

Structure and conformation of anthocyanins

## ESTUDIO ESTRUCTURAL Y CONFORMACIONAL DE LAS ANTOCIANIDINAS: PELARGONIDINA, CIANIDINA Y DELFINIDINA

Nicolas A. Szewczuk <sup>\*1</sup>, Rosana M. Lobayan <sup>2</sup>, Pablo R. Duchowicz <sup>1</sup> y  
Alicia B. Pomilio <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), CONICET, Universidad Nacional de La Plata (UNLP), Diag. 113 y 64, C.C. 16, Sucursal 4, B1900 La Plata, Argentina.

<sup>2</sup> Departamento de Física, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura, Universidad Nacional del Nordeste, Avda. Libertad 5300, 3400 Corrientes, Argentina.

<sup>3</sup> Laboratorio de Química y Bioquímica Estructural, Departamento de Bioquímica Clínica, Área Hematología, Hospital de Clínicas “José de San Martín”, Universidad de Buenos Aires, Av. Córdoba 2351, C1120AAF Buenos Aires, Argentina.

\* **Autor Corresponsal:** nicolas.szewczuk@hotmail.com

*Recibido: 15 de noviembre de 2022 Aceptado: 18 de diciembre de 2022*

### Resumen

Esta investigación trata de una visión detallada del espacio conformacional de las tres antocianidinas hidroxiladas, como pelargonidina, cianidina y delfinidina. Se realizaron escaneos rígidos de los ángulos diedros de interés para la comprensión de las estructuras químicas de este tipo de compuestos, así como de las diferentes disposiciones espaciales que adoptan. Los conformeros planos (P) y no planos (Z) obtenidos por esta búsqueda sistemática integral se analizaron en el nivel teórico B3LYP/6-311++G\*\*. Por medio de rotaciones rígidas, seguidas por optimizaciones completas tanto de los máximos como los mínimos de energía, se estimaron las variaciones de energía en relación a la flexibilidad de estos compuestos. De esta manera, se estimaron las restricciones energéticas en función de la libre rotación de los diferentes enlaces. Se presenta una nomenclatura completa y detallada, con el fin de agilizar el estudio de estos compuestos, agrupando los conformeros según características estructurales en común. Se analizaron en detalle los aspectos geométricos de los diferentes conformeros optimizados, destacando similitudes y diferencias entre los mismos. Derivado del análisis geométrico, se encontraron aspectos estructurales novedosos que no se encuentran en línea con la representación típica de sal de oxonio para estos compuestos.

**Palabras Clave:** Antocianidinas; pelargonidina; cianidina; delfinidina; espacio conformacional.

## Abstract

This research deals with a detailed view of the conformational space of the three hydroxylated anthocyanidins, such as pelargonidin, cyanidin and delphinidin. Rigid scans of the dihedral angles of interest were carried out to understand the chemical structures of this type of compounds, as well as the different spatial arrangements adopted. Planar (P) and non-planar (Z) conformers from this comprehensive systematic search were analyzed at the theoretical level B3LYP/6-311++G\*\*. Through rigid rotations and subsequent full optimizations of both the maximum and the minimum energies, estimates of the energy variations in relation to the flexibility of these compounds were achieved. Therefore, energy constraints were estimated based on the different bond free rotations. A complete and detailed nomenclature is shown, in order to speed up the study of these compounds, grouping conformers according to common structural characteristics. The geometric features of the optimized conformers were analyzed, highlighting similarities and differences between them. Derived from the geometric analysis, novel structural contributions were found that are not in line with the typical representation of oxonium salt for these compounds.

**Keywords:** *Anthocyanidins; pelargonidin; cyanidin; delphinidin; conformational space.*

## 1. Introducción

Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles naturales e inoocuos, pertenecientes a la familia de los flavonoides, que se encuentran comúnmente en frutos, hojas, flores, tallos y tubérculos, junto con carotenoides, betacianinas o betalaínas y derivados de tetrapirrol [1]. Estructuralmente, las antocianinas son *O*-glucósidos de las antocianidinas (agliconas), que se encuentran como sales de flavilio, también llamadas sales de oxonio, representadas por una carga positiva en O-1. En realidad, esta carga positiva se encuentra deslocalizada a lo largo de los tres anillos aromáticos conjugados (A, B y C).

Las antocianinas presentes en los vegetales han mostrado una variedad de aplicaciones medicinales y usos como tintes o colorantes alimentarios para reemplazar a los sintéticos. Además, los alimentos ricos en antocianinas forman parte de los denominados alimentos funcionales por sus características nutraceuticas [2]. Las antocianinas han demostrado ser efectivas en la prevención de diversas enfermedades crónicas, como las enfermedades cardiovasculares [3,4], la diabetes, la osteoartritis y la obesidad [5–7], así como para retrasar el proceso de envejecimiento, disminuyendo el riesgo de trastornos neurodegenerativos como el Alzheimer [8–10], mejora de la visión [11] y tratamiento del cáncer [12]. Los posibles efectos antitumorales de las antocianinas se basan en las actividades antioxidantes, antiinflamatorias,

antimutagénicas y antiangiogénicas, la inducción de la diferenciación celular, la inhibición de la proliferación mediante la modulación de las vías de transducción de señales, la inducción de la detención del ciclo celular y la estimulación de la apoptosis o autofagia de las células cancerosas [13]. La acción antiinvasiva y antimetastásica de las antocianinas, con reversión de la resistencia de las células cancerosas a los fármacos, y aumento de la sensibilidad a la quimioterapia [14].

Nuestros laboratorios tienen experiencia en aislamiento, purificación e identificación de nuevas estructuras de flavonoides bioactivos desde 1970, incluidos estudios de bioactividad, conformacionales, semiempíricos y *ab initio* (algunos artículos de investigación desde 2010 están incluidos en la lista de referencia). En particular, hemos llevado a cabo investigaciones sobre las estructuras y bioactividades de antocianinas aciladas, flavonoides (catequinas y proantocianinas), flavonoides monoméricos y diméricos [15–18], así como relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR) de flavonoides y biflavonoides como neuraminidasa inhibidor del virus de la influenza H1N1 [19], y estudios 2D- y 3D-QSAR de flavonoides, biflavonas y chalconas como agentes antivirales, antibacterianos, antifúngicos y antimicobacterianos [20] y actividades antialimentarias contra insectos [21] y actividad insecticida [22]. También se realizaron estudios QSAR de flavonas como posibles compuestos con actividad ansiolítica [23,24], y como inhibidores de aldosa reductasa para la prevención de la formación de cataratas [25].

Por otro lado, se estudiaron las características conformacionales, las estructuras electrónicas y los efectos de los solventes en fenilflavanos no sustituidos y sustituidos, como los isómeros *Z* de ( $4\alpha \rightarrow 6''$ ,  $2\alpha \rightarrow O \rightarrow 1''$ )-fenilflavanos, pertenecientes al grupo de las proantocianidinas diméricas tipo A, y también las catequinas, analizando la estabilidad y reactividad en vacío y en solución acuosa, entalpías de disociación de enlaces y potenciales de ionización [26–34].

Uno de los primeros estudios QSAR sobre antocianinas se desarrolló recientemente en nuestro grupo de investigación, involucrando su actividad antioxidante, dando lugar a modelos de valor predictivo para el diseño de nuevos antioxidantes [35]. Recientemente, también informamos el análisis QSAR para la inhibición de la actividad mutagénica de las antocianinas [36].

La planaridad de las antocianidinas ha sido objeto de debate durante las últimas cinco décadas. Incluso el análisis de estructuras de rayos X de antocianidinas, como punto de partida para la investigación teórica geométrica, no resultó exitoso ya que el

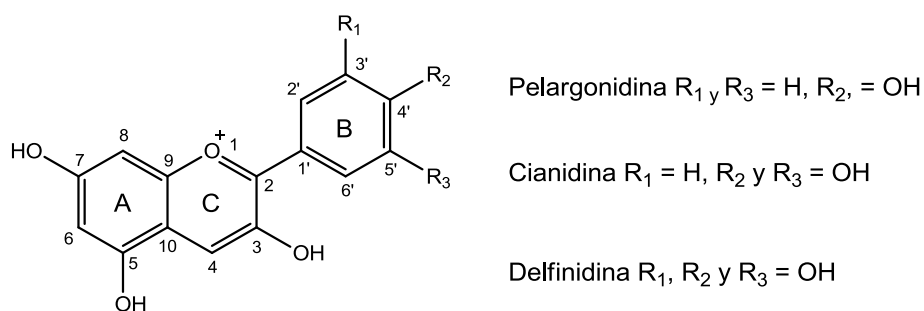
empaquetamiento de cristales puede inducir restricciones severas que no existen en vacío ni en solución. Los primeros estudios, que optaron por métodos semiempíricos, informaron que el residuo benzopirilio y el anillo B eran aproximadamente planos, posiblemente estabilizados por la interacción entre el heteroátomo de oxígeno en el anillo C y los átomos de hidrógeno en el anillo B, o entre los átomos de hidrógeno en estos anillos [37,38]. De acuerdo con la mayoría de los estudios teóricos, las antocianidinas son sistemas cuasiplanares sujetos a la rotación libre del anillo B, lo que resulta en una amplia distribución de isómeros rotacionales en condiciones ambientales [39–42]. Por lo tanto, sustituyentes voluminosos como azúcares en las antocianinas, pueden impedir la rotación libre del anillo B. Los funcionales híbridos, ampliamente utilizados para los cálculos basados en la teoría del funcional de la densidad (DFT), pueden describir bien el potencial de torsión y la distribución conformacional de las antocianidinas. Los valores informados en la literatura para el ángulo diedro O-C2-C1'-C2' están en el rango de -10 a +8 grados, dependiendo de los sustituyentes en la sal de flavilio y el método/conjunto base adoptado para los cálculos [39,42].

Recientemente hemos realizado un estudio electrónico estructural de las tres agliconas que contienen sustituyentes oxidrilos en el anillo B (pelargonidina, cianidina y delphinidina), permitiendo relacionar aspectos estructurales y conformacionales con actividades biológicas de interés (actividad antioxidante y antimutagénica) [43]. En el presente trabajo, se realizó una búsqueda exhaustiva y sistemática del espacio conformacional de las antocianidinas pelargonidina, cianidina y delphinidina, como así también un análisis geométrico estructural.

## 2. Materiales y Métodos

El estudio computacional se llevó a cabo usando la teoría del funcional de la densidad (DFT) implementada en los programas de Gaussian 09 (<https://gaussian.com/>) [44]. El análisis del espacio conformacional y el funcional de intercambio de tres parámetros de Becke [45], sumado al funcional de correlación de Lee, Yang y Parr [46], dieron lugar al híbrido funcional conocido como B3LYP. Para los cálculos se usó el nivel de teoría B3LYP/6-311G++(d,p).

Las estructuras químicas de las antocianidinas en estudio se muestran en la **Fig. 1**. Se utilizaron las reglas de nomenclatura y numeración según IUPAC [47].



**Figura 1.** Estructura química de pelargonidina, cianidina y delfinidina.

El estudio del espacio conformacional de pelargonidina, cianidina y delfinidina se realizó fijando la posición de los grupos hidroxilo, como HO-3, HO-5, HO-7, HO-3', HO-4' y HO-5'.

Se realizaron escaneos rígidos de  $10^\circ$  para los ángulos diedros ( $\tau$ ) H-O-C3-C2, O-C2-C1'-C2', H-O-C5-C6, H-O-C7-C6 y H-O-C4'-C3' en pelargonidina, cianidina y delfinidina. También se estudiaron variaciones similares para  $\tau$  H-O-C3'-C4' en cianidina y delfinidina, y  $\tau$  H-O-C5'-C4' en delfinidina. Esto permitió conocer las superficies de energía potencial de los compuestos en estudio. Con base en este conocimiento, se seleccionaron los conformeros de mínima y máxima energía, que luego se optimizaron al mismo nivel de teoría, con las geometrías completamente relajadas.

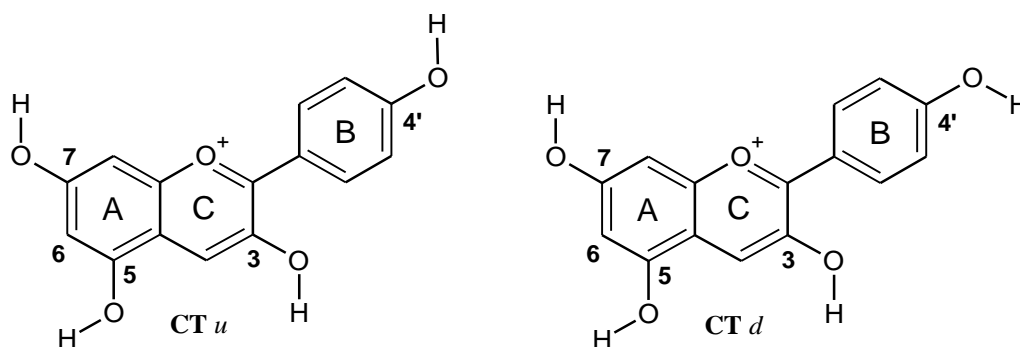
Con las estructuras optimizadas, se determinaron las distancias de enlace, los ángulos de enlace y los ángulos diedros de interés para realizar el análisis de la estructura geométrica de cada antocianidina en estudio.

### 3. Resultados y Discusión

#### 3.1. Nomenclatura

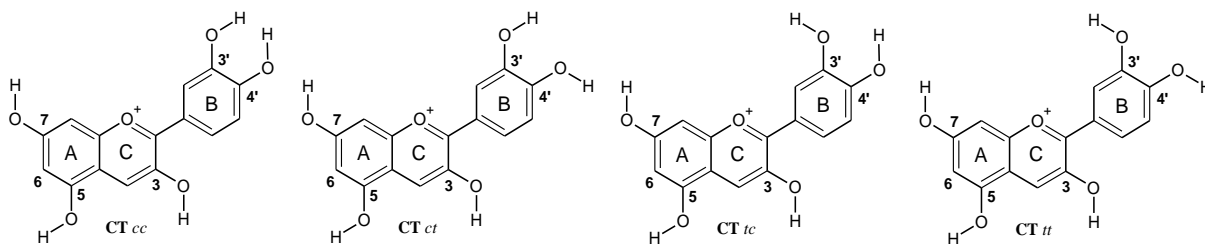
Los conformeros se clasificaron en *syn* (*cis*) y *anti* (*trans*) de acuerdo con la disposición de los enlaces H-O5 y H-O7 en el anillo A en relación con los enlaces C5-C6 y C6-C7 respectivamente.

Por lo tanto, los ángulos diedros H-O5-C5-C6 y H-O7-C7-C6 estaban cerca de  $0^\circ$  para arreglos **C** (*cis*) y cerca de  $180^\circ$  para **T** (*trans*). Pelargonidina tiene un solo hidroxilo en el anillo B (HO-4'), mostró dos conformaciones llamadas **u** (*arriba*) y **d** (*abajo*) (**Fig. 1**) según la ubicación del enlace HO-O4'. Un ángulo diedro cercano a  $180^\circ$  con respecto a C-3' (**Fig. 2**) dio **d**, mientras que cercano a  $0^\circ$  llevó a **u**.



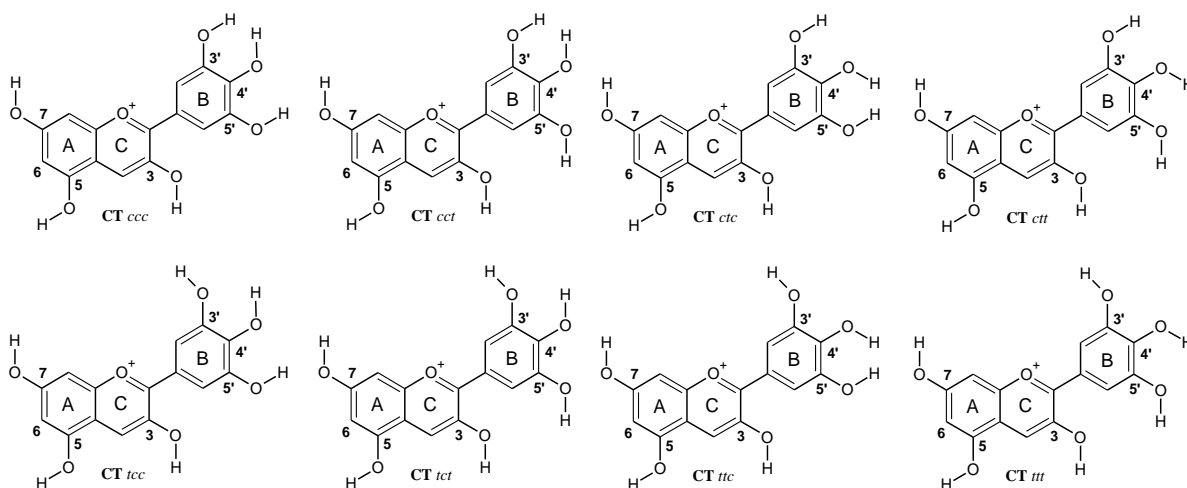
**Figura 2.** Estructuras *u* (arriba) y *d* (abajo) de pelargonidina según la orientación de HO-4'.

Cianidina tiene dos hidroxilos (HO-3' y HO-4') en el anillo B; dio las estructuras *cc*, *ct*, *tc* o *tt* según la disposición de los enlaces H-O3' y H-O4' con respecto a el enlace C3'-C4' (**Fig. 3**). Estos arreglos se nombraron utilizando un criterio similar al abordado en la estructura similar al resorcinol del anillo A. Los arreglos *c* (*cis*) o *t* (*trans*) representan ángulos diedros cercanos a 0° o 180° para H-O3'-C3'-C4' y H-O4'-C4'-C3' respectivamente.



**Figura 3.** Estructuras *cc*, *ct*, *tc* o *tt* de cianidina según la disposición de los enlaces H-O3' y H-O4' en relación con el enlace C3'-C4'.

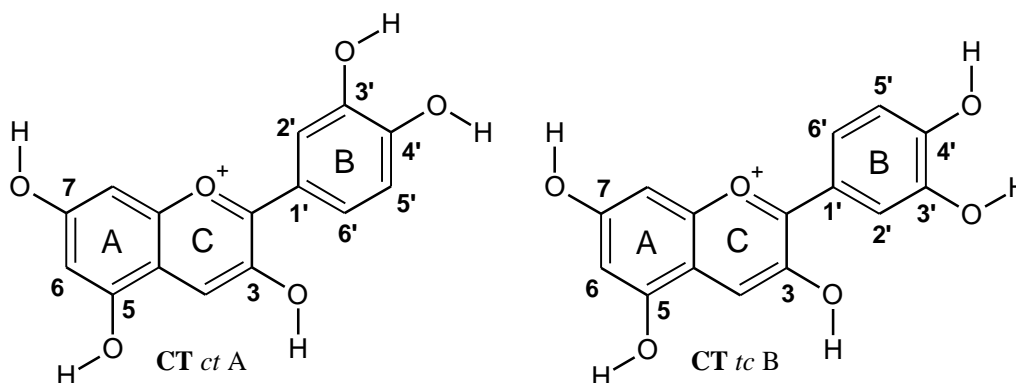
Delfinidina tiene tres hidroxilos en el anillo B, como HO-3', HO-4' y HO-5'. La orientación de HO-5' se definió de acuerdo con la disposición del enlace H-O5' con respecto al enlace C4'-C5' (**Fig. 4**).



**Figura 4.** Estructuras *ccc*, *cct*, *ctc*, *ctt*, *tcc*, *tct*, *ttc*, o *ttt* de delphinidina según los arreglos H-O3' y H-O4' con respecto al enlace C3'-C4', y el de H-O5' con respecto a C4'-C5'.

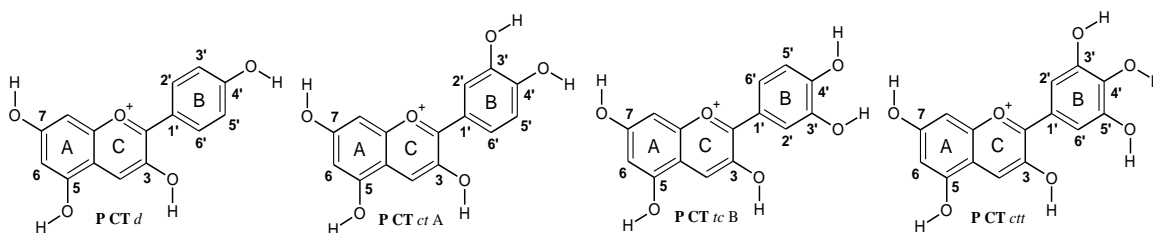
La aparición de HO-3' y HO-4' en el anillo B de cianidina resultó en una singularidad. La rotación del anillo B alrededor del eje del enlace C2-C1' dio lugar a dos estructuras distintas, denominadas **A** o **B** (**Fig. 5**). Estas estructuras se caracterizaron por un ángulo diedro O-C2-C1'-C2' cercano a 0° para **A** y cercano a 180° para **B**.

La estructura **A** mostró un patrón de sustitución 3',4'. En la estructura **B**, HO-3' estaba espacialmente más cerca de HO-3 [HO-3' era equivalente a HO-5' de **A** cuando se numeraba en el sentido de las agujas del reloj (patrón de sustitución de 4', 5')]. En consecuencia, se definieron dos patrones de sustitución 3',4' y 4',5' no equivalentes.



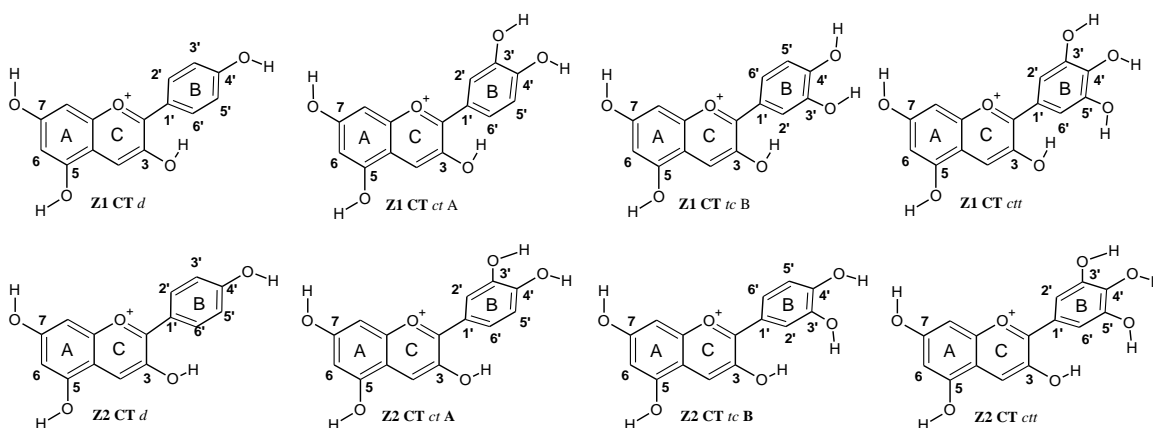
**Figura 5.** Estructuras **A** y **B** de la cianidina según la disposición de los dos hidroxilos en el anillo B.

Las estructuras que presentan los anillos AC-B en un mismo plano, se nombran como **P** al inicio de cada nombre (**Fig. 6**).



**Figura 6.** Estructuras **PCTd**, **PCTctA**, **PCTtcB** y **PCTctt** mostrando la coplanaridad de los anillos AC-B.

Ciertas estructuras no presentan la coplanaridad entre los anillos AC-B, mostrando valores distintos a  $0^\circ$  o  $180^\circ$  para el ángulo diedro O-C2-C1'-C2'. En estos casos, el HO-3 se ubica hacia el anillo B, presentando valores para el ángulo diedro H-O3-C3-C2 que rondan  $-20^\circ$  o  $20^\circ$ . Este comportamiento se combina con la rotación del ángulo diedro O-C2-C1'-C2', tomando valores cercanos a  $-30^\circ$  o  $30^\circ$  para pelargonidina, cianidina **A** y delphinidina, o valores cercanos a  $-150^\circ$  o  $150^\circ$  para cianidina **B**. Cuando el HO-3 se ubica por encima del anillo B se nombra como **Z1**, mientras que si se ubica por debajo del anillo B como **Z2** (**Fig. 7**).



**Figura 7.** Disposiciones **Z1** y **Z2** para los arreglos **CTd**, **CTctA**, **CTtcB** y **CTctt**.

### 3.2. Espacio conformacional

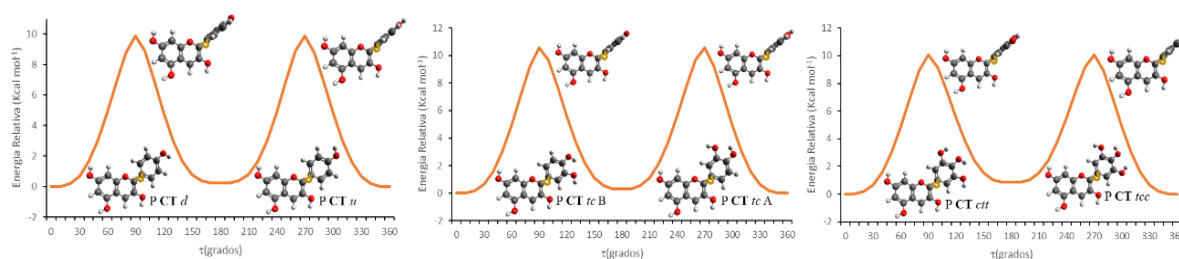
A partir de los arreglos tipo **CT** y el HO-3 con un ángulo diedro C2-C3-O-H de  $180^\circ$ , que representa la estructura de más baja energía para cada compuesto, se analizó el efecto de la rotación del anillo B a intervalos de  $10^\circ$  en las estructuras **d**, **tcB**, y **ctt** alrededor del eje de enlace C2-C1' (**Fig. 8**). Se adquirieron posiciones energéticamente favorables en el anillo B manteniendo la coplanaridad con los anillos A y C. A partir de este análisis, sólo dos estructuras fueron viables para cada compuesto, por ejemplo,



pelargonidina **P CT d** y **P CT u**, cianidina **P CT tc B** y **P CT tc A**, y delfinidina **P CT ctt** y **P CT tcc**, siendo la segunda estructura menos estable que la primera.

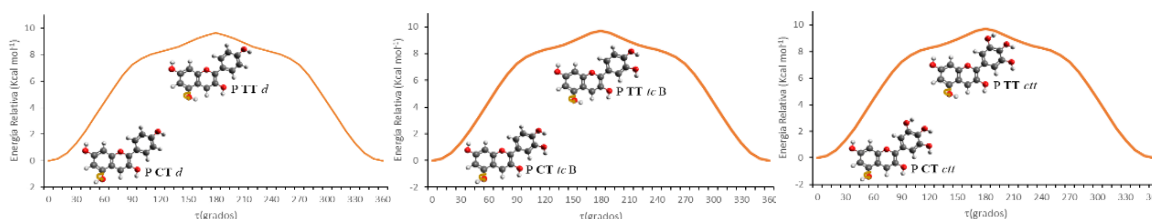
Como era de esperar, las variaciones máximas de energía se alcanzaron a rotaciones de  $90^\circ$  para todos los casos, es decir, cuando el anillo B se ubica perpendicularmente al anillo C.

Los máximos de energía a  $90^\circ$  y  $270^\circ$  para el ángulo diedro O-C2-C1'-C2' se optimizaron, no encontrándose conformeros no planos.



**Figura 8.** Energía de los conformeros pelargonidina **P CT d**, cianidina **P CT tc B** y delfinidina **P CT ctt**, al variar el ángulo diedro O-C2-C1'-C2', describiendo la rotación del anillo B con respecto al eje del enlace C2-C1'.

Todas las antocianidinas en estudio contenían HO-5 y HO-7, definiendo una distribución del tipo resorcinol en el anillo A. La rotación del enlace O5-H a intervalos de  $10^\circ$  alrededor del eje del enlace C5-O5 en pelargonidina, cianidina y delfinidina se muestra en la **Fig. 9**. Por lo tanto, el arreglo más estable (el único arreglo de energía mínima) para HO-5 se logró a  $0^\circ$  con respecto al enlace C6-C5, alcanzando para la orientación desfavorecida la máxima energía a  $180^\circ$ .

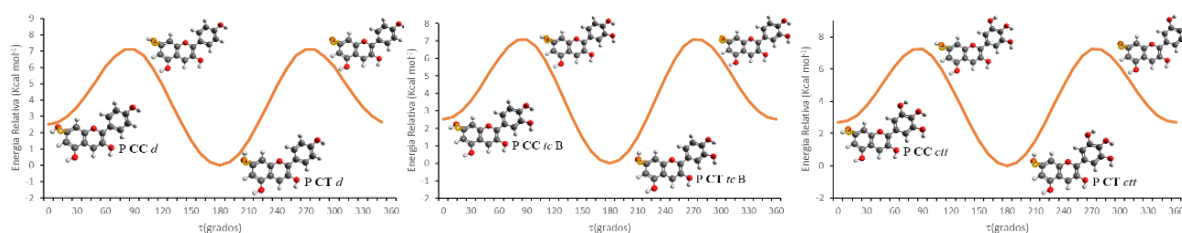


**Figura 9.** Energía de los conformeros pelargonidina **P CT d**, cianidina **P CT tc B** y delfinidina **P CT ctt**, al variar el ángulo diedro C6-C5-O5-H, describiendo la rotación del enlace O5-H con respecto al eje del enlace C5-O5.

La rotación del enlace O7-H a intervalos de  $10^\circ$  alrededor del eje del enlace C7-O7 en pelargonidina, cianidina y delfinidina se muestra en la **Fig. 10**. Esto surgió de la variación del ángulo diedro C6-C7-O7-H.

Cada compuesto bajo estudio mostró las estructuras de menor energía a  $180^\circ$  y las estructuras de mayor energía a  $90^\circ$  y  $270^\circ$  con HO-7 fuera del plano del anillo A. La

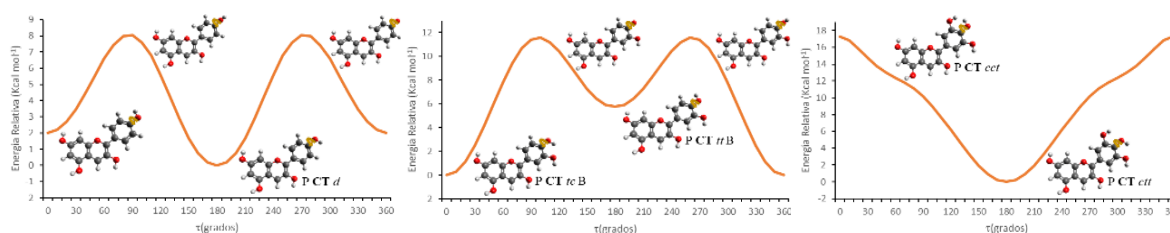
ubicación espacial de HO-5 y HO-7 en el mismo plano del anillo A estabilizó la estructura de la molécula.



**Figura 10.** Energía de los conformeros pelargonidina **P CT d**, cianidina **P CT tc B** y delphinidina **P CT ctt** al variar el ángulo diedro C6-C7-O7-H, describiendo la rotación del enlace O7-H con respecto al eje del enlace C7-O7.

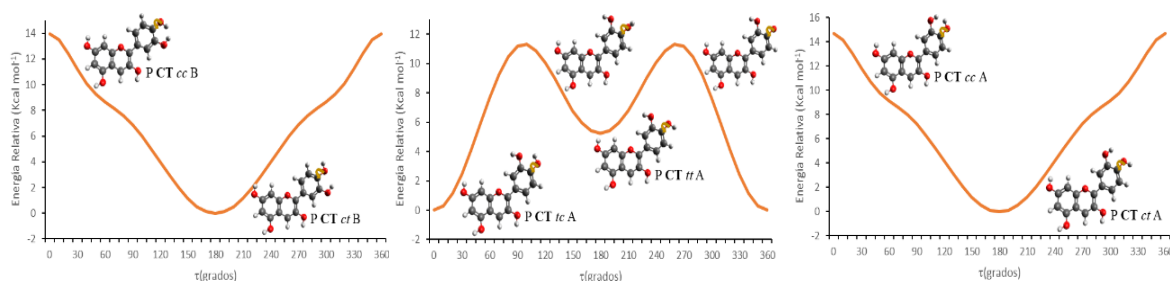
La rotación del enlace O4'-H con respecto al eje del enlace C4'-O4' (variación del ángulo diedro C3'-C4'-OH) desde 0° a intervalos de 10°, en cada una de las tres antocianidinas, se muestra en la **Fig. 11**.

Para pelargonidina, sólo se infirieron dos conformeros, **P CT d** y **P CT u**, siendo el segundo menos estable que el primero, como se analizó anteriormente. Los máximos de energía se alcanzaron a 90° y 270°, considerando estructuras con HO-4' fuera del plano del anillo B. Cianidina **P CT tc B** mostró la mínima energía a 0° y la máxima energía a 90° y 270°, similar al análisis anterior. Apareció un mínimo local a 180°, debido a la desestabilización producida por la repulsión estérica entre HO-3' y HO-4'. La conformación con ambos hidroxilos orientados hacia la misma dirección, en el sentido de las agujas del reloj, se encontró a 0° (energía más baja). Después de la adición de otro sustituyente, como HO-5' en delphinidina **P CT ctt**, se mostró un único mínimo a 180°. El máximo de energía a 0° representó la repulsión estérica entre los dos hidrógenos de HO-3' y HO-4', ambos enfrentados. Una vez más, la disposición coordinada en el sentido de las agujas del reloj de los tres sustituyentes del anillo B proporcionó una mayor estabilidad al conformero.



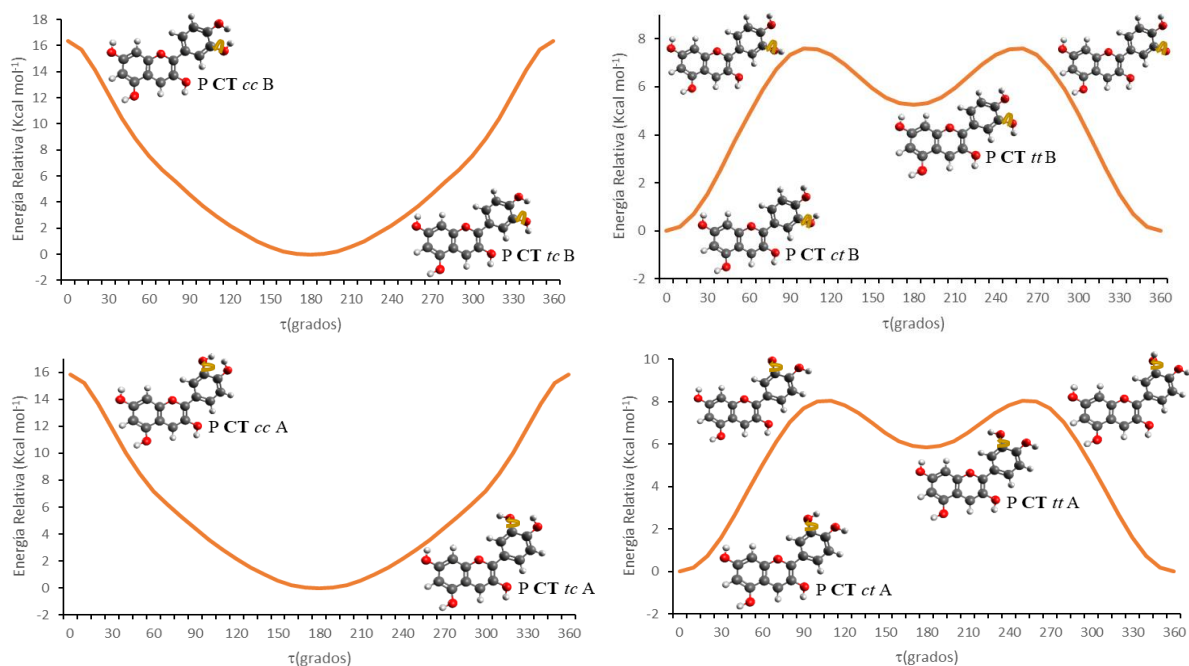
**Figura 11.** Energía de los conformeros pelargonidina **P CT d**, cianidina **P CT tc B** y delphinidina **P CT ctt**, al variar el ángulo diedro C3'-C4'-O-H describiendo la rotación del enlace O4'-H con respecto al eje del enlace C4'-O4'.

Para encontrar todas las disposiciones posibles del anillo B en cianidina, también se analizó la variación del ángulo diedro C3'-C4'-OH desde 0° a intervalos de 10° en los conformeros **P CT *ct* B**, **P CT *tc* A** y **P CT *ct* A**, como se muestra en la **Fig. 12**. Cianidina **P CT *ct* B** mostró un mínimo de energía a 180° y un máximo de energía a 0°, similar a cianidina **P CT *ct* A**. Por el contrario, la curva para cianidina **P CT *tc* A** se asemeja a la obtenida para cianidina **P CT *tc* B**, donde el mínimo de energía se alcanzó a 0° y dos máximos de energía a 90° y 270°, en los que HO-4' se encontraba fuera del plano del anillo B. Al observar las estructuras, la disposición opuesta de HO-3' y HO-4' en el anillo B desestabilizó significativamente la molécula, principalmente debido a los efectos estéricos. Este arreglo ocurrió en cianidina **P CT *ct* B** y **P CT *ct* A**, donde la repulsión entre los hidroxilos HO-3' y HO-4' produce mayor desestabilización que la ubicación fuera del plano de alguno de estos hidroxilos. Cuando se observa el gráfico para cianidina **P CT *tc* B** y **P CT *tc* A**, los máximos de energía se muestran cuando el HO-4' se desplaza fuera del plano del anillo B. Se logró un mínimo de energía local a 180°, cuando HO-3' y HO-4' se disponen hacia direcciones opuestas. Cabe mencionar que tanto la orientación en sentido de las agujas del reloj (para cianidina **P CT *tc* B**) como en sentido contrario a las agujas del reloj (para cianidina **P CT *tc* A**) proporcionó estabilidad a la molécula.



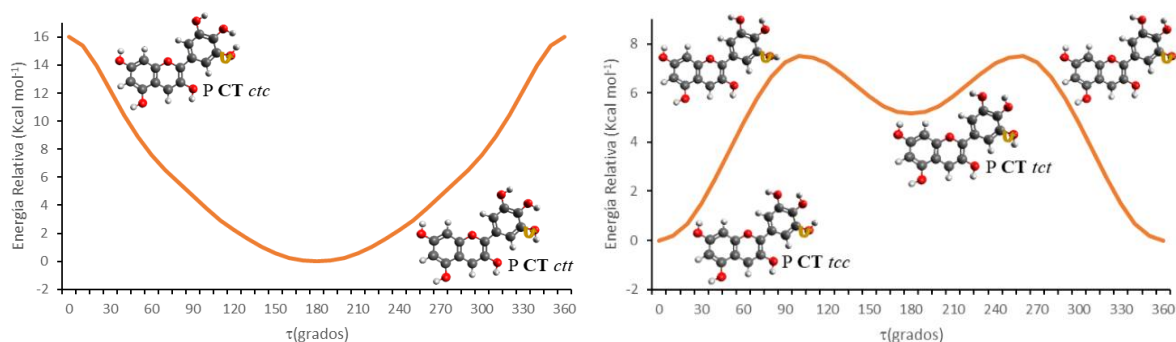
**Figura 12.** Energía de los conformeros cianidina **P CT *ct* B**, **P CT *tc* A** y **P CT *ct* A** al variar el ángulo diedro C3'-C4'-O-H, describiendo la rotación del enlace O4'-H con respecto al eje del enlace C4'-O4'.

Cuando se consideró el ángulo diedro C4'-C3'-O-H se obtuvieron curvas similares a las mencionadas anteriormente. Las tendencias y comportamientos se mantuvieron, alcanzando mínimos de energía cuando los hidroxilos estaban orientados en sentido horario o antihorario, como se muestra en la **Fig. 13**. La rotación del enlace O3'-H con respecto al eje del enlace C3'-O3' de cianidina **P CT *tc* B**, **P CT *ct* B**, **P CT *tc* A** y **P CT *ct* A**, condujeron a los conformeros de mayor energía **P CT *cc* B**, **P CT *tt* B**, **P CT *cc* A** y **P CT *tt* A** respectivamente.



**Figura 13.** Energía de los conformeros cianidina **P CT tc B**, **P CT ct B**, **P CT tc A**, and **P CT ct A**, al variar el ángulo diedro C4'-C3'-O-H, describiendo la rotación del enlace O3'-H con respecto al eje del enlace C3'-O3'.

Dado que la rotación del enlace O3'-H con respecto al eje del enlace C3'-O3' para delfinidina proporcionó resultados similares a los mencionados anteriormente, se realizó un escaneo rígido desde 0° a intervalos de 10° rotando el enlace O5'-H respecto al eje del enlace C5'-O5' (variación del ángulo diedro C4'-C5'-O-H) en delfinidina (**Fig. 14**). La estructura de delfinidina **P CT ctt** alcanzó el mínimo de energía a 180° y el máximo de energía a 0°. Este comportamiento fue consistente con la explicación anterior, donde la mayor estabilidad se logró coordinando los sustituyentes en sentido de las agujas del reloj y luego aumentando la energía hasta alcanzar un pico máximo, donde se encuentra la mayor repulsión estérica con HO-4'. Por otra parte, la curva de delfinidina **P CT tcc** explica el otro comportamiento descrito anteriormente, donde el mínimo de energía se alcanza a 0° y el máximo de energía a 90° y 270°. El mínimo está relacionado con la orientación coordinada en sentido antihorario de los tres hidroxilos en el anillo B y el máximo con la ubicación de HO-5' fuera del plano del anillo B. El mínimo de energía local a 180° (**P CT tct**) proporcionó información sobre el hecho de que no sólo los efectos estéricos entre los sustituyentes juegan un papel importante, sino también que la disposición en sentido horario o antihorario estabiliza considerablemente la molécula.



**Figura 14.** Energía de los conformeros delphinidina **P CT ctt** y **P CT tcc**, al variar el ángulo diedro  $C4'-C5'-O-H$ , describiendo la rotación del enlace  $O5'-H$  con respecto al eje del enlace  $C5'-O5'$ .

Este minucioso análisis también se realizó para las conformaciones no planas, tomando como estructuras de partida las de menor energía en cada caso. Luego de este análisis, se encontró el conjunto de conformeros no planos que constituyen el espacio conformacional para cada antocianidina en estudio.

Teniendo en cuenta los puntos de partida y las estructuras de mínima energía encontradas, este análisis del espacio conformacional condujo a los siguientes conformeros (estructuras de mínima energía, respaldadas por la ausencia de frecuencias imaginarias). Veinte para pelargonidina (**P CT d**, **P CT u**, **P CC d**, **P CC u**, **Z1 CT d**, **Z2 CT d**, **Z1 CT u**, **Z2 CT u**, **Z1 CC u**, **Z2 CC u**, **Z1 CC d**, **Z2 CC d**, **Z1 TC u**, **Z2 TC u**, **Z1 TC d**, **Z2 TC d**, **Z1 TT d**, **Z2 TT d**, **Z1 TT u**, y **Z2 TT u**), sesenta para cianidina (**P CT tc B**, **P CT ct A**, **P CT tc A**, **P CC tc B**, **P CC tc A**, **P CC ct A**, **P CT ct B**, **P CC ct B**, **Z1 CT ct A**, **Z2 CT ct A**, **Z1 CT ct B**, **Z2 CT ct B**, **Z2 CT tc A**, **Z1 CT tc A**, **Z1 CC ct A**, **Z2 CC ct A**, **Z1 CC ct B**, **Z2 CC ct B**, **Z1 CC tc A**, **Z2 CC tc A**, **Z2 CT tc B**, **Z1 CT tc B**, **Z1 CC tc B**, **Z2 CC tc B**, **P CT tt A**, **P CT tt B**, **P CC tt A**, **P CC tt B**, **Z1 TC ct B**, **Z2 TC ct B**, **Z1 TC ct A**, **Z2 TC ct A**, **Z1 TC tc A**, **Z2 TC tc A**, **Z1 TT ct A**, **Z2 TT ct A**, **Z1 TC tc B**, **Z2 TC tc B**, **Z1 CT tt A**, **Z2 CT tt A**, **Z1 TT ct B**, **Z2 TT ct B**, **Z1 CC tt A**, **Z2 CC tt A**, **Z2 TT tc A**, **Z1 TT tc A**, **Z1 CT tt B**, **Z2 CT tt B**, **Z1 TT tc B**, **Z2 TT tc B**, **Z1 CC tt B**, **Z2 CC tt B**, **Z1 TC tt A**, **Z2 TC tt A**, **Z1 TC tt B**, **Z2 TC tt B**, **Z1 TT tt A**, **Z2 TT tt A**, **Z2 TT tt B**, y **Z1 TT tt B**) y treinta y siete para delphinidina (**P CT ctt**, **P CC ctt**, **P CT tcc**, **P CC tcc**, **Z1 CT tcc**, **Z2 CT tcc**, **Z2 CT ctt**, **Z1 CT ctt**, **Z1 CC tcc**, **Z2 CC tcc**, **Z1 CC ctt**, **Z2 CC ctt**, **P CC ttt**, **P CT tct**, **P CC tct**, **Z2 TC tcc**, **Z1 TC tcc**, **Z1 TC ctt**, **Z2 TC ctt**, **Z1 TT tcc**, **Z2 TT tcc**, **Z1 TT ctt**, **Z2 TT ctt**, **Z1 CT tct**, **Z2 CT tct**, **Z1 CC ttt**, **Z2 CC ttt**, **Z1 CC tct**, **Z2 CC tct**, **Z2 TC tct**, **Z1 TC tct**, **Z1 TC ttt**, **Z2 TC ttt**, **Z1 TT ttt**, **Z2 TT ttt**, **Z2 TT tct**, y **Z1 TT tct**), enumeradas en orden decreciente de estabilidad. De todos los conformeros encontrados, sólo nueve han sido

informados previamente para pelargonidina (P CT *d*, P CT *u*, P CC *d*, P CC *u*, Z1 CT *d*, Z1 CC *d*, Z2 CC *d*, Z1 TC *u*, y Z1 TT *u*), seis para cianidina (P CT *ct A*, P CC *ct A*, P CT *tt A*, Z1 CT *ct A*, Z1 TC *tc A*, y Z1 TT *ct A*) y seis para delfinidina (P CT *ctt*, P CC *ctt*, P CT *tcc*, P CC *tcc*, Z1 CT *ctt*, y Z1 TT *ctt*).

### 3.3. Análisis geométrico

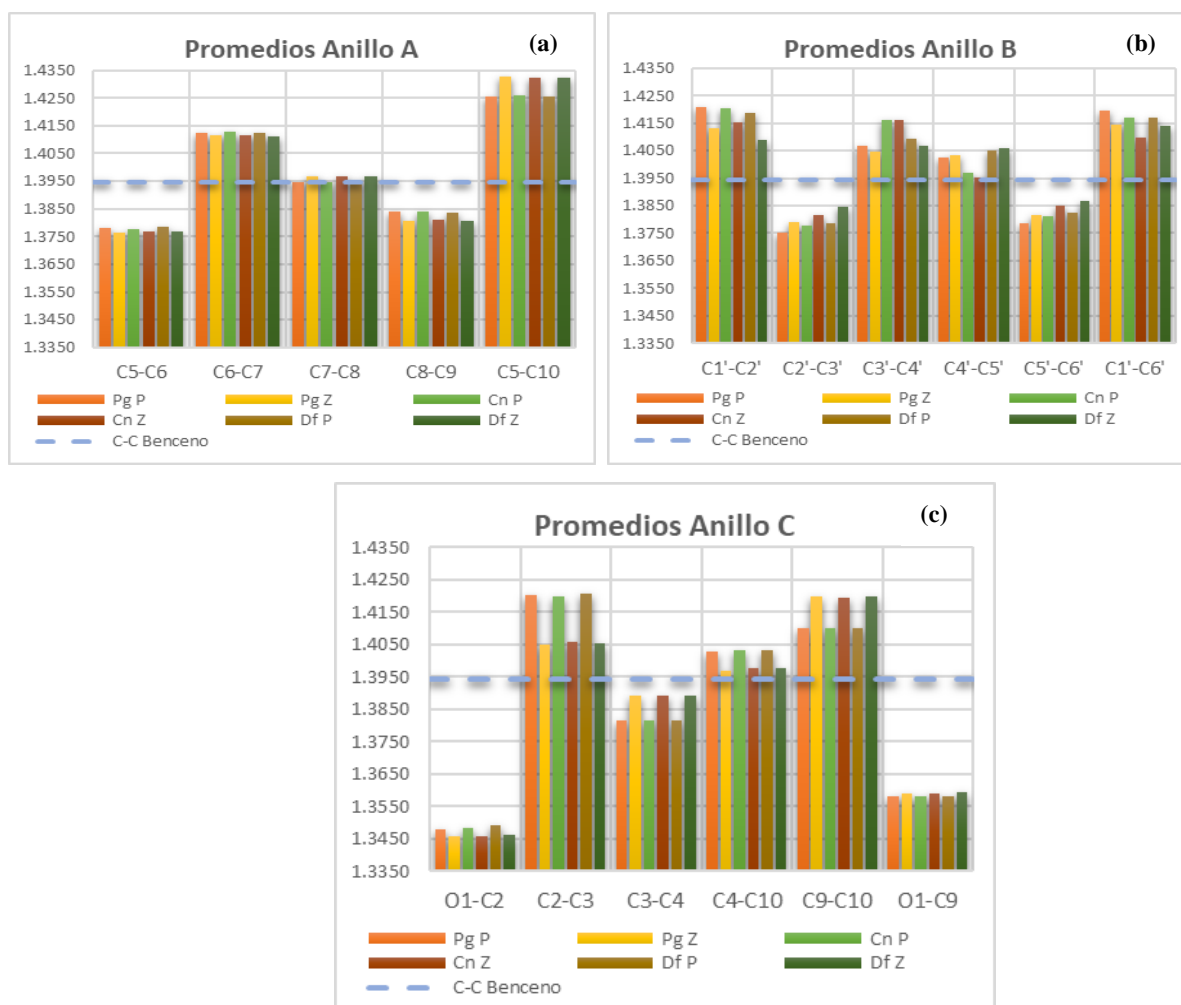
#### 3.3.1. Distancias de enlace

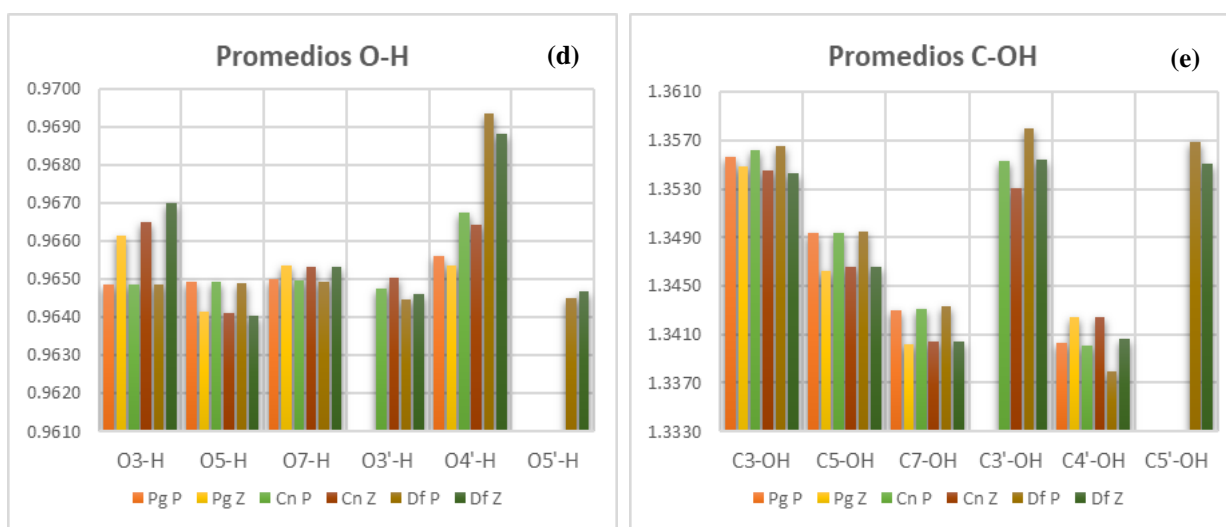
Las antocianinas, junto con otros miembros de la familia de los flavonoides, contienen tres anillos aromáticos (A, B y C), en el que uno de ellos (anillo C) tiene un heteroátomo (oxígeno). Las características de estos anillos se analizaron calculando las longitudes de enlace de los átomos que los componen. Los anillos A y B de las tres antocianidinas bajo estudio arrojan longitudes de enlace más similares que el anillo C, como se muestra en la **Fig. 15 a, b y c**. También se muestran las longitudes de enlace promedio de los conformeros **P** y **Z** de pelargonidina, cianidina y delfinidina, así como la longitud de enlace C-C del benceno ( $\sim 1.394$  Å), calculada al nivel de teoría B3LYP/6-311G++(d,p). Dado que el anillo C es un heterociclo, el átomo de oxígeno altera todo el anillo, con respecto a los anillos A y B, incluyendo las longitudes de enlace. A su vez, algunos enlaces en ambos anillos A y B mostraron longitudes más cortas. Dentro del anillo A, los enlaces C5-C6 y C8-C9 eran considerablemente más cortos que los otros enlaces, oscilando entre 1,376-1,386 y 1,374-1,386 Ångstroms (Å) para pelargonidina, cianidina y delfinidina. Por el contrario, los enlaces C6-C7 y C5-C10 tenían una longitud de 1,412 a 1,433 Å para los tres compuestos.

Asimismo, las longitudes de enlace C2'-C3' y C5'-C6' del anillo B, con rangos estimados de 1,370-1,390 Å, fueron más cortas que el resto. Por el contrario, los enlaces C1'-C2' y C1'-C6' fueron los más largos, con valores entre los 1,410-1,420 Å para los tres compuestos. Las diferencias para ambos anillos A y B pueden mostrar la presencia de dos tipos distintivos de enlaces, evidenciando la pérdida de aromaticidad en comparación a un anillo de benceno. Los enlaces que involucran al átomo de oxígeno dentro del anillo C mostraron una diferencia en sus longitudes de enlace para las tres antocianidinas, siendo el enlace O1-C2 más corto que el enlace O1-C9 para todas las antocianidinas en estudio. Esta longitud de enlace no alcanzó el valor de un doble enlace aromático, pero fue menor que un enlace simple. Ambos enlaces eran diferentes, mostrando la falta de aromaticidad del anillo C. Además, C3-C4 del anillo C, era el enlace C-C de longitud más corta, con valores de aproximadamente 1,380-1,390 Å para

pelargonidina, cianidina y delfinidina. Este enlace mostró longitudes comparables a las de un doble enlace. Este hecho está de acuerdo con la representación típica de las antocianidinas, en las que existe un doble enlace entre C-3 y C-4.

Dado que las tres antocianidinas difieren en el patrón de sustitución del anillo B, se compararon las longitudes de los enlaces para distinguirlas. Los enlaces C3'-C4' y C4'-C5' fueron los más afectados por la variación del patrón de sustitución. Pelargonidina y delfinidina mostraron longitudes de enlace similares, siendo C3'-C4' ligeramente más largas. La longitud del enlace C3'-C4' mostró valores en el rango de 1,404-1,407 Å y 1,403-1,414 Å para pelargonidina y delfinidina respectivamente, mientras que C4'-C5' proporcionó rangos de 1,402-1,403 Å y 1,401-1,410 Å respectivamente. Estos datos pueden justificarse por la disposición relativamente simétrica de los sustituyentes en ambas antocianidinas. En cambio, la gran diferencia en estas longitudes de enlace para cianidina se debió a la disposición asimétrica de HO-3' y HO-4'. El enlace C3'-C4' de cianidina mostró un rango de 1,410-1,422 Å, mientras que C4'-C5' un rango de 1,392-1,401 Å.





**Figura 15.** Promedios de las longitudes de los enlaces C-C en el anillo A (a), C-C en el anillo B (b), C-C en el anillo C (c), O-H (d) y C-OH (e), para los conformeros P y Z en pelargonidina, cianidina y delfinidina. Longitud del enlace C-C para el benceno ( $\sim 1,394$  Å) calculada al mismo nivel de teoría B3LYP/6-311G++(d,p).

También se analizaron las longitudes de los enlaces C-H. Los valores de mayor interés para el análisis fueron la posición 6' de pelargonidina y delfinidina, así como las posiciones 2' y 6' de cianidina. Estas longitudes de enlace mostraron los valores más bajos, lo que respalda la mayor estabilidad de estos enlaces. Para pelargonidina y delfinidina, H-6' se encuentra próximo al HO-3 del anillo C. En cianidina, los conformeros A también mostraron esta disposición, obteniéndose para la posición 2' en los conformeros B. Por lo tanto, es probable que exista un puente de hidrógeno entre H-2' y/o H-6' y el O del HO-3, favorecido por la formación de un anillo de seis miembros [37,38].

### 3.3.2. Ángulos de enlace

Los ángulos de enlace son otro tema de interés dentro de la estructura de las antocianidinas, pudiendo brindar información sobre el grado de aromaticidad en los tres anillos, siendo un anillo aromático conformado por ángulos de enlace típicos de  $120^\circ$  debido a la hibridación  $sp^2$  en sus átomos de carbono. Sin embargo, ninguna de las tres antocianidinas presenta ángulos de enlace de  $120^\circ$  en alguno de sus anillos. Las desviaciones de  $120^\circ$  fueron, en promedio, de hasta  $5,50^\circ$  para el anillo C,  $3,60^\circ$  para el anillo A y  $2,30^\circ$  para el B ( $2,27^\circ$  en pelargonidina,  $1,87^\circ$  en cianidina y  $1,50^\circ$  en delfinidina).



El anillo B resultó ser el de mayor similitud respecto a un anillo aromático, donde el ángulo C6'-C1'-C2' mostró mayor desviación que los demás ángulos del anillo, tanto para los conformeros **P** como **Z** de pelargonidina ( $\sim 2,29^\circ$  y  $\sim 1,74^\circ$  respectivamente) y cianidina ( $\sim 1,87^\circ$  y  $\sim 1,38^\circ$  respectivamente). En cuanto a delfinidina, el ángulo C4'-C5'-C6' presentó la mayor variación ( $\sim 1,49^\circ$  para **P** y  $\sim 1,28^\circ$  para **Z**). Con respecto al anillo C, el ángulo C9-O1-C2 mostró la mayor variación tanto para los conformeros **P** como **Z** de los tres compuestos. Las mayores desviaciones para este ángulo fueron  $\sim 5,43^\circ$  para **P** de pelargonidina,  $\sim 4,47^\circ$  para **Z** de pelargonidina,  $\sim 5,49^\circ$  para **P** de cianidina,  $\sim 5,46^\circ$  para **Z** de cianidina,  $\sim 5,51^\circ$  para **P** de delfinidina y  $\sim 4,06^\circ$  para **Z** de delfinidina. Finalmente, para el anillo A, el ángulo C8-C9-C10 mostró la mayor variación para las tres antocianidinas, con valores similares para los conformeros **P** y **Z** ( $\sim 3,65^\circ$  para pelargonidina,  $\sim 3,59^\circ$  para cianidina y  $\sim 3,58^\circ$  para delfinidina).

La disposición espacial del patrón de sustitución 3,5,7 de las tres antocianidinas también se relacionó con los ángulos de enlace, en particular los ángulos C3-O-H, C5-O-H y C7-O-H. Para las estructuras planas, el ángulo C3-O-H fue el de menor valor para los tres compuestos ( $\sim 111,1^\circ$ ), seguido de C5-O-H ( $\sim 111,7^\circ$ ), y finalmente, C7-O-H ( $\sim 112,0^\circ$ ). En particular, para pelargonidina, el ángulo C3-O-H de los conformeros *d* fue ligeramente menor ( $\sim 111,2^\circ$ ) que el de los conformeros *u* ( $\sim 111,4^\circ$ ). Asimismo, los conformeros *ct* y *tt* para **A** de cianidina y los conformeros *tc* y *tt* para **B** mostraron los menores valores ( $\sim 110,8^\circ$ ) del ángulo C3-O-H. En delfinidina, los conformeros *ctt*, *tct* y *ttt* tuvieron valores más bajos ( $\sim 110,7^\circ$ ) que el conformero *tcc* ( $\sim 111,1^\circ$ ). **Como aspecto común para las tres antocianidinas, los conformeros más estables resultaron ser aquellos con los grupos HO del anillo B espacialmente orientados cerca del HO-3 del anillo C. Esto sugirió algún tipo de interacción a larga distancia o efecto estructural entre estos sustituyentes, favoreciendo el acortamiento de este ángulo de enlace.**

En el anillo A de tipo resorcinol, los ángulos C5-O-H y C7-O-H mostraron valores dependientes en función de su orientación espacial. Para las tres antocianidinas, el ángulo C5-O-H fue ligeramente menor que C7-O-H. Los ángulos C5-O-H y C7-O-H para las conformaciones **CT** fueron más bajos ( $\sim 111,6^\circ$  y  $\sim 111,9^\circ$ ) que para **CC** ( $\sim 111,9^\circ$  y  $\sim 112,1^\circ$ ) para las tres antocianidinas probablemente debido a la deslocalización de electrones y efectos estéricos.

En el anillo B, dado que la cianidina tiene dos sustituyentes vecinos (HO-3' y HO-4'), otras interacciones y efectos pueden modificar estructuralmente esta subestructura

de la molécula. Para las estructuras planas, la conformación *tt* del anillo B mostró valores de ángulos similares para C3'-OH y C4'-OH ( $\sim 110,0^\circ$  y  $\sim 111,3^\circ$  respectivamente). Pero esto cambió cuando los sustituyentes se orientaron de manera coordinada, como los arreglos espaciales *ct* y *tc*. Para los conformeros *ct* del anillo B, el ángulo C4'-OH fue considerablemente mayor ( $\sim 112,4^\circ$ ) que C3'-OH ( $\sim 110,0^\circ$ ), mientras que para los conformeros *tc* fue inverso, donde el ángulo C4'-OH ( $\sim 110,0^\circ$ ) fue menor a C3'-OH ( $\sim 112,4^\circ$ ). **Este comportamiento puede explicarse por interacciones intramoleculares de tipo puente de hidrógeno, como C4'-O---H-O-C3' para los conformeros *ct* y C3'-O---H-O-C4' para los conformeros *tc*.**

Estos resultados del estudio geométrico-conformacional están de acuerdo con lo que informamos anteriormente [32–36,43]. Los anillos que involucran estructuras de tipo catecol y pirogalol mostraron interacciones intramoleculares y efectos de deslocalización de carga debido a la presencia de sustituyentes OH.

Este comportamiento también se encontró en los conformeros de delfinidina, pudiéndose dividir en dos grupos según la orientación de los tres sustituyentes del anillo B. El primer grupo representa los conformeros con sus sustituyentes orientados coordinadamente (**CC *ctt*, CC *tcc*, CT *ctt* y CT *tcc***). Los arreglos *ctt* mostraron una coordinación en sentido horario, en donde los ángulos C3'-O-H y C4'-O-H fueron considerablemente menores ( $\sim 110,1^\circ$  y  $\sim 110,4^\circ$  respectivamente) respecto al ángulo C5'-O-H ( $\sim 112,3^\circ$ ). De acuerdo con lo expresado para cianidina, **esta disminución del ángulo puede deberse a interacciones de tipo puente de hidrógeno**, como C3'-O--H-O-C4' y C4'-O---H-O-C5'.

El segundo grupo representa los conformeros *tcc* con una coordinación antihoraria, siendo los ángulos C4'-O-H y C5'-O-H menores ( $\sim 110,4^\circ$  y  $\sim 110,1^\circ$  respectivamente) respecto al ángulo C3'-O-H ( $\sim 112,2^\circ$ ). Por lo tanto, las interacciones de tipo puente de hidrógeno fueron C4'-O---H-O-C3' y C5'-O---H-O-C4', lo que provocó una disminución en los ángulos C4'-OH y C5'-OH.

En los arreglos no coordinados (**CC *tct*, CC *ttt* y CT *tct***), los tres sustituyentes mostraron diferentes ángulos de enlace. El ángulo C5'-O-H para los conformeros *tct* ( $\sim 111,2^\circ$ ) y el ángulo C3'-O-H para los *ttt* ( $\sim 111,1^\circ$ ) son opuestos a los otros dos sustituyentes, impidiendo la formación de puentes de hidrógeno. Además, se podría generar cierta repulsión entre los orbitales *n* de los electrones libres en los oxígenos vecinos, viéndose una disminución en los ángulos de enlace C4'-O-H respecto a pelargonidina ( $\sim 111,7^\circ$ ) (con un único sustituyente en 4').

El HO-4' se coordina con el ángulo de enlace C3'-O-H para conformeros *tct* y con C5'-O-H para *ttt*. Como era de esperar, se obtiene un menor ángulo de enlace para C4'-O-H (~109,6°) respecto a C3'-O-H y C5'-O-H, como también a los valores discutidos previamente. La existencia de posibles puentes de hidrógeno, como C3'-O---H-O-C4' para los conformeros *tct* y C5'-O---HO-C4' para el conformero *ttt*, junto a la repulsión entre los orbitales *n* de oxígenos vecinos, permite explicar la disminución de este ángulo de enlace. Por otro lado, estos efectos muestran un aumento en los ángulos de enlace C3'-OH para los conformeros *tct* y C5'-OH para el conformero *ttt* respecto a los de C4'-OH.

Los ángulos diedros de las estructuras de menor energía (conformeros **P**) indicaron la coplanaridad tanto de los tres anillos A-C-B, como de los sustituyentes OH, con ángulos cercanos a cero (0,00° o 180,00°). Cuando el anillo B sale del plano (conformeros **Z1** y **Z2**), los ángulos diedros para los anillos A, B y C tienen valores distintos de 0°, indicando torsiones en los mismos. Los conformeros **Z1** y **Z2** presentan torsiones opuestas, pero de igual magnitud en valor absoluto. El anillo C es el que presenta la mayor torsión, seguido del B y finalmente el A.

Esta pérdida de planaridad explica la existencia de nuevos conformeros de tipo **Z**, llamados **Z\***, los cuales no poseen correlatos planos; por ejemplo, **Z1 TC d**, **Z2 TC d**, **Z1 TC u**, **Z2 TC u**, **Z1 TT d**, **Z2 TT d**, **Z1 TT u** y **Z2 TT u** para pelargonidina. Estos conformeros **Z\***, como era de esperar, mostraron mayor torsión.

#### 4. Conclusiones

El estudio de las tres antocianidinas en todo el espacio conformacional condujo a veinte conformeros de mínima energía para pelargonidina, sesenta para cianidina y treinta y siete para delfinidina. Se identificaron conformeros planos y no planos dentro del espacio conformacional de cada compuesto.

El posterior análisis estructural de los conformeros encontrados permitió conocer en detalle aspectos geométricos dentro la estructura común entre las tres antocianidinas. Estas variaciones en el patrón de sustitución dentro del anillo B generaron cambios a corto y largo alcance dentro del esqueleto carbonado de las diferentes agliconas. Gracias a este estudio, se conoce en detalle la flexibilidad del espacio conformacional, brindando características detalladas de la torsión molecular presentada por estas tres antocianidinas.

En base al minucioso análisis geométrico, se sugirieron interacciones del tipo puente de hidrógeno entre los diferentes sustituyentes hidroxilos en el anillo B. Por otro lado, las distancias de enlaces encontradas para los diferentes conformeros muestran un apartamiento estructural respecto a la representación común de este tipo de compuestos como sal de oxonio. No en todos los conformeros se muestra al enlace C3-C4 con carácter doble. Por otro lado, las distancias de enlaces C2'-C3' y C5'-C6' inferiores a la distancia de enlace C-C del benceno, siendo cercanas a enlaces de carácter doble, dan lugar a otro tipo de representación para este grupo de compuestos alejada a la de un anillo aromático regular.

### Agradecimientos

Los autores agradecen al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de Argentina por las instalaciones de la biblioteca electrónica. N.A.S. agradece al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) de Argentina por una beca de investigación. A.B.P. y P.R.D. son Miembros Investigadores del CONICET.

Se agradece el financiamiento del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET, Argentina) (PRD; subsidio PIP0311) y de la Secretaría General de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional del Nordeste (Corrientes, Argentina) (RML; subsidio 17F012).

### Referencias

1. Delgado-Vargas F., Jiménez A.R., Paredes-López O., et al. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2000**; 40 (3), 173–289.
2. Khoo H.E., Azlan A., Tang S.T., et al. *Food Nutr. Res.* **2017**; 61, 1361779.
3. Alvarez-Suarez J.M., Giampieri F., Tulipani S., et al. *J. Nutr. Biochem.* **2014**; 25 (3), 289–294.
4. Cerletti C., De Curtis A., Bracone F., et al. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **2017**; 83 (1), 103–106.
5. Wu T., Yu Z., Tang Q., et al. *Food Funct.* **2013**; 4 (11), 1654–1661.
6. Li D., Zhang Y., Liu Y., et al. *J. Nutr.* **2015**; 145 (4), 742–748.
7. Pomilio A.B., Szewczuk N.A., Duchowicz P.R. Dietary anthocyanins balance immune signs in osteoarthritis and obesity—Update of human *in vitro* studies and clinical trials. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **2022**. Publicado online: 23 Sep 2022. doi: [10.1080/10408398.2022.2124948](https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2124948).
8. Ames B.N., Shigenaga M.K., Hagen T.M. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1993**; 90 (17), 7915–7922.
9. Nikkhah E., Khayami M., Heidari R. *Int. J. Cancer Manag. (Iranian J. Cancer Prev.)* **2008**; 1 (4), 167–172.
10. Ali T., Kim T., Rehman S.U., et al. *Mol. Neurobiol.* **2018**; 55 (7), 6076–6093.
11. Lila M.A. *J. Biomed. Biotechnol.* **2004**; 5 (2004), 306–313.
12. Bobe G., Wang B., Seeram N.P., et al. *J. Agric. Food Chem.* **2006**; 54 (25), 9322–9328.
13. Bishayee A., Haskell Y., Do C., et al. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2015**; 56 (10), 1753–1775.
14. Lin B.W., Gong C.C., Song H.F., et al. *Br. J. Pharmacol.* **2017**; 174 (11), 1226–1243.
15. Mercader A.G., Pomilio A.B. *Biflavonoids: Occurrence, Structural Features and Bioactivity*. Nova Science Publishers, Inc., New York, **2011**. ISBN: 978-1-62100-354-0.
16. Mercader A.G., Pomilio A.B. *Curr. Med. Chem.* **2012**; 19 (25), 4324–4347.
17. Mercader A.G., Pomilio A.B. *Anticancer. Agents Med. Chem.* **2013**; 13 (8), 1217–1235.
18. Pomilio A.B., Mercader A.G. Natural acylated anthocyanins and other related

- flavonoids: structure elucidation of *Ipomoea cairica* compounds and QSAR studies including multidrug resistance. In: *Studies in Natural Products Chemistry*; Elsevier: Amsterdam, **2018**; Vol.55, pp 293–322.
19. Mercader A.G., Pomilio A.B. *Eur. J. Med. Chem.* **2010**; 45 (5), 1724–1730.
  - 20.) Mercader A.G., Pomilio A.B. *Anti-Infective Agents* **2012**; 10 (1), 41–54.
  21. Duchowicz P.R., Goodarzi M., Ocsachoque M.A., *et al.* *Sci. Total Environ.* **2009**; 408 (2), 277–285.
  22. Romanelli G.P., Virla E.G., Duchowicz P.R., *et al.* *J. Agric. Food Chem.* **2010**; 58 (10), 6290–6295.
  23. Duchowicz P.R., Vitale M.G., Castro E.A., *et al.* *Eur. J. Med. Chem.* **2008**; 43 (8), 1593–1602.
  24. Goodarzi M., Duchowicz P.R., Wu C.H., *et al.* *J. Chem. Inf. Model.* **2009**; 49 (6), 1475–1485.
  25. Mercader A.G., Duchowicz P.R., Fernández F.M., *et al.* *Bioorganic Med. Chem.* **2008**; 16 (15), 7470–7476.
  26. Lobayan R.M., Jubert A.H., Vitale M.G., *et al.* *J. Mol. Model.* **2009**; 15 (5), 537–550.
  27. Bentz E.N., Jubert A.H., Pomilio A.B., *et al.* *J. Mol. Model.* **2010**; 16 (12), 1895–1909.
  28. Lobayan R.M., Bentz E.N., Jubert A.H., *et al.* *J. Mol. Model.* **2012**; 18 (4), 1667–1676.
  29. Lobayan R.M., Bentz E.N., Jubert A.H., *et al.* *Comput. Theor. Chem.* **2013**; 1006, 37–46.
  30. Bentz E.N., Pomilio A.B., Lobayan R.M. *J. Mol. Model.* **2014**; 20 (2), 2105–2118.
  31. Bentz E.N., Pomilio A.B., Lobayan R.M. *J. Mol. Model.* **2014**; 20 (12), 2522.
  32. Bentz E.N., Pomilio A.B., Lobayan R.M. *J. Mol. Model.* **2016**; 22 (8), 187.
  33. Bentz E.N., Pomilio A.B., Lobayan R.M. *Comput. Theor. Chem.* **2017**; 1110, 14–24.
  34. Lobayan R.M., Bentz E.N., Pomilio A.B. *Estudio Cuántico Molecular de Flavanos Como Antioxidantes Potenciales. Estructuras, Reactividad, Distribución Electrónica y Efectos de Deslocalización*. Editorial Académica Española, OmniScriptum GmbH & Co. KG, 66111 Saarbrücken, Alemania, **2020**. 292 pp. ISBN: 978-620-0-37445-5.
  35. Duchowicz P.R., Szewczuk N.A., Pomilio A.B. *J. Food Sci. Technol.* **2019**; 56 (12), 5518–5530.
  36. Szewczuk N.A., Duchowicz P.R., Pomilio A.B. *Int. J. Quant. Struct. Relationships* **2020**; 5 (4), 69–82.
  37. Pereira G.K., Donate P.M., Galembeck S.E. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **1996**; 363 (1), 87–96.
  38. Pereira G.K., Donate P.M., Galembeck S.E. *J. Mol. Struct. THEOCHEM* **1997**; 392 (1–3), 169–179.
  39. Barone V., Ferretti A., Pino I. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**; 14 (46), 16130–16137.
  40. Meyer M. *Int. J. Quantum Chem.* **2000**; 76 (6), 724–732.
  41. Torskangerpoll K., Børve K.J., Andersen Ø.M., *et al.* *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **1999**; 55 (4), 761–771.
  42. Woodford J.N. *Chem. Phys. Lett.* **2005**; 410 (4–6), 182–187.
  43. Szewczuk N.A., Duchowicz P.R., Pomilio A.B., *et al.* *J. Mol. Model.* **2023**; 29 (1), 2.
  44. Frisch M.J., Trucks G.W., Schlegel H.B., *et al.* Gaussian 09, **2009**. <https://gaussian.com/>.
  45. Becke, A. D. *J. Chem. Phys.* **1993**; 98 (7), 5648–5652.
  46. Lee C., Yang W., Parr R.G. *Phys. Rev. B* **1988**; 37 (2), 785–789.
  47. Favre H.A., Powell W.H. *Nomenclature of Organic Chemistry: IUPAC Recommendations and Preferred Names 2013*, **2014**.