spec (3)? ');

    if imod==2|imod==3,

        if nexp == 1 | scons == 'y' | scons == 'Y'

            nsmod=input('How many species are constrained to have unimodal spectra? ');

                if nsmod == nsign
                    spsmod=ones(1,nsign);
                else
                    spsmod = input('Spectra with unimodal profiles, e.g. [1,0,1,...]? ');
                end
                spsmod = ones(matr,1)*spsmod;

            end

        if scons == 'n' | scons == 'N'
            spsmod=[];
            for i=1:matr
                disp(['S matrix, submatrix nr. ' num2str(i)])
                nsmod=input('How many species are constrained to have unimodal spectra? ');

                    if nsmod==nsign,
                        spsmod(i,:)=ones(1,nsign);
                    elseif nsmod == 0
                        spsmod(i,:) = zeros(1,nsign);
                    else
                        spsmod(i,:)=input('Species with unimodal profiles, e.g. [0,1,...]? ');
                    end

                end
            end

        smod=input('Unimodal constraint tolerance for the spectra? ');
        if smod==1; smod=1.0001; end

    end

    if imod==1|imod==3,

        if nexp==1 | ccons=='y' | ccons=='Y'
            nmod=input('How many species are constrained to have unimodal concentration profiles? ');

                if nmod==nsign,
                    spmod=ones(1,nsign);
                else
                    spmod=input('Species with unimodal profiles, e.g. [0,1,...]? ');
                end
                spmod = ones(matc,1)*spmod;

            end

        if ccons=='n' | ccons=='N'
            spmod=[];
            for i=1:matc

```

```

disp(['Exp. ' num2str(i)])
nmod=input('How many species are constrained to have unimodal concentration profiles? ');

    if nmod==nsign,
        spmod(i,:)=ones(1,nsign);
    elseif nmod == 0
        spmod(i,:) = zeros(1,nsign);
    else
        spmod(i,:)=input('Species with unimodal profiles, e.g. [0,1,...]? ');
    end
end
end

rmod=input('Unimodal constraint tolerance for the conc? ');
if rmod==1,rmod=1.0001;end
end

cmod=input('Unimodality implementation: vertical (0), horizontal (1), average (2)? ');

end

% *****
% CLOSURE CONSTRAINT
% *****

c3 = find(wcons == 3);
if ~isempty(c3)
    disp(' ');
    disp('DIRECTION OF THE CLOSURE')
    disp('Closure for concentration profiles (1)')
    disp('Closure for spectra (2)')
    dc = input('Specify closure direction ');

% *****
% closure for spectra
% *****

if dc == 2
    tclos1(1:matr)=zeros(1,matr);
    tclos2(1:matr)=zeros(1,matr);
    sclos1(1:matr,1:nsign)=zeros(matr,nsign);
    sclos2(1:matr,1:nsign)=zeros(matr,nsign);
    iclos(1:matr)=zeros(1,matr);
    iclos1(1:matr)=zeros(1,matr);
    iclos2(1:matr)=zeros(1,matr);
    disp('Number of closure constants to be included')
    disp('      0 = no closure')
    disp('      1 = one closure for the species spectra')
    disp('      2 = two closures for species spectra')

    for i= 1:matr
        disp(' ')
        disp(['S submatrix nr. ',num2str(i)])
        iclos(i)=input('Number of closure constants (0/1/2)? ');

        if iclos(i) ==2
            disp('Warning: there should not be common species to the two closures')

```

```

end

if iclos(i)==1 | iclos(i)==2,
    if vclos1==0,
        tclos1(i)=input('(first) closure constant is? ');
        disp('Closure condition')
        iclos1(i)=input('Equal condition (1) or "lower or equal than" condition (2)? ');
    else
        iclos1(i)=1;
    end
    sclos1(i,:)=input('which species are in (first) closure [1,0,1,...] ');
end

if iclos(i)==2,
    if vclos2==0,
        tclos2(i)=input('(second) closure constant is? ');
        disp('Closure condition')
        iclos2(i)=input('Equal condition (1) or "lower or equal than" condition (2)? ');
    else
        iclos2(i)=1;
    end
    sclos2(i,:)=input('which species are in (second) closure [1,0,1,...] ');
end
end
end
%*****
% closure for concentrations
%*****

if dc == 1
    disp('Number of closure constants to be included (select for each experiment)')
    disp('          0 = no closure')
    disp('          1 = one closure for the species concentrations')
    disp('          2 = two closures for species concentrations')

    tclos1(1:matc)=zeros(1,matc);
    tclos2(1:matc)=zeros(1,matc);
    sclos1(1:matc,1:nsign)=zeros(matc,nsign);
    sclos2(1:matc,1:nsign)=zeros(matc,nsign);
    iclos(1:matc)=zeros(1,matc);
    iclos1(1:matc)=zeros(1,matc);
    iclos2(1:matc)=zeros(1,matc);

    for i=1:matc,
        disp(' ')
        disp(['C submatrix nr. ',num2str(i)]),
        iclos(i)=input('Number of closure constants (0/1/2)? ');

        if iclos(i) ==2
            disp('Warning: there should not be common species to the two closures')
        end

        if iclos(i)==1 | iclos(i)==2,
            if vclos1==0,
                tclos1(i)=input('(first) closure constant is? ');
                disp('Closure condition')
                iclos1(i)=input('Equal condition (1) or "lower or equal than" condition (2)? ');
            else

```

```

        iclos1(i)=1
        end
        sclos1(i,:)=input('which species are in (first) closure [1,0,1,...] ');
    end
    if iclos(i)==2,
        if vclos2 ==0,
            tclos2(i)=input('(second) closure constant is? ');
            disp('Closure condition')
            iclos2(i)=input('Equal condition (1) or "lower or equal than" condition (2)');
        else
            iclos2(i)=1;
            end
            sclos2(i,:)=input('which species are in (second) closure [1,0,1,...] ');
        end
    end
end
end

end

if isempty(c3)

    disp(' ');disp(' ');disp(' ')
    disp('NO CLOSURE, NORMALIZATION OF THE S MATRIX (PURE SPECTRA) CAN BE
RECOMMENDED:')
    disp('Types of normalization: 0 = none'),
    disp('                1 = spectra (rows) equal height')
    disp('                2 = spectra (rows) equal length ')
    inorm=input('normalization 0, 1 or 2?: ');

end

% *****
% EQUALITY CONSTRAINTS IN CONC PROFILES
% *****

cons4 = find(wcons == 4);

% in input matrix csel finite values are known

if ~isempty(cons4)
if isempty(csel),
    disp(' ');disp(' ');disp(' ')
    disp('conc equality constraints matrix csel was not input'),
    return
else
    disp(' ');disp(' ');disp(' ')
    disp('CONC EQUALITY (known) /LOWER THAN (selectivity) CONSTRAINTS WILL BE
APPLIED !!!!'),
    type_csel=input('are they equality (0) or lower than (1) constraints? ');
    iisel=find(finite(csel));
    conc(iisel)=csel(iisel);
end
end

% *****
% EQUALITY CONSTRAINTS IN SPECTRA PROFILES
% *****

```

```

cons5 = find(wcons == 5);

% in input matrix ssel finite values are known

if ~isempty(cons5)
if isempty(ssel)
    disp(' ');disp(' ');disp(' ')
    disp('spectra equality constraints matrix ssel was not input'),
    return
else
    disp(' ');disp(' ');disp(' ')
    disp('SPECTRA EQUALITY (known) /LOWER THAN (selectivity) CONSTRAINTS WILL BE
APPLIED !!!'),
    type_ssel=input('are they equality (0) or lower than (1) constraints? ');
    jjsel=find(finite(ssel));
    abss(jjsel)=sssel(jjsel);
end
end

% *****
% SPECIFIC PROFILE SHAPE
% *****

c6 = find(wcons == 6);
if ~isempty(c6)
disp('Shape constraints are still being implemented')
end

% *****
% THREE-WAY STRUCTURE
% *****

c7 = find(wcons == 7);
if ~isempty(c7) | nexp > 1
disp(' ');disp(' ')
disp('STRUCTURE OF THREE-WAY DATA SETS')
disp('No trilinear (0)')
disp('trilinear, equal shape and synchronization (all species) (1)')
disp('trilinear without synchronization (all species), (2)')
disp('trilinear and synchronization for only some species, (3)')
ishape=input('Option selected (0/1/2/3)? ');

trildir=99;
spetric=zeros(1,nsign);
spetris=zeros(1,nsign);

if ishape==1|ishape==2|ishape==3
if datamod==3
disp(' ')
disp('APPLICATION OF THE TRILINEARITY CONSTRAINT')
disp('Application to C matrix (1)')
disp('Application to S matrix (2)')
disp('Application to C and S matrices (3)')
disp(' ')
trildir =input('Select the mode of application of the trilinearity constraint ');
end
if datamod==2

```

```

trildir=2;
elseif datamod ==1
trildir=1;
end
end

if trildir==1|trildir==3
    if ishape==1|ishape==2
        spetric=ones(1,nsign);
    end
    if ishape==3
        disp('enter the vector of trilinear C profiles [1,0,1,..] 1=yes , 0=no ')
        spetric(1,1:nsign)=input("");
    end
end

if trildir==2|trildir==3
    if ishape==1|ishape==2
        spetris=ones(1,nsign);
    end
    if ishape==3
        disp('enter the vector of trilinear S profiles [1,0,1,..] 1=yes , 0=no ')
        spetris(1,1:nsign)=input("");
    end
end

end

end

% *****
% DISPLAY GRAPHICAL RESULTS
% *****

gr=input('Do you want graphic output during the ALS optimization (y/n)? ','s');
if gr=='Y' | gr=='y'
    gr='y';
end

% *****
% CHECKING THE INITIAL INPUT
% *****

disp(' ')
answer=input('Is all the input information correct (y/n)? ','s');
if answer=='y' | answer=='Y',
    answer='y';
else
    answer='n';
end

% This end comes from the initial while
% *****
end
% *****

% *****
% C) REPRODUCTION OF THE ORIGINAL DATA MATRIX BY PCA
% *****

```

```

% dn is the experimental matrix and d is the PCA reproduced matrix

disp('***** Results obtained after application of PCA to the data matrix *****');
disp(' ');
dn=d;
[u,s,v,d,sd]=pcarep(dn,nsign);

disp(['Data reproduction with the considered number of species has an error ',num2str(sd)]);
disp(' ');disp(' ');disp(' ');
figure;
subplot(2,1,1);plot(u*s);title('Scores matrix')
subplot(2,1,2);plot(v);title('Loadings matrix')

disp('***** Press any key to start the ALS optimization *****')
pause

clc
sstn=sum(sum(dn.*dn));
sst=sum(sum(d.*d));
sigma2=sqrt(sstn);

% *****
% D) STARTING ALTERNATING CONSTRAINED LEAST SQUARES OPTIMIZATION
% *****

while niter < nit

niter=niter+1;

% *****
% E) ESTIMATE CONCENTRATIONS (ALS solutions)
% *****

conc=d/abss;

% *****
% CONSTRAIN APPROPRIATELY THE CONCENTRATIONS
% *****

% *****
% non-negativity
% *****

if ~isempty(c1)

if ineg==1|ineg==2

for i=1:matc

kinic=nrinic(i);
kfin=nrfn(i);
conc2=conc(kinic:kfin,:);

if ialg==0
    for k=1:nsign,
        if cneg(i,k)==1
            for j=1:kfin+1-kinic,

```

```

                                if conc2(j,k)<0.0,
                                    conc2(j,k)=0.0;
                                end
                            end
                        end
                    end
                end
            end

            if ialg==1
                for j=kinic:kfin
                    if cneg(i,:) == ones(1,size(isp,2))
                        x=lsqnonneg(abss',d(j,:));
                        conc2(j-kinic+1,:)=x';
                    end
                end
            end

            if ialg==2
                for j=kinic:kfin
                    if cneg(i,:) == ones(1,size(isp,2))
                        x=fnnls(abss*abss',abss*d(j,:));
                        conc2(j-kinic+1,:)=x';
                    end
                end
            end

            conc(kinic:kfin,:) = conc2;
        end
    end
end

% *****
% trilinearity
% *****

if ishape>=1
    if trildir==1|trildir==3
        for j=1:nsign,
            if spetric(j)==1,
                [conc(:,j),t]=trilin(conc(:,j),matc,ishape);
                totalconc(j,1:matc)=t;
                if totalconc(j,1)>0,
                    rt(j,1:matc)=totalconc(j,1:matc)./totalconc(j,1);
                else
                    rt(j,1:matc)=totalconc(j,1:matc);
                end
            end
        end
    end
end

% *****
% zero concentration species
% *****

if matc>1
    for i=1:matc,

```

```

        for j=1:nsign,
            if isp(i,j)==0,
                conc(nrinic(i):nrfin(i),j)=zeros(nrsol(i),1);
            end
        end
    end
end
end

% *****
% unimodality
% *****
for i = 1:matc

    kinic=nrinic(i);
    kfin=nrfin(i);
    conc2=conc(kinic:kfin,:);

    if imod==1|imod==3,
        for ii=1:nsign,
            if spmod(i,ii)==1,
                conc2(:,ii)=unimod(conc2(:,ii),rmod,cmod);
            end
        end
    end

    conc(kinic:kfin,:)=conc2;
end

% *****
% EQUALITY CONSTRAINTS IN CONC
% *****

if ~isempty(cons4)
    if type_csel==0,conc(iisel)=csel(iisel);end
    if type_csel==1
        for ii=1:size(iisel),
            if conc(iisel(ii))>csel(iisel(ii)),conc(iisel(ii))=csel(iisel(ii));end
        end
    end
end

% *****
% closure
% *****

if ~isempty(c3)

    if dc == 1
        for i = 1:matc

            kinic=nrinic(i);
            kfin=nrfin(i);
            conc2=conc(kinic:kfin,:);

```

```

if iclos(i)==1 | iclos(i)==2,
if tclos1(i) == 0
    vclos1n=vclos1(kinic:kfin,1);
end

if iclos(i) ==2 & tclos2(i)==0
    vclos2n=vclos2(kinic:kfin,1);
end

[conc2]=closure(conc2,iclos(i),sclos1(i,:),iclos1(i),tclos1(i),tclos2(i),sclos2(i,:),iclos2(i),vclos1n,vclos2n);
end
conc(kinic:kfin,:)=conc2;
end
end
end

```

```

% *****
% DISPLAY CONCENTRATION PROFILES
% *****

```

```

if gr=='y',
    subplot(2,1,1);plot(conc);title('Concentration profiles');
end

```

```

% *****
% QUANTITATIVE INFORMATION FOR THREE-WAY DATA SETS
% *****

```

```

% recalculation of total and ratio concentrations if ishape=0 or niter=1

```

```

if ishape==0 | niter==1,
    for j=1:nsign,
        for inexp=1:matc,
            totalconc(j,inexp)=sum(conc(nrinic(inexp):nrfin(inexp),j));
        end
        if totalconc(j,1)>0,
            rt(j,1:matc)=totalconc(j,1:matc)./totalconc(j,1);
        else
            rt(j,1:matc)=totalconc(j,1:matc);
        end
    end
end

```

```

% areas under concentration profiles
area=totalconc;

```

```

% *****
% ESTIMATE SPECTRA (ALS solution)
% *****

```

```

abss=conc\d;

```

```

% *****
% non-negative spectra
% *****

if ineg ==2 | ineg==3,

for i = 1:matr
kinic = ncinic(i);
kfin = ncfin(i);
abss2 = abss(:,kinic:kfin);

    if ialgs==0,
        for k=1:nsign,
            if spneg(k,i)==1
                for j=1:kfin+1-kinic,
                    if abss2(k,j)<0.0,
                        abss2(k,j)=0.0;
                    end
                end
            end
        end
    end

    if ialgs==1,
        for j=kinic:kfin,
            if spneg(:,i)== ones(size(isp,2),1)
                abss2(:,j-kinic+1)=lsqnonneg(conc,d(:,j));
            end
        end
    end

    if ialgs==2,
        for j=kinic:kfin,
            if spneg(:,i)== ones(size(isp,2),1)
                abss2(:,j-kinic+1)=fnnls(conc'*conc,conc'*d(:,j));
            end
        end
    end
abss(:,kinic:kfin)=abss2;
end
end

% *****
% trilinearity
% *****

if ishape>=1,
if trildir==2|trildir==3
    for j=1:nsign,
        if spetris(j)==1,
            [absst,t]=trilin(abss(j,:)',matr,ishape);
            abss(j,:)=absst';
        end
    end
end
end
end

```

```

% *****
% constrain the unimodality of spectra
% *****

for i = 1:matr
    kinic = ncinic(i);
    kfin = ncfin(i);
    abss2 = abss(:,kinic:kfin);

    if imod==2|imod==3,
        for j=1:nsign,
            if spsmod(i,j)==1
                dummy=unimod(abss2(j,:)','smod,cmod);
                abss2(j,:)=dummy';
            end
        end
    end
    abss(:,kinic:kfin)=abss2;
end

% *****
% EQUALITY CONSTRAINTS FOR SPECTRA
% *****

if ~isempty(cons5)
    if type_ssel==0,abss(jjssel)=sssel(jjssel);end
    if type_ssel==1
        for jj=1:size(jjssel),
            if abss(jjssel(jj))>sssel(jjssel(jj)),abss(jjssel(jj))=sssel(jjssel(jj));end
        end
    end
end

% *****
% closure in spectra (in case of inverted analysis D'=SC)
% *****

if ~isempty(c3)

    if dc==2,

        for i = 1:matr
            kinic = ncinic(i);
            kfin = ncfin(i);
            abss2 = abss(:,kinic:kfin);

            if iclos(i)==1 | iclos(i)==2,
                if tclos1(i) == 0
                    vclos1n=vclos1(kinic:kfin,1);
                end

            if iclos(i) ==2 & tclos2(i)==0
                vclos2n=vclos2(kinic:kfin,1);
            end

            abst = closure(abss2',iclos(i),sclos1(i,:),iclos1(i),tclos1(i),tclos2(i),sclos2(i,:),iclos2(i),vclos1n,vclos2n);

```

```

abss2=abst';
end
abss(:,kinic:kfin) = abss2;
end
end
end

% *****
% NORMALIZATION OF SPECTRA
% *****

% equal heighth

if inorm==1,
    maxabss=max(abss');
    for i=1:nsign,
        abss(i,:)=abss(i,:)/maxabss(i);
    end
end

% equal length

if inorm==2, abss=normv2(abss); end

% *****
% DISPLAY PURE SPECTRA
% *****

if gr=='y',
    subplot(2,1,2);plot(abss');title('Unit spectra');
    pause(1);
end

% *****
% CALCULATE RESIDUALS
% *****

res=d-conc*abss;
resn=dn-conc*abss;

% *****
% OPTIMIZATION RESULTS
% *****

disp(' ');disp(' ');disp(['ITERATION ',num2str(niter)]);
u=sum(sum(res.*res));
un=sum(sum(resn.*resn));
disp(['Sum of squares respect PCA reprod. = ', num2str(u)]);
sigma=sqrt(u/(nrow*ncol));
sigman=sqrt(un/(nrow*ncol));
disp(['Old sigma = ', num2str(sigma2),' ----> New sigma = ', num2str(sigma)]);
disp(['Sigma respect experimental data = ', num2str(sigman)]);
disp(' ');
change=((sigma2-sigma)/sigma);

if change < 0.0,
    disp(' ')
end

```

```

        disp('FITING IS NOT IMPROVING !!!')
        idev=idev+1;
    else,
        disp('FITING IS IMPROVING !!!')
        idev=0;
    end

    change=change*100;
    disp(['Change in sigma (%) = ', num2str(change)]);
    sstd(1)=sqrt(u/sst)*100;
    sstd(2)=sqrt(un/sstn)*100;
    disp(['Fitting error (lack of fit, lof) in % (PCA) = ', num2str(sstd(1))]);
    disp(['Fitting error (lack of fit, lof) in % (exp) = ', num2str(sstd(2))]);
    r2=(sstn-un)/sstn;
    disp(['Percent of variance explained (r2) is ', num2str(100*r2)]);

    % *****
    % If change is positive, the optimization is working correctly
    % *****

    if change>0 | niter==1,

        sigma2=sigma;
        copt=conc;
        sopt=abss;
        sdopt=sstd;
        ropt=res;
        rtopt=rt';
        itopt=niter;
        areaopt=area;
        r2opt=r2;
    end

    % *****
    % test for convergence within maximum number of iterations allowed
    % *****

    if abs(change) < tolsigma,

        % finish the iterative optimization because convergence is achieved

        disp(' ');disp(' ');
        disp('CONVERGENCE IS ACHIEVED !!!!')
        disp(' ')
        disp(['Fitting error (lack of fit, lof) in % at the optimum = ', num2str(sdopt(1,1)),'(PCA) ',
num2str(sdopt(1,2)), '(exp)']);
        disp(['Percent of variance explained (r2)at the optimum is ', num2str(100*r2opt)]);
        disp('Relative species conc. areas respect matrix (sample) 1at the optimum'),disp(rtopt')
        disp(['Plots are at optimum in the iteration ', num2str(itopt)]);
        subplot(2,1,1);plot(copt);title('conc profile in optimal iteration');
        subplot(2,1,2);plot(sopt');title('pure spectra in optimal iteration');
        return % 1st return (end of the optimization, convergence)
    end

    % finish the iterative optimization if divergence occurs 20 times consecutively

    if idev > 20,
        disp(' ');disp(' ');

```

```

disp('FIT NOT IMPROVING FOR 20 TMES CONSECUTIVELY (DIVERGENCE?), STOP!!!')
disp(' ')
disp(['Fitting error (lack of fit, lof) in % at the optimum = ', num2str(sdopt(1,1)),'(PCA) ',
num2str(sdopt(1,2)), '(exp)']);
disp(['Percent of variance explained (r2)at the optimum is ',num2str(100*r2opt)]);
disp('Relative species conc. areas respect matrix (sample) 1 at the optimum'),disp(rtopt)
disp(['Plots are at optimum in the iteration ', num2str(itopt)]);
subplot(2,1,1);plot(copt);title('conc profile in optimal iteration');
subplot(2,1,2);plot(sopt);title('pure spectra in optimal iteration');
return      % 2nd return (end of optimization, divergence)

end

% this end refers to number of iterations initially proposed exceeded

end

% finish the iterative optimization if maximum number of allowed iterations is exceeded

disp(' ');disp(' ');
disp('NUMBER OF ITERATIONS EXCEEDED THE ALLOWED!')
disp(' ')
disp(['Fitting error (lack of fit, lof) in % at the optimum = ', num2str(sdopt(1,1)),'(PCA) ',
num2str(sdopt(1,2)), '(exp)']);
disp(['Percent of variance explained (r2)at the optimum is ',num2str(100*r2opt)]);
disp('Relative species conc. areas respect matrix (sample) 1 at the optimum'),disp(rtopt)
disp(['Plots are at optimum in the iteration ', num2str(itopt)]);
subplot(2,1,1);plot(copt);title('conc profile in optimal iteration');
subplot(2,1,2);plot(sopt);title('pure spectra in optimal iteration');
return      % 3rd return (end of optimization, number of iterations exceeded)

```

```
function Maestro
%fjakdjfjadjfnl
K0=[1.0e-3 2.0e-2 1.0e-2 1.0e-3];
M0=[0 0 0 0.000448];
%ArchivoDatos='copt_geop3_20a_5nr';%'copt_geop3_20a_5nr';
ArchivoDatos='prueba.mat';%'copt_geop3_20a_5nr';

load(ArchivoDatos,'copt','tr')
TiempoFinal=tr(end);
opciones=optimset('display','iter');
[K,ErrorK,Bandera]=fminsearch('CalcularError',K0,opciones,ArchivoDatos,M0,TiempoFinal);
%[K,ErrorK,Bandera]=fmincon('CalcularError',K0,[],[],[],[],[],'Restric',opciones,ArchivoDatos,M0,Tie
mpoFinal);
%[K,ErrorK,Bandera]=fzero('CalcularError',K0,opciones,ArchivoDatos,M0,TiempoFinal);

if Bandera<1
    msgbox('No dio')
end %if

%load(ArchivoDatos,'copt','tr')
[t,M]=ResolverEcDiferenciales(K,M0,TiempoFinal);
save MisResultados.mat K t M ErrorK Bandera

for i=1:size(copt,2)
    subplot(2,3,i)
    plot(t,M(:,i),'r')
    hold on
    plot(tr,copt(:,i),'b')
    title(['conc.',int2str(i)])
    legend(['conc.',int2str(i)],'Exp')
end %for i
```

```
function ErrorBalances=CalculateError(K0,ArchivoDatos,M0,TiempoFinal)
M0=[0 0 0 0.000448];
load(ArchivoDatos,'copt','tr')
[t,M]=ResolverEcDiferenciales(K0,M0,TiempoFinal);

coptM=zeros(size(copt));
for i=1:size(coptM,2)
    coptM(:,i)=interp1(t,M(:,i),tr);
end %for i

ErrorBalances=sqrt(sum(sum((coptM-copt).^2))/(sum(sum(copt.^2))))*100;

IndMNegativas=find(coptM(:)<0);
if ~isempty(IndMNegativas)
    Penal=sum(abs(coptM(IndMNegativas)))*1000;
    ErrorBalances=ErrorBalances+Penal;
end %if
```

ALGORITMO: RESOLVER ECUACIONES DIFERENCIALES_ Iván Ordóñez

```
function [t,M]=ResolverEcDiferenciales(K,M0,TiempoFinal)
tspan=[0 TiempoFinal];
odefun=@EcuacionesDiferenciales;
[t,M]=ode23(odefun,tspan,M0,[],K);
```

ALGORITMO: ECUACIONES DIFERENCIALES_ Iván Ordóñez

```
function DMDT = EcuacionesDiferenciales(t,M,K)
A=M(1);
E=M(2);
L=M(3);
H=M(4);
%J=M(5);

K1=K(1);
K3=K(2);
K5=K(3);
K8=K(4);
%K9=K(5);
%K11=K(6);
%K12=K(7);

%[t*100,A]
DADT=K1*(0.1-A);
DEDT=K3*(0.0000000031113-E);
DLDT=K5*(0.0000000031113-L);
DHDT=-K8*(H);
%DJDT=K9*(0.283-J)-K11*(0.283-H);

DMDT(1)=DADT;
DMDT(2)=DEDT;
DMDT(3)=DLDT;
DMDT(4)=DHDT;
%DMDT(5)=DJDT;

DMDT=DMDT';
```