



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

**“ESTUDIO TEÓRICO DE REACCIONES FAVORECIDAS POR COMPLEJOS DE
Cu(II) TERNARIO”**

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Q. LILLIAN GISELA RAMÍREZ PALMA

DR. FERNANDO CORTÉS GUZMÁN

INSTITUTO DE QUÍMICA, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, JUNIO DE 2016.

El presente trabajo fue realizado en el departamento de Fisicoquímica del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Los resultados de esta tesis han sido presentados en su totalidad o parcialidad en los simposios y congresos siguientes:

- Presentación en modalidad Cartel del trabajo titulado “Formación de un enlace S-S mediada por un complejo de Cu(II)” en el Simposio interno del Centro de Investigación en Química Sustentable 2014, el 10 y 11 de Noviembre de 2014, Toluca, Estado de México.

- Presentación en modalidad Cartel del trabajo titulado “Formación de un enlace S-S mediada por un complejo de Cu(II)” en el Simposio interno del Instituto de Química, del 8 al 10 de junio de 2015, Ciudad de México.

- Presentación en modalidad Oral del trabajo titulado “Formación de un enlace S-S mediada por un complejo de Cu(II)” en el 50° Congreso Mexicano de Química y 34° Congreso Nacional de Educación Química, del 7 al 10 de octubre de 2015, Santiago de Querétaro, Querétaro, México.

- Presentación en modalidad Cartel del trabajo titulado “Formación de un enlace S-S mediada por un complejo de Cu(II)” en el Simposio de Química Inorgánica Medicinal 2015, Avances y Perspectivas, del 12 al 14 de noviembre de 2015, Taxco, Guerrero, México.

- Presentación en modalidad Cartel del trabajo titulado “Formación de un enlace S-S mediada por un complejo de Cu(II)” en el Simposio interno del Centro de Investigación en Química Sustentable, el 22 de enero de 2016, Toluca, Estado de México. Obteniendo uno de los primeros lugares en el concurso de carteles.

- Presentación en modalidad Cartel del trabajo titulado “Theoretical study of reactions mediated by ternary Cu(II) complexes” en el 75° Aniversario del Instituto de Química, UNAM, del 5 al 8 de abril de 2016, Ciudad de México.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Fernando Cortés Guzmán, por el gran apoyo brindado y su asesoría a lo largo de la realización de este trabajo.

Al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de estudios de Maestría, número de becario: 308338, y el financiamiento del proyecto 220392.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) en su Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la Universidad Nacional Autónoma de México por el financiamiento al proyecto IN208113.

A la Dirección General de Cómputo y de Tecnologías de Información y Comunicación de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGTIC-UNAM) por el tiempo de cómputo y el apoyo a los proyectos SC15-1-IG-36 y SC16-1-IG-55.

A los técnicos académicos: María Magdalena Aguilar Araiza, Ing. Gladys Edith Cortés Romero y Mat. José David Vázquez Cuevas del Instituto de Química, UNAM, y la L. I. A. María Citlalit Martínez Soto del Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable UAEMéx-UNAM; por la administración de los servicios de cómputo.

A mis sinodales: Dra. Lena Ruiz Azuara, Dr. Juan Raúl Álvarez Idaboy, Dr. Iván García Orozco, Dr. Joaquín Barroso Flores y Dr. José Enrique Barquera Lozada, por sus valiosos comentarios a este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio, por el apoyo y los buenos momentos.

*A mi querida familia
y mis invaluables amigos.*

ÍNDICE

Introducción	11
I. Objetivos	12
II. Hipótesis	13
III. Antecedentes	
3.1. Cáncer	14
3.2. Compuestos metálicos como agentes contra el cáncer	15
3.2.1. Compuestos de platino	16
3.2.2. Complejos con otros metales	17
3.3. Cobre y Cáncer	17
3.3.1. Complejos de cobre con tiosemicarbazonas	19
3.3.2. Complejos de cobre con Bases de Schiff conjugadas	20
3.3.3. Complejos de cobre con ligantes imidazoles, benzimidazoles, pirazoles y triazoles	20
3.3.4. Complejos de cobre con ligantes fosfina	20
3.3.5. Complejos de cobre con ligantes N-aromáticos aceptores π (fenantrolina y bipyridina)	21
3.4. Casiopeínas®	23
3.5. Actividad Nucleasa del cobre	26
3.5.1. Actividad nucleasa oxidativa	26
3.5.2. Actividad nucleasa oxidativa en Casiopeínas®	27
3.5.3. Actividad nucleasa hidrolítica	32
3.5.4. Actividad nucleasa hidrolítica en Casiopeínas®: Sitio de reconocimiento molecular	36
3.6. Reactividad de complejos con metales de transición	40
IV. Metodología	
4.1. Reacción de formación de enlace disulfuro	43
4.2. Reacción de hidrólisis de fosfatos	45
4.2.1. Modelo 1: hidrólisis de fosfatos	45
4.2.2. Modelo 2: sitio de reconocimiento molecular	46
V. Resultados y Discusión	
5.1. Reacción de formación de enlace disulfuro	48
5.1.1. Optimización	48
5.1.2. Energía de interacción	50
5.1.3. Construcción del sistema 2CasII-gly-2Cys	50
5.1.4. Curvas de Energía Potencial	52
5.1.4.1. Estado triplete	52
5.1.4.2. Estado singulete	53
5.1.4.3. Punto de cruce de mínima energía (MECP)	54

5.1.4.4.	Energía libre de Gibbs	56
5.1.4.5.	Reacción $3A \rightarrow 1A$	57
5.1.5.	Análisis de la Densidad electrónica	59
5.1.5.1.	Propiedades atómicas derivadas de la densidad electrónica	59
5.1.5.1.1.	Población electrónica total	59
5.1.5.1.2.	Población de espín	60
5.1.5.2.	Isosuperficies del Laplaciano de la Densidad Electrónica	61
5.1.5.2.1.	Densidad electrónica total	62
5.1.5.2.2.	Densidad de espín	65
5.2.	Reacción de hidrólisis de fosfatos	67
5.2.1.	Modelo 1: Reacción de Raycroft	67
5.2.1.1.	Efecto del sustituyente	67
5.2.1.2.	Estados de Transición	71
5.2.2.	Modelo 2: Sitio de Reconocimiento Molecular	74
5.2.2.1.	Estado de transición	74
5.2.2.2.	Barrido del enlace P-O(metanol)	77
VI.	Conclusiones	78
VII.	Referencias	80
A.	Acoplamiento espín-órbita	87
B.	Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT)	90
C.	Teoría Cuántica de Átomos en Moléculas (QTAIM)	97
C.1.	Propiedades atómicas	98
C.1.1.	Población electrónica atómica y carga	98
C.1.2.	Energía atómica total	99

Índice de Figuras

Figura 3.1. Estructuras de compuestos de platino en ensayos clínicos o recientemente aprobados para uso clínico.	16
Figura 3.2. Ambientes de coordinación utilizados por iones de cobre.	18
Figura 3.3. Estructura del complejo bis-phen $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$.	21
Figura 3.4. Estructuras de los complejos (a) $[\text{Cu}(\text{2-clip-phen})]^{2+}$ y (b) $[\text{Cu}(\text{3-clip-phen})]^{2+}$.	22
Figura 3.5. Estructura del complejo $[\text{Cu}(\text{tdp})(\text{phen})][\text{ClO}_4]$.	22
Figura 3.6. Estructura general de la familia de complejos de cobre(II): Casiopeínas®.	23
Figura 3.7. Mecanismo propuesto por Kachadourian para la CasIIgly.	28
Figura 3.8. Espectros de absorción de: (a) CasII-gly a diferentes concentraciones, (b) CasII-gly+Cisteína, desde 0 hasta 1.2 equivalentes de reductor, (c) CasII-gly+Cisteína desde 1.2 hasta 2.0 equivalentes de reductor.	29
Figura 3.9. Voltamperograma de 4,4-dmbpyacac+Cisteína, variando los equivalentes de reductor desde 0 hasta 1.	30
Figura 3.10. Espectro de EPR para 4,4-dmbpyacac+Cisteína, variando la concentración de reductor desde 1mM hasta 20mM.	31
Figura 3.11. Mecanismo de reacción propuesto por el grupo de investigación en Casiopeínas®.	32
Figura 3.12. Estructura química del ADN (parte de una hebra), y sitio de escisión de nucleasa.	33
Figura 3.13. Mecanismo aceptado generalmente para la hidrólisis de fosfodiésteres para Co(III) y Cu(II). Las cargas del metal se omiten por simplicidad.	34
Figura 3.14. Descripción del mecanismo asociativo para la adición nucleofílica de un diéster de fosfato.	35
Figura 3.15. Esquema de reacción para la hidrólisis de fosfatos propuesta por Raycroft.	35
Figura 3.16. Primera fila: posiciones iniciales de Cas con la cadena de ADN: (a) intercalación del ligante aromático (POS1), (b) intercalación del ligante no-aromático (POS2), (c) Cas en el surco mayor (MAG) y (d) Cas en el surco menor (MIG). Segunda fila: estructuras promedio obtenidas en los últimos 10 ns del tiempo de producción: (e) teniendo como punto de partida POS1, el sistema termina con aductos intercalados deformando la hélice, (f) y (g) simulaciones con POS2 y MAG terminaron con la Cas solvatada a una distancia $\sim 10 \text{ \AA}$ alejada del ADN, (h) la Cas permanece en el surco menor en todas las simulaciones MIG.	38
Figura 3.17. Arriba: estructuras representativas de la posición inicial de las dinámicas en el surco menor del ADN. Abajo: geometría aislada en la que la Cas interactúa directamente con la cadena de ADN, aducto desoxirribosa-	39

fosfato-Cas.	
Figura 3.18. (a) Gráfica molecular del aducto desoxirribosa-fosfato-Cas. Mapas de contorno de las interacciones donador-aceptor: (b) O_3PO-Cu , (c) $O \cdots \pi(N)$ y (d) $C-H \cdots \pi$.	40
Figura 3.19. Energías relativas para los pasos de la reacción $Nb+NCCH_3 \rightarrow CN(NbH)CH_3$ para los estados electrónicos sexteto, cuarteto y doblete.	42
Figura 4.1. Sistema 2Cas-2Cys y propuesta de mecanismo de transferencia electrónica.	44
Figura 4.2. Reacción de metanólisis propuesta por Raycroft.	46
Figura 4.3. Geometría del aducto desoxirribosa-fosfato-Cas obtenida por Galindo, <i>et al.</i>	47
Figura 5.1. Geometría del complejo CasII-gly-Cys.	50
Figura 5.2. Geometría optimizada del sistema 2CasII-gly-2Cys del estado triplete.	51
Figura 5.3. Geometría optimizada del sistema 2CasII-gly-2Cys del estado singulete.	52
Figura 5.4. Curva de Energía Potencial con geometrías inicial y final del estado triplete.	54
Figura 5.5. Curva de Energía Potencial con geometrías inicial y final del estado singulete.	54
Figura 5.6. Curvas de energía potencial del sistema 2CasII-gly-2Cys, para los estados electrónicos triplete (azul) y singulete (verde).	55
Figura 5.7. Geometría del MECP para (a) el estado triplete y (b) el estado singulete.	57
Figura 5.8. Cambio en la Energía libre de Gibbs conforme avanza la reacción.	57
Figura 5.9. Geometrías de mínima energía iniciales y finales del estado triplete (3 ^a y 3B) y del estado singulete (1A y 1B).	58
Figura 5.10. Población electrónica total en la geometría 3A, 1A, y los MECP de los estados triplete (MECP 3) y singulete (MECP 1).	60
Figura 5.11. Población de espín para la geometría 3A y el MECP triplete (MECP 3).	61
Figura 5.12. Contornos del laplaciano de la densidad electrónica para la geometría 3A.	62
Figura 5.13. Isosuperficie del laplaciano de la densidad total para la geometría 3A.	63
Figura 5.14. Contornos del laplaciano de la densidad electrónica para la geometría 1A.	64
Figura 5.15. Isosuperficie del laplaciano de la densidad total para la geometría 1A.	65
Figura 5.16. Isosuperficie del laplaciano de la densidad de espín para la geometría 3A.	66
Figura 5.17. Esquema general de la reacción de Raycroft con una molécula de disolvente.	68
Figura 5.18. Perfil energético de la reacción de Raycroft con una molécula de disolvente.	68

Figura 5.19. Esquema general de la reacción de Raycroft con dos moléculas de disolvente.	70
Figura 5.20. Perfil energético de la reacción de Raycroft con dos moléculas de disolvente.	71
Figura 5.21. Estructura del estado de transición de la reacción de Raycroft para el modelo con una molécula de disolvente.	72
Figura 5.22. Estructuras para reactivo (R), estado de transición (TS) y producto (P) para la reacción de Raycroft con una molécula de disolvente.	72
Figura 5.23. IRC para la reacción de Raycroft con una molécula de disolvente.	73
Figura 5.24. Estructura del estado de transición de la reacción de Raycroft para el modelo con dos moléculas de disolvente.	74
Figura 5.25. Estructura del estado de transición para el sitio de reconocimiento molecular de las Casiopeínas®.	75
Figura 5.26. Estructuras para reactivo (R), estado de transición (TS) y producto (P) para la reacción del sitio de reconocimiento molecular con dos moléculas de disolvente.	75
Figura 5.27. IRC para la reacción del sitio de reconocimiento molecular con dos moléculas de disolvente.	76
Figura 5.28. Geometrías a lo largo del barrido de la distancia P-O(metanol) para el sitio de reconocimiento molecular.	77
Figura A.1. (a) Acoplamiento Russell-Saunders o L,S ; (b) acoplamiento j,j ; y (c) efecto de incrementar el acoplamiento espín-órbita para una configuración np^2 desde carbono hasta plomo.	89
Figura B.1. Cálculo con teoría de funcionales de la densidad.	96

Índice de Tablas

Tabla 3.1. Nomenclatura asignada a las Casiopeínas® en el grupo de investigación.	24
Tabla 3.2. Grupos axiales y energías libres de formación de los aductos <i>Cas-ADN</i> más estables.	38
Tabla 5.1. Distancias de enlace obtenidas de la minimización de las geometrías. Datos cristalográficos o reportados en la literatura en paréntesis.	49
Tabla 5.2. Energía del estado de transición para cada sustituyente del modelo con una molécula de disolvente.	69
Tabla 5.3. Energía del estado de transición para cada sustituyente del modelo con dos moléculas de disolvente.	70

Abreviaturas

CasIII-Da	[Cu(2,2'-bipiridina)(acetilacetionato)(H ₂ O)] ⁺
CasII-gly	[Cu(4,7-dimetilfenantrolina)(glicinato)(H ₂ O)] ⁺
Phen	1,10-fenantrolina
bpy	2,2'-bipiridina
A	Adenina
q(A)	Carga del átomo A
Cas	Casiopéina®
Cys	Cisteína
C	Citosina
IC ₅₀	Concentración inhibitoria 50
PEC	Curva de energía potencial
E _e (A)	Energía del átomo A
ROS	Especies reactivas de oxígeno
G	Guanina
N _{spin} (A)	Población electrónica de espín del átomo A
N(A)	Población electrónica del átomo A
BCP	Punto crítico de enlace
MECP	Punto de cruce de mínima energía
MECP	Punto de cruce de mínima energía
2CasII-gly-2Cys	Sistema Cas-Cys-Cys-Cas
CasII-gly-Cys	Sistema Casiopéina-Cisteína
PES	Superficie de energía potencial
MAG	Surco mayor del ADN
MIG	Surco menor del ADN
T	Timina

El código de colores para los elementos en las figuras es: Carbono=gris, Hidrógeno=blanco, Oxígeno=rojo, Nitrógeno=azul, Cobre=café, Azufre=amarillo y Fósforo=naranja.

INTRODUCCIÓN

La diversa actividad que presentan los iones metálicos a nivel biológico ha estimulado el estudio de agentes terapéuticos que no están conformados sólo por compuestos orgánicos. Los metales de transición tienen una gran variedad de números de coordinación, geometrías, estados de oxidación accesibles en condiciones fisiológicas y presentan un amplio rango de propiedades termodinámicas y reactivas que dependen de la elección de los ligantes; todas estas características pueden ser útiles en el desarrollo de nuevos fármacos con numerosas ventajas en comparación a los fármacos orgánicos o a los ya existentes en el mercado. Día con día se buscan alternativas para el tratamiento de cáncer basadas en el mecanismo de estos compuestos, tratando de potenciar la actividad y disminuir la toxicidad, siendo los de cobre de los complejos más prometedores.

Esta investigación se centra en el estudio de una familia de compuestos de cobre, en estado de oxidación 2+, que han mostrado actividad antineoplásica en análisis *in vitro* e *in vivo*, respectivamente, llamados Casiopeínas®. Al momento no está totalmente definido el mecanismo por el cual actúan a nivel molecular. Algunas evidencias experimentales y teóricas sugieren que su actividad puede deberse a: a) la capacidad redox del Cu²⁺, generando especies reactivas de oxígeno que producen la citotoxicidad observada, o b) a procesos de intercalación en el surco menor del ADN. Este trabajo consiste en estudiar dos modelos de procesos que se cree están involucrados en el mecanismo de acción de estos posibles fármacos, el primero es la formación de enlaces disulfuro y el segundo la reacción de hidrólisis de fosfatos, mediante cálculos DFT y el análisis de propiedades atómicas derivadas de la densidad electrónica.

Los resultados muestran que los procesos en estudio son favorables energéticamente. La formación del enlace disulfuro requiere de una geometría especial del sistema 2CasII-gly-2Cys que favorezca la transferencia electrónica y permita la formación del enlace entre los átomos de azufre. El modelo de la reacción de Raycroft fue útil para explicar la hidrólisis del dimetil-fosfato en donde la presencia de moléculas de disolvente que actúan como nucleófilo es importante en el proceso que se favorece cuando se involucran dos moléculas de metanol en comparación a una molécula; éstos datos fueron útiles para estudiar dicho proceso en el sitio de reconocimiento molecular.

Capítulo I

OBJETIVOS

Objetivo General

Contribuir al entendimiento del mecanismo de acción de la familia de las Casiopeínas®, a partir del estudio teórico de dos modelos de reacciones que se sabe son importantes en el mecanismo de acción, la primer reacción involucra un proceso óxido-reducción y la segunda consiste en una reacción de hidrólisis.

Objetivos Específicos

1. Estudiar la reacción de formación de enlaces disulfuro mediada por una Casiopeína® a partir de cisteínas, siguiendo la estequiometria obtenida a partir de estudios experimentales previos.
2. Estudiar la reacción de hidrólisis de fosfatos del modelo experimental propuesto por Raycroft y colaboradores¹, promovida por la presencia de cobre.
3. Estudiar la hidrólisis del modelo obtenido por Galindo y colaboradores² del sitio de reconocimiento molecular de una Casiopeína con el esqueleto del ADN, partiendo de los resultados obtenidos para el modelo de Raycroft del objetivo anterior.

Capítulo II

HIPÓTESIS

Esta tesis busca responder la siguiente pregunta: ¿cuál es el rol del centro metálico de las Casiopeínas® en la formación del enlace disulfuro y la hidrólisis de fosfatos?

Las hipótesis en las que se basa este trabajo son las siguientes:

1. Es posible encontrar un aducto donde se favorezca la transferencia electrónica entre un átomo de cobre y un átomo de azufre que provoque la formación de un enlace disulfuro.
2. Es posible encontrar una configuración donde el grupo fosfato sea activado por un complejo de cobre.
3. La posición de coordinación axial del cobre es determinante para ambos procesos, ya sea que este libre u ocupada por un ligante que se comporte como buen grupo saliente.
4. Las interacciones débiles en las que están involucrados los ligantes del complejo de cobre tienen un alto impacto en los procesos en estudio.
5. Es posible generar un modelo que explique la reducción de Cu^{2+} a Cu^+ y el consumo de reductores endógenos, como cisteína y glutatión, para formar los compuestos disulfuro.

Capítulo III

ANTECEDENTES

La Organización Mundial de la Salud asegura que el cáncer es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo; en 2012 hubo alrededor de 14 millones de nuevos casos y 8,2 millones de muertes relacionadas con el cáncer. Además, se prevé que el número de casos nuevos aumente en aproximadamente un 70% en los próximos 20 años.³

En 2012, los tipos de cáncer diagnosticados con más frecuencia en hombres fueron los de pulmón, próstata, colon y recto, estómago e hígado. En mujeres fueron los de mama, colon y recto, pulmón, cuello uterino y estómago. Más del 60% de los nuevos casos anuales totales del mundo se producen en África, Asia, América Central y Sudamérica. Estas regiones representan el 70% de las muertes por cáncer en el mundo.³

En cuanto a nuestro país, el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) señala que los tumores malignos son la tercer causa de mortalidad en el año 2013, siendo el primer lugar las enfermedades del corazón y en segundo la diabetes mellitus.⁴

3.1. Cáncer

El Instituto Nacional del Cáncer de los Institutos Nacionales de Salud de EE. UU. sugiere que cáncer es el nombre que se da a un conjunto de enfermedades relacionadas que se caracterizan por una división celular descontrolada. Normalmente, las células humanas crecen y se dividen para formar nuevas células a medida que el cuerpo las necesita. Cuando las células normales envejecen o se dañan, mueren, y las células nuevas las remplazan. En el cáncer, este proceso ordenado se descontrola. A medida que las células se hacen más anormales, las células viejas o dañadas sobreviven cuando deberían morir, y células nuevas se forman cuando no son necesarias. Estas células adicionales pueden dividirse sin interrupción y pueden formar masas de tejido llamadas tumores sólidos. La formación de tumores ocurre en muchos tipos de cáncer, sin embargo, también hay tipos de cáncer que no los forman por ejemplo los cánceres de la sangre como las leucemias.⁵

Los tumores cancerosos pueden considerarse malignos, lo que significa que

tienen la posibilidad de extenderse a los tejidos cercanos o invadirlos. Cuando dichos tumores crecen, algunas células cancerosas pueden desprenderse y moverse a través del sistema circulatorio o linfático formando nuevos tumores lejanos al original. Al contrario de los tumores malignos, los benignos no se extienden a los tejidos cercanos y no los invaden, permitiendo así su extirpación, a pesar de que puedan presentar un gran tamaño.

Existen más de 100 tipos de cáncer. Generalmente, reciben el nombre de los órganos o tejidos donde se forman, o pueden describirse según el tipo de célula que los forma.

El cáncer es una enfermedad genética, es decir, es causado por cambios en los genes que controlan la forma cómo funcionan nuestras células, especialmente la forma cómo crecen y se dividen. Estos cambios genéticos pueden heredarse de los padres, suceder como resultado de errores que ocurren al dividirse las células o por el daño al ADN que causan algunas exposiciones del ambiente. Por tanto, el cáncer de cada persona tiene una combinación única de cambios genéticos. Conforme avanza el cáncer, ocurrirán cambios adicionales. Los cambios genéticos que contribuyen al cáncer tienden a afectar tres tipos principales de genes: proto-oncogenes, genes supresores de tumores y genes reparadores del ADN. Estos cambios son llamados “causantes” de cáncer. Conforme se ha aprendido más acerca de los cambios moleculares que resultan del cáncer, ciertas mutaciones se han encontrado juntas en muchos tipos de cáncer. A causa de esto, los cánceres se caracterizan a veces según los tipos de alteraciones genéticas que se cree son causantes, no solo por el sitio del cuerpo en donde se forman y por la forma como se ven las células cancerosas al microscopio.⁵

El avance de la química inorgánica medicinal, estimulado por el descubrimiento casual de la actividad contra el cáncer del cisplatino, ha sido facilitado por el extensivo conocimiento de la química de coordinación y las propiedades óxido-reducción de los iones metálicos. Puesto que los centros metálicos están cargados positivamente prefieren unirse a biomoléculas cargadas negativamente; los constituyentes de las proteínas y de los ácidos nucleicos ofrecen excelentes sitios para unirse a los iones metálicos. La acumulación en el cuerpo de los iones metálicos puede producir efectos perjudiciales a nuestra salud. Por tanto, es necesario considerar la biodistribución y especificidad farmacológica del complejo metálico, así como demostrar las respuestas biológicas favorables de los candidatos mediante estudios *in vitro* e *in vivo*, antes de hacer pruebas clínicas.⁶

3.2. Compuestos metálicos como agentes contra el cáncer

Estudios experimentales de actividad biológica en distintas líneas celulares con compuestos formados por iones metálicos han contribuido al descubrimiento de nuevos tratamientos terapéuticos contra el cáncer, a continuación se dará un panorama general de compuestos basados en platino y cobre.

3.2.1. Compuestos de platino

El cisplatino o *cis*-diaminodichloroplatino(II) se sintetizó por primera vez a mediados del siglo XIX, es conocido también como cloruro de Peyrone, ya que fue descubierto por Michel Peyrone.⁷ No fue hasta la década de 1960 cuando los científicos empezaron a interesarse en sus efectos biológicos y comenzó a usarse en ensayos clínicos para la terapia del cáncer en 1971, siendo así el primer fármaco basado en platino desarrollado. A finales de los años 70, ya era ampliamente usado en el tratamiento del cáncer, y hasta la fecha sigue siendo uno de los fármacos más utilizados a pesar de los numerosos medicamentos de quimioterapia desarrollados en las últimas décadas.

Este fármaco se usa en el tratamiento de distintos tipos de cáncer como sarcoma, cáncer de pulmón microcítico, tumores de células germinales, linfoma y cáncer de ovario. Hasta la fecha han surgido otros fármacos con este metal, como el carboplatino y el oxaliplatino, que presentan menos efectos secundarios y sobre todo benignos en comparación al cisplatino.⁸

El cisplatino es uno de los fármacos basados en metales más usados, resaltando su uso contra el cáncer de tipo testicular con una tasa de cura mayor al 90%. El mecanismo de acción de este fármaco indica que entra a las células mediante difusión pasiva, y su citotoxicidad se origina al unirse a la cadena de ADN formando enlaces covalentes cruzados. La unión del cisplatino al ADN causa una distorsión significativa de la hélice, resultando en la inhibición de la replicación y transcripción.⁸

La aplicación médica del cisplatino ha sido limitada debido a los efectos secundarios significativos y la resistencia adquirida o intrínseca. Por tanto, se ha puesto mucha atención en el diseño de nuevos compuestos con platino con propiedades farmacológicas y un mejor rango de actividad antitumoral. Los compuestos de platino de la figura 3.1 ya se encuentran en pruebas clínicas, pero no han demostrado tener ventajas significativas sobre el cisplatino.⁶

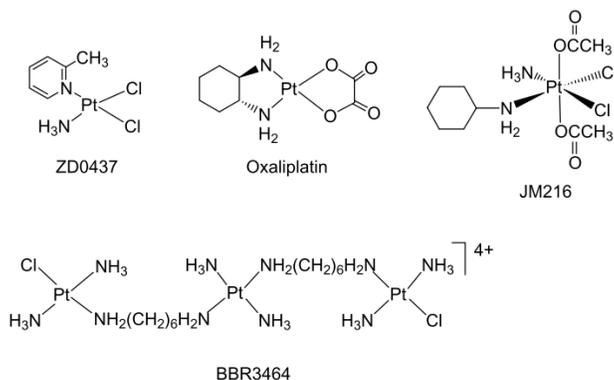


Figura 3.1. Estructuras de compuestos de platino en ensayos clínicos o recientemente aprobados para uso clínico.

3.2.2. Complejos con otros metales

A excepción de los compuestos de Pt^{2+} , hay muy poca información respecto al mecanismo de acción de fármacos metálicos contra el cáncer, ya que los iones metálicos pueden actuar mediante diversas rutas. Es probable que los compuestos activos no platinados tengan mecanismos de acción, biodistribución y toxicidad diferente a los fármacos de platino y pueden ser efectivos contra células cancerosas que son pobremente quimiosensitivas o a las que tienen resistencia los fármacos de platino.⁹

La actividad citotóxica de un complejo metálico, que está íntimamente relacionada a su actividad antitumoral, está controlada por diversos factores como: la identidad del metal, su estado de oxidación y las propiedades de sus ligantes coordinados. Sin embargo, en muchos casos sólo uno de estos factores es dominante. El mecanismo de acción de los compuestos basados en metales puede ser clasificado en cuatro grupos de acuerdo a: (i) preferencia por la unión a grupos sulfhidrilo (SH); (ii) unión a quelatos y complejos metálicos de quelatos; (iii) generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y estrés oxidante; y (iv) producción de iones lipofílicos.¹⁰

Existen estudios de antitumorales conformados por metales menos dañinos con nuestro organismo como rutenio^{11,12}, oro¹³, hierro¹⁴⁻¹⁶, cobalto¹⁷⁻¹⁹, manganeso^{17,20,21} y cobre^{9,22,23}, buscando reducir la toxicidad y aumentar la actividad biológica.

3.3. Cobre y cáncer

El cobre es el elemento 29 en la tabla periódica, pertenece al grupo 11 de los metales de transición. Aunque se han reportado compuestos con los estados de oxidación Cu^{3+} y Cu^{4+24} , la química del cobre está dominada por los compuestos de Cu^+ y Cu^{2+} .^{25,26}

El cobre en estado de oxidación 1+ forma numerosos compuestos tanto con ligantes orgánicos como inorgánicos. Debido al carácter blando de este ion, según el criterio de ácidos y bases duros y blandos de Pearson, el Cu^+ prefiere ligantes con átomos que tengan un carácter donador blando como azufre (en cisteína o metionina), nitrógenos en compuestos aromáticos (con hibridación sp^2 en piridina e histidina) y fósforo (en fosfinas terciarias).

Los compuestos de Cu^+ usualmente prefieren una estructura lineal con un número de coordinación (CN) igual a 2, trigonal con CN igual a 3 o tetraédrica con CN igual a 4. Los iones de Cu^+ tienen una configuración electrónica de valencia d^{10} y, por tanto, son diamagnéticos y usualmente incoloros. La estabilidad de los complejos de Cu^+ depende principalmente de la naturaleza del ligante y es determinada por los valores de energía reticular grandes y la energía de solvatación del ion Cu^+ .²⁷

En el caso de los complejos con cobre²⁺, el CN varía desde 4 hasta 8, siendo los más comunes complejos cuadrado planos en tetracoordinados, bipirámide trigonal y pirámides de base cuadrada en pentacoordinados, en el caso del número de coordinación 6 se observan geometrías octaédricas, que en su mayoría presentan distorsiones tetragonales. La figura 3.2 resume la estereoquímica adoptada por los iones de Cu⁺ y Cu²⁺ en los CN.²⁸

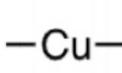
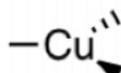
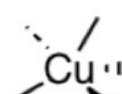
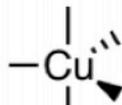
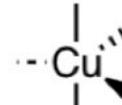
Cu ⁺	 Lineal CN=2	 Trigonal CN=3	 Tetraédrica CN=4	 Pentacoordinada CN=5
Cu ²⁺	 Cuadrada y rómbica coplanar CN=4	 Tetraédrica comprimida CN=4	 Bipirámide trigonal CN=5	 Bipirámide trigonal distorsionada CN=5
	 Bipirámide de base cuadrada CN=5	 Bipirámide de base cuadrada distorsionada CN=5	 Octaedro comprimido tetragonalmente CN=6	 Octaedro CN=6
	 Octaedro elongado tetragonalmente CN=6	 Octaedro <i>cis</i> -distorsionado CN=6	 Heptacoordinado	 Octacoordinado

Figura 3.2. Ambientes de coordinación utilizados por iones de cobre.

La gran variedad de estructuras disponibles para estos iones permite la elección de diversos ligantes de coordinación (desde mono- hasta hexa-dentados) y átomos donadores de preferencia “duros” con hibridación sp^3 como nitrógeno y oxígeno.

En biología, el cobre es crucial para la función de muchas enzimas y proteínas como son: respiración mitocondrial (citocromo-oxidasa, Cco), antioxidación (Zn y Cu-superóxido-dismutasa, SOD), entrecruzamiento de colágeno (lisil-oxidasa), pigmentación (tirosinasa) y biosíntesis de catecolaminas (dopamina- β -mono-oxigenasa).²⁹ Estos procesos involucran reacciones de óxido-reducción en las

cuales el cobre reacciona directamente con oxígeno molecular para producir radicales libres.^{30,31} Por esta razón, la concentración de cobre libre en las células se mantiene a niveles extremadamente bajos.²³

La estabilidad de los sistemas con Cu^+ puede cambiar drásticamente si los iones contenidos en las enzimas están rodeados por ligantes biológicos en lugar de agua. Estos ligantes alteran el potencial de media onda de los iones de cobre, haciendo el sistema más o menos fácil de oxidar o reducir. Los iones suaves de Cu^+ prefieren ligantes sulfurados o ligantes insaturados como *o*-fenantrolina (phen) y 2,2'-bipiridina (bipy) que tienen nubes de electrones polarizables. Los iones relativamente duros de Cu^{2+} prefieren ligantes con nitrógenos duros. Usualmente, las enzimas de cobre involucradas en reacciones redox presentan ambos tipos de ligantes, por tanto los centros metálicos pueden existir en ambos estados de oxidación.²²

Las principales funciones biológicas del cobre involucran reacciones de oxidación-reducción en las cuales el cobre reacciona directamente con oxígeno molecular para producir radicales libres. Por lo tanto, el cobre requiere de mecanismos homeostáticos estrechamente regulados para garantizar un suministro adecuado sin algún efecto tóxico, los cuales son llevados a cabo por un grupo de proteínas que únicamente contienen dominios ricos en cisteína, metionina e histidina. El exceso o deficiencia de cobre está asociado, respectivamente, con la enfermedad de Wilson (WD) y la enfermedad de Menkes (MD), resultantes de la disfunción o ausencia de las ATP-asas transportadoras de cobre que residen en todas las células. Actualmente existen terapias efectivas para el tratamiento de MD y WD que se basan en la administración de suplementos de cobre con histidina o la remoción del exceso de cobre mediante un quelato de cobre específico, respectivamente. Por otra parte, se han encontrado niveles elevados de cobre en muchos tipos de cáncer humano, incluyendo de próstata, pecho, colon, pulmón y cerebro.²²

El descubrimiento de la actividad antitumoral del cisplatino representa uno de los avances en quimioterapia más significativos del siglo XX.³² Sin embargo, el tratamiento es limitado por diversos efectos secundarios que incluyen nefrotoxicidad, emetogénesis y neurotoxicidad.⁶ Como alternativa se han probado muchas familias de complejos de cobre con actividad anticancerígena.^{9,22,33} Enseguida se describen brevemente algunos ejemplos significativos.

3.3.1. Complejos de cobre con tiosemicarbazonas

Las tiosemicarbazonas (TSCs) son una clase de compuestos de interés medicinal que han reportado actividad anticancerígena desde 1960^{34,35} y su desarrollo sigue en progreso³⁶. Algunos de ellos, como MarboranTM o TriapinaTM, se encuentran en pruebas clínicas³⁷. Las TSCs han sido ampliamente estudiadas debido a su acción inhibitoria de la enzima del ADN ribonucleotidodifosfato-reductasa y su

selectividad hacia los cánceres sensibles a hormonas³⁸.

3.3.2. Complejos de cobre con Bases de Schiff conjugadas

Se han sintetizado complejos de cobre con bases de Schiff derivadas de la nimesulida³⁹, para evaluarlas en líneas celulares de tumores pancreáticos BxPC-3 y MiaPaCa, reportándose que el mecanismo de acción responsable de su actividad biológica involucra la inhibición de VEGF y COX-2 además de la baja regulación de las proteínas antiapoptóticas Bcl-2 y Bcl-XL.

Algunos complejos de cobre²⁺ con la base de Schiff, Isatina, fue sintetizada y caracterizada por Cerchiaro y colaboradores⁴⁰. Estudios de citotoxicidad a estos complejos indican que algunos de ellos activan la apoptosis en células promielocíticas humanas U937 y neuroblastoma SH-SY5Y. Además, los autores encontraron que inducen apoptosis por vía mitocondrial; sin embargo, se sugiere que éstos compuestos son transportadores de cobre hacia el interior de la célula, produciendo así ROS.

3.3.3. Complejos de cobre con ligantes imidazoles, benzimidazoles, pirazoles y triazoles

La actividad antitumoral presentada por los complejos [trans-bis(acetato)bis(imidazol)]Cu²⁺ en la línea celular de melanoma murino B16⁴¹ estimuló la síntesis de complejos de cobre con imidazoles sustituidos. El benzimidazol y muchos de sus derivados son conocidos por exhibir actividad, incluyendo antibacteriana, antiviral, anticancerígena y antifúngica⁴².

Recientemente, han sido sintetizados complejos metálicos con una serie de ligantes basados en pirazolilpiridina bidentada o pirazolilbipiridina tridentada. En particular, Yang y colaboradores⁴³ reportaron la síntesis de estos ligantes unidos a Cu²⁺ y Zn²⁺, encontrando además que el complejo de cobre tiene gran afinidad con el ADN y una citotoxicidad mayor en las líneas celulares humanas de leucemia HL-60, cáncer gástrico humano BGC-823 y cáncer de glándula mamaria humana MDA5, en comparación a los complejos de Zn²⁺ y el ligante sin coordinar.

3.3.4. Complejos de cobre con ligantes fosfina

El Auranofín (un tetra-acetil tioglucosa) ha sido el primer complejo metálico con fosfina con uso clínico para tratar la artritis reumatoide. Estudios han mostrado que presenta actividad citotóxica *in vitro* y actividad antitumoral en sistemas *in vivo* de leucemia murina.⁴⁴ Berners-Price, Sadler y colaboradores⁴⁵ han sintetizado complejos de bisarildifosfina (P-P) de tipo [M(P-P)₂][Cl] donde M es Au, Ag y Cu; P-P es dppe: 1,2-bis(difenilfosfino)etano, dppp: 1,2-bis(difenilfosfino)propano o dppey: 1,2-bis(difenilfosfino)etileno; mostrando actividad citotóxica en células de leucemia murina P388, melanoma B16 y sarcoma de células reticulares M5076.

3.3.5. Complejos de cobre con ligandos *N*-aromáticos aceptores π (fenantrolina y bipyridina)

El ligante 1,10-fenantrolina (phen) y las sales de cobre forman complejos bis-phen estables que han mostrado actividad nucleasa en presencia de agentes reductores y oxígeno molecular. La actividad biológica de dichos complejos cuprosos comenzó a ser investigada por Sigman y colaboradores en los años 70s⁴⁶. El complejo bis-phen $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$ (figura 3.3) fue descrito como un agente capaz de degradar oxidativamente el ADN y ARN atacando los grupos azúcar⁴⁷. Además, ha mostrado actividad clínica interesante como antitumoral, antibacteriana, antifúngica y propiedades antimicrobiales^{48,49}. La escisión del ADN por el complejo $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$, significativamente mayor que por el complejo mono-phen⁵⁰⁻⁵³, ocurre principalmente en el C-1', C-4' o C-5' de las unidades 2-desoxirribosa del ADN mediante un mecanismo en que ocurre un cambio de oxidación del metal⁵⁴.

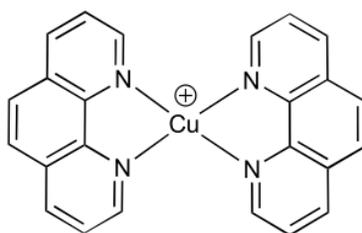


Figura 3.3. Estructura del complejo bis-phen $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^+$.

Zhou y colaboradores han reportado que el complejo $[\text{Cu}(\text{phen})_2]^{+}/^{2+}$ induce apoptosis en la línea celular de carcinoma Bel-7402⁵⁵. Cai y colaboradores⁵⁶ demostraron que este fenómeno puede ser iniciado por el exceso de cobre en las células transportado por el ligante lipofílico phen. Además, la reacción redox del cobre en la que se involucran reductores intracelulares induce un incremento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y un decremento de la relación glutatión reducido/oxidado (GSH/GSSG). Adicionalmente, el mismo complejo exhibe una gran citotoxicidad en células de leucemia humana HL60 y células estomacales humanas SGC-7901, con una inhibición de crecimiento superior al 90%⁵⁷.

Por otra parte, el uso de los complejos Cu-phen presenta algunas restricciones, ya que su formación es desfavorable en condiciones fisiológicas debido a la pequeña constante de asociación de la segunda molécula phen. En un esfuerzo por superar estos límites, Pitié y colaboradores⁵⁸ sintetizaron un puente de serinol (abreviado como Clip) para unir dos ligandos phen en las posiciones 2 resultando en $[\text{Cu}(2\text{-Clip-phen})]^{2+}$ (figura 3.4a), y 3 resultando en $[\text{Cu}(3\text{-Clip-phen})]^{2+}$ (figura 3.4b). Se ha propuesto que el grupo amino en $[\text{Cu}(3\text{-Clip-phen})]$ puede ser protonado, favoreciendo su interacción con la estructura polianiónica del ADN⁵⁹. Así, podría interactuar vía enlaces de hidrógeno con el átomo de oxígeno del

fosfato del surco menor del ADN.

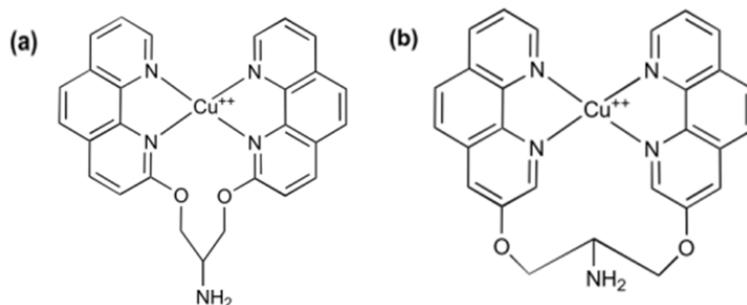


Figura 3.4. Estructuras de los complejos (a) [Cu(2-clip-phen)]²⁺ y (b) [Cu(3-clip-phen)]²⁺.

Egan y colaboradores determinaron el potencial quimioterapéutico de [Cu(phen)₂(mal)]₂H₂O (malH₂ es ácido malónico)⁶⁰ usando dos líneas celulares humanas (carcinoma de riñón A-498 y carcinoma hepatocelular Hep-G2). Palaniandavar y colaboradores⁶¹ aislaron y caracterizaron una serie de complejos con ligantes mixtos de tipo [Cu(tdp)(N-N)]⁺, donde Htdp (figura 3.5) es el ligante tetradentado 2-[(2-(2-hidroxietilamino)-etilimino)metil] y N-N es bpy, phen, 3,4,7,8-tetrametil-1,10-phen (tmp) y dipirido-[3,2-d:2',3'-f]-quinoxalina (dpq). Los autores encontraron que los complejos con dpq y phen están involucrados en una intercalación parcial fuerte con los pares de bases del ADN en el surco menor; en cambio, el complejo con tmp lleva a cabo una fuerte interacción hidrofóbica con el ADN mediante los cuatro grupos metilo del anillo de phen, que es relevante para su habilidad de conferir el cambio conformacional de B-ADN a A-ADN.

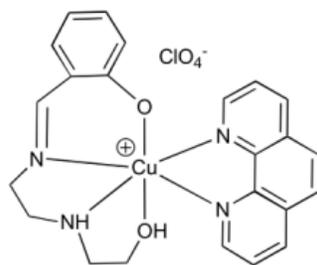


Figura 3.5. Estructura del complejo [Cu(tdp)(phen)][ClO₄].

Una serie de fármacos basados en cobre, registrados con el nombre de Casiopeínas® (Cas), ha sido desarrollada por Ruiz Azuara y colaboradores^{62,63}. Puesto que estos complejos son en los que se centra esta investigación, se detallarán enseguida.

3.4. Casiopeínas®

Se han registrado y patentado bajo el nombre de Casiopeínas® a una serie de compuestos quelatos mixtos de Cu^{2+} con fórmula general $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{O-O})]\text{NO}_3$ o $[\text{Cu}(\text{N-N})(\text{O-N})]\text{NO}_3$, donde N-N es 1,10-fenantrolina (phen) o 2,2'-bipiridina (bpy) con sustituyentes en diversas posiciones, N-O es un aminoácido esencial o un péptido, y O-O es acetilacetonato (acac) o salicilaldehidato (salal) (ver figura 3.6).⁶⁴⁻⁶⁸

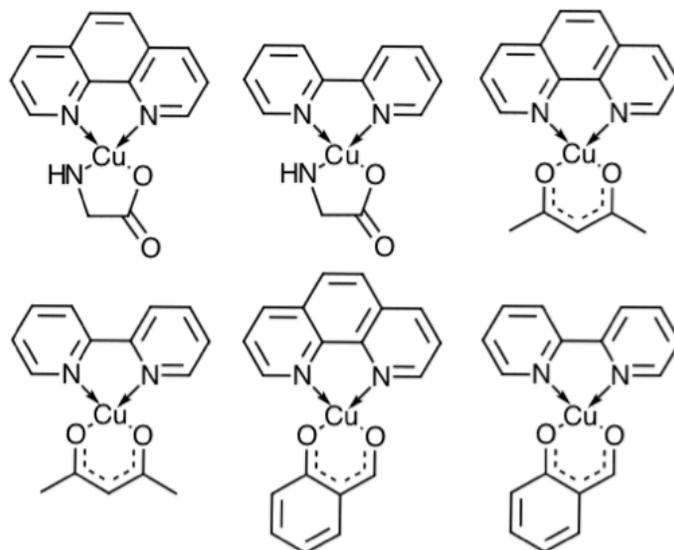


Figura 3.6. Estructura general de la familia de complejos de Cu^{2+} : Casiopeínas®.

Una segunda generación de esta familia involucra las mismas diiminas aromáticas (N-N), pero cambiando el ligante secundario a 2-aminometil benzimidazoles, 2-hidroximetil benzimidazoles o 1,2-fenilendiamina, compuestos que aún se encuentran en desarrollo.^{69,70} La tabla 3.1 describe la nomenclatura que se utiliza en el grupo de investigación en Casiopeínas® para nombrar a cada uno de los compuestos.

El diseño de estas moléculas fue basado en tres factores principales: a) el compuesto debía contener un metal esencial para disminuir la toxicidad en comparación a los compuestos derivados de platino, b) ligantes quelatos que favorezcan la configuración *cis*- alrededor del ión metálico, y c) presentar diferentes grados de hidrofobicidad para favorecer las propiedades de absorción y distribución. Los ligantes primarios seleccionados fueron 2,2'-bipiridina (bpy) y 1,10-fenantrolina (phen) sustituidas en varias posiciones, siendo ambos un ligante bidentado donador de nitrógeno que presenta una afinidad al cobre relativamente

alta⁷¹⁻⁷³; el sistema aromático permite a estos ligantes unirse al ADN tanto por interacciones de intercalación como de no-intercalación. Se eligió como ligante secundario a los α -L-aminoácidos debido a su afinidad a los complejos de cobre(II) con bpy y phen y su baja toxicidad. En el caso de los ligantes secundarios salal y acac, éstos también tienen buena afinidad a los complejos de cobre(II) con phen y pueden modular las propiedades redox del centro metálico.⁷² Confirmando así la hipótesis de que la naturaleza, número y posición de los sustituyentes en los ligantes diimina, y también la modificación del α -L-aminoácido o donador O-O tendrá un efecto en la selectividad o la actividad biológica mostrada por los complejos ternarios de cobre(II).

	aa	acac	salal	Péptido	NH ₂ MeBz	HOMeBz	(NH ₂) ₂ Ph
bpy	CasIX	CasIIIDa	CasIIIJs	CasXa	CasXIa	CasXIIa	CasXIIIa
4,4'-dimebpy	CasIV	CasIIIa	CasIIIGs	CasXb	CasXIb	CasXIIb	CasXIIIb
4,7-diph-fen	CasI	CasIIHa	CasIIIFs	CasXc	CasXIc	CasXIIf	CasXIIIc
4,7-dime-fen	CasII	CasIIIEa	CasIIICs	CasXd	CasXIId	CasXIIId	CasXIIId
5-R-fen	CasV	CasIII5a	CasIII5s	CasXe	CasXIe	CasXIIe	CasXIIIe
5,6-dime-fen	CasVI	CasIIILa	CasIIILs	CasXf	CasXIIf	CasXIIIf	CasXIIIIf
fen	CasVII	CasIIIBa	CasIIIBs	CasXg	CasXIg	CasXIIg	CasXIIIg
3,4,7,8-tme-fen	CasVIII	CasIIIMa	CasIIIMs	CasXh	CasXIh	CasXIIh	CasXIIIh
aa=cualquiera de los 20 aminoácidos esenciales acac=acetilacetato salal=salicilaldehidato péptido=dipéptidos de fórmula GlyPhe, GlyHis, GlyGly, TrpGly, ProGly, AlaGly, AlaTyr, AlaPhe NH₂MeBz= 2-aminometilbenzimidazol HOMeBz= 2-hidroximetilbenzimidazol (NH₂)₂Ph= 1,2-fenilendiamina bpy=bipiridina fen=1,10-fenantrolina							

Tabla 3.1. Nomenclatura asignada a las Casiopeínas® en el grupo de investigación.

Éstos complejos fueron caracterizados por métodos analíticos, y sus estructuras han sido resueltas por difracción de Rayos X⁷⁴⁻⁸². Los datos químicos y estructurales reportados para estos complejos indican que el centro de Cu²⁺ presenta una geometría cuadrada distorsionada^{73-81,83}.

Además, se ha evaluado la capacidad de estos compuestos de inhibir la proliferación de células tumorales humanas⁸⁴⁻⁹⁰, su efectividad antitumoral⁹¹⁻⁹³ así como su genotoxicidad⁹⁴ y citotoxicidad⁸⁷, en líneas tumorales humanas como HeLa, neuroblastoma CHP-212 y SK-N-SH, meduloblastoma, células de carcinoma de colon HCT-15 y glioma murino C6, lo que sugiere que éstos complejos pueden inhibir la proliferación celular y provocar muerte por apoptosis. Las Casiopeínas® tienen un alto potencial antiproliferativo del crecimiento de células cancerosas de

ratón y humanas provenientes de tumores de tipo cérvico-uterino, pulmón, mamario, de colon, neuroblastoma e incluso sobre algunos tipos de leucemias. Algunos compuestos han mostrado hasta un 50% de inhibición al crecimiento de células epiteliales de cérvix humano (HeLa), de colon (CaLo) y células de leucemia murina (L1210) con dosis de 10 a 100 veces menores en comparación a las empleadas con cisplatino. La inducción de apoptosis se observó en células de leucemia murina (L1210) y en carcinoma ovárico (CH1). La CasII-gly y la CasIII-ia mostraron un efecto potente de inhibición de las funciones mitocondriales en ensayos con mitocondrias aisladas y células completas de hepatoma AS-30D^{84,91,95}.

Bravo y colaboradores⁸⁸, realizaron un estudio QSAR (Relación Cuantitativa Estructura-Actividad) de la influencia de los sustituyentes en el ligante aromático y diferentes propiedades fisicoquímicas, como el potencial de media onda ($E_{1/2}$), en relación a la concentración inhibitoria 50 (IC_{50}) en diferentes líneas tumorales, encontrando que los complejos que presentan mayor actividad biológica son los menos oxidantes, que el cambio del ligante secundario tiene una menor influencia con respecto al cambio en los sustituyentes del ligante aromático y, a partir de estudios teóricos, que los enlaces más importantes en el complejo son los cuatro enlaces de coordinación del metal.

El mecanismo de acción específico de las Casiopeínas® aún no está completamente elucidado. Sin embargo, el hecho de que estos compuestos sean capaces de inhibir la proliferación celular y producir muerte celular por apoptosis⁹², dependiente de la dosis, puede ser resultado de diversos procesos como la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS)⁹⁶ o toxicidad mitocondrial⁹⁷, que pueden actuar por sí solas o concomitantemente. A su vez, datos experimentales sugieren que hay interacción directa con el ADN, pero éstas interacciones específicas aún no están claramente establecidas. Mediante Resonancia Paramagnética Electrónica (EPR) se han estudiado las interacciones de cadenas de ADN y diversas Cas^{51,52}, encontrando que los complejos se intercalan en la doble hélice. Rivero-Müller y colaboradores encontraron que las Cas se unen al ADN o ARN y lo degradan en presencia de agentes reductores⁹⁸. Estudios cristalográficos sugieren que las Cas interactúan con el ADN por apilamiento del ligante aromático o parte del ligante acetilacetato⁹⁹.

En cuanto a sus propiedades electrónicas, se encontró que los ligantes donan densidad electrónica al centro metálico. Ésta deficiencia de densidad electrónica en el ligante podría ser compensada por una transferencia de electrones desde las adeninas presentes en el ADN al formar un complejo con apilamiento π - π . La

afinidad de las Cas con las bases depende de la coordinación axial de la base con el átomo de cobre, lo que facilita el apilamiento en el ligante aromático. Además, se encontró que la afinidad de los complejos por las bases de DNA tiene el orden: Citosina > Guanina > Adenina ≈ Timina.¹⁰⁰

3.5. Actividad Nucleasa del cobre

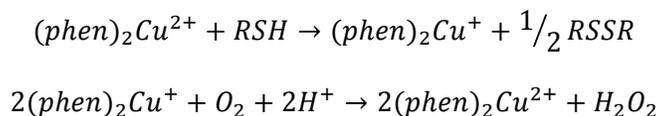
Una de las funciones más importantes del cobre dentro del organismo está relacionada con la transferencia electrónica asociada a la respiración celular y por tanto a la proliferación celular. Sin embargo, su participación en reacciones redox lo hace propenso a generar daño al producir especies reactivas de oxígeno, participando en la peroxidación de lípidos o afectando directamente el material nucleico a través de la ruptura de cadenas.³⁰

Los compuestos que tienen la capacidad de romper el material genético son llamados nucleasas químicas, puesto que cumplen la actividad de las enzimas denominadas nucleasas, siendo éstas las enzimas capaces de romper el enlace fosfodiéster que une a las bases en los ácidos nucleicos.^{101,102}

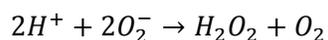
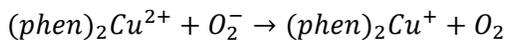
Por lo general, las nucleasas químicas son compuestos de coordinación que rompen el ADN por una vía oxidativa (compuestos de Cu^{2+} , Fe^{2+} , Ni^{2+} , etc.) o por una vía hidrolítica (compuestos de Zn, lantánidos y actínidos, etc.). Se han usado complejos de metales de transición con actividad redox en presencia de oxidantes (como O_2 , H_2O_2 o un perácido) para reacciones de ruptura de ADN, incluso es posible generar química o electroquímicamente un metal en alto estado de oxidación que puede actuar como oxidante en presencia de un reductor.

3.5.1. Actividad Nucleasa Oxidativa

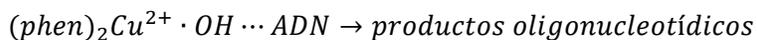
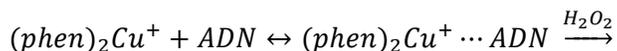
En el año 1979, Sigman y colaboradores realizaron experimentos en los cuales descubrieron la actividad nucleasa del complejo bis-1,10-fenantrolina con Cu(II) mientras investigaban la inhibición de la polimerización de poly[d(A-T)] catalizada por la *E. Coli* DNA polimerasa I.⁴⁶ Posteriormente, encontraron que dicha inhibición requería la presencia del ion cúprico y de un tiol; además de que había una participación importante del peróxido de hidrógeno en la reacción, que es generado en una mezcla de reacción conteniendo 1,10-fenantrolina (phen), Cu^{2+} , tiol (RSH) y oxígeno, de la siguiente forma:



Sin embargo, la presencia únicamente de este peróxido de hidrógeno no puede explicar por sí sola la rapidez de la división del ADN observada. A partir de estos resultados, Sigman concluyó que la escisión de la hebra requiere la presencia del complejo 1,10-fenantrolina-cuproso (2:1). Además, el anión superóxido puede también causar una escisión en el ADN en presencia de phen y el ión cúprico por la reducción de la especie con Cu^{2+} y dismutando espontáneamente para formar la especie con Cu^+ y el peróxido de hidrógeno, de la siguiente forma:



Así, el esquema de reacción que ellos proponen para la actividad nucleasa oxidativa incluye la unión del complejo cuproso al ADN seguido de la generación de una asociación entre el ión metálico y un radical hidroxilo por la oxidación del complejo cuproso al estar presente el peróxido de hidrógeno. Este oxidante puede ser el responsable directo de la escisión del enlace fosfodiéster en el esqueleto de ADN:



Mientras que la 1,10-fenantrolina puede cumplir dos roles: a) modular el potencial redox del par $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$, y b) intercalarse en el ADN permitiendo la oxidación de los complejos de cobre.⁵³ Estos resultados han dado pauta a estudios, tanto experimentales como teóricos, con complejos de cobre y hierro, para sistemas como Fe-bleomicina, Fe-EDTA y compuestos con ligantes clip¹⁰³, pero principalmente complejos del tipo $\text{Cu}(\text{phen})_2^{2+}$, puesto que son buenos oxidantes del ADN en presencia de O_2 o H_2O_2 . El mecanismo de acción general de los compuestos $\text{Cu}(\text{phen})_2^{2+}$ involucra: (i) su reducción en solución a la especie $\text{Cu}(\text{phen})_2^+$, (ii) la unión reversible al ADN, (iii) la reacción con H_2O_2 para generar las especies reactivas y (iv) la abstracción de los protones H-1', H-4' y H-5' de la unidad desoxirribosa del surco menor del ADN, provocando finalmente la escisión del ADN.^{54,104}

3.5.2. Actividad nucleasa oxidativa de Casiopeínas®

En muchos de los resultados experimentales de la interacción de ADN con Casiopeína®, se observa que la fragmentación del ADN está acompañada de una producción notable de especies reactivas de oxígeno (ROS), siendo éstas las

responsables de la citotoxicidad observada. Además, una disminución en la concentración de glutatión (GSH) intracelular indicaba un desbalance redox al administrarse Casiopeínas® en los tejidos tumorales, siendo ésta disminución proporcional a la cantidad de complejo administrada. A partir de estos resultados, Kachadourian y colaboradores⁸⁹ propusieron un mecanismo (figura 3.7) en el cual el GSH intracelular sirve como fuente de electrones para llevar a cabo la reducción de Cu^{2+} de la Cas y generar así el radical glutatilo (GS^\cdot). Posteriormente, el Cu^+ puede reaccionar con el peróxido de hidrógeno generado por la reacción entre la superóxido dismutasa (SOD) y el radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) para producir el radical hidroxilo (HO^\cdot) y regenerar la especie con Cu(II) . Éste radical hidroxilo es quien genera daños en el ADN mitocondrial produciendo la muerte celular.

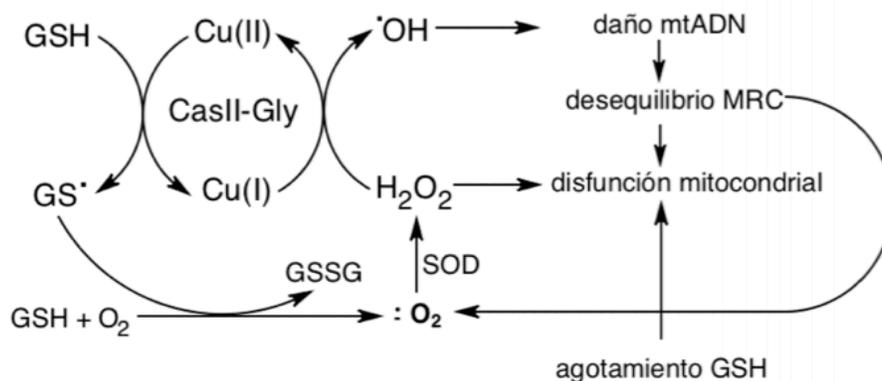


Figura 3.7. Mecanismo propuesto por Kachadourian para la CasII-gly.⁸⁹

En base a ello y con el fin de entender el comportamiento de los complejos en procesos redox que permitieran dar un acercamiento al mecanismo de reacción, Alonso Saenz¹⁰⁵ se encargó de realizar un estudio espectrofotométrico de la reactividad de dos complejos frente a especies reductoras tioladas (glutatión reducido, cisteína y 2-mercaptoetanol).

En el caso del complejo CasII-gly los espectros electrónicos muestran un máximo de absorción alrededor de 612 nm (figura 3.8a) asociada a las transiciones electrónicas que puede tener el metal en los orbitales *d*. Al momento de adicionar alícuotas de cisteína desde 0 hasta 1.2 equivalentes (figura 3.8b), se observa un incremento en la absorbancia y un desplazamiento del máximo de absorción hasta una longitud de onda de 647 nm, además de la aparición de una señal alrededor de 404 nm. Ésta señal de 404 nm aumenta su intensidad

notablemente conforme aumenta la concentración de cisteína añadida. En la literatura se reporta que esta señal se asigna a una transferencia de carga $S(\sigma) \rightarrow Cu_{(dx^2-y^2)}^{2+}$ en metaloproteínas de cobre tipo I (formadas por compuestos de Cu^{2+} con residuos de tipo tiol)¹⁰⁶, lo que nos indica que el azufre de la cisteína se coordina al cobre en la posición axial libre en el complejo, proponiendo la formación de la especie [CasII-gly-S(Cys)]. Si se continua el ensayo agregando desde 1.2 hasta 2 equivalentes (figura 3.8c), el sistema cambia por completo puesto que el máximo en 647 nm disminuye en absorbancia y se desplaza a 652 nm, mientras que el máximo en 404 nm desaparece y se observa la aparición de un punto isobéptico en 507 nm, esto nos indica que se pierde la coordinación del azufre al complejo y que en el sistema están presentes más de una especie de cobre, sugiriendo así la reducción del complejo y la presencia de especies tanto de Cu^+ como de Cu^{2+} . Haciendo la elucidación de los productos obtenidos al final de la reacción, uno de ellos corresponde a la unión de dos moléculas de cisteína mediante un enlace disulfuro.

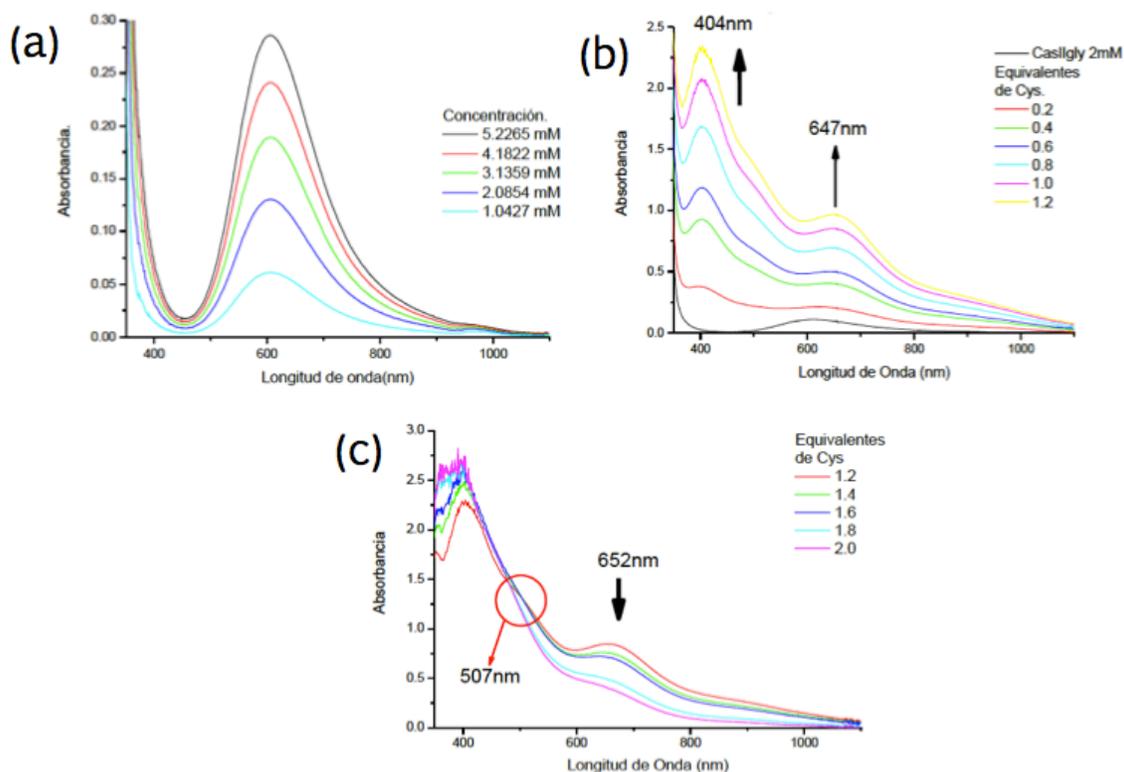


Figura 3.8. Espectros de absorción de: (a) CasII-gly a diferentes concentraciones, (b) CasII-gly+Cisteína, desde 0 hasta 1.2 equivalentes de reductor, (c) CasII-gly+Cisteína desde 1.2 hasta 2.0 equivalentes de reductor.¹⁰⁵

Con el fin de comprobar la coordinación en el sistema y que no se llevara a cabo un proceso de re-oxidación, García Ramos¹⁰⁷ realizó estudios de voltamperometría cíclica para los diferentes equivalentes de cisteína añadidos (figura 3.9). A partir de este ensayo se observó que no hay reducción del Cu(II) en disolución, la sección con valores de potencial más positivos (-325 mV a -242 mV) indica que hay un cambio en la esfera de coordinación con la incorporación de átomos que proporcionen una mayor densidad electrónica, como el grupo tiol. En la parte de oxidación (-15 mV hasta +246 mV) puede observarse la formación de una nueva especie en función de la cantidad de cisteína agregada, esto nos indica que la reducción no es inmediata. Los potenciales de la nueva especie son más positivos que para la Cas, esto significa que el Cu⁺ está coordinado al azufre en un enlace más fuerte que el Cu²⁺, como indica la teoría ácidos y bases duros y blandos de Pearson de acuerdo a la preferencia de unión.

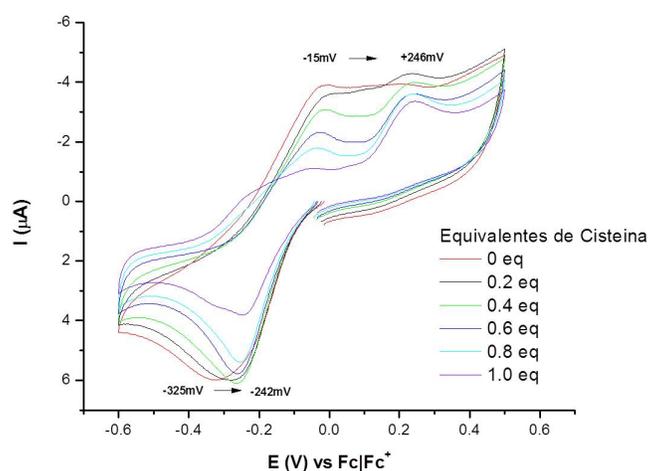


Figura 3.9. Voltamperograma de 4,4-dmbpyacac+Cisteína, variando los equivalentes de reductor desde 0 hasta 1.¹⁰⁷

Puesto que se identificó que se requiere un exceso de tiol para reducir el ión metálico, también se realizó el mismo análisis a los complejos mediante Resonancia Paramagnética Electrónica. En la figura 3.10 se comprueba la reducción del sistema al perderse la señal de Cu²⁺ y se observa la conversión completa a partir de 5 equivalentes de cisteína, puesto que el Cu⁺ es una especie diamagnética que no es posible detectar mediante EPR. Ya que no se tiene un ambiente de reacción inerte, el oxígeno presente cataliza las reacciones de óxido-reducción.

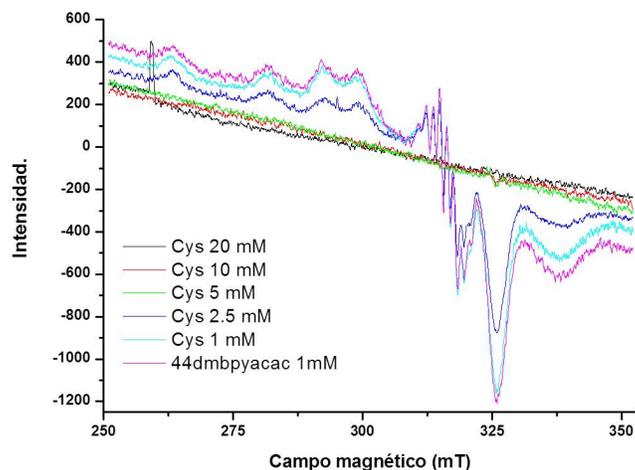


Figura 3.10. Espectro de EPR para 4,4-dmbpyacac+Cisteína, variando la concentración de reductor desde 1mM hasta 20mM.¹⁰⁷

A partir de éstos resultados, el grupo de investigación en Casiopeínas® propone un nuevo mecanismo de acción de los complejos (figura 3.11), en dónde primero ocurre la coordinación del átomo de azufre (ya sea de cisteína o glutatión) con el centro metálico. Una vez formada esta nueva especie va a reaccionar con el exceso de tiol y en presencia de oxígeno molecular se produce el radical superóxido y la Casiopeína® reducida. El radical superóxido en un medio acuoso o en un disolvente prótico reacciona con iones hidronio para generar el radical hidroperoxilo que reacciona con una molécula idéntica para generar el peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular. El peróxido de hidrógeno generado puede reaccionar con la especie de Cu^+ y oxidar el complejo para regenerar el Cu^{2+} y producir finalmente el radical hidroxilo.

Esto nos lleva a mostrar interés en la reacción de reducción-oxidación llevada a cabo por el complejo de cobre:



En la cual, dos equivalentes de Cas reaccionan con dos equivalentes de reductor tipo tiol, observándose un cambio en el estado de oxidación del cobre que produce un cambio en la geometría del complejo y la formación de un enlace disulfuro entre ambas moléculas de reductor.

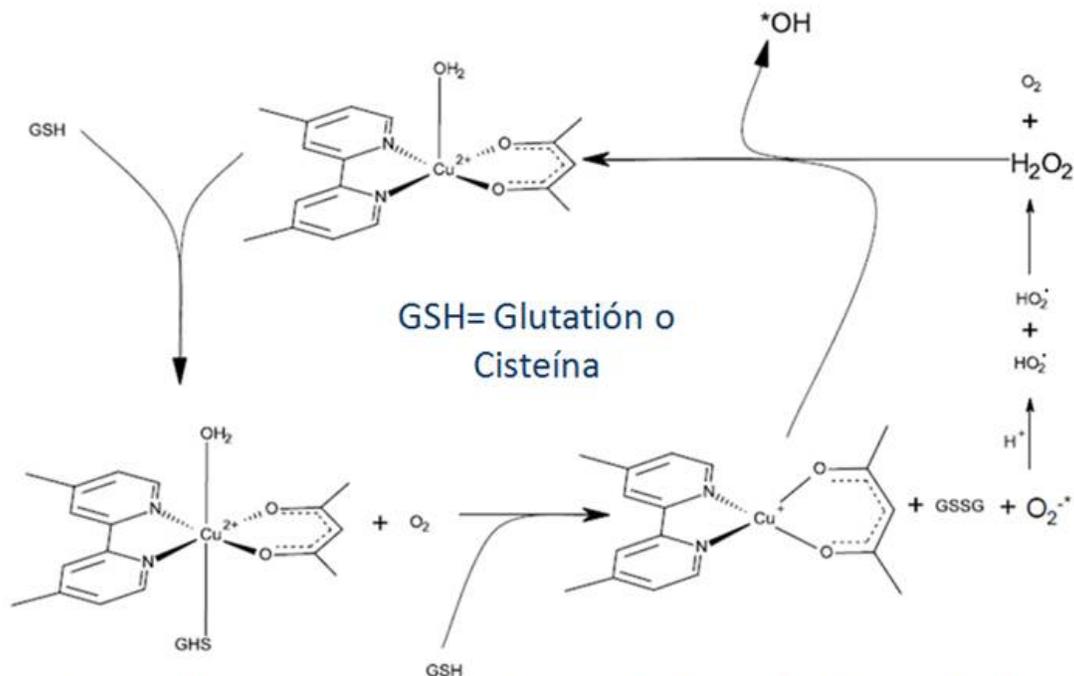


Figura 3.11. Mecanismo de reacci3n propuesto por el grupo de investigaci3n en Casiopeinas®.¹⁰⁷

3.5.3. Actividad nucleasa hidrol3tica

En los 3ltimos a3os se ha puesto mucha atenci3n al entendimiento de los mecanismos por los cuales los f3rmacos interaccionan con los 3cidos nucleicos y su correlaci3n con los efectos biol3gicos. Los f3rmacos que se unen al ADN pueden ser clasificados de acuerdo al tipo de asociaci3n que tienen: agentes que se unen covalentemente, intercaladores, los que interaccionan en el surco y, los recientemente clasificados, agentes que se unen al esqueleto fosfodi3ster.¹⁰⁸

Las reacciones de escisi3n de la hebra de ADN son de considerable inter3s tanto en la comprensi3n de las reacciones de hidr3lisis de 3steres de fosfato (o fosfo3steres) llevadas a cabo en la naturaleza como en el dise3o de nuevas enzimas artificiales. Muchas de las enzimas que llevan a cabo reacciones de desplazamiento nucleof3lico en 3steres de fosfato requieren cationes met3licos para su actividad, y muchos modelos han elucidado la importancia de un ataque intramolecular de hidr3xido coordinado al cati3n met3lico en el 3ster de fosfato para lograr la sustituci3n nucleof3lica.¹⁰⁹

Los mono-, di- y tri3steres de fosfato tienen roles importantes en los sistemas vivos. Las reacciones de fosforilaci3n y de hidr3lisis de los mono3steres de

fosfato juegan un papel importante en el funcionamiento de proteínas, regulación de energía, metabolismo, transducción de señales, y muchos otros procesos. Los diésteres de fosfato son extremadamente resistentes a la escisión solvolítica, haciéndolos funcionales en el esqueleto del ADN y del ARN (figura 3.12). Los triésteres de fosfato no están presentes en la naturaleza y no se sabe que cumplan con alguna función biológica, pero son comercialmente importantes como pesticidas.

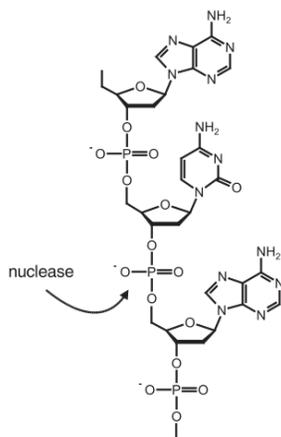


Figura 3.12. Estructura química del ADN (parte de una hebra), y sitio de escisión de nucleasa.

En ausencia de un catalizador, las velocidades de reacción solvolítica de los mono- y diésteres de fosfato con grupos salientes (LG) desactivados son tales que el tiempo de vida media de la hidrólisis de un monoéster es de $\sim 10^{12}$ años, y éstos valores para la hidrólisis del ARN y ADN a condiciones fisiológicas son de $\sim 10^2$ y $\sim 10^8$ - 10^{10} años, respectivamente.¹¹⁰ La estabilidad cinética del enlace fósforo-oxígeno en solución acuosa impone el uso de enzimas para elevar las velocidades de reacción y así ser compatibles con los procesos biológicos. De hecho, las enzimas involucradas en la catálisis de éstas reacciones, como quinasas, ATPasas y fosfatasas, poseen de los mayores valores de actividad catalítica conocidos.¹¹¹

La búsqueda de fármacos antitumorales y sondas se ha centrado en la interacción entre complejos metálicos y ácidos nucleicos. A pesar de que la mayoría de éstos estudios involucran la coordinación del metal a las bases nitrogenadas del ADN o la intercalación de ligantes entre las bases apiladas, otros estudios muestran que el esqueleto fosfodiéster del ADN puede ser el blanco de los complejos metálicos.¹¹² Ejemplo de ello son complejos con vanadio¹¹³ y zinc¹¹⁴, además se ha encontrado que el $\text{Ba}(\text{OH})_2$ es un medio

fuertemente alcalino¹¹⁵ y que amino complejos de Cu^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} y Pb^{2+} bajo condiciones templadas hidrolizan los enlaces fosfodiéster del ADN¹⁰⁹.

Estudios detallados de la hidrólisis de aril-fosfodiésteres mediante complejos de cobalto³⁺ ¹¹⁶ y cobre²⁺ ¹¹⁷ han revelado detalles importantes del mecanismo de la reacción promovida por los metales:

1. Los iones metálicos son ácidos de Lewis; el sustrato coordinado es activado por un ataque nucleofílico al fósforo.
2. La molécula de agua coordinada al metal se activa y se puede producir una especie nucleofílica M-OH, incluso a pH neutro.
3. Cuando están disponibles dos sitios de coordinación en orientación cis-, el ión metálico actúa como plantilla para que los reactivos (hidróxido y fosfodiéster) se mantengan cerca.

Uno de los mecanismos propuestos para los complejos mononucleares de Co^{3+} y Cu^{2+} se muestra en la figura 3.13. Dependiendo de la química de coordinación del metal, sus características pueden contribuir a la activación del sustrato, por ejemplo, formando puentes de hidrógeno con el agua coordinada al metal, estabilizando al grupo saliente alcoholato mediante coordinación al metal, o con una doble activación del ácido de Lewis por dos metales en complejos dinucleares.¹¹⁸

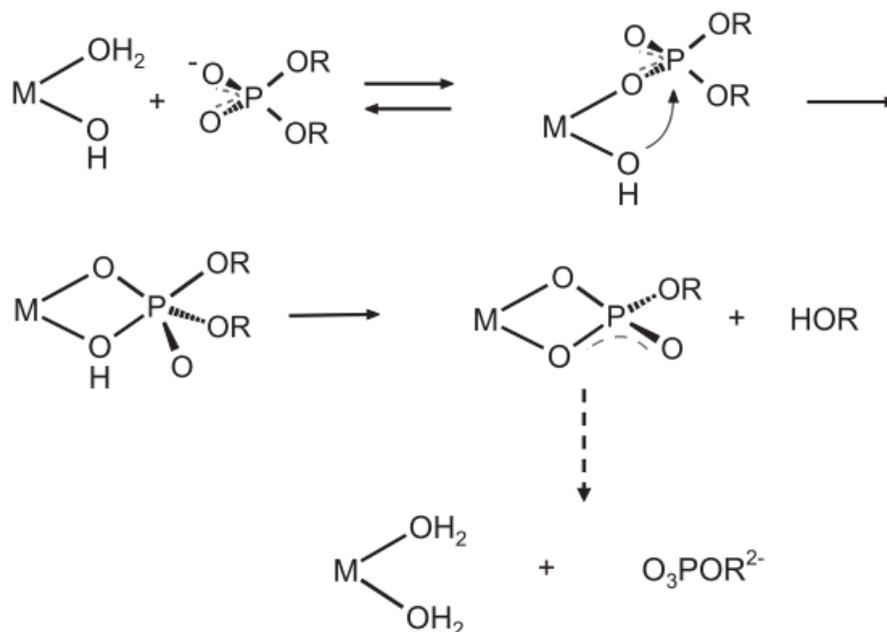


Figura 3.13. Mecanismo aceptado generalmente para la hidrólisis de fosfodiésteres para Co^{3+} y Cu^{2+} . Las cargas del metal se omiten por simplicidad.

De igual forma, se han realizado estudios de la hidrólisis de fosfato incorporando iones metálicos que proporcionan asistencia al grupo saliente (LGA) en reacciones con moléculas pequeñas y que sirvan como modelo para el estudio del mecanismo de reacción de la sustitución nucleofílica en que se ven involucrados los ésteres de fosfato (figura 3.14).

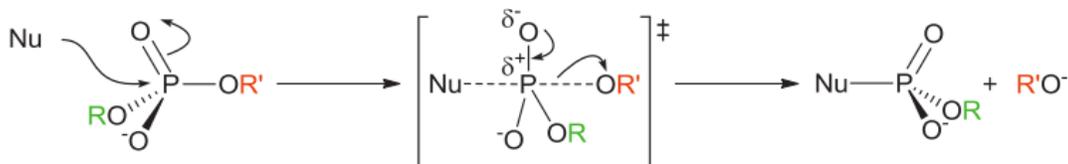


Figura 3.14. Descripción del mecanismo asociativo para la adición nucleofílica de un diéster de fosfato.

Un modelo de éstas reacciones es el propuesto por Raycroft y colaboradores¹, quienes analizaron la reacción de escisión de una serie de mono-, di- y triésteres de fosfato con un átomo de Cu^{2+} coordinado a un grupo 2-fenantrolilo en la posición orto de un fenóxido que actúa como grupo saliente, utilizando agua, metanol y etanol como disolventes, siendo el esquema general de reacción el mostrado en la figura 3.15.

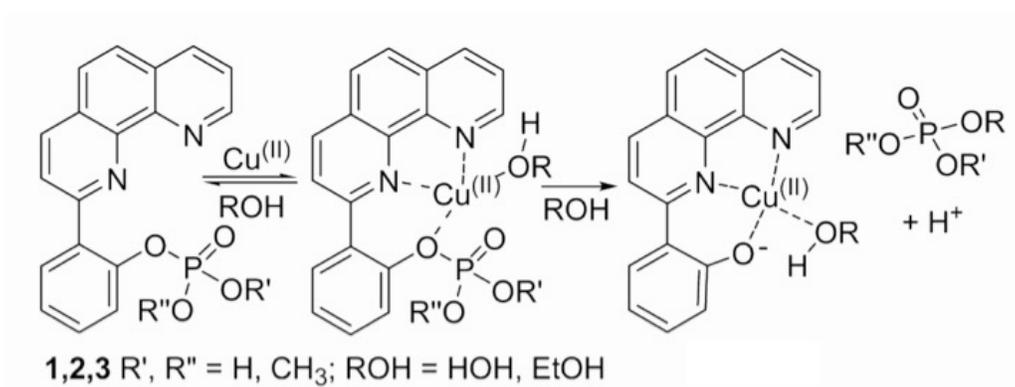


Figura 3.15. Esquema de reacción para la hidrólisis de fosfatos propuesta por Raycroft.¹

A partir de la cinética de reacción, estos autores llegaron a la conclusión de que el disolvente estaba involucrado en el proceso mediante la asistencia al grupo saliente y cambiando el mecanismo, dependiendo del éster, siendo más favorecido el triéster, seguido del diéster y menos notable en el caso de los monoésteres. Los parámetros de activación mostraron que no hay mucha diferencia en el cambio de disolvente de metanol a etanol, puesto que las constantes de reacción en ambos disolventes son muy similares; en cambio, de alcohol a agua si hay una variación en la velocidad de reacción. El efecto de asistir la salida del grupo provocada por el Cu^{2+} en las reacciones de metanólisis resulta en el aumento de la velocidad de reacción de 10^{12} - 10^{15} s^{-1} para los monoésteres, de 10^{12} - 10^{14} s^{-1} para los diésteres, y de 10^5 s^{-1} para los triésteres, en comparación a las reacciones en metanol sin metal. El posicionar el ion de cobre cercano al grupo saliente desarrolla el oxoanión resultando en la relajación del estado de transición de la escisión del enlace P-O(LG) del complejo por la asistencia al grupo saliente debida a la coordinación del Cu^{2+} .

Las dificultades sintéticas de crear un sistema pequeño con la posición apropiada del ion metálico que asista óptimamente al grupo saliente impone muchas limitaciones. Sin embargo, los resultados obtenidos por Raycroft sugieren que en casos optimizados, como algunas enzimas, controlan el posicionamiento del ion metálico, que permite la salida del grupo, siendo éste un acercamiento importante en procesos de catálisis.

3.5.4. Actividad nucleasa hidrolítica de Casiopeínas®: Sitio de reconocimiento molecular

Estudios experimentales de Microscopía de fuerza atómica muestran que la interacción entre las Cas y el ADN existe, en algunos casos incluso es posible observar la ruptura del ADN plasmídico. En este estudio se resalta la importancia de la presencia del sistema aromático con tres anillos (1,10-fenantrolina), respecto al sistema de bipyridinas, ya que en este caso se observan deformaciones estructurales del ADN plasmídico pBR322 y un bajo grado de ruptura del ADN, mientras que en los sistemas con phen se observó un alto grado de ruptura después de 24 horas de incubación.¹¹⁹

A la par, Galindo-Murillo y colaboradores² se encargaron de determinar el sitio de reconocimiento específico entre las Casiopeínas® y el ADN mediante métodos computacionales, haciendo uso de dinámicas moleculares (MD) y cálculos DFT seguidos de un análisis topológico de la densidad electrónica. Inicialmente, construyeron cuatro diferentes cadenas de ADN tipo B: poly-d(AAAAAAAAAA)₂,

poly-d(ATATATATAT)₂, poly-d(GGGGGGGGGG)₂ y poly-d(GCGCGCGCGC)₂. Posteriormente, insertaron manualmente el complejo de tipo Casiopeína® [Cu(2,2'-bipiridina)(acetilacetato)(H₂O)]⁺ en cada cadena de ADN de cuatro diferentes maneras: intercalación entre las bases de (i) el ligante aromático (POS1) o (ii) del ligante no aromático (POS2), así como la colocación en (iii) el surco mayor (MAG) o (iv) en el surco menor (MIG), como se muestra en la primer fila de la figura 3.16. Enseguida se agregaron los contraiones al sistema (Na⁺) y el modelo fue solvatado en una caja de agua. Para todas las simulaciones, después de la dinámica se usaron únicamente los últimos 10 ns (de un total de 100 ns) para el análisis energético. Se obtuvo un promedio de las geometrías obtenidas como punto de partida de una optimización a nivel DFT, para posteriormente obtener la función de onda y calcular las propiedades locales e integradas de la densidad electrónica.

El resultado de la dinámica iniciada en POS1 (ligante aromático), la presencia del complejo de cobre intercalado entre los pares de bases 5-6 resultó en un incremento en el giro, enrollamiento y desplazamiento de las bases en esa región, lo que evidencia la deformación de la doble hélice. En el caso de la intercalación por el ligante no aromático (POS2) se obtuvo el complejo solvatado a excepción del sistema poly-d(AT)₂-POS2, donde el complejo permaneció en la posición de intercalación, incrementando la distorsión de las pares de bases y del backbone del ADN. En todos los casos de simulaciones en el MAG, el complejo se solvató. Mientras que en el MIG, el complejo permaneció en el surco menor, en una posición cercana a los grupos fosfato y los azúcares del esqueleto.

La tabla 3.2 describe los grupos axiales unidos al cobre al final de las MD, así como la energía libre de formación (ΔG) de los aductos formados. En el caso de POS1, inicialmente se encontró una interacción estable que prevalece al final de la dinámica, en donde la Cas está coordinada axialmente al átomo de oxígeno o nitrógeno de las bases a su alrededor. En el caso de la configuración inicial MIG, el oxígeno O1P del fosfato se coordina axialmente al átomo de cobre de la Cas, con una molécula de agua en la segunda posición axial, dando así estabilidad a las simulaciones en el surco menor.

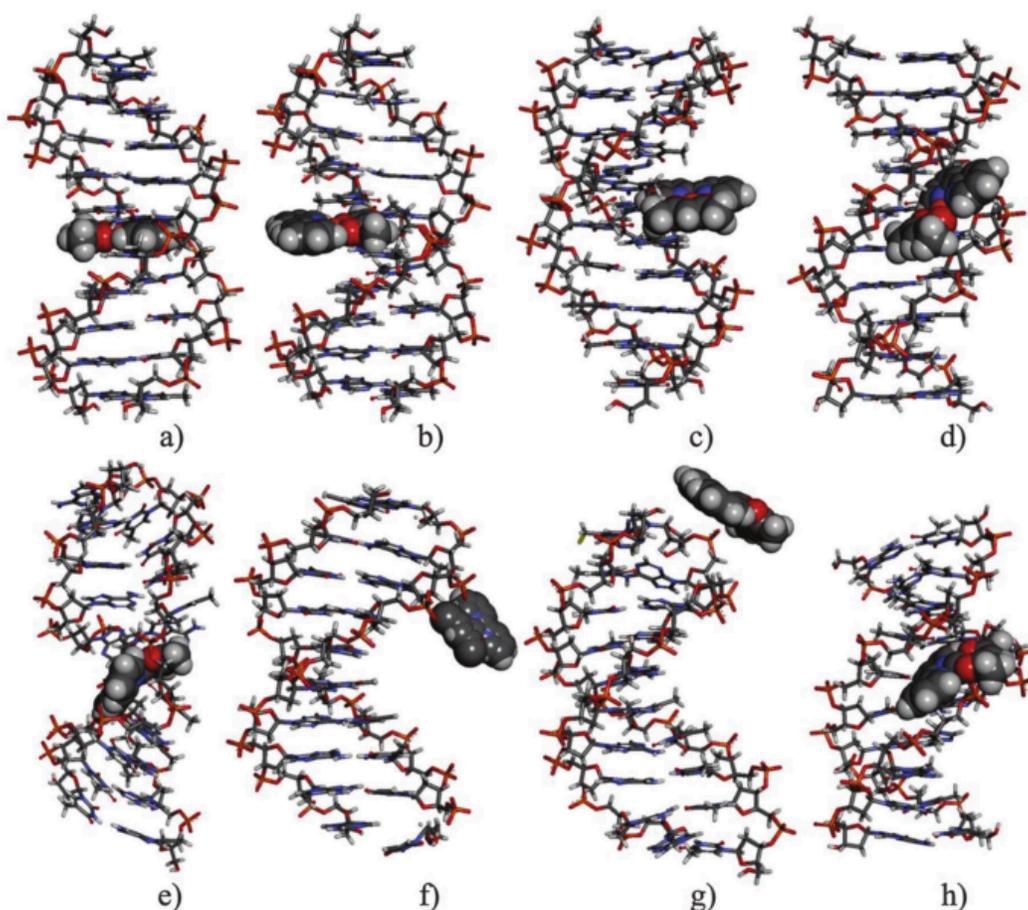


Figura 3.16. Primer fila: posiciones iniciales de Cas con la cadena de ADN: (a) intercalación del ligante aromático (POS1), (b) intercalación del ligante no-aromático (POS2), (c) Cas en el surco mayor (MAG) y (d) Cas en el surco menor (MIG). Segunda fila: estructuras promedio obtenidas en los últimos 10 ns del tiempo de producción: (e) teniendo como punto de partida POS1, el sistema termina con aductos intercalados deformando la hélice, (f) y (g) simulaciones con POS2 y MAG terminaron con la Cas solvatada a una distancia ~ 10 Å alejada del ADN, (h) la Cas permanece en el surco menor en todas las simulaciones MIG.²

Secuencia de ADN	Posición inicial	Grupos axiales	ΔG (kcal mol ⁻¹)
Poly-d(AT) ₂	MIG	DT16:O1P-Cu-OH2	-42.98
Poly-d(AA) ₂	MIG	DA7:O1P-Cu-OH2	-39.75
Poly-d(GC) ₂	MIG	DC8:O1P-Cu-OH2	-38.91
Poly-d(GG) ₂	MIG	DC8:O1P-Cu-OH2	-17.10
Poly-d(AT) ₂	POS1	DT16:O2P-Cu-DT6:O2	-75.96
Poly-d(GC) ₂	POS1	DC6:O2-Cu-DC16:O2	-62.19

Tabla 3.2. Grupos axiales y energías libres de formación de los aductos Cas-ADN más estables.

La figura 3.17 muestra el promedio de la estructura obtenida en los últimos 10 ns de la simulación poly-d(GC)₂-MIG y se aisló del resto de la estructura la región en la que el ligante interactúa con el ADN, esta estructura fue utilizada para el análisis de la densidad electrónica, que consistió en dos azúcar desoxirribosa unidas por un grupo fosfato coordinado axialmente a la Cas, que a su vez está coordinada en la segunda posición axial a una molécula de agua. Después de la optimización, se conserva esta interacción, con una distancia de enlace Cu-OPO₃ de 2.224 Å.

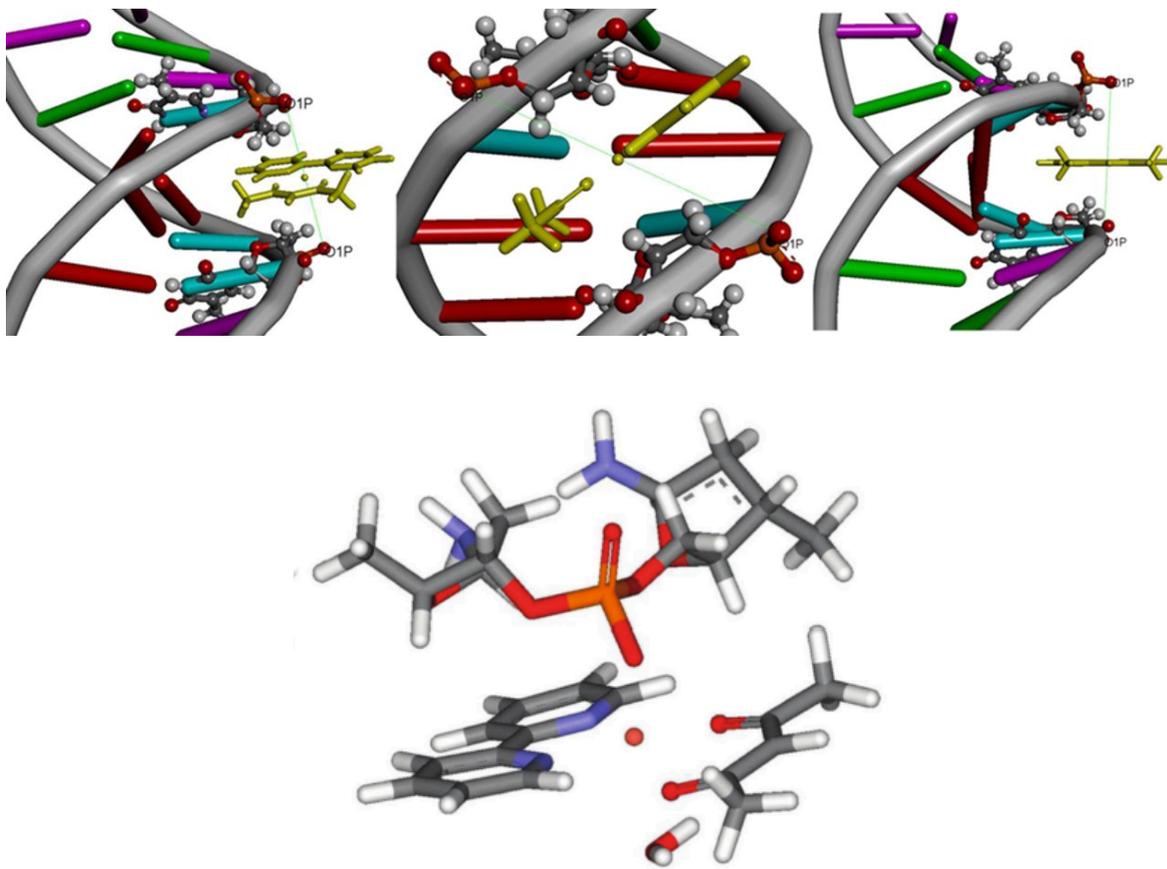


Figura 3.17. Arriba: estructuras representativas de la posición inicial de las dinámicas en el surco menor del ADN.¹²⁰ Abajo: geometría aislada en la que la Cas interactúa directamente con la cadena de ADN, aducto desoxirribosa-fosfato-Cas.²

La figura 3.18 presenta la gráfica molecular del aducto desoxirribosa fosfato-Cas en donde es posible observar interacciones con el sitio de reconocimiento molecular. A partir del análisis de la densidad electrónica, los autores concluyeron que la redistribución electrónica puede explicar el reconocimiento entre la Cas y

el surco menor. En el momento en que se coordina el cobre con el grupo fosfato se produce una transferencia electrónica hacia el metal que compensa la deficiencia de densidad electrónica de los ligantes, y al mismo tiempo, la desoxirribosa dona densidad electrónica a la bipyridina. Ellos sugieren que la ruptura del ADN inicia en este punto de reconocimiento y puede ocurrir por dos caminos: mediante la hidrólisis de los fosfatos o un ataque vía radicales libres a la desoxirribosa. En el primer caso, el átomo de cobre de la Cas unido al grupo fosfato del surco menor puede operar como catalizador de la reacción de hidrólisis.

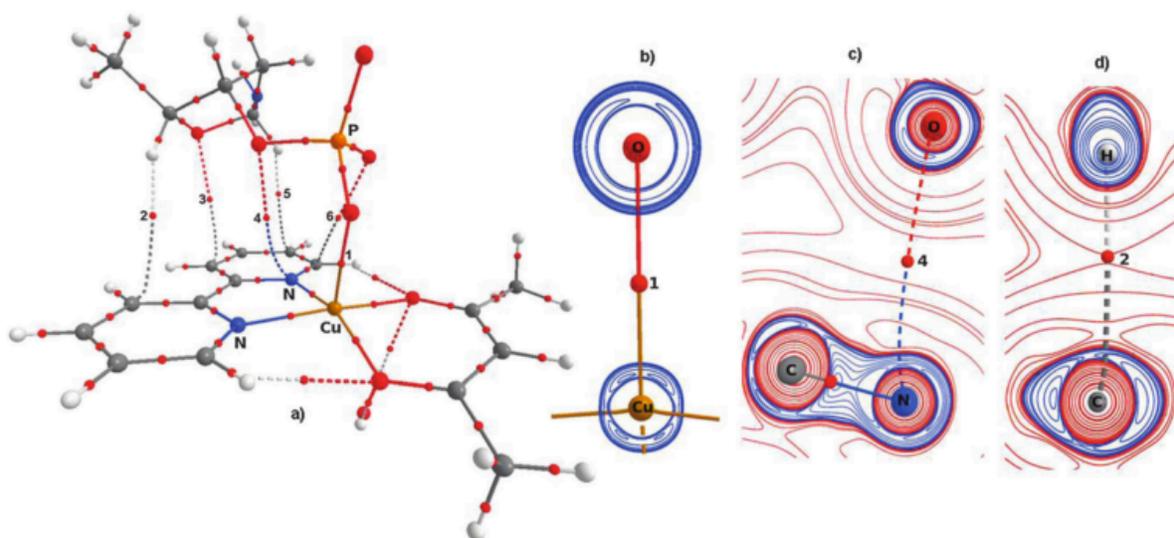


Figura 3.18. (a) Gráfica molecular del aducto desoxirribosa-fosfato-Cas. Mapas de contorno de las interacciones donador-aceptor: (b) O_3PO-Cu , (c) $O \cdots \pi(N)$ y (d) $C-H \cdots \pi$.²

3.6. Reactividad de complejos con metales de transición

En la química de coordinación, muchas reacciones involucran distintos estados electrónicos, en particular superficies de energía potencial (PES) con diferente espín. A diferencia de compuestos con elementos del grupo principal, los complejos formados con metales de transición generalmente presentan estados basales de alto espín al tener muchos electrones desapareados. Esto ocurre cuando: a) el número de electrones d en el metal es intermedio (por ejemplo, de 2 a 8 electrones d), b) el campo ligante es débil debido a la naturaleza del metal o al número de ligantes, y c) en el caso de elementos de la serie $3d$, ya

que presentan interacciones de intercambio entre orbitales compactos. Esto indica que incluso reacciones químicas térmicas de metales de transición son frecuentemente “espín-prohibidas”, es decir, aquellas en que los reactivos y productos involucrados tienen un espín electrónico total diferente, por el contrario, las reacciones “espín-permitidas” son aquellas en que no ocurre un cambio en el espín electrónico.¹²¹

Cuando existe un acoplamiento espín-órbita fuerte entre los diferentes estados involucrados, tales reacciones se producen al igual que cualquier otra, en una sola superficie de energía potencial adiabática cuyo carácter de espín varía suavemente de los reactivos a los productos. Cuando el acoplamiento espín-órbita es débil, la reacción se comportará de manera no-adiabática (muchos estados electrónicos están involucrados). Hay muchos ejemplos bien reconocidos de procesos espín-prohibidos: cruce entre sistemas y fosforescencia son muy comunes en fotoquímica¹²², predisociación mediada por acoplamiento espín-órbita en espectroscopía¹²³, y, en la química de metales de transición, un comportamiento de cruce de espín^{124,125}.

Sin embargo, el efecto de los cambios de espín en la cinética de reacciones térmicas de compuestos con metales de transición no ha sido bien entendido y de hecho, ha sido objeto de discusión hasta hoy en día. Además, tampoco se ha entendido del todo el hecho de que una reacción en donde se transforman reactivos, con un estado de espín, a productos con el mismo estado de espín tome lugar a través de la formación de intermediarios con diferentes estados de espín, que difícilmente son detectables mediante técnicas espectroscópicas por su corto tiempo de vida. Es decir, una reacción de coordinación puede involucrar dos (o más) superficies de espín.

El problema de realizar el seguimiento de una reacción que involucre reactivos y productos diamagnéticos por RMN, es que si existen un cambio de espín y se forman especies paramagnéticas no pueden ser detectadas mediante ésta técnica; en un caso inverso podría hacerse uso de EPR, sin embargo, dicha técnica no es muy conocida dentro de la comunidad científica. Es así que ésta área de estudio puede beneficiarse haciendo uso de la química computacional.

Ejemplo de ello es el trabajo realizado por Li y colaboradores,¹²⁶ quienes se encargaron de realizar un estudio teórico para la reacción $Nb+CH_3CN$, a través de las superficies de energía potencial de los estados sexteto, cuarteto y doblete, obteniéndose el esquema de reacción de la figura A.1, en donde se observa que

existen dos cruces de estado, el primero de ellos (PCP1) entre el estado cuarteto y sexteto, y el segundo (PCP 2) entre los estados cuarteto y doblete.

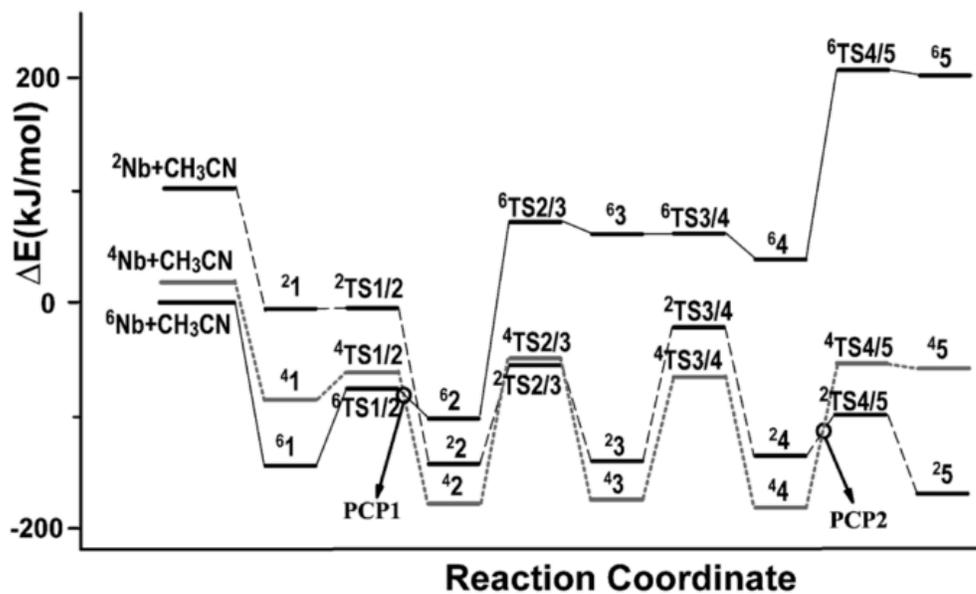


Figura 3.19. Energías relativas para los pasos de la reacción $\text{Nb}+\text{NCCH}_3 \rightarrow \text{CN}(\text{NbH})\text{CH}_3$ para los estados electrónicos sexteto, cuarteto y doblete.¹²⁶

Capítulo IV

METODOLOGÍA

El estudio se centra en el análisis computacional de dos reacciones, para las cuales se siguió la siguiente metodología. Todos los cálculos fueron realizados a nivel de teoría DFT, con el funcional M05-2x y el conjunto de base LanL2Dz en fase gas, con el programa Gaussian09¹²⁷ y el visualizador GaussView 5.0.9¹²⁸. El estudio de las propiedades atómicas derivadas de la densidad electrónica se realizó con la paquetería AIMAll, versión 16.01.09¹²⁹.

4.1. Reacción de formación de enlace disulfuro

Inicialmente se llevo a cabo la construcción de las moléculas que sirvieron de base para el resto de los estudios, éstas fueron: Cisteína, Cistina y la Casiopeína®: CasII-gly ([Cu(4,7-dimetilfenantrolina)(glicinato)(H₂O)]⁺); para posteriormente ser optimizadas.

Como una primera aproximación de la interacción en el sistema, se realizó el cálculo de la energía de interacción del sistema CasII-gly-cys, formado por el complejo de cobre con una molécula de cisteína coordinada en la posición axial libre del centro metálico. Se calculó la energía de interacción a partir de la siguiente relación en base a las energías obtenidas para las moléculas optimizadas:

$$\Delta E_{int} = E_{complejo} - E_{Cas} - E_{cys}$$

Considerando la relación estequiométrica obtenida en los estudios experimentales y la propuesta de mecanismo de acción del grupo de investigación de Casiopeínas® (ver figura 3.10), se propuso una estructura para el sistema en estudio construida a partir de las moléculas base previamente optimizadas, buscando que permitiera de mejor forma la transferencia electrónica entre los átomos de cobre y azufre. El sistema en estudio (2Cas-2Cys) consiste en dos moléculas de complejo y dos moléculas de cisteína, acomodadas de la forma

Cas-Cys-Cys-Cas que se ve representada en la figura 4.1. A partir de esta estructura se propone el mecanismo de reacción señalado en la misma figura con flechas rojas, en el cual primero se lleva a cabo una coordinación entre los átomos de azufre y los átomos de cobre más cercanos a ellos, posteriormente esta densidad electrónica se deslocaliza de tal manera que el cobre sufrirá un cambio en el estado de oxidación (y por tanto, un cambio en la geometría), observando finalmente la formación del enlace disulfuro.

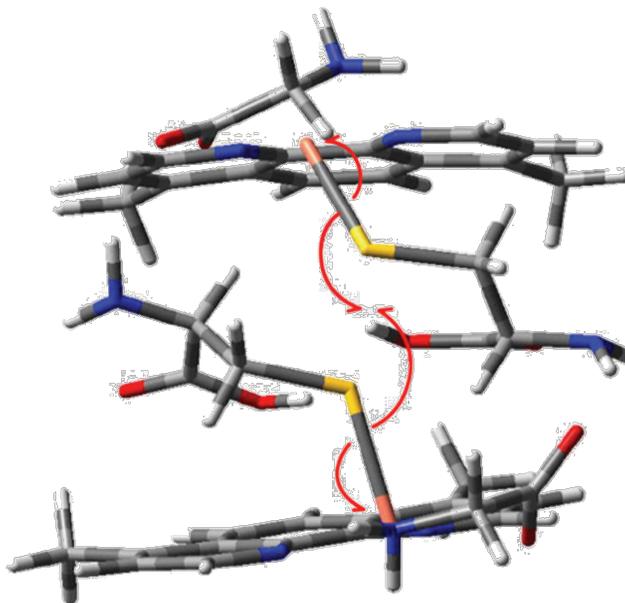


Figura 4.1. Sistema 2Cas-2Cys y propuesta de mecanismo de transferencia electrónica.

Tomando en cuenta que se lleva a cabo un cambio en el estado de oxidación de los átomos de cobre presentes en el sistema 2Cas-2Cys es necesario considerar dos estados electrónicos totales del sistema: a) Cuando ambos metales se encuentran en estado de oxidación 2+ con una geometría cuadrado plana, el cobre tiene una configuración electrónica d^9 , resultando dos electrones no apareados en el sistema y por tanto un estado electrónico triplete; b) Cuando ambos metales se encuentran en estado 1+ con una geometría tetraédrica, se tiene una configuración electrónica d^{10} para los cobres, es decir, no se tendrán electrones no apareados y por tanto resulta un estado electrónico singlete para todo el sistema. Ambos estados electrónicos fueron considerados para la optimización del sistema propuesto.

A partir de éstas estructuras optimizadas, se construyó la curva de energía potencial para ambos estados electrónicos haciendo uso del método de optimización parcial¹²¹ a partir de un barrido relajado de la distancia de enlace

entre ambos azufres en las cisteínas (S36-S84) desde 3.52 hasta 2.32 Å para el estado triplete y desde 3.52 hasta 2.12 Å, con decrementos de 0.02 Å calculando un total de 47 y 57 puntos, respectivamente. Una vez que se tienen ambas curvas de energía potencial se identifica el punto de cruce de mínima energía (MECP), es decir, aquel en que ocurre el cambio en el estado electrónico del sistema.

Posteriormente, se realizó un cálculo de frecuencias de cada uno de los puntos de ambas curvas de energía potencial, para a partir de la contribución de la energía electrónica, traslacional, rotacional y vibracional obtener una aproximación del cambio en la energía libre de Gibbs de la reacción.

Finalmente, se llevó a cabo el análisis de las propiedades atómicas derivadas de la densidad electrónica: población electrónica [N(A)] y población de espín [N_spin(A)]. De igual forma, se construyeron los contornos y las isosuperficies del laplaciano de la densidad total y densidad de espín.

4.2. Reacción de hidrólisis de fosfatos

Este estudio se divide en dos modelos: el primero de ellos consiste en el propuesto por Raycroft y colaboradores¹; y el segundo de ellos se basa en los resultados obtenidos en el modelo 1 para aplicarlos a un complejo de tipo Casiopeína®, basados en los resultados teóricos obtenidos por Galindo, *et al.*

4.2.1. Modelo 1: hidrólisis de fosfatos

Inicialmente se construyeron y optimizaron las moléculas involucradas en la reacción de hidrólisis de Raycroft, que se muestran en la figura 4.2, obteniendo así el perfil de reacción, considerando que se involucran una y dos moléculas de disolvente como nucleófilos. Enseguida se realizó un análisis del efecto de 6 sustituyentes en la parte aromática de la molécula (1,10-fenantrolina) en base a los que conforman la familia de Casiopeínas®, como son: 4-metil, 5-metil, 4,7-dimetil, 5,6-dimetil, 3, 4, 7, 8-tetrametil y 5-cloro.

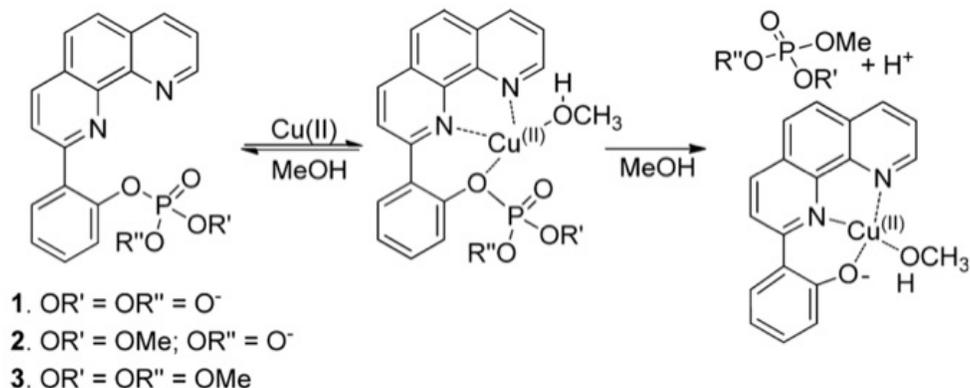


Figura 4.2. Reacción de metanólisis propuesta por Raycroft.¹

Enseguida se realizó un cálculo QST3 con el fin de buscar el estado de transición en la reacción. Con la geometría obtenida de dicho cálculo, se realizó una optimización con la aproximación de Berny para obtener el estado de transición. Para confirmar el estado de transición se realizaron cálculos de coordenada intrínseca de reacción, tomando la geometría, los orbitales y las frecuencias de su estado de transición asociado, considerando 200 puntos con un tamaño de paso de 0.05 u.a.

4.2.2. Modelo 2: sitio de reconocimiento molecular

Se consideró para este estudio la estructura de equilibrio obtenida por Galindo y colaboradores² en la que después de una simulación de 100 ns aislaron la región en la cual el ligante interacciona con el surco menor del ADN. La figura 4.3 muestra la geometría que conforman dos azúcares desoxiribosa unidos por un grupo fosfato interactuando con la CasIII-Da ($[Cu(2,2' - bipiridina)(acetilacetato)(H_2O)]^+$).

Para dicha geometría se realizó un cálculo de optimización con la aproximación de Berny, para identificar la estructura del estado de transición. Posteriormente, se corroboró el estado de transición para la hidrólisis de esta geometría con dos moléculas de disolvente a partir de un cálculo de coordenada intrínseca de reacción, considerándose 62 puntos con un tamaño de paso de 0.12 u.a.

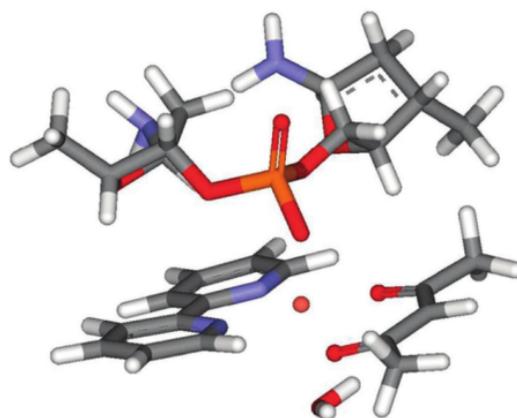


Figura 4.3. Geometría del aducto desoxirribosa-fosfato-Cas obtenida por Galindo, *et al.*²

Finalmente, se realizó un barrido relajado de la distancia de enlace entre el oxígeno de la molécula de metanol y el fósforo, variando la distancia de enlace desde 2.736 hasta 1.636 Å, con decrementos de 0.02 Å.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados obtenidos para dos reacciones mediadas por cobre (II), resaltando que ambas reciben un tratamiento diferente puesto que la primera de ellas implica un cambio en el estado de oxidación del metal, mientras que la otra consiste en una sustitución nucleofílica.

El conjunto de estos resultados permite dar una aproximación al estudio de las interacciones más importantes que se cree ocurren durante el mecanismo de acción de las Casiopeínas® en el organismo, considerando que los sistemas que enseguida se presentan son modelos simples en comparación a lo que ocurre en los complejos sistemas *in vivo*.

5.1. Reacción de formación de enlace disulfuro

Esta sección está enfocada al estudio de la reacción de formación de un enlace disulfuro entre dos moléculas de un reductor tipo tiol, como la cisteína, en la cual se ve involucrado un proceso de reducción del cobre. El fin de éste análisis es soportar los estudios experimentales obtenidos por el grupo de investigación en Casiopeínas® (ver sección 3.5.2), que nos indican la estequiometría de reacción y evidencias experimentales de un mecanismo de reacción para la interacción entre éstos complejos y los tioles.

5.1.1. Optimización

La geometría de mínima energía de las moléculas que sirvieron como base para la construcción del resto de los sistemas se muestra a continuación. En el caso de la CasII-gly, se optimizaron dos complejos: uno que corresponde únicamente a la coordinación del cobre con los ligantes primario y secundario; y otro añadiendo una molécula de agua en la posición axial, justo como se obtienen las estructuras cristalinas. Las distancias de los enlaces de coordinación del cobre obtenidas a partir de la optimización se muestran en la parte inferior de cada molécula de la tabla 5.1, resaltando que cuando se añade una molécula en una de las posiciones axiales libres, las distancias de los enlaces de coordinación se elongan. Los datos resueltos de la estructura cristalina para la CasII-Gly se

muestran en paréntesis⁸², con el fin de comparar las distancias obtenidas a partir de los cálculos. Se puede observar que las distancias calculadas muestran una desviación máxima respecto a las experimentales de 0.12 Å. Además, es posible resaltar que efectivamente el complejo con Cu²⁺ presenta geometría cuadrado plana o pirámide de base cuadrada.

En el caso del sistema tiolado, se encontró la geometría de mínima energía tanto de la cisteína como de la molécula de cistina (dos moléculas de cisteína unidas mediante un puente disulfuro). Para la molécula de cistina se obtuvo una distancia de enlace S-S de 2.25 Å. Esta distancia nos servirá como punto de comparación durante el proceso de formación del enlace disulfuro en el sistema en estudio.

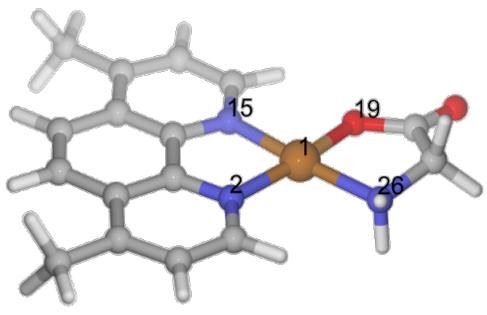
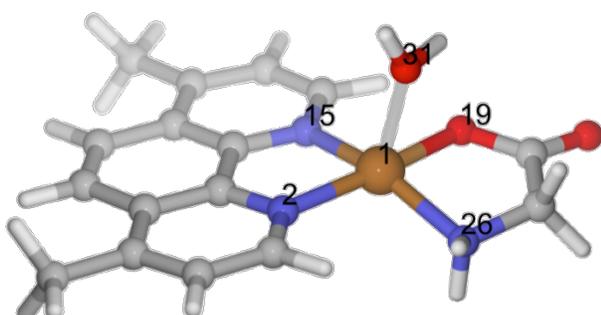
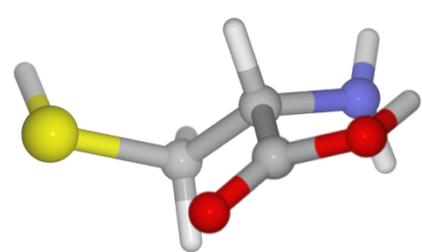
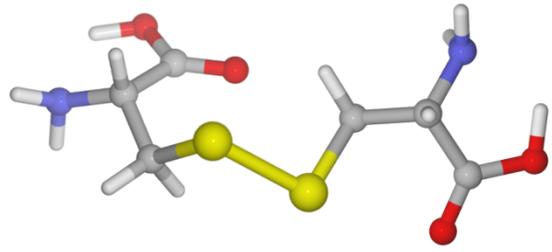
	
<p>CasII-gly</p> <p>Cu(1)-N(2) = 2.032 Å</p> <p>Cu(1)-N(15) = 1.982 Å</p> <p>Cu(1)-N(26) = 2.053 Å</p> <p>Cu(1)-O(19) = 1.882 Å</p>	<p>CasII-gly-H₂O</p> <p>Cu(1)-N(2) = 2.046(2.041) Å</p> <p>Cu(1)-N(15) = 2.005(2.022) Å</p> <p>Cu(1)-N(26) = 2.070(1.949) Å</p> <p>Cu(1)-O(19) = 1.920(1.969) Å</p> <p>Cu(1)-O(31) = 2.197(2.209) Å</p>
	
<p>Cisteína</p>	<p>Cistina</p> <p>d(S-S) = 2.259(2.05) Å</p>

Tabla 5.1. Distancias de enlace obtenidas de la minimización de las geometrías. Datos cristalográficos o reportados en la literatura en paréntesis.

5.1.2. Energía de interacción

Con el fin de realizar una primera aproximación de la interacción que existe entre las Casiopeínas® (Cas) y la cisteína (Cys), se calculó la energía de interacción (ΔE_{int}) a partir de la relación:

$$\Delta E_{\text{int}} = E_{\text{complejo}} - E_{\text{Cas}} - E_{\text{Cys}}$$

en donde a la energía total del complejo Casiopeína-Cisteína se le resta la energía de la Casiopeína® y de la cisteína aisladas con la misma conformación.

La energía se calculó para el complejo CasII-gly-Cys, formado a partir de la coordinación de una molécula de cisteína a la CasII-gly en la posición axial libre del centro metálico (figura 5.1), a partir del cálculo se obtiene una ΔE_{int} de $-28.5 \text{ kcal mol}^{-1}$, indicando que la interacción $\text{S} \rightarrow \text{Cu}$ estabiliza al complejo, la distancia de enlace para ésta interacción Cu-S es de 2.998 \AA . Cabe resaltar que uno de los oxígenos de la cisteína interacciona con dos hidrógenos del complejo, uno de la parte aromática y otro del grupo diimina del ligante secundario, sugiriendo que esta interacción contribuye a la estabilización total del sistema.

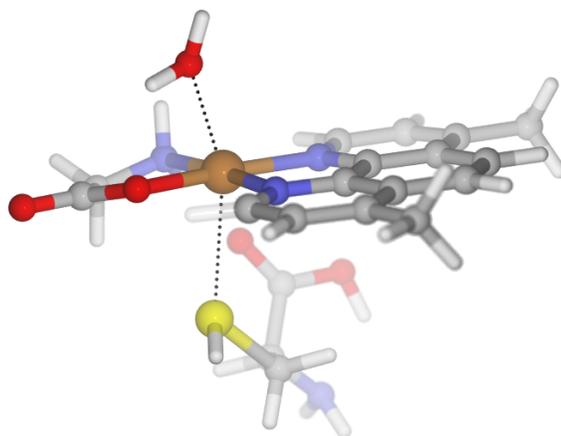


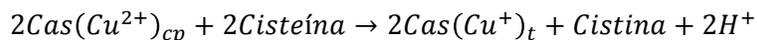
Figura 5.1. Geometría del complejo CasII-gly-Cys.

La confirmación de esta interacción $\text{S} \rightarrow \text{Cu}$ nos llevó a proponer un sistema que permitiera una transferencia electrónica eficiente para la formación del enlace disulfuro.

5.1.3. Construcción del sistema 2CasII-gly-2Cys

En base a los resultados experimentales obtenidos en el grupo de Casiopeínas® (ver sección 3.5.2), la reacción entre éstos complejos y los reductores tiene una

estequiometría 1:1, puesto que para formar el enlace disulfuro se involucran dos moléculas de Cys en la reacción en estudio es:



A partir de ésta estequiometría se propuso que el sistema estuviera conformado por dos moléculas de Cys en la parte central y dos moléculas de complejo en los extremos, de tal forma que ambos átomos de azufre pudieran interactuar cada uno con un átomo de cobre y así observar inicialmente la donación $S(\sigma) \rightarrow Cu_{(dx^2-y^2)}^{2+}$ observada en los espectros experimentales, para posteriormente irse acercando lo suficiente hasta formar el enlace disulfuro. Una vez construido el sistema se buscó la geometría de mínima energía para ambos estados electrónicos totales que se describirán con más detalle enseguida.

a) Estado triplete: ocurre cuando ambos iones metálicos tienen una configuración electrónica d^9 , un estado de oxidación 2+ y electrones desapareados con el mismo espín. La geometría de mínima energía obtenida para este sistema se muestra en la figura 5.2, para la cual se obtuvo una distancia de enlace S-S de 2.86 Å, por tanto podría considerarse que los átomos de azufre no están suficientemente cerca para formar un enlace disulfuro. Cabe resaltar que la geometría adoptada por el centro metálico superior (Cu49) es de tipo cuadrado plana, acorde a la geometría preferida para los sistemas con cobre(II), mientras que en el cobre inferior (Cu1) el oxígeno del ligante secundario se aleja del metal acercándose más a una geometría trigonal, como consecuencia de la formación de una interacción de puente de hidrógeno entre el oxígeno desplazado y uno de los hidrógenos de la molécula de agua del complejo.

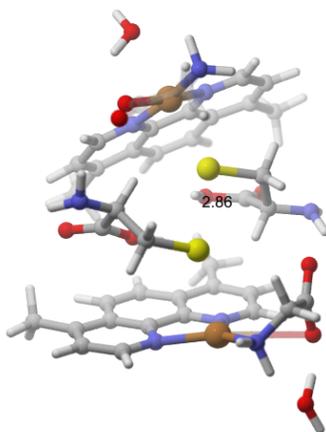


Figura 5.2. Geometría optimizada del sistema 2CasII-gly-2Cys del estado triplete.

b) Estado singlete: ocurre cuando ambos iones metálicos tienen una configuración electrónica d^{10} , un estado de oxidación 1+ y por tanto se trata de un sistema de capa cerrada. La geometría de mínima energía para este caso puede observarse en la imagen 5.3. La distancia de enlace disulfuro obtenida es de 2.29 Å, muy similar a la distancia de enlace en la cistina. En cuanto a los átomos metálicos, tanto el Cu49 como el Cu1 presentan una geometría tetraédrica, preferida para los complejos con Cu^+ , en donde el agua desplaza al oxígeno del ligante secundario de su posición al formar un puente de hidrógeno.

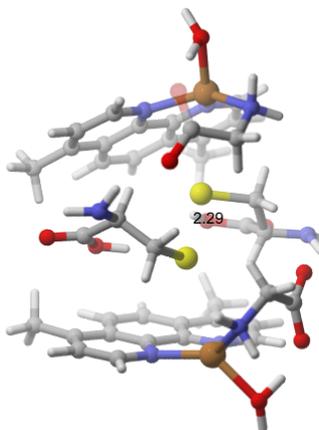


Figura 5.3. Geometría optimizada del sistema 2CasII-gly-2Cys del estado singlete.

Cabe aclarar que en todos los casos se removió el protón del grupo carboxílico de la molécula de cisteína, puesto que a condiciones fisiológicas, la cisteína se encuentra en su forma zwitteriónica.

5.1.4. Curvas de Energía Potencial

La construcción de las curvas de energía potencial para el estado triplete y el estado singlete se realizó a partir de un barrido de la distancia de enlace azufre-azufre de ambas moléculas de cisteína ubicadas en la parte central del sistema 2CasII-gly-2Cys, a continuación se hará una descripción de cada una de ellas.

5.1.4.1. Estado triplete

En el caso del estado triplete se partió de ambos azufres alejados a una distancia de 3.26 Å, disminuyendo esta coordenada de enlace 0.02 Å hasta una distancia de enlace final de 2.32 Å. La imagen 5.4 muestra las geometrías al inicio y final del barrido relajado y la curva de energía potencial para el estado triplete constituida por 47 puntos, a partir de la cual se concluye que el proceso

disminuye su energía hasta encontrar la geometría de un mínimo local a partir del cual aumenta su energía considerablemente conforme la distancia S-S disminuye.

Al inicio del barrido se aprecia que ambos complejos presentan una geometría de pirámide de base cuadrada. A pesar del acercamiento realizado entre ambos átomos de azufre, no se observa como tal la formación de un enlace, lo que nos permite proponer que la formación de la cistina es difícil de llevar a cabo en un estado triplete del sistema 2CasII-gly-2Cys. En cuanto al complejo superior (Cu49), éste sólo sufre una ligera distorsión de la geometría cuadrado plana, pero no lo suficiente para considerarse un cambio, mientras que el ligante secundario y la molécula de agua unidos al cobre del complejo inferior (Cu1) se alejaron del metal, fortaleciendo un puente de hidrógeno entre el oxígeno de la glicina y un átomo de hidrógeno del agua de la posición axial del cobre.

Cabe resaltar que en la curva de energía potencial se ubica la geometría de mínima energía obtenida al optimizar el estado triplete, señalada con el marcador en triángulo, que concuerda con el mínimo local obtenido a partir de la curva (figura 5.4).

5.1.4.2. Estado singulete

En cuanto al estado singulete la distancia inicial fue 3.26 Å, pero considerando que la distancia de enlace disulfuro obtenida en la optimización de la molécula de cistina fue de 2.26 Å, se buscó llegar a una distancia menor continuando la curva hasta 2.12 Å, obteniendo un total de 57 puntos con un decremento de 0.02 Å. Esto permitió hallar un mínimo local a una distancia S-S igual a 2.28 Å. Conforme la reacción avanza es posible notar que ambos átomos de cobre presentan una geometría tetraédrica que no sufre cambios. En la parte final del barrido, desde 2.38 hasta 2.22 Å, la cercanía entre los átomos de azufre permite la formación de un enlace, y considerando la distancia de enlace obtenida para la molécula de cistina (2.26 Å) es posible proponer que éste enlace disulfuro puede formarse cuando están presentes especies con Cu⁺. La imagen 5.5 muestra las geometrías inicial, final y la curva de energía potencial obtenida para el estado singulete. De igual forma que en el estado triplete, se señala con un marcador triangular el mínimo obtenido en la optimización del sistema que concuerda con el mínimo de la curva de energía.

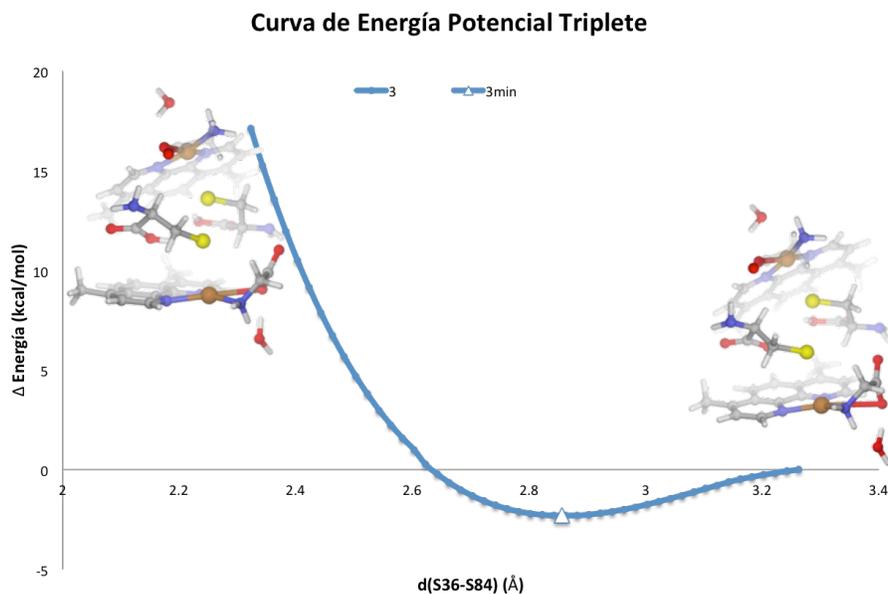


Figura 5.4. Curva de Energía Potencial con geometrías inicial y final del estado triplete.

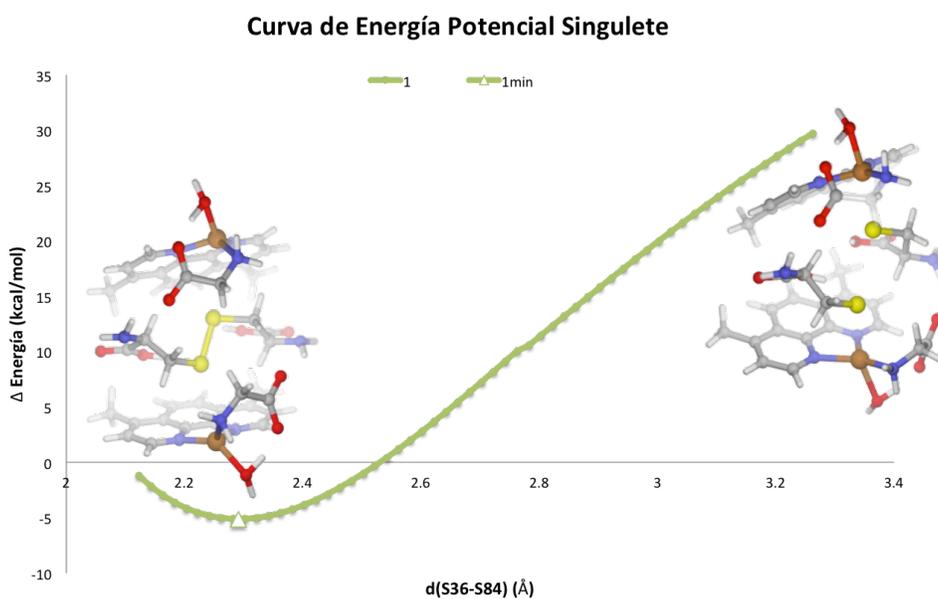


Figura 5.5. Curva de Energía Potencial con geometrías inicial y final del estado singlete.

5.1.4.3. Punto de Cruce de Mínima Energía

Al sobreponer las curvas de energía potencial (figura 5.6) se comprueba el cruce entre ambos estados y es posible identificar de manera cualitativa el punto de cruce de mínima energía (MECP) a una distancia de enlace S-S igual a 2.58 Å, indicando que a ésta distancia ocurre el cambio en el estado electrónico del

estado triplete al estado singulete. Es necesario hacer notar que se requiere de un cálculo especial para determinar la geometría exacta del MECP, en el cual estamos trabajando actualmente por lo que no fue posible incluirlo en los resultados de esta tesis.

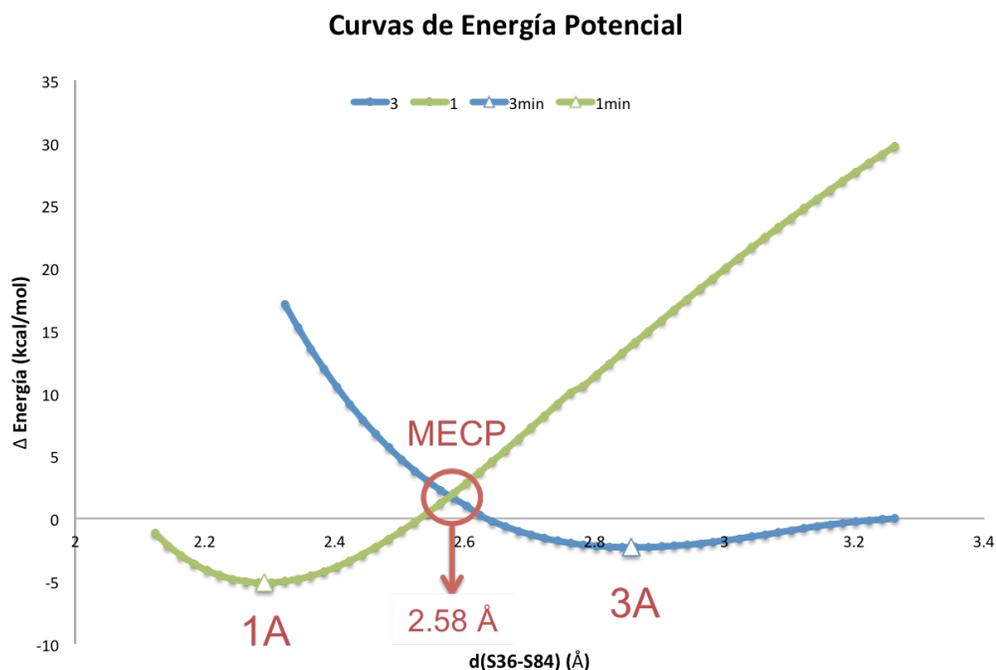


Figura 5.6. Curvas de energía potencial del sistema 2CasII-gly-2Cys, para los estados electrónicos triplete (azul) y singulete (verde).

En cuanto al cambio energético del sistema, el mínimo de la curva de energía electrónica para el estado triplete (indicado con el marcador triangular en la curva azul y señalado con la leyenda 3A) se encuentra $2.29 \text{ kcal mol}^{-1}$ por debajo de la geometría inicial de barrido para este estado electrónico; al final del proceso, cuando la distancia S-S es de 2.32 Å en el estado triplete, la geometría se encuentra 17 kcal mol^{-1} por encima de la geometría inicial. Respecto al estado singulete, la geometría inicial con una distancia de enlace 3.26 Å se encuentra alrededor de 30 kcal mol^{-1} por encima de la geometría inicial del estado triplete. Conforme disminuye la distancia de enlace S-S, esta barrera energética disminuye hasta un mínimo que se encuentra 5 kcal mol^{-1} por debajo de la geometría triplete inicial. Para llevar a cabo el cambio en el estado electrónico del sistema es necesario vencer una barrera de alrededor de $4.3 \text{ kcal mol}^{-1}$ respecto al mínimo de la curva triplete. El conjunto de estos valores nos indican que el proceso es energéticamente favorable.

La figura 5.7 muestra las geometrías obtenidas para el punto de cruce de mínima energía (MECP) tanto para el estado triplete como singulete. La diferencia significativa entre ambos sistemas es la geometría de los centros metálicos: para el estado triplete se trata de una geometría cuadrado plana en ambos iones, mientras que en el estado singulete ambos metales presentan una geometría tetraédrica. En el caso del estado singulete es posible notar que los átomos de azufre están mejor orientados hacia la formación de un enlace y en conjunto con la geometría tetraédrica de ambos complejos se favorece un ambiente que permite la formación del enlace disulfuro.

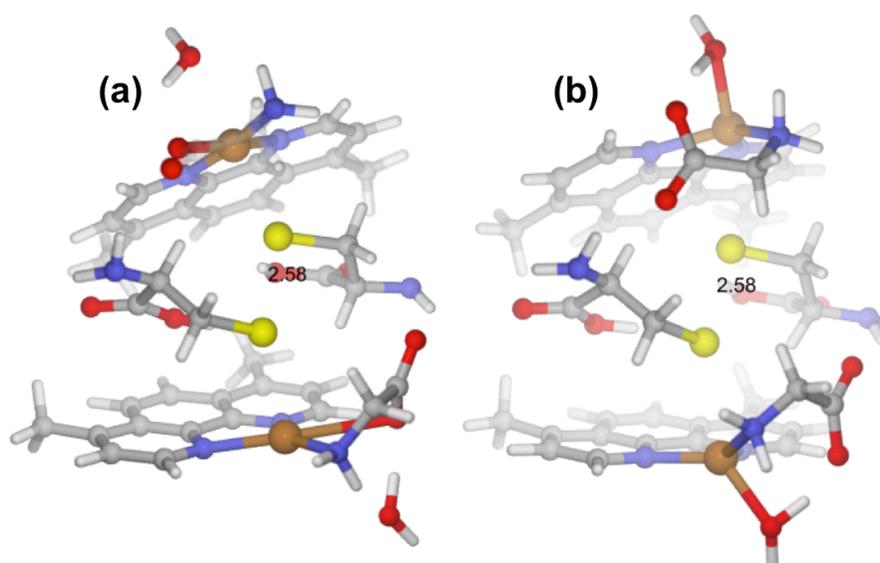


Figura 5.7. Geometría del MECP para (a) el estado triplete y (b) el estado singulete.

5.1.4.4. Energía libre de Gibbs

La energía libre de Gibbs obtenida a partir de un cálculo de frecuencias de los puntos que constituyen las curvas de energía electrónica, tiene un comportamiento casi idéntico a dichas curvas, como puede observarse en la figura 5.8. En el caso de la energía libre para el estado triplete (línea azul), la variación de energía libre de Gibbs es positiva, por tanto se trata de un proceso no espontáneo, que conforme la reacción transcurre se vuelve un proceso desfavorable para el sistema explicando así la búsqueda de un cambio en el ambiente electrónico del sistema. A diferencia del estado triplete, la variación de la energía libre de Gibbs para el estado singulete (línea verde) es negativa, es

decir, disminuye conforme el proceso continúa, tratándose así de una reacción de tipo espontánea y por tanto un proceso favorable para el sistema.

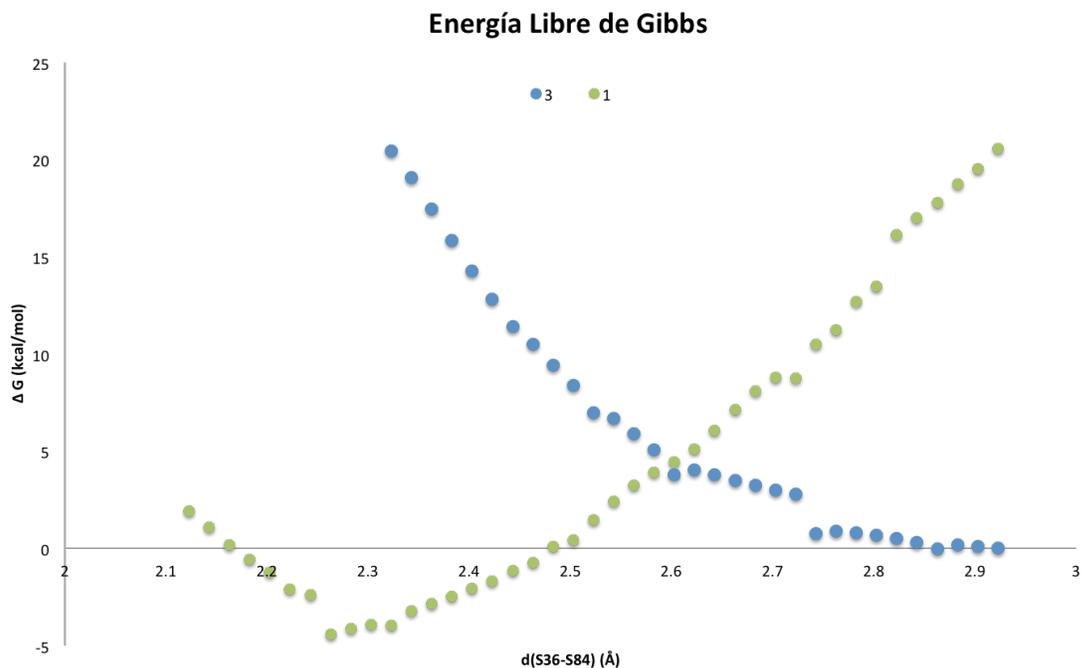


Figura 5.8. Cambio en la Energía libre de Gibbs conforme avanza la reacción.

El cambio en la energía libre de Gibbs a lo largo de la reacción sugiere que el cruce entre sistemas puede llevarse a cabo a una distancia entre 2.58 y 2.60 Å, un poco mayor a la sugerida a partir de las curvas de energía electrónica. Esto nos permite no considerar un punto exacto sino más bien un intervalo de distancia S-S a la cual la densidad electrónica se redistribuye de tal forma que se promueve un cambio en el estado electrónico con el fin de buscar la estabilidad total del sistema en estudio.

5.1.4.5. Reacción $3A \rightarrow 1A$

Tomando como punto de partida las geometrías optimizadas para el sistema 2CasII-gly-2Cys de ambos estados electrónicos, se construyó el siguiente diagrama de reacción (figura 5.9). Los estados iniciales 3A y 1A son las geometrías de mínima energía para el estado triplete y singulete, respectivamente. Las geometrías finales 3B y 1B fueron obtenidas a partir de un cálculo de punto simple de las geometrías iniciales pero con el estado electrónico inverso, es decir, el estado final 3B está determinado por la geometría 1A pero con estado electrónico triplete, mientras que el estado final 1B está conformado por la

geometría 3A con una configuración singlete, partiendo de la premisa de que ambos estados electrónicos pueden presentar la misma geometría conforme avanza la reacción.

En cuanto a los datos energéticos de éstos sistemas podemos resaltar que el producto de reacción, la geometría 1A, es sólo 2.8 kcal/mol más estable que el reactivo (geometría 3A) favoreciéndose así este proceso. En cambio, el seguir ambas curvas de energía potencial conlleva un gasto de energía de 38 kcal/mol para el estado triplete y de 53 kcal/mol para el estado singlete, lo que nos indica que estos procesos son desfavorables bajo éstas condiciones, explicando así la preferencia por el cambio en el estado electrónico.

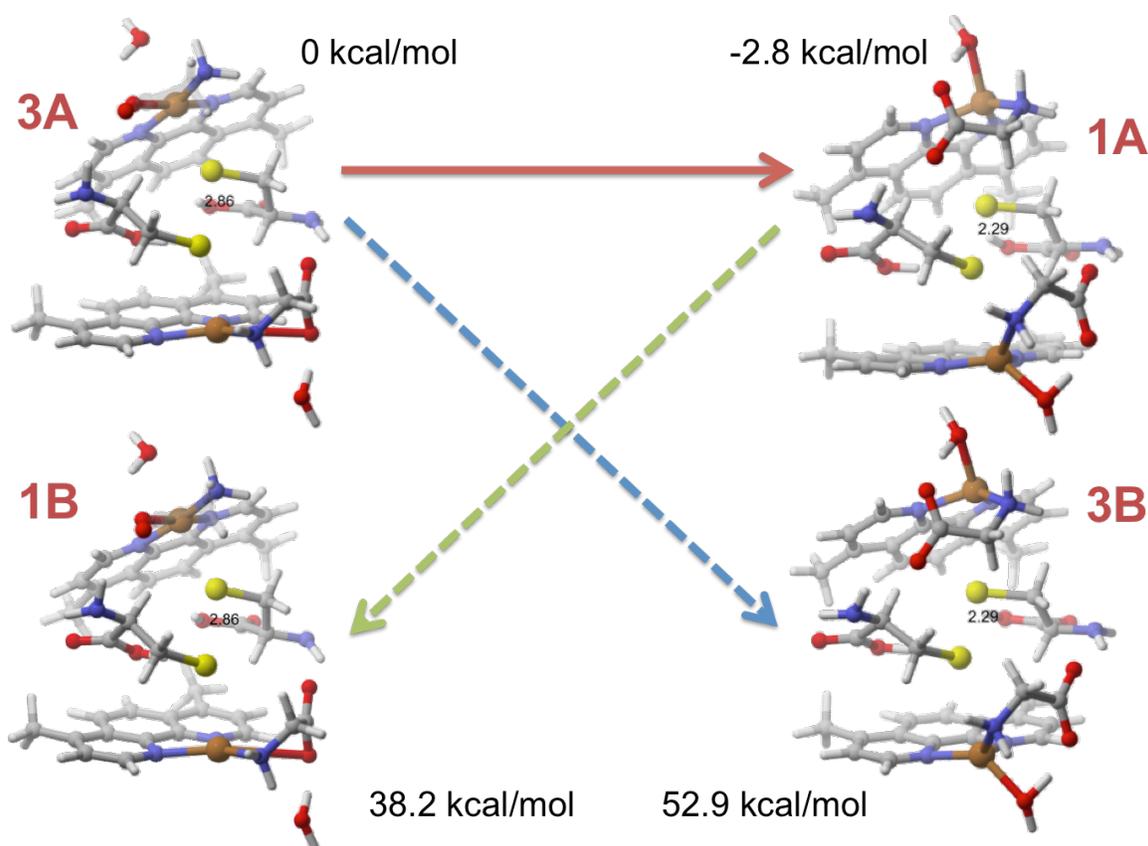


Figura 5.9. Geometrías de mínima energía iniciales y finales del estado triplete (3A y 3B) y del estado singlete (1A y 1B).

El proceso señalado en el diagrama 5.9 con la flecha de color rojo es el más importante de esta reacción pues ocurre el cambio del estado electrónico triplete al estado electrónico singlete. En la geometría 3A se observa que el oxígeno de ligante glicinato unido al cobre del complejo interior (Cu1) se aleja de éste, obteniéndose una geometría más cercana a una pirámide trigonal, mientras que el

cobre del complejo superior (Cu49) sí presenta la geometría cuadrado plana que se espera para el complejo; la distancia de enlace S36-S84 para este sistema es de 2.856 Å. En la geometría 1A ambos centros metálicos presentan una geometría tetraédrica, la distancia de enlace S36-S84 para este sistema es de 2.292 Å. A partir de esto, podemos resaltar que el cobre superior (Cu49) sí lleva a cabo el cambio de geometría esperado para la reacción, pasando de una geometría cuadrado plana y un estado de oxidación 2+ a una geometría tetraédrica y un estado de oxidación 1+; en el caso del cobre inferior (Cu1) es posible observar que al alejarse el oxígeno del ligante secundario (glicina) se vuelve más fuerte la interacción Cu-N(glicina) y que al ocurrir el cambio en el estado de oxidación el nitrógeno se desplaza a la posición axial permitiendo así la entrada de la molécula de agua para unirse al cobre y obtener una geometría tetraédrica y un estado de oxidación 1+ del cobre. El análisis de las propiedades atómicas derivadas de la densidad electrónica se presenta a continuación para este proceso.

5.1.5. Análisis de la Densidad electrónica

Enseguida se analizará la reacción desde el enfoque de la Teoría Cuántica de Átomos en Moléculas, considerando las propiedades atómicas derivadas de la densidad electrónica y su topología.

5.1.5.1. Propiedades atómicas derivadas de la densidad electrónica

5.1.5.1.1. Población electrónica total

La figura 5.10 representa el cambio en la población electrónica que sufren los átomos de interés al pasar de la geometría 3A a la 1A y a los puntos de cruce en ambos estados electrónicos.

El cobre inferior (Cu1) presenta una ligera disminución en su valor de población electrónica para cada uno de los cambios partiendo de la geometría 3A, esto indica que su ambiente electrónico no varía en gran medida al avanzar la reacción y explica el hecho de que no se observe un cambio en la geometría del complejo para este metal. En cuanto al azufre inferior (S36), el más cercano a Cu1, aumenta su población al mantenerse en el estado triplete, pero al cambiar al estado singulete comienza a perder población electrónica.

El azufre superior (S84), en cambio, sufre una disminución más drástica en su valor de población, puesto que su valor disminuye hasta 0.4 e⁻ al cambiar de la geometría 3A a la geometría 1A. Éste átomo de azufre es quien se encuentra

más cerca al cobre superior (Cu49) quien forma parte del complejo superior. En cuanto al cobre superior (Cu49), es quien más cambios sufre durante el proceso, puesto que su valor de población electrónica aumenta, lo que permite corroborar que efectivamente cambia de estado de oxidación y con ello se promueve el cambio en la geometría del complejo. El cambio en la población de este cobre es de $0.6 e^-$, ahora bien, si se suman los valores de los cambios en población del Cu1, S36 y S84 se obtiene un valor de aproximadamente $0.6 e^-$, esto nos indica que la mayoría de la densidad electrónica que está recibiendo el Cu49 proviene de éstos tres átomos. Esto comprueba que efectivamente el sistema propuesto permite una transferencia electrónica a lo largo de estos cuatro átomos de interés, además se comprueba la hipótesis planteada de que la posición axial libre en el complejo es determinante para la formación de la interacción $S \rightarrow Cu$ que es clave durante este proceso.

Población electrónica

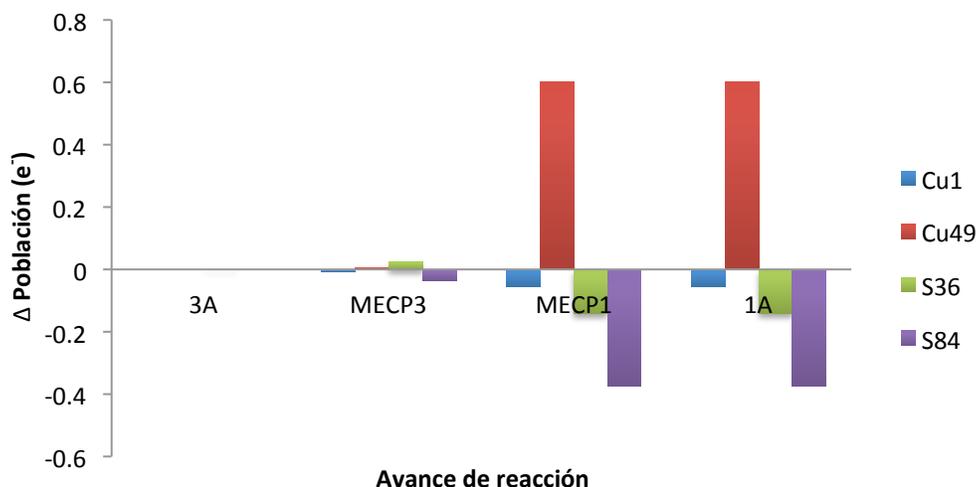


Figura 5.10. Población electrónica total en la geometría 3A, 1A, y los MECP de los estados triplete (MECP 3) y singulete (MECP 1).

5.1.5.1.2. Población electrónica de espín

La población de espín sólo presenta un valor para los sistemas 3A y MECP 3, puesto que son los únicos sistemas de capa abierta.

El gráfico 5.11 muestra que el Cu1 presenta un valor muy pequeño de esta propiedad, debido a que la mayor parte de la densidad de espín en la parte

inferior del sistema 2CasII-gly-2Cys está distribuida en el átomo de azufre (S36). En la parte superior del sistema se observa lo contrario, a pesar de que el S84 sí presenta densidad de espín, la mayoría se distribuye en el átomo de cobre (Cu49). Evidentemente el cobre Cu49 es quien más densidad de espín debe presentar puesto que corresponde al metal que cambia su geometría y estado de oxidación al pasar al estado singulete. Además se propone que existe una transferencia de la densidad de espín desde el S36 hacia los átomos S84 y Cu49, y puesto que la distancia S-S disminuye al pasar de la geometría 3A al MECP 3 es posible observar que el S36 disminuye prácticamente el valor de densidad de espín que aumentan el resto de los átomos.

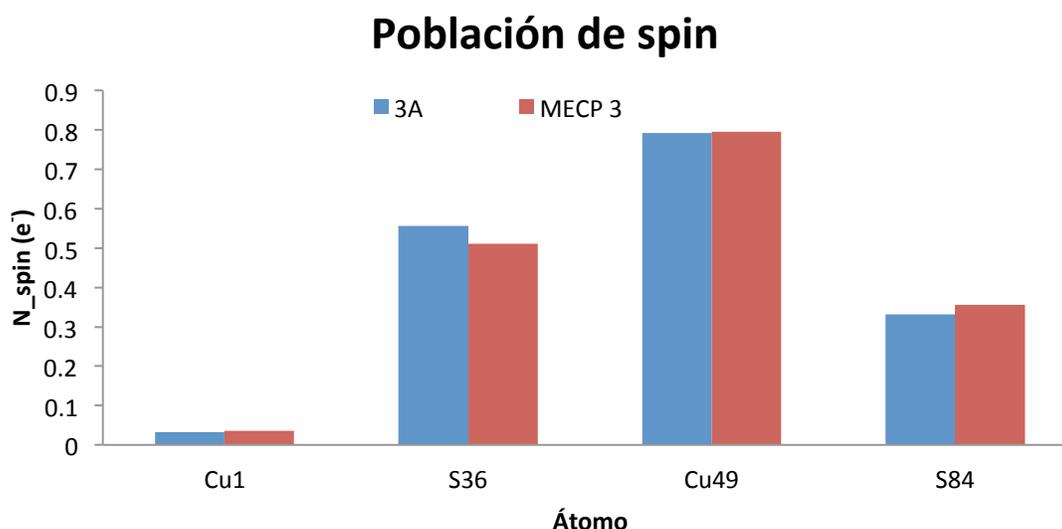


Figura 5.11. Población de espín para la geometría 3A y el MECP triplete (MECP 3).

5.1.5.2. Isosuperficies del Laplaciano de la Densidad electrónica

Además se realizó un análisis topológico de la densidad electrónica haciendo uso del campo escalar Laplaciano, que nos permite identificar regiones de concentración y dilución de densidad electrónica. En las imágenes de las siguientes secciones se muestran los contornos y las isosuperficies de los átomos que más se involucran en la reacción.

5.1.5.2.1. Densidad electrónica total

a) Geometría 3A

La imagen 5.12 muestra los contornos de los átomos de interés en la geometría 3A. Es posible notar una región de concentración de densidad de electrónica en el S36 orientada hacia una región de deficiencia del Cu1, corroborando la primer aproximación entre ambos átomos. De igual forma, se observa esta interacción entre el Cu49 y el S84.

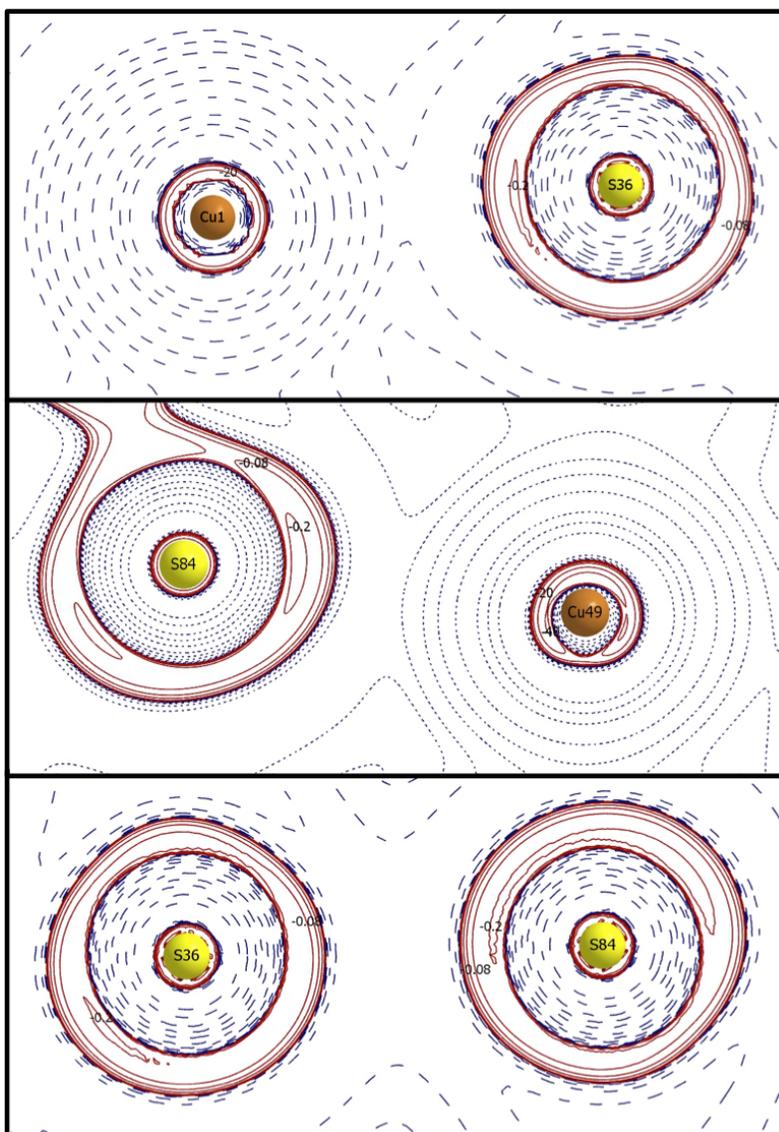


Figura 5.12. Contornos del laplaciano de la densidad electrónica para la geometría 3A.

La isosuperficie de la densidad total (figura 5.13) para el punto de partida de la reacción, geometría 3A, muestra que la densidad electrónica del cobre inferior se

distribuye en una región esférica. En cuanto al cobre superior, se observa que presenta regiones deficientes de densidad electrónica orientadas hacia los ligantes coordinados al metal. Las nubes de densidad electrónica de los átomos de azufre presentan regiones de concentración orientadas hacia ambos átomos de cobre; la interacción entre dichos átomos se ve comprobada por la presencia de puntos críticos de enlace (BCP) identificados con el círculo verde a lo largo de la trayectoria de enlace entre ambos átomos; en este punto, también se presenta un BCP entre ambos azufres a pesar de que la distancia a la cual se encuentran ambos átomos no es lo suficientemente cercana para la formación de un enlace disulfuro.

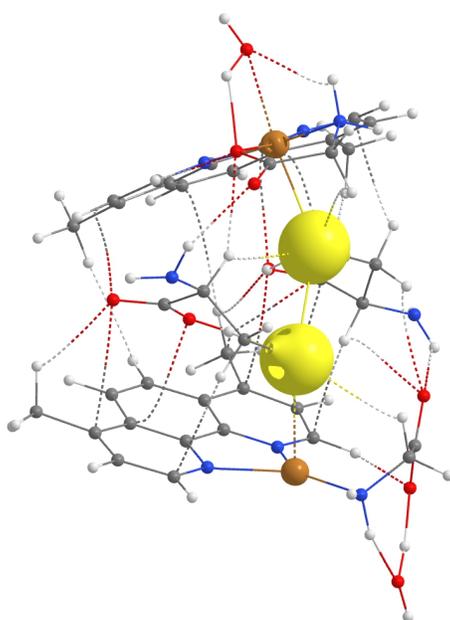


Figura 5.13. Isosuperficie del laplaciano de la densidad total para la geometría 3A (Valores de isosuperficie: átomos de cobre= $-20 \text{ e}^-/\text{bohr}^5$, átomos de azufre= $-0.08 \text{ e}^-/\text{bohr}^5$).

b) Geometría 1A

La imagen 5.14 muestra los contornos de los átomos de interés en la geometría 1A. A partir de dicha imagen podemos corroborar que se pierde la interacción entre los átomos de azufre y de cobre, puesto que las regiones de concentración del azufre que inicialmente apuntaban a una región deficiente en el cobre (ver figura 5.12) ahora están centradas en la interacción azufre-azufre. En este caso, una región de concentración de densidad electrónica en el S84 está orientada hacia una región deficiente de densidad electrónica en el S36.

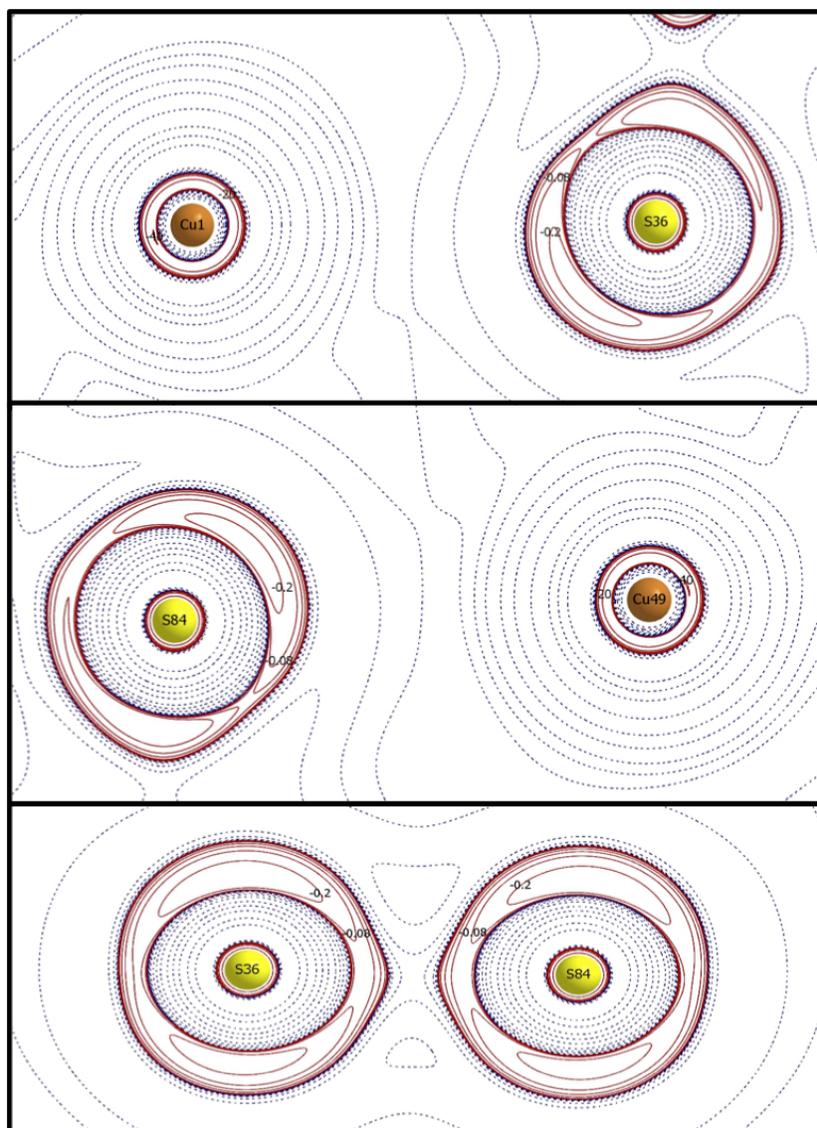


Figura 5.14. Contornos del laplaciano de la densidad electrónica para la geometría 1A.

La isosuperficie de la geometría 1A (figura 5.15), correspondiente al final de la reacción en estudio, muestra que no hay un cambio significativo en la distribución de la densidad electrónica total del cobre inferior, puesto que también se aprecia una forma esférica; en cambio, en el caso del cobre superior ahora se observa también una región esférica de densidad electrónica. Este comportamiento se debe a que se trata de un sistema de capa cerrada, por tanto, la densidad electrónica presenta una distribución esférica. En este caso, los átomos de azufre están más cercanos entre ellos y claramente se ve que la distancia entre ambos enlaces Cu-S ha aumentado, disminuyendo así la donación de densidad $S \rightarrow Cu$. Respecto a la formación del enlace disulfuro, el punto crítico de enlace corrobora esta interacción y es posible notar la polarización de la

nube electrónica hacia la formación de un enlace de tipo σ , además de una región de concentración del azufre superior orientada hacia un hueco en la densidad electrónica del azufre inferior. Sin embargo, a esta distancia aún no es posible observar la compartición de densidad electrónica entre ambos átomos.

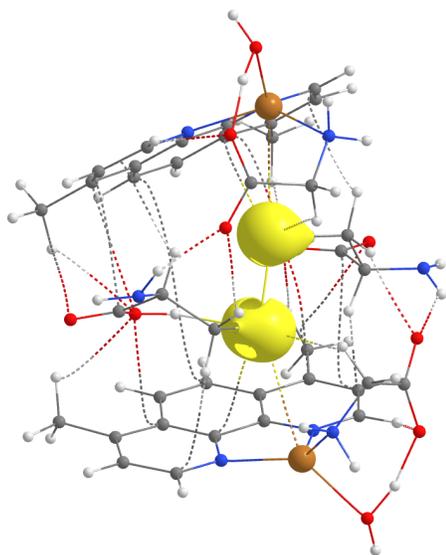


Figura 5.15. Isosuperficie del laplaciano de la densidad total para la geometría 1A (Valores de isosuperficie: átomos de cobre= $-20 e^-/\text{bohr}^5$, átomos de azufre= $-0.08 e^-/\text{bohr}^5$).

5.1.5.1.2. Densidad de espín

Puesto que la densidad de espín sólo se observa en sistemas de capa abierta, únicamente las geometrías en estado triplete se presentan a continuación.

a) Geometría 3A

La distribución de densidad de espín de los átomos de cobre es muy similar a un orbital de tipo d_{xy} , en la cual las nubes de densidad electrónica están localizadas hacia los cuatro ligantes de la geometría cuadrado plana. En cuanto a la nube de densidad de espín de los átomos de azufre, éstas presentan una forma más parecida a orbitales p orientados hacia la formación de un enlace sigma. Es importante resaltar que una de las fases de la densidad de los átomos de azufre está localizada hacia un hueco en la densidad electrónica del átomo de azufre, corroborando así la primera aproximación que existe entre ellos. Además, entre los átomos de azufre hay cierta interacción de las nubes de

densidad π , éste acomodo de la densidad electrónica va a permitir que al acercarse los átomos se promueva la formación del enlace disulfuro.

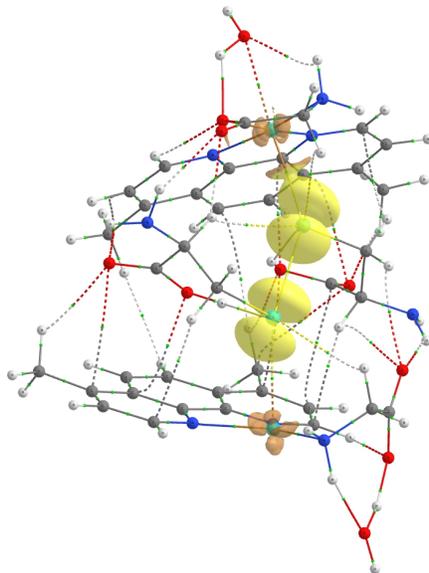


Figura 5.16. Isosuperficie del laplaciano de la densidad de espín para la geometría 3A (Valor de isosuperficie para todos los átomos= $-0.001 \text{ e}^-/\text{bohr}^3$).

A partir de todos los resultados mostrados para esta reacción de formación de enlace disulfuro es posible concluir que el cambio de geometría esperado para el complejo ternario de Cu(II) sólo se observa en la parte superior del sistema 2CasII-gly-2Cys, lo que nos permite proponer que inicialmente la Casiopeína® inferior en nuestro modelo sólo actúa como espectador y sirve para retener la segunda molécula de cisteína que forma el enlace disulfuro.

Podemos rescatar que el proceso del cambio en el estado de oxidación del complejo en este sistema es un proceso energéticamente favorable, por tanto, no se descarta la posibilidad de que efectivamente el mecanismo presentado sea una aproximación a lo que ocurre en los experimentos de UV-Vis y EPR realizados por el grupo de Casiopeínas®.

Los resultados obtenidos de las propiedades atómicas derivadas de la densidad electrónica nos permiten afirmar que efectivamente ocurre una transferencia electrónica en el sistema en estudio que promueve la formación de un enlace disulfuro cuando el estado electrónico total del sistema es singulete. Además, se requiere un acomodo especial del sistema en el que la distribución de densidad electrónica sea el propicio para la reacción.

5.2. Reacción de hidrólisis de fosfatos

Esta sección está enfocada al estudio de dos modelos de la reacción de hidrólisis de fosfatos como consecuencia de una sustitución nucleofílica. El primero de ellos consiste en la reacción de metanólisis planteada por Raycroft¹ y el segundo de ellos se enfoca en el primer modelo del sitio de reconocimiento de complejos de cobre en el ADN obtenido por Galindo y colaboradores².

5.2.1. Modelo 1: Reacción de Raycroft

Como se mencionó anteriormente, para este estudio se considera un modelo experimental en donde Raycroft y colaboradores estudiaron una reacción de hidrólisis en una molécula con características similares a las que presenta la familia de complejos de cobre, Casiopeínas®.

5.2.1.1. Efecto del sustituyente

El paso inicial consistió en el estudio del efecto que provoca el cambio de seis sustituyentes en la reacción. La elección de las posiciones y tipo de sustituyentes en el ligante aromático del sistema se determinó de acuerdo a los sustituyentes y posiciones más comunes en las Casiopeínas®. Los sustituyentes estudiados y sus posiciones son: 4-metil, 5-metil, 4,7-dimetil, 5,6-dimetil, 3, 4, 7, 8-tetrametil y 5-cloro. Para este análisis se consideraron una y dos moléculas de disolvente explícitas, siendo el metanol quien actúa como nucleófilo en la reacción.

a) Modelo con una molécula de disolvente

La figura 5.17 muestra el esquema general de reacción cuando se ve involucrada sólo una molécula de disolvente actuando como nucleófilo. La molécula A es el *O*-(2-[2'-fenantrolil]fenil) *O,O*-dimetil fosfato, reactivo sintetizado por los autores del modelo en estudio. La molécula B se obtiene al añadir una sal de cobre(II) a la molécula A produciéndose una especie tetra-coordinada de cobre; el metal se une a la fenantrolina por medio de los nitrógenos, al oxígeno del fenóxido y a una molécula de metanol. La molécula B+1d se obtiene al añadir una molécula de metanol que actúa como nucleófilo. Con el nombre TS se identifica al estado de transición de la reacción y con el nombre C al producto de reacción formado por el cobre coordinado al *O*-(2-[2'-fenantrolil]fenilo) y a una molécula de metanol, más el fosfato que resulta como subproducto después de su hidrólisis.

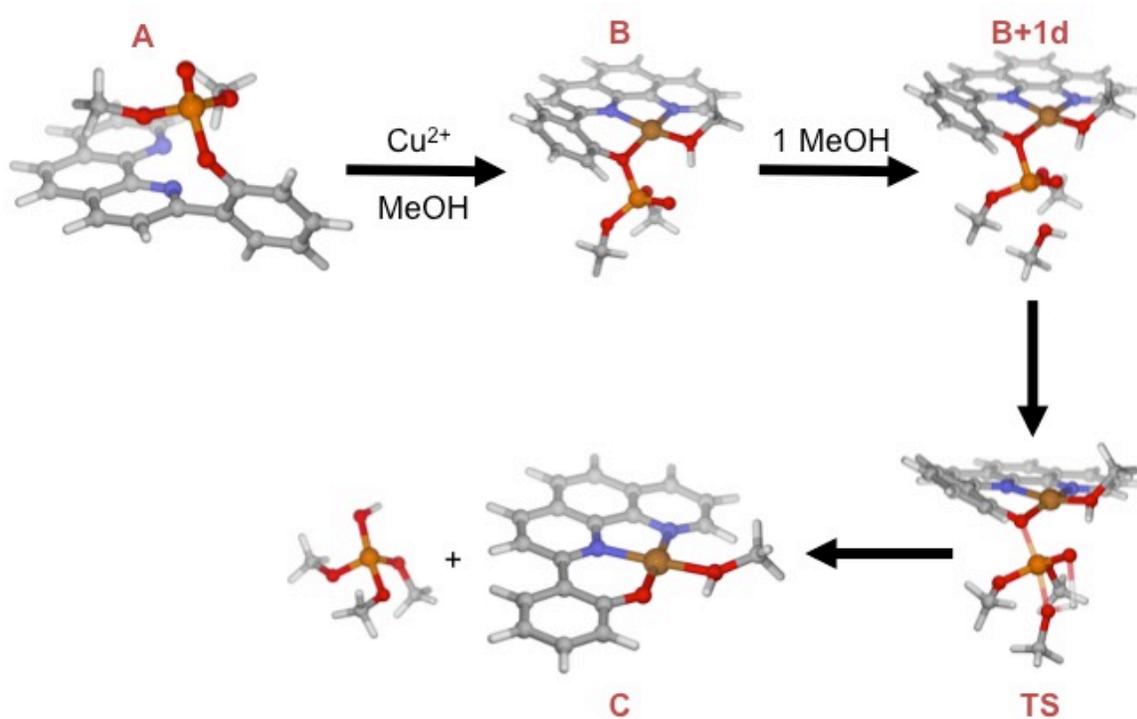


Figura 5.17. Esquema general de la reacción de Raycroft con una molécula de disolvente.

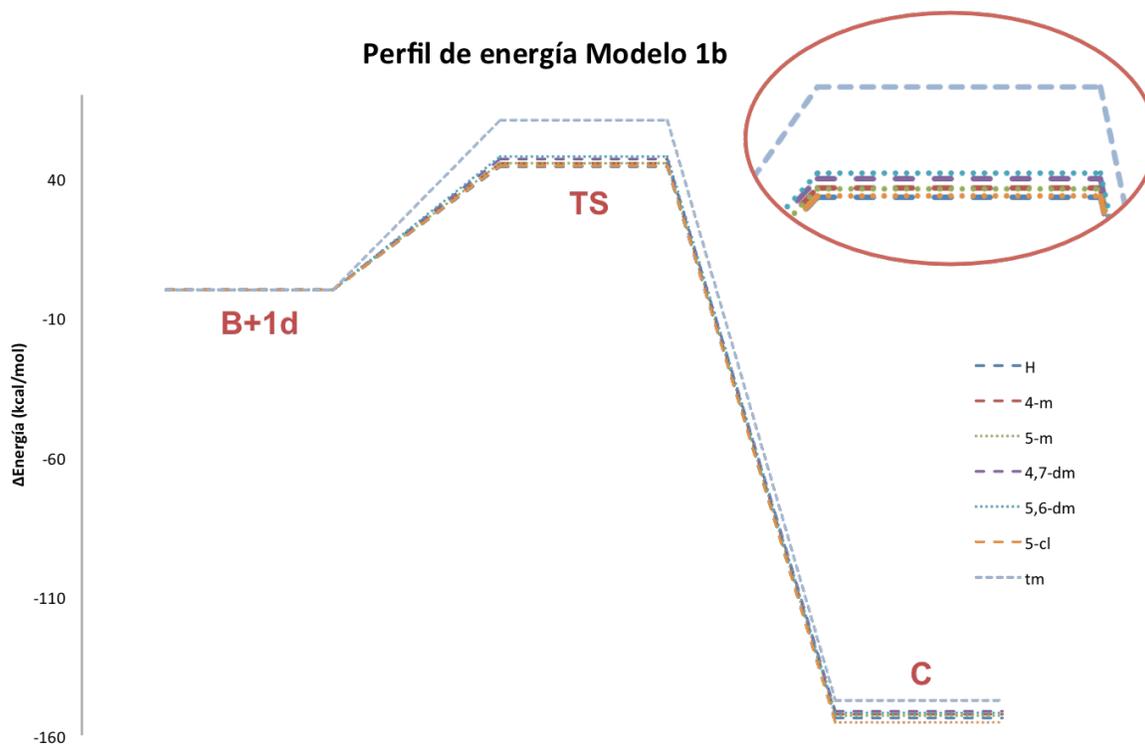


Figura 5.18. Perfil energético de la reacción de Raycroft con una molécula de disolvente.

La figura 5.18 muestra el perfil de energía a lo largo de la reacción partiendo de la molécula B+1d del diagrama de reacción. La tabla 5.2 muestra las energías del estado de transición para todos los sustituyentes en kcal mol⁻¹. A partir del gráfico y la tabla podemos observar que las barreras aumentan conforme los grupos electrodonadores se incrementan en la estructura, llegando a un máximo con el 3,4,7,8-tetrametil. Estas barreras se consideran muy elevadas y no accesibles para esta reacción. Por esta razón se adicionó una molécula más de disolvente para buscar disminuir las barreras. Considerando estas energías de reacción podemos notar que un grupo electroattractor disminuye la barrera, mientras que un grupo electroattractor aumenta dicha energía.

Sustituyente	TS (kcal mol ⁻¹)
5-Cl	44.43
H	44.25
4-metil	45.60
5-metil	45.53
4,7-dimetil	47.01
5,6-dimetil	47.90
3,4,7,8-tetrametil	61.07

Tabla 5.2. Energía del estado de transición para cada sustituyente del modelo con una molécula de disolvente.

b) Modelo con dos moléculas de disolvente

La figura 5.19 muestra el esquema general de reacción cuando se involucran dos moléculas de disolvente actuando como nucleófilo. En comparación a la figura 5.24, a partir de la molécula B se adicionan dos moléculas de metanol explícitas de forma tal que una pueda interaccionar directamente con el fósforo del grupo fosfato y la otra pueda realizar la abstracción de un átomo de hidrógeno, surgiendo la estructura B+2d. De igual forma, en el estado de transición (TS) se ven involucradas las dos moléculas de metanol.

La figura 5.20 muestra el perfil energético de la reacción con dos moléculas de disolvente a partir de la estructura B+2d. Como en el caso anterior, las barreras aumentan conforme los grupos electrodonadores se incrementan en la estructura. Es notable que igual que en el caso anterior, el 3,4,7,8-tetrametil presenta un comportamiento diferente al resto de los sustituyentes con grupos metilo. Cabe resaltar que los estados de transición presentan una barrera energética mucho menor en comparación con la reacción con una molécula de disolvente, como

puede apreciarse en la tabla 5.3, esto nos indica que la segunda molécula de disolvente contribuye a la estabilización del sistema, asistiendo a la polarización del enlace O=P, lo que favorece el ataque del nucleófilo al fósforo.

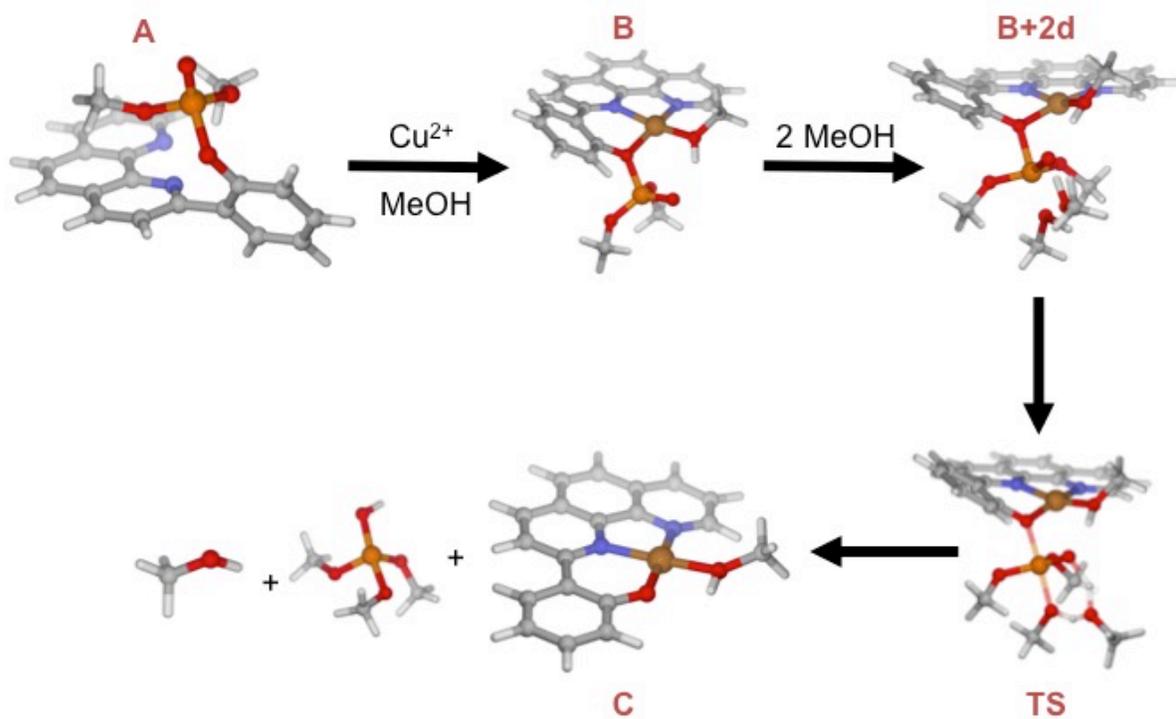


Figura 5.19. Esquema general de la reacción de Raycroft con dos moléculas de disolvente.

Sustituyente	TS (kcal mol ⁻¹)
5-Cl	9.08
H	8.92
4-metil	10.21
5-metil	10.20
4,7-dimetil	11.52
5,6-dimetil	12.45
3,4,7,8-tetrametil	28.06

Tabla 5.3. Energía del estado de transición para cada sustituyente del modelo con dos moléculas de disolvente.

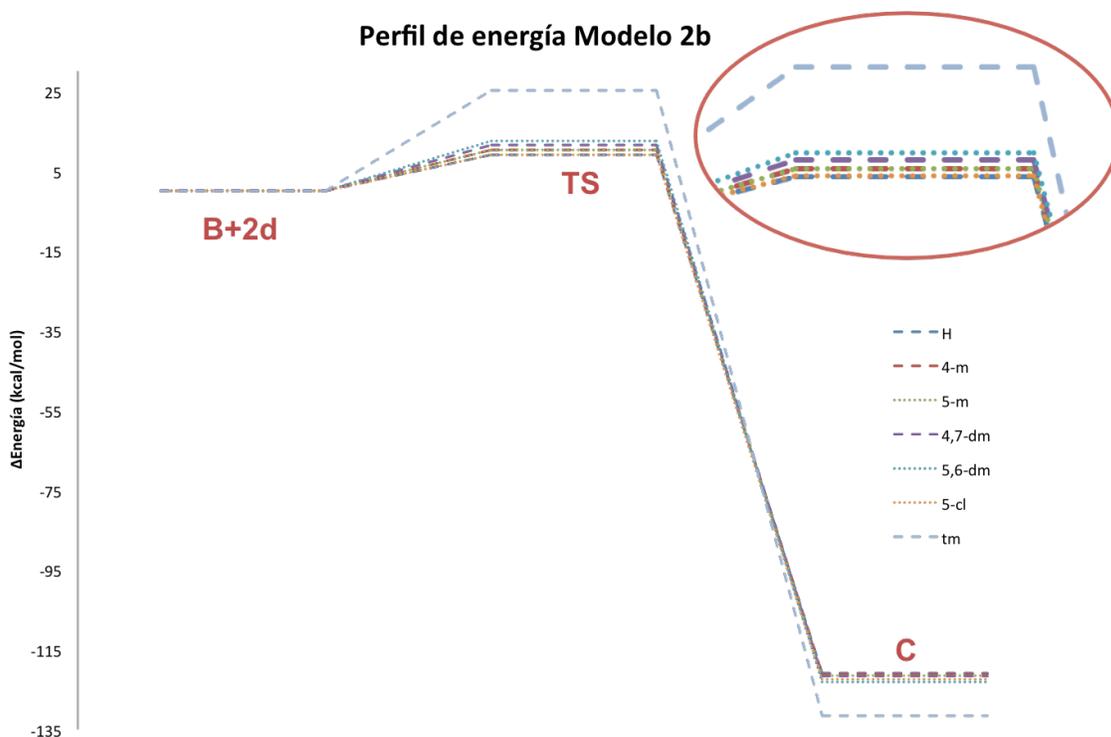


Figura 5.20. Perfil energético de la reacción de Raycroft con dos moléculas de disolvente.

5.2.1.2. Estados de Transición

a) Modelo con una molécula de disolvente

En el caso del modelo con una molécula de disolvente se encontró el estado de transición (figura 5.21) que consiste en una transferencia de hidrógeno. El hidrógeno en cuestión, denotado como H53 en la imagen, está unido inicialmente al oxígeno O52 de la molécula de metanol que actúa como nucleófilo; posteriormente, este protón migra hacia el oxígeno O34 que se encuentra formando un doble enlace con el fósforo P33. Esto permite que se polarice el enlace entre el fósforo y el oxígeno del fenoxilo (O32), resultando finalmente en la ruptura de éste último enlace y con ello la hidrólisis del grupo fosfato. La frecuencia imaginaria obtenida para el estado de transición fue de -598.14 cm^{-1} . La imagen 5.22 muestra las estructuras del reactivo (R), estado de transición (TS) y producto (P).

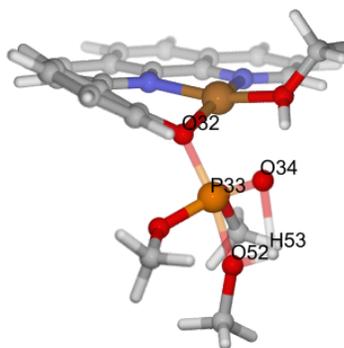


Figura 5.21. Estructura del estado de transición de la reacción de Raycroft para el modelo con una molécula de disolvente.

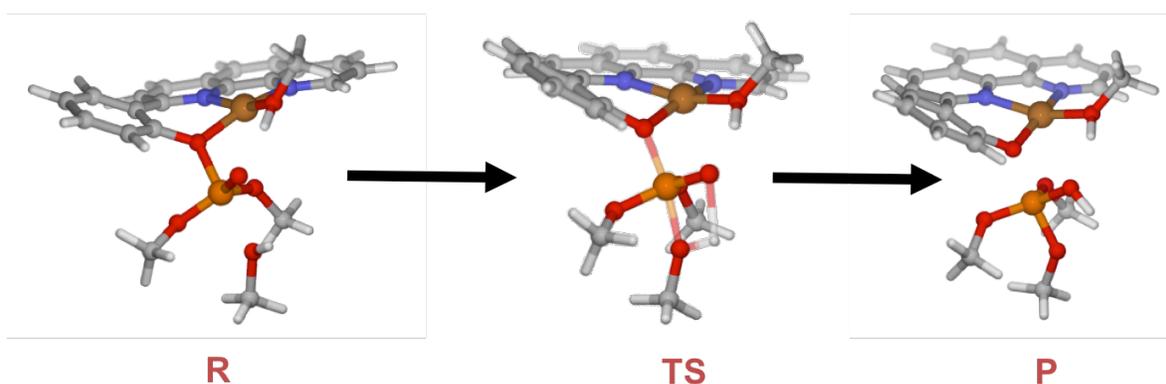


Figura 5.22. Estructuras para reactivo (R), estado de transición (TS) y producto (P) para la reacción de Raycroft con una molécula de disolvente.

A partir de la geometría del estado de transición se realizó el cálculo de coordenada intrínseca de reacción, que consistió en 200 puntos con un tamaño de paso de 0.05 u.a., corroborando que esta estructura puede dar lugar tanto al reactivo como al producto en cuestión. El gráfico de la imagen 5.23 indica la variación de energía que sigue la reacción hacia el producto y reactivo partiendo del TS, en donde es posible notar que el estado de transición tiene una energía de 12 kcal mol⁻¹, mientras que el producto se encuentra 10 kcal mol⁻¹ por debajo del reactivo.

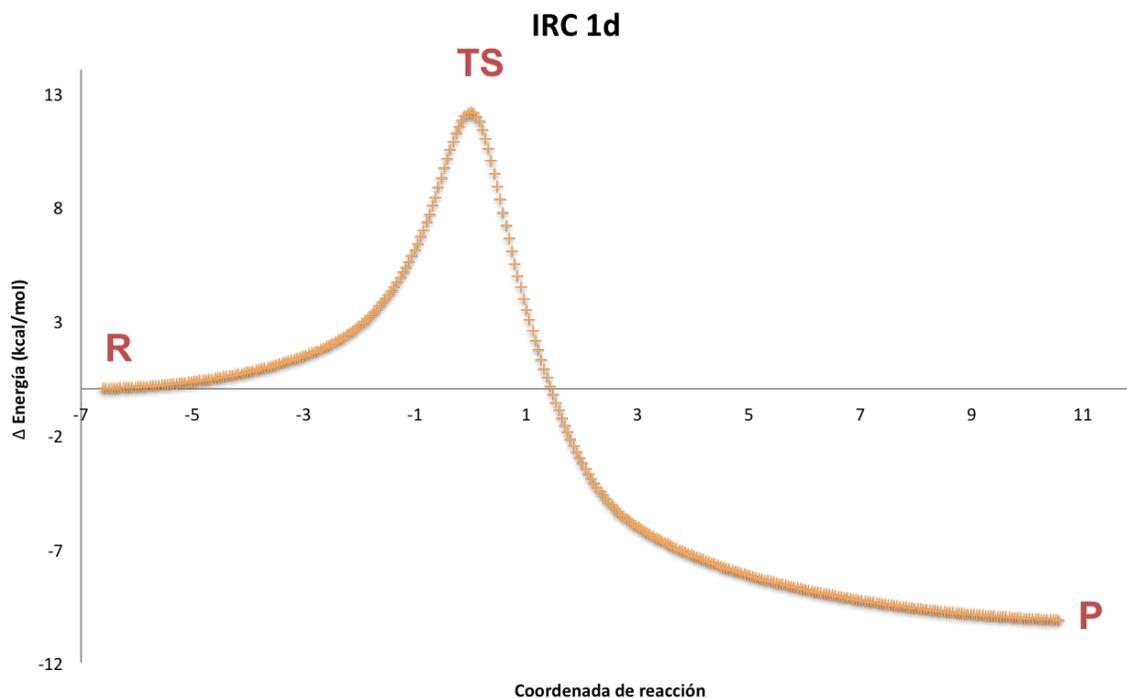


Figura 5.23. IRC para la reacción de Raycroft con una molécula de disolvente.

b) Modelo con dos moléculas de disolvente

El modelo de la reacción de Raycroft con dos moléculas de disolvente presenta la estructura del estado de transición que se muestra en la figura 5.24. De igual forma, se trata de una transferencia de hidrógeno, solo que en este caso se ven involucrados dos átomos de hidrógeno de ambas moléculas de disolvente que cambian simultáneamente de posición. Inicialmente, el H53 está unido al O52 de la primer molécula de metanol, a su vez, el H59 está unido al O58 de la segunda molécula de metanol, y el O34 está unido mediante un doble enlace al P33. Al momento de acercarse el O52 al fósforo se forma un puente de hidrógeno entre el H53 y el O58 provocando que el H59 forme a su vez un puente de hidrógeno con el O34. Al unirse el O52 al P33, se observa la ruptura del enlace P33-O32, llevándose a cabo el proceso de hidrólisis del fosfato. La frecuencia imaginaria obtenida para el estado de transición es de -444.90 cm^{-1} . Hasta el momento no ha sido posible obtener completo el cálculo de IRC para este estado de transición.

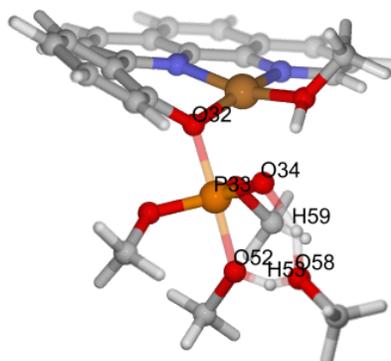


Figura 5.24. Estructura del estado de transición de la reacción de Raycroft para el modelo con dos moléculas de disolvente.

5.2.2. Sitio de Reconocimiento Molecular

Como se mencionó anteriormente, Galindo y colaboradores² obtuvieron una geometría a partir de dinámicas moleculares en la que observan interacciones entre el complejo CasIII-Da ($[\text{Cu}(2,2'\text{-bipiridina})(\text{acetilacetionato})(\text{H}_2\text{O})]^+$) y el surco menor del ADN (ver sección 3.5.4), sugerido como primer paso y sitio de reconocimiento molecular de éstos complejos. Considerando la estructura extraída de dicho trabajo y en base a los resultados presentados en la sección anterior para la reacción de hidrólisis de Raycroft, se realizó el análisis que a continuación se presenta.

5.2.2.1. Estado de Transición

A la geometría tomada del material suplementario presentado por Galindo, *et al.*², se añadieron dos moléculas explícitas de metanol que actúan como nucleófilo al igual que en la reacción de Raycroft analizada en la sección 5.2.1.1, en donde los perfiles de reacción con dos moléculas estabilizan más al sistema en comparación a una sola molécula de disolvente.

Partiendo de esto, fue posible encontrar la frecuencia de vibración correspondiente a un estado de transición (figura 5.25) en donde se ven involucradas las dos moléculas de metanol. La frecuencia imaginaria obtenida para el estado de transición es de -509.08 cm^{-1} . De igual forma que en el modelo de reacción de Raycroft, se trata de una transferencia de dos átomos de hidrógeno. Inicialmente, el átomo de oxígeno O18 se encuentra unido al fósforo mediante un doble enlace. Conforme el oxígeno O85 de la primer molécula de metanol se va acercando al fósforo P16, el hidrógeno H86 de esta molécula de

metanol va formando un puente de hidrógeno con el oxígeno O91 de la segunda molécula de metanol, y el hidrógeno de la segunda molécula de metanol (H92) se desplaza hacia el O18. Podría pensarse que estos movimientos provocarían la polarización del enlace P-O(*D*-Desoxirribosa) y con ello la ruptura del mismo, sin embargo, la estructura final del cálculo de IRC (figura 5.25) muestra todavía la presencia del enlace azúcar-fosfato. El producto de esta reacción solo muestra la adición del metanol al fosfato. De lo anterior, podemos concluir que es necesario encontrar un paso más para tener el emcanismo completo de la hidrólisis de fosfato en el modelo de Galindo y colaboradores.

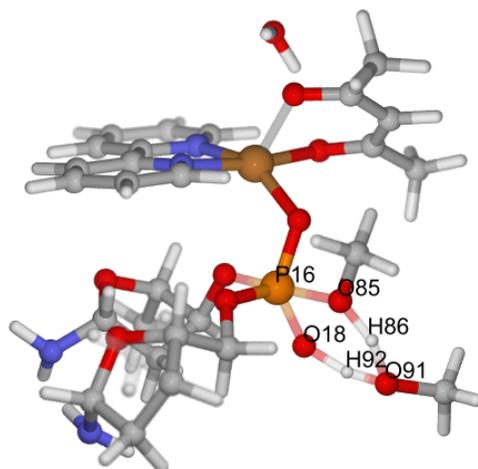


Figura 5.25. Estructura del estado de transición para el sitio de reconocimiento molecular de las Casiopeínas®.

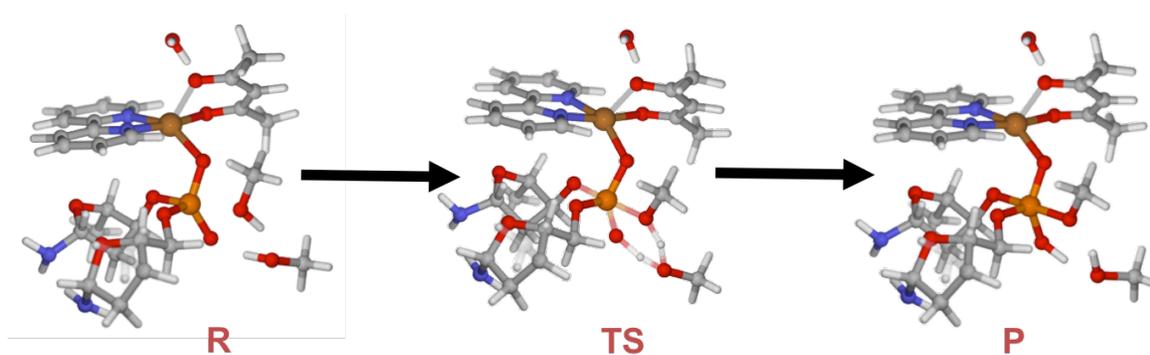


Figura 5.26. Estructuras para reactivo (R), estado de transición (TS) y producto (P) para la reacción del sitio de reconocimiento molecular con dos moléculas de disolvente.

En la estructura del reactivo (geometría R de la figura 5.26), se aprecia claramente que ambos hidrógenos se encuentran unidos a sus respectivas moléculas de disolvente. El cobre presenta una geometría de pirámide de base

cuadrada distorsionada, ya que se encuentra coordinado a los dos átomos de nitrógeno de la bipyridina, los dos átomos de oxígeno del acetilacetato y axialmente a un oxígeno del grupo fosfato del di-D-Desoxirribosa fosfato extraído del surco menor del ADN. Es posible notar que en el momento en que el cobre se coordina al oxígeno del fosfato, la molécula de agua en la posición axial se desplaza hacia el ligante secundario acetilacetato.

Considerando la geometría del estado de transición se realizó el cálculo de coordenada intrínseca de reacción, que consistió en 62 puntos con un tamaño de paso de 0.12 u.a., corroborando que el estado de transición está conectado tanto al reactivo como al producto (figura 5.27). A partir del IRC se observa que la diferencia energética entre el producto y el reactivo es mínima, $0.02 \text{ kcal mol}^{-1}$ favoreciendo al producto; esto nos lleva a considerar que ambas especies son igualmente estables bajo estas condiciones y existe un equilibrio entre ellas. El estado de transición tiene una barrera energética muy pequeña, $2.3 \text{ kcal mol}^{-1}$.

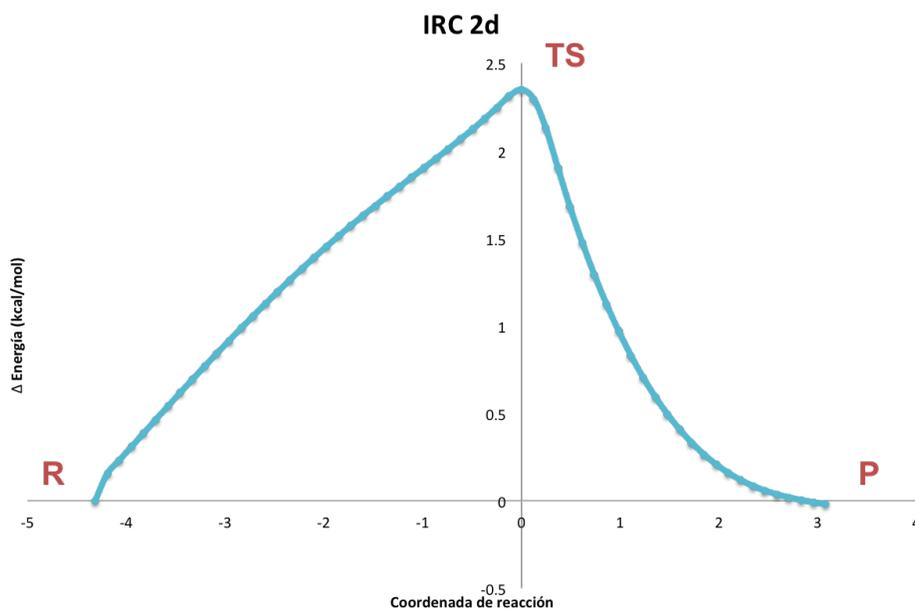


Figura 5.27. IRC para la reacción del sitio de reconocimiento molecular con dos moléculas de disolvente.

5.2.2.2. Barrido del enlace P-O(metanol)

Con el fin de forzar al sistema para que presente la ruptura del enlace azúcar-fosfato se realizó un barrido de la distancia de enlace O(metanol)-P(fosfato), desde 2.736 hasta 1.636 Å. Este barrido muestra que a distancias menores de 1.816 Å se observa que existe una sustitución en la posición axial del cobre. El grupo fosfato es reemplazado por un átomo de oxígeno del grupo ribosa sin que se rompa el enlace azúcar-fosfato. Además, se puede notar que el grupo fosfato pasa a una posición ecuatorial desplazando uno de los átomos de oxígeno del ligante acetilacetato. Este último toma la otra posición axial, provocando que el cobre presente una geometría octaédrica distorsionada. La figura 5.28 muestra geometrías seleccionadas de este proceso.

A partir de estos resultados se puede concluir que la hidrólisis de fosfato del modelo de Galindo consta de al menos tres pasos, la adición de disolvente al fosfato, el desplazamiento del ligante axial y el rompimiento del enlace azúcar-fosfato. Actualmente se trabaja en la detección de este último paso.

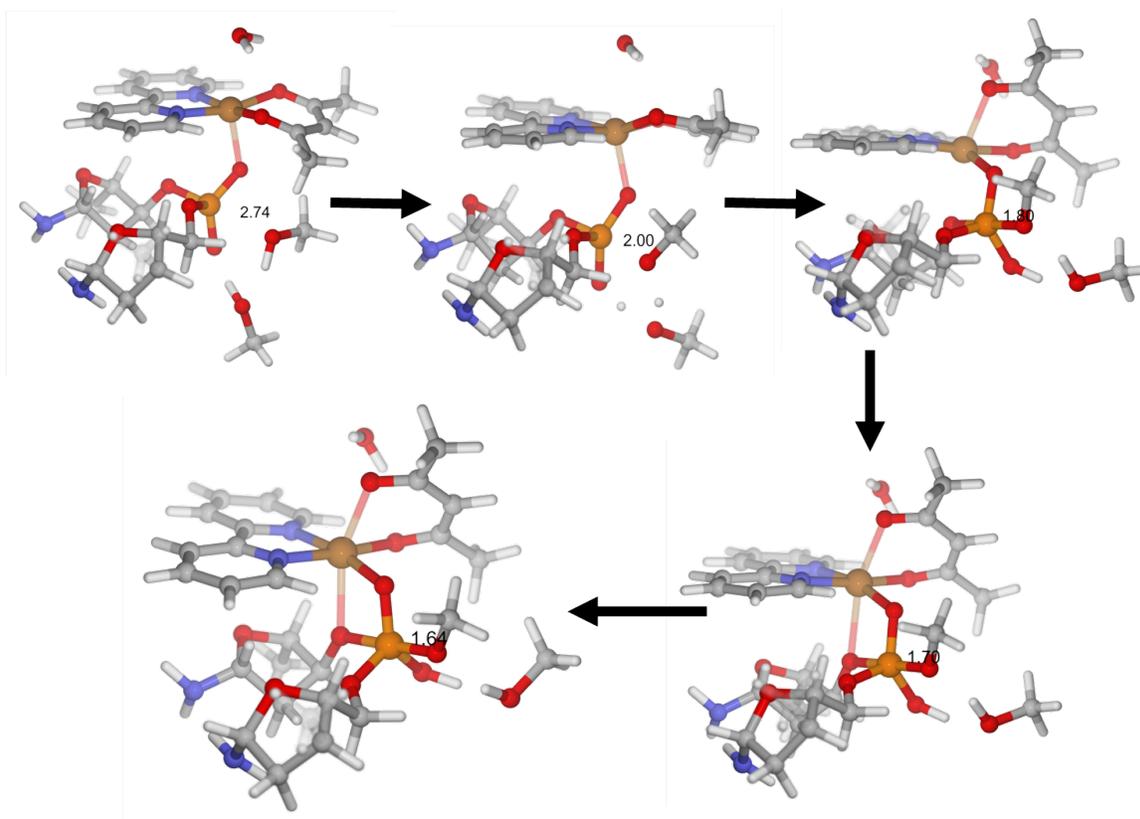


Figura 5.28. Geometrías a lo largo del barrido de la distancia P-O(metanol) para el sitio de reconocimiento molecular.

Capítulo VI

CONCLUSIONES

Este trabajo tuvo como objetivo determinar el rol que juega el centro metálico de las Casiopeínas® en la formación del enlace disulfuro y en la hidrólisis de fosfatos. Para cada proceso nos basamos en evidencia experimental previamente reportada. En el caso de la formación de la molécula de cistina, se utilizaron resultados experimentales obtenidos por métodos espectroscópicos en el grupo de Casiopeínas®. Por otro lado, en cuanto a la hidrólisis, nos basamos en el modelo y los experimentos del grupo de Raycroft. Estimamos que este trabajo contribuya a la comprensión del mecanismo de la actividad redox y nucleasa de la familia de las Casiopeínas®.

En esta tesis se pudo encontrar un aducto entre complejos de cobre y cisteínas que cumple con la estequiometría obtenida experimentalmente y que provoca la formación del enlace disulfuro después de una transferencia electrónica. Este aducto está compuesto por dos complejos de Casiopeína® que rodean dos moléculas de cisteína donde se permiten interacciones axiales S-Cu y posibilita la formación del enlace S-S. Los resultados hasta el momento solo son una descripción cualitativa del proceso de transferencia entre ambos estados a partir del cruce de las curvas de energía de ambos estados. Hasta donde sabemos, este es el primer modelo computacional que explica la formación de un enlace azufre-azufre mediada por un complejo de cobre.

En este trabajo también se encontró la manera en que el átomo de cobre favorece el ataque nucleofílico de un grupo fosfato por parte de moléculas del disolvente. El cobre se coordina al fosfato aumentando la electrofilia del átomo de fósforo. El efecto del sustituyente fue explorado y se encontró que el aumento de los grupos donadores aumenta la barrera de la hidrólisis. Encontramos que cuando el fosfato está sustituido por grupos ribosa la hidrólisis consta de al menos tres pasos: la adición de disolvente al fosfato, el desplazamiento del ligante axial y el rompimiento del enlace azúcar-fosfato. Este modelo computacional permite explicar la hidrólisis de fosfato a partir del sitio de

reconocimiento y así tener una imagen más completa de lo que sucede con un complejo de cobre al interactuar con el ADN, ya sea que se intercale o promueva reacciones de hidrólisis.

En general, es posible decir que la posición axial del cobre en un complejo ternario es la que determina el reconocimiento y la reactividad. Cabe mencionar que esta posición no siempre está vacante y sufre una serie de sustituciones de ligante durante los procesos estudiados en esta tesis. En el caso de la formación del enlace disulfuro, toda la reacción está controlada por la coordinación axial de los átomos de azufre de las cisteínas. Mientras que en la hidrólisis de fosfatos, el cambio de ligante en la posición axial está relacionada con la ruptura del enlace fosfato-azúcar. Además de que se presenta una ruta por la cual el sustituyente axial toma una posición ecuatorial desplazando al ligante que ocupaba esa posición.

El proyecto presenta algunos puntos que pueden ser retomados en un futuro, entre los que se encuentran: a) el estudio del cambio en las interacciones entre los ligantes del complejo de cobre con los reactivos involucrados en los procesos de estudio, b) el efecto del disolvente en los procesos, y c) el análisis completo de los cambios en las propiedades atómicas durante las reacciones.

Capítulo VII

REFERENCIAS

- (1) R. Raycroft, M. A.; Liu, C. T.; Brown, R. S. *Inorg. Chem.* **2012**, *51* (li), 3846–3854.
- (2) Galindo-Murillo, R.; Ruíz-Azuara, L.; Moreno-Esparza, R.; Cortés-Guzmán, F. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14* (44), 15539.
- (3) Salud, O. M. de la. Informe Mundial sobre el Cáncer 2014 <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/es/>.
- (4) INEGI. Causas de defunción, 2013 <http://www.inegi.org.mx/default.aspx>.
- (5) National Cancer Institute. What is Cancer? <http://www.cancer.gov/about-cancer/what-is-cancer>.
- (6) Zhang, C. X.; Lippard, S. J. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2003**, *7* (4), 481–489.
- (7) Peyrone, M. M. *Ann. Chim. Phys.* **1844**, *3* (193), 13.
- (8) Jamieson, E.; Lippard, S. *Chem. Rev.* **1999**, *99* (9), 2467–2498.
- (9) Marzano, C.; Pellei, M.; Tisato, F.; Santini, C. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. 2009, pp 185–211.
- (10) Ruiz-Azuara, L.; E. Bravo-Gomez, M. *Curr. Med. Chem.* **2010**, *17* (31), 3606–3615.
- (11) Clarke, M. J. *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *236*, 209–233.
- (12) Morris, R. E.; Aird, R. E.; Del Socorro Murdoch, P.; Chen, H.; Cummings, J.; Hughes, N. D.; Parsons, S.; Parkin, A.; Boyd, G.; Jodrell, D. I.; Sadler, P. J. *J. Med. Chem.* **2001**, *44* (22), 3616–3621.
- (13) Berners-Price, S. J.; Filipovska, A. *Metallomics* **2011**, *3* (9), 863–873.
- (14) Bernhardt, P. V.; Sharpe, P. C.; Islam, M.; Lovejoy, D. B.; Kalinowski, D. S.; Richardson, D. R. *J. Med. Chem.* **2009**, *52* (2), 407–415.
- (15) Mishra, L.; Kamil Said, M.; Itokawa, H.; Takeya, K. *Bioorg. Med. Chem.* **1995**, *3* (9), 1241–1245.
- (16) Tabbi, G.; Cassino, C.; Cavigliolo, G.; Colangelo, D.; Ghiglia, A.; Viano, I.; Osella, D. *J. Med. Chem.* **2002**, *45* (26), 5786–5796.
- (17) Shrivastav, A.; Singh, N. K.; Singh, S. M. *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 887–895.
- (18) Jung, M.; Kerr, D. E.; Senter, P. D. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. **1997**, *330* (6), 173–176.
- (19) Sathisha, M. P.; Shetti, U. N.; Revankar, V. K.; Pai, K. S. R. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43* (11), 2338–2346.
- (20) Moeller, B. J.; Batinic-Haberle, I.; Spasojevic, I.; Rabbani, Z. N.; Anscher, M. S.; Vujaskovic, Z.; Dewhirst, M. W. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **2005**, *63* (2),

- 545-552.
- (21) Shrivastav, A.; K. Singh, N.; Tripathi, P.; George, T.; R. Dimmock, J.; K. Sharma, R. *Biochimie* **2006**, *88* (9), 1209-1216.
- (22) Tisato, F.; Marzano, C.; Porchia, M.; Pellei, M.; Santini, C. *Med. Res. Rev.* **2010**, *30* (4), 708-749.
- (23) Wang, T.; Guo, Z. *Curr. Med. Chem.* **2006**, *13* (5), 525-537.
- (24) Popova, T. V.; Aksenova, N. V. *Russ. J. Coord. Chem.* **2003**, *29* (11), 743-765.
- (25) Copper, C. R. *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*; John Wiley & Sons Ltd: Chichester, United Kingdom, 2005.
- (26) Cotton, F. A.; Wilkinson, G. *Advanced Inorganic Chemistry*, 3rd ed.; Publishers, I., Ed.; United States of America, 1972.
- (27) Greenwood, N. N.; Earnshaw, A. *Chemistry of the Elements*, 2nd ed.; Oxford: Butterworth-Heinemann, Ed.; Great Britain, 1998.
- (28) Murphy, B.; Hathaway, B. *Coord. Chem. Rev.* **2003**, *243* (1-2), 237-262.
- (29) Linder, M. C. In *Plenum Press*; New York, 1991; pp 73-134.
- (30) Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C. *Methods Enzymol.* **1990**, *186* (1981), 1-85.
- (31) Aust, S. D.; Morehouse, L. A.; Thomas, C. E. *J. Free Radicals Biol. Med.* **1985**, *1* (1), 3-26.
- (32) Ho, Y. P.; Au-Yeung, S. C. F.; To, K. K. W. *Med. Res. Rev.* **2003**, *23* (5), 633-655.
- (33) Santini, C.; Pellei, M.; Gandin, V.; Porchia, M.; Tisato, F.; Marzano, C. *Chem. Rev.* **2014**, *114* (1), 815-862.
- (34) Taylor, M. R.; Gabe, E. J.; Glusker, J. P.; Minkin, J. A.; Patterson, A. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1966**, *88* (8), 1845-1846.
- (35) Crim, J. A.; Petering, H. G. *Cancer Res.* **1967**, *27* (7), 1278-1285.
- (36) Zhang, H.; Thomas, R.; Oupicky, D.; Peng, F. *J. Biol. Inorg. Chem.* **2008**, *13* (1), 47-55.
- (37) Feun, L.; Modiano, M.; Lee, K.; Mao, J.; Marini, A.; Savaraj, N.; Plezia, P.; Almassian, B.; Colacino, E.; Fischer, J.; MacDonald, S. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2002**, *50* (3), 223-229.
- (38) Murugkar, A.; Unnikrishnan, B.; Padhye, S.; Bhonde, R.; Teat, S.; Triantafillou, E.; Sinn, E. *Met. Based. Drugs* **1999**, *6* (3), 177-182.
- (39) Safaei, R.; Holzer, A. K.; Katano, K.; Samimi, G.; Howell, S. B. *J. Inorg. Biochem.* **2004**, *98* (10), 1607-1613.
- (40) Cerchiaro, G.; Aquilano, K.; Filomeni, G.; Rotilio, G.; Ciriolo, M. R.; Da Costa Ferreira, A. M. *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99* (7), 1433-1440.
- (41) Tamura, H.; Imai, H.; Kuwahara, J.; Sugiura, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109* (22), 6870-6871.
- (42) Habib, N. S.; Rida, S. M.; Badawey, E. A.; Fahmy, H. T.; Ghozlan, H. A. *Pharmazie* **1997**, *52* (5), 346-350.
- (43) Zhang, H.; Liu, C.-S.; Bu, X.-H.; Yang, M. *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99* (5), 1119-1125.

- (44) Shaw, C. F. *Chem. Rev.* **1999**, *99* (9), 2589–2600.
- (45) Berners-Price, S. J.; Mirabelli, C. K.; Johnson, R. K.; Mattern, M. R.; McCabe, F. L.; Faucette, L. F.; Mong, S.-M.; Sung, C.-M.; Sadler, P. J.; Crooke, S. T. *Cancer Res.* **1986**, *46*, 5486–5493.
- (46) Sigman, D. S.; Graham, D. R.; D'Aurora, V.; Stern, A. M. *J. Biol. Chem.* **1979**, *254* (24), 12269–12272.
- (47) Sigman, D. S.; Landgraf, R.; Perrin, D. M.; Pearson, L. *Met Ions Biol Syst* **1996**, *33*, 485–513.
- (48) Ranford, J. D.; Sadler, P. J.; Tocher, D. A. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1993**, *22*, 3393–3399.
- (49) Saha, D. K.; Sandbhor, U.; Shirisha, K.; Padhye, S.; Deobagkar, D.; Anson, C. E.; Powell, A. K. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2004**, *14* (12), 3027–3032.
- (50) Sigman, D. S.; Mazumder, A.; Perrin, D. M. *Chem. Rev.* **1993**, *93*, 2295–2316.
- (51) Hirohama, T.; Kuranuki, Y.; Ebina, E.; Sugizaki, T.; Arii, H.; Chikira, M.; Selvi, P. T.; Palaniandavar, M. *J. Inorg. Biochem.* **2005**, *99* (5), 1205–1219.
- (52) Chikira, M.; Tomizawa, Y.; Fukita, D.; Sugizaki, T.; Sugawara, N.; Yamazaki, T.; Sasano, A.; Shindo, H.; Palaniandavar, M.; Antholine, W. E. *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *89* (3-4), 163–173.
- (53) Sigman, D. S. *Acc. Chem. Res.* **1986**, *19* (8), 180–186.
- (54) Thederahn, T. B.; Kuwabara, M. D.; Larsen, T. A.; Sigman, D. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111* (13), 4941–4946.
- (55) Zhou, H.; Zheng, C.; Zou, G.; Tao, D.; Gong, J. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2002**, *34*, 678–684.
- (56) Cai, X.; Pan, N.; Zou, G. *BioMetals* **2007**, *20* (1), 1–11.
- (57) Zhang, S.; Zhu, Y.; Tu, C.; Wei, H.; Yang, Z.; Lin, L.; Ding, J.; Zhang, J.; Guo, Z. *J. Inorg. Biochem.* **2004**, *98* (12), 2099–2106.
- (58) Pitié, M.; Donnadiou, B.; Meunier, B. *Inorg. Chem.* **1998**, *37* (14), 3486–3489.
- (59) Pitié, M.; Boldron, C.; Gornitzka, H.; Hemmert, C.; Donnadiou, B.; Meunier, B. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2003**, *2003* (3), 528–540.
- (60) Deegan, C.; McCann, M.; Devereux, M.; Coyle, B.; Egan, D. A. *Cancer Lett.* **2007**, *247* (2), 224–233.
- (61) Rajendiran, V.; Karthik, R.; Palaniandavar, M.; Stoeckli-Evans, H.; Periasamy, V. S.; Akbarsha, M. A.; Srinag, B. S.; Krishnamurthy, H. *Inorg. Chem.* **2007**, *46* (20), 8208–8221.
- (62) Alemón-Medina, R.; Breña-Valle, M.; Muñoz-Sánchez, J. L.; Gracia-Mora, M. I.; Ruiz-Azuara, L. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2007**, *60* (2), 219–228.
- (63) Ruiz Azuara, L. Preparation of new mixed copper aminoacidate complexes from phenanthrolines and their alkyl derivatives to be used as anticancerigenic agents. EP 434445, 1991.
- (64) Ruiz Azuara, L. Preparation of new mixed copper aminoacidate complexes from phenylate phenanthrolines to be used as anticancerigenic agents. 5,107,005, 1992.
- (65) Ruiz Azuara, L. Copper aminoacidate diimine nitrate compounds and their

- methyl derivatives and a process for preparing them. 5,576,326, 1996.
- (66) Ruiz Azuara, L. Procedimiento para la obtención de complejos metálicos como agentes anticancerígenos. 172248, 1990.
 - (67) Ruiz Azuara, L. Process to obtain new mixed copper aminoacidate complexes from phenylatephenanthroline to be used as anticancerigenic agents. RE 35,458, 1997.
 - (68) Ruiz Azuara, L. Procedimiento para la obtención de complejos metálicos como agentes anticancerígenos. 18802, 1993.
 - (69) Reina Tapia, M. Síntesis, caracterización y evaluación antiproliferativa de compuestos ternarios de Cu(II) con diiminas y el ligante 2-aminometilbenzimidazol., UNAM, 2012.
 - (70) Jiménez Ayala, C. P. Síntesis y Caracterización de 5,6-dimetil-1,10-fenantrolina y sus derivados mixtos de Cobre(II), UNAM, 2015.
 - (71) E. McBryde, W. A.; Brisbin, D. A.; Irving, H. *J. Chem. Soc.* **1962**, 5245–5253.
 - (72) Gasque, L.; Moreno-Esparza, R.; Ruiz-Ramírez, L. *J. Inorg. Biochem.* **1992**, *48* (2), 121–127.
 - (73) Kwik, W. L.; Ang, K. P.; Chen, G. *J. Inorg. Nucl. Chem.* **1980**, *42* (2), 303–313.
 - (74) Solans, X.; Ruiz-Ramirez, L.; Martinez, A.; Gasque, L.; Moreno-Esparza, R. *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* **1992**, *C48* (5), 1785–1788.
 - (75) Alvarez-Larena, a.; Briansó-Penalva, J. L.; Piniella, J. F.; Moreno-Esparza, R.; Ruiz-Ramírez, L.; Ferrer-Sueta, G. *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* **1995**, *51* (5), 852–854.
 - (76) Gasque, L.; Moreno-Esparza, R.; Ruiz-Ramírez, L.; Medina-Dickinson, G. *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* **1999**, *55* (7), 1065–1067.
 - (77) Moreno Esparza, R.; Escalante Tovar, S.; Ruiz Ramirez, L. *Acta Crystallogr.* **2002**, *A58* (Supplement, C18).
 - (78) Moreno-Esparza, R.; Molins, E.; Briansó-Penalva, J. L.; Ruiz-Ramírez, L.; Redón, R. *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* **1995**, *51* (8), 1505–1508.
 - (79) Solans, X.; Gasque, L.; Ruiz Ramirez, L.; Briansó, J. L. *Acta Crystallogr.* **1987**, *C43*, 428–430.
 - (80) Solans, X.; Ruiz-Ramírez, L.; Martinez, A.; Gasque, A.; Briansó, J. L. *Acta Crystallogr.* **1988**, *C44*, 628–631.
 - (81) Venkatraman, R.; Zubkowski, J. D.; Valente, E. J. *Acta Crystallogr.* **1999**, *C55*, 1241–1243.
 - (82) Solans, X.; Ruiz-Ramirez, L.; Martinez, a; Gasque, L.; Moreno-Esparza, R. *Acta Crystallogr. Sect. C Cryst. Struct. Commun.* **1993**, *C49* (5), 890–893.
 - (83) Tovar-Tovar, A.; Ruiz-Ramírez, L.; Campero, A.; Romerosa, A.; Moreno-Esparza, R.; Rosales-Hoz, M. J. *J. Inorg. Biochem.* **2004**, *98* (6), 1045–1053.
 - (84) De Vizcaya-Ruiz, A.; Rivero-Muller, A.; Ruiz-Ramirez, L.; Kass, G. E. N.; Kelland, L. R.; Orr, R. M.; Dobrota, M. *Toxicol. Vitr.* **2000**, *14* (1), 1–5.
 - (85) Mejia, C.; Ruiz-Azuara, L. *Pathol. Oncol. Res.* **2008**, *14* (4), 467–472.
 - (86) Bravo-Gómez, M. E.; Dávila-Manzanilla, S.; Flood-Garibay, J.; Muciño-Hernández, M. Á.; Mendoza, Á.; García-Ramos, J. C.; Moreno-Esparza, R.; Ruiz-

- Azuara, L. *J. Mex. Chem. Soc.* **2012**, *56* (1), 85–92.
- (87) Alemón-Medina, R.; Muñoz-Sánchez, J. L.; Ruiz-Azuara, L.; Gracia-Mora, I. *Toxicol. Vitr.* **2008**, *22* (3), 710–715.
- (88) Bravo-Gómez, M. E.; García-Ramos, J. C.; Gracia-Mora, I.; Ruiz-Azuara, L. *J. Inorg. Biochem.* **2009**, *103* (2), 299–309.
- (89) Kachadourian, R.; Brechbuhl, H. M.; Ruiz-Azuara, L.; Gracia-Mora, I.; Day, B. J. *Toxicology* **2010**, *268* (3), 176–183.
- (90) Gracia-Mora, I.; Ruiz-Ramírez, L.; Gómez-Ruiz, C.; Tinoco-Méndez, M.; Márquez-Quiñones, A.; Lira, L. R.; Marín-Hernández, A.; Macías-Rosales, L.; Bravo-Gómez, M. E. *Met. Based. Drugs* **2001**, *8* (1), 19–28.
- (91) De Vizcaya-Ruiz, a.; Rivero-Müller, a.; Ruiz-Ramírez, L.; Howarth, J. a.; Dobrota, M. *Toxicology* **2003**, *194* (1-2), 103–113.
- (92) Trejo-Solís, C.; Palencia, G.; Zúñiga, S.; Rodríguez-Ropon, A.; Osorio-Rico, L.; Luvia, S. T.; Gracia-Mora, I.; Marquez-Rosado, L.; Sánchez, A.; Moreno-García, M. E.; Cruz, A.; Bravo-Gómez, M. E.; Ruiz-Ramírez, L.; Rodríguez-Enriquez, S.; Sotelo, J. *Neoplasia* **2005**, *7* (6), 563–574.
- (93) Carvallo-Chaigneau, F.; Trejo-Solís, C.; Gómez-Ruiz, C.; Rodríguez-Aguilera, E.; Macías-Rosales, L.; Cortés-Barberena, E.; Cedillo-Peláez, C.; Gracia-Mora, I.; Ruiz-Azuara, L.; Madrid-Marina, V.; Constantino-Casas, F. *BioMetals* **2008**, *21* (1), 17–28.
- (94) Serment-Guerrero, J.; Cano-Sanchez, P.; Reyes-Perez, E.; Velazquez-Garcia, F.; Bravo-Gomez, M. E.; Ruiz-Azuara, L. *Toxicol. Vitr.* **2011**, *25* (7), 1376–1384.
- (95) Valencia-Cruz, A. I.; Uribe-Figueroa, L. I.; Galindo-Murillo, R.; Baca-López, K.; Gutiérrez, A. G.; Vázquez-Aguirre, A.; Ruiz-Azuara, L.; Hernández-Lemus, E.; Mejía, C. *PLoS One* **2013**, *8* (1), e54664.
- (96) Ueda, J.; Takai, M.; Shimazu, Y.; Ozawa, T. *Arch. Biochem. Biophys.* **1998**, *357* (2), 231–239.
- (97) Marín-Hernández, A.; Gracia-Mora, I.; Ruiz-Ramírez, L.; Moreno-Sánchez, R. *Biochem. Pharmacol.* **2003**, *65* (12), 1979–1989.
- (98) Rivero-Müller, A.; De Vizcaya-Ruiz, A.; Plant, N.; Ruiz, L.; Dobrota, M. *Chem. Biol. Interact.* **2007**, *165* (3), 189–199.
- (99) García-Ramos, J. C.; Tovar-Tovar, A.; Hernández-Lima, J.; Cortés-Guzmán, F.; Moreno-Esparza, R.; Ruiz-Azuara, L. *Polyhedron* **2011**, *30* (16), 2697–2703.
- (100) Galindo-Murillo, R.; Hernandez-Lima, J.; González-Rendón, M.; Cortés-Guzmán, F.; Ruíz-Azuara, L.; Moreno-Esparza, R. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2011**, *13* (32), 14510–14515.
- (101) Weir, A. F. In *Methods In Molecular Biology Vol. 16*; Burrell, M. M., Ed.; Humana Press Inc: Totowa, NJ. USA, 1993.
- (102) Desbouis, D.; Troitsky, I. P.; Belousoff, M. J.; Spiccia, L.; Graham, B. *Coord. Chem. Rev.* **2012**, *256* (11-12), 897–937.
- (103) De Hoog, P.; Louwerse, M. J.; Gamez, P.; Pitié, M.; Baerends, E. J.; Meunier, B.; Reedijk, J. *Eur. J. Inorg. Chem.* **2008**, No. 4, 612–619.
- (104) Sigman, D. S.; Bruice, T. W.; Mazumder, A.; Sutton, C. L. *Acc. Chem. Res.*

- 1993**, 26 (3), 98-104.
- (105) Alonso-Saenz, A. L. Estudio de la reactividad de las Casiopeínas II-gly y III-ia con glutatión reducido, cisteína y 2-mercaptoetanol, Universidad Nacional Autónoma de México, 2013.
- (106) Downes, J. M.; Whelan, J.; Bosnich, B. *Inorg. Chem.* **1981**, 20, 1081-1086.
- (107) García-Ramos, J. C. Estudio de la Actividad Nucleasa de Quelatos Mixtos de Cu(II): Casiopeínas, Universidad Nacional Autónoma de México, 2015.
- (108) Barone, G.; Terenzi, A.; Lauria, A.; Almerico, A. M.; Leal, J. M.; Busto, N.; García, B. *Coord. Chem. Rev.* **2013**, 257 (19-20), 2848-2862.
- (109) Basile, L. A.; Raphael, A. L.; Barton, J. K. *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, 109, 7550-7551.
- (110) Liu, C. T.; Neverov, A. A.; Maxwell, C. I.; Brown, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 3561-3573.
- (111) López-Canut, V.; Roca, M.; Bertrán, J.; Moliner, V.; Tuñón, I. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132 (20), 6955-6963.
- (112) Morrow, J. R.; Trogler, W. C. *Inorg. Chem.* **1988**, 27 (20), 3387-3394.
- (113) Toney, J. H.; Brock, C. P.; Marks, T. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 7263-7274.
- (114) Miller, S. K.; Marzilli, L. G.; Dorre, S.; Kollat, P.; Stigler, R.; Stezowski, J. J. *Inorg. Chem.* **1986**, 25, 4272-4277.
- (115) Helleiner, C. W.; Butler, G. C. *Can. J. Chem.* **1955**, 3, 705-710.
- (116) Chin, J. *Acc. Chem. Res.* **1991**, 24 (1), 145-152.
- (117) Hegg, E. L.; Mortimore, S. H.; Cheung, C. L.; Huyett, J. E.; Powell, D. R.; Burstyn, J. N. *Inorg. Chem.* **1999**, 38 (12), 2961-2968.
- (118) Ott, R.; Krämer, R. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1999**, 52 (6), 761-767.
- (119) Becco, L.; Rodríguez, A.; Bravo, M. E.; Prieto, M. J.; Ruiz-Azuara, L.; Garat, B.; Moreno, V.; Gambino, D. *J. Inorg. Biochem.* **2012**, 109, 49-56.
- (120) Galindo-Murillo, R.; Garcia-Ramos, J. C.; Ruiz-Azuara, L.; Cheatham, T. E.; Cortes-Guzman, F. *Nucleic Acids Res.* **2015**, 1-13.
- (121) Harvey, J. N.; Poli, R.; Smith, K. M. *Coord. Chem. Rev.* **2003**, 238-239, 347-361.
- (122) Michl, J.; Bonacic-Koutecký, V. *Electronic Aspects of Organic Photochemistry*; Wiley-Interscience, Ed.; New York, 1990.
- (123) Yarkony, D. R. *J. Phys. Chem.* **1996**, 100 (48), 18612-18628.
- (124) Gütlich, P.; Garcia, Y.; Goodwin, H. a. *Chem. Soc. Rev.* **2000**, 29 (6), 419-427.
- (125) Gütlich, P.; Garcia, Y.; Woike, T. *Photoswitchable coordination compounds*; 2001; Vol. 219-221.
- (126) Li, Q.; Qiu, Y.-X.; Chen, X.-Y.; Schwarz, W. H. E.; Wang, S.-G. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, 14 (19), 6833.
- (127) Frisch, M. J.; Trucks, G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.;

Zheng, G.; Sonnenberg, D. J.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A., J.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. Gaussian, Inc.: Wallingford, CT 2009.

(128) Dennington, R.; Keith, T.; Millam, J. Semichem Inc.: Shawnee Mission, KS 2009.

(129) Keith, T. A. TK Gristmill Software: Overland Park, KS 2016.

Apéndice A

Acoplamiento espín-órbita

En un átomo hidrogenoide, los números cuánticos n , l , m_l y m_s definen el estado electrónico del átomo. Sin embargo, para átomos que contienen más de un electrón, se incluyen términos de energía de repulsión electrónica en el operador Hamiltoniano perdiéndose así la simetría radial del campo electrostático. Siendo así posibles únicamente soluciones aproximadas a la ecuación de Schrödinger; sin embargo, permanecen similitudes cualitativas y los números cuánticos se preservan¹. Se pueden obtener funciones de un electrón que describe la posición del electrón elegido independientemente de la posición de los demás electrones, pero incluyendo repulsión interelectrónica en un término de energía potencial “efectivo”, como una aproximación a la solución exacta, se puede usar el producto de la función de onda de un electrón (AOs, orbitales atómicos). La función de onda completa también debe incluir el espín y, para satisfacer el principio de Pauli, tiene que ser antisimétrica con respecto al intercambio de cualquier par de electrones a través de los orbitales ocupados. En otras palabras, no pueden existir dos electrones con los mismos cuatro números cuánticos, si n , l y m_l son iguales, los electrones tienen un espín opuesto.

Para obtener la configuración electrónica del estado basal de elementos polielectrónicos, los orbitales son llenados en orden de energía creciente (principio de Aufbau), sujeto a la restricción de que dos electrones no deben tener el mismo conjunto de números cuánticos.

Con el fin de obtener la energía total de los átomos, se debe encontrar el momento angular total mediante la suma de vectores. Debido a que la resultante del momento angular de electrones en una capa cerrada es cero, únicamente se consideran los que tienen capa abierta. Los momentos magnéticos debidos al espín y al momento angular total interactúan para producir dos niveles de energías levemente diferentes y un momento total $j = l \pm 1/2$.

Usualmente los estados electrónicos de los átomos son denotados por sus “términos espectroscópicos” $n^{2S+1}L_J$, donde n es el número cuántico principal de la capa parcialmente llena (por simplicidad, es frecuentemente omitido), S , L y J son el momento angular de espín, momento angular orbital y momento angular total de los electrones, que se encuentran mediante suma de vectores. El término

$2S + 1$ es llamado multiplicidad. En los términos espectroscópicos, el valor de L es remplazado por una letra: S para $L = 0$, P para $L = 1$, D para $L = 2$, y así sucesivamente.

Cuando un átomo contiene dos electrones en capas semi-ocupadas, el momento angular de espín y el momento angular orbital pueden acoplarse en dos formas dependiendo de la magnitud de las interacciones.

Para átomos ligeros (Figura A.2a), los dos momentos se consideran por separado (Russell-Saunders o acoplamiento l,s) para dar las resultantes L y S : $(l_1 + l_2) \geq L \geq (l_1 - l_2)$, y $S = s_1 \pm s_2$. Entonces, L y S se combinan para dar lugar al momento angular total resultante J : $(L + S) \geq J \geq (L - S)$ para $L > S$, o viceversa para $L < S$.

Para átomos pesados (figura A.2b), el momento angular de espín y el momento angular orbital están fuertemente acoplados, así que la discusión anterior no es válida y sólo es posible medir el momento angular total (acoplamiento j,j). Para dos electrones en orbitales no llenos, el momento angular J está dado por $(j_1 + j_2) \geq J \geq (j_1 - j_2)$ con $j_1 = l_1 \pm s_1$ y $j_2 = l_2 \pm s_2$. Cuando opera este tipo de acoplamiento, los estados atómicos pueden ser representados únicamente con el valor J , siendo el único número cuántico (figura A.2c).

El criterio para elegir entre ambos acoplamientos son las interacciones más importantes, entre las siguientes, se deben considerar primero:

- 1) Interacción núcleo-electrón.
- 2) Repulsión electrónica.
- 3) Interacción entre el momento de espín y el momento orbital (acoplamiento espín-órbita).

La interacción núcleo-electrón es siempre la más fuerte y se toma en cuenta cuando se considera el diagrama de energía de los AOs. Si la repulsión electrónica es mayor que el acoplamiento espín-órbita, el acoplamiento Russell-Saunders es el apropiado: la repulsión interelectrónica se explica por el diagrama de configuración electrónica y el acoplamiento espín-órbita por la división de los estados electrónicos de acuerdo al valor de J en el diagrama de estados. Viceversa, si la repulsión electrónica es más pequeña que el acoplamiento espín-órbita, se aplica el acoplamiento j,j .

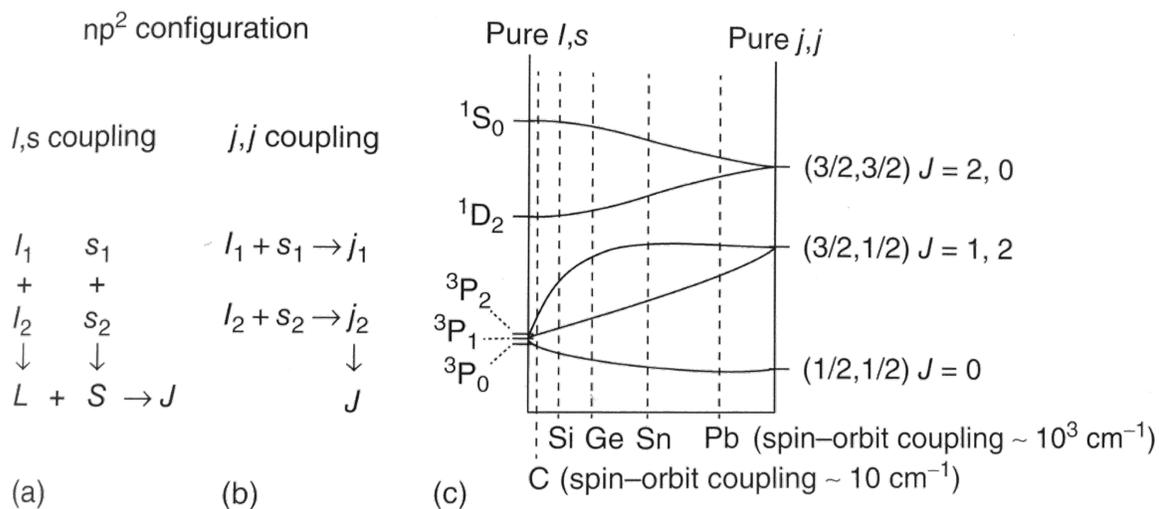


Figura A.1. (a) Acoplamiento Russell-Saunders o *L,S*; (b) acoplamiento *j,j*; y (c) efecto de incrementar el acoplamiento espín-órbita para una configuración np² desde carbono hasta plomo.

Referencias

- (1) Hollas, J. M. *Modern Spectroscopy*, 4 ed.; John Wiley & Sons Ltd: Chichester, United Kingdom, 2004.
- (2) Balzani, V.; Ceroni, P.; Juris, A. *Photochemistry and Photophysics. Concepts, Research, Applications.*, 1st ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2014.

Apéndice B

Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT)

La función de onda electrónica de una molécula de n -electrones depende de $3n$ coordenadas espaciales y n coordenadas de espín. Ya que el operador Hamiltoniano contiene solamente términos espaciales de uno y dos electrones, la energía molecular se puede escribir en términos de integrales que implican solamente seis coordenadas espaciales. En este sentido, la función de onda de una molécula polielectrónica contiene más información que la que es necesaria, y falta un significado físico directo. Esto ha incitado la búsqueda de funciones que impliquen menos variables que la función de onda y que se puedan utilizar para calcular la energía y otras propiedades.

En 1964, Pierre Hohenberg y Walter Kohn probaron que para moléculas con un estado fundamental no degenerado, la energía molecular del estado fundamental, la función de onda y todas las demás propiedades electrónicas, están determinadas unívocamente por la densidad de probabilidad electrónica del estado fundamental $\rho_0(x,y,z)$, una función de solamente tres variables (el subíndice cero indica el estado fundamental)¹. Se dice que la energía electrónica del estado fundamental E_0 es un funcional de ρ_0 y se escribe $E_0 = E_0[\rho_0]$, donde los corchetes denotan la relación funcional. La teoría de funcionales de la densidad (DFT) intenta calcular E_0 y otras propiedades moleculares del estado fundamental a partir de la densidad electrónica del estado fundamental, ρ_0 .

Si una función $f(x)$ es una regla que asocia un número a cada valor de la variable x para el que la función f está definida, un funcional $F[f]$ es una regla que asocia un número a cada función f . Enseguida se desarrollará el teorema de Hohenberg y Kohn.²

Si se considera el Hamiltoniano de una molécula de n electrones se tiene:

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

donde

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

Es la energía potencial entre el electrón i y los núcleos, que depende de las coordenadas (\vec{r}) del electrón i y de las coordenadas nucleares. Pero al utilizar un sistema con núcleos fijos, las coordenadas nucleares dejan de ser variables y la energía potencial $v(r_i)$ sólo depende de las coordenadas electrónicas, lo que se conoce como el potencial externo que actúa sobre el electrón i , ya que tiene un origen externo al sistema de electrones.

Una vez que se establece el potencial externo $v(r_i)$ y el número de electrones n en el sistema, se puede determinar la función de onda y la energía de la molécula al solucionar la ecuación de Schrödinger.

Hohenberg y Kohn demostraron que la probabilidad de densidad electrónica determina tanto el potencial externo como el número de electrones y, por tanto, la función de onda y la energía molecular. De esta manera, se puede decir que la densidad electrónica contiene toda la información necesaria para describir al sistema.

El hamiltoniano puramente electrónico es la suma de la energía cinética, el potencial debido a la atracción entre el núcleo y los electrones y el potencial debido a la repulsión entre los electrones. Así, se puede escribir:

$$E = \bar{T} + \bar{V}_{ne} + \bar{V}_{ee}$$

Cuando se introduce el teorema de Hohenberg y Kohn, se impone que todos estos términos son dependientes de la densidad, por lo que se llega a la ecuación siguiente:

$$E_0 = E_v[\rho_0] = \bar{T}[\rho_0] + \bar{V}_{ne}[\rho_0] + \bar{V}_{ee}[\rho_0] \quad (2)$$

donde E_v es la energía que depende del potencial externo. Cada una de las cantidades son propiedades promedio obtenidas de la densidad electrónica. El operador de la energía potencial, producto de la interacción núcleo-electrón, es

$$V_{ne} = \sum_{i=1}^n v(r_i)$$

donde

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

que es la suma de la interacción del electrón i con cada uno de los núcleos α . De esta manera, el operador es la suma de las interacciones de todos los

electrones con todos los núcleos y, si se aplica el operador V_{ne} a la densidad electrónica, que es una función continua, se tiene:

$$\bar{V}_{ne} = \int \rho_0(r) v(r) dr \quad (3)$$

si esta última expresión se introduce en la ecuación (2) se obtiene:

$$E_0 = E_v[\rho_0] = \int \rho_0(r) v(r) dr + \bar{T}[\rho_0] + \bar{V}_{ee}[\rho_0] \quad (4)$$

De esta ecuación se conoce la cantidad $\bar{V}_{ne}[\rho_0]$ pero no las cantidades $\bar{T}[\rho_0]$ y $\bar{V}_{ee}[\rho_0]$.

Otro teorema propuesto por Hohenberg y Kohn establece que se puede encontrar la energía molecular empleando el método variacional mediante la expresión:

$$\bar{T}[\rho] + \bar{V}_{ee}[\rho_0] + \int \rho v(r) dr \geq E_v[\rho_0] \quad (5)$$

Y en principio se puede calcular la energía sin que se requiera el cálculo de la función de onda; sin embargo, el teorema aquí analizado no indica cómo calcular E_0 a partir solamente de ρ_0 , cuando se conoce el funcional $E[\rho]$. Con la finalidad de resolver este problema, Kohn y Sham propusieron un método práctico para encontrar la densidad ρ_0 y, a partir de ella, la energía E_0 (1965)³. Este método en principio permite obtener resultados exactos, pero en realidad sólo arroja resultados aproximados, ya que opera con funcionales que son desconocidos.

Kohn y Sham consideran un sistema de referencia ficticio (descrito por la letra S) y denominado sistema no interactuante de n electrones, los cuales experimentan el mismo potencial externo $v_S(r_i)$, que es una cantidad elegida de tal manera que la densidad sea igual a la densidad electrónica exacta de la molécula en estudio.

$$\rho_S = \rho_0 \quad (6)$$

El sistema de partículas no interactuantes tiene un hamiltoniano de la forma siguiente:

$$H_S = \sum_{i=1}^n \left[-\frac{1}{2} \nabla_i^2 + v_S(r_i) \right] = \sum_{i=1}^n h_i^{KS} \quad (7)$$

Donde h_i^{KS} es el hamiltoniano de Kohn-Sham de un electrón.

Como el sistema de referencia S está formado de partículas no interactuantes, es posible separar el efecto de cada una y, a partir del principio de Pauli, se obtiene una función de onda del sistema de referencia en el estado basal $\Psi_{S,0}$, que se escribe como un determinante de Slater de espín orbitales de Kohn-Sham u_i^{KS} , donde la parte espacial $\theta_i^{KS}(r_i)$ de cada espín orbital es función propia del hamiltoniano h_i^{KS} , que depende sólo de un electrón. De esta manera se tiene que:

$\Psi_{S,0} = |u_1, u_2, \dots, u|$, donde $u_i = \theta_i^{KS}(r_i)\sigma_i$. Aquí σ_i es la función de espín (α o β). Con esto es posible escribir la ecuación de valores propios siguiente:

$$h_i^{KS}\theta_i^{KS} = \varepsilon_i^{KS}\theta_i^{KS} \quad (8)$$

Donde ε_i^{KS} es la energía del orbital de Kohn-Sham.

Considerando el sistema de referencia, se pueden definir las diferencias entre este sistema y el sistema real, como:

$$\Delta T[\rho] = T[\rho] - T_S[\rho] \quad (9)$$

Donde ΔT es la diferencia entre la energía cinética electrónica de la molécula real y la del sistema de referencia de electrones no interactuantes, con densidad electrónica igual a la de la molécula real. De la misma manera, se establece la diferencia siguiente:

$$\Delta V_{ee}[\rho] = V_{ee}[\rho] - \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{1,2}} dr_1 dr_2 \quad (10)$$

Donde $r_{1,2}$ es la distancia entre los puntos $r_1(x_1, y_1, z_1)$ y $r_2(x_2, y_2, z_2)$. La cantidad $\frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{1,2}} dr_1 dr_2$ es la expresión clásica para la energía potencial de repulsión electrostática entre los electrones, si se les consideran sumergidos en una distribución de carga continua con densidad electrónica ρ . La carga dQ_1 , en un pequeño elemento de volumen dr de dicha distribución es igual a $dQ_1 = -e\rho(r_1)dr_1$ y la energía potencial de repulsión entre dQ_1 y la carga en el elemento de volumen dr_2 , localizado a una distancia r_2 es $e^2 \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{1,2}} dr_1 dr_2$. La integración sobre dr_2 produce la energía de repulsión entre dQ_1 y la distribución de carga, mientras la integración sobre dr_1 y la multiplicación por $\frac{1}{2}$ produce la energía de repulsión total, donde el factor $\frac{1}{2}$ es necesario para prevenir el contar dos veces una repulsión entre dQ_1 y dQ_2 y otra entre dQ_2 y dQ_1 .

Al tomar en cuenta las ecuaciones 9 y 10 y despejar las cantidades necesarias, se puede reescribir la ecuación 4, con lo que se tiene:

$$E_v[\rho] = \int \rho(r)v(r)dr + T_S[\rho] + \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{1,2}} dr_1 dr_2 + \Delta T[\rho] + \Delta V_{ee}[\rho] \quad (11)$$

En esta ecuación los funcionales ΔT y ΔV_{ee} no se conocen. En este punto, estas cantidades desconocidas se incluyen en la definición de un nuevo funcional, el funcional de energía de intercambio y correlación de la manera siguiente:

$$E_{XC}[\rho] = \Delta T[\rho] + \Delta V_{ee}[\rho] \quad (12)$$

La energía de intercambio y correlación E_{XC} contiene los términos siguientes: la energía de correlación cinética, la energía de intercambio (que se origina en el requerimiento de antisimetría) y la energía de correlación coulombica. Por lo que se puede reescribir el funcional de energía de la ecuación 4, de la manera siguiente:

$$E_v[\rho] = \int \rho(r)v(r)dr + T_S[\rho] + \frac{1}{2} \int \int \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{1,2}} dr_1 dr_2 + E_{XC}[\rho] \quad (13)$$

Como se puede observar, es posible expresar $E_v[\rho_0]$ por medio de cuatro términos en la relación 13. Los tres primeros términos pueden ser evaluados fácilmente a partir de la densidad electrónica y en ellos se incluyen las contribuciones más importantes a la energía del estado basal. El cuarto término E_{XC} no se puede evaluar con la misma facilidad.

Para poder resolver completamente estas ecuaciones se necesita, primero, determinar la densidad electrónica del estado basal. En este punto es preciso recordar que se definió la densidad electrónica del sistema de referencia como la densidad electrónica de la molécula real en su estado basal: $\rho_S = \rho_0$.

La densidad electrónica para un sistema de n partículas que se expresa como un determinante de Slater de espín orbitales, donde $u_i = \theta_i^{KS}(r_i)\sigma_i$, se obtiene por la relación siguiente:

$$\rho = \rho_S = \sum_{i=1}^n |\theta_i^{KS}|^2 \quad (14)$$

Para valorar los términos en la ecuación 13 se utiliza el procedimiento siguiente. Se cuenta con la expresión $\int \rho(r)v(r)dr = -\sum_{\alpha} Z_{\alpha} \int \frac{\rho(r_1)}{r_{1,\alpha}} dr_1$, que se puede evaluar fácilmente si se conoce la densidad. El término T_S es la energía cinética del sistema de electrones no interactuantes con una función de onda Ψ_S , igual a un determinante de Slater de espín orbitales de Kohn-Sham ortonormales, por lo que

se tiene que $T_S[\rho] = -\frac{1}{2}\langle\Psi_S|\sum_i\nabla_i^2|\Psi_S\rangle$, y utilizando la parte espacial de los espín orbitales se obtiene la expresión $T_S[\rho] = -\frac{1}{2}\sum_i\langle\theta_i^{KS}(1)|\nabla^2|\theta_i^{KS}(1)\rangle$.

Por lo tanto, se puede reescribir la ecuación 13 de la siguiente forma:

$$E_0 = -\sum_{\alpha} Z_{\alpha} \int \frac{\rho(r_1)}{r_{1,\alpha}} dr_1 - \frac{1}{2} \sum_i \langle\theta_i^{KS}(1)|\nabla^2|\theta_i^{KS}(1)\rangle + \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{1,2}} dr_1 dr_2 + E_{XC}[\rho] \quad (15)$$

Así es posible determinar E_0 a partir de la densidad, siempre y cuando se puedan encontrar los orbitales de Kohn-Sham θ_i^{KS} y se conozca el funcional E_{XC} .

Los orbitales de Kohn-Sham θ_i^{KS} son los orbitales para el sistema de referencia ficticio de electrones no interactuantes y, de manera estricta, no tienen un significado físico; su utilidad es la de permitir que la densidad molecular exacta del estado basal pueda ser calculada a partir de la ecuación 14. Lo mismo se puede decir de los orbitales en el método Hartree-Fock.

Los orbitales de Kohn-Sham se obtienen siguiendo el teorema de Hohenberg y Kohn que propone que se puede encontrar la energía del estado basal variacionalmente, es decir, cambiando la densidad con el fin de minimizar $E_v[\rho]$, lo que es equivalente a variar los orbitales θ_i^{KS} para determinar la densidad y satisfacer el sistema de ecuaciones siguiente:

$$h^{KS}(1)\theta_i^{KS}(1) = \varepsilon_i^{KS}\theta_i^{KS}(1)$$

$$\left[-\frac{1}{2}\nabla^2 - v_S(1)\right]\theta_i^{KS}(1) = \varepsilon_i^{KS}\theta_i^{KS}(1) \quad (16)$$

El operador de Kohn-Sham $h^{KS}(1)$ para un electrón es similar al de Fock utilizado en las ecuaciones de Hartree-Fock, excepto que el operador de intercambio $-\sum_{j=1}^n k_j$ es reemplazado por el potencial V_{XC} .

$$\left[-\frac{1}{2}\nabla_i^2 - \sum \frac{Z_{\alpha}}{r_{i,\alpha}} + \int \frac{\rho(r_2)}{r_{1,2}} dr_2 + V_{XC}\right]\theta_i^{KS}(1) = \varepsilon_i^{KS}\theta_i^{KS}(1) \quad (17)$$

El potencial de intercambio y correlación V_{XC} es la derivada del funcional de la energía de intercambio y correlación E_{XC} :

$$V_{XC}(r) = \frac{\delta E_{XC}[\rho(r)]}{\delta\rho(r)} \quad (18)$$

El problema que se presenta en este punto es que el funcional $E_{XC}[\rho]$ no se conoce. Se han desarrollado varios métodos para encontrar aproximaciones a

este funcional y de esta manera poder resolver la ecuación 18; algunas de estas aproximaciones son⁴: Aproximación Local de la Densidad (LDA) y Aproximación Local de la Densidad de Espín (LSDA).

Los cálculos se inician con una densidad de partida, que usualmente se encuentra superponiendo las densidades calculadas de los átomos individuales en la geometría molecular. De esta ρ inicial se estima $V_{xc}(r)$, la cual se usa en las ecuaciones de Kohn-Sham (ecuación 17), lo que permite obtener de la misma manera que en el método Hartree-Fock- los orbitales θ_i^{KS} con una ecuación secular:

$$\sum_{s=1}^b C_{si} (h_{rs}^{KS} - \epsilon_i^{KS} S_{rs}) = 0 \text{ con } r = 1, 2, \dots, b \quad (19)$$

Una vez obtenidos los orbitales θ_i^{KS} , éstos son usados para conseguir una densidad electrónica, y con ello se inicia el ciclo de nuevo (figura B.1). Las iteraciones continúan hasta que no exista una diferencia en la densidad y en los orbitales Kohn-Sham. Y una vez que el cálculo converge, se puede calcular la energía, ya que se conoce ρ y el funcional aproximado E_{xc} .⁵

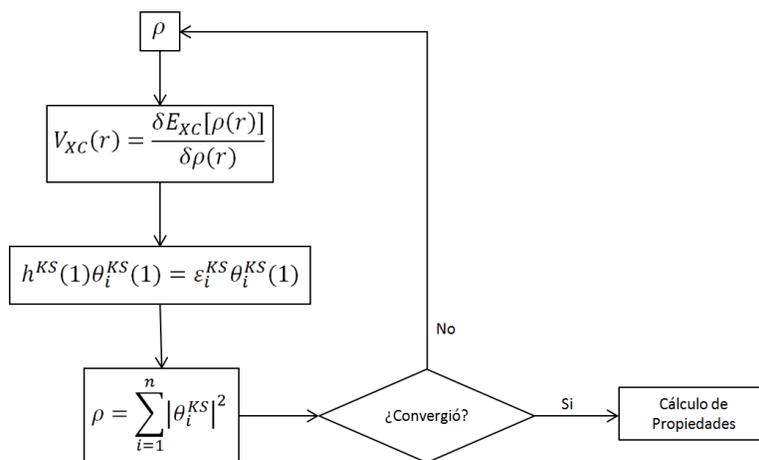


Figura B.1. Cálculo con teoría de funcionales de la densidad.

Referencias

- (1) Hohenberg, P.; Kohn, W. *Phys. Rev. B* **1964**, *136* (3B), B864-B871.
- (2) Levine, I. N. *Química Cuántica*, 5th ed.; Pearson Educación: Madrid, 2001.
- (3) Kohn, W.; Sham, L. J. *Phys. Rev.* **1965**, *140* (A1133).
- (4) Parr, R. G.; Yang, W. *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*; Oxford University Press: United States of America, 1989.
- (5) Cuevas, G.; Cortés-Guzmán, F. *Introducción a la Química Computacional*, 1st ed.; Fondo de Cultura Económica: México, 2003.

Apéndice C

Teoría Cuántica de Átomos en Moléculas (QTAIM)

En una molécula los electrones se encuentran distribuidos a través del espacio en un campo de atracción ejercido por los núcleos; éstos actúan como un punto atractor alrededor de una nube de carga negativa conocida como densidad electrónica, $\rho(r)$. La densidad electrónica es una propiedad que describe la manera en la cual la carga electrónica de una molécula se encuentra distribuida a través del espacio real. La densidad electrónica está en función de tres coordenadas espaciales y puede ser analizada en términos de su topología.¹

La teoría topológica de átomos en moléculas (QTAIM) permite localizar y cuantificar los puntos críticos (PC, puntos donde el gradiente de la densidad electrónica en una molécula es igual a cero: $\nabla f(x,y,z) = 0$) [9], cuyo análisis provee información necesaria para definir un concepto muy importante en química, el enlace.

Los puntos críticos se caracterizan por su rango (ω , que indica el número de curvaturas de la densidad electrónica diferentes de cero) y firma (σ , que es la suma algebraica de los signos de los valores propios). De esta forma, existen cuatro tipos de puntos críticos:

- (3,-3): las tres curvaturas son negativas y la densidad es un máximo local, corresponde a un punto crítico nuclear (NCP).
- (3,-1): dos de las curvaturas son negativas, por lo que la densidad es un máximo en el plano definido por los ejes correspondientes, mientras que tiene un mínimo a lo largo del eje perpendicular al plano, corresponde a un punto crítico de enlace (BCP).
- (3,+1): dos de las curvaturas son positivas, por tanto, la densidad es un mínimo en el plano definido por los ejes correspondientes y un máximo a lo largo del tercer eje que es perpendicular a este plano, corresponde a un punto crítico de anillo (RCP).
- (3,+3): las tres curvaturas son positivas y la densidad es un mínimo local, corresponde a un punto crítico de caja (CCP).²

El laplaciano de la densidad electrónica, $\nabla^2\rho(r)$, es un campo escalar que determina dónde se encuentra la carga electrónica sobre los átomos de una

molécula; su magnitud determina qué tan fuerte es el efecto de la concentración (CC) o disminución (CD) de densidad electrónica.^{3,4}

La geometría de una molécula puede definirse como el conjunto de coordenadas de los núcleos, sin importar la conectividad; una trayectoria de enlace (BP) es entonces una línea a lo largo de la cual la densidad electrónica se encuentra máximamente concentrada en la unión de un par de átomos enlazados, convirtiéndose así en un indicador de enlaces entre átomos. Una gráfica atómica es aquella que muestra la estructura dada por el laplaciano a través de la colección de puntos críticos para cada átomo en su capa de valencia. Así, una molécula se define como el conjunto de puntos críticos y trayectorias de enlace.^{5,6}

C.1. Propiedades atómicas

El promedio de una propiedad O en una cuenca Ω , $O(\Omega)$, se calcula con la relación:

$$O(\Omega) = \langle \hat{O} \rangle_{\Omega} = \frac{N}{2} \int_{\Omega} dr \int d\tau' [\Psi^* \hat{O} \Psi + (\hat{O} \Psi)^* \Psi] \quad (1)$$

Donde \hat{O} es el operador de un electrón o la suma de los operadores de un electrón. Algunos ejemplos de éstas propiedades se detallan a continuación.

C.1.1. Población electrónica atómica [$N(\Omega)$] y carga [$q(\Omega)$]

La población electrónica total de un átomo, $N(\Omega)$, en una molécula es obtenida al igualar $\hat{O} = 1$ en la ecuación (1). Esto lleva a:

$$N(\Omega) = \int_{\Omega} \rho(r) dr \quad (2)$$

que también puede ser expresada en términos de la población de espín:

$$N(\Omega) = \sum_i \left[\langle \psi_i(r) | \psi_i(r) \rangle_{\Omega}^{\alpha} + \langle \psi_i(r) | \psi_i(r) \rangle_{\Omega}^{\beta} \right] \quad (3)$$

en donde las poblaciones de espín separadas están dadas por:

$$\langle \psi_i(r) | \psi_i(r) \rangle_{\Omega}^{\sigma} = \int_{\Omega} \psi_i^{\sigma*}(r) \psi_i^{\sigma}(r) dr \equiv S_{ii}^{\sigma}(\Omega) \quad (4)$$

donde σ se refiere a cualquiera de las poblaciones de espín α o β , y $S_{ii}^{\sigma}(\Omega)$ es el elemento i en la diagonal de la matriz de traslape atómica.

La carga atómica se obtiene restando $N(\Omega)$ de la carga nuclear Z_Ω :

$$q(\Omega) = Z_\Omega - N(\Omega) \quad (5)$$

C.1.2. Energía atómica total [$E_e(\Omega)$]

La partición de la energía molecular total en un conjunto de energías atómicas aditivas es un problema no trivial resuelto por Bader. Si consideramos que la función de onda calculada satisface el teorema del virial atómico, descrito de la siguiente forma:

$$-2T(\Omega) = \mathcal{V}(\Omega) \quad (6)$$

donde $\mathcal{V}(\Omega)$ es el virial atómico total y $T(\Omega)$ es la energía cinética atómica, entonces, la energía atómica electrónica, $E_e(\Omega)$ está dada por:

$$E_e(\Omega) = T(\Omega) + \mathcal{V}(\Omega) \quad (7)$$

Para sistemas en equilibrio no hay fuerzas de Hellmann-Feynman actuando en el núcleo, entonces el virial se considera como el promedio de la energía potencial de la molécula, es decir, $\mathcal{V} = V$. Bajo esta condición, la ecuación (6) puede ser descrita de la siguiente forma:

$$-2T(\Omega) = V(\Omega) \quad (8)$$

donde $V(\Omega)$ es la energía potencial del átomo Ω , y la ecuación (7) puede representarse entonces como:

$$E(\Omega) = E_e(\Omega) = T(\Omega) + V(\Omega) = -T(\Omega) = \frac{1}{2}V(\Omega) \quad (9)$$

donde $E(\Omega)$ es la energía total del átomo Ω .

Así, la energía de un átomo en una molécula en su geometría de equilibrio se obtiene del teorema virial, y considerando que $E(\Omega) = -T(\Omega)$. La suma de las energías atómicas da lugar, naturalmente, a la energía total de la molécula (obtenida directamente del cálculo de estructura electrónica) con un error numérico de integración. Dicha aditividad de las energías atómicas es expresada de la forma:

$$E_{total} = \sum_{\Omega} E(\Omega) \quad (10)$$

Esta ecuación representa la partición de la energía molecular total en contribuciones atómicas, una partición que incluye, por ejemplo, la contribución de la repulsión núcleo-núcleo a la energía molecular.²

Referencias

- (1) Bader, R. *Atoms in Molecules. A Quantum Theory.*, 1st ed.; Oxford University Press: New York, 1990.
- (2) Matta, C. F.; Boyd, R. J. *The Quantum Theory of Atoms in Molecules. From Solid State to DNA and Drug Design.*, 1st ed.; Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2007.
- (3) Popelier, P. *Atoms in Molecules. An introduction.*; Pearson Education Limited 2000: Singapur, 2000.
- (4) Bader, R.; Popelier, P.; Keith, T. A. *Angew. Chemie* **1994**, *33* (6), 620–631.
- (5) Bader, R. F. W. *J. Phys. Chem. A* **1998**, *102* (37), 7314–7323.
- (6) Bader, R. F. W.; Matta, C. F.; Cortes-Guzmán, F. *Organometallics* 2004, *23* (26), 6253–6263.