



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

DIVISIÓN DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
POSGRADO EN QUÍMICA

**ESTUDIO TEÓRICO Y DISEÑO DE
NANOPARTÍCULAS PARA EL TRASPORTE Y
LIBERACIÓN DE FÁRMACOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN
CIENCIAS QUÍMICAS

P R E S E N T A

Q. ERIKA ROSALVA NAVARRETE MEDEL

ASESOR:

DR. JUVENCIO ROBLES GARCÍA



Universidad
Guanajuato

CAMPUS GUANAJUATO
DEPARTAMENTO DE FARMACIA
DIVISIÓN DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

Guanajuato, Gto. 02 de AGOSTO de 2018.

DR. MARCO ANTONIO GARCIA REVILLA
COORDINADOR DEL POSGRADO,
DIVISIÓN DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS,
UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO.
PRESENTE

Por medio de la presente hago de su conocimiento que el trabajo de TESIS DE MAESTRÍA titulado "*Estudio teórico y diseño de nanopartículas para el transporte y liberación de fármacos*" que presenta ERIKA ROSALVA NAVARRETE MEDEL, fue realizado bajo mi supervisión en mi laboratorio en esta DCNE y confirmo que es un trabajo de investigación original, por lo que considero que reúne los requisitos académicos para titularse de la MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICAS y no tengo inconveniente en autorizar su titulación.

Así mismo, habiendo previamente dado a consideración la fecha y hora para el examen de defensa de tesis a los integrantes del JURADO ASIGNADO, se ha llegado al acuerdo de que este se lleve cabo el viernes 24 de agosto de 2018, a las 16:00 hr.

Agradeciéndole de antemano la atención que se sirva brindar a la presente, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"LA VERDAD OS HARA LIBRES"

DR. JUVENCIO ROBLES GARCIA
PROFESOR TITULAR del POSGRADO



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN QUÍMICA

Maestría en Ciencias Químicas

Doctorado en Química

DR. JUVENCIO ROBLES GARCÍA
DEPARTAMENTO DE QUIMICA
PRESENTE

Por este medio le informo que el Comité Académico del Posgrado, nombró el Jurado que evaluará la tesis de la alumna **Q. ERIKA ROSALVA NAVARRETE MEDEL** para obtener el grado de **Maestría en Ciencias Químicas**. El título del proyecto es **"Estudio Teórico y Diseño de Nanopartículas para el Transporte y Liberación de Fármacos"** el cual se lleva a cabo bajo su supervisión. El jurado estará conformado de la siguiente forma:

Presidente:	Dra. Minerva Martínez Alfaro	(Universidad de Guanajuato)
Secretario:	Dr. Marco Antonio García Revilla	(Universidad de Guanajuato)
Vocal:	Dr. Erik Díaz Cervantes	(Universidad de Guanajuato)
Suplente:	Dr. Miguel Ángel Vázquez Guevara	(Universidad de Guanajuato)

Le recordamos que el Posgrado en Química únicamente cuenta con recursos económicos para apoyar la visita de un solo profesor externo.

Sin más que agregar me despido y me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"LA VERDADE OS HARA LIBRES"
GUANAJUATO, GTO., 08 DE JUNIO DE 2018

DR. MARCO ANTONIO GARCÍA REVILLA
COORDINADOR DEL POSGRADO EN QUÍMICA



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO
DIVISIÓN DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
COORDINACIÓN DEL POSGRADO

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado gracias al apoyo otorgado por:

La beca de Maestría proporcionada por CONACyt con No. 585812.

La beca como Ayudante de Investigador SNI Nivel III asignada por el Dr. JRG.

Los recursos computacionales otorgados por el Laboratorio Nacional de Supercómputo mediante el clúster PIPILA.

Agradezco por cada uno de ellos.

Agradezco también al grupo de Química Teórica y Computacional por todo su apoyo y compañía.

Especialmente a mi asesor el Dr. Juvencio Robles García, por su paciencia, apoyo y respeto, así como por su tiempo en cada charla y/o revisión.

Al Dr. Marco Antonio García Revilla de igual manera por su apoyo, paciencia y respeto, así como por las cortas charlas, pero significativas.

A cada uno de mis profesores quienes me brindaron sus conocimientos y enseñanzas.

A mis compañeros y amigos del grupo de Teórica quienes fueron o siguen siendo parte de este grupo por su tiempo, apoyo y compañía.

De manera muy especial agradezco a mi familia por el apoyo incondicional y por estar conmigo durante este proceso.

Agradezco a cada una de las personas que de alguna forma han formado parte de este camino, por estar, por formar parte de él, por formar parte de mí.

Gracias.

Resumen

En este trabajo se presenta un estudio teórico-computacional de nanovectores como acarreadores de fármacos, habiendo seleccionado los fullerenos funcionalizados, (1,2-metanofullereno C₆₀)-61-ácido carboxílico, fullereno metil nipecotate, [6,6]-tienil C₆₁ éster metílico del ácido butírico y [6,6]-fenil C₆₁, éster metílico del ácido butírico con derivados de ácidos carboxílicos o ésteres, para dicho propósito. Se diseñaron 16 nanovectores con la unión de una molécula de los fármacos anticancerígenos, 4-(4 (bis (2-cloroetil) amino) fenil) ácido butírico, 1-3-bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea, 5-fluoropirimidina-2-4 (1H, 3H)-diona y 1-metil-1-nitrosourea, para obtener las 16 combinaciones estudiadas, ya que los fullerenos presentan una forma tridimensional y efectos electrónicos que contribuyen a su mejor absorción, distribución y excreción en aplicaciones biológicas. Los estudios de cálculos cuánticos a nivel de la Teoría de los Funcionales de la Densidad con nivel de teoría dado por M06L/6-311G(d,p) y en el caso del modelado de solvente utilizando PCM, como lo son los descriptores de la reactividad global y la energía libre de Gibbs de solvatación presentan valores acordes a los datos quimiinformáticos derivados del modelo QSAR, *LogBB*, es decir se predice el mejoramiento de la capacidad de los nanovectores diseñados en comparación a los fármacos libres para atravesar la barrera hematoencefálica mediante los dos tipos de estudios realizados.

ÍNDICE DE FIGURAS
ÍNDICE DE TABLAS
ÍNDICE DE ESQUEMAS
ÍNDICE DE GRÁFICAS
LISTA DE ABREVIATURAS

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN

CAPITULO I. NANOMEDICINA	13
1.1 Cáncer.....	13
1.2 Tumores cerebrales.....	13
1.3 Barrera hematoencefálica.....	14
1.4 Fármacos anticancerígenos.....	16
1.4.1 Clorambucilo o 4-(4 (bis (2-cloroetil) amino) fenil) ácido butírico.....	16
1.4.2 Carmustina o 1-3-bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea.....	16
1.4.3 5-Fluorouracilo o 5-fluoropirimidina-2-4 (1H, 3H)-diona.....	17
1.4.4 N-metil-N-nitrosourea o 1-metil-1-nitrosourea.....	17
1.5 Nanotecnología.....	17
1.5.1 Nanomedicina.....	18
1.6 Nanopartículas.....	18
1.6.1 Fullerenos.....	19
1.6.2 Fullerenos funcionalizados.....	20
1.6.3 Formación de nanovectores.....	22
Referencias	
QUÍMICA COMPUTACIONAL Y DISEÑO <i>IN SILICO</i>.....	27
2.1 Generalidades.....	27
2.2 Teoría de Funcionales de la Densidad (TFD).....	28
2.3 Aproximaciones para definir $E_{xc}[\rho]$ en cálculos de la TFD.....	33
2.3.1 Funcionales de Minnesota, M06-L.....	34
2.4 Conjuntos de funciones base.....	36
2.4.1 Funciones Gaussianas.....	36
2.4.2 Funciones polarizadas.....	38
2.5 Teoría de los Funcionales de la Densidad Conceptual.....	38

2.6 Modelos de solvatación.....	40
2.6.1 PCM.....	40
2.7 Quimioinformática.....	41
2.7.1 Generalidades.	41
2.7.2 Relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR)/propiedad (QSPR).	42
2.7.3 Definición de LogBB.	43
2.7.4 Descriptores moleculares o índices de reactividad.	43
2.7.5 Descriptores electrostáticos.....	44
2.7.6 Descriptor Topológico.	45
2.7.7 Descriptor del área de superficie parcial cargada.	45
Referencias	
CAPÍTULO III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	49
3.1 Planteamiento del problema	49
3.2 Hipótesis.....	50
3.3 Objetivos.....	51
3.3.1 Objetivo general.....	51
3.3.2 Objetivos particulares	51
CAPITULO IV. METODOLOGÍA	52
4.1 Nivel de Teoría seleccionado	52
4. 2 Software utilizado	53
4.3 Desglose del desarrollo de trabajo.....	53
4.4 Optimización de fullerenos funcionalizados y fármacos libres en fase gas y en fase solvente: agua, etanol y n-octanol	54
4. 5 Obtención de la energía del catión y anión de cada molécula. En fase gas y fase solvente: agua y n-octanol.	54
4. 6 Optimización de los nanovectores diseñados en fase gas y fase solvente agua, etanol y n-octanol.	54
4.7 Calculo de la energía libre de Gibbs de las reacciones de formación (ΔG_{rxn}°) en fase gas y fase solvente etanol.	55
4.8 Cálculo de energía libre de Gibbs de solvatación, ΔG_{solv}° en fase solvente agua y n-octanol.	57
4.9 Obtención de superficie de potencial electrostático.....	57

4.10 Obtención del momento dipolar en fase gas y en fase solvente: agua, etanol y n-octanol.....	57
4.11 Cálculo de los descriptores globales de la reactividad en fase solvente agua y n-octanol: I, A, η , S, χ , ω , ω^- , ω^+ , μ y ΔE_{GAP}	58
4.12 Cálculo LogBB a través de un modelo QSAR.....	58

Referencias

CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... 61

5.1 Optimización de geometrías.....	61
5.1.1 Fullerenos y fullerenos funcionalizados.....	61
5.1.2 Fármacos.....	63
5.1.3 Nanovectores.....	65
5.2 Cálculo de la energía libre de Gibbs de las reacciones de formación (ΔG_{rxn}°) en fase gas.....	67
5.3 Cálculo de la energía libre de Gibbs de las reacciones de formación (ΔG_{rxn}°) en etanol.....	68
5.4 Cálculo de energía libre de Gibbs de solvatación, ΔG_{solv}° en agua.....	70
5.5 Cálculo de energía libre de Gibbs de solvatación, ΔG_{solv}° en n-octanol. ...	71
5.6 Mapa de la superficie del potencial electrostático.....	72
5.6.1 Fullerenos y fullerenos funcionalizados.....	72
5.6.2 Fármacos libres.....	74
5.6.3 Nanovectores.....	75
5.7 Momento dipolar en fase gas, agua, etanol y n-octanol.....	79
5.7.1 Fullerenos y fullerenos funcionalizados.....	80
5.7.2 Fármacos libres.....	81
5.7.3 Nanovectores.....	82
5.8 Descriptores globales de la reactividad en agua.....	84
5.8.2 Fármacos libres.....	84
5.8.3 Nanovectores.....	85
5.9 Modelo QSAR.....	87

Referencias

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS 99

6.1 Conclusiones.....	99
6.1.1 Conclusiones generales.....	99

6.1.2 Conclusiones específicas	99
6.2 Perspectivas	101

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Corte transversal de un capilar en el SNC, donde se observa la barrera hematoencefálica.	15
Figura 1.2. Clorambucilo (F1).	16
Figura 1.3. Carmustina (F2).	16
Figura 1.4. 5-Fluorouracilo (F3).	17
Figura 1.5. N-nitroso-N-metilurea (F4).	17
Figura 1.6. Fullerenos C_{60} .	20
Figura 1.7. Fullerenos funcionalizados: (1,2-metanofullereno C_{60})-61-ácido carboxílico (C_{60} -L1), fullereno metil nipecotate, (C_{60} -L2), [6,6]-tienil C_{61} éster metílico del ácido butírico o [60]ThCBM C_{60} -L3 y [6,6]-fenil C_{61} , éster metílico del ácido butírico ³⁰ o [60]PCBM C_{60} -L4.	22
Figura 5.1. Fullereno C_{60} optimizado al nivel M06L/6-311G(d,p) en solvente agua utilizando el modelo de solvatación PCM. Se muestra el valor de las distancias de enlace en color verde (Å) y en azul el valor de los ángulos (°). Los carbonos se representan en color gris, los enlaces sencillos en color negro y los enlaces dobles en gris.	61
Figura 5.2. Fullereno funcionalizado con cuatro diferentes <i>linkers</i> : (1,2-metanofullereno C_{60})-61-ácido carboxílico (C_{60} -L1); fullereno metil nipecotate (C_{60} -L2); [6,6]-tienil C_{61} éster metílico del ácido butírico (C_{60} -L3) y [6,6]-fenil C_{61} , éster metílico del ácido butírico (C_{60} -L4). Optimizados al nivel M06L/6-311G(d,p) en solvente agua utilizando el modelo PCM. Los átomos en gris representan los carbonos, los blancos los hidrógenos, los rojos los oxígenos, el átomo azul es un nitrógeno y el amarillo un azufre.	62
Figura 5.3. Estructura representativa del fullereno donde se muestra una parte del C_{60} en forma de esferas y el resto en forma de líneas. Los átomos que fueron tomados en cuenta para el promedio de las distancias de enlace son los 14 átomos de carbono en forma de esfera. Y la esfera de color lila representa el sitio de unión del <i>linker</i> .	63
Figura 5.4. Fármacos anticancerígenos libres Clorambucilo (F1), Carmustina (F2), 5-Fluorouracilo (F3) y N-metil-N-nitrosourea (F4). Optimizados al nivel M06L/6-311G(d,p) en solvente agua utilizando el modelo PCM. Los átomos color gris representan los carbonos, los blancos los hidrógenos, los rojos los oxígenos, los azules son nitrógenos mientras los verdes de mayor volumen (en F1 y F2) son átomos de cloro y el verde de radio menor (en F3) representa un átomo de flúor.	64
Figura 5.5. Nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C_{60} -L1, C_{60} -L2, C_{60} -L3 y C_{60} -L4 con el fármaco clorambucilo (F1). Optimizados al nivel M06L/6-311G(d,p), en solvente agua utilizando el modelo PCM. Se mantiene el mismo esquema de colores que en las imágenes anteriores y para las imágenes posteriores también.	65
Figura 5.6. Nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C_{60} -L1, C_{60} -L2, C_{60} -L3 y C_{60} -L4 con el fármaco carmustina (F2). Optimizados al nivel M06L/6-311G(d,p) en solvente agua utilizando el modelo PCM.	66
Figura 5.7. Nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C_{60} -L1, C_{60} -L2, C_{60} -L3 y C_{60} -L4 con el fármaco 5-Fluorouracilo (F3). Optimizados al nivel M06L/6-311G(d,p) en solvente agua utilizando el modelo PCM.	66
Figura 5.8. Nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C_{60} -L1, C_{60} -L2, C_{60} -L3 y C_{60} -L4 con el fármaco N-metil-N-nitrosourea (F4). Optimizados al nivel M06L/6-311G(d,p) en solvente agua utilizando el modelo PCM.	67

- Figura 5.9.** Mapa de potencial electrostático con una isosuperficie de 0.001 del fullereno C_{60} en solvente agua utilizando el modelo PCM. 72
- Figura 5.10.** Mapa de potencial electrostático con una isosuperficie de 0.001 de los fullerenos funcionalizados con L1, L2, L3 y L4 en solvente agua utilizando el modelo PCM. 73
- Figura 5.11.** Mapa de potencial electrostático con una isosuperficie de 0.001 de los fármacos anticancerígenos libres Clorambucilo (F1), Carmustina (F2), 5-Fluorouracilo (F3) y N-nitroso-N-metilurea (F4) en solvente agua utilizando el modelo PCM. 75
- Figura 5.12.** Mapa de potencial electrostático con una isosuperficie de 0.001 de los nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C_{60} -L1, C_{60} -L2, C_{60} -L3 y C_{60} -L4 con el fármaco clorambucilo (F1), en solvente agua utilizando el modelo PCM. 76
- Figura 5.13.** Mapa de potencial electrostático con una isosuperficie de 0.001 de los nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C_{60} -L1, C_{60} -L2, C_{60} -L3 y C_{60} -L4 con el fármaco carmustina (F2), en solvente agua utilizando el modelo PCM. 77
- Figura 5.14.** Mapa de potencial electrostático con una isosuperficie de 0.001 de los nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C_{60} -L1, C_{60} -L2, C_{60} -L3 y C_{60} -L4 con el fármaco 5-Fluorouracilo (F3), en solvente agua utilizando el modelo PCM. 78
- Figura 5.15.** Mapa de potencial electrostático con una isosuperficie de 0.001 de los nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C_{60} -L1, C_{60} -L2, C_{60} -L3 y C_{60} -L4 con el fármaco N-nitroso-N-metilurea (F4), en solvente agua utilizando el modelo PCM. 79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1. Resumen de las características de los principales métodos teóricos de la Química Cuántica.	28
Tabla 5.1. Valores de los parámetros calculados y experimentales de la longitud de enlace y ángulo de enlace de los C ₆₀ .	62
Tabla 5.2. Valores promedio de los parámetros calculados, longitud de enlace y ángulo de enlace de los C ₆₀ -L1, C ₆₀ -L2, C ₆₀ -L3, C ₆₀ -L4.	63
Tabla 5.3. Energía libre de Gibbs de formación de los nanovectores en fase gas, optimizados con la TFD al nivel M06L/6-311G(d,p).	68
Tabla 5.4. Energía libre de Gibbs de formación de los nanovectores en fase solvente etanol, optimizados con la TFD al nivel M06L/6-311G(d,p) y el modelo PCM.	69
Tabla 5.5. Energía libre de Gibbs de solvatación de los nanovectores en agua, optimizados con la TFD al nivel M06L/6-311G(d,p).	70
Tabla 5.6. Energía libre de Gibbs de solvatación de los nanovectores en n-octanol, optimizados con la TFD al nivel M06L/6-311G(d,p).	71
Tabla 5.7. Momentos dipolares en fase gas, fase agua, fase etanol y fase n-octanol, de C ₆₀ y C ₆₀ -LX, donde X = L1, L2, L3 y L4. Las unidades son debyes (D).	80
Tabla 5.8. Momentos dipolares en fase gas, fase agua, fase etanol y fase n-octanol, de F1, F2, F3 y F4. Las unidades son debyes (D).	81
Tabla 5.9. Momentos dipolares en Fase gas, Fase agua, Fase etanol y Fase n-octanol, de los 16 nanovectores diseñados. Las unidades son debyes (D).	82
Tabla 5.10. Descriptores globales de la reactividad de los cuatro fármacos estudiados, calculados a nivel de la TFD con M06L/6-311G(d,p) en fase solvente con el modelo PCM, modelados en agua. Las unidades son eV, a excepción de las unidades para la S, las cuales son eV ⁻¹ .	84
Tabla 5.11. Descriptores globales de la reactividad de los cuatro fármacos estudiados, calculados a nivel de la TFD con M06L/6-311G(d,p) en fase solvente con el modelo PCM, modelados en n-octanol. Las unidades son eV, a excepción de las unidades para la S, las cuales son eV ⁻¹ .	85
Tabla 5.12. Descriptores globales de la reactividad de los 16 nanovectores diseñados, calculados a nivel de la TFD con M06L/6-311G(d,p) en fase solvente con el modelo PCM, modelados en agua. Las unidades son eV, a excepción de las unidades para la S, las cuales son eV ⁻¹ .	85
Tabla 5.13. Descriptores globales de la reactividad de los 16 nanovectores diseñados, calculados a nivel de la TFD con M06L/6-311G(d,p) en fase solvente con el modelo PCM, modelados en n-octanol. Las unidades son eV, a excepción de las unidades para la S, las cuales son eV ⁻¹ .	86
Tabla 5.14. Descriptores moleculares correlacionados en la ecuación lineal del modelo QSAR obtenido haciendo uso del programa de cálculo CODESSA 3 PRO y un conjunto de prueba de 50 moléculas.	88
Tabla 5.15. Datos estadísticos resultantes para el modelo <i>LogBB</i> .	88
Tabla 5.16. Estructuras de las 50 moléculas del conjunto prueba relajadas a nivel semiempírico, con el método PM3	93
Tabla 5.17. Estructuras de las 11 moléculas correspondientes al conjunto de validación relajadas a nivel semiempírico, con el método PM3.	94
Tabla 5.18. Valores obtenidos de <i>LogBB</i> de las moléculas de interés estudiadas mediante el modelo QSAR (5.2) obtenido.	97

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1.1. Estrategias para la administración de fármacos en el cerebro.	15
Esquema 1.2. Reacción general de formación de amidas a partir de un ácido carboxílico.	23
Esquema 4.1. Esquema de reacciones para la formación de los nanovectores, a partir de los fullerenos funcionalizados con los distintos <i>linkers</i> y con los fármacos libres: 1,2,3 y 4, llevadas a cabo entre: C ₆₀ -L1 y F3, C ₆₀ -L1 y F1, C ₆₀ -L2 y F3, y C ₆₀ -L2 y F1, respectivamente.	56

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 5.1. Momentos dipolares en fase gas (azul), fase agua (verde), fase etanol (amarillo) y fase n-octanol (gris), de C ₆₀ , C ₆₀ -LX, donde X = L1, L2, L3 y L4.	81
Gráfica 5.2. Momentos dipolares en fase gas (azul), fase agua (verde), fase etanol (amarillo) y fase n-octanol (gris), de F1, F2, F3 y F4.	82
Gráfica 5.3. Momentos dipolares en Fase gas (azul), Fase agua (verde), Fase etanol (amarillo) y Fase n-octanol (gris), de los 16 nanovectores diseñados.	83
Gráfica 5.4. Potencia donadora y aceptora, ω^- y ω^+ , de nanovectores en fase agua (azul oscuro y azul claro) y n-octanol, (verde oscuro y verde claro).	87
Gráfica 5.5. Valores de <i>LogBB</i> de las 50 moléculas correspondientes al conjunto prueba, los valores experimentales se muestran en color azul y los calculados con la Ecuación (5.2) en color rojo	89
Gráfica 5.6. Valores de <i>LogBB</i> de las 11 moléculas correspondientes al conjunto de validación, los valores experimentales se muestran en color azul y los calculados con la Ecuación (5.2) en color rojo.	95
Gráfica 5.7. Valores de <i>LogBB</i> calculados con la Ecuación (5.2) de las moléculas de interés diseñadas en este trabajo.	96

LISTA DE ABREVIATURAS

BHE	Barrera Hematoencefálica
BO	Born-Oppenheimer
DGR	Descriptor Global de la Reactividad
GTO (Por sus siglas en inglés)	Orbitales Tipo Gaussiano (<i>Gaussian-Type Orbital</i>)
HF	Hartree Fock
HOMO (Por sus siglas en inglés)	Orbital Molecular ocupado de más alta energía. (<i>Highest Occupied Molecular Orbital</i>)
KS	Kohn - Sham
LDA (Por sus siglas en inglés)	Aproximación de la Densidad Local (<i>Local Density Approximation</i>)
LUMO (Por sus siglas en inglés)	Orbital Molecular desocupado de más baja energía (<i>Lowest Unoccupied Molecular Orbital</i>)
MM	Mecánica Molecular
PCM (Por sus siglas en inglés)	Modelo del Continuo Polarizable (<i>Polarizable Continuum Model</i>)
QSAR (Por sus siglas en inglés)	Relación Cuantitativa Estructura-Actividad (<i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i>)
QSPR (Por sus siglas en inglés)	Relación Cuantitativa Estructura-Propiedad (<i>Quantitative Structure-Property Relationship</i>)
SE	Semiempírico
SNC	Sistema Nervioso Central
SPE	Superficie de Potencial Electroestático
STO (Por sus siglas en inglés)	Funciones Tipo Slater (<i>Slater-Type Orbital</i>)
TFD	Teoría de los Funcionales de la Densidad
UEG (Por sus siglas en inglés)	Gas Uniforme de Electrones (<i>Uniform Electron Gas</i>)

INTRODUCCIÓN

EL trabajo teórico computacional que se presenta en este proyecto está dividido en VI capítulos.

En el capítulo I, se han desarrollado los conceptos básicos correspondientes al área de la nanomedicina, donde de manera concisa se presenta por secciones y subsecciones la teoría sobre el tema, desde lo más general hasta varios puntos particulares relevantes para el planteamiento del problema a tratar tales como son el cáncer, tumores cerebrales y barrera hematoencefálica. También se presenta información sobre cuatro fármacos anticancerígenos de interés comercial para este proyecto. Se explica que es la nanotecnología y cómo esta puede ser aplicada a la nanomedicina utilizando nanopartículas como acarreadoras de fármacos, enfocados particularmente en nanopartículas como los fullerenos y la funcionalización de su superficie a través de moléculas orgánicas llamadas *linkers*.

En el capítulo II, de manera general se habla de los métodos de la química computacional y diseño *in silico*, enfocados en la Teoría de los Funcionales de la Densidad (TFD) y la relevancia de los teoremas de Hohenberg-Kohn así como de Kohn-Sham para el desarrollo de dicha teoría, y las aproximaciones utilizadas, como los funcionales de Minnesota especialmente M06-L, para poder calcular la energía de intercambio y correlación. También se habla de los descriptores de la reactividad global derivados de la TFD Conceptual. Se describe brevemente un modelo de solvente, PCM, para el cálculo de las moléculas de interés en fase solvente y se da paso a los conceptos de la quimioinformática, particularmente se habla del modelo QSAR para el cálculo de $LogBB$ y los mejores descriptores según nuestros cálculos.

El planteamiento del problema, la hipótesis y los objetivos se encuentran en el capítulo III.

En el capítulo IV se describe la metodología seleccionada para realizar el proyecto y en el capítulo V se muestran los resultados y la discusión de estos. Los resultados que se han obtenido son resultados tanto de cálculos cuánticos TFD como de cálculos quimioinformáticos (QSAR). La discusión de los dos tipos de cálculos permite constatar su pertinencia y correspondencia con la hipótesis y los objetivos que se plantearon, es decir, diseñar sistemas nanoestructurados viables para el transporte de fármacos anticancerígenos conocidos a través de la barrera hematoencefálica utilizando fullerenos C_{60} funcionalizados con ciertas moléculas orgánicas que muestra su utilidad como *linkers*.

Por último, se encuentran las conclusiones y perspectivas en el capítulo VI.

CAPITULO I. NANOMEDICINA

1.1 Cáncer.

El cáncer es una enfermedad que comprende un conjunto de padecimientos relacionados. Se caracteriza por una reproducción incontrolada de células indiferenciadas.

El cáncer puede aparecer casi en cualquier parte del cuerpo; hay más de 100 tipos, ya que las células afectadas tienden a invadir los tejidos circundantes.

Las células, que se dividen sin detener forman masas llamadas tumores. Los tumores invaden los órganos a sus alrededores y pueden desprenderse también de ellos células que viajen a través del torrente sanguíneo a otras partes del cuerpo donde se llegan a formar tumores nuevos, es decir tumores que aparecen por metástasis.

Este fenómeno es frecuente en el sistema nervioso central (SNC), el cual es uno de los lugares de más difícil acceso para el tratamiento de las células cancerígenas. Los cánceres en el SNC según el GLOBOCAN, representaron 256,000 nuevos casos y 189,000 muertes en 2012 (1.8% de cánceres nuevos y 2.3% de muertes por cáncer).¹ Como vemos es un problema fuerte y necesita ser atendido.

1.2 Tumores cerebrales.

Tomando como base el alto porcentaje de padecimientos por tumores cerebrales, se hablará sobre el tema a continuación.

Se sabe que el sistema nervioso central se encuentra aislado con respecto a la circulación sanguínea del resto del cuerpo, por una estructura única en el organismo denominada barrera hematoencefálica (BHE), es así como los tumores que surgen en el SNC suelen ser de los casos más difíciles de tratar ya que, para llegar a las células diana se necesita atravesar esta compleja estructura, de la cual se hablará en la sección siguiente.

El cerebro siempre se encuentra activo por lo que demanda altos consumos de energía y oxígeno, lo cual se ve reflejado en el requerimiento de grandes cantidades de flujo sanguíneo en el cual pueden ir células cancerosas altamente agresivas y que pese a la presencia de la BHE logran atravesarla hacia el SNC, alojándose en este.

Los gliomas son los tumores más frecuentes originados en el SNC. Este tipo de tumores suelen ser diagnosticados en etapas muy avanzadas y su tratamiento

quirúrgico es muy complicado. El tratamiento por fármacos también es complicado por la BHE que dificulta su absorción. Representan más del 50% de las neoplasias de origen glial, es decir de las neoplasias desarrolladas en las células gliales, las cuales forman parte del sistema nervioso junto a las neuronas

Los tumores que se encuentran en el sistema nervioso central se clasifican comúnmente, según la organización mundial de la salud (OMS), de acuerdo con su presunta célula de origen (astrocitos u oligodendrocitos), y los clasifica de grado I a IV. Los tumores de grado I se producen principalmente en la infancia, los de grado II son tumores de crecimiento lento, y suelen transformarse en un fenotipo maligno. Los de grado III comprenden astrocitoma anaplásico, oligoastrocitoma anaplásico mixto y oligodendroglioma anaplásico, y el grado IV corresponde al glioblastoma.²

1.3 Barrera hematoencefálica.

La barrera hematoencefálica puede definirse como una propiedad funcional de los vasos sanguíneos del SNC.³

La observación de la BHE surgió a finales del siglo XIX, cuando Edwin E. Goldmann utilizó inyecciones intravenosas de colorante azul tripán en varios animales y observó que se extendió por todo el cuerpo, excepto el cerebro y la médula espinal, sin embargo, cuando se inyectó azul tripán en el espacio subaracnoideo a nivel lumbar en conejos jóvenes, se tiñó el SNC,^{4, 5} lo que confirma la presencia de una barrera previamente desconocida entre la sangre y las estructuras del SNC.

No obstante, el término concreto de BHE es atribuido a Lewandowsky cuando en 1900, descubrió que la inyección de un producto neurotóxico sólo tenía un efecto nocivo si se realizaba dentro del parénquima cerebral, mientras que la inyección del mismo producto resultaba inocua si era inyectada en cualquier otra parte del cuerpo.⁶

La barrera hematoencefálica es la principal barrera para el transporte de medicamentos hacia el cerebro, ya que impide el intercambio libre de iones y moléculas orgánicas entre el plasma sanguíneo y el tejido nervioso. Su estructura está construida por células endoteliales y éstas están conectadas mediante un complejo de unión, los complejos de unión son uniones entre células que forman estructuras macromoleculares y existen diferentes tipos en este caso el complejo de unión es llamado unión estrecha, formada por la interacción de proteínas transmembranales que sobresalen del interior hacia el exterior, estableciendo esta conexión entre las células endoteliales altamente estrecha, además los pies de los

astrocitos, los cuales son células gliales, rodean la BHE como se muestra en la **fig. 1.1**.

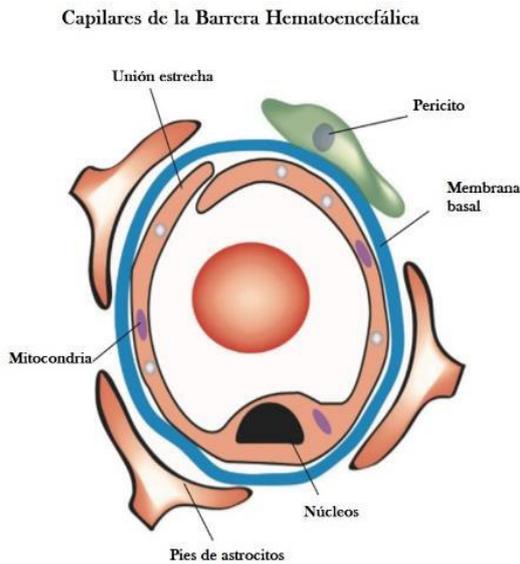


Figura 1.1. Corte transversal de un capilar en el SNC, donde se observa la barrera hematoencefálica.

La BHE de esta forma impide el paso de sustancias al intersticio cerebral de manera selectiva ya que, el transporte de sustancias al cerebro depende de los mecanismos de transporte presentes en la barrera y la difusión de estos compuestos depende también de las características fisicoquímicas de la molécula.

Se han investigado diferentes estrategias para la administración de medicamentos hacia el SNC. Existen las técnicas invasivas y las técnicas no invasivas, representadas en el **Esquema 1.1**, las técnicas invasivas suelen alterar la BHE mientras las técnicas no

invasivas buscan alternativas como los métodos químicos y biológicos, siendo de gran interés para nosotros los métodos biológicos. Dentro de los métodos biológicos se encuentra la propuesta del uso de nanopartículas como acarreadoras de fármacos, estudios pertenecientes al área de la nanomedicina.⁷ Sin embargo, dentro de los métodos químicos el uso de fármacos anticancerígenos como tratamientos quimioterapéuticos son utilizados hasta la fecha de manera importante. Debido a esto hoy se sabe que algunos de los fármacos que atraviesan la BHE, aunque en bajo porcentaje son por ejemplo: 5-Fluorouracilo, Carmustina, Clorambucilo y N-metil-N-nitrosourea⁸.



Esquema 1.1. Estrategias para la administración de fármacos en el cerebro.

Como se observa hay un gran grupo de estrategias para la administración de medicamentos al SNC, enseguida se hablará particularmente de dos opciones, fármacos anticancerígenos (cuatro fármacos particulares) y un método biológico de interés en este proyecto, el uso de nanopartículas.

1.4 Fármacos anticancerígenos.

Se presenta en esta sección una breve descripción de los fármacos anticancerígenos seleccionados en este trabajo: 5-Fluorouracilo, Carmustina, Clorambucilo y N-metil-N-nitrosourea.

1.4.1 Clorambucilo o 4-(4 (bis (2-cloroetil) amino) fenil) ácido butírico.

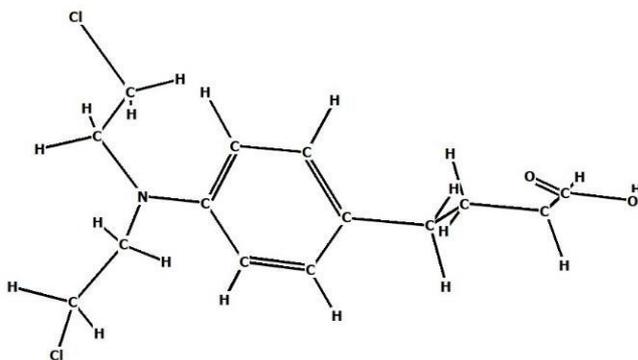


Figura 1.2. Clorambucilo (F1).

Este fármaco ha sido utilizado para el tratamiento de la leucemia linfocítica crónica y los linfomas no hodgkinianos.

El clorambucilo⁹ Fig. 1.2, es estable en solución acuosa, por lo que se absorbe casi en su totalidad después de la administración oral. Pertenece al grupo de los agentes alquilantes siendo parte de las mostazas nitrogenadas, de las cuales su actividad biológica reside en la existencia del grupo bis-cloretilamina unido a un nitrógeno trivalente.

1.4.2 Carmustina o 1-3-bis(2-cloroetil)-1-nitrosourea.

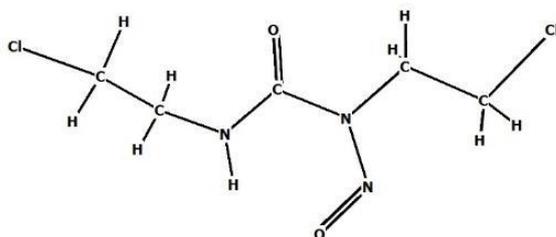


Figura 1.3. Carmustina (F2).

modificaciones a menudo mediadas por reacciones enzimáticas. La alteración de la estructura del ADN ocurre tanto en las células neoplásicas como en las normales, causando efectos secundarios bien conocidos durante los tratamientos

La carmustina¹⁰ Fig. 1.3, deriva de las nitrosureas¹¹ y pertenece también a los agentes alquilantes, una clase de fármacos antineoplásticos ampliamente utilizados, que realizan su acción terapéutica al reaccionar con el ADN, dando lugar a diferentes

quimioterapéuticos.¹² Particularmente, la carmustina se ha utilizado en astrocitomas malignos, metástasis cerebral y glioblastomas.

1.4.3 5-Fluorouracilo o 5-fluoropirimidina-2,4 (1H, 3H)-diona.

El 5-fluorouracilo¹³ (F3) en la **Fig. 1.4** pertenece al grupo de los antimetabolitos, es un análogo de las bases pirimidinas. Forma parte de un grupo farmacológico muy importante en el tratamiento antineoplásico, con actividad de amplio espectro. El 5-fluorouracilo es uno de los fármacos más frecuentemente utilizados en la quimioterapia del cáncer.¹⁴ Se sabe que su principal mecanismo de acción es la inhibición de la síntesis de ADN mediante la inhibición competitiva de la timidilato sintetasa, que es la enzima diana para este fármaco.¹⁵

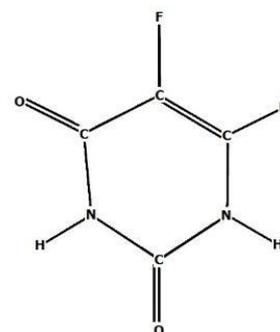


Figura 1.4. 5-Fluorouracilo (F3).

1.4.4 N-metil-N-nitrosourea o 1-metil-1-nitrosourea.

N-metil-N-nitrosourea¹⁶ (NMU) **Fig. 1.5**, es una nitrosourea que pertenece a los agentes alquilantes con propiedades anticarcinógenas y mutagénicas. Su acción citotóxica se debe a la formación de enlaces covalentes entre sus grupos alquilo y diversas moléculas nucleofílicas presentes en las células. Actúan preferentemente a nivel del ADN y, en concreto, de las bases nitrogenadas. También pueden reaccionar con los grupos fosfato y alquilar bases del ARN.

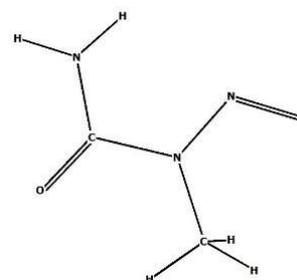


Figura 1.5. N-nitroso-N-metilurea (F4).

1.5 Nanotecnología.

La nanotecnología es el diseño, caracterización, producción y aplicación de estructuras, dispositivos y sistemas; controlando forma y tamaño a escala nanométrica.¹⁷

La escala nanométrica, es una escala propia del nanómetro el cual equivale a una mil millonésima parte de un metro ($1\text{nm} = 10^{-9}\text{m}$).

Son estos hechos los que nos permiten diseñar sistemas con ciertas condiciones y/o modificar la estructura de los ya existentes. Llegando al primer nivel de organización de la materia, es decir, los átomos, definiendo sus propiedades y funciones. Ahora bien, entre las aplicaciones de la nanotecnología encontramos el área de la medicina.

1.5.1 Nanomedicina.

La aplicación de las herramientas de la nanotecnología en el área médica recibe el nombre de nanomedicina, la cual ha tomado gran auge en las últimas décadas gracias a las aportaciones que pueden surgir de ella pues lo que antes se podía abordar de manera limitada, con la nanomedicina puede ser mejor estudiado proponiendo con ello soluciones plausibles.

Un ejemplo es el estudio a nivel molecular de fenómenos biológicos asociados con el cáncer que nos permiten ampliar el entendimiento de estos, así como, el desarrollo de nuevas alternativas para el control de dicho padecimiento al aplicar la nanomedicina.

La nanomedicina contra el cáncer se refiere a la aplicación de agentes terapéuticos y de diagnóstico para la obtención de imágenes basados en la nanotecnología, el seguimiento, prevención y tratamiento del cáncer.¹⁸

Se espera que al aplicar estos conocimientos contra el cáncer cambie la quimioterapia, entregando una carga de fármaco útil, cuya farmacocinética sea favorable, con mayor especificidad, eficacia y, por lo tanto, menor toxicidad utilizando nanopartículas como base para quimioterapia en tumores cerebrales, en lugar de fármacos libres.

1.6 Nanopartículas.

Las nanopartículas son partículas coloidales sólidas ya sea en forma de nanoesfera o nanocápsula que varían de 1 a 100 nm de tamaño en al menos una de sus dimensiones, aproximadamente.

La aplicación de nanopartículas como agentes terapéuticos de administración de fármacos en el SNC nos ofrece varias ventajas con respecto a otros métodos de administración de fármacos a través de la BHE, pues las nanopartículas pueden:

- Enmascarar las características limitantes de los fármacos para atravesar la BHE, por la capacidad de su superficie para ser funcionalizada.
- Controlar la velocidad de liberación del fármaco en el cerebro lo que disminuye el nivel de toxicidad.¹⁹
- Aumentar la acumulación del fármaco en el tejido tumoral.
- Mejorar la biodisponibilidad del fármaco.²⁰

La Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos de Norteamérica (FDA) ha aprobado ya algunos tratamientos anticáncer basados en nanopartículas.

Uno de los primeros fármacos que se empleó para este tipo de formulaciones nanoparticuladas de entrega de fármacos en cerebro, fue el hexapéptido *dalargin*. Para ello, se emplearon nanopartículas cargadas con el fármaco, de tamaño cercano a 250 nm, recubiertas con polisorbato-80 (emulsificante) y administradas por vía intravenosa, observando que el uso de nanopartículas como acarreadores de fármacos, les permite pasar la BHE.²¹

Existen diferentes sistemas nanoparticulados, cuya síntesis ya ha sido llevada a cabo, donde la droga o principio activo se incorpora por absorción, adsorción, encapsulación o por enlaces covalentes.²²

Los nanosistemas obtenidos por enlaces covalentes se logran por lo general mediante una reacción de acoplamiento entre nanopartículas funcionalizadas con grupos amino y su unión a moléculas orgánicas derivadas de ésteres o nanopartículas funcionalizadas con derivados de ésteres unidas a moléculas orgánicas que presenten grupos amino. Las propiedades tanto físicas como químicas de las nanopartículas están íntimamente relacionadas con su eficiencia funcional y por ello, es de suma importancia su caracterización. Propiedades como el tamaño, la morfología de la superficie, carga superficial, hidrofobicidad y la concentración de fármaco son quizás las de mayor importancia en cuanto a caracterización.

Dentro de los diferentes tipos de nanopartículas que se han diseñado y/o sintetizado, este trabajo *in silico* está centrado en el estudio de los fullerenos.

1.6.1 Fullerenos.

Los buckminsterfullerenos también conocidos como fullerenos son moléculas cuya estructura asemeja una caja con la particularidad de ser esféricas. Están compuestos de átomos de carbono (C) dispuestos en ciclos de 5 o 6 átomos con enlaces de tipo sp^2 , son la tercera forma más estable del carbono después del diamante y el grafito.

Los fullerenos fueron descubiertos por H. Kroto, Robert Curl y Richard Smalley en 1985.²³

Los fullerenos pueden presentar diferente número de átomos de carbono en su estructura y por lo tanto también diferente número de ciclos, los más conocidos son los que tienen en su estructura 12 ciclos pentagonales variando el número de ciclos hexagonales. El número de átomos de carbono es muy variado, existen fullerenos como C_{60} , C_{70} , C_{76} , C_{78} , C_{84} ²⁴ entre otros. El más estudiado es el fullereno C_{60} , **Fig. 1.6**, este está conformado por 30 dobles enlaces sumados entre 12 ciclos pentagonales y 20 hexagonales, es el más abundante y estable, el menos costoso y sobresale por su comportamiento bioquímico.

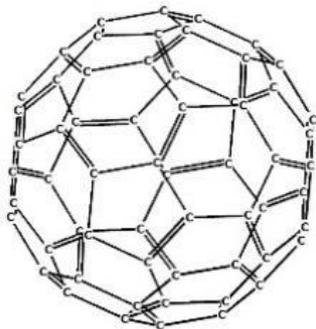


Figura 1.6. Fullereno C₆₀.

El C₆₀ presenta una configuración de capa cerrada, consta de 30 enlaces con 60 electrones π ²⁵. El orbital molecular de valencia o el más alto ocupado HOMO, (por sus siglas en inglés, *Highest Occupied Molecular Orbital*) es 1.5-2.0 eV más bajo que el orbital molecular anti-enlace o más bajo desocupado LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*).

En estudios de electroquímica anódica de C₆₀, ésta indica comportamiento irreversible, lo que implica que los fullerenos fácilmente donan y aceptan electrones.

1.6.2 Fullerenos funcionalizados.

Fullereno funcionalizado es aquel cuya estructura ha sido modificada con la adición de moléculas mayoritariamente orgánicas, cuyas propiedades caracterizan de forma particular la superficie de los fullerenos. Estas moléculas orgánicas en inglés son llamadas *linkers* dado que permiten unir el fullereno con otra molécula de interés, y varían en número de acuerdo con las necesidades.

Los fullerenos nativos, son moléculas lipofílicas por lo que si se administran en el cuerpo humano, tienden a localizarse en regiones ricas en lípidos como las membranas celulares.²⁶ Son solubles solo en solventes orgánicos apolares (tolueno o benceno). Para que un fullereno sea soluble en agua, se recurre a la modificación de su estructura adhiriendo diferentes moléculas²⁷ es decir, funcionalizándolo.

Entre otras características:

- Al adicionar al fullereno moléculas polares o residuos hidrofílicos con grupos cargados positivamente aumenta su solubilidad, dándoles características anfílicas (hidrofílicos e hidrofóbicos).²⁸

Las aplicaciones biológicas de fullerenos se han incrementado en los últimos años.

- La deslocalización de los 60 electrones en los 30 dobles enlaces llamados C6-6 entre los pares de hexágonos, provocan la oxidación y fácil captura de radicales libres.
- Los derivados de fullereno pueden construirse con reacciones de adición.
- C₆₀ puede formar enlaces covalentes con diferentes grupos funcionales. Los productos resultantes dependen del número y la naturaleza del grupo funcional, así como de la topología de los nuevos enlaces.

- Para incrementar su hidrofiliidad se unen con: -OH, -COOH o -NH₂.
- Su estabilidad y estado energético triplemente degenerado pueden facilitar el transporte de electrones a través de la bicapa lipídica, además de disminuir su toxicidad al funcionalizarlos.²⁹

Formación de derivados de fullereno.

Existen diferentes formas de obtener derivados de fullereno, entre las más representativas se encuentran los siguientes tres tipos de transformaciones químicas posibles para la funcionalización de fullerenos.

- Reacciones de adición.
- Reacciones de transferencia de electrones.
- Reacciones de apertura de anillo.^{30, 31}

Con ellas se ha logrado la preparación de derivados de fullereno C₆₀ hidrogenados, alquilados, arilados, organometálicos etc. Esto principalmente sobre los enlaces [6:6].³²

Y dentro de los métodos que han ofrecido mejores resultados para la funcionalización regioselectiva de C₆₀ se encuentran las reacciones de cicloadición [1+2], [2+2], [3+2], [4+2] que permiten la introducción de grupos orgánicos.

Las cicloadiciones se pueden llevar a cabo en los enlaces [6:6] y [5:6], y en ambos casos se pueden dejar los anillos abiertos o cerrados. Sin embargo, las cicloadiciones más favorecidas, cinética y termodinámicamente son las que se llevan a cabo en los enlaces [6:6] sin la apertura de anillo,^{33, 34} donde la densidad electrónica es alta y los enlaces [6:6] actúan como dienófilos. Además, las reacciones de cicloadición van acompañadas de una disminución de la energía de tensión en la esfera del fullereno C₆₀, debido al cambio parcial de hibridación sp² a sp³ en los átomos de carbono sobre los cuales se lleva a cabo la adición.^{30, 35}

Ejemplos particulares de fullerenos funcionalizados

Son referidos como derivados funcionalizados de enlace sencillo aquellos fullerenos que presentan la unión de dos o más *linkers* individuales unidos por enlaces simples a dos o más átomos de carbono en el fullereno.

Tal es el caso de los fullerenos, (1,2-metanofullereno C₆₀)-61-ácido carboxílico (C₆₀-L1), fullereno metil nipecotate (C₆₀-L2), [6,6]-tienil C61 éster metílico del ácido butírico o también llamado [60]ThCBM (C₆₀-L3) y [6,6]-fenilC61, éster metílico del ácido butírico³⁶ o [60]PCBM (C₆₀-L4), cuyas estructuras muestro a continuación, **fig. 1.7.**^{37, 38}

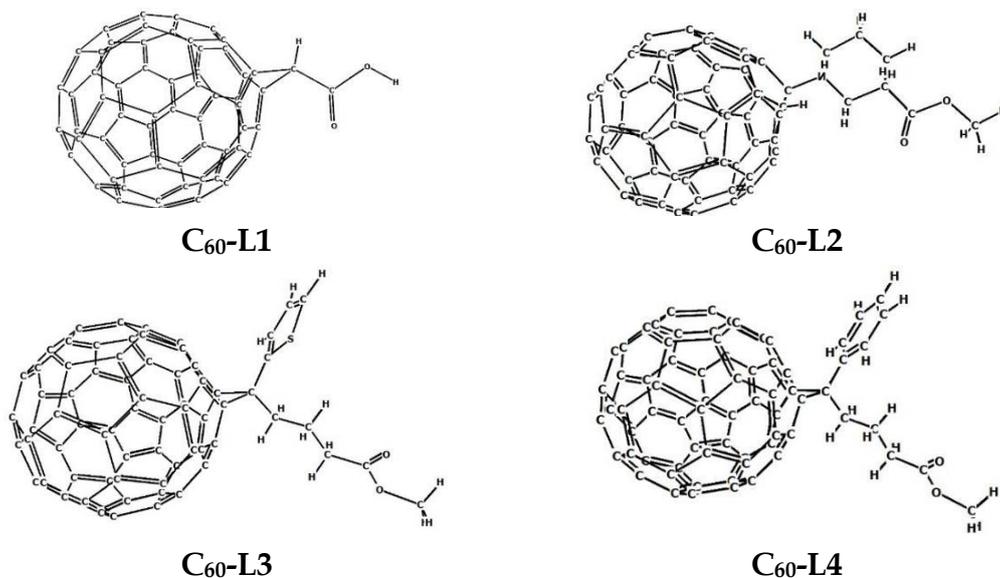


Figura 1.7. Fullerenos funcionalizados: (1,2-metanofullereno C₆₀)-61-ácido carboxílico (C₆₀-L1), fullereno metil nipecotate, (C₆₀-L2), [6,6]-tienil C₆₁ éster metílico del ácido butírico o [60]ThCBM C₆₀-L3 y [6,6]-fenil C₆₁, éster metílico del ácido butírico³⁶ o [60]PCBM C₆₀-L4.³⁹

Dichos derivados han mostrado mayor solubilidad en medios acuosos respecto al fullereno C₆₀ nativo, se han realizado pruebas de DLS (Dispersión de luz dinámica) que indican que se dispersan bien en agua y su solución acuosa es bastante estable, también presentan baja toxicidad, lo cual resulta de interés para ser estudiados como transportadores biológicos.

1.6.3 Formación de nanovectores.

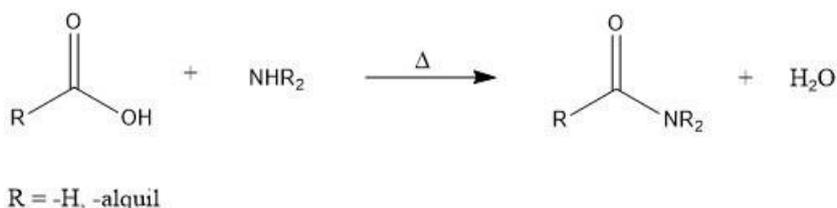
Nanovectores se les llama a los sistemas nanoestructurados, diseñados para el transporte dirigido de fármacos, enmascaramiento de sus propiedades fisicoquímicas, entre otras características. La incorporación de moléculas orgánicas a las nanopartículas le confieren al nanovector características que mejoran su solubilidad y biodisponibilidad, así como también disminuyen la toxicidad del fármaco.

Los fullerenos funcionalizados y fármacos libres, (en este trabajo se han seleccionado fármacos ya probados como anticancerígenos) son concretamente las moléculas que en este estudio conforman los nanovectores propuestos y cuyas combinaciones dan como resultado 16 diferentes estructuras estudiadas.

Los fullerenos funcionalizados, ejemplificados en la sección anterior, son estudiados en este trabajo como transportadores de fármacos unidos a los fármacos: 5-Fluorouracilo, clorambucilo, carmustina y N-metil-N-nitrosourea. Para su unión se llevan a cabo reacciones entre ésteres y amidas, así como también entre ésteres y ácidos carboxílicos para la formación de amidas y anhídridos, respectivamente y mediante enlaces peptídicos.

Las amidas abundan en todos los organismos vivos; las proteínas, los ácidos nucleicos y muchos productos farmacéuticos tienen grupos funcionales amida, la razón de esta abundancia de amidas es que son más estables a las condiciones que se encuentran en los organismos vivos.⁴⁰

Las amidas se forman por la sustitución nucleofílica en el grupo acilo de un ácido carboxílico, sin embargo, la sustitución directa es difícil en el laboratorio debido a que el -OH es un mal grupo saliente. Así, por lo general es necesario incrementar la reactividad del ácido, ya sea utilizando un ácido fuerte como catalizador para protonar el grupo carboxilo y hacerlo un mejor electrófilo, o convirtiendo el grupo -OH en un mejor grupo saliente.⁴¹ Sin embargo, bajo las circunstancias correctas tanto las amidas como los anhídridos pueden prepararse a partir de ácidos carboxílicos o ésteres y así llevar a cabo la formación de nanovectores.



Esquema 1.2. Reacción general de formación de amidas, a partir de un ácido carboxílico.

Referencias

1. Stupp, R.; Brada, M.; Van Den Bent, M.; Tonn, J.-C.; Pentheroudakis, G. J. A. o. o., High-grade glioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. **2014**, 25 (suppl_3), iii93-iii101.
2. Ferlay, J.; Soerjomataram, I.; Dikshit, R.; Eser, S.; Mathers, C.; Rebelo, M.; Parkin, D. M.; Forman, D.; Bray, F. J. I. j. o. c., Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. **2015**, 136 (5), E359-E386.
3. Goldstein, G. W.; Betz, A. L., The blood-brain barrier. *Scientific American* **1986**, 255 (3), 74-83.
4. Goldmann, E. E., *Die äussere und innere skeretion des Gesunden organismus im lichte der" Vitalen Färbung"*. H. Laupp'schen Buchhandlung: 1909.
5. Bentivoglio, M.; Kristensson, K., Tryps and trips: cell trafficking across the 100-year-old blood-brain barrier. *Trends in neurosciences* **2014**, 37 (6), 325-333.
6. Pascual-Garvi, J.; González-Llanos, F.; Prieto-Arribas, R.; Cerdán, S.; Roda, J., La barrera hematoencefálica: desarrollo de una estructura que permite la heterogeneidad funcional del sistema nervioso central. *Rev Neurol* **2004**, 38 (6), 565-581.
7. Loch-Neckel, G.; Koepf, J., La barrera hematoencefálica y la administración de medicamentos en el sistema nervioso central. *Rev Neurol* **2010**, 51 (3), 165-174.
8. Montgomery, J. A., The development of the nitrosoureas: a study in congener synthesis. *Nitrosoureas: Current Status and New Developments* **1981**, 3-8.
9. Patel, R.; Shervington, L.; Lea, R.; Shervington, A. J. B. r., Epigenetic silencing of telomerase and a non-alkylating agent as a novel therapeutic approach for glioma. **2008**, 1188, 173-181.
10. Etkinlik, G. M. T. K. G. J. T. N., Efficacy and safety of carmustine wafers in the treatment of glioblastoma multiforme: a systematic review. **2014**, 24 (5), 639-645.
11. Benedí, J.; Gómez del Río, M. Á., Fármacos antineoplásicos (I): revisión. *Farmacia Profesional* **2006**, 20 (2), 60-64.
12. Carbone, V.; Salzano, A.; Pucci, P.; Fiume, I.; Pocsfalvi, G.; Sannolo, N.; LANDA, G. D.; Malorni, A., In vitro reactivity of the antineoplastic drug carmustin and acrolein with model peptides. *Chemical Biology & Drug Design* **1997**, 49 (6), 586-595.
13. Lakkadwala, S.; Singh, J. J. J. o. p. s., Dual Functionalized 5-Fluorouracil Liposomes as Highly Efficient Nanomedicine for Glioblastoma Treatment as Assessed in an In Vitro Brain Tumor Model. **2018**.
14. Simeonova, M.; Velichkova, R.; Ivanova, G.; Enchev, V.; Abrahams, I., Poly (butylcyanoacrylate) nanoparticles for topical delivery of 5-fluorouracil. *International journal of pharmaceutics* **2003**, 263 (1), 133-140.
15. Goette, D. K., Topical chemotherapy with 5-fluorouracil: A review. *Journal of the American Academy of Dermatology* **1981**, 4 (6), 633-649.
16. Kokkinakis, D. M.; Watson, M. L.; Honig, L. S.; Rushing, E. J.; Mickey, B. E.; Schold Jr, S. C. J. N.-o., Characterization of initiated cells in N-

methylnitrosourea-induced carcinogenesis of the CNS in the adult rat. **2001**, 3 (2), 99-112.

17. Alvarez-Lemus, M.; López-Goerne, T., Nanotecnología y cáncer: aplicación al tratamiento de tumores cerebrales. *Archivos de Neurociencias* **2012**, 17 (2), 102-109.

18. Moghimi, S. M.; Hunter, A. C.; Murray, J. C., Nanomedicine: current status and future prospects. *The FASEB journal* **2005**, 19 (3), 311-330.

19. Lockman, P.; Mumper, R.; Khan, M.; Allen, D., Nanoparticle technology for drug delivery across the blood-brain barrier. *Drug development and industrial pharmacy* **2002**, 28 (1), 1-13.

20. Moddaresi, M.; Brown, M. B.; Zhao, Y.; Tamburic, S.; Jones, S. A., The role of vehicle-nanoparticle interactions in topical drug delivery. *International journal of pharmaceutics* **2010**, 400 (1), 176-182.

21. Kreuter, J.; Alyautdin, R. N.; Kharkevich, D. A.; Ivanov, A. A., Passage of peptides through the blood-brain barrier with colloidal polymer particles (nanoparticles). *Brain research* **1995**, 674 (1), 171-174.

22. Moffat, B. A.; Reddy, G. R.; McConville, P.; Hall, D. E.; Chenevert, T. L.; Kopelman, R. R.; Philbert, M.; Weissleder, R.; Rehemtulla, A.; Ross, B. D., A novel polyacrylamide magnetic nanoparticle contrast agent for molecular imaging using MRI. *Molecular imaging* **2003**, 2 (4), 15353500200303163.

23. Kroto, H. W.; Heath, J. R.; O'Brien, S. C.; Curl, R. F.; Smalley, R. E., C₆₀: Buckminsterfullerene. *Nature* **1985**, 318 (6042), 162-163.

24. Rojas, A.; Martínez, M.; Amador, P.; Torres, L. A., Increasing stability of the fullerenes with the number of carbon atoms: The experimental evidence. *The Journal of Physical Chemistry B* **2007**, 111 (30), 9031-9035.

25. Haddon, R.; Brus, L. E.; Raghavachari, K., Electronic structure and bonding in icosahedral C₆₀. *Chemical Physics Letters* **1986**, 125 (5-6), 459-464.

26. Oberdörster, E., Manufactured nanomaterials (fullerenes, C₆₀) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass. *Environmental health perspectives* **2004**, 112 (10), 1058.

27. Yamago, S.; Tokuyama, H.; Nakamura, E.; Kikuchi, K.; Kananishi, S.; Sueki, K.; Nakahara, H.; Enomoto, S.; Ambe, F., In vivo biological behavior of a water-miscible fullerene: ¹⁴C labeling, absorption, distribution, excretion and acute toxicity. *Chemistry & biology* **1995**, 2 (6), 385-389.

28. Bosi, S.; Da Ros, T.; Castellano, S.; Banfi, E.; Prato, M., Antimycobacterial activity of ionic fullerene derivatives. *Bioorganic & medicinal chemistry letters* **2000**, 10 (10), 1043-1045.

29. Qin, S.; Qin, D.; Ford, W. T.; Herrera, J. E.; Resasco, D. E.; Bachilo, S. M.; Weisman, R. B., Solubilization and purification of single-wall carbon nanotubes in water by in situ radical polymerization of sodium 4-styrenesulfonate. *Macromolecules* **2004**, 37 (11), 3965-3967.

30. Hirsch, A.; Brettreich, M., *Fullerenes: chemistry and reactions*. John Wiley & Sons: 2006.

31. De La Puente, F. L.; Nierengarten, J.-F., *Fullerenes: principles and applications*. Royal Society of Chemistry: 2011.

32. Calva, A. H.; Arroyo, M.; Monroy, A. R., Covalent functionalization of fullerene C60 bearing fulleren isoxazolines as potential ligands to transition metals. *Boletín del Grupo Español del Carbón* **2017**, (44), 2-7.
33. Yurovskaya, M.; Trushkov, I., Cycloaddition to buckminsterfullerene C60: advancements and future prospects. *Russian chemical bulletin* **2002**, 51 (3), 367-443.
34. Kavitha, K.; Venuvanalingam, P., Open versus closed 1, 3-dipolar additions of C60: a theoretical investigation on their mechanism and regioselectivity. *The Journal of organic chemistry* **2005**, 70 (14), 5426-5435.
35. Haymet, A. D., Footballene: a theoretical prediction for the stable, truncated icosahedral molecule C60. *Journal of the American Chemical Society* **1986**, 108 (2), 319-321.
36. Boucher, D.; Howell, J., Solubility Characteristics of PCBM and C60. *J Phys Chem B* **2016**, 120 (44), 11556-11566.
37. Liu, Y.; Yan, B.; Winkler, D. A.; Fu, J.; Zhang, A., Competitive Inhibition Mechanism of Acetylcholinesterase without Catalytic Active Site Interaction: Study on Functionalized C60 Nanoparticles via in vitro and in silico Assays. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2017**.
38. Liu, Y.; Fu, J.; Pan, W.; Xue, Q.; Liu, X.; Zhang, A., Inhibition of thrombin by functionalized C60 nanoparticles revealed via in vitro assays and in silico studies. *Journal of Environmental Sciences* **2017**.
39. <https://www.sigmaaldrich.com>.
40. McMurry, J., *Química orgánica*. Thompson: 2004.
41. Antonio, R. A. C. Química Orgánica, FQ, UNAM. <http://organica1.org/qo1/ok/acidos2/acido16.htm>.

QUÍMICA COMPUTACIONAL Y DISEÑO *IN SILICO*.

2.1 Generalidades.

La Química computacional puede definirse como la descripción matemática y simulación numérica en base a fundamentos de la física, de estructuras y fenómenos químicos con el uso de cálculos computacionales.

La química computacional está construida alrededor de soluciones aproximadas de ecuaciones y puede ser usada en diversos campos, por ejemplo, se puede emplear en el modelado de un sistema molecular previo a su síntesis lo cual tendrá como repercusiones el ahorro de tiempo, ahorro de materia prima y disminución de la generación de desechos; como el diseño *in silico* de moléculas, principalmente fármacos.

Para dichos estudios la química computacional abarca principalmente la estructura y reactividad molecular en dos grandes áreas: mecánica molecular (MM) y mecánica cuántica (MC), con la teoría de estas dos áreas se pueden llevar a cabo cálculos de las mismas moléculas, pero con diferente precisión y rapidez.

La Mecánica Molecular se basa en las leyes de la física clásica para predecir propiedades moleculares. Su desventaja es que no incorpora en los cálculos el comportamiento electrónico por lo que no lo describe correctamente, así como tampoco la distribución electrónica. Es mayormente aplicable a fenómenos no reactivos, especialmente en el cálculo de geometrías de sistemas grandes como proteínas y DNA ya que presenta un costo computacional menor que los cálculos cuánticos.

La mecánica cuántica se basa en los estudios del átomo, los núcleos y las partículas elementales. Resuelve la ecuación de Schrödinger para obtener energía y otras propiedades. Describe las moléculas en términos de interacciones núcleo-electrones.

Para resolver de manera aproximada la ecuación de Schrödinger existen varios métodos, los cuales están disponibles en paquetes computacionales para modelado molecular.

A continuación, en la **Tabla 2.1** se describen brevemente los métodos más representativos de la mecánica cuántica.

Método	Fundamento	Rango de Aplicación	Ejemplos más conocidos	Ventajas	Desventajas
Mecánica Molecular (MM)	Potenciales de interacción.	>10 ⁴ átomos.	AMBER, CHARMM, UFF, REBO	Gran rapidez. Eficiente en fases condensadas.	Aplicación delimitada por el potencial MM seleccionado. No proporciona información electrónica.
Semiempíricos (SE)	Ecuación de Schrödinger y Función de onda con calores de formación y otras propiedades empíricas.	10 ² -10 ³ átomos, por lo general (no todas las propiedades moleculares).	PM3, AM1, MNDO, CNDO, PM6	Gran rapidez, fácil de usar, mayor fiabilidad en moléculas orgánicas.	Errores no sistemáticos. Poca fiabilidad en moléculas con metales y especies inestables.
DFT	Teorema de Kohn-Sham y Densidad electrónica.	1-200 átomos.	Por nivel de aproximación: LSDA, GGA, meta-GGA, hiperGGA, híbridos, doble- mente híbridos, etc.	Rapidez, relativa precisión y gran fiabilidad en la mayoría de los compuestos.	Errores en moléculas con interacciones moleculares débiles. Cada funcional tiene un uso específico mejor que los demás.
HF	Ecuación de Schrödinger y Función de onda.	1-100 átomos.	-----	Exactitud y precisión medias.	Costo computacional alto
Ab-initio Post-HF	Ecuación de Schrödinger y Función de onda.	1-10 átomos.	MP2, CCSD, CC, MP3, CI, CASSCF	Exactitud y precisión controlable.	Muy alto costo computacional. Lento.

Tabla 2.1. Resumen de las características de los principales métodos teóricos de la Química Cuántica.

La elección de un método depende de los sistemas que se estudiarán, así como de la disponibilidad de recursos computacionales y de la calidad y precisión de las soluciones requeridas.

Ahora se presenta de manera breve la teoría general de uno de los métodos mecanocuánticos más utilizados y que es utilizada en la metodología seleccionada.

2.2 Teoría de Funcionales de la Densidad (TFD).

La teoría del funcional de la densidad es una reformulación de la mecánica cuántica usada en la química y física para investigar la estructura electrónica de

los sistemas de muchos cuerpos, los átomos, las moléculas y las fases condensadas. Se basa en la premisa de que la energía y otras propiedades de una molécula en su estado basal pueden ser determinadas a partir de la densidad electrónica en lugar de utilizar la función de onda. Explícitamente se basa en las aproximaciones de Thomas, Fermi y Dirac, dichas aproximaciones consideran la energía de un sistema como un funcional de la densidad de una partícula, y a partir de estas contribuciones se pudo considerar la energía de un sistema de varias partículas como un funcional de la densidad partiendo del promedio del comportamiento de las N partículas independientes.

La aproximación de Born-Oppenheimer (BO) es también una aportación sobresaliente para la TFD, esta aproximación toma como fundamento el hecho de que los núcleos son mucho más pesados que los electrones, por lo tanto, sus velocidades son mucho menores y así la ecuación de Schrödinger se separa, tomando los núcleos como fijos.

En 1964, Pierre Hohenberg y Walter Kohn (HK) propusieron que, la energía molecular del estado fundamental, la función de onda y todas las demás propiedades electrónicas, tienen una relación unívoca con la densidad de probabilidad electrónica del estado fundamental, $\rho_0(x, y, z)$. Estos son los teoremas de HK, que dan el fundamento de TFD como una teoría exacta.

De esta forma la energía electrónica del estado fundamental E_0 es un funcional de la ρ_0 y se escribe $E_0 = E_0[\rho_0]$.

Entonces, sabemos que la función de onda electrónica del estado fundamental, ψ_0 , de una molécula de N -electrones es una función propia del hamiltoniano puramente electrónico que en unidades atómicas se puede escribir como:

$$\hat{H} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 + \sum_{i=1}^N v(r_i) + \sum_j \sum_{i>j} \frac{1}{r_{ij}} \quad (2.1)$$

donde

$$\nabla_i^2 = \frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_i^2} \quad (2.2)$$

y

$$v(r_i) = - \sum_{\alpha} \frac{Z_{\alpha}}{r_{i\alpha}} \quad (2.3)$$

donde $v(r_i)$, es la energía potencial de la interacción entre el electrón i y los núcleos, es una función solo de x_i, y_i, z_i , (coordenadas cartesianas), por la aproximación de BO, y se denomina potencial externo, porque es el resultado de la interacción de las cargas externas con el sistema de electrones.

La energía electrónica del estado fundamental E_0 es así, un funcional de la función $\rho_0(r)$, que se escribe como $E_0 = E_v[\rho_0]$, donde el subíndice v muestra la dependencia de E_0 con el potencial externo $v(r)$, el cual es diferente para cada molécula.

El Hamiltoniano puramente electrónico se puede escribir como:

$$\hat{H}_e = \hat{T} + \hat{V}_{ne} + \hat{V}_{ee} \quad (2.4)$$

Donde se muestra la suma de los términos de energía cinética electrónica (\hat{T}), energía de atracción electrón-núcleo (\hat{V}_{ne}) y energía de repulsión electrón-electrón (\hat{V}_{ee}). Tomando el promedio del Hamiltoniano puramente electrónico para el estado fundamental,

$$E_0 = E_v[\rho_0] = \bar{T}[\rho_0] + \bar{V}_{Ne}[\rho_0] + \bar{V}_{ee}[\rho_0] \quad (2.5)$$

(2.5) da la energía exacta para un sistema de N cuerpos/N electrones.

Donde se tiene que

$$\bar{V}_{Ne} = \langle \psi_0 \left| \sum_{i=1}^n v(r_i) \right| \psi_0 \rangle = \int \rho_0(r) v(r) dr \quad (2.6)$$

$v(r)$ es la función de energía potencial de atracción nuclear para un electrón localizado en el punto r . De esta forma, $\bar{V}_{Ne}[\rho_0]$ es conocido, pero los funcionales $\bar{T}[\rho_0]$ y $\bar{V}_{ee}[\rho_0]$ son desconocidos. Reescribiendo (2.5)

$$E_v[\rho_0] = \int \rho_0(r) v(r) dr + F[\rho_0] \quad (2.7)$$

donde el funcional $F[\rho_0]$ llamado “funcional universal” está definido como $F[\rho_0] \equiv \bar{T}[\rho_0] + \bar{V}_{ee}[\rho_0]$, es independiente del potencial externo. El funcional $F[\rho_0]$ es desconocido. Por lo tanto, de esta ecuación no se podría obtener E_0 a partir de ρ_0 .¹

Para dar solución a este hecho Kohn y Sham (KS) proponen considerar un sistema de referencia ficticio, llamado sistema no interactuante, denotado con el subíndice s , de n electrones no interactuantes donde todos estos electrones

experimentan la misma función de energía potencial, $v_s(r_i)$, y donde $v_s(r_i)$ es tal que hace que la densidad de probabilidad electrónica del estado fundamental $\rho_s(r)$ del sistema de referencia sea igual a la densidad electrónica del estado fundamental exacta, $\rho_0(r)$, de la molécula estudiada: $\rho_s(r) = \rho_0(r)$.

Ya que en el sistema de referencia se considera que los electrones no interactúan entre sí, el hamiltoniano es

$$\hat{H}_s = \sum_{i=1}^n \left[-\frac{1}{2} \nabla_i^2 + v_s(r_i) \right] \equiv \sum_{i=1}^n \hat{h}_i^{KS} \quad (2.8)$$

donde \hat{h}_i^{KS} es el Hamiltoniano mono-electrónico de KS y relaciona el sistema de referencia ficticio de KS con la molécula real escribiendo el Hamiltoniano $\hat{H}_\lambda \equiv \hat{T} + \sum_i v_\lambda(r_i) + \lambda \hat{V}_{ee}$, donde el parámetro de interacción λ puede tomar valores de 0 (sin interacciones inter-electrónicas) a 1 (la molécula real), y v_λ se define como un potencial externo que hace que la densidad electrónica del estado fundamental del sistema con \hat{H}_λ sea igual al estado fundamental de la molécula real.

La función de onda del estado fundamental $\psi_{s,0}$ del sistema de referencia es un producto antisimétrico de los espín-orbitales u_i de KS de más baja energía del sistema de referencia, donde la parte espacial $\theta_i^{KS}(r_i)$ de cada espín-orbital es una función propia del operador mono-electrónico \hat{h}_i^{KS} , esto es

$$\psi_{s,0} = |u_1 u_2 \dots u_n|, \quad u_i = \theta_i^{KS}(r_i) \sigma_i \quad (2.9)$$

$$\hat{h}_i^{KS} \theta_i^{KS} = \varepsilon_i^{KS} \theta_i^{KS} \quad (2.10)$$

donde σ_i es una función de espín (α o β) y las ε_i^{KS} son las energías orbitales de KS.

Así Kohn-Sham reescribieron la ecuación de Hohenberg-Kohn como ecuaciones tipo Hartree-Fock, pero con un potencial efectivo.

$\Delta \bar{T}$, omitiendo desde ahora el subíndice 0 de ρ , es definida como

$$\Delta \bar{T}[\rho] \equiv \bar{T}[\rho] - \bar{T}_s[\rho] \quad (2.11)$$

$\Delta \bar{T}$ es la diferencia en la energía cinética electrónica media del estado

fundamental de la molécula y el sistema de referencia de electrones no interactuantes. Esta cantidad es pequeña pero significativa para cálculos de estructura electrónica. $\Delta\bar{T}$ es un funcional de energía de correlación cinética. Sea

$$\Delta\hat{V}_{ee}[\rho] \equiv \hat{V}_{ee}[\rho] - \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2 \quad (2.12)$$

donde r_{12} es la distancia entre dos puntos de coordenadas (x_1, y_1, z_1) y (x_2, y_2, z_2) . $\Delta\hat{V}_{ee}$ también es pequeña pero significativa. $\Delta\hat{V}_{ee}$ es un funcional de energía de correlación e intercambio de las interacciones electrón-electrón.

Las Ecs. (2.6), (2.11) y (2.12) se convierte en

$$E_v[\rho] = \int \rho(r)v(r)dr + \bar{T}_s[\rho] + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2 + \Delta\bar{T}[\rho] + \Delta\bar{V}_{ee}[\rho] \quad (2.13)$$

Los funcionales $\Delta\hat{T}$ y $\Delta\hat{V}_{ee}$ son desconocidos. Entonces se define el funcional de energía de correlación e intercambio, $E_{xc}[\rho]$, como

$$E_{xc}[\rho] = \Delta\hat{T}[\rho] + \Delta\hat{V}_{ee}[\rho] \quad (2.14)$$

Rescribiendo (2.13)

$$E_0 = E_v[\rho] = \int \rho(r)v(r)dr + \hat{T}_s[\rho] + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2 + E_{xc}[\rho] \quad (2.15)$$

Si se obtiene una buena aproximación de $E_{xc}[\rho]$, único termino desconocido en la formulación de Kohn-Sham, se obtendría como resultado un buen cálculo de KS-TFD de propiedades moleculares. Los tres primeros términos tienen análogos clásicos y el ultimo, $E_{xc}[\rho]$, es el que contiene los efectos mecanocuánticos puros.

A través de determinantes de Slater y las reglas de Slater-Condon, se puede llegar al funcional

$$E_0 = - \sum_{\alpha} Z_{\alpha} \int \frac{\rho(r_1)}{r_{1\alpha}} dr_1 - \frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \langle \theta_i^{KS}(1) | \nabla_i^2 | \theta_i^{KS}(1) \rangle + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2 + E_{xc}[\rho] \quad (2.16)$$

Cuando se lleva a cabo la minimización variacional de la ecuación (2.16) variando los orbitales KS (θ_i^{KS}), se obtiene la expresión para las energías y orbitales moleculares de KS del estado fundamental, conocida como las ecuaciones de KS:

$$\left[-\frac{1}{2}\nabla_1^2 - \sum_{\alpha} \frac{Z_{\alpha}}{r_{1\alpha}} + \int \frac{\rho(r_2)}{r_{12}} dr_2 + v_{xc}(1) \right] \theta_i^{KS}(1) = \varepsilon_i^{KS} \theta_i^{KS} \quad (2.17)$$

En donde el potencial de correlación-intercambio, v_{xc} , se puede obtener como la derivada del funcional de correlación-intercambio E_{xc} respecto a la densidad,

$$v_{xc}(r) \equiv \frac{\delta E_{xc}[\rho(r)]}{\delta \rho(r)} \quad (2.18)$$

si se conoce $E_{xc}[\rho]$, su derivada se obtiene fácilmente y de esta forma se conoce v_{xc} .

Al utilizar el método de Kohn-Sham para obtener ρ y E_0 , no se sabe cuál es el funcional exacto de la $E_{xc}[\rho]$. Así pues, tanto E_{xc} , como v_{xc} , son desconocidos.

Se han usado varias aproximaciones para definir $E_{xc}[\rho]$ en cálculos de la TFD para átomos y moléculas. Se hace referencia a algunas de estas aproximaciones a continuación.

2.3 Aproximaciones para definir $E_{xc}[\rho]$ en cálculos de la TFD

Muchas de las aproximaciones para definir $E_{xc}[\rho]$ podemos encontrarlas en la jerarquía propuesta por John Perdew,² la escalera al cielo, la cual es una representación gráfica de la jerarquía de aproximaciones para los funcionales de la densidad, el primer escalón corresponde a la aproximación de densidad local (LDA, *Local Density Approximation*), que consiste en suponer que en cada punto, la energía de intercambio y correlación depende sólo de la densidad en ese punto, es decir que éstas son locales, en general se obtienen resultados buenos a pesar de la simplicidad del modelo; el segundo escalón corresponde a la aproximación de gradiente generalizado (GGA, *Generalized Gradient Approximation*), esta aproximación es semilocal ya que considera en cada punto el valor de la densidad y sus gradientes, de esta forma se tiene en cuenta el valor de la densidad en cada punto y como varía esta densidad en cada punto, para propiedades como geometrías moleculares y energías del estado fundamental esta aproximación da mejores resultados que LDA, aunque para otras no representa una mejora sustancial; el tercer escalón está constituido por la meta-aproximación del gradiente generalizado (meta-GGA), el cual incorpora términos que contienen a la segunda derivada de la densidad con respecto a la posición, es decir el

laplaciano, (∇^2) y a la densidad de energía cinética en términos de los orbitales de KS³.

En los últimos años se han estudiado dos escalones más, los cuales están relacionados con intercambios exactos y correlaciones compatibles considerando sistemas ocupados y virtuales, respectivamente.

Se habla enseguida de una familia de funcionales perteneciente al escalón meta-GGA, que son el nivel de teoría escogido en este trabajo.

2.3.1 Funcionales de Minnesota, M06-L.

Esta familia de funcionales para definir la $E_{ci}[\rho]$ dentro de los cálculos de la TFD corresponde a las aproximaciones del tercer escalón meta-GGA. Los funcionales aproximados de Minnesota son: Minnesota 2005, M05⁴ y M05-2X,⁵ los funcionales de Minnesota 2006, M06⁶, M06-L⁷, M06-2X⁷ y M06-HF⁸, y los funcionales de Minnesota 2008, M08-HX⁹ y M08-SO⁹.

Particularmente el funcional M06-L está diseñado para capturar la dependencia principal de la energía de correlación de intercambio en la densidad de espín local, gradiente de densidad de espín y densidad de energía cinética de espín, y está parametrizado para satisfacer el límite uniforme de gas de electrones.⁷

Ofrece un buen rendimiento para la termoquímica del grupo principal, cinética y organometálica, inorgánica, interacciones no covalentes y biológicas. Y es utilizado especialmente para simulaciones en sistemas de tamaño moderado y grande ya que no involucra el intercambio de Hartree-Fock, lo que da un menor coste computacional.

De esta forma la parte del intercambio del funcional M06-L está dado por:

$$E_x^{M06-L} = \sum_{\sigma} \int dr [F_{i_{\sigma}}^{PBE}(\rho_{\sigma}\nabla_{\rho_{\sigma}})f(w_{\sigma}) + \varepsilon_{i_{\sigma}}^{LSDA}h_i(x_{\sigma},z_{\sigma})] \quad (2.19)$$

donde $h_i(x_{\sigma},z_{\sigma})$ es un término basado en el funcional VSXC, definido como,

$$h(x_{\sigma},z_{\sigma}) = \left(\frac{d_0}{\gamma(x_{\sigma},z_{\sigma})} + \frac{d_1x_{\sigma}^2 + d_2z_{\sigma}}{\gamma^2(x_{\sigma},z_{\sigma})} + \frac{d_3x_{\sigma}^4 + d_4x_{\sigma}^2z_{\sigma} + d_5z_{\sigma}^2}{\gamma^3(x_{\sigma},z_{\sigma})} \right) \quad (2.20)$$

y $F_{i_{\sigma}}^{PBE}(\rho_{\sigma}\nabla_{\rho_{\sigma}})$ es la densidad de energía de intercambio de Perdew-Burke-Ernzerhof¹⁰ (PBE), $\varepsilon_{i_{\sigma}}^{LSDA}$ la aproximación de la densidad de intercambio de spin local para el intercambio:

$$\varepsilon_{i\sigma}^{LSDA} = \frac{3}{2} \left(\frac{3}{4\pi} \right)^{1/3} t_\sigma^{4/3} \rho_\sigma^{4/3} \quad (2.21)$$

y $f(w_\sigma)$ es el factor de mejora de la densidad de energía cinética de spin

$$f(w_\sigma) = \sum_{i=0}^m a_i w_\sigma^i \quad (2.22)$$

donde la variable w_σ es función de t_σ , y t_σ es función de la densidad de energía cinética de spin τ_σ y densidad de spin ρ_σ ,

$$w_\sigma = (t_\sigma - 1)/(t_\sigma + 1) \quad (2.23)$$

$$t_\sigma = \tau_\sigma^{LSDA} / \tau_\sigma \quad (2.24)$$

donde

$$\tau_\sigma^{LSDA} \equiv \frac{3}{10} (6\pi^2)^{2/3} \rho_\sigma^{5/3} \quad (2.25)$$

Y la parte de correlación basada en el funcional VSXC y M05, tomando en cuenta un gas de electrones uniforme¹¹(UEG) que consiste en la interacción de electrones en un volumen infinito en presencia de un fondo uniformemente distribuido de carga positiva, se representa por dos partes, para spin-opuesto o antiparalelo está dada por

$$E_C^{\alpha\beta} = \int e_{\alpha\beta}^{UEG} [g_{\alpha\beta}(x_\alpha, x_\beta) + h_{\alpha\beta}(z_{\alpha\beta}, z_{\alpha\beta})] dr \quad (2.26)$$

donde $g_{\alpha\beta}(x_\alpha, x_\beta)$ es definida como

$$g_{\alpha\beta}(x_\alpha, x_\beta) = \sum_{i=0}^n C_{C\alpha\beta,i} \left(\frac{\gamma_{C\alpha\beta}(x_\alpha^2 + x_\beta^2)}{1 + \gamma_{C\alpha\beta}(x_\alpha^2 + x_\beta^2)} \right)^i \quad (2.27)$$

y $h_{\alpha\beta}(x_{\alpha\beta}, z_{\alpha\beta})$ es definida en la ecuación (2.20) con $x_{\alpha\beta}^2 \equiv x_\alpha^2 + x_\beta^2$ y $z_{\alpha\beta} \equiv z_\alpha + z_\beta$, para espines paralelos,

$$E_C^{\sigma\sigma} = \int e_{\sigma\sigma}^{UEG} [g_{\sigma\sigma}(x_\sigma) + h_{\sigma\sigma}(x_\sigma, z_\sigma)] D_\sigma dr \quad (2.28)$$

donde $g_{\sigma\sigma}(x_\sigma)$ es definida como

$$g_{\sigma\sigma}(x_\sigma) = \sum_{i=0}^n C_{C\sigma\sigma,i} \left(\frac{\gamma_{C\sigma\sigma} x_\alpha^2}{1 + \gamma_{C\sigma\sigma} x_\alpha^2} \right)^i \quad (2.29)$$

y $h_{\sigma\sigma}(x_\sigma, z_\sigma)$ es definida en la ecuación (2.20). D_σ es el factor de interacción de autocorrección

$$D_\sigma = 1 - \frac{x_\sigma^2}{4(Z_\sigma + C_F)} \quad (2.30)$$

tomando en cuenta que $e_{\alpha\beta}^{UEG}$ y $e_{\sigma\sigma}^{UEG}$ en las ecuaciones (2.26) y (2.28), son las densidades de energía de correlación UEG para los casos antiparalelo y paralelo respectivamente, la energía de correlación total está dada por

$$E_C = E_C^{\alpha\beta} + E_C^{\alpha\alpha} + E_C^{\beta\beta} \quad (2.31)$$

es así como está definida la energía de intercambio y correlación en el funcional M06-L.¹²

2.4 Conjuntos de funciones base.

Un conjunto de funciones base es una representación matemática (numérica) de los orbitales de un sistema molecular. La exactitud de la aproximación de los orbitales depende del tamaño del conjunto base ya que entre más grande es un conjunto base, la localización de los electrones en el espacio es menos restringida y por lo tanto mejor descrita.

Se pueden utilizar varios tipos de funciones en combinaciones lineales que construyen los conjuntos de funciones base en cálculos de estructura electrónica para la representación de los orbitales atómicos como las funciones tipo gaussiano¹³ y tipo Slater. Las funciones de tipo gaussiano son las más utilizadas ya que el uso de funciones Gaussianas (GTO) disminuye el costo computacional en relación a las funciones tipo Slater (STO), las cuales tienen dependencia de tipo exponencial en la distancia al origen a diferencia de las funciones tipo gaussianas que tienen una dependencia gaussiana en la distancia al origen, por su parte las funciones STO presentan una convergencia muy rápida pero no son ortogonales y las integrales bielectrónicas son complicadas de resolver.

2.4.1 Funciones Gaussianas.

Las funciones gaussianas llevan el nombre del matemático Carl Friedrich Gauss. Entre las ventajas de utilizar los orbitales tipo gaussianos, (GTO) para la

representación de los orbitales de los electrones en las moléculas, se encuentra la sencillez de la resolución de las integrales bielectrónicas respecto a los orbitales de Slater.

Tipos de funciones gaussianas:

- Funciones Primitivas (FP): Cada orbital es representado por una función GTO.
- Funciones Contraídas (FC): Cada orbital es representado por una función que se obtiene como combinación lineal de un conjunto de FP.

Y existen diferentes conjuntos de funciones de base como:

- **Mínima**. Los conjuntos de base mínima incluyen funciones para cada orbital interno y de valencia ocupado en los átomos estudiados, una FC por cada orbital atómico.
- **Doble Z**: Dos funciones contraídas por cada orbital atómico.
- **Triple Z**: Tres funciones contraídas por cada orbital atómico.
- **de valencia**: Describen cada átomo con bases solo para los orbitales de valencia.
- **Valencia (dividida) o "split valence"**: Los electrones internos o del *core* se describen separados de los electrones de valencia, además de un conjunto de orbitales no ocupados llamados orbitales virtuales; con los mismos tipos de funciones.

Los conjuntos de funciones de base a su vez se pueden dividir en:

- Bases de valencia dividida
- Bases difusas
- Bases polarizadas

En la siguiente sección se hará mención de estas últimas, ya que resultan de importancia para este estudio.

Se mencionará la construcción de la base **6-311G(d,p)**,¹⁴ por la relevancia que tiene en este trabajo. La base **6-311G(d,p)**, es una base tipo triple zeta polarizada. Es decir, describe cada electrón de la capa interna con una función contraída combinación lineal de seis funciones primitivas y cada electrón de la capa de valencia se describe con tres funciones, una formada por la combinación lineal de tres contraídas y dos funciones más cada una correspondiente a una función primitiva. Se añaden también para cada átomo diferente al H un conjunto de orbitales d o f y por último para cada átomo de H un conjunto de orbitales 2p, esto debido a las funciones polarizadas o virtuales.

2.4.2 Funciones polarizadas.

Las funciones polarizadas añaden orbitales con un momento angular mayor que el requerido para la descripción de cada átomo en su estado basal,¹⁵ por ejemplo, una base polarizada añade una función d a un carbono o una función f a un metal de transición, y en algunos casos, añade una función p al átomo de hidrógeno. Al añadir orbitales no ocupados en el estado basal, se añade flexibilidad en la forma orbital para el mejoramiento de los cálculos.

2.5 Teoría de los Funcionales de la Densidad Conceptual.

Por otro lado, se ha desarrollado desde finales de los años 70 y principios de los 80, la llamada Teoría de los Funcionales de la Densidad Conceptual o "TFD conceptual", principalmente en el grupo de R.G. Parr.¹⁶ Basada en la idea de que la densidad de electrones es la cantidad de mayor relevancia para describir los estados fundamentales atómicos y moleculares. Este paso inició la formulación de una teoría de la reactividad química. Tomando en cuenta que en la TFD la energía puede ser expresada en términos del número de electrones N y el potencial externo $v(r)$, entonces $E[\rho(r)] \equiv E[N, v(r)]$, y derivando $E[N, v(r)]$ respecto a N y $v(r)$ se originan expresiones para la descripción de las moléculas que permiten cuantificar conceptos de reactividad global y local.¹⁷

Muchas de las aplicaciones numéricas se basan en la aproximación de diferencias finitas y el teorema de Koopmans,¹⁶ tal es el caso de los siguientes descriptores.

El potencial químico, el cual representa la tendencia que tienen los electrones a ser liberados en un sistema es un descriptor global de la reactividad (DGR) y por diferencias finitas es igual a,

$$\mu = \frac{(I + A)}{2} \quad (2.32)$$

(2.32) es una aproximación donde I y A representan los llamados, potencial de ionización vertical y afinidad electrónica vertical, por lo tanto, si existe una diferencia de potencial grande entre dos sistemas se favorece la transferencia electrónica.

(2.33) y (2.34) representan la afinidad electrónica vertical y el potencial de ionización vertical respectivamente,

$$A = E_{neutro} - E_{anión} \quad (2.33)$$

$$I = E_{cación} - E_{neutro} \quad (2.34)$$

Tanto la afinidad electrónica vertical como el potencial de ionización vertical están involucrados en el proceso de transferencia de electrones entre orbitales y también pertenecen a los DGR. Son verticales porque las energías de cationes y aniones se calcularon sin reoptimizar la energía del sistema neutro.

A está definida como la energía liberada cuando se adiciona un electrón al orbital más bajo desocupado, (*LUMO*) de una molécula neutra generando el anión correspondiente.¹⁸ Lo cual es exactamente válido cuando se cumple el teorema de Koopmans.¹⁹

Y el *I* se define como la cantidad de energía requerida para remover un electrón del orbital de valencia más alto ocupado, (*HOMO*) de una molécula, es decir, mide la capacidad de una molécula para donar electrones y por lo tanto, formar cationes¹⁸ (Teorema de Koopmans).

Ahora bien, si se toma el negativo del potencial químico este es igual a la electronegatividad de Mulliken.²⁰

$$\chi = -\mu \quad (2.35)$$

La electronegatividad representa la tendencia que tienen los átomos o moléculas para atraer los electrones.

Otro descriptor de la reactividad global es la dureza, ésta se puede obtener de la diferencia entre *I* y *A*, y representa la resistencia a la liberación de electrones.²¹

$$\eta \approx \frac{(I - A)}{2} \quad (2.36)$$

Recíproco a la dureza se encuentra la blandura global *S*,

$$S = \frac{1}{2\eta} \quad (2.37)$$

y la electrofilicidad global²² (ω) definida como una medida de la estabilidad energética de un sistema al adquirir cargas electrónicas externas; comprende tanto la tendencia a recibir una carga adicional, como la resistencia del sistema a intercambiar electrones con el entorno. Se obtiene como:

$$\omega = -\frac{\chi^2}{2\eta} \quad (2.38)$$

y de ella se deriva la potencia donadora (2.39) ω^- , y potencia aceptora (2.40) ω^+ , para la descripción de las interacciones de tipo donador-aceptor,²³

$$\omega^- = \frac{(3I + A)^2}{16(I - A)} \quad (2.39)$$

$$\omega^+ = \frac{(I + 3A)^2}{16(I - A)} \quad (2.40)$$

por último, la diferencia de energía entre el orbital de mayor energía ocupado de un sistema *HOMO*, y el primer orbital desocupado *LUMO*, que puede ser tomado con un análisis de la dureza de un sistema.

$$E_{GAP} = E_{LUMO} - E_{HOMO} \quad (2.41)$$

Estos descriptores globales, permiten cuantificar el comportamiento reactivo de las especies de manera integral, son de gran utilidad en el estudio de conjuntos de moléculas y su comportamiento.

2.6 Modelos de solvatación.

Los cálculos de la química cuántica que emplean la TFD se llevan a cabo considerando que las moléculas que se modelan están en estado gaseoso. Sin embargo, generalmente se sabe que las propiedades de las moléculas pueden diferir considerablemente entre la fase gaseosa y la fase en solución. Por lo cual se puede especificar un método para implementar cálculos con solvente.

En las últimas décadas se han desarrollado dos técnicas principales para incluir los efectos del solvente en una gran variedad de cálculos: modelos continuos y modelos discretos de solventes.

Dentro de los modelos continuos se encuentra el modelo del continuo polarizable (PCM), propuesto por Tomasi y colaboradores,²⁴ refinado posteriormente en el modelo de continuo polarizado de isodensidad autoconsistente (SCI-PCM).

2.6.1 PCM.

El modelo del continuo polarizable (PCM), es uno de los métodos de solvatación más empleados en química computacional. Modela efectos de determinados solventes especificando sus polaridades. Una de sus ventajas es que al no ser consideradas las moléculas del disolvente explícitamente se reduce el costo computacional.

La base de este método es considerar al solvente como un continuo polarizable de extensión infinita que rodea las moléculas de soluto y que varía dependiendo de la constante dieléctrica del solvente que se simula. Se involucran para ello la

energía electrostática (G_{es}), energía de dispersión-repulsión (G_{dr}) y de la cavidad en solvente (G_{cav}). Teniendo una energía libre de solvatación ($G_{solvatación}$) expresada en la siguiente ecuación (2.42).

$$G_{solvatación} = G_{es} + G_{dr} + G_{cav} \quad (2.42)$$

En este método se produce un momento dipolar inducido que se suma al momento dipolar permanente en fase gaseosa.

2.7 Quimioinformática.

*La quimioinformática es la combinación de recursos informáticos para transformar datos en información e información en conocimiento, con el propósito de tomar decisiones con mayor rapidez en el ámbito de la identificación de los fármacos cabeza de serie (o de molécula líder) y de la optimización de fármacos.*²⁵

2.7.1 Generalidades.

Para llevar a cabo un proyecto computacional de diseño o transporte de fármacos, se hace uso de diferentes técnicas aplicadas en diferentes puntos del proyecto, ya que cada una de ellas es específica del momento de desarrollo en el que se encuentre el proyecto, de esta forma cada una aporta información relevante para el proceso dependiendo de los objetivos del proyecto y los recursos con los que se cuenta.

Las técnicas más utilizadas para este fin son por ejemplo las metodologías de Relaciones Cuantitativas Estructura Actividad (QSAR, de *Quantitative structure-activity relationships*), búsqueda de farmacóforos, y herramientas de diseño de fármacos basados en la estructura tal como los acoplamientos moleculares *in silico* o docking.²⁶

Es relevante mencionar que las simulaciones y modelados computacionales son menos costosas económicamente por compuesto que muchas pruebas de laboratorio, esta es de las razones de su importancia.

El diseño del transporte de fármacos es una tarea multidimensional. Es decir, no es suficiente que una molécula posea una actividad farmacológica deseada para que llegue a su blanco biológico. Es de importancia además que posea buena biodisponibilidad, baja toxicidad, vida media en torrente sanguíneo adecuada, que puedan cruzar barreras biológicas, etc. Existen técnicas computacionales que

permiten este tipo de análisis multidimensionales, tales como las metodologías QSAR.

Como vemos, las técnicas computacionales para el diseño del transporte de fármacos juegan un papel determinante en la investigación farmacéutica. Lo que las hace parte importante de un proceso exitoso y fructífero del diseño de fármacos. A continuación, ahondaré en una de las metodologías más importantes dentro del diseño de fármacos asistido por computadora y de interés para el presente proyecto, los modelos QSAR.

2.7.2 Relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR)/propiedad (QSPR).

Las Relaciones Cuantitativas Estructura-Actividad, QSAR o Relaciones Cuantitativas Estructura-Propiedad, QSPR son metodologías computacionales que permiten encontrar ecuaciones lineales que pueden ser utilizadas para la predicción de alguna actividad o propiedad biológica, según sea el caso, de algún compuesto químico a partir de la estructura molecular del mismo.

Para la realización de este proceso se lleva a cabo el uso de programas computacionales que permiten ajustar curvas a datos experimentales para encontrar los coeficientes de los datos de la ecuación que describa la actividad buscada.

Los coeficientes son ponderaciones de las propiedades moleculares que aparecen en la construcción del modelo. Las propiedades moleculares que construyen una ecuación QSAR son denominadas descriptores moleculares, de los cuales hablaré en el siguiente apartado.

Se puede distinguir entre 3D-QSAR y QSAR convencional. Este último presenta mejores resultados en la predicción de propiedades que son función de interacciones no específicas entre la molécula y sus alrededores como es el caso de puntos de ebullición, adsorción intestinal pasiva, permeabilidad de la barrera hematoencefálica, propiedades coligativas, entre otras.²⁷

Por otra parte, 3D-QSAR es mejor en la predicción de propiedades que dependen de interacciones muy específicas, tal como la afinidad de unión entre la molécula de un compuesto y el sitio activo de alguna proteína específica.

A continuación, se habla de un modelo QSAR convencional por el contexto de aplicación, (permeabilidad de la barrera hematoencefálica), comenzando por su significado, los detalles de su construcción y sus aplicaciones.

2.7.3 Definición de LogBB.

Una medida común del grado de penetración de la BHE es la relación de las concentraciones molares de la molécula del fármaco entre el cerebro y la sangre.

28

Esta relación es expresada como $LogBB$, ecuación (2.43), es decir el logaritmo de la distribución de la concentración molar del compuesto de interés entre el cerebro y la sangre, derivado de sus siglas en inglés Brain y Blood respectivamente.

$$LogBB = \left(\frac{[C_{Brain}]}{[C_{Blood}]} \right) \quad (2.43)$$

De esta forma los datos de $LogBB$ son utilizados muy a menudo para medir la penetración de la BHE, así como también para la predicción *in silico* de dicha actividad biológica, en cuyo caso se recurre a descriptores moleculares que correlacionen en función de la variable $LogBB$.

2.7.4 Descriptores moleculares o índices de reactividad.

Los descriptores moleculares son términos que dan información para caracterizar de forma específica una molécula estudiada.²⁹ Son los "valores numéricos asociados con la constitución química para la correlación de la estructura con diversas propiedades físicas, reactividad química o actividad biológica".³⁰ Es decir que la respuesta modelada (actividad / propiedad / toxicidad de las moléculas que se desea modelar) se representa como una función de los valores cuantitativos de las características o propiedades estructurales que se denominan descriptores para un modelo QSAR.

Los descriptores pueden ser, por ejemplo:

- Físicoquímicos, hacen referencia a la hidrofobicidad, y los parámetros estéricos o electrónicos.
- Estructurales, según la frecuencia de aparición de una subestructura.
- Topológico, derivados de la conectividad y la composición de la estructura.
- Electrónico, basado en cálculos de orbitales moleculares.
- Geométrico, basado en un cálculo del área de superficie molecular.
- Parámetros indicadores simples, variables ficticias.

No existe un criterio simple ni único, para seleccionar qué descriptores deben utilizarse en cada caso de estudio. Una posible forma de selección es basarse en la literatura previa de trabajos similares. Otra solución es seleccionar descriptores representativos de la actividad de interés y utilizar métodos matemáticos para realizar la selección de los parámetros finales que conformaran el modelo más representativo.

Los descriptores que han resultado ser de relevancia para la predicción de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica en un modelo QSAR, *LogBB*, son presentados de manera breve en los apartados siguientes.

2.7.5 Descriptores electrostáticos.

- *Carga máxima Zefirov.*

- *Energía de interacción de la carga puntual de Zefirov, de todos los enlaces.*

Estos dos descriptores que se relacionan con las cargas atómicas de diferente forma se basan en el cálculo de las cargas parciales atómicas empíricas de Zefirov, definidas como

$$Q_i = f(\chi_i) \quad (2.44)$$

donde:

χ_i - Electronegatividades atómicas.

$$\chi_i = \left(\chi_i^0 \prod_{k=1}^n \chi_k \right)^{1/(n+1)} \quad (2.45)$$

χ_i^0 - Electronegatividades de átomos aislados.

n - Átomos en la primera esfera de coordinación de una estructura dada.^{31, 32}

Mediante la ecuación (2.45) primero se calcula la electronegatividad de cada átomo aislado χ_i en la molécula, multiplicado por un factor formado por la electronegatividad χ_k , de los átomos a su alrededor multiplicados entre ellos. Y mediante la ecuación (2.44), aplicando una función empírica, se obtienen las cargas parciales atómicas.

El descriptor, carga máxima Zefirov se define como la carga máxima de la molécula estudiada y el de Energía de interacción de la carga puntual de Zefirov, de todos los enlaces, se define como: $\sum_i \sum_{j>i} \frac{q_i q_j}{r_{ij}} (b_{ij})$, donde $b_{ij} = 1$ o 0 .

2.7.6 Descriptor Topológico.

Índice de Randic de orden 3.

Randic introdujo en 1975 un índice topológico aditivo de enlaces como descriptor para caracterizar las ramificaciones moleculares, que denominó índice de ramificación. Este índice pronto se renombró como índice de conectividad y se generalizó después a los índices de conectividad de varios ordenes, comenzando con el índice de conectividad de orden cero. La ecuación (2.46) describe los índices de Randic de diferentes órdenes

$$m_{\chi} = \sum_{trayectoria} (D_i, D_j, \dots, D_k)^{-1/2} \quad (2.46)$$

donde D_i y D_j son los grados de borde (conectividades atómicas) del gráfico molecular y m es el grado: 0, 2, 3 o 4.^{30,33}

2.7.7 Descriptor del área de superficie parcial cargada.

Área superficial ponderada, superficie cargada parcialmente negativa, WNSA-3.

Se define como:

$$WNSA3 = \frac{PNSA3}{TMSA} \quad (2.47)$$

donde:

$PNSA3$ carga total ponderada, área de superficie molecular parcialmente cargada negativamente y $TMSA$ es el área de superficie molecular total.^{34,35}

Este tipo de descriptores captura información sobre los tipos de átomos o grupos funcionales responsables de las interacciones intermoleculares polares en términos de porciones específicas. Ya que combinan el área de superficie atómica y las cargas de átomos específicos.

Referencias

1. Levine, I. N., *Química cuántica*. Prentice Hall, 5a Edición, Madrid, 2001.
2. Perdew, J. P.; Schmidt, K. In *Jacob's ladder of density functional approximations for the exchange-correlation energy*, AIP Conference Proceedings, AIP: 2001; pp 1-20.
3. Perdew, J. P.; Kurth, S.; Zupan, A.; Blaha, P., Accurate density functional with correct formal properties: A step beyond the generalized gradient approximation. *Physical review letters* **1999**, 82 (12), 2544.
4. Zhao, Y.; Schultz, N. E.; Truhlar, D., Exchange-correlation functional with broad accuracy for metallic and nonmetallic compounds, kinetics, and noncovalent interactions. AIP: 2005.
5. Zhao, Y.; Schultz, N. E.; Truhlar, D. G., Design of density functionals by combining the method of constraint satisfaction with parametrization for thermochemistry, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2006**, 2 (2), 364-382.
6. Zhao, Y.; Truhlar, D. G., The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. *Theoretical Chemistry Accounts* **2008**, 120 (1-3), 215-241.
7. Zhao, Y.; Truhlar, D. G., A new local density functional for main-group thermochemistry, transition metal bonding, thermochemical kinetics, and noncovalent interactions. *The Journal of chemical physics* **2006**, 125 (19), 194101.
8. Zhao, Y.; Truhlar, D. G., Density functional for spectroscopy: no long-range self-interaction error, good performance for Rydberg and charge-transfer states, and better performance on average than B3LYP for ground states. *The Journal of Physical Chemistry A* **2006**, 110 (49), 13126-13130.
9. Zhao, Y.; Truhlar, D. G., Exploring the limit of accuracy of the global hybrid meta density functional for main-group thermochemistry, kinetics, and noncovalent interactions. *Journal of Chemical Theory and Computation* **2008**, 4 (11), 1849-1868.
10. Perdew, J. P.; Burke, K.; Ernzerhof, M., Generalized gradient approximation made simple. *Physical review letters* **1996**, 77 (18), 3865.
11. Loos, P. F.; Gill, P. M., The uniform electron gas. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science* **2016**, 6 (4), 410-429.
12. Van Voorhis, T.; Scuseria, G. E., A novel form for the exchange-correlation energy functional. *The Journal of chemical physics* **1998**, 109 (2), 400-410.
13. Gill, P. M., Molecular integrals over Gaussian basis functions. In *Advances in quantum chemistry*, Elsevier: 1994; Vol. 25, pp 141-205.
14. Krishnan, R.; Binkley, J. S.; Seeger, R.; Pople, J. A., Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions. *The Journal of Chemical Physics* **1980**, 72 (1), 650-654.
15. Francl, M. M.; Pietro, W. J.; Hehre, W. J.; Binkley, J. S.; Gordon, M. S.; DeFrees, D. J.; Pople, J. A., Self-consistent molecular orbital methods. XXIII. A polarization-type basis set for second-row elements. *The Journal of Chemical Physics* **1982**, 77 (7), 3654-3665.

16. Geerlings, P.; De Proft, F.; Langenaeker, W., Conceptual density functional theory. *Chemical reviews* **2003**, 103 (5), 1793-1874.
17. Moncada, J. L.; Morán, G. S. In *Caracterización de la reactividad intrínseca de los halobencenos en el modelo conceptual de la teoría de funcionales de la densidad (TFD)*, Anales de Química, 2007.
18. Foresman, J., Frisch, Æ. *Exploring chemistry with electronic structure methods* **1996**, 2, 1995-96.
19. Manne, R.; Åberg, T., Koopmans' theorem for inner-shell ionization. *Chemical Physics Letters* **1970**, 7 (2), 282-284.
20. Parr, R. G.; Donnelly, R. A.; Levy, M.; Palke, W. E., Electronegativity: the density functional viewpoint. *The Journal of Chemical Physics* **1978**, 68 (8), 3801-3807.
21. Pearson, R. G., *Hard and soft acids and bases*. Van Nostrand Reinhold: 1973; Vol. 2.
22. Parr, R. G.; Szentpaly, L. v.; Liu, S., Electrophilicity index. *Journal of the American Chemical Society* **1999**, 121 (9), 1922-1924.
23. Gazquez, J. L.; Cedillo, A.; Vela, A., Electrodonating and electroaccepting powers. *The Journal of Physical Chemistry A* **2007**, 111 (10), 1966-1970.
24. Tomasi, J.; Persico, M., Molecular interactions in solution: an overview of methods based on continuous distributions of the solvent. *Chemical Reviews* **1994**, 94 (7), 2027-2094.
25. Brown, F. K., Chemoinformatics: what is it and how does it impact drug discovery. *Annual reports in medicinal chemistry* **1998**, 33, 375-384.
26. Lengauer, T.; Rarey, M., Computational methods for biomolecular docking. *Current opinion in structural biology* **1996**, 6 (3), 402-406.
27. Bultinck, P.; De Winter, H.; Langenaeker, W.; Tollenare, J. P., *Computational medicinal chemistry for drug discovery*. CRC Press: 2003.
28. Katritzky, A. R.; Kuanar, M.; Slavov, S.; Dobchev, D. A.; Fara, D. C.; Karelson, M.; Acree Jr, W. E.; Solov'ev, V. P.; Varnek, A., Correlation of blood-brain penetration using structural descriptors. *Bioorganic & medicinal chemistry* **2006**, 14 (14), 4888-4917.
29. Van de Waterbeemd, H.; Carter, R.; Grassy, G.; Kubinyi, H.; Martin, Y.; Tute, M.; Willett, P., Glossary of terms used in computational drug design (IUPAC Recommendations 1997). *Pure and Applied Chemistry* **1997**, 69 (5), 1137-1152.
30. Randić, M., On characterization of chemical structure. *Journal of chemical information and computer sciences* **1997**, 37 (4), 672-687.
31. Kirpichenok, M.; Zefirov, N., Electronegativity and geometry of molecules. 1. principles of developed approach and analysis of the effect of nearest electrostatic interactions on the bond length in organic-molecules. *ZHURNAL ORGANICHESKOI KHIMII* **1987**, 23 (4), 673-691.
32. Zefirov, N.; Kirpichenok, M.; Ismailov, F.; Trofimov, M., Calculation schemes for atomic electronegativities in molecular graphs within the framework of Sanderson principle. *Doklady Akademii Nauk SSSR* **1987**, 296 (4), 883-887.
33. Randić, M., Characterization of molecular branching. *Journal of the American Chemical Society* **1975**, 97 (23), 6609-6615.

34. Stanton, D. T.; Jurs, P. C., Development and use of charged partial surface area structural descriptors in computer-assisted quantitative structure-property relationship studies. *Analytical Chemistry* **1990**, 62 (21), 2323-2329.
35. Stanton, D. T.; Jurs, P. C., Computer-assisted study of the relationship between molecular structure and surface tension of organic compounds. *Journal of chemical information and computer sciences* **1992**, 32 (1), 109-115.

CAPÍTULO III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 Planteamiento del problema

Uno de los principales objetivos de la farmacología es hacer la entrega de fármacos anticancerígenos biodirigida, es decir que los fármacos lleguen a las células neoplásicas directamente; en el caso del cáncer en el sistema nervioso central además se busca que los fármacos crucen la barrera hematoencefálica, sin embargo, el porcentaje de agentes terapéuticos que presentan esta propiedad es menor al 2%, por otro lado, los estudios experimentales que se requieren para conocer el porcentaje de la concentración de fármaco que cruza la barrera hematoencefálica tienen un elevado costo tanto económico como de tiempo, agregando a esto que las técnicas necesarias son difíciles de llevar a cabo, por lo que la búsqueda farmacológica se vuelve limitada.

En la actualidad la nanomedicina estudia el empleo de nanomateriales como transportadores de fármacos, estos son conocidos también como aductos o nanovectores que incrementan la actividad fármaco-química, sin embargo siguen siendo de alto costo los tratamientos necesarios para realizar aportaciones por ello, se puede recurrir a la química teórica y computacional, haciendo uso de las herramienta que nos ofrece obteniendo información valiosa al momento de desarrollar los nanovectores ya que, los costos económicos se ven disminuidos en gran porcentaje, así como el tiempo requerido para llegar a conjeturas prometedoras.

Un nanomaterial del cual se conoce una gran cantidad de derivados con características que lo hacen óptimo para fines terapéuticos es el fullereno C_{60} . Los fullerenos C_{60} se han estudiado como transportadores de fármacos contra diversos problemas de salud dando resultados favorables. El estudio *in silico* de fullerenos C_{60} funcionalizados, como acarreadores de fármacos anticancerígenos los cuales han sido probados contra cáncer en el sistema nervioso central con bajo rendimiento debido a la deficiencia para cruzar la barrera hematoencefálica, podría aportar información para mejorar la capacidad de permeabilidad de la barrera hematoencefálica ayudando a los fármacos a atravesar dicha barrera y llegar hasta las células neoplásicas.

3.2 Hipótesis

Los fármacos que se conjugan a nanopartículas como los fullerenos funcionalizados forman nanovectores que pueden mejorar las propiedades de transporte y biocompatibilidad, dando como resultado una mayor eficiencia de la acción terapéutica del fármaco. Los métodos de la química teórica y computacional son adecuados para estudiar dicho mecanismo, y diseñar nuevos sistemas nanoestructurados. De esta forma se propone que los nanovectores construidos con los fármacos anticancerígenos 5-Fluorouracilo, Clorambucilo, Carmustina y N-metil-N nitrosourea, unidos cada uno de ellos a los fullerenos funcionalizados, C₆₀-L1, C₆₀-L2, C₆₀-L3 y C₆₀-L4, mejoraran su biodisponibilidad y transporte hacia las células neoplásicas en el sistema nervioso central incrementando su habilidad para atravesar la barrera hematoencefálica.

3.3 Objetivos

3.3.1 Objetivo general

Aplicar los métodos del estado del arte de la química computacional tanto métodos cuánticos a nivel de la teoría de funcionales de la densidad en el esquema de Kohn-Sham, así como métodos quimioinformáticos de minería de datos y QSAR para diseñar y modelar una serie de sistemas nanoestructurados a partir de nanopartículas funcionalizadas con fármacos conocidos contra cáncer en el sistema nervioso central, y estudiar cómo cambian sus propiedades fisicoquímicas para mejorar la capacidad de los nanovectores de atravesar la barrera hematoencefálica.

3.3.2 Objetivos particulares

- Determinar con métodos del estado del arte las propiedades fisicoquímicas de cuatro fármacos libres seleccionados por su acción conocida anticancerígena.
- Diseñar y modelar sistemas nanoestructurados a partir de los fullerenos previamente funcionalizados con moléculas orgánicas denominadas *linkers*, que permitan unir al fullereno con los fármacos seleccionados.
- Estudiar las propiedades fisicoquímicas de los fármacos, los fullerenos funcionalizados y los nanovectores, tanto en fase gas como en algunos solventes de interés.
- Entender los factores y propiedades que determinan la capacidad de cruzar la barrera hematoencefálica, tanto de los nanovectores como de los fármacos libres comparando los resultados entre ellos.

CAPITULO IV. METODOLOGÍA

Introducción

Como se plantea en el capítulo anterior, se optó en este estudio por proponer el diseño de transportadores de fármacos. Utilizando la nanopartícula fullereno funcionalizada con cuatro *linkers* diferentes, y cuatro fármacos anticancerígenos; para conformar los nanovectores con dichas moléculas.

Primeramente, para la elección de los cuatro fullerenos funcionalizados, la elección se llevó a cabo centrándose en los estudios previos de estos compuestos. Ya que, son compuestos cuya síntesis experimental ya se ha llevado a cabo y son comerciales, www.sigmaaldrich.com. Además, para estos fullerenos funcionalizados, pruebas de solubilidad y toxicidad, entre otras características han dado resultados satisfactorios para su aplicación biológica.¹

Otro aspecto importante sobre la elección de C₆₀-L1, C₆₀-L2, C₆₀-L3 y C₆₀-L4, fue tener en cuenta los grupos funcionales correspondientes a la estructura de los *linkers*, los cuales funcionalizan la superficie del fullereno, siendo estos: ácidos carboxílicos y ésteres, cuya reactividad química resulta ser adecuada para la unión de los fármacos seleccionados.

Los fármacos, fueron seleccionados primordialmente respecto a su acción anticancerígena conocida. Existen trabajos donde se menciona que el 5-Fluorouracilo,^{2, 3} el Clorambucilo, la Carmustina⁴ y la N-metil-N-nitrosourea⁵ cruzan la BHE en bajos porcentajes de concentración. Es de importancia también el tamaño estructural de los fármacos, es decir que sean de un tamaño preferentemente pequeño; y los grupos funcionales en su estructura para su unión con los *linkers* presentes en los fullerenos.

Otro punto importante dentro de la búsqueda de fármacos libres fue que, los fármacos contaran con estudios previos experimentales sobre el valor *LogBB*. Aunque no se tiene dicha información para todos los fármacos seleccionados para el estudio QSAR, al menos de un 50% sí se ha encontrado.

4.1 Nivel de Teoría seleccionado

En este trabajo las optimizaciones de las moléculas: fullereno, fullerenos funcionalizados, fármacos, nanovectores y subproductos de reacción (agua y metanol), se llevaron a cabo a través de la teoría de funcionales de la densidad, a nivel M06-L/6-311G(d,p) y con el modelo PCM para los cálculos con solvente. Respecto al funcional, el conjunto base, las funciones de polarización y el modelo

PCM seleccionado se discuten en las secciones 2.3.1, 2.4, 2.4.2 y 2.6.1 respectivamente. El nivel de teoría fue elegido de acuerdo con los sistemas estudiados. El funcional M06-L ofrece un buen desempeño para el cálculo de la termoquímica del grupo principal, cinética y organometálica, así como interacciones biológicas. Además, este funcional es utilizable especialmente para simulaciones en sistemas de tamaño moderado a grande. El conjunto de funciones base fue seleccionado por su tamaño para la mejor descripción de los orbitales, las funciones de polarización se eligieron para dar una forma orbital con mayor flexibilidad. Y el modelo PCM se estableció por el equilibrio entre el costo computacional y el buen resultado de los datos.

4.2 Software utilizado

Para llevar a cabo las optimizaciones de las moléculas seleccionadas, tanto en fase gas como en fase solvente se utilizó el software Gaussian 09, Revisión C. 01.⁶ También para realizar cálculos tales como: cálculo de frecuencias de vibración, cálculo de cargas atómicas, cálculos de los cationes y aniones de cada estructura y potencial electrostático.

Para la visualización de las estructuras, se utilizó el visualizador Gauss View⁷ y Chemcraft.⁸

El modelo QSAR fue obtenido a partir del uso del software CODESSA 3.⁹

4.3 Desglose del desarrollo de trabajo.

Describo a continuación las actividades que se llevaron a cabo:

- Optimización de las moléculas: fullereno, fullerenos funcionalizados y fármacos libres en fase gas y en fase solvente utilizando como solvente agua, etanol y n-octanol.
- Obtención de las energías del catión y anión para cada molécula.
- Optimización de los nanovectores diseñados en fase gas, solvente agua, etanol y n-octanol.
- Cálculo de los descriptores globales de la reactividad de cada especie en fase solvente, agua y n-octanol: I, A, η , S, χ , ω , ω^- , ω^+ , μ y ΔE_{GAP} .
- Cálculo de la energía libre de Gibbs de las reacciones de funcionalización (ΔG_{rxn}°) en fase gas y fase solvente etanol.
- Cálculo de energía libre de Gibbs de solvatación, ΔG_{solv}° en fase solvente agua y n-octanol.
- Obtención del momento dipolar en fase gas y en fase solvente: agua, etanol y n-octanol.

- Obtención del potencial electrostático.
- Cálculo de *LogBB* a través de un modelo QSAR.

En general este fue el desarrollo llevado a cabo durante el trabajo de investigación. A continuación, desgloso con mayor profundidad los puntos anteriores.

4.4 Optimización de fullerenos funcionalizados y fármacos libres en fase gas y en fase solvente: agua, etanol y n-octanol

Primeramente, se obtuvo la estructura de cada compuesto estudiado en fase gas. Ahora bien, tomando como base la estructura en fase gas, se obtuvieron los cálculos en fase solvente: agua, etanol y n-octanol. En cada cálculo se hizo revisión de las frecuencias de vibración obtenidas, para asegurarse de que están en un mínimo en la superficie de energía potencial.

4.5 Obtención de la energía del catión y anión de cada molécula. En fase gas y fase solvente: agua y n-octanol.

A partir de las geometrías optimizadas de cada molécula neutra de interés se realizó el cálculo *single point* de las energías del catión y anión. Para ello se fijó la geometría optimizada previamente de la especie neutra y se agregó o quitó carga al sistema, al mismo tiempo que éste tomo características de multiplicidad doblete para simular la pérdida o ganancia de densidad electrónica y con ello la formación de aniones o cationes según haya sido el caso. El mismo procedimiento fue aplicado en fase gas y fase solvente.

4.6 Optimización de los nanovectores diseñados en fase gas y fase solvente agua, etanol y n-octanol.

Primeramente, para la unión de los fármacos a los *linkers* que funcionalizan a los fullerenos se modelaron reacciones específicas diferentes, enseguida se muestra una tabla dónde se dan ejemplos de estas reacciones.

En el **Esquema 4.1**, se han representado sólo 4 de las 16 reacciones llevadas a cabo para la construcción de los nanovectores ya que C₆₀-L1 con los fármacos F2 y F4 se llevan a cabo de la misma forma que C₆₀-L1 con F3, dando como producto una amida. Mientras que las reacciones de C₆₀-L2 con F2 y F4, son de igual forma llevadas a cabo como C₆₀-L2 con F3, también formando una amida. Para las reacciones de unión de C₆₀-L3 y C₆₀-L4 con los fármacos F2, F3 y F4, el

procedimiento de reacción es similar a los mencionados anteriormente. Y, por último, F1 se une a C₆₀-L3 y C₆₀-L4 mediante un procedimiento igual que se une a C₆₀-L2 formando un anhídrido, como con C₆₀-L1.

Para la formación de los nanovectores se propusieron al menos dos conformeros seleccionando como estructura definitiva, los conformeros de menor energía, tomando en cuenta los cálculos de frecuencias (modos normales de vibración) para asegurar la obtención de un mínimo en la superficie de energía potencial para cada nanovector formado. Los conformeros fueron propuestos según los grupos funcionales presentes en las estructuras, tomando en cuenta la repulsión estérica y la geometría en cada caso.

La optimización de los nanovectores, fue realizada al mismo nivel de teoría que en los casos anteriores.

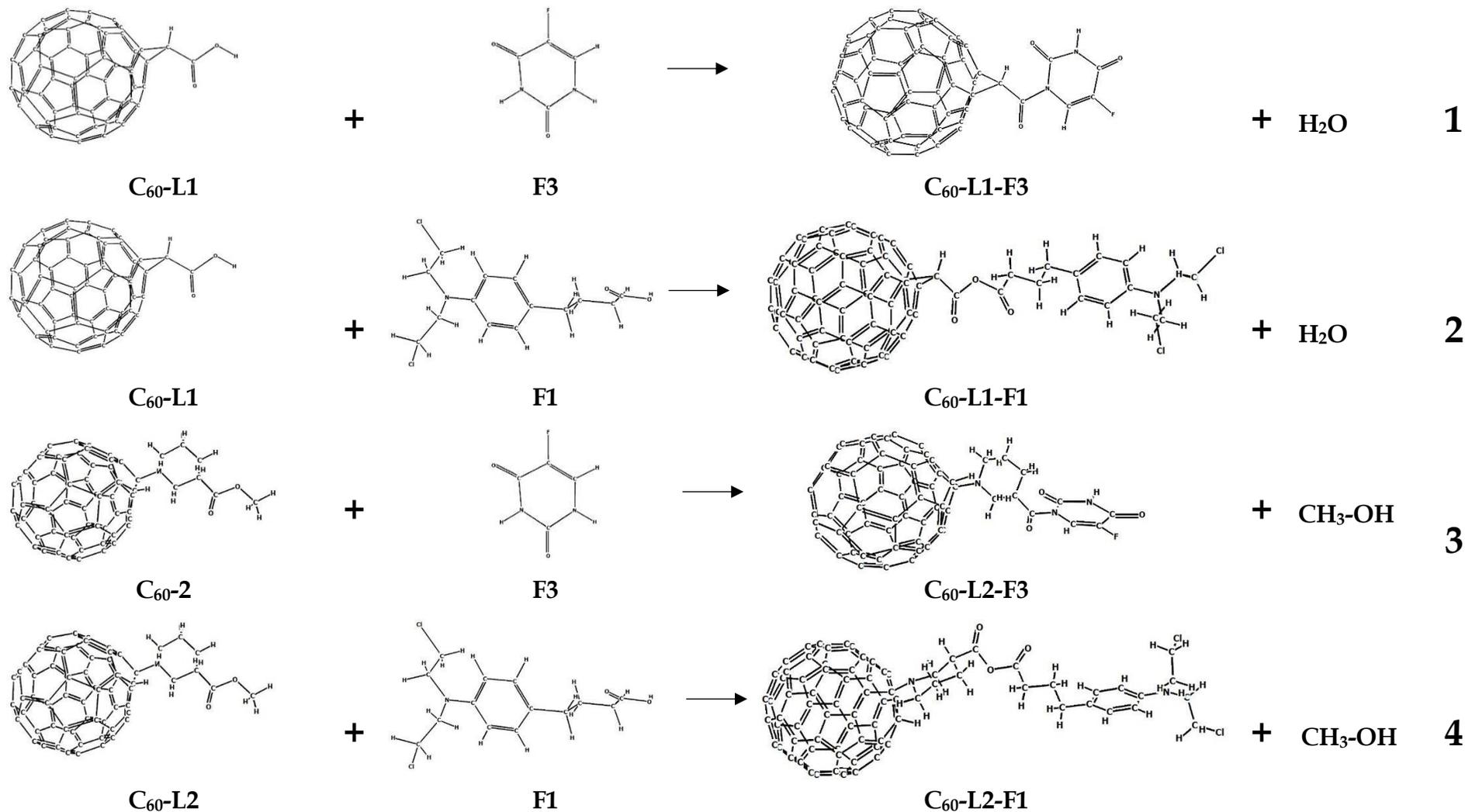
4.7 Calculo de la energía libre de Gibbs de las reacciones de formación (ΔG_{rxn}°) en fase gas y fase solvente etanol.

Ahora bien, los cálculos de energía libre de Gibbs de las reacciones de funcionalización ΔG_{rxn}° de los nanovectores en fase solvente y etanol, se realizaron como se muestra en la **ecuación (4.1)**.

$$\Delta G_{rxn}^{\circ} = \sum (E_{solvente} + G_{corr})_{productos} - \sum (E_{solvente} + G_{corr})_{reactivos} \quad (4.1)$$

Donde $E_{solvente}$ es la energía de cada producto y cada reactivo en fase solvente y G_{corr} es la corrección a la energía libre de Gibbs, donde se involucran aspectos de temperatura y entropía del sistema.

Para obtener los valores necesarios se empleó la metodología ya mencionada para la optimización de geometrías, empleando PCM como modelo de solvatación, y haciendo uso de los diferentes solventes, en este caso agua y etanol.



Esquema 4.1. Esquema de reacciones para la formación de los nanovectores, a partir de los fullerenos funcionalizados con los distintos *linkers* y con los fármacos libres: 1,2,3 y 4, llevadas a cabo entre: C₆₀-L1 y F3, C₆₀-L1 y F1, C₆₀-L2 y F3, y C₆₀-L2 y F1, respectivamente.

4.8 Cálculo de energía libre de Gibbs de solvatación, ΔG_{solv}° en fase solvente agua y n-octanol.

El nombre de energía libre de Gibbs de solvatación se da a la energía liberada cuando las moléculas del soluto se asocian con las moléculas del disolvente, lo cual implica una atracción entre estos y su estabilización cuando es negativa.

Se obtuvo la energía libre de Gibbs de solvatación ΔG_{solv}° como la diferencia del valor de la energía libre de Gibbs obtenida en fase solvente G_{solv} mediante el modelo PCM y la energía obtenida en fase gas G_{gas} , donde las dos energías se obtienen al mismo nivel de teoría.

$$\Delta G_{solv}^{\circ} = G_{solv} - G_{gas} \quad (4.2)$$

Con este cálculo se obtuvo un valor de la solubilidad en agua y en n-octanol de las moléculas diseñadas. En agua debido al medio fisiológico en el cual circulará el nanovector, y en n-octanol para modelar las características lipofílicas de la BHE.

4.9 Obtención de superficie de potencial electrostático.

Para calcular las superficies de potencial electrostático (SPE) de los sistemas propuestos, se emplea la densidad electrónica generada a partir de los cálculos de punto simple, usando una isosuperficie de valor 0.001, en donde se mapeó el potencial electrostático. La visualización de dicha SPE se realizó con el software Gauss View.

4.10 Obtención del momento dipolar en fase gas y en fase solvente: agua, etanol y n-octanol.

El momento dipolar es un valor dado en cada cálculo de optimización de geometría. La comparación entre la fase gas con diferentes solventes, arrojan valores para la determinación de la polaridad de la molécula.

El momento dipolar es el resultado de la diferencia de electronegatividades entre los átomos que conforman los enlaces de una estructura química. Indica cómo esta distorsionada la nube electrónica entorno a los enlaces en la molécula, en los cuales se forma un dipolo dependiendo de los átomos que sean más electronegativos dentro de un enlace. El conocimiento de dichas características permite contemplar posibles centros electrófilos o nucleófilos.¹⁰

4.11 Cálculo de los descriptores globales de la reactividad en fase solvente agua y n-octanol: $I, A, \eta, S, \chi, \omega, \omega^-, \omega^+, \mu$ y ΔE_{GAP} .

Para los cálculos de los descriptores globales de la reactividad, se tomaron como base las ecuaciones de la TFD conceptual teniendo en cuenta la aproximación de diferencias finitas, sección 2.2.1.

Se utilizaron las energías de los cálculos simples de estructuras en su forma neutra. El catión y anión de cada molécula se calcularon como cálculos *single point* en la geometría del neutro sin relajar.

4.12 Cálculo LogBB a través de un modelo QSAR.

En cuanto a los requerimientos para la obtención del modelo QSAR, primero se seleccionó un conjunto de 79 moléculas⁴ cuyas estructuras fueron relajadas a nivel semiempírico¹¹ con PM3, en el programa Spartan '08 V1.2.0.

Para calcular el modelo QSAR se recurrió, como se había mencionado anteriormente, al código CODESSA3 PRO. Primeramente, del conjunto inicial de 79 moléculas, se formaron dos grupos al azar, un conjunto de 68 moléculas, llamado conjunto prueba y otro conjunto de 11 moléculas llamado conjunto de validación. Posteriormente el conjunto prueba fue estudiado mediante métodos estadísticos seleccionando un grupo de descriptores de acuerdo con los requerimientos. También se descartaron un total de 18 moléculas, llamadas valores atípicos, con lo cual al final se obtuvo un conjunto prueba de 50 moléculas. Las moléculas descartadas resultaron ser excluidas por las pruebas estadísticas, en los cuales los datos arrojaban un resultado atípico.

Mediante más pruebas estadísticas a los descriptores y moléculas restantes, se obtuvo un conjunto de correlaciones evaluadas mediante varios índices de calidad. Se aplicó el índice estadístico llamado "la mejor regresión multilineal" o BMLR, el cual es un procedimiento automatizado para sugerir que correlación podría representar la mejor variación.

De esta forma se obtuvo una ecuación lineal en función de cuatro descriptores con coeficientes ponderados y sus valores estadísticos.

Por otra parte, para la validación del modelo obtenido, se utilizó precisamente el conjunto de moléculas de validación de 11 moléculas. Se obtuvieron los valores de *LogBB*, para cada una de las moléculas y se compararon los valores calculados contra los datos experimentales.

Finalmente se realizó el cálculo de $LogBB$, para el fullereno C_{60} , los fármacos libres y los nanovectores diseñados mediante el modelo QSAR obtenido y así se pudo estimar si la formación de los nanovectores incide en una mejora en la capacidad del fármaco para atravesar la BHE.

Referencias

1. Liu, Y.; Yan, B.; Winkler, D. A.; Fu, J.; Zhang, A., Competitive Inhibition Mechanism of Acetylcholinesterase without Catalytic Active Site Interaction: Study on Functionalized C60 Nanoparticles via in vitro and in silico Assays. *ACS Applied Materials & Interfaces* **2017**.
2. Bourke, R. S.; West, C. R.; Chheda, G.; Tower, D. B., Kinetics of entry and distribution of 5-fluorouracil in cerebrospinal fluid and brain following intravenous injection in a primate. *Cancer Research* **1973**, *33* (7), 1735-1746.
3. Bygrave, H.; Geh, J.; Jani, Y.; Glynne-Jones, R., Neurological complications of 5-fluorouracil chemotherapy: case report and review of the literature. *Clinical Oncology* **1998**, *10* (5), 334-336.
4. Ooms, F.; Weber, P.; Carrupt, P.-A.; Testa, B., A simple model to predict blood-brain barrier permeation from 3D molecular fields. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* **2002**, *1587* (2-3), 118-125.
5. Bubna-Littitz, H., Age-related changes in the blood-brain barrier in the rat with reference to methionine, lysine, glutamic acid and N-methyl-N-nitrosourea. *Zeitschrift fur Gerontologie* **1988**, *21* (2), 93-101.
6. M. J. Frisch, G. W. T., H. B. Schlegel, G. E. Scuseria,; M. A. Robb, J. R. C., G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci,; G. A. Petersson, H. N., M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian,; A. F. Izmaylov, J. B., G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada,; M. Ehara, K. T., R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima,; Y. Honda, O. K., H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr.,; J. E. Peralta, F. O., M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers,; K. N. Kudin, V. N. S., T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand,; K. Raghavachari, A. R., J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi,; M. Cossi, N. R., J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross,; V. Bakken, C. A., J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann,; O. Yazyev, A. J. A., R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski,; R. L. Martin, K. M., V. G. Zakrzewski, G. A. Voth,; P. Salvador, J. J. D., S. Dapprich, A. D. Daniels,; O. Farkas, J. B. F., J. V. Ortiz, J. Cioslowski,; and D. J. Fox, G., Inc., Wallingford CT, 2010. *Gaussian 09, Revision C.01*.
7. Roy Dennington, I.; Keith, T.; Millam, J., GaussView 5.0. 8. *Semichem Inc., Shawnee Mission KS 2009*.
8. Andrienko, G. A., Chemcraft 1.8 (build 536a).
9. Semichem, K. A., Karelson Mati. *Codessa 3*.
10. Jensen, F., *Introduction to computational chemistry*. John wiley & sons: 2017.
11. Stewart, J. J., Semiempirical molecular orbital methods. *Reviews in computational chemistry* **1990**, *1*, 45-81.

CAPÍTULO V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.1 Optimización de geometrías.

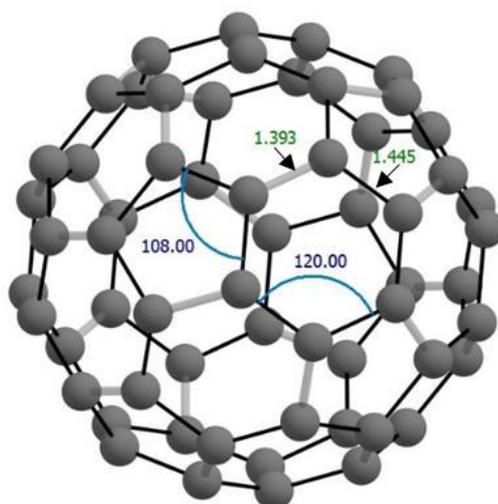
La geometría del fullereno libre C_{60} así como las de sus análogos funcionalizados, fueron optimizadas a través de la TFD a nivel M06L/6-311G(d,p), las estructuras mostradas son mínimos en la superficie de energía potencial (SEP), confirmados mediante el cálculo de frecuencias al mismo nivel de teoría, ya que estas resultaron ser todas positivas.

5.1.1 Fullereno y fullerenos funcionalizados.

Fullereno C_{60}

A continuación, se presentan las estructuras de las moléculas optimizadas y un análisis de estas.

En la **Fig. 5.1** se puede observar la estructura del C_{60} con distancias de enlace entre los carbonos C-C con un valor de 1.445 Å y 1.393 Å para los enlaces C=C. También se pueden observar los ángulos entre los carbonos de los hexágonos de 120.00° y para los carbonos de los pentágonos de 108.00°. Al comparar los valores obtenidos con los observados experimentalmente cuyo valor promedio reportado para los enlaces C-C de 1.445 Å y para los enlaces C=C es de valor de 1.391 Å, vemos que mientras los enlaces C-C coinciden con exactitud, los enlaces C=C presentan una discrepancia del 0.1%, el cual es un valor mínimo.



Buckminsterfullereno o fullereno (C_{60})

Figura 5.1. Fullereno C_{60} optimizado a nivel M06L/6-311G(d,p) en solvente agua utilizando el modelo de solvatación PCM. Se muestra el valor de las distancias de enlace en color verde (Å) y en azul el valor de los ángulos (°). Los carbonos se representan en color gris, los enlaces sencillos en color negro y los enlaces dobles en gris.

Además, comparando los valores obtenidos de la longitud de los ángulos, vemos que estos presentan un valor igual al reportado. Los ángulos en los hexágonos son iguales a 120.00° y en los pentágonos de 108.00°. La siguiente tabla muestra esta información de manera esquemática, con porcentajes de error mínimos.

Tabla 5.1. Valores de los parámetros calculados y experimentales de la longitud de enlace y ángulo de enlace de los C₆₀.

PARÁMETROS	CALCULADOS	EXPERIMENTALES ¹	%ERROR
Longitud de enlace C-C (Å)	1.445	1.445	0.00
Longitud de enlace C=C (Å)	1.393	1.391	0.14
Ángulo de enlace hexágonos (°)	120.00	120.00	0.00
Ángulo de enlace pentágonos (°)	108.00	108.00	0.00

Fullerenos funcionalizados

Respecto a los fullerenos funcionalizados, sus geometrías optimizadas a nivel de la TFD con M06L/6-311G(d,p), se muestran a continuación.

En los fullerenos funcionalizados los *linkers* están conformados de la forma siguiente: en C₆₀-L1, se muestra un derivado de ácido carboxílico, en C₆₀-L2, podemos ver un sustituyente piperidina y una terminación formada por un éster mientras en C₆₀-L3 se tiene un sustituyente tiofeno y también una terminación correspondiente a un éster, por último, C₆₀-L4, contiene en su estructura un sustituyente benceno y nuevamente una terminación con un grupo funcional éster.

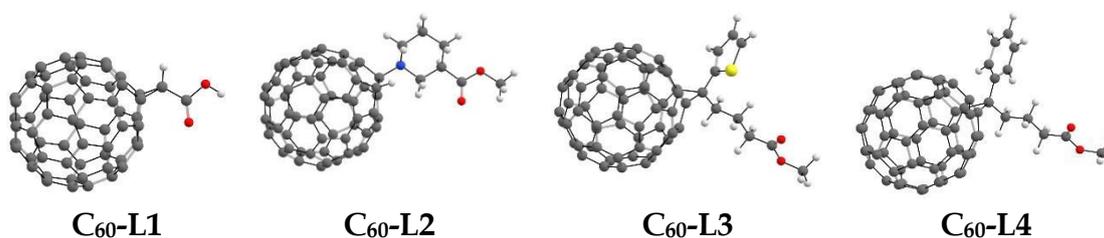


Figura 5.2. Fullerenos funcionalizados con cuatro diferentes *linkers*: (1,2-metanofullereno C₆₀)-61-ácido carboxílico (C₆₀-L1); fullereno metil nipecotate (C₆₀-L2); [6,6]-tienil C61 éster metílico del ácido butírico (C₆₀-L3) y [6,6]-fenil C61, éster metílico del ácido butírico (C₆₀-L4). Optimizados al nivel M06L/6-311G(d,p) en solvente agua utilizando el modelo PCM. Los átomos en gris representan los carbonos, los blancos los hidrógenos, los rojos los oxígenos, el átomo azul es un nitrógeno y el amarillo un azufre.

Cada una de las estructuras corresponde a un mínimo en la superficie de energía potencial, se estudiaron al menos dos conformeros de cada estructura, en este trabajo no realizo un análisis conformacional automatizado, se realizó una búsqueda manual suponiendo que el movimiento de los átomos de carbono del C₆₀ era despreciable, es decir, solo se movieron los grupos funcionales para obtener cada conformero. Se ha elegido el conformero de menor energía en la SEP para los cálculos de los siguientes pasos. En los C₆₀-L1, C₆₀-L2, C₆₀-L3, y C₆₀-L4, se nota una diferencia en la longitud de los enlaces C-C y C=C, así como

también en los ángulos de los ciclohexanos y ciclopentanos. Las diferencias se muestran a continuación.

Tabla 5.2. Valores promedio de los parámetros calculados, longitud de enlace y ángulo de enlace de los C₆₀-L1, C₆₀-L2, C₆₀-L3, C₆₀-L4.

PARÁMETROS	C ₆₀	C ₆₀ -L1	C ₆₀ -L2	C ₆₀ -L3	C ₆₀ -L4
Longitud de enlace C-C (Å)	1.445	1.453	1.470	1.457	1.457
Longitud de enlace C=C (Å)	1.393	1.420	1.418	1.384	1.384
Ángulo de enlace hexágonos (°)	120.00	119.14	120.09	120.14	120.14
Ángulo de enlace pentágonos (°)	108.00	107.97	108.14	107.96	107.94

En la **Tabla 5.2** se observa que las distancias en el C₆₀ cambian de 1.445 Å hasta 1.470 Å en el C₆₀-L2, siendo este el que presenta mayor elongación en promedio, mientras la distancia de 1.393 Å aumenta hasta 1.420 Å en C₆₀-L1, los valores de las distancias como se muestra en la **Fig. 5.3**, son un promedio solo de los enlaces alrededor del punto de unión de los *linkers* al fullereno, ya que los enlaces de los átomos más cercanos a este punto, son los que se ven afectados en mayor medida, mientras el resto presenta un cambio despreciable. Esto se debe a la adición de los *linkers* por cicloadición, la cual va acompañada de una disminución en la energía de tensión en la esfera del fullereno debido al cambio de hibridación sp² a sp³ en los átomos de carbono sobre los cuales se lleva a cabo la adición.

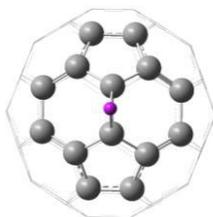


Figura 5.3. Estructura representativa del fullereno donde se muestra una parte del C₆₀ en forma de esferas y el resto en forma de líneas. Los átomos que fueron tomados en cuenta para el promedio de las distancias de enlace son los 14 átomos de carbono en forma de esfera. Y la esfera de color lila representa el sitio de unión del *linker*.

Respecto a los valores de los ángulos, se tomaron valores promedio de los ángulos formados en los carbonos de los ciclopentanos y de los ángulos formados en los carbonos de los ciclohexanos de los fullerenos funcionalizados.

5.1.2 Fármacos

Las estructuras de los fármacos anticancerígenos elegidos se muestran a continuación. Las geometrías fueron optimizadas a nivel de la TFD con M06L/6-311G(d,p). En la **Fig. 5.4** se observa la estructura de los fármacos libres elegidos. Para las cuatro geometrías de los fármacos anticancerígenos se obtuvo un mínimo en la SEP.

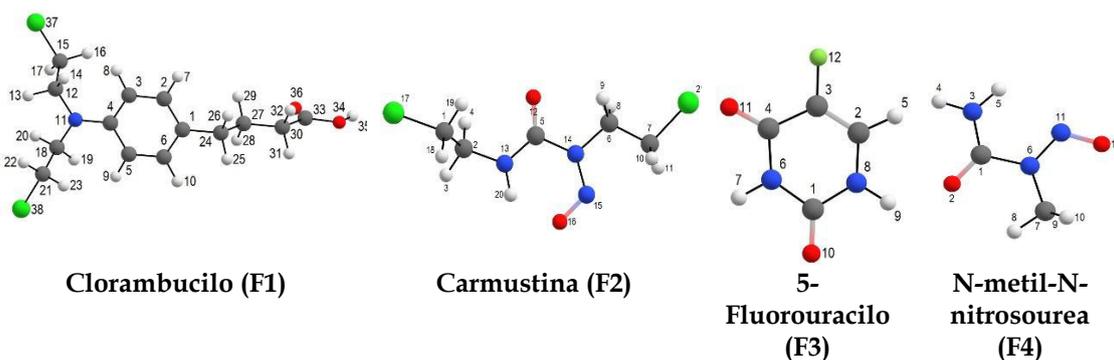


Figura 5.4. Fármacos anticancerígenos libres Clorambucilo (F1), Carmustina (F2), 5-Fluorouracilo (F3) y N-metil-N-nitrosourea (F4). Optimizados al nivel M06L/6-311G(d,p) en solvente agua utilizando el modelo PCM. Los átomos color gris representan los carbonos, los blancos los hidrógenos, los rojos los oxígenos, los azules son nitrógenos mientras los verdes de mayor volumen (en F1 y F2) son átomos de cloro y el verde de radio menor (en F3) representa un átomo de flúor.

En el primero, **F1**, se puede observar la presencia de un benceno con dos sustituyentes en posición para en los carbonos 4 y 1, dichos sustituyentes son: bis-cloroetilamina y ácido butírico. Respecto a los ácidos carboxílicos, estos pueden reaccionar con aminas para formar amidas, así como también con otros ácidos carboxílicos o ésteres para la formación de anhídridos, se hace hincapié en este hecho ya que como lo había comentado en las secciones **1.6.3** y **4.6**, la disposición de estos elementos es altamente relevante para la formación de los nanovectores.

En **F2** se observa una nitrosourea con dos sustituyentes cloroetil uno a cada lado de la molécula, este hecho junto con la geometría en posición trans de los átomos más electronegativos, los oxígenos O12 y O16, habla de la estabilidad de la estructura obtenida para el fármaco **F2**. En **F3** se puede observar una pirimidina sustituida con un átomo de flúor y cabe mencionar que en la estructura de la pirimidina los nitrógenos N6 y N8 contienen un hidrogeno disponible, sin embargo, el N6 está impedido por el efecto estérico propiciado por los átomos que forman el ambiente químico que lo contiene, es decir los dos grupos cetona en C1 y C4 dispuestos a cada lado del N6. Y en cuarto lugar **F4**, cuya estructura está constituida también por una nitrosourea, en este caso sustituida por un grupo metilo en N6, en **F4** se puede ver O12 y O2 en posición trans a N3, estos átomos tienen alta electronegatividad, por lo que esta disposición da estabilidad a la molécula, también se puede observar que N3 corresponde a una amina primaria lo que sugiere que sus dos átomos de hidrogeno pueden ser sustituidos.

El análisis de la disposición espacial de los átomos que conforman cada una de las moléculas, resulta relevante ya que dicha disposición espacial repercute en sus propiedades fisicoquímicas y la reactividad.

5.1.3 Nanovectores.

Enseguida se muestran las figuras de las geometrías de los nanovectores diseñados, las geometrías mostradas fueron optimizadas con la TFD a nivel M06L/6-311G(d,p), en solvente agua, utilizando el modelo PCM.

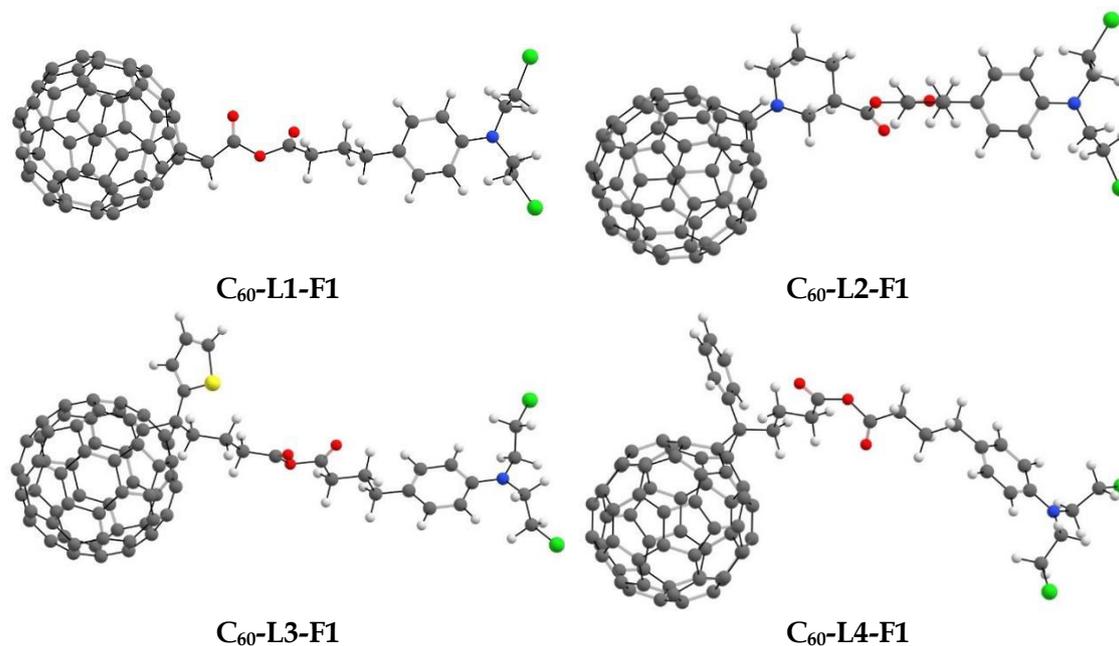
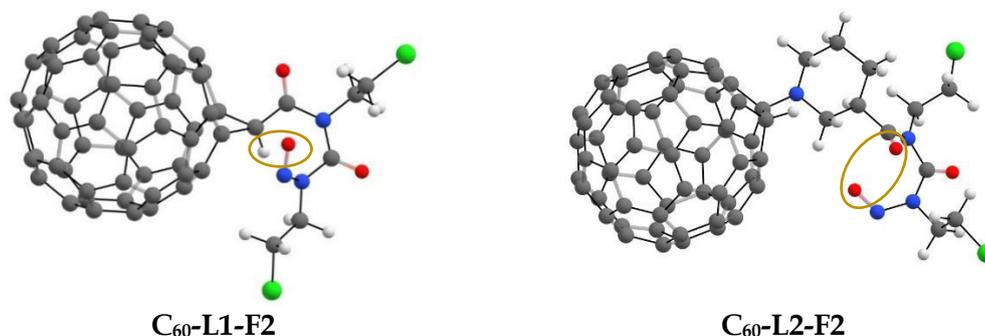
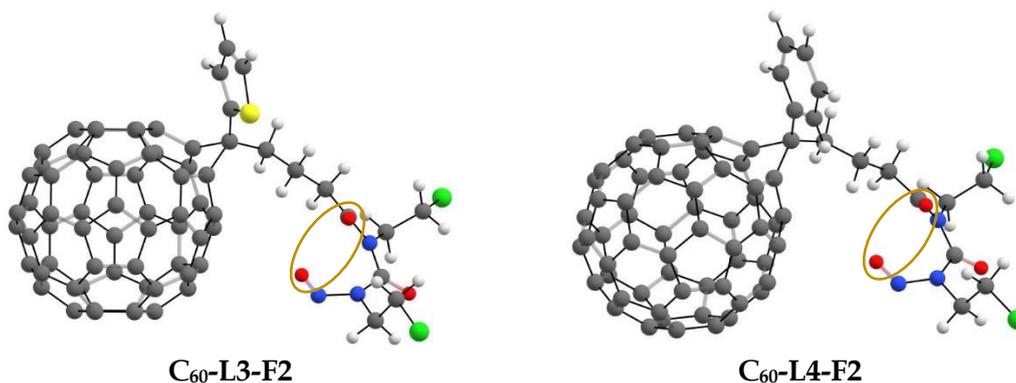


Figura 5.5. Nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C₆₀-L1, C₆₀-L2, C₆₀-L3 y C₆₀-L4 con el fármaco clorambucilo (F1). Optimizados a nivel M06L/6-311G(d,p), en solvente agua utilizando el modelo PCM. Se mantiene el mismo esquema de colores que en las imágenes anteriores y para las imágenes posteriores también.

Se muestra en las geometrías C₆₀-L1-F1 y C₆₀-L3-F1, la formación de un anhídrido cuyos átomos de oxígeno provenientes del grupo carbonilo, están dispuestos hacia la misma dirección con un desfase marcado entre ellos. Mientras en la estructura C₆₀-L2-F1 y C₆₀-L4-F1, los átomos de oxígeno provenientes de los carbonos carbonílicos implicados en el anhídrido se encuentran en disposición trans. La curvatura en C₆₀-L4-F1 se puede explicar por la atracción que ejerce la densidad del fullereno sobre el benceno y a lo largo de la cadena formada, la cual aporta la flexibilidad para formar la curvatura.



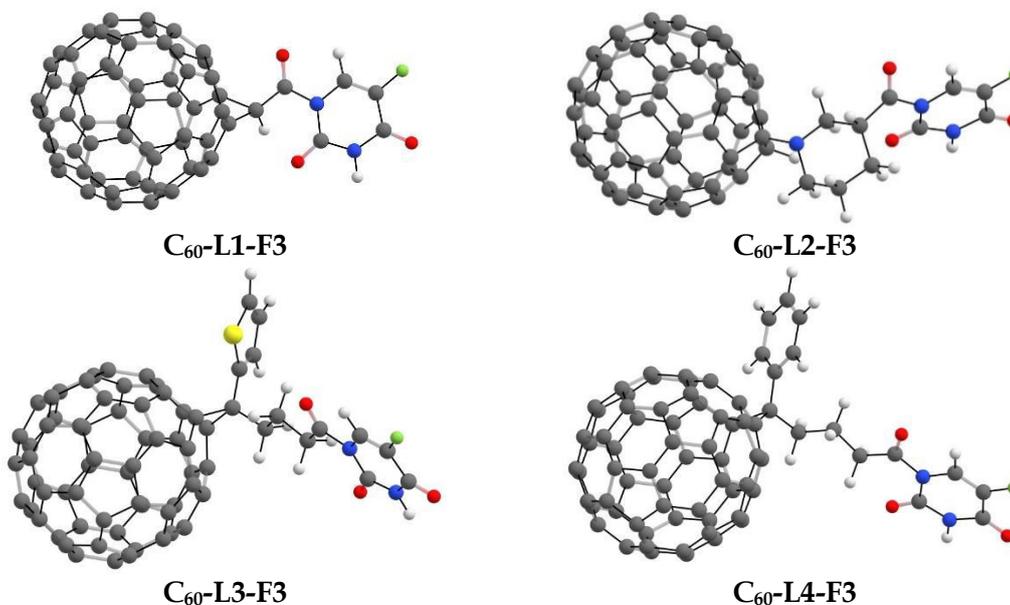


C₆₀-L3-F2

C₆₀-L4-F2

Figura 5.6. Nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C₆₀-L1, C₆₀-L2, C₆₀-L3 y C₆₀-L4 con el fármaco carmustina (F2). Optimizados a nivel M06L/6-311G(d,p) en solvente agua, utilizando el modelo PCM.

En los nanovectores diseñados con **F2** se ha formado un enlace amídico entre los *linkers* y el fármaco, en **C₆₀-L1-F2** se observa al hidrogeno del *linker* ir hacia atrás del plano mientras al oxígeno enlazado al nitrógeno va hacia adelante del plano, (señalados en una elipse amarilla, en este y los siguientes casos) lo cual deriva en que esta geometría sea la de menor energía, ya que la cercanía de estos átomos implica impedimento estérico. En **C₆₀-L2-F2** se observa cómo se alejan el oxígeno enlazado al nitrógeno de **F2** y el oxígeno enlazado al carbono carbonílico del *linker* por repulsión estérica. En **C₆₀-L3-F2** y **C₆₀-L4-F2** se observa el mismo efecto que en el nanovector anterior y además también aparece una curvatura del *linker* con el fármaco, curvatura que los acerca al fullereno, hecho que no ocurre en **C₆₀-L1-F2** y en **C₆₀-L2-F2**, debido a que los *linkers* **L3** y **L4** presentan una cadena de tamaño mayor que los *linkers* **L1** y **L2**, lo cual otorga flexibilidad en la estructura dando como resultado cierto porcentaje de doblamiento hacia el fullereno.



C₆₀-L1-F3

C₆₀-L2-F3

C₆₀-L3-F3

C₆₀-L4-F3

Figura 5.7. Nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C₆₀-L1, C₆₀-L2, C₆₀-L3 y C₆₀-L4 con el fármaco 5-Fluorouracilo (F3). Optimizados al nivel M06L/6-311G(d,p) en solvente agua utilizando el modelo PCM.

En los nanovectores C_{60} -L1-F3 y C_{60} -L2-F3 el fármaco se encuentra desfasado respecto al *linker* en cada estructura es decir L1 y L2, respectivamente. Respecto a C_{60} -L3-F3 y C_{60} -L4-F3 se puede notar un efecto también de desfase y una ligera curvatura del *linker* en C_{60} -L3-F3 hacia el fullereno y una gran separación en C_{60} -L4-F3, entre F3 y el sustituyente de L4, es decir benceno, de esta forma F3 y los sustituyentes tiofeno y benceno quedan separados disminuyendo su impedimento estérico entre ambos.

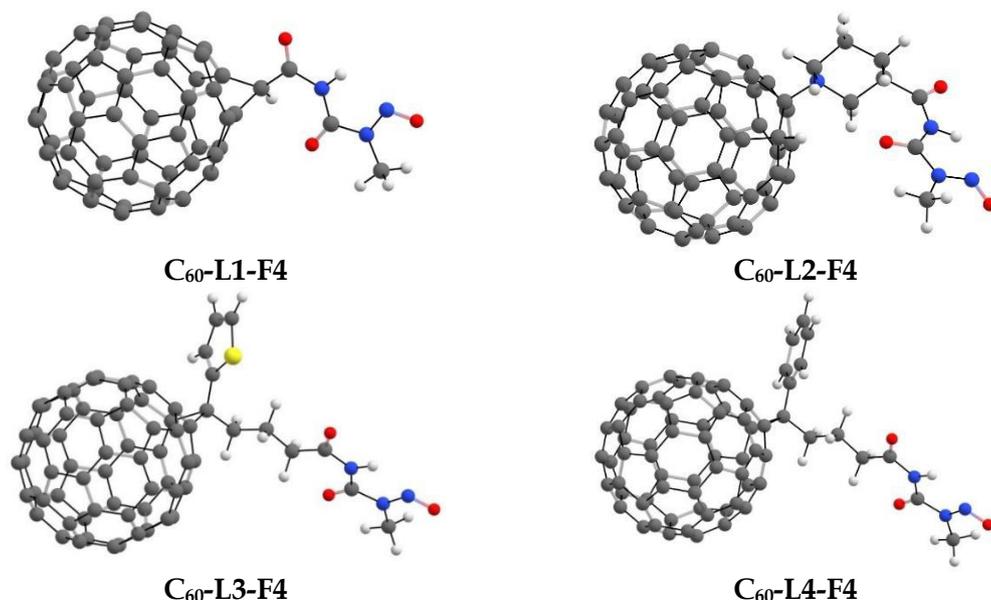


Figura 5.8. Nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C_{60} -L1, C_{60} -L2, C_{60} -L3 y C_{60} -L4 con el fármaco N-metil-N-nitrosourea (F4). Optimizados al nivel M06L/6-311G(d,p) en solvente agua utilizando el modelo PCM.

En los cuatro nanovectores diseñados con F4 se muestra la curvatura del fármaco y el *linker* hacia el fullereno por las atracciones que este presenta y por el tamaño del fármaco ya que como es el de menor tamaño, presenta menos impedimento estérico.

5.2 Cálculo de la energía libre de Gibbs de las reacciones de formación (ΔG_{rxn}°) en fase gas.

A continuación, se presenta una tabla de la energía libre de Gibbs de formación de los nanovectores diseñados, (ver **Esquema 4.1**) proponiendo como reactivos de partida los fullerenos funcionalizados de la sección 5.1.1 y los fármacos de la sección 5.1.2, y como productos los nanovectores de la sección 5.1.3 y agua o metanol según sea el caso como se mostró en la sección 4.7 del capítulo IV de metodología, y utilizando la **Ecuación (4.1)** correspondiente a la ecuación general de la reacción.

Nanovector	ΔG_{rxn}° kcal/mol
C ₆₀ -L1-F1	17.19
C ₆₀ -L1-F2	17.70
C ₆₀ -L1-F3	12.73
C ₆₀ -L1-F4	10.31
C ₆₀ -L2-F1	19.06
C ₆₀ -L2-F2	17.56
C ₆₀ -L2-F3	19.94
C ₆₀ -L2-F4	16.15
C ₆₀ -L3-F1	19.54
C ₆₀ -L3-F2	20.81
C ₆₀ -L3-F3	13.29
C ₆₀ -L3-F4	12.46
C ₆₀ -L4-F1	18.03
C ₆₀ -L4-F2	18.71
C ₆₀ -L4-F3	12.92
C ₆₀ -L4-F4	11.46

Tabla 5.3. Energía libre de Gibbs de formación de los nanovectores en fase gas, optimizados con la TFD al nivel M06L/6-311G(d,p).

En la **Tabla 5.3** las energías libres de Gibbs de formación de los nanovectores corresponden a la fase gas. En general se puede notar que todas las energías de formación son positivas, es decir las reacciones propuestas son reacciones endergónicas, las cuales necesitan el suministro de energía para poder llevarse a cabo, sin embargo, ese suministro de energía es viable. Particularmente los nanovectores C₆₀-L1-F4, C₆₀-L4-F4, C₆₀-L3-F4, C₆₀-L1-F3, C₆₀-L4-F3, C₆₀-L3-F3 y C₆₀-L2-F4, es decir los nanovectores con los *linkers* L1, L3 y L4 y los fármacos F3 y F4, requieren un menor costo energético para su formación. Mientras los nanovectores C₆₀-L3-F2, C₆₀-L3-F1 y C₆₀-L2-F1, son los que requieren mayor energía.

5.3 Cálculo de la energía libre de Gibbs de las reacciones de formación (ΔG_{rxn}°) en etanol.

Posteriormente se llevó a cabo el cálculo de la energía libre de Gibbs para las reacciones de formación de los nanovectores en fase solvente, utilizando el modelo PCM y como solvente, etanol. Se ha elegido etanol por ser un solvente polar prótico y por la relevancia que tiene este hecho para la formación de las amidas en los nanovectores y porque suele usarse en experimentos análogos.

Las amidas se forman por la sustitución nucleofílica en el grupo acilo de un ácido carboxílico, sin embargo, la sustitución directa es difícil en el laboratorio debido a que el -OH es un mal grupo saliente. Así, por lo general es necesario incrementar la reactividad del ácido, ya sea utilizando un ácido fuerte como

catalizador para protonar el grupo carboxilo y hacerlo un mejor electrófilo, o convirtiendo el grupo -OH en un mejor grupo saliente, esto se puede realizar mediante un disolvente que sea capaz de ceder un protón como lo es el etanol.² De esta forma, bajo las circunstancias correctas tanto las amidas como los anhídridos pueden prepararse a partir de ácidos carboxílicos o esteres (ver Esquema 4.1).

Nanovector	ΔG_{rxn}° kcal/mol
C ₆₀ -L1-F1	15.75
C ₆₀ -L1-F2	16.69
C ₆₀ -L1-F3	13.98
C ₆₀ -L1-F4	11.02
C ₆₀ -L2-F1	17.25
C ₆₀ -L2-F2	20.29
C ₆₀ -L2-F3	22.23
C ₆₀ -L2-F4	18.35
C ₆₀ -L3-F1	17.99
C ₆₀ -L3-F2	21.63
C ₆₀ -L3-F3	15.67
C ₆₀ -L3-F4	13.34
C ₆₀ -L4-F1	17.51
C ₆₀ -L4-F2	20.49
C ₆₀ -L4-F3	15.32
C ₆₀ -L4-F4	12.56

Tabla 5.4. Energía libre de Gibbs de formación de los nanovectores en fase solvente etanol, optimizados con la TFD al nivel M06L/6-311G(d,p) y el modelo PCM.

Respecto a los cambios energéticos requeridos para la formación del nanovector en fase etanol respecto a la fase gas, en general se nota que los cuatro nanovectores diseñados con **F1** disminuyen su requerimiento de energía libre de Gibbs hasta en casi 2.0 kcal/mol en el caso de **C₆₀-L2-F1**, por otro lado, tres de los cuatro sistemas con el *linker* **L2**, (**C₆₀-L2-F2**, **C₆₀-L2-F3**, **C₆₀-L2-F4**) aumentan su energía en aproximadamente 2.5 kcal/mol, este es también el caso para tres de los sistemas con **L4**, (**C₆₀-L4-F2**, **C₆₀-L4-F3**, **C₆₀-L4-F4**) pero con un aumento energético de aproximadamente 2.0 kcal/mol.

Este hecho se atribuye a la naturaleza del fármaco **F1** y el tipo de enlace formado, el cual es diferente al resto de los enlaces en el resto de los nanovectores.

5.4 Cálculo de energía libre de Gibbs de solvatación, ΔG_{solv}° en agua.

La energía libre de Gibbs de solvatación como se mencionó en la **sección 4.8** del capítulo IV es la energía asociada con la energía liberada cuando las moléculas del soluto se asocian con las moléculas del disolvente y se representa por la **Ecuación (4.2)**.

Nanovector	ΔG_{solv}° kcal/mol
C ₆₀ -L1-F1	-12.31
C ₆₀ -L1-F2	-9.15
C ₆₀ -L1-F3	-9.68
C ₆₀ -L1-F4	-7.59
C ₆₀ -L2-F1	-13.09
C ₆₀ -L2-F2	-6.98
C ₆₀ -L2-F3	-10.33
C ₆₀ -L2-F4	-7.87
C ₆₀ -L3-F1	-14.27
C ₆₀ -L3-F2	-10.67
C ₆₀ -L3-F3	-10.41
C ₆₀ -L3-F4	-9.27
C ₆₀ -L4-F1	-12.28
C ₆₀ -L4-F2	-8.50
C ₆₀ -L4-F3	-10.64
C ₆₀ -L4-F4	-9.24

Tabla 5.5. Energía libre de Gibbs de solvatación de los nanovectores en agua, optimizados con la TFD al nivel M06L/6-311G(d,p).

En la **Tabla 5.5** se observa que la energía libre de Gibbs de solvatación en agua para los nanovectores es negativa, por lo que resulta ser favorable para su solubilidad en agua pues el solvente estabiliza estas especies. Los sistemas estudiados con el fármaco **F1** son los que presentan mayor solubilidad. Los sistemas en los que se encuentra integrado el fármaco **F3**, le siguen en orden descendente de energía libre de solvatación a **F1**, haciendo hincapié en la importancia de esta característica para la administración de los nanovectores en el medio fisiológico, ya que con la solvatación se consigue el aumento de su biocompatibilidad y disminución de su toxicidad.

5.5 Cálculo de energía libre de Gibbs de solvatación, ΔG_{solv}° en n-octanol.

La energía libre de Gibbs de solvatación en n-octanol se calculó de la misma forma que la energía libre de Gibbs de solvatación en agua presentado en la sección anterior, pero con la constante dieléctrica del n-octanol en el cálculo PCM. Enseguida se muestran los valores asociados a los 16 nanovectores diseñados.

Nanovector	ΔG_{solv}° kcal/mol
C ₆₀ -L1-F1	-9.94
C ₆₀ -L1-F2	-7.09
C ₆₀ -L1-F3	-7.75
C ₆₀ -L1-F4	-5.97
C ₆₀ -L2-F1	-11.37
C ₆₀ -L2-F2	-5.33
C ₆₀ -L2-F3	-8.35
C ₆₀ -L2-F4	-6.13
C ₆₀ -L3-F1	-11.56
C ₆₀ -L3-F2	-8.70
C ₆₀ -L3-F3	-8.32
C ₆₀ -L3-F4	-7.42
C ₆₀ -L4-F1	-10.38
C ₆₀ -L4-F2	-6.29
C ₆₀ -L4-F3	-8.64
C ₆₀ -L4-F4	-7.53

Tabla 5.6. Energía libre de Gibbs de solvatación de los nanovectores en n-octanol, optimizados con la TFD al nivel M06L/6-311G(d,p).

En la **Tabla 5.6** se observa que los valores de la energía de solvatación en n-octanol son también negativos y favorables para los 16 nanovectores, resaltando con una energía mayor los sistemas que contienen a **F1**. El estudio de la solubilidad en n-octanol otorga datos para el análisis de la liposolubilidad de las moléculas, es decir, el estudio de las características de las sustancias en un medio lipídico, utilizando al n-octanol como un disolvente de referencia. De esta forma se nota que los cuatro nanovectores asociados al fármaco **F1**, (**C₆₀-L1-F1**, **C₆₀-L2-F1**, **C₆₀-L3-F1**, **C₆₀-L4-F1**) que presentan los valores más altos de energía de solvatación se asocian con una mejor liposolubilidad, sin embargo, los 12 nanovectores restantes también presentan valores propicios de energía para una favorable liposolubilidad, aunque menor.

Se ha buscado en los sistemas estudiados, características tanto hidrofílicas como características lipofílicas debido a los requerimientos que representa el hecho de

la administración de fármacos en el medio biológico, pero también tomando en cuenta que el paso a través de la BHE se ve positivamente favorecido por moléculas lipofílicas, como se puede notar en los resultados obtenidos de la solvatación en medio acuoso y medio lipofílico de los nanovectores estudiados, los nanovectores presentan características anfifílicas y esto se ve reflejado de manera consecuente en sus mapas de superficie de potencial electrostático, como se muestra a continuación.

5.6 Mapa de la superficie del potencial electrostático.

En esta sección se presentan los mapas de superficie del potencial electrostático SPE de las moléculas estudiadas en este trabajo. En cada uno de los mapas el color rojo representa las áreas donde existe una densidad electrónica mayor, el color azul las áreas donde hay deficiencia de electrones y el color verde/amarillo las áreas neutras de la molécula.

5.6.1 Fullerenos y fullerenos funcionalizados.

Primeramente, se muestran los potenciales electrostáticos del fullereno C_{60} y los fullerenos funcionalizados.

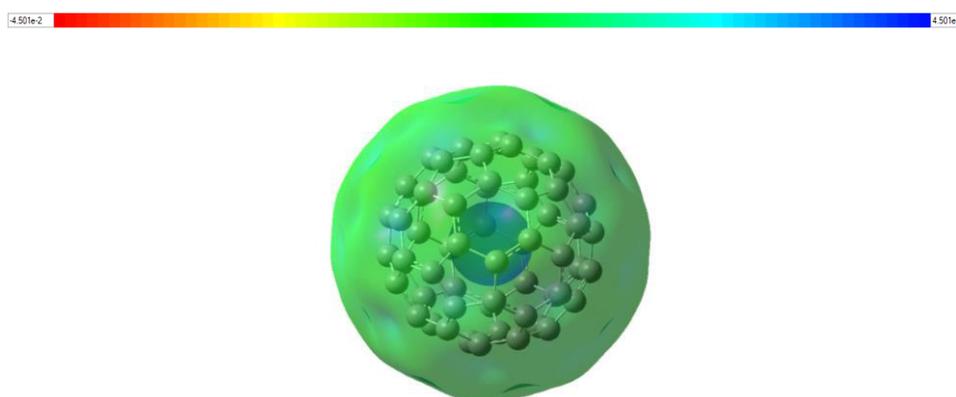
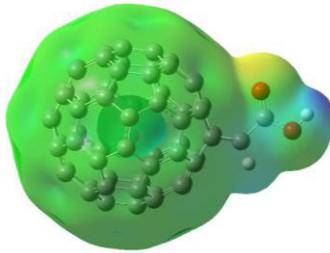
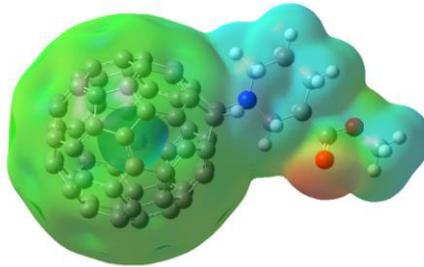


Figura 5.9. Mapa de potencial electrostático con una isosuperficie de 0.001 del fullereno C_{60} en solvente agua utilizando el modelo PCM.

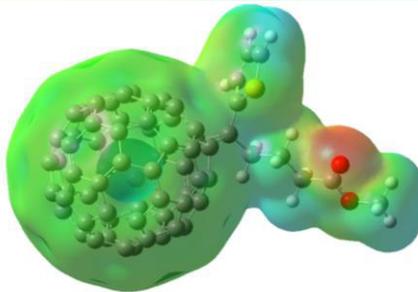
En la **Fig. 5.9**, se observa claramente que el C_{60} , es una estructura con potencial electrostático neutro, por su color verde uniforme, esto coincide con el hecho de que su momento dipolar es cero. Con lo que se hace notar que el fullereno sin funcionalizar, no será soluble en solventes polares como lo es el agua, sin embargo, se sabe que el fullereno nativo y sin funcionalizar, es liposoluble y llega a acumularse en las bicapas lipídicas como las de la BHE.^{3, 4}



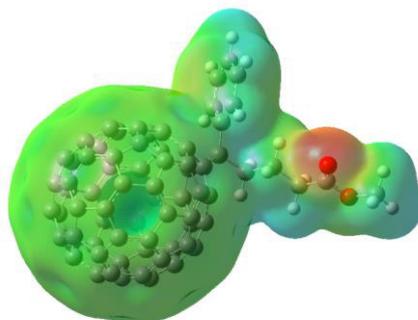
C₆₀-L1



C₆₀-L2



C₆₀-L3



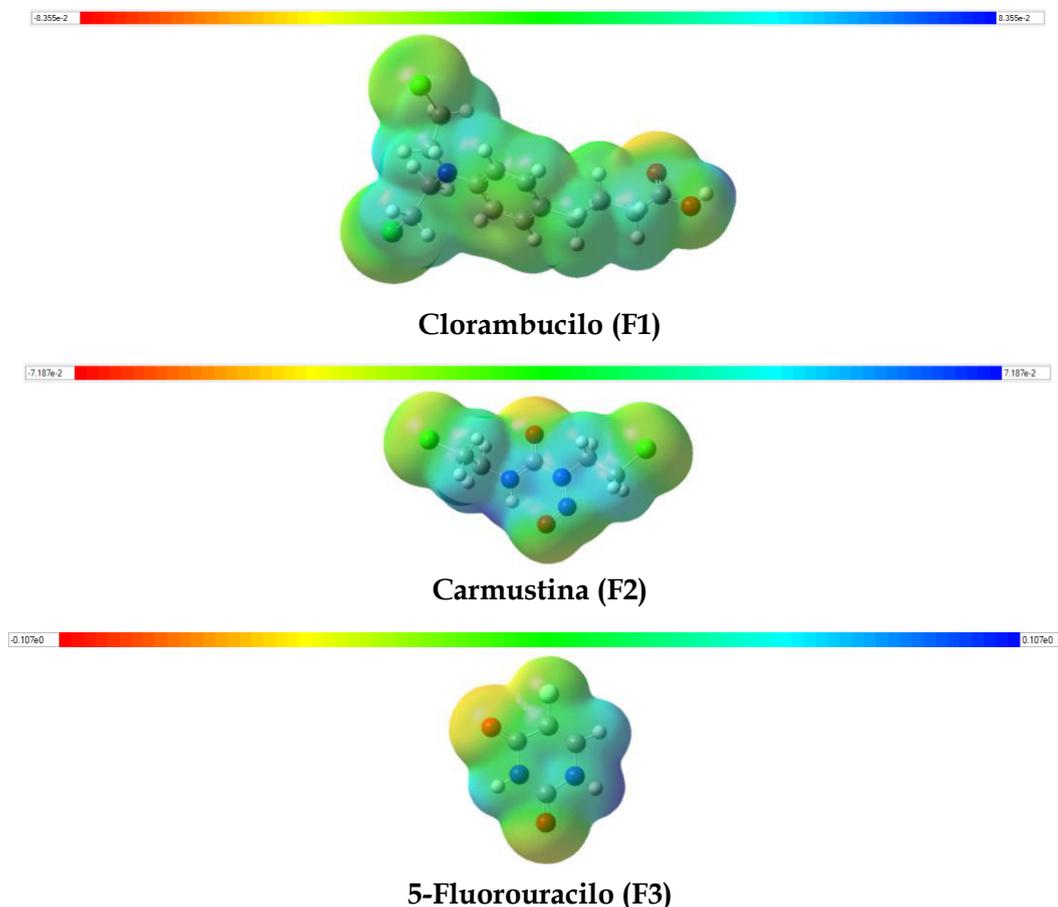
C₆₀-L4

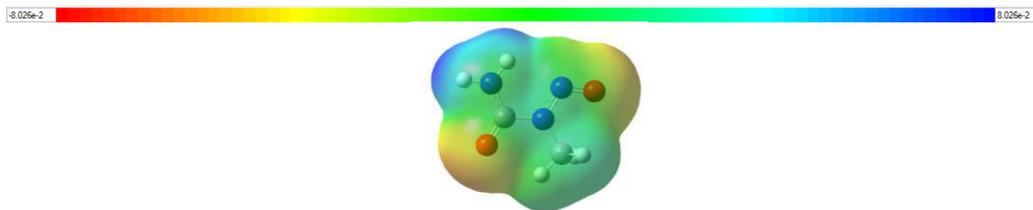
Figura 5.10. Mapa de potencial electrostático con una isosuperficie de 0.001 de los fullerenos funcionalizados con L1, L2, L3 y L4 en solvente agua utilizando el modelo PCM.

En la SPE de los fullerenos funcionalizados, como se muestra en la **Fig. 5.10**, ha cambiado la polaridad de los sistemas debido a la unión de los *linkers* en los fullerenos. El **C₆₀-L1** resulta ser el que presenta menor número de átomos con abundancia o deficiencia de densidad electrónica, en color rojo o azul respectivamente. Mientras que **C₆₀-L2**, **C₆₀-L3** y **C₆₀-L4**, están conformados por *linkers* que presentan un mayor número de átomos donde se ha repartido densidad electrónica de manera no uniforme, por lo que presentan mayor polaridad, sin embargo, la porción correspondiente a la esfera del fullereno casi en su totalidad conserva un potencial neutro.

5.6.2 Fármacos libres.

Respecto a la SPE de los fármacos libres, estos se muestran a continuación en la **Fig. 5.11**. Se notan áreas donde hay abundancia de densidad electrónica como lo son los átomos de oxígeno en F1, F3 y F4, mientras F2 también muestra mayor densidad electrónica en los oxígenos, pero en comparación con los otros fármacos es el fármaco que muestra menos densidad polarizada (visualmente, el color rojo se observa más tenue). Las áreas deficientes de densidad electrónica por otro lado se pueden observar mayoritariamente en las regiones donde se encuentran los nitrógenos en todos los fármacos estudiados.



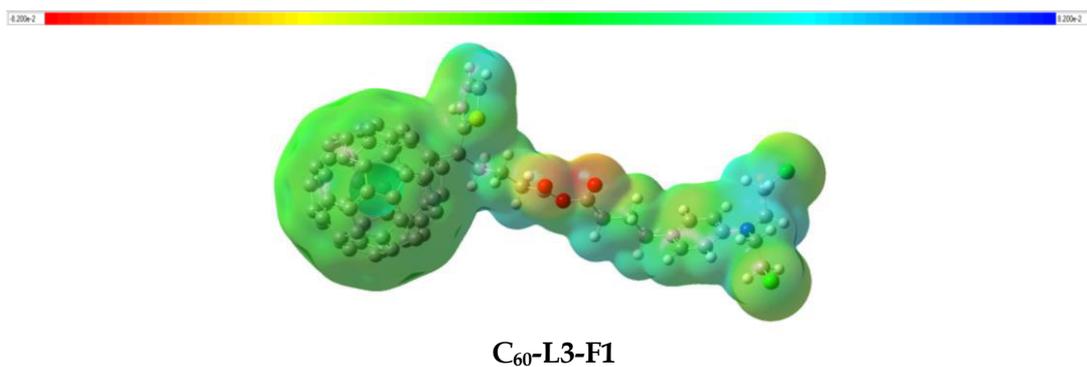
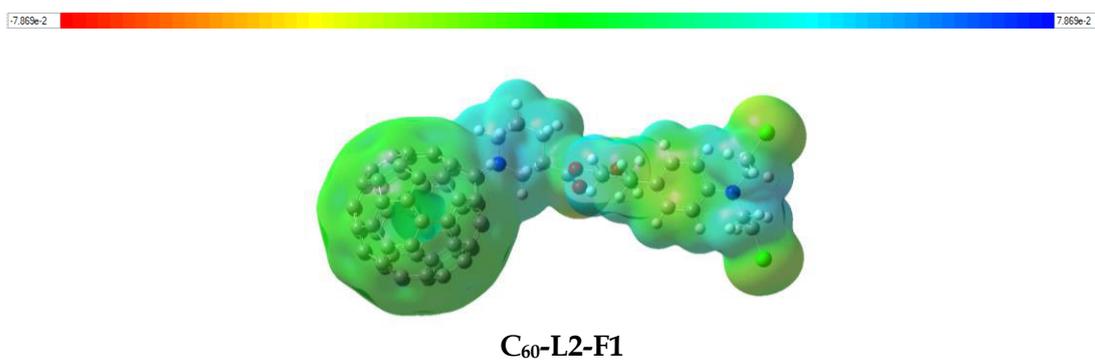
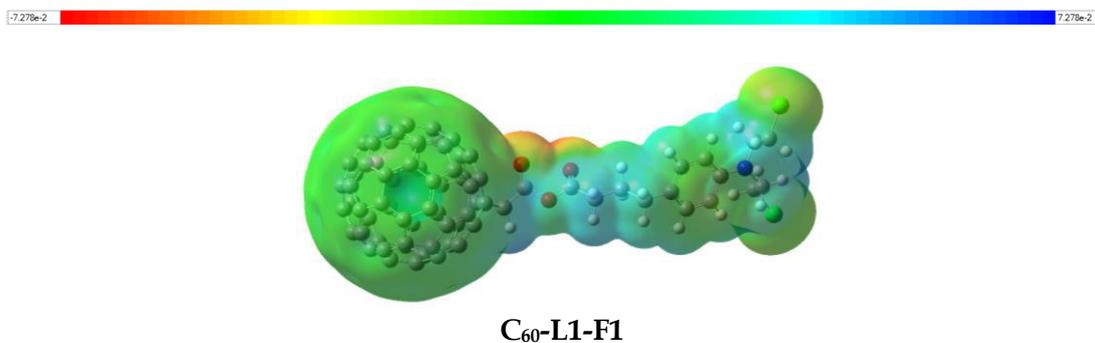


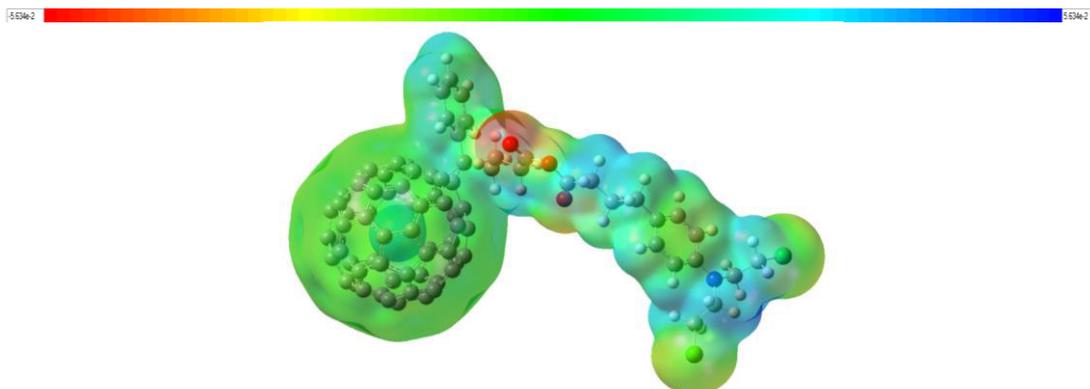
N-nitroso-N-metilurea (F4)

Figura 5.11. Mapa de potencial electrostático con una isosuperficie de 0.001 de los fármacos anticancerígenos libres Clorambucilo (F1), Carmustina (F2), 5-Fluorouracilo (F3) y N-nitroso-N-metilurea (F4) en solvente agua utilizando el modelo PCM.

5.6.3 Nanovectores

Enseguida se encuentran en las **Figuras 5.12 a 5.15**, los mapas de las SPE de los 16 nanovectores estudiados.

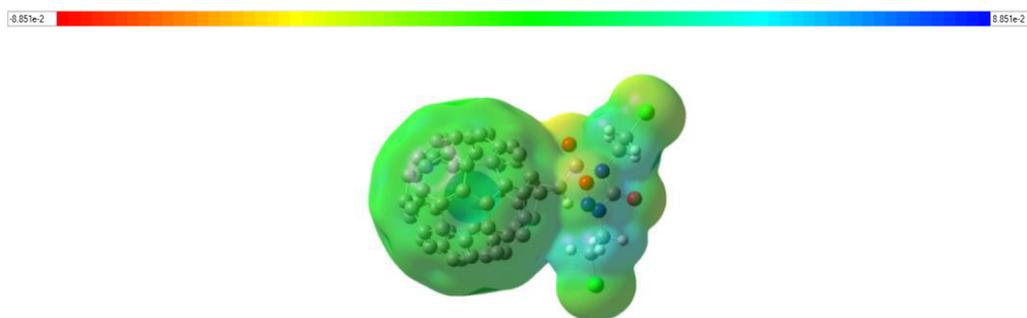




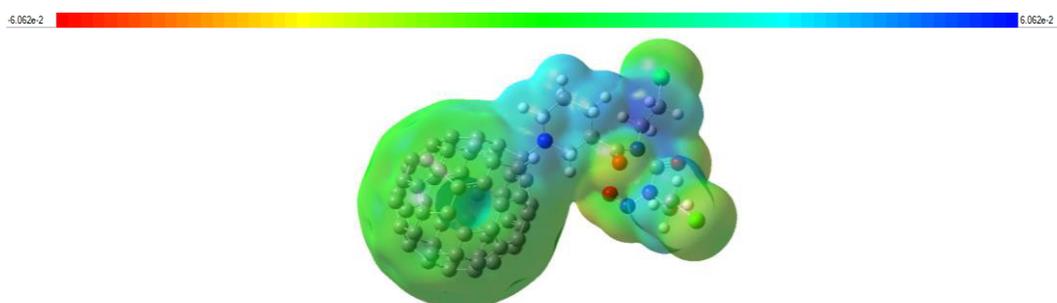
C₆₀-L4-F1

Figura 5.12. Mapa de potencial electrostático con una isosuperficie de 0.001 de los nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C₆₀-L1, C₆₀-L2, C₆₀-L3 y C₆₀-L4 con el fármaco clorambucilo (F1), en solvente agua utilizando el modelo PCM.

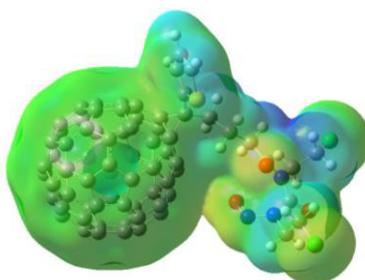
En los nanovectores diseñados con el fármaco **F1**, se pueden notar zonas neutras tanto en la porción esférica correspondiente al fullereno como en la parte correspondiente al ciclo de benceno y los átomos de cloro pertenecientes a **F1**. Los átomos de oxígeno nuevamente presentan zonas de abundancia de electrones en los cuatro nanovectores de la **Figura 5.12** y las zonas con deficiencia de densidad electrónica se encuentran distribuidas entre los átomos de nitrógeno y algunos carbonos en zonas periféricas a estos.



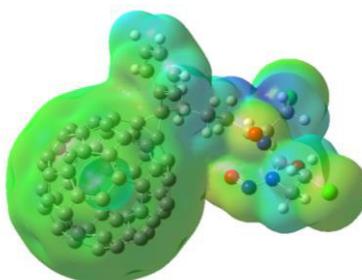
C₆₀-L1-F2



C₆₀-L2-F2



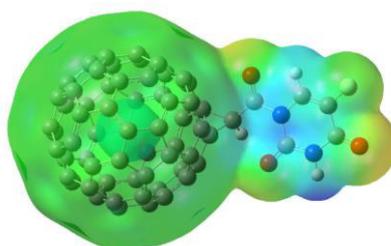
C₆₀-L3-F2



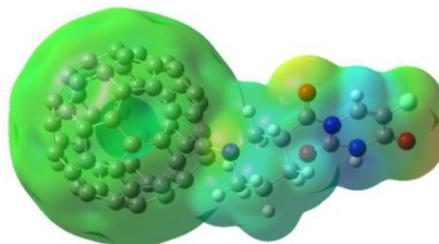
C₆₀-L4-F2

Figura 5.13. Mapa de potencial electrostático con una isosuperficie de 0.001 de los nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C₆₀-L1, C₆₀-L2, C₆₀-L3 y C₆₀-L4 con el fármaco carmustina (F2), en solvente agua utilizando el modelo PCM.

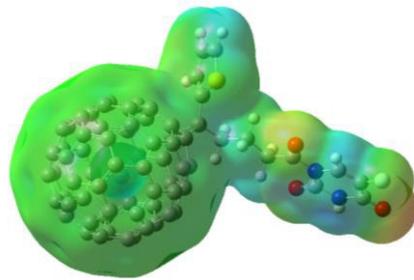
En los nanovectores diseñados con **F2**, la tendencia de distribución de densidad sobre los diferentes átomos se repite. Se puede observar particularmente que **C₆₀-L1-F2**, es el sistema que presenta más zonas neutras, es decir coloreadas en verde.



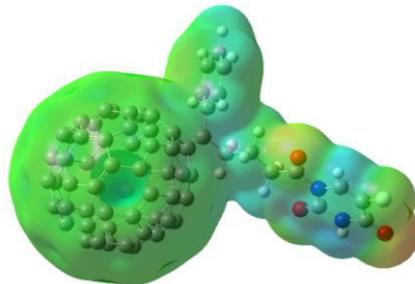
C₆₀-L1-F3



C₆₀-L2-F3



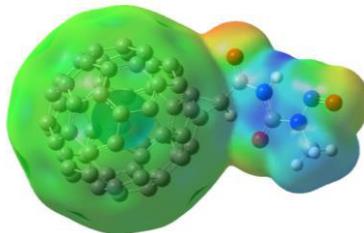
C₆₀-L3-F3



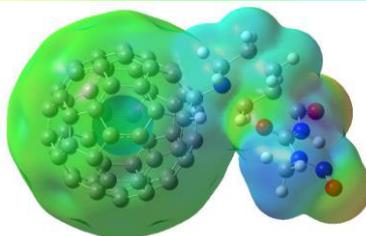
C₆₀-L4-F3

Figura 5.14. Mapa de potencial electrostático con una isosuperficie de 0.001 de los nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C₆₀-L1, C₆₀-L2, C₆₀-L3 y C₆₀-L4 con el fármaco 5-Fluorouracilo (F3), en solvente agua utilizando el modelo PCM.

La tendencia de distribución electrónica continua como en los casos anteriores en los nanovectores diseñados con **F3**, es decir mientras el área correspondiente al *linker* y el fármaco se nota polarizada, el área correspondiente al fullereno permanece mayormente neutra.



C₆₀-L1-F4



C₆₀-L2-F4

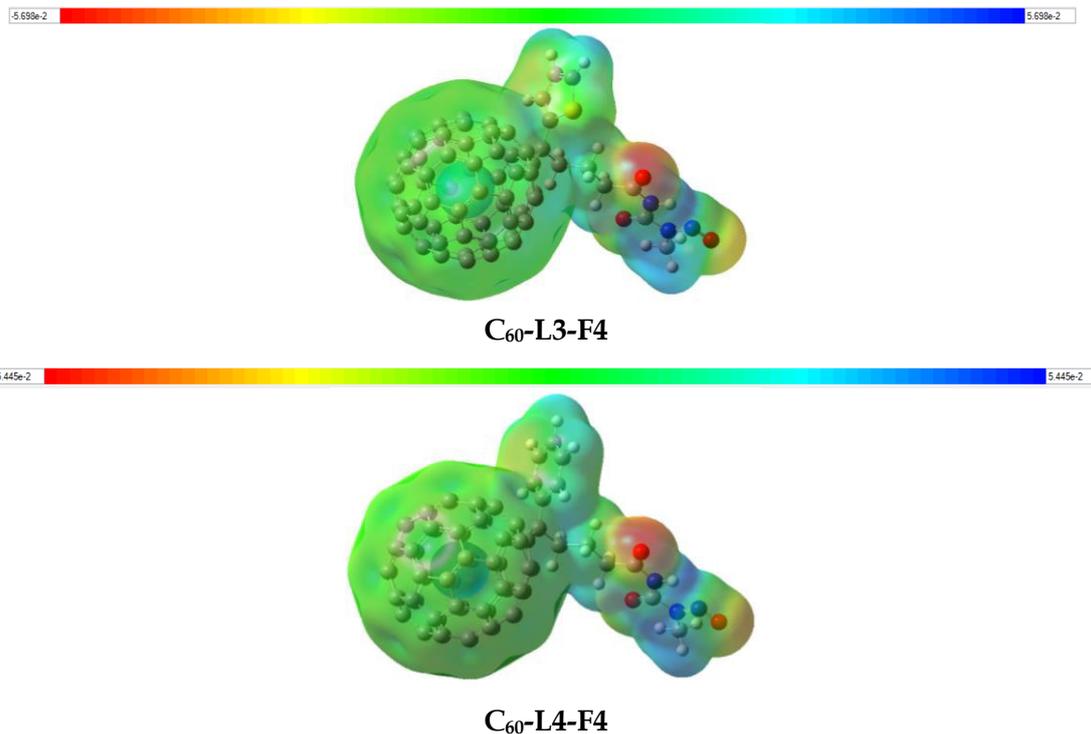


Figura 5.15. Mapa de potencial electrostático con una isosuperficie de 0.001 de los nanovectores diseñados a partir de los fullerenos C_{60} -L1, C_{60} -L2, C_{60} -L3 y C_{60} -L4 con el fármaco N-nitroso-N-metilurea (F4), en solvente agua utilizando el modelo PCM.

En los últimos cuatro nanovectores podemos observar al *linker* y el fármaco donde se distribuye de manera irregular la densidad electrónica, mientras la estructura del fullereno en su mayor parte permanece neutra.

En general para los 16 nanovectores se presenta esta distribución de la densidad electrónica, es decir en los sistemas diseñados existe una parte mayormente polarizada, correspondiente a la parte del sistema compuesta por el *linker* y el fármaco, lo que conlleva una mayor solubilidad de los nanovectores en fase acuosa. Sin embargo, el hecho de que los sistemas conserven la zona neutra de la esfera del fullereno casi sin modificación alguna incrementa la posibilidad de que los sistemas puedan cruzar la BHE, ya que ésta se sabe que, aunque es altamente selectiva permite el paso de sustancias lipofílicas, no cargadas.

5.7 Momento dipolar en fase gas, agua, etanol y n-octanol.

El momento dipolar se obtuvo tanto en fase gas como en fase solvente: agua, etanol y n-octanol, los cálculos de momento dipolar fueron realizados con la TFD a nivel M06-L/6-311G(d,p) y en los casos en los cuales hay solvente, se utilizó el modelo PCM. El momento dipolar es la suma vectorial de todos los momentos dipolares en los enlaces covalentes en una molécula, lo cual resulta de importancia para el estudio de los nanovectores ya que su trayectoria por el

medio biológico, varia, es decir existe en el cuerpo el medio acuoso, la sangre, y el medio lipofílico, la BHE y en general las membranas celulares.

Se analizará enseguida el valor de momento dipolar para todas las moléculas involucradas en este estudio: C_{60} , C_{60} -L1, C_{60} -L2, C_{60} -L3, C_{60} -L4, F1, F2, F3, F4 y C_{60} -L1-F1, C_{60} -L1-F2, C_{60} -L1-F3, C_{60} -L1-F4, C_{60} -L2-F1, C_{60} -L2-F2, C_{60} -L2-F3, C_{60} -L2-F4, C_{60} -L3-F1, C_{60} -L3-F2, C_{60} -L3-F3, C_{60} -L3-F4, C_{60} -L4-F1, C_{60} -L4-F2, C_{60} -L4-F3, C_{60} -L4-F4.

5.7.1 Fullerenos y fullerenos funcionalizados.

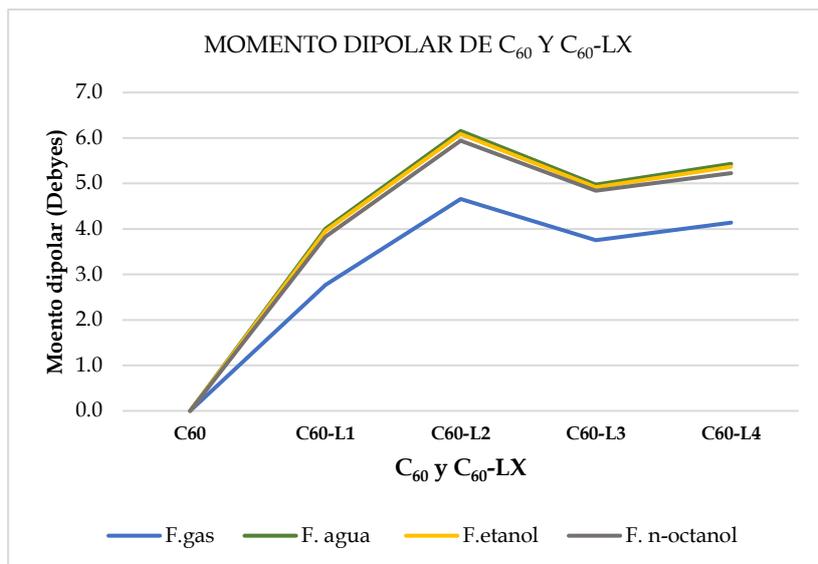
A continuación, se presentan los valores de momento dipolar para el fullereno C_{60} y los cuatro fullerenos funcionalizados, estudiados.

C_{60} y C_{60} -LX	F.gas (D)	F. agua (D)	F. etanol (D)	F. n-octanol (D)
C_{60}	0.00	0.00	0.00	0.00
C_{60} -L1	2.77	4.01	3.95	3.83
C_{60} -L2	4.66	6.15	6.09	5.94
C_{60} -L3	3.75	4.97	4.92	4.84
C_{60} -L4	4.14	5.43	5.37	5.23

Tabla 5.7. Momentos dipolares en fase gas, fase agua, fase etanol y fase n-octanol, de C_{60} y C_{60} -LX, donde X = L1, L2, L3 y L4. Las unidades son debyes (D).

En la **Tabla 5.7** se puede ver que el valor del momento dipolar del fullereno, como era de esperarse, es de 0.0D en cualquier fase, mientras que los C_{60} funcionalizados presentan un momento dipolar diferente a 0.0D. Se observa que la tendencia del valor de momento dipolar en forma creciente por fases es: F. gas, F. n-octanol, F. etanol y F. agua.

Se nota la relevancia del uso de solvente, es decir la diferencia de valores cuando el momento dipolar es obtenido de la fase gas y cuando es obtenido en fase solvente, también se nota la importancia del tipo de solvente que se utilice, siendo los que sobresalen más, agua y n-octanol, es decir los solventes en los cuales las moléculas presentan mayor y menor momento dipolar respectivamente. En todas las fases a C_{60} -L2 le corresponde el mayor valor de momento dipolar con 6.15D, y a C_{60} -L1 el menor valor con 4.01D.



Gráfica 5.1. Momentos dipolares en fase gas (azul), fase agua (verde), fase etanol (amarillo) y fase n-octanol (gris), de C₆₀, C₆₀-LX, donde X = L1, L2, L3 y L4.

Lo anteriormente descrito, se puede visualizar en la **Gráfica 5.1**.

Al observar las estructuras de C₆₀-L1, C₆₀-L2 descritas en la sección 5.1.1, se puede hacer referencia a los grupos funcionales en cada una, mientras C₆₀-L2 presenta una piperidina y un ácido carboxílico en su estructura, C₆₀-L1 solo presenta un ácido carboxílico, de esta forma C₆₀-L1 presenta menos enlaces covalentes, por lo tanto también es menos ramificada la distribución de esta densidad en la molécula, de esta forma se explica que el valor del momento dipolar de C₆₀-L1 sea el más pequeño mientras el de C₆₀-L2 es el más grande.

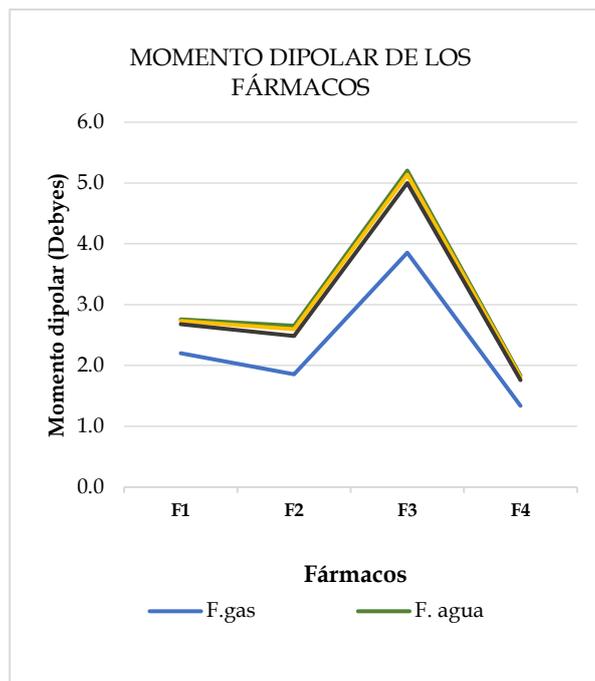
5.7.2 Fármacos libres.

Enseguida se muestra una tabla con los momentos dipolares de los fármacos libres estudiados.

Fármaco	F.gas (D)	F. agua (D)	F. etanol (D)	F. n-octanol (D)
F1	2.20	2.76	2.73	2.68
F2	1.85	2.65	2.60	2.49
F3	3.86	5.20	5.14	5.00
F4	1.34	1.83	1.81	1.76

Tabla 5.8. Momentos dipolares en fase gas, fase agua, fase etanol y fase n-octanol, de F1, F2, F3 y F4. Las unidades son debyes (D).

Se observa que, con respecto a la tabla anterior, **Tabla 5.7**, los fármacos libres mantienen la misma tendencia creciente de valor del momento dipolar con respecto a las diferentes fases y solventes de interés. Es decir, presentan un momento dipolar más bajo en fase gas, seguido de la fase solvente n-octanol, fase etanol y el momento dipolar mayor presentado es en fase solvente agua.



Grafica 5.2. Momentos dipolares en fase gas (azul), fase agua (verde), fase etanol (amarillo) y fase n-octanol (gris), de **F1, F2, F3 y F4**.

En la **Grafica 5.2** el fármaco **F3** sobresale de los otros con un valor de 5.20D en agua, seguido de **F2, F1** y con el menor valor **F4**.

5.7.3 Nanovectores.

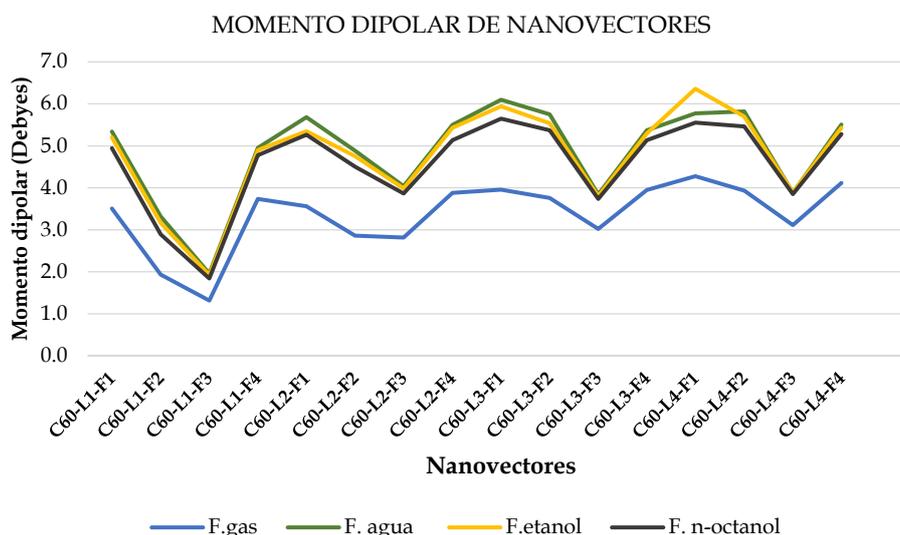
Ahora se analizará el valor de momento dipolar para los 16 nanovectores diseñados.

Nanovector	F.gas (D)	F. agua (D)	F. etanol (D)	F. n-octanol (D)
C₆₀-L1-F1	3.51	5.34	5.21	4.94
C₆₀-L1-F2	1.93	3.32	3.16	2.89
C₆₀-L1-F3	1.31	1.96	1.92	1.84
C₆₀-L1-F4	3.74	4.95	4.90	4.78
C₆₀-L2-F1	3.56	5.68	5.35	5.26
C₆₀-L2-F2	2.86	4.89	4.75	4.50
C₆₀-L2-F3	2.82	4.04	3.99	3.86
C₆₀-L2-F4	3.88	5.50	5.43	5.14
C₆₀-L3-F1	3.96	6.10	5.94	5.65
C₆₀-L3-F2	3.76	5.75	5.53	5.37
C₆₀-L3-F3	3.02	3.84	3.80	3.73
C₆₀-L3-F4	3.95	5.37	5.30	5.14
C₆₀-L4-F1	4.28	5.77	6.36	5.55
C₆₀-L4-F2	3.94	5.82	5.70	5.46
C₆₀-L4-F3	3.11	3.88	3.89	3.85
C₆₀-L4-F4	4.11	5.50	5.43	5.27

Tabla 5.9. Momentos dipolares en Fase gas, Fase agua, Fase etanol y Fase n-octanol, de los 16 nanovectores diseñados. Las unidades son debyes (D).

Para todos los nanovectores se conserva el hecho de que, el momento dipolar menor se obtiene en fase gas y también el hecho de que, el momento dipolar en solvente es menor en n-octanol, seguido de los valores en etanol y los valores mayores son presentados en agua, como se observó en los casos anteriores. Tal hecho puede ser consecuencia de los momentos dipolares de los solventes estudiados, ya que el agua presenta mayor valor de momento dipolar, seguido del etanol y por último el n-octanol.

En la **Tabla 5.9**, se observa que el menor valor de momento dipolar lo presentan los nanovectores que están diseñados con el fármaco **F3** y los de mayor momento dipolar prácticamente son los nanovectores diseñados con el fármaco **F1**. Este hecho puede ser atribuido a las características del fármaco y las interacciones de este con cada C₆₀ funcionalizado, así como el volumen del fármaco ya que mientras **F1** es el fármaco de mayor volumen, **F3** es de los de menor volumen.



Grafica 5.3. Momentos dipolares en Fase gas (azul), Fase agua (verde), Fase etanol (amarillo) y Fase n-octanol (gris), de los 16 nanovectores diseñados.

Podemos observar las tendencias de los valores de momento dipolar de los nanovectores en la **Gráfica 5.3**, la línea azul correspondiente a la fase gas que efectivamente se encuentra por debajo del resto de los valores mientras la línea verde correspondiente a la fase del solvente agua, que se encuentra aproximadamente por arriba del resto de valores.

En general, es relevante mencionar que los momentos dipolares obtenidos en agua y n-octanol para los 16 nanovectores diseñados, resultan interesantes de analizar ya que, las moléculas polares se disuelven en medios polares, por lo cual los momentos dipolares que se observan en agua de los nanovectores son relevantes, y vemos que estos valores de momento dipolar son los mayores

respecto a las otras fases estudiadas. Esto indica una posibilidad alta de que los nanovectores sean solubles en medio acuoso y por lo tanto en medio fisiológico.

Por otro lado, ya que es sabido que el potencial dipolar de las membranas está formado por los momentos dipolares asociados con las orientaciones de los grupos fosfolípidos carbonilo, y por las moléculas de agua unidas a los lípidos, el potencial dipolar es un factor determinante en el paso de especies a través de las membranas, se restringe especialmente el paso a especies altamente polares y cargadas. Los datos obtenidos del valor de momento dipolar en n-octanol para los 16 nanovectores diseñados son de gran importancia, ya que son los de menor valor, lo cual permitirá que los sistemas diseñados puedan interactuar con la BHE de forma lipofílica y conseguir así cruzar hacia el SNC.

5.8 Descriptores globales de la reactividad en agua.

En esta sección se muestra un análisis de los valores de los descriptores de la reactividad derivados de la TFD conceptual para el fullereno C₆₀, los fármacos libres y los nanovectores diseñados, este estudio se ha llevado a cabo tanto en fase solvente agua como en n-octanol. Con la finalidad de observar dichos valores en los medios de interés en el presente trabajo.

5.8.2 Fármacos libres.

Primeramente, se muestran los descriptores en fase agua de los fármacos libres.

Fármaco	<i>I</i>	<i>A</i>	η	<i>S</i>	χ	ω	ω^-	ω^+	μ	ΔE_{GAP}
F1	5.41	0.62	2.39	0.21	-3.02	1.90	3.71	0.69	3.02	3.95
F2	7.07	2.09	2.49	0.20	-4.58	4.22	6.82	2.24	4.58	3.01
F3	6.79	1.31	2.74	0.18	-4.05	2.99	5.36	1.31	4.05	4.12
F4	7.15	1.67	2.74	0.18	-4.41	3.55	6.09	1.68	4.41	3.12

Tabla 5.10. Descriptores globales de la reactividad de los cuatro fármacos estudiados, calculados a nivel de la TFD con M06L/6-311G(d,p) en fase solvente con el modelo PCM, modelados en agua. Las unidades son eV, a excepción de las unidades para la *S*, las cuales son eV⁻¹.

Se muestra en la **Tabla 5.10**, que **F2** presenta los valores de ω^- y ω^+ mayores, los cuales son 6.82eV y 2.24eV, respectivamente y estos coinciden con una alta *I* y *A*, así mismo estos valores concuerdan con la ΔE_{GAP} , ya que esta es la menor entre los cuatro fármacos. Por otro lado, F1 presenta los valores más bajos de potencia donadora y aceptora con 3.71eV y 0.69eV que a su vez también coinciden con su *I* y *A* como era de esperarse.

En general los cuatro fármacos estudiados presentan una dureza promedio de 2.59eV y una blandura promedio de 0.19eV. Estos valores corresponden a la fase agua, enseguida se muestra una tabla con los valores de los descriptores en fase n-octanol.

Fármacos	<i>I</i>	<i>A</i>	η	<i>S</i>	χ	ω	ω^-	ω^+	μ	ΔE_{GAP}
F1	5.58	0.47	2.55	0.20	-3.02	1.79	3.62	0.60	3.02	3.96
F2	7.26	1.93	2.66	0.19	-4.60	3.97	6.60	2.00	4.60	3.00
F3	7.01	1.13	2.94	0.17	-4.07	2.81	5.22	1.15	4.07	4.12
F4	7.28	1.52	2.88	0.17	-4.40	3.36	5.92	1.52	4.40	3.12

Tabla 5.11. Descriptores globales de la reactividad de los cuatro fármacos estudiados, calculados a nivel de la TFD con M06L/6-311G(d,p) en fase solvente con el modelo PCM, modelados en n-octanol. Las unidades son eV, a excepción de las unidades para la *S*, las cuales son eV⁻¹.

Los valores de los descriptores presentados en la **Tabla 5.11** han cambiado con respecto a la fase agua, **Tabla 5.10**, se nota un aumento de la η , mientras los valores de μ y χ , se mantienen casi igual y la ω , ω^- y ω^+ , disminuyen.

5.8.3 Nanovectores.

Ahora se presentan los valores de los descriptores de la reactividad para los nanovectores diseñados primeramente en fase agua y posteriormente en fase solvente n-octanol.

Nanovector	<i>I</i>	<i>A</i>	η	<i>S</i>	χ	ω	ω^-	ω^+	μ	ΔE_{GAP}
C ₆₀ -L1-F1	5.37	3.63	1.74	0.29	-4.50	5.81	13.98	9.48	4.50	1.12
C ₆₀ -L1-F2	5.73	3.68	2.05	0.24	-4.70	5.41	13.29	8.59	4.70	1.65
C ₆₀ -L1-F3	5.68	3.63	2.06	0.24	-4.66	5.27	12.99	8.33	4.66	1.64
C ₆₀ -L1-F4	5.67	3.61	1.03	0.49	-4.64	10.47	12.92	8.28	4.64	1.64
C ₆₀ -L2-F1	5.42	3.59	1.83	0.27	-4.50	5.54	13.45	8.95	4.50	1.15
C ₆₀ -L2-F2	5.61	3.59	2.02	0.25	-4.60	5.23	12.88	8.29	4.60	1.61
C ₆₀ -L2-F3	5.61	3.58	2.02	0.25	-4.60	5.22	12.87	8.27	4.60	1.61
C ₆₀ -L2-F4	5.60	3.58	1.01	0.49	-4.59	10.43	12.86	8.26	4.59	1.61
C ₆₀ -L3-F1	5.42	3.59	1.82	0.27	-4.51	5.57	13.51	9.01	4.51	1.15
C ₆₀ -L3-F2	5.63	3.60	2.04	0.25	-4.61	5.57	12.89	8.27	4.61	1.63
C ₆₀ -L3-F3	5.63	3.60	2.04	0.25	-4.61	5.23	12.89	8.27	4.61	1.63
C ₆₀ -L3-F4	5.63	3.59	1.02	0.49	-4.61	10.45	12.88	8.27	4.61	1.63
C ₆₀ -L4-F1	5.41	3.59	1.83	0.27	-4.50	5.54	13.45	8.95	4.50	1.15
C ₆₀ -L4-F2	5.62	3.59	2.04	0.25	-4.60	5.20	12.83	8.23	4.60	1.63
C ₆₀ -L4-F3	5.63	3.59	2.04	0.25	-4.61	5.20	12.84	8.23	4.61	1.63
C ₆₀ -L4-F4	5.63	3.59	1.02	0.49	-4.61	10.40	12.83	8.23	4.61	1.63

Tabla 5.12. Descriptores globales de la reactividad de los 16 nanovectores diseñados, calculados a nivel de la TFD con M06L/6-311G(d,p) en fase solvente con el modelo PCM, modelados en agua. Las unidades son eV, a excepción de las unidades para la *S*, las cuales son eV⁻¹.

Para los descriptores en fase solvente agua, se nota que para los 16 nanovectores diseñados, tienden a un mismo valor como se puede notar en la **Tabla 5.12** a excepción de la electrofilicidad en los nanovectores con **F4** y la diferencia de energía entre los orbitales frontera, ΔE_{GAP} , para los nanovectores con **F1**, lo cual indica que los cuatro nanovectores con **F4** presentarán una mayor estabilización ante una modificación de su densidad electrónica, mientras los nanovectores con **F1**, presentarán una mayor reactividad según su valor de ΔE_{GAP} .

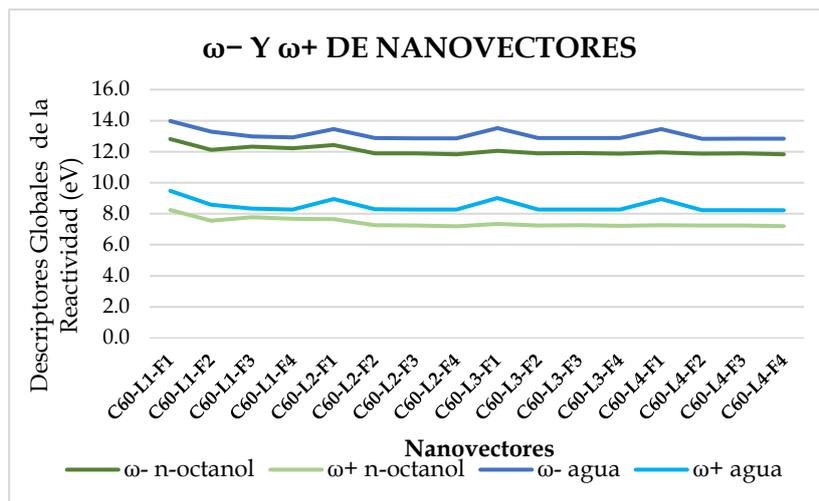
Con respecto al valor de los descriptores de los fármacos libres en fase agua y los descriptores de los nanovectores también en fase agua, se nota un aumento notorio en la ω^- y ω^+ , mientras los fármacos presentan un valor promedio de ω^- de 5.49eV los nanovectores presentan un valor promedio de 13.09eV y respecto a la ω^+ , a los fármacos libres les corresponde un valor promedio de 1.48eV y a los nanovectores un valor promedio de 8.49eV con ello se hace notar el aumento de la capacidad de los nanovectores para aceptar o donar carga mientras los fármacos libres aunque si presentan esta capacidad, la presentan en un menor porcentaje. Con lo cual se puede observar que el diseño de los nanovectores aumenta la capacidad de los fármacos para adquirir o donar carga, lo que es muy interesante para la modificación de sus interacciones biológicas.

Ahora con respecto a los descriptores obtenidos en fase solvente n-octanol.

Nanovector	<i>I</i>	<i>A</i>	η	<i>S</i>	χ	ω	ω^-	ω^+	μ	ΔE_{GAP}
C ₆₀ -L1-F1	5.58	3.57	1.01	0.50	-4.57	10.40	12.82	8.24	4.57	1.09
C ₆₀ -L1-F2	5.62	3.48	1.07	0.47	-4.55	9.70	12.11	7.56	4.55	1.65
C ₆₀ -L1-F3	5.59	3.50	1.04	0.48	-4.55	9.92	12.32	7.78	4.55	1.64
C ₆₀ -L1-F4	5.59	3.49	1.05	0.48	-4.54	9.82	12.22	7.68	4.54	1.64
C ₆₀ -L2-F1	5.92	3.62	1.15	0.43	-4.77	9.89	12.42	7.65	4.77	1.12
C ₆₀ -L2-F2	5.77	3.50	1.14	0.44	-4.64	9.43	11.89	7.25	4.64	1.61
C ₆₀ -L2-F3	5.80	3.50	1.15	0.44	-4.65	9.42	11.89	7.24	4.65	1.61
C ₆₀ -L2-F4	5.79	3.49	1.15	0.44	-4.64	9.37	11.83	7.19	4.64	1.61
C ₆₀ -L3-F1	5.87	3.55	1.16	0.43	-4.71	9.55	12.05	7.34	4.71	1.12
C ₆₀ -L3-F2	5.78	3.50	1.14	0.44	-4.64	9.42	11.88	7.25	4.64	1.63
C ₆₀ -L3-F3	5.80	3.51	1.15	0.44	-4.65	9.45	11.92	7.27	4.65	1.63
C ₆₀ -L3-F4	5.80	3.50	1.15	0.44	-4.65	9.40	11.87	7.22	4.65	1.63
C ₆₀ -L4-F1	5.84	3.52	1.16	0.43	-4.68	9.46	11.95	7.26	4.68	1.14
C ₆₀ -L4-F2	5.77	3.49	1.14	0.44	-4.63	9.42	11.88	7.24	4.63	1.63
C ₆₀ -L4-F3	5.79	3.50	1.15	0.44	-4.65	9.42	11.89	7.24	4.65	1.63
C ₆₀ -L4-F4	5.79	3.49	1.15	0.44	-4.64	9.38	11.84	7.20	4.64	1.63

Tabla 5.13. Descriptores globales de la reactividad de los 16 nanovectores diseñados, calculados a nivel de la TFD con M06L/6-311G(d,p) en fase solvente con el modelo PCM, modelados en n-octanol. Las unidades son eV, a excepción de las unidades para la *S*, las cuales son eV⁻¹.

Al comparar la **Tabla 5.12** y **5.13**, podemos observar que en solvente n-octanol la *S* y la ω han aumentado, mientras la η , así como la ω^- y ω^+ , disminuyen en un ligero porcentaje.



Grafica 5. 4. Potencia donadora y aceptora, ω^- y ω^+ , de nanovectores en fase agua, (azul oscuro y azul claro) y n-octanol, (verde oscuro y verde claro).

En la **Grafica 5.4** podemos observar el cambio de la potencia donadora y aceptora de la fase agua, (gama de azules) a la fase n-octanol (gama de verdes). Este hecho puede contribuir con el objetivo estudiado, es decir cruzar la barrera hematoencefálica.

Además, los nanovectores al estar en contacto con la fase n-octanol se vuelven más blandos y electrofílicos, es decir tienen mayor capacidad de interactuar con el medio y a la vez de estabilizarse frente a cambios en su densidad electrónica.

5.9 Modelo QSAR.

En la sección de resultados final, se presenta el modelo QSAR obtenido junto con los datos estadísticos del modelo y los cálculos que se realizaron con dicho modelo.

La actividad biológica estudiada es la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y como se mencionó en la sección 2.7.2.1, la ecuación para el estudio de dicha actividad de un fármaco es:

$$\text{Log} BB = \text{Log} \left(\frac{[C_{Brain}]}{[C_{Blood}]} \right) \quad (5.1)$$

Donde se representa la distribución de la concentración de fármaco entre dos medios, es decir, es el logaritmo de la relación existente entre la concentración de fármaco en el cerebro, (*brain*) sobre la concentración de fármaco en la sangre (*blood*).

En este caso la ecuación lineal del modelo QSAR obtenido fue:

$$\text{Log} BB = -0.7374 + 21.4196 A + 0.0104 B + 37.5795 C + 0.1840 D \quad (5.2)$$

En la **Tabla 5.14** se puede observar el tipo de descriptores **A**, **B**, **C** y **D**.

Símbolo	Tipo de descriptor	Nombre
A	De cargas atómicas	Carga Máxima, Zefirov
B	Topológico	Índex Randic (Orden 3)
C	De cargas atómicas	Energía de interacción de la carga puntal Zefirov, de todos los enlaces
D	Área de superficie parcial cargada	WNSASA-3, Zefirov

Tabla 5.14 Descriptores moleculares correlacionados en la ecuación lineal del modelo QSAR obtenido haciendo uso del programa de cálculo CODESSA 3 PRO y un conjunto de prueba de 50 moléculas.

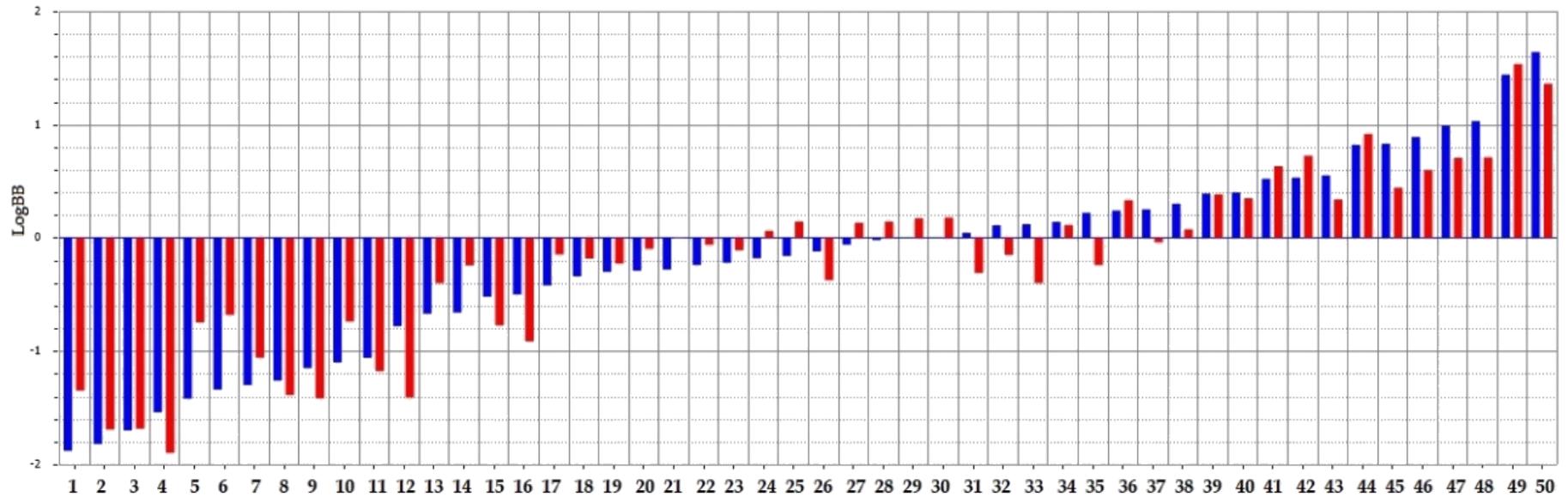
Los datos estadísticos del modelo de *LogBB* obtenido mediante la aplicación del método estadístico llamado “la mejor regresión multilineal”, BMLR al conjunto prueba, fueron:

R^2	<i>s</i>	<i>F</i>
0.87	0.10	73.59

Tabla 5.15. Datos estadísticos resultantes para el modelo *LogBB*.

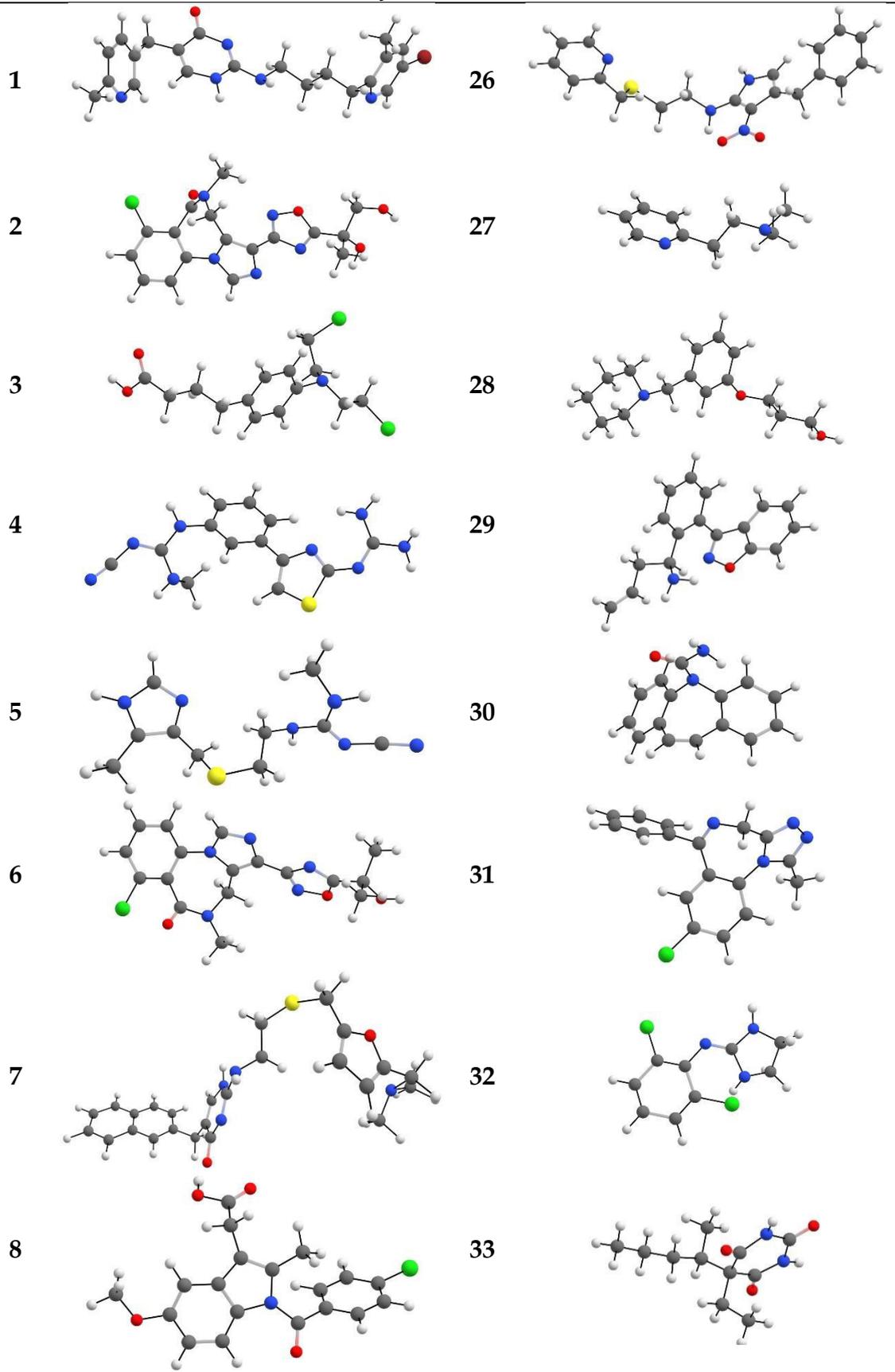
Como se muestra en la **Tabla 5.15**, R^2 presenta un valor de 0.87, lo cual indica que nuestro modelo presenta una buena correlación, ya que mientras este valor se acerque más a 1 el modelo será mejor. La desviación estándar *s* es pequeña y el coeficiente de Fischer *F* es grande, 73.59. Lo cual es una validación estadística adecuada del modelo obtenido.

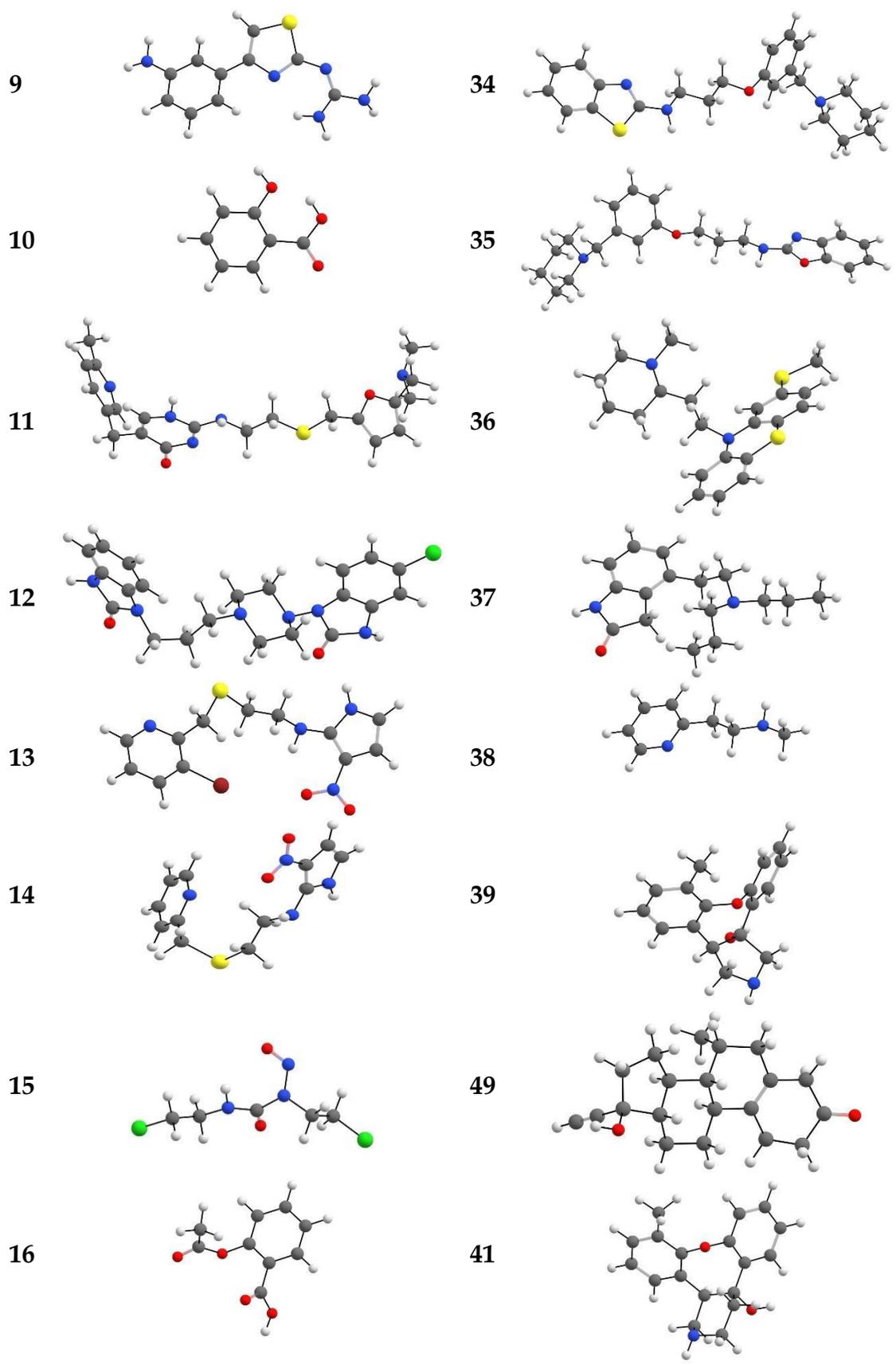
EL conjunto de prueba que se ha utilizado como se mencionó en la sección **4.12** es un conjunto de 50 moléculas, **Tabla 5.16**, cuyos valores de *LogBB*, tanto calculados con la **Ecuación (5.2)** como experimentales se muestran a continuación.



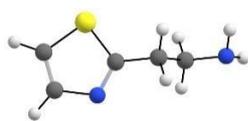
Grafica 5.5. Valores de $LogBB$ de las 50 moléculas correspondientes al conjunto prueba, los valores experimentales se muestran en color azul y los calculados con la **Ecuación (5.2)** en color rojo.

CONJUNTO PRUEBA





17



18



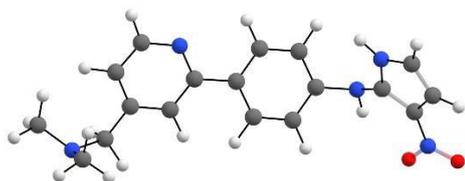
19



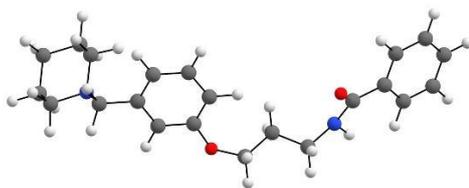
20



21



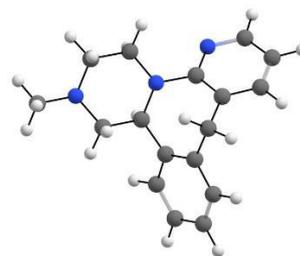
22



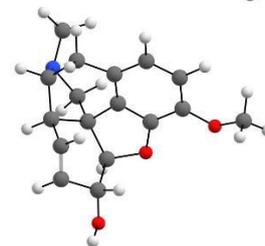
23



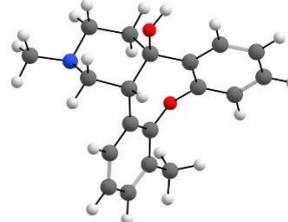
42



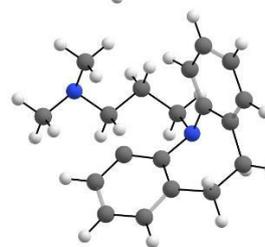
43



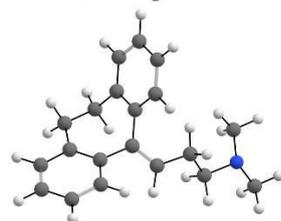
44



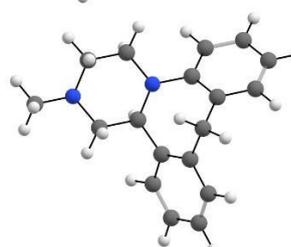
45



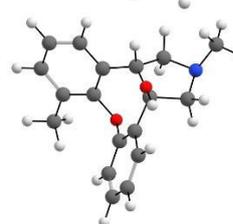
46



47



48



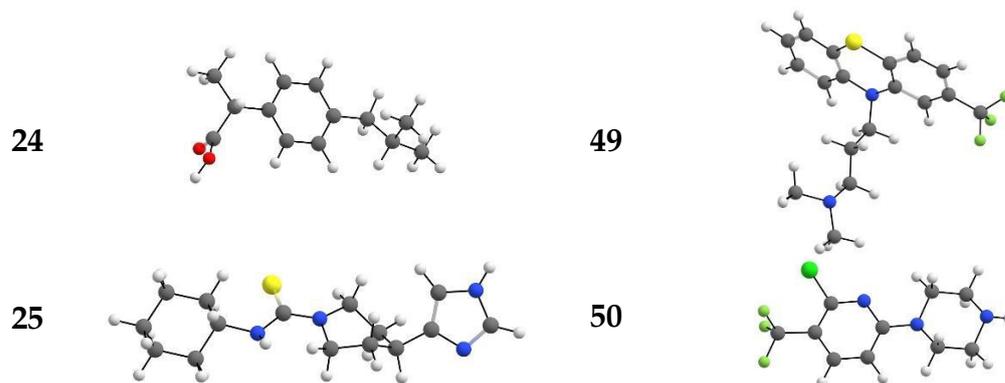


Tabla 5.16. Estructuras de las 50 moléculas del conjunto prueba, relajadas a nivel semiempírico, con el método PM3.

Como se puede ver en la **Gráfica 5.5** en los valores experimentales de $LogBB$ de las moléculas estudiadas en el conjunto prueba y los valores calculados, existe una tendencia, dicha tendencia es la siguiente, mientras los valores de $LogBB$, tienden a ser más pequeños o más grandes, es decir, más positivos o negativos, tanto los datos experimentales y calculados tienden a ser semejantes, mientras los datos que se encuentran cerca del cero o a sus alrededores tienden a alejarse uno del otro. Esto demuestra que los datos de validación obtenidos son valores aceptables estadísticamente.

CONJUNTO VALIDACIÓN

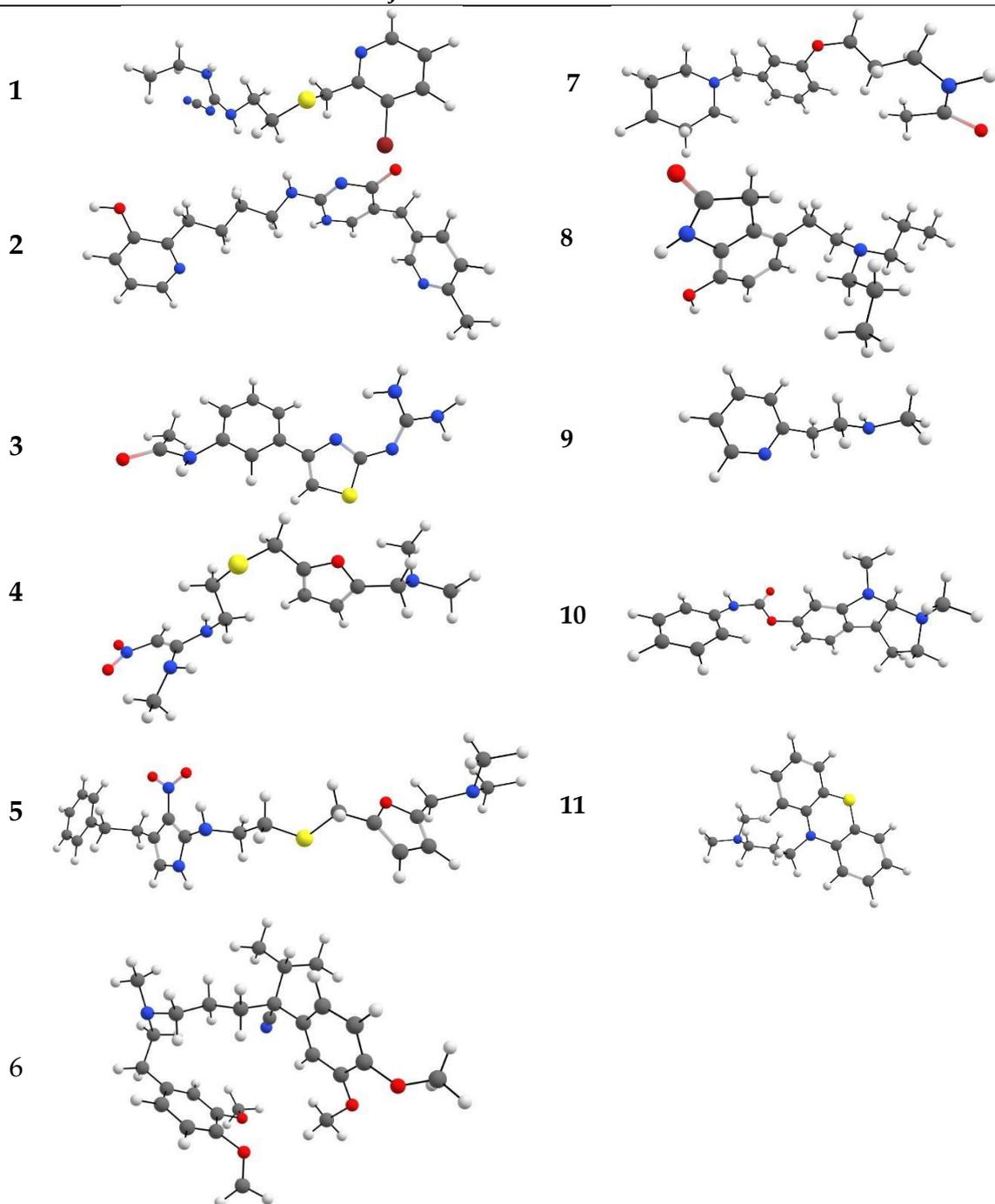
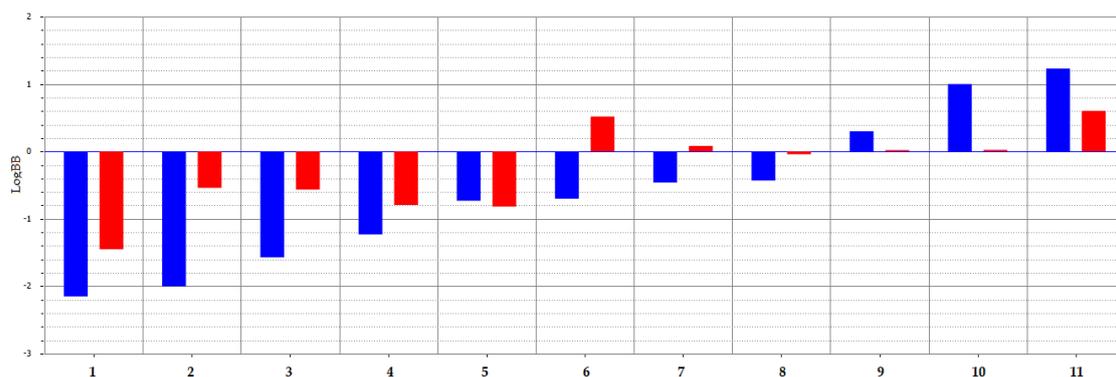


Tabla 5.17. Estructuras de las 11 moléculas correspondientes al conjunto de validación, relajadas a nivel semiempírico, con el método PM3.

Por otro lado, el modelo se probó también con el conjunto de validación, es decir un conjunto de 11 moléculas, **Tabla 5.17**, no participantes en la creación del modelo QSAR obtenido. Los dos conjuntos se formaron aleatoriamente del conjunto inicial. Los valores de dichas moléculas los podemos observar en la **Gráfica 5.6**.



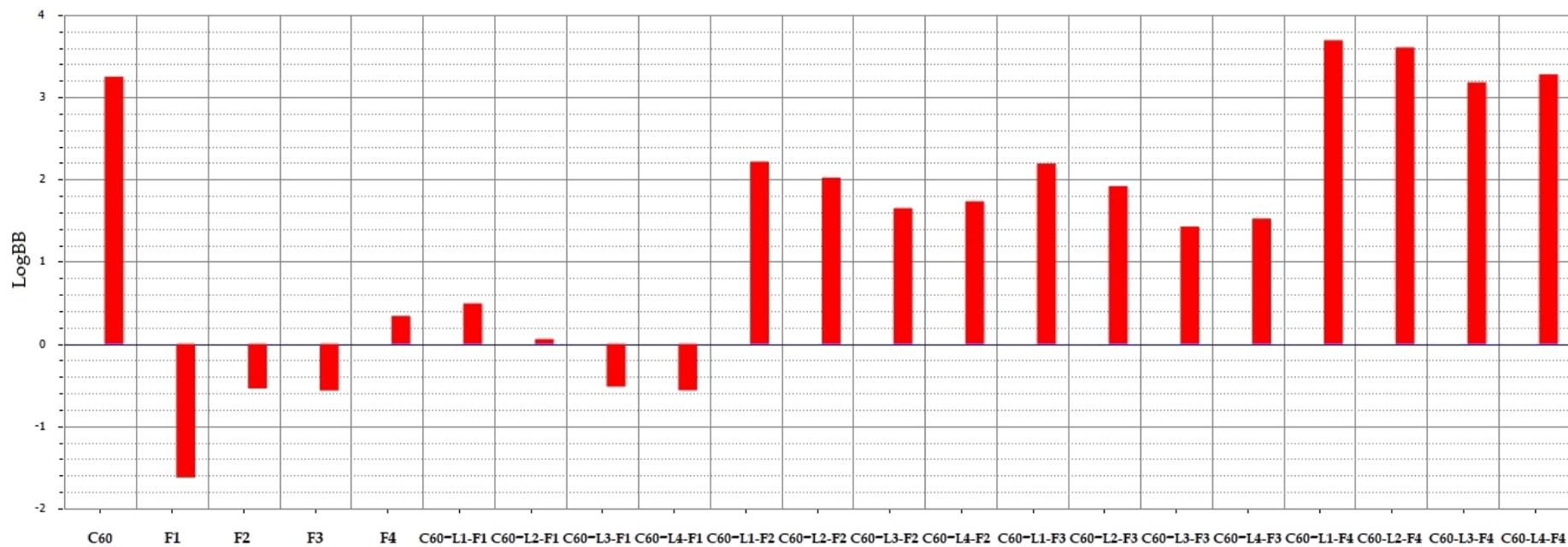
Grafica 5.6. Valores de $LogBB$ de las 11 moléculas correspondientes al conjunto de validación, los valores experimentales se muestran en color azul y los calculados con la **Ecuación (5.2)** en color rojo.

Como se puede notar en el conjunto de validación, los valores de $LogBB$ calculados y experimentales en la mayoría de los casos no coinciden con exactitud, sin embargo, en la mayoría se cumple el cálculo de la propiedad estudiada de manera cualitativamente satisfactoria, es decir los datos calculados se aproximan a los experimentales al menos en un 50% y en las tendencias. Esto se puede atribuir a la forma en que se midieron los datos experimentales y a que no todos los datos fueron medidos por un mismo grupo de investigación.⁵

Así mismo, haciendo uso del modelo QSAR obtenido como se había planteado, se calcularon los valores de $LogBB$ para: el fullereno C_{60} , los fármacos **F1**, **F2**, **F3** y **F4** y los nanovectores C_{60} -L1-F1, C_{60} -L2-F1, C_{60} -L3-F1, C_{60} -L4-F1, C_{60} -L1-F2, C_{60} -L2-F2, C_{60} -L3-F2, C_{60} -L4-F2, C_{60} -L1-F3, C_{60} -L2-F3, C_{60} -L3-F3, C_{60} -L4-F3 y C_{60} -L1-F4, C_{60} -L2-F4, C_{60} -L3-F4, C_{60} -L4-F4. La **Grafica 5.7** muestra los valores obtenidos, mismos que se encuentra en la **Tabla 5.16**.

Se nota que el C_{60} se encuentra entre las moléculas estudiadas con mayor valor de $LogBB$, como era de esperarse, según la literatura y tiene alta capacidad de penetración de la BHE. Los fármacos libres por otro lado son los que resultan con un valor de $LogBB$, más negativo a excepción de **F4**. Es decir, **F1** presenta -1.62, **F2** -0.54, **F3** -0.57 **F4** 0.34, (el $LogBB$ experimental para los fármacos **F1** y **F2** son -1.7 y -0.52 respectivamente, con lo cual se puede ver la adecuada capacidad de predicción del modelo obtenido).

Por otro lado, los nanovectores diseñados con **F4**, son los que resultan con un mayor valor de $LogBB$ inclusive mayor o casi igual que C_{60} , seguidos por los nanovectores diseñados con **F2**, **F3** y al final se encuentran los valores de los nanovectores diseñados con **F1**.



Grafica 5.7. Valores de *LogBB* calculados con la **Ecuación (5.2)** de las moléculas de interés diseñadas en este trabajo.

Moléculas de interés	LogBB
C ₆₀	3.25
F1	-1.62
F2	-0.54
F3	-0.56
F4	0.34
C ₆₀ -L1-F1	0.49
C ₆₀ -L1-F2	0.06
C ₆₀ -L1-F3	-0.52
C ₆₀ -L1-F4	-0.56
C ₆₀ -L2-F1	2.22
C ₆₀ -L2-F2	2.02
C ₆₀ -L2-F3	1.65
C ₆₀ -L2-F4	1.73
C ₆₀ -L3-F1	2.19
C ₆₀ -L3-F2	1.92
C ₆₀ -L3-F3	1.43
C ₆₀ -L3-F4	1.52
C ₆₀ -L4-F1	3.69
C ₆₀ -L4-F2	3.60
C ₆₀ -L4-F3	3.18
C ₆₀ -L4-F4	3.28

Tabla 5.18. Valores obtenidos de *LogBB* de las moléculas de interés estudiadas mediante el modelo QSAR (5.2) obtenido.

Aunque los nanovectores diseñados con **F1**, presentan el menor valor de *LogBB*, respecto al conjunto de los 16 nanovectores, se puede resaltar el incremento de este valor, al hacer la comparación del fármaco libre **F1** respecto a los cuatro nanovectores diseñados con este fármaco.

De esta forma los datos obtenidos señalan que mientras los fármacos libres presentan menos permeabilidad de la BHE los nanovectores formados con esos fármacos aumentan esta capacidad en los 16 casos analizados.

También se puede observar que los descriptores que conforman el modelo obtenido son dos de cargas atómicas, carga máxima zefirov y energía de interacción de carga puntal de zefirov de todos los enlaces, lo cual denota la importancia de la distribución de la densidad electrónica en la molécula como también se observó con el momento dipolar de las especies y las superficies de potencial electrostático. Por otro lado, el descriptor topológico llamado índice Randic (orden 3), hace referencia a la ramificación de la molécula, y el descriptor perteneciente a los del área de superficie parcial cargada, WNSASA-3, Zefirov, también tiene que ver con la distribución de la densidad electrónica en las diferentes áreas de interés en la molécula. Los cuatro descriptores estudiados se relacionan de manera positiva en la ecuación lineal, es decir, contribuyen de forma positiva al valor de *LogBB* de las especies.

Referencias

1. David, W. I.; Ibberson, R. M.; Matthewman, J. C.; Prassides, K.; Dennis, T. J. S.; Hare, J. P.; Kroto, H. W.; Taylor, R.; Walton, D. R., Crystal structure and bonding of ordered C₆₀. *Nature* **1991**, 353 (6340), 147.
2. Antonio, R. A. C. Química Orgánica, FQ, UNAM. <http://organica1.org/qo1/ok/acidos2/acido16.htm>.
3. Wong-Ekkabut, J.; Baoukina, S.; Triampo, W.; Tang, I.-M.; Tieleman, D. P.; Monticelli, L., Computer simulation study of fullerene translocation through lipid membranes. *Nature Nanotechnology* **2008**, 3 (6), 363.
4. Biesalski, H. K.; Grimm, P., *Nutrición: texto y atlas*. Ed. Médica Panamericana: 2007.
5. Ooms, F.; Weber, P.; Carrupt, P.-A.; Testa, B., A simple model to predict blood-brain barrier permeation from 3D molecular fields. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease* **2002**, 1587 (2-3), 118-125.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

6.1 Conclusiones

6.1.1 Conclusiones generales

Mediante la formación de 16 sistemas nanoestructurados o nanovectores consistentes cada uno en un fullereno funcionalizado y un fármaco unido a este, se ha mejorado la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica de los cuatro fármacos libres estudiados. Lo anterior se puede afirmar mediante datos cuánticos como el cálculo de descriptores de la reactividad globales, la energía libre de Gibbs de formación y la de solvatación y el análisis del momento dipolar, así como también mediante métodos quimioinformáticos como lo son los datos derivados del modelo QSAR, para el cálculo de $LogBB$.

6.1.2 Conclusiones específicas

Se presenta una lista de conclusiones puntuales derivadas de los resultados presentados en el capítulo V.

- Al analizar los fármacos libres F1, F2, F3 y F4 se encontró que estos presentan menor blandura que los nanovectores diseñados. Así como también la electrofilicidad, potencia donadora y potencia aceptora presentan valores menores en los fármacos libres en comparación con los nanovectores. Por lo anterior, se denota mayor capacidad en los nanovectores para interactuar en diferentes medios, como lo es, el medio fisiológico y el medio lipofílico correspondiente a la barrera hematoencefálica. La nanoestructuración incide en mejorar su capacidad para la transferencia de carga.
- Los momentos dipolares presentados por los 16 nanovectores favorecen su disolución en medios polares como lo es el agua. Los resultados de momento dipolar concuerdan con las superficies de potencial electrostático calculadas.
- La energía libre de Gibbs de solvatación en agua, la cual es negativa en todos los casos y la cual también coincide con la conclusión anterior, conduce a la posibilidad de que los nanovectores sean solubles en agua y por lo tanto puedan circular en el medio fisiológico sin acumularse y eso disminuye su toxicidad.

- Por otro lado, la energía libre de Gibbs de solvatación en n-octanol, que también resulta ser negativa, representa la parte lipofílica de los sistemas diseñados con lo que se denota la capacidad de los nanovectores de atravesar la barrera hematoencefálica, lipofílica por naturaleza. Destacan los valores de energía de solvatación en n-octanol de los sistemas con F1.
- El modelo QSAR concuerda y corrobora junto con la energía de solvatación en agua y en n-octanol, el momento dipolar, los descriptores de la reactividad global como la potencia donadora y la potencia aceptora; la capacidad de los sistemas diseñados para atravesar la barrera hematoencefálica, ya que todos los valores obtenidos de *LogBB* para los nanovectores son valores positivos o cercanos a cero.
- Se ha demostrado que el valor de *LogBB* aumenta al ensamblar los fármacos a los fullerenos funcionalizados, particularmente en el caso de los fármacos F2, F3 y mayormente en el caso de F4.

6.2 Perspectivas

- Calcular otras propiedades relevantes como el $\text{Log}P$, coeficiente de reparto, para los nanovectores y fármacos libres que también son indicadores de su paso a través de la barrera hematoencefálica.
- Hacer un modelo de la BHE para estudiar dinámicamente el proceso de atravesarla, pues hasta ahora solo podemos decir si la nanoestructuración de los fármacos libres modifica sus propiedades electrónicas y estructurales en un sentido favorable a atravesar la BHE, pero aún no sabemos los detalles del ¿Cómo lo hace?
- Conseguir colaboración con grupos experimentales que puedan llevar a cabo la síntesis y las pruebas biológicas que este trabajo ha podido predecir para nuestros nanovectores diseñados *in silico*.