



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Facultad de Ingeniería Química

**EFFECTO CITOTÓXICO DE NANOPARTÍCULAS DE ORO
EN CÁNCER DE MAMA OBTENIDAS MEDIANTE
MACROMOLÉCULAS DE NUEVA GENERACIÓN**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN INGENIERÍA QUÍMICA

PRESENTA

FAUSTO DÍAZ SÁNCHEZ

Director de Tesis:

Dr. Miguel Ángel García Castro

Codirectora de Tesis:

Dra. Maura Cárdenas García

Puebla, Pue.

Agosto 2025



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO
MAESTRÍA EN INGENIERÍA QUÍMICA



ACTA DE REVISIÓN, LIBERACIÓN E IMPRESIÓN DE TESIS

Nombre del (de la) estudiante: **FAUSTO DÍAZ SÁNCHEZ**

Matrícula: **223470621**

Nombre del director: **Dr. Miguel Ángel García Castro**

Nombre del codirector: **Dra. Maura Cárdenas García**

Título de la Tesis:

**“EFECTO CITOTÓXICO DE NANOPARTÍCULAS DE ORO EN CÁNCER DE MAMA OBTENIDAS MEDIANTE
MACROMOLÉCULAS DE NUEVA GENERACIÓN”**

Comisión Revisora:

Presidente: **Dr. Adan Luna Flores**

Firma: _____

Secretario(a): **Dr. Jesús Andrés Arzola Flores**

Firma: _____

Vocal (1): **Dr. Miguel Ángel García Castro**

Firma: _____

Vocal (2): **Dra. Maura Cárdenas García**

Firma: _____

Los integrantes de la Comisión Revisora expresamos que hemos leído y revisado el manuscrito de la tesis de maestría que presenta el (la) estudiante arriba indicado, por lo que **estamos de acuerdo en que se proceda con la impresión definitiva de la tesis y que el (la) estudiante presente su defensa y examen de grado en la fecha, horario y lugar que se indican a continuación.**

Fecha de examen: 15 de agosto de 2025

Hora: 11:00 am

Día de la semana: viernes

Lugar: FIQ7/301



Indicaciones: Entregar original para su revisión y autorización en la Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado (SIEP). La copia de este documento deberá ser incluida en la tesis empastada y en su versión electrónica.

Revisa y Autoriza: Sello de la Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado. - FIQ. - BUAP



BUAP

Oficio: FIQ/SIEP/030/2025

Mtro. Juan Manuel Rosas Tapia
Director de la Dirección de Administración Escolar
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE

Reciba un afectuoso saludo y al mismo tiempo me permito presentar a usted a los integrantes del jurado de examen que para obtener el grado de Maestro en Ingeniería Química sustentará el:

I. Q. Fausto Díaz Sánchez

perteneciente a la generación 2023 con número de matrícula 223470621 y cuyo tema de tesis es: "EFECTO CITOTÓXICO DE NANOPARTÍCULAS DE ORO EN CÁNCER DE MAMA OBTENIDAS MEDIANTE MACROMOLÉCULAS DE NUEVA GENERACIÓN".

Dicho jurado está integrado por:

JURADO

Presidente
Secretario
Vocal
Vocal

Dr. Adan Luna Flores
Dr. Jesús Andrés Arzola Flores
Dr. Miguel Ángel García Castro
Dra. Maura Cárdenas García

Asimismo, comunico a usted que el alumno cumple con todos los requisitos para poder llevar a cabo su examen de grado, y que los integrantes de este jurado están citados con anticipación para la fecha y lugar indicados a continuación.

FECHA DE EXAMEN: 15 de agosto de 2025
HORA: 11:00 horas
LUGAR: Edificio FIQ7/301
DÍA: viernes

Sin otro particular, me es grato quedar de usted.

Atentamente,
"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z. a 10 de julio de 2025


Dra. Esmeralda Vidal Robles
Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado



c.c.p. Archivo
E-mail: esmeralda.vidal@correo.buap.mx

Facultad
de Ingeniería
Química

Av. San Claudio s/n, Col. San
Manuel, Ciudad Universitaria,
Puebla, Pue. C. P. 72590
(222) 229 55 00
Exts. 7250 y 7251

RESUMEN

En el siguiente proyecto de investigación se aborda la síntesis en estado sólido de tres nuevas macromoléculas, su caracterización y la obtención de nanopartículas de oro (AuNPs) a partir del electrolito generado por estas estructuras, tanto los electrolitos como las AuNPs fueron probadas en las líneas de cáncer de mama MDA-MB-231 y MCF-7 mostrando resultados prometedores, adicionalmente se probaron las concentraciones inhibitoras medias en la línea control MCF-10A en donde no se observó una disminución significativa de la viabilidad celular. Finalmente, mediante el uso de Machine Learning y el método de contribución de grupos propuesto por Benson se predijo la entalpía de formación en fase gaseosa y cristalina de los compuestos y, mediante cálculos ab initio se obtuvo la entalpía de formación de los reactivos utilizados mediante las metodologías Gn y CBS.

DEDICATORIA

A mi padre

por apoyarme durante toda mi vida,

darme las oportunidades y herramientas para crecer e ir avanzando como persona,

siempre brindarme su mano y consejos a lo largo de toda mi trayectoria

has sido un gran cimiento en mi formación tanto profesional como personal.

Sin ti no podría ser la persona que soy hoy en día.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Miguel Angel García Castro, por su dirección para el desarrollo de la presente investigación, su apoyo incondicional durante todo el proceso que llevo de conocerlo, su paciencia, enseñanza y guía en los momentos que más necesité, usted me ayudó a crecer tanto profesionalmente como personalmente y es algo que jamás podré terminar de agradecerle y pagarle, espero poder estar un día a la altura de una persona como usted. De todo corazón espero que siempre tenga una vida llena de salud, amor y lo más importante, una vida llena de felicidad.

A la Dra. Maura Cárdenas García, por su asesoría en la realización de los experimentos de viabilidad celular, su tiempo para la enseñanza en técnicas de acoplamiento molecular y la resolución de dudas en todo momento.

A mis amigos, por su sincera amistad y brindarme siempre su mano en los momentos que más necesité, por no dejarme rendir cuando me sentía al borde y por siempre sacarme una sonrisa cuando más lo necesitaba.

A la comisión revisora, por el tiempo dedicado para realizar sugerencias que sin duda tomé en cuenta.

Dr. Jesús Andrés Arzola Flores

Dr. Adán Luna Flores

Índice

| | |
|--|----|
| INTRODUCCIÓN..... | 15 |
| Objetivos..... | 16 |
| Objetivo general..... | 16 |
| Objetivos específicos | 16 |
| Capítulo 1: Antecedentes | 17 |
| Síntesis orgánica | 17 |
| Síntesis de nanopartículas..... | 19 |
| Generalidades del cáncer de mama | 21 |
| Citotoxicidad de las Nanopartículas | 22 |
| Inteligencia Artificial | 24 |
| Tipos de aprendizaje automático | 26 |
| Python en la Inteligencia Artificial y en el Machine Learning..... | 27 |
| Termoquímica computacional | 28 |
| Capítulo 2: Marco metodológico..... | 31 |
| Síntesis en disolución sólida | 31 |
| Caracterización del producto de síntesis..... | 31 |
| Síntesis y caracterización de las nanopartículas de oro | 34 |
| Citotoxicidad | 36 |
| Acoplamiento molecular | 37 |
| Consenso farmacológico | 39 |
| Fase <i>in vitro</i> | 42 |
| Fase <i>in silico</i> | 43 |
| Métodos empíricos de predicción de entalpías de formación | 46 |
| Cálculos basados en regresiones..... | 47 |
| Métricas de Evaluación | 50 |
| Capítulo 3: Resultados y discusión..... | 54 |
| Síntesis y purificación de la o-DIDA..... | 54 |
| Síntesis y purificación de la 3,4-DITA | 59 |
| Síntesis y purificación de la 3,5-DITA | 64 |
| Síntesis y caracterización de las AuNPs | 70 |
| Potencial Zeta | 74 |
| Diámetro hidrodinámico | 77 |

| | |
|---|-----|
| Fase <i>in silico</i> | 79 |
| Resultados <i>in silico</i> con Gold | 95 |
| Resultados <i>in silico</i> para el átomo de oro | 105 |
| Consenso farmacológico | 108 |
| Fase <i>in vitro</i> | 110 |
| Predicción de propiedades termoquímicas | 118 |
| Termodinámica mediante Gaussian | 125 |
| Energía de Gibbs de formación en fase gaseosa | 141 |
| Conclusiones | 147 |
| Referencias | 148 |
| Anexo | 157 |

Índice de Figuras

Figura 1: Índice TIOBE

Figura 2: Diagrama de un espectrómetro de masas

Figura 3: Plasmón superficial para diferentes AuNPs

Figura 4: Representación de una SVR

Figura 5: a) oDIDA con impurezas, b) oDIDA sublimada. Se muestra en primer lugar de izquierda a derecha al TMA, en segundo a la oFDA y en tercer lugar a la oDIDA

Figura 6: Termograma obtenido para la oDIDA

Figura 7: Espectro de absorción de la o-DIDA utilizando FTIR-ATR

Figura 8: Espectro de ^1H -RMN de la Odida

Figura 9: Espectrograma de masas de la oDIDA

Figura 10: Ion molecular de la oDIDA

Figura 11: Ruta de fragmentación de la oDIDA

Figura 12: a) 3,4-DITA con impurezas, b) 3,4-DITA sublimada. Se muestra en primer lugar de izquierda a derecha al TMA, en segundo a la 3,4-ADAB y en tercer lugar a la 3,4-DITA

Figura 13: Termograma obtenido para la 3,4-DITA

Figura 14: Espectro de absorción de la 3,4-DITA utilizando FTIR-ATR

Figura 15: Espectro de ^1H -RMN de la 3,4-DITA

Figura 16: Ion molecular de la 3,4-DITA

Figura 17: Espectrograma de masas de la 3,4-DITA

Figura 18: Ruta de fragmentación de la 3,4-DITA

Figura 19: a) 3,5-DITA con impurezas, b) 3,5-DITA sublimada. Se muestra en primer lugar de izquierda a derecha al TMA, en segundo a la 3,5-ADAB y en tercer lugar a la 3,5-DITA

Figura 20: Termograma obtenido para la 3,5-DITA

Figura 21: Espectro de absorción de la 3,5-DITA utilizando FTIR-ATR

Figura 22: Espectro de ^1H -RMN de la 3,5-DITA

Figura 23: Ion molecular de la 3,5-DITA

Figura 24: Espectrograma de masas de la 3,5-DITA

Figura 25: Ruta de fragmentación de la 3,5-DITA

Figura 26: (A) o-DIDA, 3,5-DITA y 3,4-DITA sin purificar, (B) o-DIDA, 3,5-DITA y 3,4-DITA purificados por sublimación

Figura 27: Reacción de neutralización de la oDIDA

Figura 28: Espectro de UV-VIS de las nanopartículas de oro en relación 5:1 obtenidas de la oDIDA

Figura 29: Reacción de neutralización de la 3,4-DITA

Figura 30: Espectro de UV-VIS de las nanopartículas de oro en relación 3:1 obtenidas de la 3,4-DITA

Figura 31: Reacción de neutralización de la 3,5-DITA

Figura 32: Espectro de UV-VIS de las nanopartículas de oro en relación 3:1 obtenidas de la 3,5-DITA

Figura 33: Potencial Zeta de la AuNPs obtenidas por medio del electrolito oDIDA

Figura 34: Potencial Zeta de la AuNPs obtenidas por medio del electrolito 3,4-DITA

Figura 35: Potencial Zeta de la AuNPs obtenidas por medio del electrolito 3,5-DITA

Figura 36: Diámetro obtenido para las AuNPs sintetizadas mediante la oDIDA

Figura 37: Diámetro obtenido para las AuNPs sintetizadas mediante la 3,4-DITA

Figura 38: Diámetro obtenido para las AuNPs sintetizadas mediante la 3,5-DITA

Figura 39: Optimización de la geometría de la oDIDA; A) oDIDA obtenida del código SMILES, B) oDIDA en su estado de mínima energía

Figura 40: Optimización de la geometría de la 3,4-DITA; A) 3,4-DITA obtenida del código SMILES, B) 3,4-DITA en su estado de mínima energía

Figura 41: Optimización de la geometría de la 3,5-DITA; A) 3,5-DITA obtenida del código SMILES, B) 3,5-DITA en su estado de mínima energía

Figura 42: Interacciones del complejo MAPK1-oDIDA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

Figura 43: Sitio de unión de la oDIDA en la proteína MAPK1

Figura 44: Interacciones del complejo GSK3 α -oDIDA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

Figura 45: Sitio de unión de la oDIDA en la proteína GSK3 α

Figura 46: Interacciones del complejo ESR2-oDIDA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

Figura 47: Sitio de unión de la oDIDA en la proteína ESR2

Figura 48: Interacciones del complejo GSK3 α -3,4DITA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

Figura 49: Sitio de unión de la 3,4-DITA en la proteína GSK3 α

Figura 50: Interacciones del complejo cJUN-3,4DITA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

Figura 51: Sitio de unión de la 3,4-DITA en la proteína c-JUN

Figura 52: Interacciones del complejo APEX1-3,4DITA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

Figura 53: Sitio de unión de la 3,4-DITA en la proteína APEX1

Figura 54: Interacciones del complejo MAPK1-3,5DITA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

Figura 55: Sitio de unión de la 3,5-DITA en la proteína MAPK1

Figura 56: Interacciones del complejo ESR2-3,5DITA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

Figura 57: Sitio de unión de la 3,5-DITA en la proteína ESR2

Figura 58: Interacciones del complejo Src-3,5DITA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

Figura 59: Sitio de unión de la 3,5-DITA en la proteína Src

Figura 60: Funciones de PARP1 en el daño del ADN

Figura 61: Función de ESR2 en la proliferación celular

Figura 62: Blancos de las macromoléculas en la vía PI3K/Akt/mTOR

Figura 63: Blancos de las macromoléculas en la vía Ras/Raf

Figura 64: Blancos de las macromoléculas en el ciclo celular

Figura 65: Comparación del acoplamiento molecular MAPK1-oDIDA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

Figura 66: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo MAPK1-oDIDA; A) AutoDock, B) Gold

Figura 67: Comparación del acoplamiento molecular GSK3 α -oDIDA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

Figura 68: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo GSK3 α -oDIDA; A) AutoDock, B) Gold

Figura 69: Comparación del acoplamiento molecular ESR2-oDIDA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

Figura 70: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo ESR2-oDIDA; A) AutoDock, B) Gold

Figura 71: Comparación del acoplamiento molecular GSK3 α -34DITA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

Figura 72: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo GSK3 α -34DITA; A) AutoDock, B) Gold

Figura 73: Comparación del acoplamiento molecular cJUN-34DITA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

Figura 74: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo cJUN-34DITA; A) AutoDock, B) Gold

Figura 75: Comparación del acoplamiento molecular APEX1-34DITA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

Figura 76: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo APEX1-34DITA; A) AutoDock, B) Gold

Figura 77: Comparación del acoplamiento molecular MAPK1-35DITA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

Figura 78: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo MAPK1-35DITA; A) AutoDock, B) Gold

Figura 79: Comparación del acoplamiento molecular ESR2-35DITA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

Figura 80: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo ESR2-35DITA; A) AutoDock, B) Gold

Figura 81: Comparación del acoplamiento molecular Src-35DITA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

Figura 82: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo Src-35DITA; A) AutoDock, B) Gold

Figura 83: Sitio de unión para el átomo de Au en la proteína MAPK1 (en naranja se muestra el sitio de oDIDA y en rojo de 3,5-DITA)

Figura 84: Sitio de unión para el átomo de Au en la proteína GSK3 α (en naranja se muestra el sitio de oDIDA y en rojo de 3,4-DITA)

Figura 85: Sitio de unión para el átomo de Au en la proteína ESR2 (en naranja se muestra el sitio de oDIDA y en rojo de 3,5-DITA)

Figura 86: Sitio de unión para el átomo de Au en la proteína c-JUN (en naranja se muestra el sitio de 3,4-DITA)

Figura 87: Sitio de unión para el átomo de Au en la proteína APEX1 (en naranja se muestra el sitio de 3,4-DITA)

Figura 88: Sitio de unión para el átomo de Au en la proteína Src (en naranja se muestra el sitio de 3,5-DITA)

Figura 89: Gráfico de radar que muestra las seis propiedades fisicoquímicas predichas para los compuestos; A) oDIDA, B) 3,5-DITA y C) 3,4-DITA

Figura 90: Gráfico del huevo hervido

Figura 91: Procedimiento para el sembrado en placa de 96 pozos

Figura 92: Línea celular MDA-MB-231. A) Recién sembradas, B) Confluencia al 80%

Figura 93: Línea celular MCF-7. A) Recién sembradas, B) Confluencia al 80%

Figura 94: Ensayo de proliferación celular XTT

Figura 95: Efecto antiproliferativo de oDIDA sobre las líneas celulares

Figura 96: Efecto antiproliferativo de 3,4-DITA sobre las líneas celulares

Figura 97: Efecto antiproliferativo de 3,5-DITA sobre las líneas celulares

Figura 98: Efecto antiproliferativo de AuNPs oDIDA sobre las líneas celulares

Figura 99: Efecto antiproliferativo de AuNPs 3,4-DITA sobre las líneas celulares

Figura 100: Efecto antiproliferativo de AuNPs 3,5-DITA sobre las líneas celulares

Figura 101: Línea celular MCF-10A. A) Recién sembradas, B) Confluencia al 80%

Figura 102: Comparación entre entrenamiento y prueba para $-\Delta_f H^\circ(g, 298.15K)$ con SVR

Figura 103: Comparación entre entrenamiento y prueba para $-\Delta_f H^\circ(g, 298.15K)$ con KRR

Figura 104: Comparación entre entrenamiento y prueba para $-\Delta_f H^\circ(cr, 298.15K)$ con SVR

Figura 105: Comparación entre entrenamiento y prueba para $-\Delta_f H^\circ(cr, 298.15K)$ con KRR

Figura 106: Comparación entre entrenamiento y prueba para $-\Delta_c H^\circ(cr, 298.15K)$ con SVR

Figura 107: Comparación entre entrenamiento y prueba para $-\Delta_c H^\circ(cr, 298.15K)$ con KRR

Figura 108: Comparación entre entrenamiento y prueba para $\Delta_{sub} H^\circ(298.15 K)$ con SVR

Figura 109: Comparación entre entrenamiento y prueba para $\Delta_{sub} H^\circ(298.15 K)$ con KRR

Figura 110: Estructura optimizada para los compuestos: A) oDIDA, B) 3,5-DITA y C) 3,4-DITA

Figura 111: Curvas de capacidad calorífica en fase gaseosa en función de la temperatura para las macromoléculas sintetizadas

Figura 112: Curvas de capacidad calorífica en fase gaseosa en función de la temperatura para los ácidos 3,4 y 3,5 diaminobenzoicos

Figura 113: Comparación entre el espectro FTIR de la oDIDA obtenido de forma teórica y experimental

Figura 114: Comparación entre el espectro FTIR de la 3,4-DITA obtenido de forma teórica y experimental

Figura 115: Comparación entre el espectro FTIR de la 3,5-DITA obtenido de forma teórica y experimental

Figura 116: Comparación entre los espectros de FTIR de la 3,4-DITA y la 3,5-DITA

Figura 117: Predicción del conjunto de entrenamiento y prueba para la entropía absoluta

Figura 118: Predicción del conjunto de entrenamiento y prueba para la entropía de formación

Figura 119: Predicción del conjunto de entrenamiento y prueba para la energía de Gibbs absoluta

Figura 120: Incrementos entálpicos entre los compuestos estudiados

Índice de Tablas

- Tabla 1: Subtipos de cáncer de mama
- Tabla 2: Longitud de onda para el espectro infrarrojo
- Tabla 3: Ensayos de proliferación celular
- Tabla 4: Intensidad del enlace de hidrógeno
- Tabla 5: Proteínas para el acoplamiento molecular
- Tabla 6: Macromoléculas estudiadas
- Tabla 7: Relación de las soluciones de las AuNPs oDIDA
- Tabla 8: Relación de las soluciones de las AuNPs 3,4-DITA
- Tabla 9: Relación de las soluciones de las AuNPs 3,5-DITA
- Tabla 10: Potencial Zeta obtenido para los diferentes compuestos en mV
- Tabla 11: Potencial Zeta obtenido para los diferentes compuestos en mV posterior a 130 días
- Tabla 12: Diámetro hidrodinámico obtenido para los diferentes compuestos en nm
- Tabla 13: Probabilidad de interacción de las macromoléculas con las proteínas
- Tabla 14: Resultados del acoplamiento molecular para oDIDA
- Tabla 15: Resultados del acoplamiento molecular para 3,4-DITA
- Tabla 16: Resultados del acoplamiento molecular para 3,5-DITA
- Tabla 17: Perfil farmacocinético predicho para los compuestos investigados
- Tabla 18: Prueba de normalidad Shapiro-Wilk
- Tabla 19: Prueba ANOVA
- Tabla 20: IC₅₀ de los compuestos probados
- Tabla 21: Viabilidad celular de MCF-10A a partir de IC₅₀ obtenido de los compuestos probados en MDA-MB-231 y MCF-7
- Tabla 22: Métricas de evaluación para cada modelo en la predicción de $-\Delta_f H^\circ$ (g, 298.15K)
- Tabla 23: $-\Delta_f H^\circ$ (g, 298.15 K) predichas para los compuestos sintetizados en kJ mol^{-1}
- Tabla 24: Métricas de evaluación para cada modelo para $-\Delta_f H^\circ$ (cr, 298.15K)
- Tabla 25: $-\Delta_f H^\circ$ (cr, 298.15 K) predichas para los compuestos sintetizados en kJ mol^{-1}
- Tabla 26: Métricas de evaluación para cada modelo para $-\Delta_c H^\circ_m$ (cr, 298.15 K)

Tabla 27: $-\Delta_c H^\circ(\text{cr}, 298.15 \text{ K})$ predichas para los compuestos sintetizados en kJ mol^{-1}

Tabla 28: $-\Delta_f H^\circ(\text{cr}, 298.15 \text{ K})$ obtenidas mediante el valor predicho de $-\Delta_c H^\circ(\text{cr}, 298.15 \text{ K})$ en kJ mol^{-1}

Tabla 29: Métricas de evaluación para cada modelo de $\Delta_{\text{sub}} H^\circ_m(298.15 \text{ K})$

Tabla 30: $\Delta_{\text{sub}} H^\circ(298.15 \text{ K})$ predichas en kJ mol^{-1}

Tabla 31: $-\Delta_f H^\circ(\text{g}, 298.15 \text{ K})$ obtenidas mediante el valor predicho de $\Delta_{\text{sub}} H^\circ(298.15 \text{ K})$ en kJ mol^{-1}

Tabla 32: Energías calculadas a 0K para los átomos y compuestos de las reacciones isodésmicas por las teorías Gn

Tabla 33: Energías calculadas a 0K para los átomos y compuestos de las reacciones isodésmicas por la teoría CBS-QB3

Tabla 34: Entalpías de formación en fase gaseosa corregidas a $T = 298.15 \text{ K}$ en kJ mol^{-1}

Tabla 35: Energías calculadas a 0K para los ácidos diaminobenzoicos

Tabla 36: Entalpías de formación en fase gaseosa para los ácidos corregidas a $T = 298.15 \text{ K}$ en kJ mol^{-1}

Tabla 37: Entalpías de formación en fase gaseosa calculadas para los ácidos mediante reacciones isodésmicas a $T = 298.15 \text{ K}$, en kJ mol^{-1}

Tabla 38: Resultados de $C_{p,m}(\text{g})$ de la oDIDA, 3,4-DITA y 3,5-DITA

Tabla 39: Resultados de $C_{p,m}(\text{g})$ de los ácidos 3,4 y 3,5 diaminobenzoicos

Tabla 40: Entropías absolutas, entalpías de formación, entropías de formación y energías de Gibbs de formación para los compuestos a $T = 298.15 \text{ K}$ ($p^\circ = 0.1 \text{ MPa}$)

Tabla 41: Métricas de evaluación para la regresión lineal

Tabla 42: Entropías absolutas, entalpías de formación, entropías de formación y energías de Gibbs de formación para los compuestos a $T = 298.15 \text{ K}$ ($p^\circ = 0.1 \text{ MPa}$) obtenidas con ML

Tabla 43: Valores para los grupos de Benson obtenidos mediante ML

INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es una de las principales causas de mortalidad en mujeres a nivel mundial, con una incidencia creciente en las últimas décadas. Su tratamiento se basa en una combinación de cirugía, quimioterapia, radioterapia y terapias dirigidas, sin embargo, la resistencia a los tratamientos convencionales y los efectos adversos han impulsado la búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas. En este contexto, la nanotecnología ha surgido como una herramienta prometedora para el diseño y aplicación de terapias más selectivas y efectivas contra esta enfermedad.

Las nanopartículas de oro (AuNPs) han demostrado un alto potencial en el tratamiento del cáncer debido a sus propiedades únicas, tales como su capacidad de penetración en tejidos, estabilidad coloidal y funcionalización superficial para mejorar la direccionalidad hacia células cancerosas. Su aplicación en la administración de fármacos, terapia fototérmica y bioimagen ha revolucionado las estrategias terapéuticas actuales. No obstante, la síntesis y estabilización de estas nanopartículas continúa siendo un desafío, especialmente en la búsqueda de nuevos métodos de obtención que minimicen el uso de reactivos tóxicos y mejoren la biocompatibilidad de los nanomateriales.

Dentro de este marco, la presente investigación plantea la síntesis de diimidias ácidas como electrolitos novedosos para la formación y estabilización de AuNPs. Se propone que estas macromoléculas puedan actuar como agentes estabilizantes, favoreciendo la uniformidad en el tamaño de las nanopartículas y mejorando su interacción con las células cancerosas. Para evaluar el impacto de estas nanopartículas, se analizará su efecto citotóxico en las líneas celulares MCF-7 y MDA-MB-231, representativas del cáncer de mama hormono-dependiente y triple negativo, respectivamente.

Además, en este estudio se integrará el uso de Machine Learning para predecir las entalpías de formación en fase gaseosa y cristalina del compuesto ácido N,N'-(1,2-fenilén)bis(ftalimida-5-carboxílico), clave en la síntesis de las AuNPs. Esta metodología permitirá optimizar el diseño experimental, reduciendo el número de pruebas empíricas y mejorando la comprensión de los parámetros energéticos involucrados en la formación de estas estructuras nanométricas.

La caracterización de las AuNPs obtenidas se llevará a cabo mediante técnicas como espectroscopía UV-VIS, análisis de potencial Z, diámetro hidrodinámico y microscopía electrónica de transmisión (TEM). Posteriormente, su efecto citotóxico será evaluado utilizando ensayos de viabilidad celular para determinar su impacto en el crecimiento y proliferación de las células cancerosas.

En suma, este trabajo pretende contribuir al desarrollo de nuevas estrategias nanotecnológicas para el tratamiento del cáncer de mama, combinando enfoques de síntesis verde, análisis computacional y evaluaciones biológicas. Se espera que los resultados obtenidos puedan sentar las bases para futuras aplicaciones biomédicas de las nanopartículas de oro estabilizadas con macromoléculas de nueva generación.

Objetivos

Objetivo general

- Determinar el efecto citotóxico de nanopartículas de oro obtenidas a partir de al menos un electrolito de nueva generación, en líneas celulares de cáncer de mama MCF-7 y MDA-MB-231.

Objetivos específicos

- Utilizar la síntesis en disolución sólida para la formación del compuesto ácido N,N'-(1,2-fenilen)bis(ftalimida-5-carboxílico).
- Utilizar Machine Learning para predecir las entalpías de formación en fase gaseosa y cristalina del compuesto sintetizado.
- Sintetizar nanopartículas de oro utilizando el compuesto obtenido por medio de disolución sólida mediante la técnica de reducción química.
- Caracterizar las nanopartículas obtenidas con las técnicas de UV-VIS, Potencial Zeta, diámetro hidrodinámico y TEM.
- Estudiar el efecto citotóxico de las nanopartículas de oro en líneas celulares de cáncer MCF-7 y MDA-MB-231.

Capítulo 1: Antecedentes

Síntesis orgánica

En el área de la química conocida como síntesis orgánica, se utilizan moléculas más simples o "bloques de construcción" para crear compuestos orgánicos más complejos. Implica planificar y llevar a cabo reacciones químicas para producir nuevas moléculas orgánicas con algunas estructuras y propiedades deseadas.

Los productos farmacéuticos, agroquímicos, materiales y demás compuestos orgánicos, se desarrollan a través del proceso de síntesis orgánica e inorgánica [1-3]. Al elegir y ajustar cuidadosamente los materiales de partida y los reactivos, la síntesis orgánica tiene como objetivo producir la molécula deseada. Los químicos llevan a cabo estas reacciones usando una variedad de métodos y técnicas.

Síntesis convencional

Sustitución de grupos funcionales: Transformación de un grupo funcional en otro mediante el uso de reactivos y condiciones de reacción adecuados.

Formación de enlaces carbono-carbono: Creación de nuevos enlaces carbono-carbono, fundamentales para construir moléculas orgánicas complejas. Con frecuencia se emplean métodos como las reacciones de acoplamiento y las reacciones de formación de enlaces carbono-carbono.

Grupos protectores: Protección temporal de grupos funcionales reactivos dentro de una molécula para evitar reacciones no deseadas durante el proceso de síntesis. Estos grupos pueden eliminarse posteriormente de forma selectiva.

Análisis retrosintético: Un paso clave en la síntesis orgánica es descomponer la molécula diana en fragmentos más simples o intermedios, que luego se utilizan como materiales de partida. Este análisis implica trabajar hacia atrás a partir del compuesto diana para identificar rutas sintéticas viables.

Síntesis estereoselectiva: Controlar la estereoquímica de los enlaces recién formados para obtener disposiciones espaciales específicas de los átomos en el producto final. Esto es crucial para muchas aplicaciones biológicas y farmacéuticas.

Catálisis: Utilización de catalizadores para modificar las energías de activación y, así permitir transformaciones específicas. En la síntesis orgánica se emplean a menudo catalizadores de metales de transición, enzimas y materiales organometálicos.

Técnicas modernas: Incorporación de técnicas modernas como la síntesis asistida por microondas, la química de flujo y la síntesis automatizada para mejorar la eficiencia, el rendimiento y la selectividad.

Es importante señalar que la síntesis orgánica requiere un profundo conocimiento de los mecanismos de reacción, de la reactividad y de la estabilidad de sus constituyentes. Los químicos deben tener en cuenta factores como las condiciones de reacción, la temperatura,

el tiempo, la elección del disolvente y los métodos de purificación para optimizar el proceso sintético y obtener el compuesto deseado [1].

Síntesis con química verde

La química verde, también conocida como química sostenible, es un campo de la química que se centra en el diseño y desarrollo de procesos y productos químicos que minimizan el uso y la generación de sustancias peligrosas. Su objetivo es promover prácticas respetuosas con la naturaleza, reduciendo el impacto de los procesos químicos en la salud humana y en el medio ambiente a lo largo de todo el ciclo de vida [4]. Los principios de la química verde [5] proporcionan un marco para lograr estos objetivos. Algunos principios clave incluyen:

1. Prevención de residuos: es mejor prevenir los residuos que tratar o limpiar los residuos después de que se hayan creado.
2. Economía del átomo: los métodos sintéticos deben diseñarse para maximizar la incorporación de todos los materiales utilizados en el proceso en el producto final.
3. Síntesis de sustancias químicas menos peligrosas: siempre que sea posible, los métodos sintéticos deben diseñarse para usar y generar sustancias que posean poca o ninguna toxicidad para la salud humana y el medio ambiente.
4. Diseño de productos químicos más seguros: los productos químicos deben diseñarse para preservar la eficacia de la función y reducir la toxicidad.
5. Disolventes y auxiliares más seguros: el uso de sustancias auxiliares (por ejemplo, disolventes, agentes de separación, etc.) debe hacerse innecesario siempre que sea posible e inocuo cuando se utilizan.
6. Diseño para la eficiencia energética: los requisitos energéticos deben reconocerse por sus impactos ambientales y económicos y deben minimizarse. Los métodos sintéticos deben realizarse a temperatura y presión ambientales.
7. Uso de materias primas renovables: una materia prima o materia prima debe ser renovable en lugar de agotarse siempre que sea técnica y económicamente viable.
8. Reducir derivados: la derivatización innecesaria (uso de grupos de bloqueo, protección / desprotección, modificación temporal de procesos físicos / químicos) debe minimizarse o evitarse si es posible, porque tales pasos requieren reactivos adicionales y pueden generar desperdicio.
9. Catálisis: los reactivos catalíticos (lo más selectivos posible) son superiores a los reactivos estequiométricos.
10. Diseño para la degradación: los productos químicos deben diseñarse de modo que al final de su función se descompongan en productos de degradación inocuos y no persistan en el medio ambiente.
11. Análisis en tiempo real para la prevención de la contaminación: las metodologías analíticas deben desarrollarse más para permitir la supervisión y el control en tiempo real en el proceso antes de la formación de sustancias peligrosas.
12. Química intrínsecamente más segura para la prevención de accidentes: las sustancias y la forma de una sustancia utilizada en un proceso químico deben elegirse para minimizar el potencial de accidentes químicos, incluidos escapes, explosiones e incendios.

La química verde busca abordar los problemas relacionados con el impacto de los procesos químicos tradicionales poniendo en práctica estos principios. Sus objetivos incluyen minimizar el uso de solventes peligrosos, reducir la producción de desechos, conservar los recursos y promover el avance de tecnologías químicas que sean comercialmente viables y ambientalmente sostenibles.

Utilizando los principios de la química verde, dos de las técnicas comúnmente utilizadas son la mecano-síntesis y la síntesis en disolución sólida (o síntesis en estado sólido), ambas se realizan con los reactivos en su fase sólida; para la mecano-síntesis como su nombre lo indica se utiliza la acción mecánica para la transformación de los reactivos [5], mientras que, para la disolución sólida se busca alcanzar el punto de fusión de un reactivo para posteriormente adicionarle un segundo.

Síntesis de nanopartículas

La nanotecnología es un campo emergente de la ciencia que incluye la síntesis y el desarrollo de diversos nanomateriales, las nanopartículas oscilan entre 1-100 nm. En la actualidad, se producen distintos nanomateriales metálicos de cobre, zinc, titanio, magnesio, oro, alginato y plata [6]. Las nanopartículas se utilizan con diversos fines, desde tratamientos médicos, el uso en diversas ramas de la industria como las baterías solares y de combustible de óxido para el almacenamiento de energía, hasta su amplia incorporación a diversos materiales de uso cotidiano, “commodities” [7-9].

La síntesis mediante el enfoque descendente o “top-down”, el material a granel se convierte en pequeñas partículas de tamaño nanométrico. La preparación de nanopartículas se basa en la reducción del tamaño del material de partida mediante diferentes tratamientos físicos y químicos [10]. Incluye métodos como el fresado mecánico, el térmico y la ablación por láser. Aunque los métodos descendentes son fáciles de realizar, no es un método adecuado para preparar partículas de forma informal y tamaño muy pequeño. El principal problema asociado a este método es que cambia la química de la superficie y las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas [10].

La síntesis de nanopartículas mediante el enfoque ascendente o “bottom-up” se basa en la formación de nanopartículas a partir de moléculas más pequeñas, como la unión de átomos, moléculas o pequeñas partículas. En este método, primero se forman los bloques de construcción nanoestructurados de las nanopartículas y luego se ensamblan para producir la nanopartícula final [11].

Reducción química o método coloidal

En el método de reducción química, la sal iónica se reduce en un medio apropiado en presencia de tensioactivos utilizando diferentes agentes reductores [12]. El agente reductor, como el borohidruro de sodio, se utiliza en solución acuosa para preparar nanopartículas metálicas. Las nanopartículas metálicas formadas se recubren utilizando citrato trisódico (TSC) o laurilsulfato sódico (SLS). A veces se utiliza un agente estabilizador junto con un agente reductor. La estabilidad de las nanopartículas metálicas en la dispersión se controla mediante el análisis de absorbancia [13]. Para la síntesis de nanopartículas de plata se utilizan

agentes reductores como borohidruro de sodio (NaBH_4), glucosa, etilenglicol, etanol, citrato de sodio e hidrato de hidrazina, etc. [12].

Sol Gel

El método sol gel de síntesis de nanopartículas implica: a) Mezcla de coloides preformados de metal (óxido) con un sol que contenga la especie formadora de matriz seguida de la formación de gel, b) Mezcla directa de metal y óxido metálico o nanopartículas dentro de un sol de sílice prehidrolizado. c) Complejación del metal con silona y reducción del metal antes de la hidrólisis [14]. En este método, se introduce la formación de una red utilizando suspensión coloidal (sol) y gelatina para formar una red en fase líquida continua (gel). Los iones de alcóxidos metálicos y los alcoxisilanos se utilizan como precursores para la síntesis de coloides. Los más empleados son el tetrametoxisilano (TMS) y el tetraetoxisilano, que forman gel de sílice. Los alcóxidos metálicos son precursores organometálicos de diversos metales, como la sílice, el aluminio, el titanio y muchos otros, y son inmiscibles en agua. El alcohol se utiliza como disolvente mutuo. Inicialmente en este método, se prepara una solución homogénea de uno o más alcóxidos seleccionados y se añade un catalizador para iniciar una reacción a pH controlado. La formación de sol-gel implica cuatro pasos principales: hidrólisis, condensación, crecimiento de partículas y aglomeración de partículas [14, 15].

Caracterización

El tamaño de partícula es una de las medidas más básicas e importantes para la caracterización de nanopartículas. Determina el tamaño y la distribución de la partícula y si pertenece a la escala nano o micro. El tamaño y la distribución de las partículas se suelen medir con microscopía electrónica. Las imágenes del microscopio electrónico de barrido (SEM) y del microscopio electrónico de transmisión (TEM) se utilizan para medir partículas y conglomerados, mientras que los métodos de difracción láser se emplean para medir muestras a granel en fase sólida [16].

El área superficial también es un factor importante en la caracterización de las nanopartículas. La relación superficie/volumen de una nanopartícula influye enormemente en su rendimiento y propiedades. La superficie se suele medir mediante el análisis BET (Brunauer-Emmett-Teller). Una simple valoración es suficiente para analizar el área superficial de partículas en fase líquida, pero es un proceso que requiere mucho trabajo. De ahí que se recurra a la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) [16].

Las nanopartículas poseen diversas formas y estructuras superficiales que desempeñan un papel clave en el aprovechamiento de sus propiedades. Algunas de las formas son esféricas, planas, cilíndricas, tubulares, cónicas e irregulares, con superficies cristalinas o amorfas, uniformes o irregulares. La superficie se determina generalmente mediante técnicas de imagen de microscopía electrónica como SEM y TEM [17].

Nanopartículas de oro (AuNPs)

Se utilizan en estudios inmunoquímicos para la identificación de interacciones proteicas. Se emplean como trazador de laboratorio en la determinación de huellas de ADN para detectar la presencia de ADN en una muestra. También se utilizan para detectar antibióticos aminoglucósidos como la estreptomina, la gentamicina y la neomicina. Los nanotubos de oro se están utilizando para detectar células madre cancerígenas, lo que resulta beneficioso para el diagnóstico del cáncer y para la identificación de diferentes clases de bacterias [18].

Nanopartículas de plata (AgNPs)

Las nanopartículas de plata han demostrado su eficacia antimicrobiana contra bacterias, virus y otros microorganismos eucariotas. Son, sin duda, los nanomateriales más utilizados, por lo que se emplean como agentes antimicrobianos, en la industria textil, para el tratamiento del agua, en lociones de protección solar, etc [19].

Generalidades del cáncer de mama

El cáncer de mama se origina en las células epiteliales, el 85% ocurre en los conductos galactóforos (carcinoma ductal *in situ*) y el 15% en los lóbulos del tejido glándulas mamario (carcinoma lobulillar) [20]. Algunos factores desencadenantes de este tipo de cáncer son la obesidad, el consumo elevado de alcohol, exposición a radiaciones, antecedentes heredofamiliares de cáncer de mama, mutaciones de genes como BRCA1/BRCA2, TP-53 y cinasa del punto de control 2, entre otras [21, 22].

Los síntomas clínicos del cáncer de mama generalmente incluyen engrosamiento o presencia de nódulos, cambios de forma, tamaño o apariencia, enrojecimiento, grietas o cambios en la piel, cambios en los pezones y/o secreción anormal. A medida que el cáncer progresa, la piel puede desarrollar llagas y úlceras [23].

Los receptores hormonales normalmente participan en el crecimiento y diferenciación del epitelio mamario. Debido a que las hormonas controlan la diferenciación epitelial, los receptores de progesterona (RP) y los receptores de estrógeno (RE) pueden estar involucrados en la carcinogénesis, por lo tanto, se consideran factores pronósticos y predictivos del cáncer de mama. Esto se debe a que su expresión ocurre en el 60-70% de los pacientes con esta condición. El factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2) es una molécula sobre expresada en el 20% de los cánceres de mama, lo que provoca inestabilidad genómica y aumento de la proliferación. Los cánceres se pueden clasificar en RE positivos y negativos (Tabla 1), los positivos se consideran tumores luminales, que se dividen en tumores luminales A y luminales B, por otro lado, los cánceres RE negativos se clasifican en cánceres que sobre expresan HER2 y cánceres de tipo basal, por otro lado, el cáncer de mama triple negativo es un grupo de cánceres que se caracteriza por la ausencia de RP, RE y de expresión de HER2, es un tipo de cáncer muy agresivo que presenta metástasis a pulmón, hígado y sistema nervioso central, además, tiene mal pronóstico con recurrencias tempranas y supervivencia menor a cuatro años [24].

Tabla 1: Subtipos de cáncer de mama^{a,b}

| Subtipo | RE | RP | HER2 |
|-------------------------|----|----|------|
| Luminal A | + | + | - |
| Luminal B/HER2- | + | - | - |
| Luminal B/HER2+ | + | + | + |
| HER2+ no luminal | - | - | + |
| Basal o triple negativo | - | - | - |

^a Tomado de la referencia [25], ^b presencia de la expresión de receptores (+), ausencia de la expresión de receptores (-).

Vías de señalización

La transformación de células normales a células cancerosas se debe a cambios y pérdida de identificación y capacidad de respuesta de las vías de señalización. Las células malignas utilizan señales autocrinas más allá de las células normales. Las alteraciones en las vías de señalización que conducen al desarrollo del cáncer incluyen la sobre expresión de receptores del factor de crecimiento como HER2, la activación de moléculas de señalización como la proteína G monomérica (Ras), el aumento de las señales de supervivencia celular y la inhibición de las señales de muerte celular. Los cambios que exhiben las células en las vías de transducción de señales incluyen tanto la activación como la desactivación de proteínas y lípidos quinasas, proteínas y lípidos fosfatasa, proteasas, GTPasas, adenilato ciclasas y lipasas. Todo esto conduce a cambios en la transducción, transcripción y degradación de proteínas celulares [26, 27].

Las células malignas se caracterizan, entre otras cosas, por ser autosuficientes respecto a señales de proliferación, evadir la apoptosis, ser insensibles a señales que inhiben la proliferación y tener un potencial replicativo ilimitado. La autosuficiencia en la señalización del crecimiento incluye vías que requieren factores de crecimiento. Muchas células adquieren la capacidad de sintetizarlos, mientras que otras desarrollan cambios en los receptores de superficie como EGFR/erbB y HER2. Otros cambios cuando las células se vuelven malignas incluyen la inhibición de la acción de la proteína retinoblastoma (pRb), mutaciones en la proteína p53, cambios en la vía de señalización PI3K/Akt/mTOR o evasión de la apoptosis por sobre expresión de Bcl-2. Específicamente en el cáncer de mama, varias vías de señalización se ven afectadas, incluidas RE, HER2, Wnt, PI3K/Akt/mTOR y Notch [29, 30].

Citotoxicidad de las Nanopartículas

El efecto citotóxico se refiere a la capacidad que tienen determinadas sustancias o células de provocar daño o muerte a otras células vivas [31]. Este fenómeno desempeña un papel crucial en diversos procesos biológicos, incluidas las respuestas inmunitarias, la terapia contra el cáncer y los mecanismos de defensa del cuerpo contra los patógenos, este efecto se puede clasificar en dos.

Citotoxicidad del sistema inmunológico

Se debe a la acción de dos tipos de células, las células asesinas neutrales (NK) y los linfocitos T citotóxicos (CTL), las primeras son un tipo de glóbulo blanco que desempeña un papel vital en el sistema inmunológico innato, pueden reconocer y atacar células infectadas o anormales como las infectadas por un virus y/o las células cancerosas, esto lo hacen detectando moléculas específicas en la superficie de las células objetivo, como ligandos inducidos por estrés o niveles reducidos de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC de clase I) que generalmente están presentes en células sanas, una vez que las células NK reconocen estas señales liberan gránulos citotóxicos que contienen enzimas como perforina y granzimas [31].

Los CTL reconocen antígenos específicos presentados por células infectadas o anormales en su superficie, los CTL se unen a estas células a través de sus receptores de células T y liberan moléculas citotóxicas como perforina y granzimas para inducir la muerte celular programada (apoptosis) en la célula objetivo [31].

Citotoxicidad inducida por fármacos

Quimioterapia: los fármacos citotóxicos se utilizan a menudo en el tratamiento del cáncer, estos medicamentos se dirigen a las células que se dividen rápidamente, dentro de las cuales se encuentran las células cancerosas e interfieren con su capacidad de dividirse y crecer [32].

Terapias dirigidas: tienen como objetivo apuntar específicamente a moléculas o vías que son cruciales para la supervivencia y el crecimiento de las células cancerosas, pueden ser citotóxicas para las células cancerosas y no afectar a las normales [32].

La eficacia de los agentes farmacéuticos nanoformulados se determina en función de las características de las NPs, como el tamaño, la forma y la carga superficial [31]. Las nanopartículas con un diámetro comprendido entre 10 y 100 nm son las mejores candidatas para la terapia del cáncer, ya que pueden liberar su carga de forma eficaz y conseguir un efecto de permeabilidad y retención mejoradas (EPR).

Las nanopartículas de menor (<10 nm) y mayor tamaño (>200 nm) pueden ser filtradas fácilmente por los riñones y fagocitadas por los sistemas reticuloendoteliales, respectivamente [31]. Sin embargo, los fracasos de la quimioterapia basada en nanopartículas en los ensayos clínicos han suscitado algunas dudas sobre la relevancia clínica del efecto EPR y se requiere mucha más investigación para comprender el microentorno tumoral. Además, las nanopartículas modificadas con ligandos están siendo ampliamente estudiadas para la selección activa de dianas tumorales que pueden mejorar la biodisponibilidad y la acumulación tumoral selectiva, lo que a su vez aumenta la eficacia terapéutica al tiempo que reduce la citotoxicidad normal.

Inteligencia Artificial

La inteligencia es la capacidad de lograr metas, pensar, imaginar, crear, memorizar, comprender, reconocer patrones, tomar decisiones, adaptarse al cambio y aprender de la experiencia [33].

La inteligencia artificial (IA) es la aplicación de técnicas informáticas para que una máquina simule el comportamiento y habilidades de la inteligencia humana, la IA puede aprender de ejemplos y experiencias tal como lo haría un ser humano [34].

En la actualidad la IA se puede encontrar en servicios básicos como correo electrónico, ya que es capaz de filtrar y organizarlos de forma automática, es utilizada en motores de búsqueda, en redes sociales, entre otros usos.

Por otro lado, el Machine Learning (ML) es una rama de la IA que permite a las máquinas aprender sin ser programadas explícitamente a partir del procesamiento de datos, con los que pueden identificar patrones para realizar predicciones. La estadística es uno de los pilares del ML debido a que es indispensable para comprender los datos utilizados en el entrenamiento de una máquina, así como en su interpretación. Es importante considerar que el ML no necesariamente requiere de un volumen de datos muy grande, pero estos deben ser revisados para evitar sesgos.

De forma simple, la IA es la capacidad de las máquinas de mostrar habilidades y comportamientos inteligentes mientras que, el ML es la técnica que se utiliza para adquirir esas habilidades [35]. El objetivo del ML es que las máquinas aprendan de los datos para poder dar resultados precisos sin necesidad de programarlas.

La funcionalidad de la tecnología de plataforma y generalidad es lo que hace al ML tan emocionante. Anteriormente cuando se requería que el software realizara una función particular cada paso requerido para obtener un resultado debía codificarse de manera explícita y precisa dentro del programa [36], en la actualidad los métodos de ML eliminaron esta restricción ya que, el mismo algoritmo se puede adaptar a una amplia variedad de aplicaciones de modelado.

Los algoritmos de ML aprenden de patrones en los datos de manera similar como aprenden los humanos, mediante la repetición y ejemplos [37], sin embargo, los métodos de ML son mucho más rápidos y pueden manejar conjuntos de datos con alta dimensionalidad, en comparación con los investigadores humanos.

Métodos tradicionales de Machine Learning

Estos métodos incluyen regresiones lineales y no lineales [38], redes neuronales [39], varios tipos de árboles de decisión [40], redes bayesianas [41], máquinas de vectores de soporte y relevancia [42] y algoritmos genéticos [43]. Estos métodos se han utilizado para generar la mayoría de los modelos útiles para la predicción de todo tipo de propiedades, desde médicas

hasta de la rama de la ingeniería, pasando de igual forma por las ramas sociales y de humanidades.

Refiriéndose a la rama de la ingeniería, los métodos tradicionales se han utilizado para la predicción de algunas propiedades termoquímicas [44], identificación de espectros de nanomateriales [45], predicción del comportamiento de propiedades de sustancias [46], entre otras.

Como se mencionó con anterioridad la predicción de propiedades termoquímicas es uno de los posibles usos de estos métodos, en el caso de propiedades como son las entalpías de formación en fase cristalina y gaseosa es necesario utilizar valores experimentales con el fin de que el modelo pueda aprender de la tendencia que siguen estos datos para después reproducirlos y predecir datos futuros, es importante destacar que los modelos únicamente podrán predecir datos que previamente hayan sido proporcionados, es decir, durante la integración de valores experimentales de entalpía de formación, si solo son alimentados compuestos en fase gaseosa el modelo no podrá predecir la fase cristalina debido a que no cuenta con datos para ello, de igual forma, si solo son suministrados compuestos con ciertas características como lo son los compuestos que solo incluyen C, H y O en su estructura y se le pide predecir algún compuesto nitrogenado el modelo no podrá realizar dicho cálculo.

Actualmente la forma de obtener estos valores experimentales es mediante la termoquímica experimental en donde, se incluyen métodos como la calorimetría de combustión, el análisis termogravimétrico, el método de efusión de Knudsen, entre otros. El primero sirve para la obtención de la entalpía de combustión de compuestos orgánicos que finalmente abrirá el camino para la obtención de la entalpía de formación en la fase cristalina, los otros métodos permiten generar valores de entalpías de cambio de fase como lo es la entalpía de sublimación o vaporización, la entalpía de sublimación será la clave para obtener la entalpía de formación en fase gaseosa una vez determinada la de la fase cristalina por el método de calorimetría de combustión.

Para la predicción de propiedades termoquímicas que no sean obtenidas por rutas experimentales es necesario trabajar en la validación de un conjunto de datos mediante una ciencia llamada termoquímica computacional, mediante ésta puede ser posible la predicción de nuevos datos cercanos a los valores experimentales, el inconveniente de la termoquímica computacional tradicional radica en sus largos tiempos de cálculo para la obtención de valores, la complejidad de estos procedimientos suele ser alta por lo que, en cada grupo de investigación es necesario contar con algún experto en el área. Los métodos de Machine Learning eliminan estos inconvenientes ya que, los tiempos de cómputo son mucho más reducidos que en los métodos termoquímicos computacionales tradicionales. Para medir la fiabilidad de los resultados obtenidos mediante ML son utilizadas diversas métricas de evaluación, tales como: validación cruzada K-Fold, raíz cuadrada del error cuadrático medio (RMSE), coeficiente de determinación (R^2), error absoluto medio (MAE), etc.

Tipos de aprendizaje automático

Aprendizaje supervisado

Este tipo de aprendizaje necesita un conjunto de datos etiquetados, es decir, es necesario especificarle al modelo que es lo que necesita aprender para posteriormente predecir valores nuevos [47]. Dependiendo de cómo se etiqueten existen dos tipos de modelos, modelos de clasificación y modelos de regresión.

- Modelos de clasificación: producen como salida una etiqueta discreta, es decir, una etiqueta dentro de un conjunto finito de etiquetas posibles. Estos modelos pueden ser binarios o multiclase, para la primera se habla cuando solo debe predecirse en dos clases o etiquetas mientras que el segundo es cuando se tienen múltiples clases.
- Modelos de regresión: producen como salida un valor real y no precisamente debe de estar dentro de un conjunto finito de valores.

Aprendizaje no supervisado

Trabaja con datos que no han sido etiquetados que el algoritmo tiene que intentar entender por sí mismo, el objetivo simplemente se basa en dejar que la máquina aprenda sin ayuda o indicaciones de los científicos de datos. Este tipo de aprendizaje también tiene aplicaciones para reducir dimensionalidad o simplificar conjuntos de datos.

En el caso de agrupar datos por afinidad, el algoritmo debe definir una métrica de similitud o distancia que le sirva para comparar los datos entre sí. Como ejemplo de aprendizaje no supervisado se tienen los algoritmos de agrupamiento o clustering, que podrían aplicarse para encontrar clientes con características similares a los que ofrecer determinados productos o destinar una campaña de marketing, descubrimiento de tópicos o detección de anomalías, entre otros.

Aprendizaje por refuerzo

Es un método de ML que se basa en recompensar los comportamientos deseados y penalizar los no deseados [48], viéndolo desde el punto de vista binario, el comportamiento deseado o la buena predicción de resultados se le asignará el valor de 1 mientras que, malas predicciones o comportamientos indeseados tendrán valores de 0.

Aplicando este método una computadora es capaz de percibir e interpretar el entorno, ejecutar acciones y aprender mediante el método de prueba y error. El aprendizaje por refuerzo fija objetivos a largo plazo con el fin de obtener una recompensa general máxima (mayor cantidad de unos) y lograr una solución óptima. Este tipo de aprendizaje se aplica en áreas como robótica, optimización de recursos y sistemas de control.

Métodos de aprendizaje profundo

Los métodos de aprendizaje profundo consisten en redes neuronales con mayor número de capas ocultas y arquitecturas más complejas [42]. Estos métodos han revolucionado campos de la ciencia y la tecnología por su capacidad para reconocer características en imágenes [49], reconocimiento de voz [50] y la toma de decisiones complejas.

La diferencia que tienen estos métodos en comparación a los anteriores no radica en generar modelos superiores, sino en su capacidad para generar automáticamente descriptores útiles sin necesidad de la participación de expertos en el proceso de modelado. De hecho, estudios publicados demuestran que tanto las redes neuronales profundas como los modelos tradicionales generan modelos de calidad similar dados los mismos datos de entrenamiento [51]. Dentro de los modelos más utilizados para estas redes neuronales se encuentran las redes neuronales convolucionales (CNNs), autocodificadores y redes adversarias generativas (GANs) [42].

Otra diferencia que se logra apreciar entre los métodos de aprendizaje profundo y los tradicionales es el volumen de datos necesarios para la ejecución de cada uno, por lo que, usualmente los métodos de aprendizaje profundo son más utilizados por las empresas con el fin de conocer a que tipo de clientes debe ser dirigida una publicidad con el fin de aumentar el número de ventas disminuyendo el costo de marketing [48].

Python en la Inteligencia Artificial y en el Machine Learning

De acuerdo al índice TIOBE [52] que es un indicador de la popularidad de los lenguajes de programación y que es actualizado mes con mes, Python es el lenguaje de programación más utilizado a nivel mundial para el desarrollo de aplicaciones web, el desarrollo de softwares, la ciencia de datos y el ML, esto se debe a que es eficiente y fácil de aprender, además, se puede ejecutar en muchas plataformas diferentes, es gratuito, se integra bien a todos los tipos de sistemas y aumenta la velocidad de desarrollo.

Como se muestra en la figura 1, Python con el paso de los años ha adquirido mayor aceptación por las razones previamente mencionadas, para marzo de 2023 este lenguaje contó con un 14.83% de aceptación seguido por los lenguajes de programación C (14.73%) y Java (13.56%) lo cual coloca a Python hasta esa fecha como el lenguaje de programación más utilizado, ya que constantemente se mantiene actualizado, se arreglan errores y se mejoran las librerías para la realización de ML.

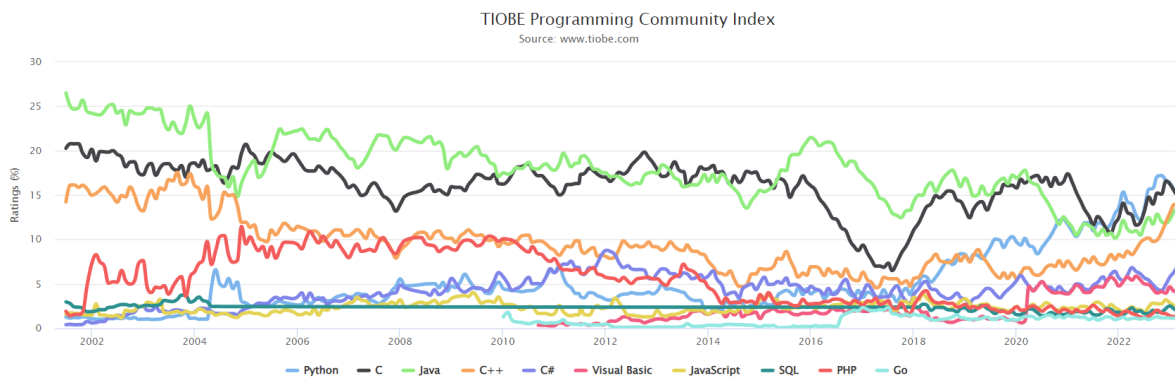


Figura 1: Índice TIOBE [52]

Las librerías más utilizadas para el desarrollo de ML en Python son:

- Numpy: utilizado para la creación de vectores y matrices grandes multidimensionales junto con una gran cantidad de funciones matemáticas de alto nivel.
- Scikit-learn: utilizada para el aprendizaje automático, contiene herramientas para el modelado estadístico, clasificación, regresión, agrupación y reducción dimensional.
- Pandas: utilizada para la lectura de datos, codificación de variables categóricas, creación de listas, entre otros.

Termoquímica computacional

Empíricos

Estos tienen un costo reducido de software, cómputo y tiempo de trabajo al momento de su implementación. Si se dispone de los parámetros necesarios, los esquemas más sofisticados suelen ser muy fiables. Por supuesto, la calidad de los resultados depende de la calidad de los valores de los parámetros; el valor de un parámetro derivado de una sola medición experimental es probablemente más incierto que uno basado en mediciones de varios compuestos diferentes. El método útil más simple para predecir las entalpías de reacción es probablemente la aditividad de los enlaces, que se basa en la aproximación de que todos los enlaces del mismo tipo son igualmente fuertes. Por ejemplo, todos los enlaces C-C contribuirían por igual a la entalpía de formación. Por supuesto, solo se pueden esperar resultados aproximados de un método tan simple [53].

Se pueden obtener resultados mucho mejores usando métodos de aditividad de grupo basados en grupos funcionales. Para usar tales métodos, uno debe identificar y contar los grupos apropiados dentro de la molécula y sumar sus respectivas contribuciones. Este es un ejercicio fácil y no implica una notación o nomenclatura especial.

Los métodos de grupo de segundo orden más sofisticados incluyen los efectos del entorno químico. Estos son más complicados y precisos que los métodos de primer orden y requieren un poco de esfuerzo para aprender [54]. El inconveniente de este tipo de métodos es que no

siempre se cuenta con todos los grupos funcionales para una molécula por lo que, es necesario realizar un cálculo rápido para encontrar este valor, pero, al mismo tiempo se reduce la veracidad del valor obtenido mediante la estimación.

Mecánica molecular

Una molécula se puede modelar como un ensamblaje mecánico de bolas (átomos) y resortes (enlaces químicos), con algunas otras fuerzas añadidas para simular la electrostática, la dispersión, etc. Dichos modelos se describen colectivamente como mecánica molecular (MM) y encuentran un uso generalizado. en química biológica y farmacéutica [53, 54].

Los métodos MM requieren una computadora, ya que todos los parámetros geométricos de la molécula deben variar para minimizar su energía. Sin embargo, solo se necesita una computadora personal de escritorio para los cálculos de moléculas orgánicas de tamaño típico [55].

Teoría de densidad funcional

El teorema fundamental de DFT establece que existe un funcional (es decir, una función de una función) de la densidad electrónica que produce la energía electrónica exacta. Desafortunadamente, el teorema no proporciona ninguna instrucción para obtener el funcional correcto, y el progreso significativo adicional en la termoquímica DFT parece depender del desarrollo de mejores funcionales [53,56].

Los métodos DFT son más robustos para sistemas difíciles, como moléculas con carácter de configuración múltiple, radicales libres con contaminación de espín (es decir, mezcla no deseada de estados excitados de alto espín con el estado fundamental) o moléculas que contienen átomos de metales de transición. La principal desventaja de la DFT para la termoquímica parece ser su falta de extensibilidad, lo que significa que no se puede hacer una serie de cálculos para demostrar la convergencia, otra deficiencia actual de DFT es su incapacidad general para hacer frente a estados de moléculas excitados electrónicamente [57].

Cálculos ab initio

El costo relativamente alto de los cálculos ab initio limita su uso [54]. En las teorías más simples, denominadas Hartree-Fock (HF) o campo auto consistente (SCF), cada electrón se mueve en el campo eléctrico promedio generado por los otros electrones. Las formas de los orbitales moleculares se describen matemáticamente como una combinación lineal de funciones más simples, que se asemejan a los orbitales atómicos y constituyen el conjunto básico. Aumentar el tamaño de un conjunto de bases (es decir, agregar más funciones de base) permite una mejor descripción de las formas detalladas de los orbitales. En consecuencia, los conjuntos de bases más grandes producen resultados más fiables, por supuesto, también cuestan más [53, 58].

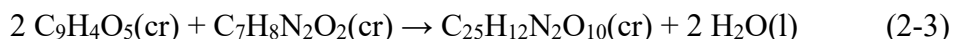
Las teorías más sofisticadas comienzan con un cálculo de HF y luego intentan incluir la energía debida a la repulsión instantánea entre electrones, denominada energía de correlación de electrones o simplemente energía de correlación, ésta generalmente se incluye en la teoría de la perturbación (que es esencialmente una teoría de extrapolación), en la teoría de la interacción de configuración o en la teoría de grupos acoplados [59].

Los cálculos ab initio no producen directamente entalpías de formación ni ninguna otra cantidad termoquímica. Producen energías moleculares totales expresadas en la unidad atómica de energía, el hartree ($1 \text{ hartree/molécula} = 627,51 \text{ kcal/mol} = 2625,5 \text{ kJ/mol}$). Los valores son negativos y representan el cambio de energía al ensamblar la molécula a partir de sus núcleos y electrones. Sin embargo, las entalpías de formación solo se pueden derivar calculando el cambio de energía para la reacción de formación (ya sea a partir del análisis de reacciones de atomización, homodésmicas, isodésmicas, entre otras). Aunque la atomización total es una opción común de reacción para este propósito, rara vez es óptima [60].

Capítulo 2: Marco metodológico

Síntesis en disolución sólida

Para la formación de los compuestos se utilizarán los reactivos: anhídrido trimelítico [CAS: 552-30-7], la o-fenilendiamina [CAS: 95-54-5], el ácido 3,5-diaminobenzoico [CAS: 535-87-5] y el ácido 3,4-diaminobenzoico [CAS: 619-05-6], las reacciones generales se describen a continuación.



Para llevar a cabo las reacciones se probarán diferentes rutas A) se adiciona el anhídrido trimelítico, se funde este compuesto y posteriormente se adiciona la amina, B) se funde la amina y posteriormente se adiciona el anhídrido trimelítico y, finalmente C) se pulverizan y se mezclan perfectamente ambos reactivos en un mortero para posteriormente fundir la mezcla hasta finalizar la reacción. De igual forma en que el orden de los reactivos altera al producto, la estequiometría también lo hace [9], por lo que, se probará un exceso de anhídrido trimelítico ($\text{C}_9\text{H}_4\text{O}_5$) y se comparará con la propuesta en la ecuación 1-3 con el fin de observar si existe algún cambio en los productos, las estequiometrías propuestas son 3:1 y 4:1. Todos los productos obtenidos serán caracterizados utilizando técnicas espectroscópicas como FTIR-ATR, ^1H -RMN, espectrometría de masas y DSC.

Caracterización del producto de síntesis

Espectroscopía de infrarrojo (FTIR)

La espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier es una técnica analítica utilizada para identificar materiales orgánicos, poliméricos y en algunos casos inorgánicos. El principio de esta técnica se basa en que las moléculas dentro de la muestra absorben radiación en frecuencias específicas, las cuales corresponden a los modos normales de vibración de los enlaces químicos dentro de las moléculas, las cuales se indican a continuación [61]:

Estiramiento: hay un cambio continuo en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos.

Flexión: se caracterizan por un cambio en el ángulo entre dos enlaces y existen cuatro tipos: tijereteo, balanceo, aleteo y torsión.

El espectro de infrarrojo puede dividirse en tres, en donde se encuentra la región cercana, media y lejana de acuerdo con su ubicación respecto al de la luz visible (Tabla 2).

Tabla 2: Longitud de onda para el espectro infrarrojo

| Infrarrojo | λ [cm^{-1}] |
|------------|--------------------------------|
| Lejano | 10-400 |
| Medio | 40-4000 |
| Cercano | 400-14000 |

Esta técnica se utiliza por su velocidad de identificación, precisión y la naturaleza no destructiva del análisis. La capacidad de analizar una amplia gama de muestras y obtener información detallada la convierte en una herramienta poderosa.

Resonancia magnética nuclear de protón (¹H-RMN)

Es una técnica poderosa que se utiliza para determinar la estructura de compuestos orgánicos, proporciona información detallada sobre la cantidad y los tipos de átomos de hidrógeno (protones) en una molécula, sus entornos y su conectividad. ¹H-RMN se basa en las propiedades magnéticas de los núcleos de hidrógeno, que cuando se colocan en un campo magnético fuerte pueden absorber radiación de radiofrecuencia (RF) provocando que pasen a diferentes estados de energía. La frecuencia a la que se produce esta absorción está influenciada por el entorno electrónico que rodea a cada protón [62]. Para la realización de esta técnica es imprescindible el uso de disolventes deuterados, con el fin de eliminar la interferencia causada por sus hidrógenos. El resultado de este estudio es un espectro de resonancia magnética nuclear el cual contiene [63]:

Desplazamientos químicos (δ): la posición de las señales de RMN en el espectro medidas en partes por millón (ppm), indica el entorno electrónico de los protones. El desplazamiento químico depende de la densidad de los electrones alrededor de los protones; los protones desprotegidos (cerca de átomos electronegativos o dobles enlaces) aparecen a campo bajo, es decir, ppm más altos, mientras que, los protones protegidos aparecen a campo alto (ppm más bajos), respecto del tetrametilsilano (TMS).

Integración: el área bajo cada pico es proporcional a la cantidad de protones que contribuyen en esa señal, lo que proporciona información sobre la cantidad relativa de cada tipo de protón.

Multiplicidad: la división de señales de RMN en múltiples (dobles, tripletes, cuartetos) se debe al acoplamiento spin-spin con protones vecinos. Este patrón de división ayuda a determinar el número de protones adyacentes.

Constantes de acoplamiento (J): la distancia entre picos en Hertz (Hz), brinda información sobre las interacciones entre protones vecinos.

Espectrometría de masas

Es una técnica analítica que se utiliza para medir la relación masa/carga (m/z) de iones, esta herramienta permite identificar la composición de una muestra, determinar la estructura de moléculas y cuantificar la cantidad de diferentes sustancias dentro de una muestra [64]. Su principio se basa en la ionización de compuestos químicos para generar moléculas cargadas o fragmentos de moléculas para medir sus relaciones m/z, el proceso involucra varios pasos, como son la ionización, aceleración, desviación y detección.

Ionización: la muestra se introduce en la fuente de iones donde se ioniza produciendo partículas cargadas.

Aceleración: los iones atraviesan un campo eléctrico el cual les confiere energía cinética.

Deflexión: los iones son desviados por un campo magnético o eléctrico dentro del analizador de masas, el grado de deflexión depende de la relación m/z de los iones.

Detección: los iones llegan al detector registrando el número para cada valor de m/z .

Los componentes para realizar esta técnica son (Figura 2): *a) la fuente de iones*, la cual convierte las moléculas de una muestra en iones, dentro de este punto se incluyen diferentes métodos de ionización por electrones, por electropulverización y por láser asistida por matriz (MALDI), *b) el analizador de masas*, en este punto se separan los iones según su relación m/z y *c) un detector* el cual mide los iones y produce una señal proporcional al número de los detectados en cada valor m/z .

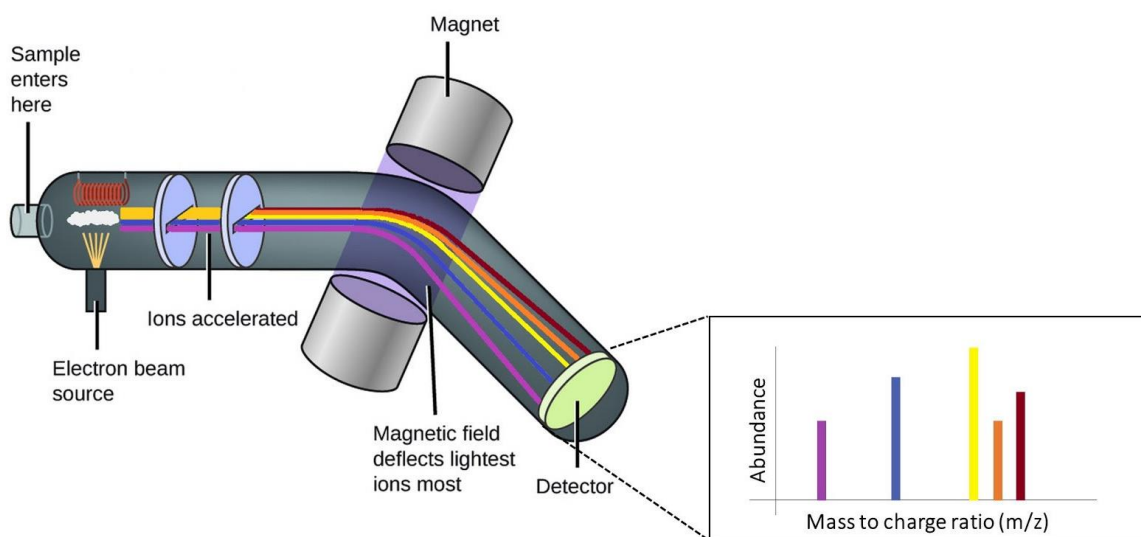


Figura 2: Diagrama de un espectrómetro de masas [64]

Los puntos importantes para considerar dentro de los resultados de la espectrometría de masas son los picos los cuales corresponden a iones con una relación m/z específica, el pico base, este es el pico más alto del espectro y representa al ion más abundante (este no forzosamente corresponde a la molécula estudiada) y el pico del ion molecular, este representa la molécula intacta (con un electrón eliminado) y a partir de este es posible obtener el peso molecular del compuesto [65].

Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La técnica térmica de DSC se utiliza para medir el flujo de energía en forma de calor asociado a los eventos térmicos de los materiales en función de la temperatura, es ampliamente utilizada para caracterizar materiales en términos de sus propiedades térmicas como: fusión, cristalización, transición vítrea, polimorfismo, entre otros [66, 67]. DSC mide la diferencia de energía necesaria para mantener la temperatura de una muestra y de una referencia al mismo ritmo. Cuando la muestra sufre un evento térmico, absorberá o liberará energía en forma de calor provocando una desviación en el flujo de calor comparado con la referencia.

Mediante el termograma resultante de DSC es posible encontrar la pureza de un compuesto, esto se debe a su pico de fusión, ya que, en un sistema eutéctico simple la muestra funde y solidifica como una sustancia pura, mientras que, en presencia de un componente adicional o impureza se produce la disminución del punto de fusión del componente principal. Para determinar la pureza se hace uso de la ecuación de Van't Hoff.

$$T_s = T_0 - \frac{RT_0^2 X_2}{\Delta_{cr}^l H} \left(\frac{1}{F} \right) \quad (4)$$

En donde T_0 es la temperatura de fusión de la sustancia pura, T_s es la temperatura de fusión de la fracción de muestra fundida, X_2 es la impureza de la sustancia, F es la fracción de muestra fundida a una determinada T_s , R es la constante universal de los gases y $\Delta_{cr}^l H$ es la entalpía de fusión.

Síntesis y caracterización de las nanopartículas de oro

La síntesis de nanopartículas de oro por reducción química se inducirá a partir de tres electrolitos obtenidos a través de una reacción de neutralización (5-7):



El electrolito formado a una concentración 1×10^{-3} M funcionará como agente reductor y surfactante que al mezclarse con una disolución 1×10^{-3} M de ácido tetracloroáurico servirá para la formación de AuNPs, esta disolución será adicionada al electrolito previamente formado con una concentración igual que la del oro, debido a que, la cantidad de agente surfactante influye en la estabilidad de las nanopartículas, estas se sintetizarán utilizando relaciones diferentes de electrolito y disolución de oro, esto es realizar síntesis 1:1, 3:1 y 5:1 de electrolito y disolución de oro, respectivamente.

Una vez realizada la síntesis es necesario comenzar la caracterización, para ello se utilizarán las técnicas de UV-VIS, FE-SEM y potencial Z.

UV-vis

La espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis) es una técnica analítica utilizada para medir la absorbancia o reflectancia de una muestra en las regiones ultravioleta y visible del espectro electromagnético (aproximadamente 200-800 nm). Se basa en el principio de que las moléculas pueden absorber luz a longitudes de onda específicas, provocando transiciones electrónicas de niveles de energía más bajos a niveles de energía más altos. La cantidad de luz absorbida por una muestra está directamente relacionada con la concentración de la especie absorbente y la longitud del camino de la muestra.

Resonancia del plasmón superficial

La presencia de electrones libres en la banda de conducción de la superficie de las NPs metálicas que reciben un haz de luz incidente induce una excitación colectiva de estos electrones libres, como consecuencia de la fuerte interacción con la luz incidente, se produce una oscilación coherente deslocalizada de los electrones confinados en la superficie de las NPs metálicas, en la interfaz metal-dieléctrico o metal-semiconductor. La excitación electromagnética se llama polaritón del plasmón de superficie, este es una casi-partícula híbrida resultante del fuerte acoplamiento entre la luz y los electrones libres en la superficie de una nanopartícula. En la Figura 3 se muestran los plasmones asociados a las diferentes AuNPs y la longitud de onda en la que absorben.

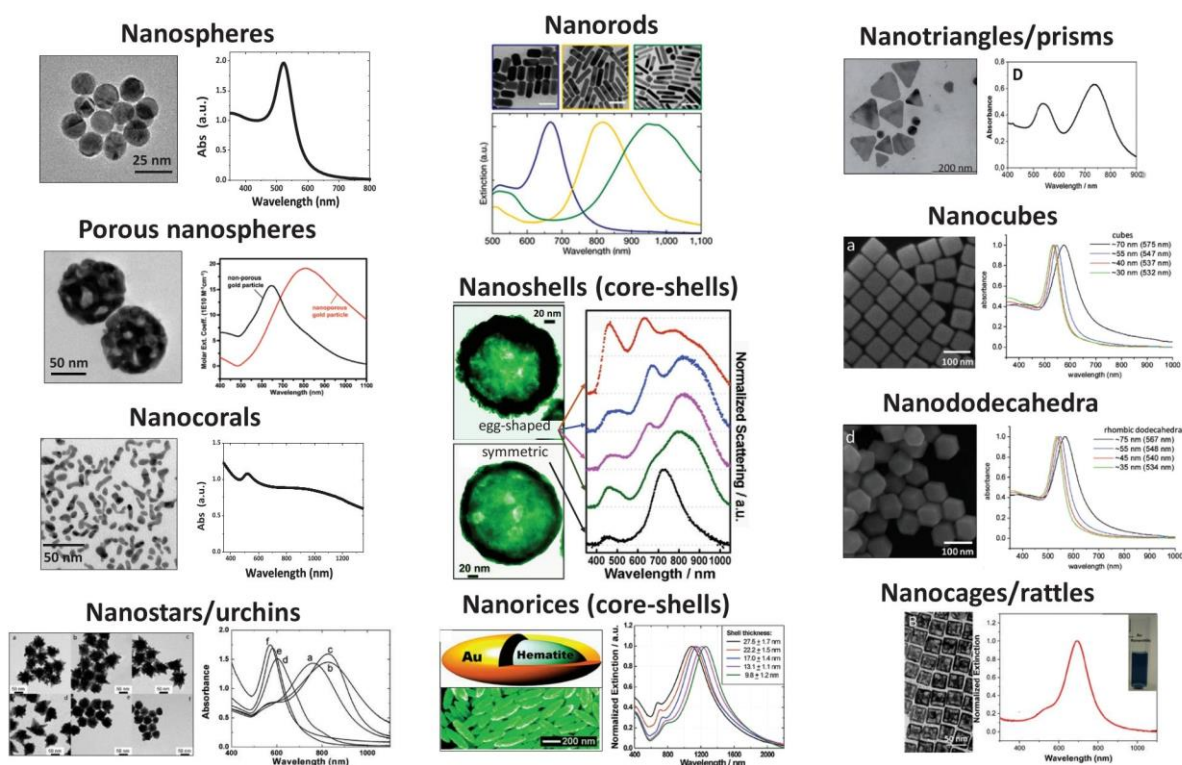


Figura 3: Plasmón superficial para diferentes AuNPs [68]

TEM/FE-SEM

TEM funciona según el principio de transmisión de electrones a través de una muestra muy fina. Cuando los electrones atraviesan la muestra, interactúan con ella y se dispersan, los electrones transmitidos se enfocan para formar una imagen o patrón de difracción, que puede analizarse para obtener información estructural sobre la muestra [68].

Ventajas:

- Resolución extremadamente alta, capaz de obtener imágenes a nivel atómico.
- Proporciona información estructural y de composición detallada.
- Múltiples modos de obtención de imágenes y técnicas analíticas (por ejemplo, difracción de electrones) que aumentan su versatilidad.

Limitaciones:

- Requiere muestras muy finas, que pueden ser difíciles de preparar.
- Los instrumentos de TEM son caros y requieren un mantenimiento especializado.
- El funcionamiento y la interpretación de los datos requieren una gran experiencia.

Potencial Zeta

El potencial Zeta es una medida del potencial electrostático en el plano de deslizamiento de las partículas de una dispersión coloidal. Es un indicador clave de la estabilidad de los sistemas coloidales, ya que refleja el grado de repulsión o atracción entre partículas adyacentes de carga similar en una dispersión. Un potencial zeta absoluto elevado indica que es probable que las partículas se repelan entre sí, evitando la agregación y dando lugar a un sistema coloidal estable.

El potencial Zeta surge de la doble capa eléctrica que se forma alrededor de las partículas de un coloide. Cuando las partículas se dispersan en un líquido, pueden adquirir una carga superficial a través de diversos mecanismos como la ionización, la adsorción de iones o la disolución de iones. Esta carga superficial atrae iones de carga opuesta del medio circundante, formando una capa fuertemente ligada denominada capa de Stern. Más allá de la capa de Stern, hay una capa difusa de iones que se extiende hacia el interior del líquido. El límite entre los iones ligados y la capa difusa se conoce como plano de deslizamiento, y el potencial eléctrico en este límite es el potencial zeta [69, 70].

El potencial Zeta se suele medir mediante electroforesis, en la que se aplica un campo eléctrico a una dispersión coloidal y se mide la velocidad de las partículas cargadas.

Citotoxicidad

Los ensayos para analizar tanto la proliferación como la viabilidad celular y citotoxicidad se utilizan para monitorear la respuesta a los cultivos celulares a un tratamiento o estímulo. En la Tabla 3 se muestran los principales ensayos de proliferación celular, así como sus ventajas y desventajas.

Tabla 3: Ensayos de proliferación celular^a

| Ensayo | Características | Ventajas | Desventajas |
|------------------|---|--|---|
| BrdU | Se incorpora a nuevo ADN sintetizado que se detecta con el anticuerpo antiBrdU | Detecta la cinética del ciclo celular | Protocolo extenso y puede dañar el ADN |
| EdU | Es similar a BrdU, pero no necesita anticuerpos | Menos tóxico que BrdU, protocolo más rápido, no desnaturaliza el ADN | Reactivos caros |
| MTT | Es un tetrazol amarillo que se reduce a formazán morado en las células vivas | Protocolo rápido, alto rendimiento | Sobreestima la viabilidad |
| XTT | Las células vivas convierten el XTT en un formazán de color naranja | Alta sensibilidad | Sobreestima la viabilidad |
| WST-1 | Se escinde en un formazán soluble mediante un mecanismo celular complejo que se produce principalmente en la superficie celular | Alta sensibilidad, protocolo rápido | Sobreestima la viabilidad |
| ATP luminiscente | Basado en células de luciferasa de luciérnaga para cuantificar ATP en cultivos celulares | Sensible, rápido | Requiere lisis celular |
| Ki67 | Los anticuerpos contra la proteína nuclear Ki-67 se pueden usar para medir la proliferación celular | Tiene aplicaciones <i>in vivo</i> | Difícil de cuantificar Requiere fijación |
| CFSE | Colorante permeable a las células no fluorescente. Se escinde mediante enterasas intracelulares para emitir una fluorescencia verde | Análisis de células vivas, compatible con linfocitos | Toxicidad |
| Azul de tripán | Las células viables no absorben el colorante, pero las muertas son permeables a el | Protocolo rápido | Inexacto |

^a Tomada de la referencia [71]

Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular es una técnica computacional utilizada para predecir la orientación preferida de una molécula a otra cuando se unen para formar un complejo estable. Para ello se deben seguir los siguientes pasos [72-74].

Identificación de las proteínas blanco

Es necesario conocer la posible interacción entre una proteína y un receptor, para ello, suele hacerse apoyo del programa Swiss Target Prediction, con este es posible analizar ligandos mediante su código SMILES para conocer la probabilidad de que este interaccione con distintas proteínas asociadas a las vías de señalización de interés.

Preparación de moléculas

Receptor: Normalmente una proteína o enzima, la estructura diana se prepara limpiando la estructura 3D (se recomienda utilizar una resolución de DRX $\leq 2\text{\AA}$), eliminando moléculas de agua, añadiendo átomos o residuos que faltan y asegurando los estados de protonación adecuados.

Ligando: La pequeña molécula o fármaco candidato se prepara generando su estructura 3D, añadiendo átomos de hidrógeno, optimizando la geometría y asegurando los estados de protonación correctos.

Sitio de unión

Receptor: agregar las cargas de Kollman, dichas cargas están diseñadas para aproximar el potencial electrostático alrededor de una molécula y son cruciales para modelar con precisión las interacciones intermoleculares, como los enlaces de hidrógeno, las interacciones electrostáticas y las fuerzas de Van der Waals [75].

Ligando: agregar las cargas de Gasteiger, dichas cargas se derivan a través de un enfoque semi-empírico que enfatiza la eficiencia computacional a la vez que proporciona una aproximación razonable del potencial electrostático alrededor de una molécula [76].

Definir sitio de búsqueda

Docking localizado: el sitio donde actuará el ligando previamente es conocido y se reduce el tiempo de búsqueda para la técnica.

Docking ciego: el sitio donde actuará el ligando no se conoce, por lo que, es necesario definirlo, para ello el punto más importante es pedirle al programa que analice toda la estructura de la proteína buscando posibles sitios de unión.

En ambos casos el programa lo que hace es fracturar la molécula creando así “mapas” de búsqueda, gracias a las cargas previamente agregadas tanto en R como en L se podrá generar un complejo.

Análisis de resultados

Una vez completado el acoplamiento molecular, este muestra un histograma con la cantidad de veces en que el ligando se unió al receptor en un cierto sitio, de igual forma muestra la energía de unión ($\Delta_{\text{bind}}G$) generada a partir de la formación del complejo receptor-ligando, para escoger el complejo final se tienen dos rutas, la primera en donde se tome la que genere la menor energía de unión ya que, esta será la más estable, por otro lado, se puede optar por

utilizar el complejo que más veces se formó durante el acoplamiento (aunque este no sea el más negativo), de forma ideal, el complejo más negativo será el que tenga mayor cantidad de repeticiones dentro del modelado [77].

$$\Delta G_{bind} = \Delta G_{solv} + \Delta G_{conf} + \Delta G_{int} + \Delta G_{rot} + \Delta G_{t/t} + \Delta G_{vib} \quad (8)$$

En donde, *solv* es el efecto del solvente, *conf* cambios de conformación en R y L, *int* es la interacción R/L, *rot* son las rotaciones internas en R y L, *t/t* es la formación del complejo RL y *vib* son los cambios en los modos de vibración.

Una vez obtenido el complejo es necesario revisar la cantidad de enlaces de hidrógeno formados, así como las interacciones electrostáticas, desfavorables (que darán inestabilidad al complejo), hidrofóbicas y de Van der Waals, estos enlaces y/o interacciones serán dadas por los aminoácidos de la región donde se generó el acoplamiento. Los criterios para conocer la eficiencia del complejo R-L serán la cantidad de enlaces de hidrógeno con sus respectivas distancias de enlace para conocer si se trata de una interacción fuerte, media o débil, para ello se muestran las distancias de enlace en la Tabla 4, la constante de inhibición, la energía de unión, si existen o no interacciones desfavorables.

Tabla 4: Intensidad del enlace de hidrógeno

| Clasificación | Distancia en Å | Energía de enlace en kcal mol ⁻¹ |
|---------------|----------------|---|
| Fuertes | 1.5-2.5 | 14-40 |
| Moderados | 2.5-3.2 | 4-14 |
| Débiles | 3.2-4.0 | <4 |

^a Tomado de la referencia [78].

Por otro lado, las interacciones electrostáticas son de igual importancia que los enlaces de hidrógeno [79], la desventaja de estos es que, su eficiencia se ve afectada por el medio en el que esté suspendido el complejo y, por consiguiente, cambiará a favor o en contra según sea el caso.

Consenso farmacológico

Se predicen propiedades fisicoquímicas de los compuestos a estudiar, la predicción se realiza con base en fármacos ya existentes en el mercado, para ello, se hace uso del programa Swiss ADME® (absorción, distribución, metabolismo y excreción) el cual se encuentra entrenado con modelos de regresión y clasificación para la predicción de las propiedades, en este punto se predicen:

- TPSA: es un parámetro usado en química medicinal y farmacología para describir la capacidad de un fármaco o molécula de interactuar con el entorno acuoso y, en particular, su capacidad de atravesar membranas biológicas, como la barrera hematoencefálica o las membranas celulares. Un TPSA bajo (< 60 Å²) generalmente sugiere que una molécula tiene una mayor probabilidad de atravesar membranas celulares, lo cual es crucial para la absorción de fármacos en el cuerpo. Un TPSA moderado (60-140 Å²) indica una buena absorción intestinal y permeabilidad razonable en membranas celulares, finalmente un TPSA alto (> 140 Å²) indica una

baja permeabilidad lo que puede limitar la absorción oral y la capacidad de cruzar membranas celulares.

- Absorción intestinal: un TPSA $< 140 \text{ \AA}^2$ generalmente indica que la molécula tiene buena absorción oral.
- Cruce de la barrera hematoencefálica: para que un compuesto pueda entrar eficazmente al cerebro, su TPSA debe ser $< 90 \text{ \AA}^2$, idealmente menor a 60 \AA^2 .
- Excreción renal vs permeabilidad celular: fármacos con TPSA alto pueden tener más dificultades para difundir pasivamente a través de membranas celulares y, en su lugar, dependerán de transportadores específicos para su absorción o eliminación.
- Absorción gastrointestinal: es el proceso por el cual los nutrientes, medicamentos, y otras sustancias ingeridas a través de la boca son transportadas desde el tracto gastrointestinal (GI) hacia el torrente sanguíneo. Este proceso es crucial para que las sustancias activas de los alimentos y los fármacos lleguen a la circulación sistémica, desde donde pueden ser distribuidas a los órganos y tejidos del cuerpo para ejercer sus efectos.
- Permeabilidad en piel: se refiere a la capacidad de una sustancia para atravesar la barrera cutánea y penetrar en las capas más profundas de la piel, llegando incluso a entrar en el torrente sanguíneo.
 - Alta permeabilidad ($> 10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$): fácil absorción a través de la piel.
 - Permeabilidad moderada (10^{-4} a $10^{-3} \text{ cm s}^{-1}$): permeabilidad intermedia, puede requerir formulaciones especiales para mejorar la absorción.
 - Baja permeabilidad ($< 10^{-4} \text{ cm s}^{-1}$): difícil absorción dérmica, requiere potenciadores de permeación o sistemas de administración transdérmica avanzados.
- Inhibidor de citocromos: son una familia de enzimas clave en el metabolismo de fármacos, toxinas y otros compuestos en el cuerpo. Estas enzimas se encuentran principalmente en el hígado y desempeñan un papel crucial en la biotransformación de muchas sustancias, convirtiéndolas en formas más fáciles de excretar. Los factores que influyen en la inhibición de citocromos son.
 - Grupos funcionales reactivos: moléculas con grupos funcionales como aminas heterocíclicas, imidazoles, furano, tiourea y quinolinas.
 - Presencia de heteroátomos: átomos como nitrógeno, oxígeno y azufre pueden coordinarse con el hierro del grupo hemo de los CYPs, bloqueando su función.
 - Estructura plana y aromática: compuestos con estructuras planas y altamente conjugadas pueden encajar mejor en el sitio activo del CYP, aumentando la inhibición.
 - TPSA bajo: indica una mejor permeabilidad celular y acceso al sitio activo del CYP.
- Sustrato P-glicoproteína: es una sustancia que es reconocida y transportada por la P-glicoproteína, una proteína que actúa como una bomba de eflujo en las células. Esta proteína juega un papel crucial en la protección de las células contra sustancias tóxicas y en la regulación de la absorción, distribución y eliminación de muchos

fármacos en el cuerpo. Algunos casos donde un fármaco puede ser reconocido y transportado son.

- Compuestos lipofílicos que pueden atravesar pasivamente las membranas celulares.
- Fármacos con peso molecular moderado (300-900 Da).
- Compuestos básicos o neutros a pH fisiológico (7.37-7.42), por otro lado, los ácidos suelen ser menos transportados.
- Un TPSA alto reduce la permeabilidad pasiva, por tanto, estos compuestos dependen de este sustrato.
- Fármacos que no atraviesan la barrera hematoencefálica.
- Permeabilidad de la barrera hematoencefálica: se refiere a la capacidad de sustancias para atravesar la barrera hematoencefálica y llegar al cerebro. Es una estructura altamente selectiva formada por células endoteliales de los capilares cerebrales, que protege al cerebro de toxinas, patógenos y otras sustancias potencialmente dañinas presentes en la sangre, mientras permite el paso de nutrientes esenciales y gases. Para atravesar esta barrera se deben cumplir ciertos criterios, cabe resaltar que un compuesto atraviese esta barrera dependerá de su función, es decir, si se trata de ansiolíticos, analgésicos opioides o anticonvulsivos es crucial que la sustancia orgánica cruce la barrera, en caso de fármacos de otra índole como anticancerígenos lo ideal es que no se permean.
 - Peso molecular < 500 Da.
 - TPSA bajo, indica una menor polaridad lo que favorece la difusión pasiva a través de la barrera.
 - Grado de ionización, ya que, la barrera es menos permeable a compuestos ionizados, debido a que los iones no atraviesan fácilmente la membrana lipídica.
- Lipinski: son un conjunto de pautas utilizadas en la química medicinal para evaluar si un compuesto químico es probable que sea un fármaco oralmente activo en humanos, se deben cumplir las siguientes condiciones:
 - Peso molecular: El peso molecular del compuesto debe ser menor o igual a 500 daltons. Moléculas más grandes tienden a tener dificultades para atravesar las membranas celulares.
 - Número de enlaces de hidrógeno donadores: El compuesto debe tener 5 o menos grupos donadores de enlaces de hidrógeno, que generalmente son grupos hidroxilo (-OH) o amino (-NH).
 - Número de enlaces de hidrógeno aceptores: El compuesto debe tener 10 o menos aceptores de enlaces de hidrógeno, que incluyen átomos de oxígeno (O) y nitrógeno (N) que pueden formar enlaces de hidrógeno.
 - Coeficiente de partición (log P): El logaritmo de la partición octanol-agua (log P) debe ser menor o igual a 5. Este parámetro mide la lipofilia del compuesto; valores altos indican que la molécula es muy lipofílica (soluble en grasa), lo que podría afectar su solubilidad en agua y, por lo tanto, su absorción [80].

Fase *in vitro*

Las células de la línea MDA-MB-231 se cultivaron en el medio Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (Sigma-Aldrich®) y las células de la línea MCF-7 en el medio Minimum Essential Media (MEM) (Sigma-Aldrich®).

Las líneas celulares se suplementaron con 7% y 10% de suero fetal bovino (Biowest®) respectivamente, 2 % de antibiótico antimicótico (Sigma-Aldrich®) y 0.1 % de L-glutamina (Sigma-Aldrich®), posteriormente se incubaron a 37°C en una atmósfera húmeda con CO₂ al 5% monitoreándose cada 24 horas hasta alcanzar 80% de confluencia [81].

Conteo celular

Una vez alcanzado el 80% de confluencia, se inhibió la adhesión de los cultivos celulares mediante tripsina al 1x, se introdujeron a la incubadora durante 5 minutos, posteriormente se observaron los cultivos en el microscopio invertido con el fin de corroborar su separación. Paso siguiente fue inhibir la tripsina utilizando el doble de medio de cultivo suplementado, para este punto se utilizó un medio específico para este proceso, dicho medio cuenta con solo el 2% de suero fetal bovino (SFB), una vez inhibida la tripsina, el contenido se vació en un tubo Falcon de 15 mL y se centrifugó a 1,500 RPM por 10 minutos, una vez finalizado este proceso, en el tubo Falcon se observó un pellet el cual contiene todas las células, posteriormente se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el pellet con medio de cultivo fresco.

Posteriormente en un tubo Eppendorf se adicionó 45 µL de solución salina amortiguada por fosfato (PBS), 45 µL de azul de tripán y 10 µL de la solución del pellet con medio (dicha solución fue homogeneizada previo a su incorporación). Finalmente, en una cámara de Neubauer de 0.1mm de profundidad se añadieron 10 µL de la solución anterior, esta solución se observó en el microscopio para realizar el conteo celular basado en la siguiente fórmula.

$$\frac{\text{Células}}{\mu\text{L}} = \frac{\# \text{ de células}}{\text{superficie contada [mm}^2\text{]} * \text{profundidad de la cámara [mm]}} \quad (9)$$

Efecto anti proliferativo

De cada línea se sembraron 6,000 células por pozo en cajas de 96 pozos [82], posteriormente se completó el volumen utilizando medio de cultivo fresco hasta alcanzar los 200 µL por pozo y las células se incubaron durante 24 horas. Posteriormente se retiró el medio de cultivo, se lavó cada pozo utilizando PBS (con el fin de eliminar restos celulares) y se agregaron las macromoléculas con concentraciones de 100 µM, 75 µM, 50 µM, 25 µM y 10 µM, de igual forma se utilizó un control negativo en el cual se sembraron células y no se les añadió ningún tratamiento.

El efecto anti proliferativo se determinó mediante el kit de ensayo de proliferación celular XTT (5 mL del frasco proliferado y 100 µL del activador), para esto se agregaron 50 µL del reactivo por pozo y se incubó nuevamente durante 4 horas. Finalmente, mediante la ayuda de un fotómetro de microplacas Multiskan FC se determinó la absorbancia a 450 nm [83], todos los experimentos se realizaron 3 veces y por triplicado.

Control de células no cancerosas

Se utilizó la línea de epitelio normal de mama MCF-10A como un modelo de células no cancerosas con el fin de determinar la toxicidad de las macromoléculas, estas células se mantuvieron en un cultivo DMEM/F12 (Sigma-Aldrich®) y se suplementaron con 7% de suero fetal bovino (Biowest®), 2 % de antibiótico antimicótico (Sigma-Aldrich®), 0.1 % de L-glutamina (Sigma-Aldrich®), 1 µg/mL de hidrocortisona (Sigma-Aldrich®), posteriormente se incubaron a 37°C en una atmósfera húmeda con CO₂ al 5% monitoreándose cada 24 horas hasta alcanzar 80% de confluencia.

Se sembraron 6,000 células por pozo en la caja de 96 pozos, se utilizaron las concentraciones inhibitoras medias (IC₅₀, esta es la concentración de un fármaco que se requiere para inhibir el 50% de una actividad biológica en un sistema determinado, una IC₅₀ baja indica una alta potencia de un fármaco por lo que se necesitará menos cantidad del compuesto para producir el efecto inhibitor, mientras que, una IC₅₀ alta indicará una baja potencia del fármaco por lo que se necesitará mayor cantidad para producir el mismo efecto, la IC₅₀ dependerá de la sustancia orgánica utilizada) encontradas en las líneas MDA-MB-231 y MCF-7, cada concentración se probó 3 veces y por triplicado, finalmente se utilizó el ensayo XTT para medir el efecto antiproliferativo.

Las aplicaciones del IC₅₀ dependerán de la rama estudiada.

Farmacología: evaluar la eficiencia de un fármaco en inhibir el crecimiento celular, actividad enzimática o interacciones con receptores.

Toxicología: determinar el impacto de sustancias en células o microorganismos.

Biología molecular: estudiar la inhibición enzimática y mecanismos de señalización celular.

Para su cálculo se utiliza la ecuación de Hill o ecuación de 4 parámetros, la cual ajusta los datos de la curva inhibición dosis-respuesta de forma sigmoide. La ecuación se presenta a continuación.

$$Y = \min + \frac{\max - \min}{1 + 10^{(\log IC_{50} - X)n}} \quad (10)$$

En donde Y es la respuesta o porcentaje de inhibición, \min y \max son los valores límite de la respuesta, X es la concentración del fármaco en logaritmo, IC_{50} es la concentración en que la respuesta es del 50% y n es el coeficiente de Hill (pendiente de la curva).

Para este cálculo se utilizó una regresión no lineal en el software GraphPad Prism, con el cual se obtuvieron las distintas IC₅₀.

Fase *in silico*

Las proteínas de las vías de señalización intracelular que pueden ser blanco de las macromoléculas estudiadas se obtuvieron mediante la revisión bibliográfica [84-90], posteriormente las estructuras 3D se obtuvieron de la base de datos de PDB (Protein Data

Bank). Las proteínas involucradas en estas vías y con interacción de las macromoléculas se muestran a continuación.

Tabla 5: Proteínas para el acoplamiento molecular

| Proteína | ID ^a |
|---------------|-----------------|
| Bcl-2 | 6O0K |
| Caspasa 9 | 3D9T |
| CDK4 | 7SJ3 |
| IGF1R | 2ZM3 |
| MDM2 | 5OAI |
| MMP9 | 1L6J |
| PARP1 | 6M3I |
| PI3K β | P42338 |
| PI3K γ | 3APC |
| PI3K δ | 7JIU |
| Src | 7NG7 |
| MAPK1 | 2Y9Q |
| BCL2L1 | 4QVF |
| GSK3 α | 7SXF |
| CDK2 | 7VDU |
| Caspasa 8 | 7LVM |
| c-JUN | 7ORF |
| APEX1 | 7TC3 |
| EGFR | 5UG9 |
| ESR1 | 5DXE |
| ESR2 | 3OLL |
| FGF1 | 5EW8 |

^a Código de identificación de la proteína en el PDB.

En el caso de la proteína PI3K β esta no se encuentra reportada experimentalmente, por lo que, se tuvo que utilizar una estructura predicha obtenida de la base de datos de UNIPROT (The Universal Protein Knowledgebase).

Por otro lado, en la Tabla 6 se muestran las macromoléculas utilizadas en este estudio, se presentan sus códigos SMILES los cuales fueron introducidos al software de Avogadro para realizar la optimización de sus estructuras.

Tabla 6: Macromoléculas estudiadas

| Nombre | Fórmula | Clave | SMILES | Estructura |
|--|---|----------|--|------------|
| 2,2'-(1,2-Phenylene)bis[2,3-dihydro-1,3-dioxo-1 <i>H</i> -isoindole-5-carboxylic acid] | C ₂₄ H ₁₂ N ₂ O ₈ | oDIDA | <chem>O=C(O)C1=CC=C2C(=O)N(C(=O)C2=C1)C=CC=CC3N4C(=O)C5=CC=C(C=C5C4=O)C(=O)O</chem> | |
| 2,2'-(4-Carboxy-1,2-phenylene)bis[2,3-dihydro-1,2-dioxo-1 <i>H</i> -isoindole-5-carboxylic acid] | C ₂₅ H ₁₂ N ₂ O ₁₀ | 3,4-DITA | <chem>O=C(O)C1=CC=C2C(=O)N(C(=O)C2=C1)C3=CC=C(C=C3N4C(=O)C5=CC=C(C=C5C4=O)C(=O)O)C(=O)O</chem> | |
| 2,2'-(5-Carboxy-1,3-phenylene)bis[2,3-dihydro-1,3-dioxo-1 <i>H</i> -isoindole-5-carboxylic acid] | C ₂₅ H ₁₂ N ₂ O ₁₀ | 3,5-DITA | <chem>OC(=O)C1=CC2=C(C=C1)C(=O)N(C2=O)C1=CC(=C(C=C1)N1C(=O)C2=C(C=C(C=C2)C(O)=O)C1=O)C(O)=O</chem> | |

Prueba de normalidad Shapiro-Wilk

Plantea la hipótesis nula que una muestra proviene de una distribución normal, por el contrario, la hipótesis alternativa se plantea como que una muestra no proviene de una distribución normal, es decir, $H_0: X \sim N(\mu, \sigma^2)$ y $H_1: X \neq N(\mu, \sigma^2)$, es importante elegir un nivel de significancia α , en donde el más utilizado es $\alpha=0.05$ o el 5% [91].

ANOVA

La técnica de análisis de varianza (ANOVA), constituye la herramienta básica para el estudio del efecto de uno o más factores (cada uno con dos o más niveles) sobre la media de una variable continua. Es, por lo tanto, una de las pruebas estadísticas que se pueden emplear para comparar las medias de dos o más grupos.

La hipótesis nula de la que parten los diferentes tipos de ANOVA es que la media de la variable estudiada es la misma en los diferentes grupos, en contraposición a la hipótesis alternativa de que, al menos dos medias, difieren de forma significativa. ANOVA permite comparar múltiples medias, pero lo hace mediante el estudio de las varianzas [92].

ANOVA de una vía

El ANOVA de una vía, también conocido como ANOVA con un factor o modelo factorial de un solo factor, permite estudiar si existen diferencias significativas entre la media de una variable aleatoria continua en los diferentes niveles de otra variable cualitativa o factor, cuando los datos no están pareados. Es una extensión de los *t-test independientes* para más de dos grupos [93].

Las condiciones para ANOVA de una vía con datos independientes son:

- Independencia: las observaciones deben ser aleatorias e independientes las unas de las otras. Los grupos (niveles del factor) deben de ser independientes entre ellos.
- Distribución normal de cada uno de los niveles o grupos: la variable estudiada debe de distribuirse de forma normal en cada uno de los grupos, siendo menos estricta esta condición cuanto mayor sea el tamaño de cada grupo. La mejor forma de verificar la normalidad es estudiar los residuos de cada observación respecto a la media del grupo al que pertenecen.
- A pesar de que el ANOVA es bastante robusto aun cuando existe cierta falta de normalidad, si la simetría es muy pronunciada y el tamaño de cada grupo no es muy grande, se puede recurrir en su lugar a la prueba no paramétrico *prueba H de Kruskal-Wallis*. Con frecuencia se recomienda mantenerse con ANOVA a no ser que la falta de normalidad sea muy extrema.
- Los datos atípicamente extremos pueden invalidar por completo las conclusiones de un ANOVA. Si se observan residuos extremos hay que estudiar con detalle a qué observaciones pertenecen, siendo aconsejable recalcular el ANOVA sin ellas y comparar los resultados obtenidos.
- Misma varianza entre grupos (homocedasticidad): la varianza dentro de los grupos debe de ser aproximadamente igual en todos ellos. Esto es así ya que en la hipótesis nula se considera que todas las observaciones proceden de la misma población, por lo que tienen la misma media y también la misma varianza.

Métodos empíricos de predicción de entalpías de formación

Estos tienen un costo reducido de software, cómputo y tiempo de trabajo al momento de su implementación. Si se dispone de los parámetros necesarios, los esquemas más sofisticados suelen ser muy fiables. Por supuesto, la calidad de los resultados depende de la calidad de los valores de los parámetros; el valor de un parámetro derivado de una sola medición experimental es probablemente más incierto que uno basado en mediciones de varios compuestos diferentes. El método útil más simple para predecir las entalpías de reacción es probablemente la aditividad de los enlaces, que se basa en la aproximación de que todos los enlaces del mismo tipo son igualmente fuertes. Por ejemplo, todos los enlaces C-C contribuirían por igual a la entalpía de formación, pero en la fase gaseosa. Por supuesto, solo se pueden esperar resultados aproximados de un método tan simple [53].

Se pueden obtener resultados mucho mejores usando métodos de aditividad de grupo basados en grupos funcionales. Para usar tales métodos, primero se debe identificar y contar los grupos apropiados dentro de la molécula y sumar sus respectivas contribuciones. Este es un ejercicio fácil y no implica una notación o nomenclatura especial.

Los métodos de grupo de segundo orden más sofisticados incluyen los efectos del entorno químico. Estos son más complicados y precisos que los métodos de primer orden y requieren un poco de esfuerzo [54]. El inconveniente de este tipo de métodos es que no siempre se cuenta con todos los grupos funcionales para una molécula por lo que, es necesario realizar un cálculo rápido para encontrar este valor, pero, al mismo tiempo se reduce la veracidad del valor obtenido mediante la estimación.

Método empírico de Benson

Este método permite la obtención de la entalpía de formación en cualquiera de las tres fases de un compuesto realizando la separación de los grupos funcionales existentes dentro de cada molécula, se debe de considerar un factor rsc (ring strain correction) necesario para cuando las moléculas presentan algún ciclo, dicho factor de corrección es específico para cada familia de compuestos [94-96].

Es importante conocer el tipo de hibridación que tiene cada átomo dentro de una molécula a fin de lograr comprender cuantos enlaces puede formar, para encontrar los grupos funcionales existentes es necesario identificar un átomo “central”, dicho átomo es cualquiera dentro de la molécula excluyendo al hidrógeno, posteriormente se debe observar a que otros átomos se encuentra unido, es en este punto que conocer el tipo de hibridación es necesario para encontrar todos los átomos a los que se encuentra ligado, es necesario conocer de igual forma la frecuencia con la que se repite dicho grupo funcional para ser considerado en los cálculos. Dentro de los tipos de átomos de carbono que se identifican para este método se encuentran los que cuentan con enlaces simples, dobles, triples y aromáticos, si bien un carbono de doble enlace y uno aromático presentan el mismo tipo de hibridación, las interacciones de ambos son diferentes ya que un carbono aromático presenta el efecto de resonancia dentro de sus electrones mientras que el de enlace doble no cuenta con este efecto.

La ventaja de utilizar este método es que al ser el más conocido la información sobre la utilización y realización del método se actualiza de forma constante, permite evaluar diferentes propiedades termodinámicas como lo son el calor específico a presión constante y la entropía de formación.

Cálculos basados en regresiones

Una regresión consiste en obtener una ecuación de ajuste para una serie de datos experimentales o teóricos, dicha ecuación relaciona la o las variables independientes existentes con una o varias variables dependientes, lo anterior con el fin de poder predecir

valores futuros para datos semejantes a los experimentales, dentro de los diferentes tipos de regresión existen dos grandes grupos que son las regresiones lineales y las no lineales.

Las regresiones lineales son aquellas que presentan ecuaciones de primer grado, esto quiere decir que la o las variables dependientes (“y”) son continuas, el modelo relaciona dicha variable con n variables regresoras (“x_i”) y finalmente una variable aleatoria (“a₀”) que recolecta todos aquellos factores que no son recolectables y que se asocian al azar [97]. La ecuación general de las regresiones lineales se muestra a continuación.

$$y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i x_i \quad (11)$$

Regresión Ridge

La regresión Ridge es un popular método de estimación de parámetros para resolver el problema de la colinealidad que suele surgir en la regresión lineal múltiple [98]. La expresión matemática para este modelo de regresión es.

$$RSS_{Ridge} = \sum_{i=1}^n (y_i - f(x_i))^2 + \frac{1}{2} \alpha \sum_{j=1}^p \beta_j^2 \quad (12)$$

Donde α es un parámetro que controla el grado de penalización: cuanto mayor sea la penalización, menor será la magnitud de los coeficientes de las variables independientes. Cuando α es igual a cero, Ridge es equivalente a la regresión lineal.

Regresión Lasso

La regresión LASSO (Least Absolute Shrinkage and Selection Operator) pretende identificar las variables y los coeficientes de regresión correspondientes que conducen a un modelo que minimiza el error de predicción. Esto se consigue imponiendo una restricción a los parámetros del modelo, que "encoge" los coeficientes de regresión hacia cero, es decir, obligando a que la suma del valor absoluto de los coeficientes de regresión sea inferior a un valor fijo (λ) [99]. La expresión que representa este ajuste se presenta a continuación.

$$RSS_{Lasso} = \sum_{i=1}^n (y_i - f(x_i))^2 + \alpha \sum_{j=1}^p |\beta_j| \quad (13)$$

Donde α es un parámetro que controla el grado de penalización: cuanto mayor sea la penalización, menor será la magnitud de los coeficientes de las variables independientes. Cuando α es igual a cero, Ridge es equivalente a la regresión lineal.

Por otro lado, en las regresiones no lineales la función que relaciona la respuesta con los predictores no es necesariamente lineal, es decir, los vectores de parámetros y predictores generalmente no tienen la misma dimensión [100, 101], este tipo de regresiones se utilizan

cuando no es posible modelar adecuadamente la relación utilizando parámetros lineales, un parámetro lineal es aquel en donde sus términos son aditivos [102].

Dentro de las similitudes entre las regresiones lineales y no lineales se encuentran [101]:

- Describir matemáticamente la relación entre una variable de respuesta y una o más variables regresoras.
- Poder modelar una relación curva.
- Minimizar la suma de los cuadrados del error residual.

Una ecuación de regresión no lineal puede adoptar una infinidad de formas, es por lo que se deben tomar formas bases para realizar los cálculos de ajuste. La función que se elija depende del conocimiento previo de la forma de la curva de respuesta o del comportamiento de las propiedades físicas y químicas del sistema [102].

Regresión con máquinas de soporte vectorial (SVR)

Una regresión es una generalización de un problema de clasificación [103], es decir, un problema de clasificación devuelve un valor continuo mientras que uno de regresión devuelve un valor finito de una función multivariable.

El problema de optimización consiste en encontrar el margen máximo que separa el hiperplano clasificando correctamente tantos puntos de entrenamiento sea posible [104], la forma de separar estos hiperplanos se realiza mediante vectores de soporte y es posible crear tantos vectores como sean necesarios en un problema multivariable. Una SVR se formula como un problema de optimización definiendo primero una función de pérdida convexa e insensible a minimizar encontrando el vector de soporte que contenga la mayoría de las instancias de entrenamiento, es decir, un nuevo dato aparece dentro de un plano y, mediante la distancia Euclídea el dato entra dentro del vector de soporte que más cerca tenga. Por lo tanto, se construye una función multiobjetivo a partir de la función de pérdida. Figura 4.

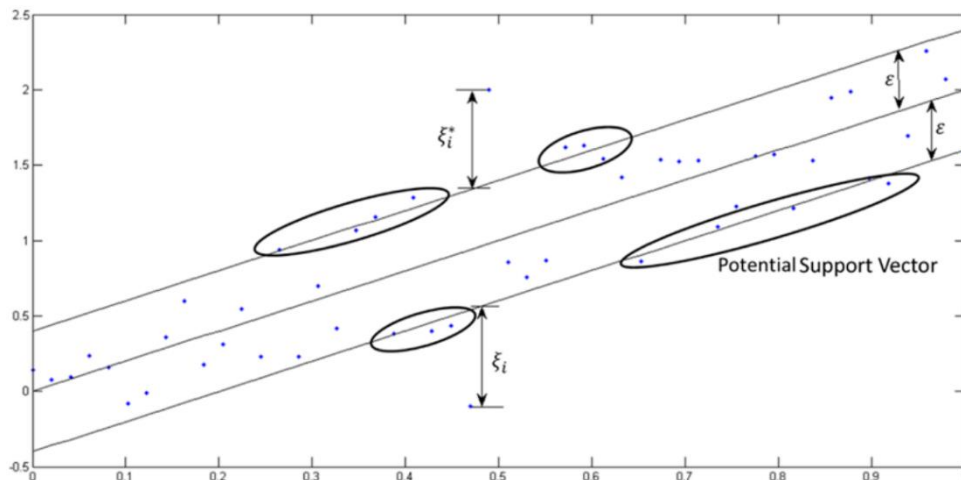


Figura 4: Representación de una SVR [105]

La SVR cuenta con un coeficiente de penalización “C” que permite penalizar valores de errores muy grandes y por lo tanto regularizar la solución [105], dicho valor de penalización puede afectar tanto de forma positiva como negativa al modelo, entre mayor sea dicho coeficiente es posible obtener mejores resultados, pero, al penalizar tanto a una variable esta tampoco podrá predecir de buena forma valores futuros.

Para una SVR los datos nuevos se encuentran fuera de un “Tubo” [106], esto es, son los vectores de soporte creados por la misma regresión, estos datos se unen al Tubo, es decir, entran en el en lugar de unirse al límite de decisión, por lo tanto, los elementos dentro del Tubo no tienen impacto en la solución final.

La ventaja que presenta utilizar una SVR es la elección de su núcleo, estos puede ser lineal, polinómico, sigmoide y de función radial (tendencia normal), mediante esto SVR puede proporcionar una forma eficiente de manejar un problema de regresión no lineal al proyectar la función original en un espacio donde los datos pueden discriminarse linealmente [105], cabe destacar que, si bien el núcleo de una SVR puede ser lineal se sigue considerando un método de regresión no lineal por la forma en la que resuelve el problema y su coeficiente de penalización.

Regresión Kernel Ridge

KRR combina regresión y clasificación Ridge utilizando mínimos cuadrados lineales con regularización de norma L2, este tipo de regresión tiene un coeficiente de penalización que restringe las variables regresoras para optimizar la función de coste dentro de un algoritmo de Machine Learning (ML) [106]. Una ventaja de este tipo de regresión es que tiene un kernel, es decir, el modelo puede aprender de los datos tanto lineal como no lineal.

La forma en que aprende el modelo KRR es idéntica a la regresión por vectores de soporte [107], sin embargo, KRR tiene funciones de pérdida diferentes, utiliza una pérdida del error cuadrático mientras que SVR utiliza una pérdida insensible a ϵ . Ambos modelos de regresión utilizan una penalización L2, por lo que la magnitud de los datos puede afectar al tiempo de cálculo del modelo, es decir, puede ser necesaria la estandarización de las variables. La ventaja de KRR sobre SVR reside en la velocidad del modelo para ajustarse a los datos y predecirlos, siendo KRR tres veces más rápido que SVR [107], siempre que el conjunto de datos sea de tamaño medio.

Métricas de Evaluación

Las métricas permiten cuantificar y evaluar el desempeño del algoritmo de ML con el fin de conocer la fiabilidad de este en el proceso de entrenamiento y prueba. Las métricas de evaluación son capaces de mostrar si las estrategias utilizadas están contribuyendo o perjudicando a los resultados del modelo [108].

Un correcto análisis del algoritmo creado permite tomar decisiones sobre el cambio o corrección de este, determinar nuevas oportunidades de mejora, comprobar fallas operativas, disminuir el grado de incertidumbre y generar soluciones a problemas presentados.

Validación cruzada K-Fold

Se utiliza para evaluar un modelo, no necesariamente lo mejora, pero mejora la comprensión de este [109, 110]. Antes de comenzar con la descripción del método de validación es necesario definir términos que utiliza esta técnica:

- Bajo sesgo: cuando las predicciones se encuentran muy cercanas a los valores reales.
- Alto sesgo: cuando las predicciones se encuentran lejanas a los valores reales.
- Baja varianza: el algoritmo debe ser ejecutado simultaneas veces, cada ocurrencia presenta predicciones, dichas predicciones no variarán unas con otras.
- Alta varianza: el algoritmo debe ser ejecutado simultaneas veces, cada ocurrencia presenta predicciones, dichas predicciones variarán unas con otras.

Esta técnica divide un conjunto en diferentes subconjuntos de tamaño K casi igual, posteriormente se utiliza un pliegue K-1 para la construcción de un nuevo modelo, ese pliegue sobrante del modelo se utilizará para validar el mismo, durante la iteración de este procedimiento K veces, cada uno de los K pliegues se asigna sucesivamente como datos de validación [111]. De forma práctica el valor de K se asigna entre 5 y 10 [109].

La forma de interpretar el resultado una vez aplicada la validación se realiza observando el resultado del cociente m/n , dicho resultado debe ser asintóticamente cercano a 1, esto quiere decir que m (selección de variables) y n (tamaño de muestra) tienen una magnitud similar [110]. Esto implica que la consistencia en la selección de variables en el modelo se mantiene cuando la mayoría de las observaciones se utilizan para la validación.

Una vez aplicado el método de validación se obtendrá la media de todas las pruebas realizadas, esta media será el rendimiento general del algoritmo creado, posteriormente se deberá obtener la varianza de cada cálculo realizado con los K pliegues, a partir de estos datos se podrá ver qué clase de sesgo y de varianza se concentra en el conjunto de datos de entrenamiento, lo ideal esperado es obtener un sesgo bajo con una varianza baja.

Raíz Cuadrada del error cuadrático medio (RMSE)

Esta métrica es utilizada para medir el rendimiento de un modelo en estudios de investigación [112], tiene mayor aplicación cuando se miden los errores existentes dentro de un modelo [113]. Esta métrica penaliza la varianza ya que da mayor peso a los errores con valores absolutos grandes que a los más pequeños.

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n e_i^2} \quad (14)$$

La ecuación 14 describe la forma en la que se calcula la raíz del error cuadrático medio donde n representa el total de muestras de errores del modelo y e_i es el cálculo de dichos errores n , es importante recalcar que al presentar el RMSE se hace la consideración de que los errores no están sesgados y siguen una distribución normal.

Mientras se tenga un mayor número de muestras la reconstrucción de la distribución de los errores cuadráticos medios será más confiable [114].

La ventaja de utilizar esta métrica es que evita el uso de valores absolutos lo cual es un inconveniente en muchos cálculos matemáticos, además, el uso único de esta métrica no da un resultado crítico debido a que las variaciones del mismo modelo tendrán distribuciones de errores similares [115].

Coefficiente de determinación (R2)

Su formulación cuantifica la dependencia de una variable hacia las independientes en términos de proporción de la varianza [116, 117], este coeficiente puede tener valores entre 0 y 1, es invariable para transformaciones lineales, un valor de salida cercano a 1 arroja una buena predicción independientemente de la escala en la que se midan las variables [118].

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - Y_i)^2}{\sum_{i=1}^n (\bar{Y} - Y_i)^2} \quad (15)$$

El coeficiente de determinación puede interpretarse como la proporción de la varianza de la variable dependiente que es explicada por las variables independientes. El uso adecuado del coeficiente de determinación proporciona una comparación del rendimiento predictivo de una regresión en dos conjuntos de datos diferentes.

Error absoluto medio (MAE)

Típicamente los valores que puede tener esta métrica abarcan todos los números reales positivos, tiene un límite inferior de 0, dicho límite implica que se tiene un ajuste perfecto, por otro lado, valores que crecen infinitamente se interpretan como modelos que tienen un peor rendimiento [119]. Esta métrica depende de los rangos de las variables descriptivas, el valor obtenido durante la aplicación de esta puede reflejar un rendimiento del modelo profundamente diferente para dos tareas distintas [120].

$$MAE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |e_i| \quad (16)$$

Esta métrica a diferencia del error cuadrático medio no penaliza demasiado los valores atípicos de entrenamiento de esta forma proporciona una medida de rendimiento genérica y acotada para el modelo, aunque, por otro lado, si el conjunto de prueba tiene una cantidad considerable de errores atípicos el rendimiento de esta métrica decaerá.

El MAE se basa en la norma L_1 (norma Manhattan) que devuelve la suma de los valores absolutos de los elementos de un vector. Por lo tanto, mide la proximidad de las predicciones a los resultados reales otorgados durante la separación de conjunto de aprendizaje y prueba, el error de predicción se calcula para cada entrada del conjunto de datos de prueba.

Capítulo 3: Resultados y discusión

Síntesis y purificación de la o-DIDA

Para la síntesis se utilizó una parrilla de calentamiento, se probaron las tres rutas sintéticas propuestas en el marco metodológico y se observó que, al fundir primero la amina esta se oxidaba y se tornaba de color negro cuando su tono original es café, al mezclar ambos y fundirlos al mismo tiempo existían zonas en las cuales la amina no terminaba de reaccionar, por otro lado, al fundir primero el anhídrido trimelítico para posteriormente adicionar la amina esta reacciona sin tornar a color negro, de igual forma se observó que al cambiar la estequiometría de la reacción se obtuvo siempre el mismo resultado, por lo que, se optó por utilizar una relación 2:1 con el fin de no desperdiciar reactivo.

Para la síntesis de 1 g de compuesto se realizó a baño maría con aceite caliente a 160 °C y con la cantidad de anhídrido trimelítico en cantidades estequiométricas, para ello se corrigió por pureza [TMA: Merck (97%)] (dicha temperatura corresponde al punto de fusión reportado experimentalmente para el anhídrido), se mantuvo en calentamiento aproximadamente 30 minutos hasta que todo el reactivo terminara de fundir, después se adicionó la cantidad estequiométrica de la o-fenilendiamina [oFDA: Merck (99%)], se mantuvo la mezcla bajo calentamiento por aproximadamente 15 minutos más, hasta la fusión completa de la oFDA y la reacción con el TMA, se mantuvo bajo agitación constante utilizando una espátula hasta homogeneizar la mezcla, finalizado el periodo de tiempo se retiró el calentamiento y se mantuvo en agitación hasta su solidificación, el producto final tornó a un color verde.

Para la purificación el producto fue puesto en 3 mL de agua desionizada, ya filtrado y seco fue guardado en un vial, colocado dentro de en un matraz Kitasato y a baño maría a 180 °C y con una presión de vacío de 20 cmHg, posteriormente se sometió a un sublimado por dos horas a las mismas condiciones de secado, finalmente el proceso previamente descrito se repitió una segunda vez, al término del sublimado se observó que, tanto el vial como el matraz estaban limpios y sin rastros de TMA, el color del producto pasó de un verde intenso a un amarillo verdoso. Con el fin de cerciorarse de que se tenía un producto puro se ocupó la técnica de plaqueo, se punteó con tres disoluciones de oDIDA (con DMF), TMA y OFDA (con acetato de etilo) y finalmente se utilizó agua desionizada como fase móvil. El resultado bajo una lámpara de UV se presenta en la Figura 5.

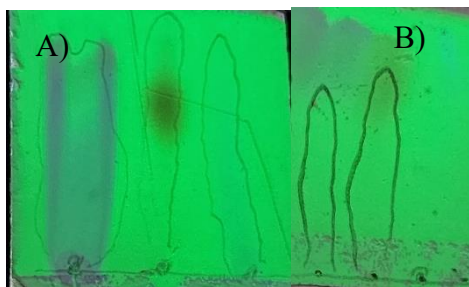


Figura 5: a) oDIDA con impurezas, b) oDIDA sublimada. Se muestra en primer lugar de izquierda a derecha al TMA, en segundo a la oFDA y en tercer lugar a la oDIDA

Realizando esta ruta de purificación se obtuvo un rendimiento general del 70%, una vez interpretada la placa de sílice el producto se caracterizó mediante la técnica térmica de DSC, y las técnicas espectroscópicas de FTIR-ATR, ^1H -RMN y análisis elemental. Los resultados de las caracterizaciones se muestran a continuación.

A partir del termograma DSC de la Figura 6 se observa que a partir de los 250 °C el compuesto comenzó a sublimar dado que la línea base comienza a decaer, cabe resaltar que cuando un compuesto comienza a presentar una pérdida de masa antes de su punto de fusión quiere decir que este se encuentra sublimando, lo anterior se comprobó una vez finalizado el experimento ya que, el crisol al inicio de la prueba tuvo una masa de 31.30 mg lo cual representa una masa de 1.52 mg de la oDIDA, la masa final del crisol fue de 31.00 mg lo cual representa una pérdida de 0.30 mg del compuesto estudiado. Posteriormente en 272 °C la oDIDA comienza su proceso de fusión, se observó un pico definido lo cual da una idea de que se logró obtener una buena pureza.

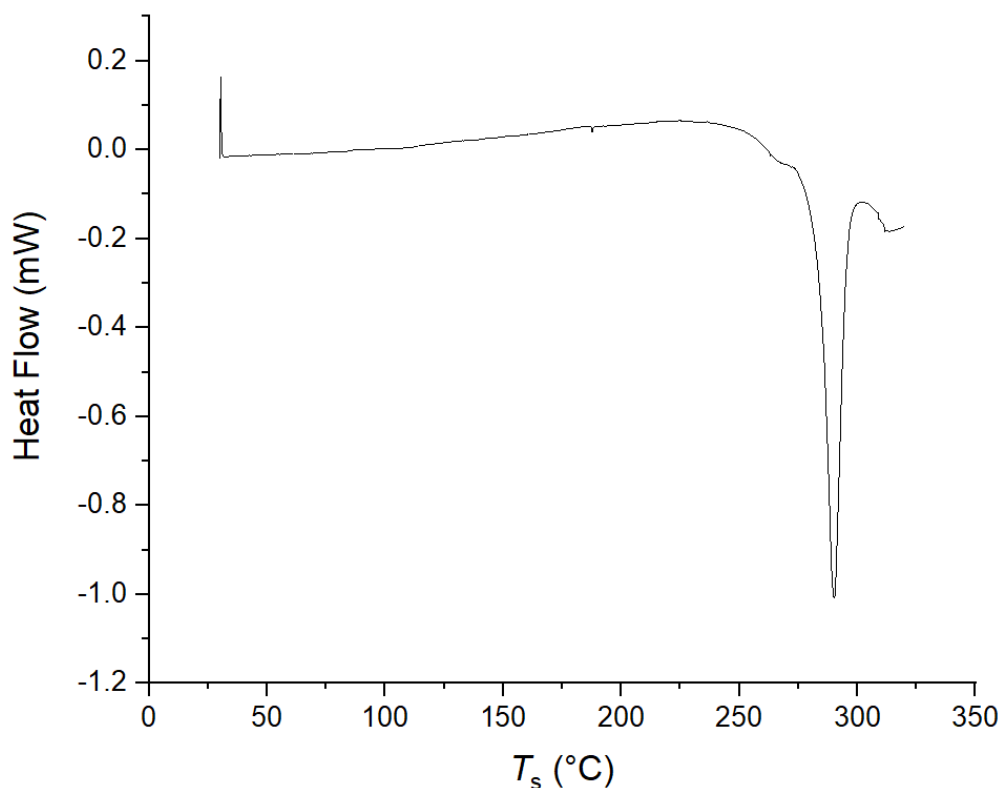


Figura 6: Termograma obtenido para la oDIDA

Como se puede observar en la figura 7 el espectro de infrarrojo presenta las bandas características del compuesto en una frecuencia de 3400-2500 (ν RCOOH), 1709 (ν C=O, ácido carboxílico), 1768 (ν C=O, amida), 1102 (ν C-O), 1616 (ν C-H), 1374 (ν C-N-C). Con lo anterior se puede deducir que tanto los grupos ácidos como imida se encuentran dentro de la oDIDA, si bien la técnica de infrarrojo da una idea general de los modos normales de vibración de la molécula, fue necesario recurrir a la resonancia magnética nuclear para describir su estructura.

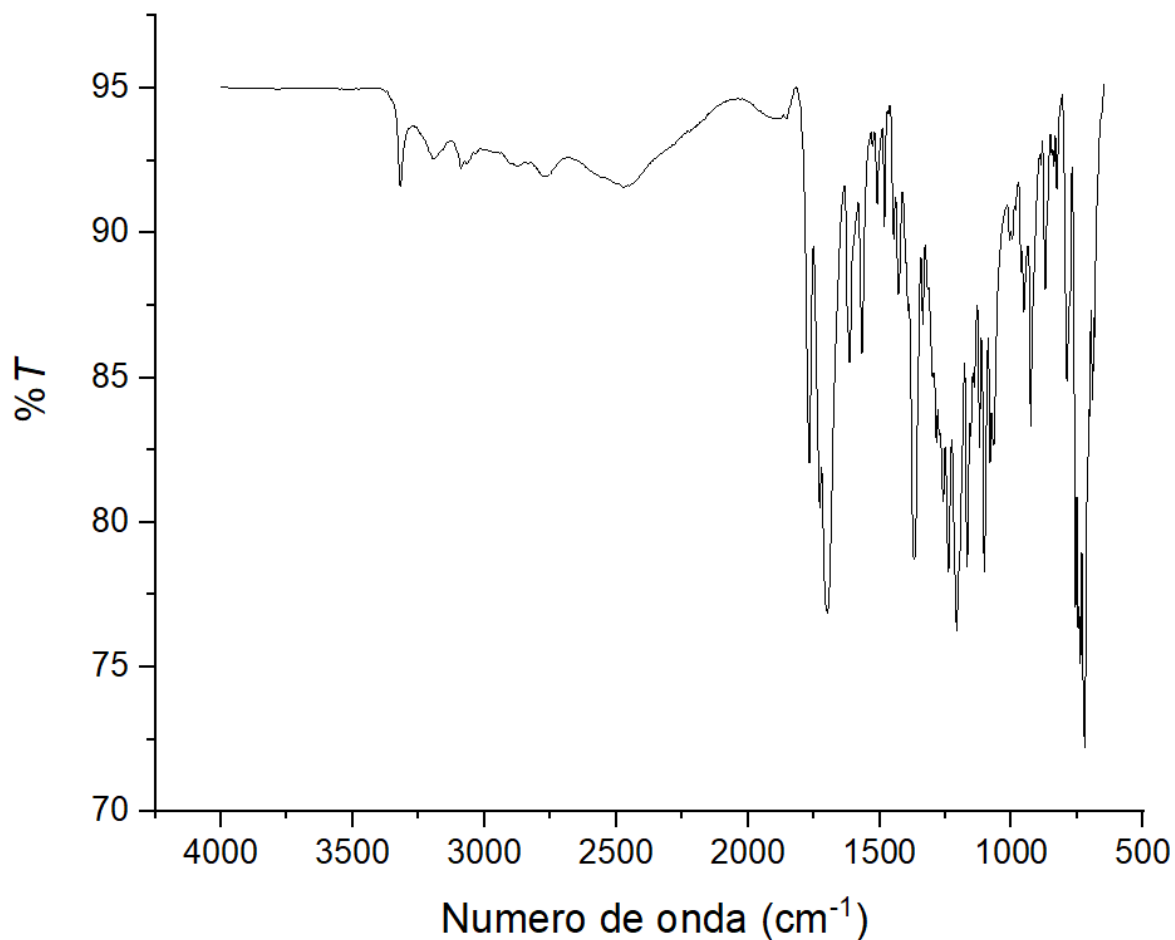


Figura 7: Espectro de absorción de la o-DIDA utilizando FTIR-ATR

En la Figura 8 se aprecia el espectro de H^1 -RMN (500 MHz, DMSO) para la oDIDA, cuenta con 6 entornos químicos diferentes, con una integración total para 12 protones identificados en δ (ppm) 13.56 (s, 2 H^1), 8.33 (dd, $J = 9$ y 5 Hz, 2 H^2), 8.23-8.15 (m, 2 H^3), 7.9 (t, $J = 8$ Hz, 2 H^4), 7.68 (t, $J = 8$ Hz, 2 H^5), y 7.44-7.32 (m, 2 H^6) [121].

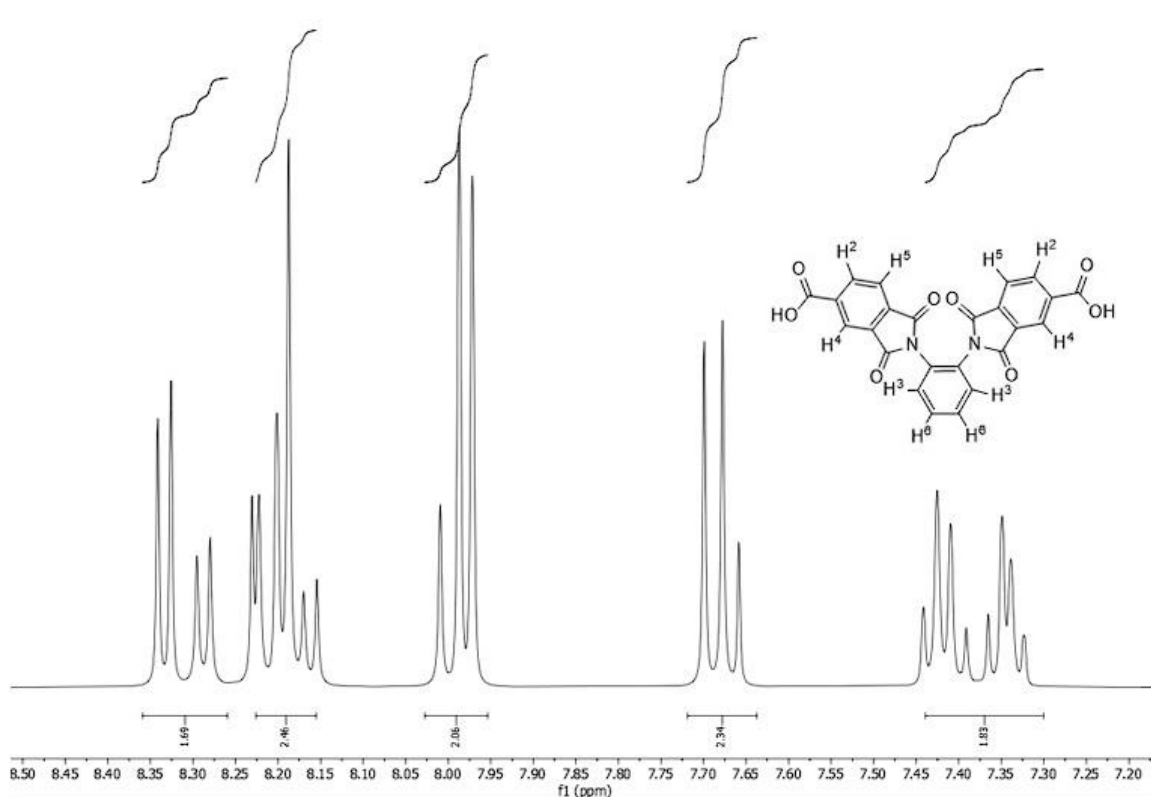


Figura 8: Espectro de ¹H-RMN de la oDIDA

Dentro del espectrograma de la oDIDA se encontró una señal en 456 m/z el cual resultó ser el ion molecular, a partir de este ion molecular fue posible obtener la composición química del compuesto gracias a un análisis de alta resolución, de esto resultó que la molécula tiene una fórmula condensada de C₂₄H₁₂N₂O₈ la cual corresponde a lo esperado durante la síntesis del compuesto, el ion molecular se muestra en la Figuras 9-10.

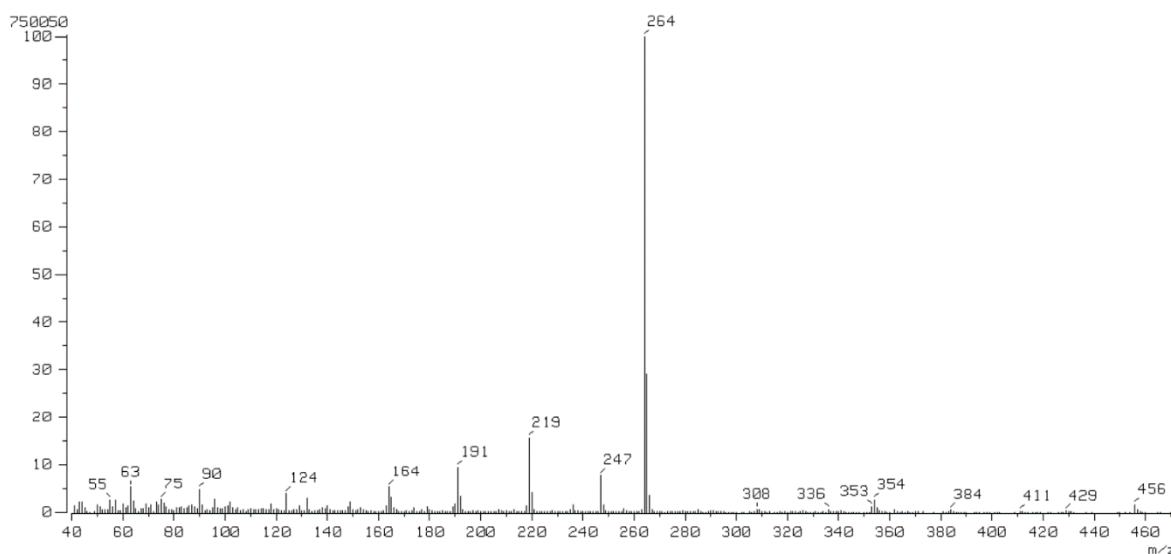


Figura 9: Espectrograma de masas de la oDIDA

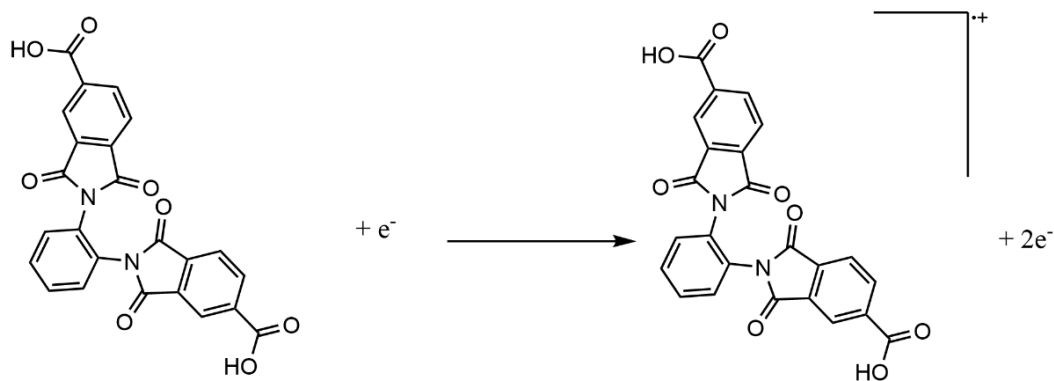
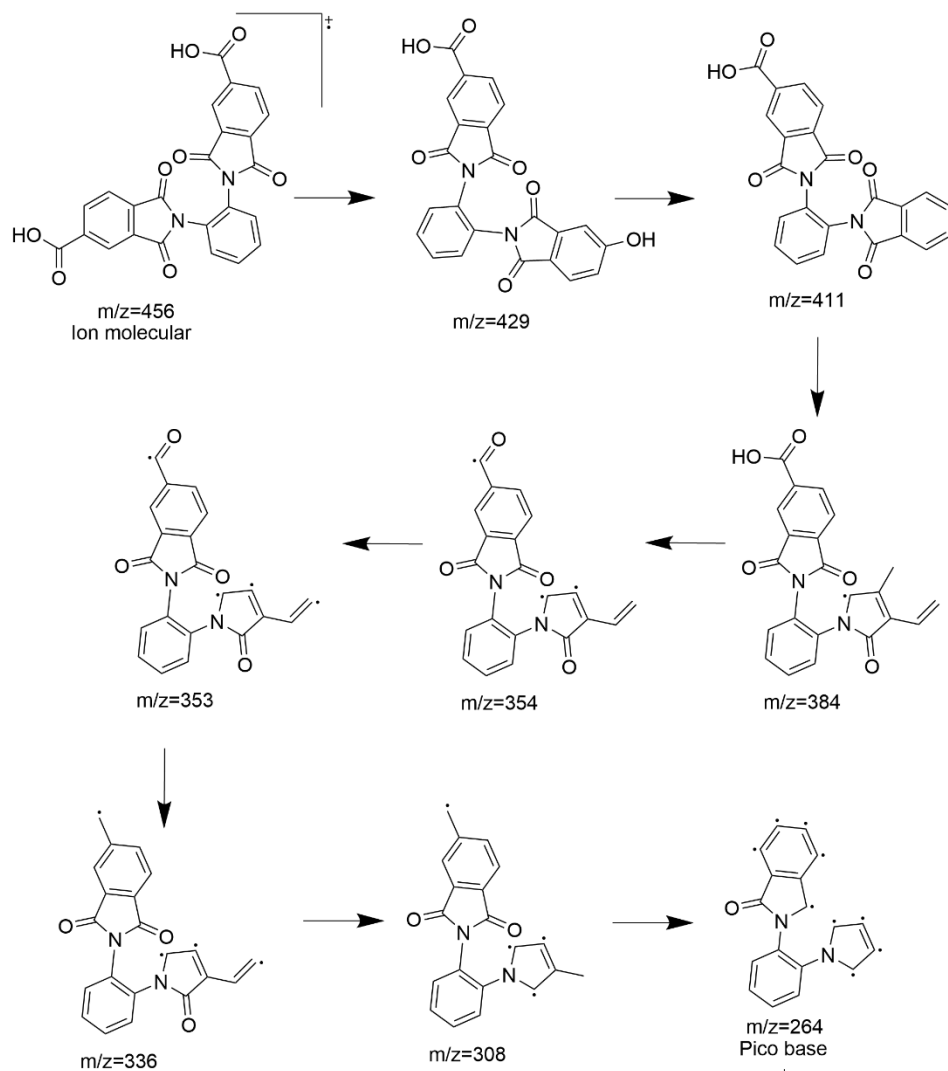


Figura 10: Ion molecular de la oDIDA

Una vez corroborado el ion molecular, y sabiendo que corresponde a lo esperado para el compuesto, el siguiente paso fue analizar cada una de las señales del espectrograma, si es posible identificar al menos el 80% de las señales esto da pauta a que, el compuesto esperado en efecto fue el obtenido.



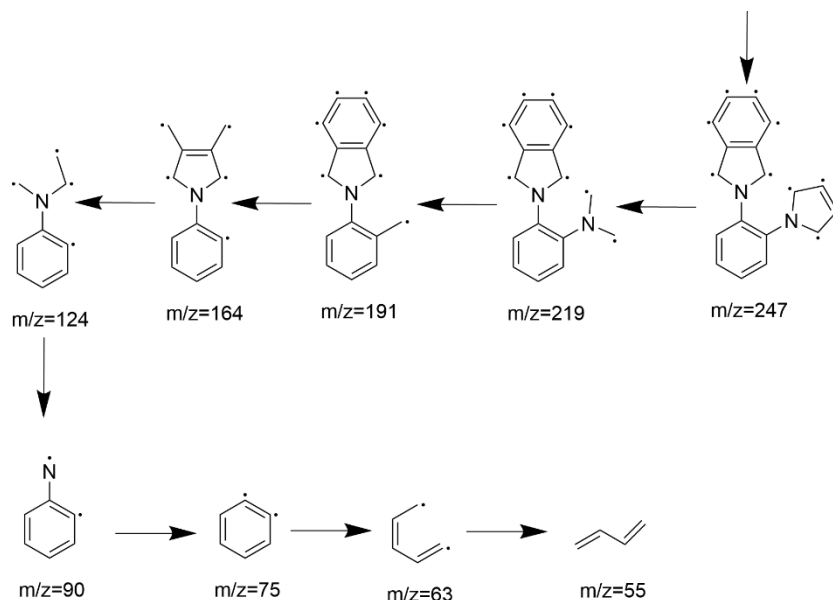


Figura 11: Ruta de fragmentación de la oDIDA

Síntesis y purificación de la 3,4-DITA

Para la síntesis de 1 g de 3,4-DITA se utilizó la cantidad estequiométrica de TMA corregida por pureza (marca Merck al 97%) y llevada hasta 160 °C (temperatura de fusión para el TMA) por 30 min, después se adicionó la cantidad estequiométrica del ácido 3,4-diaminobenzoico (3,4-ADAB marca Merck al 97%), se mantuvo el mezclado bajo calentamiento por 15 min más, finalizado el periodo de tiempo la mezcla se mantuvo solo con agitación constante hasta su solidificación, el producto final tomó un color verde.

Para la purificación el producto fue puesto en 3 mL de agua desionizada, se realizó una filtración y un secado, la 3,4-DITA fue guardada dentro de un vial y puesto en un matraz Kitasato a baño maría (a 180 °C y una presión de vacío de 20 cmHg) por dos horas, posteriormente se lavó nuevamente con agua desionizada y se secó bajo las mismas condiciones, se finalizó con un proceso de sublimación por 4 horas más, el color del producto pasó de un color verde claro a un color verde oscuro.

Se utilizó la técnica de cromatografía en capa fina como primera instancia para corroborar la pureza. Para ello se prepararon tres disoluciones para el punteo (TMA y 3,4-ADAB con acetato de etilo y para la 3,4-DITA con DMF), finalmente se utilizó agua desionizada como fase móvil. El resultado se presenta en la Figura 12.

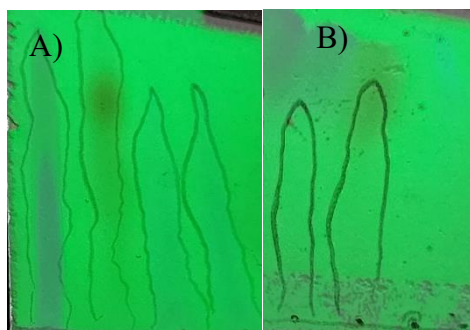


Figura 12: a) 3,4-DITA con impurezas, b) 3,4-DITA sublimada. Se muestra en primer lugar de izquierda a derecha al TMA, en segundo a la 3,4-ADAB y en tercer lugar a la 3,4-DITA

Las primeras dos líneas representan los reactivos y el último punto al producto, se observó que efectivamente el producto ya se encontraba puro. Realizando esta ruta de purificación se obtuvo un rendimiento general del 82%. La 3,4-DITA se caracterizó mediante la técnica térmica de DSC, y las técnicas espectroscópicas de FTIR-ATR, ^1H -RMN y análisis elemental. Los resultados de las caracterizaciones se muestran a continuación.

Para el caso de la 3,4-DITA, en la figura 20 se observó su punto de fusión en 293.72°C . Adicionalmente se observó el pico de vaporización comenzando en 323.61°C , de esta forma se indica que el compuesto estabiliza como un líquido entre estas dos temperaturas. Por otro lado, se notó una pérdida de masa dentro del crisol durante el experimento de DSC debido a la forma de la línea base, concluido el experimento, el compuesto tuvo una pérdida de masa de 0.53 mg, siendo la masa inicial 1.42 mg.

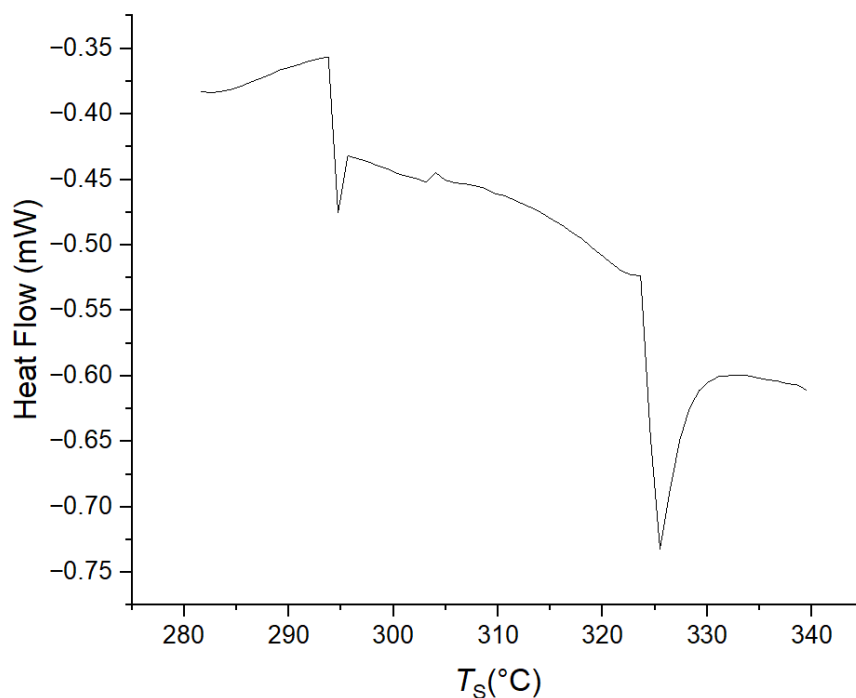


Figura 13: Termograma obtenido para la 3,4-DITA

En la Figura 14 el espectro de infrarrojo presenta las bandas características de la 3,4-DITA en cm^{-1} a 3400-2300 (ν RCOOH), 1684 (ν C=O, ácido carboxílico), 1774 (ν C=O, amida), 1070 (ν C-O), 1610 (ν C-H), 1385 (ν C-N-C). Con lo anterior se puede decir que tanto el grupo ácido como imida forman parte del producto, además se presentan las bandas generales de posición 1,3,4 de un anillo aromático dentro del rango 2000-1600 cm^{-1} .

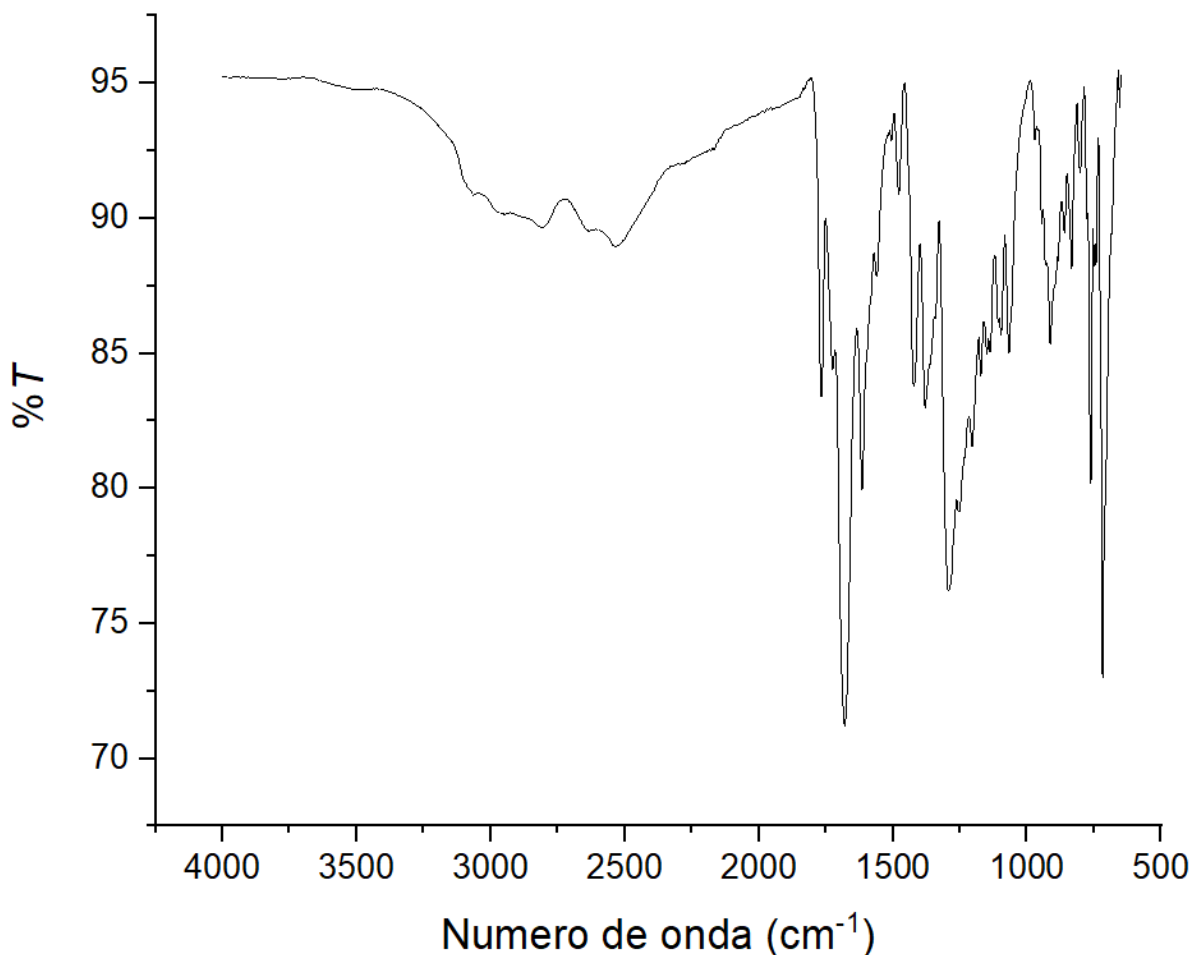


Figura 14: Espectro de absorción de la 3,4-DITA utilizando FTIR-ATR

En la Figura 15 se aprecia el espectro de ^1H -RMN (500 MHz, DMSO) para la 3,4-DITA, cuenta con 5 entornos químicos diferentes, con una integración total para 12 protones identificados en δ (ppm) 13.38 (3H, s, H^1), 8.31 (1H, dd, $J=4.8, 1.3$ Hz, H^2), 8.27-8.17 (4H, m, H^3), 8.05 (2H, t, $J=7.5$ Hz, H^4), 7.83 (2H, t, $J=7.7$ Hz, H^5).

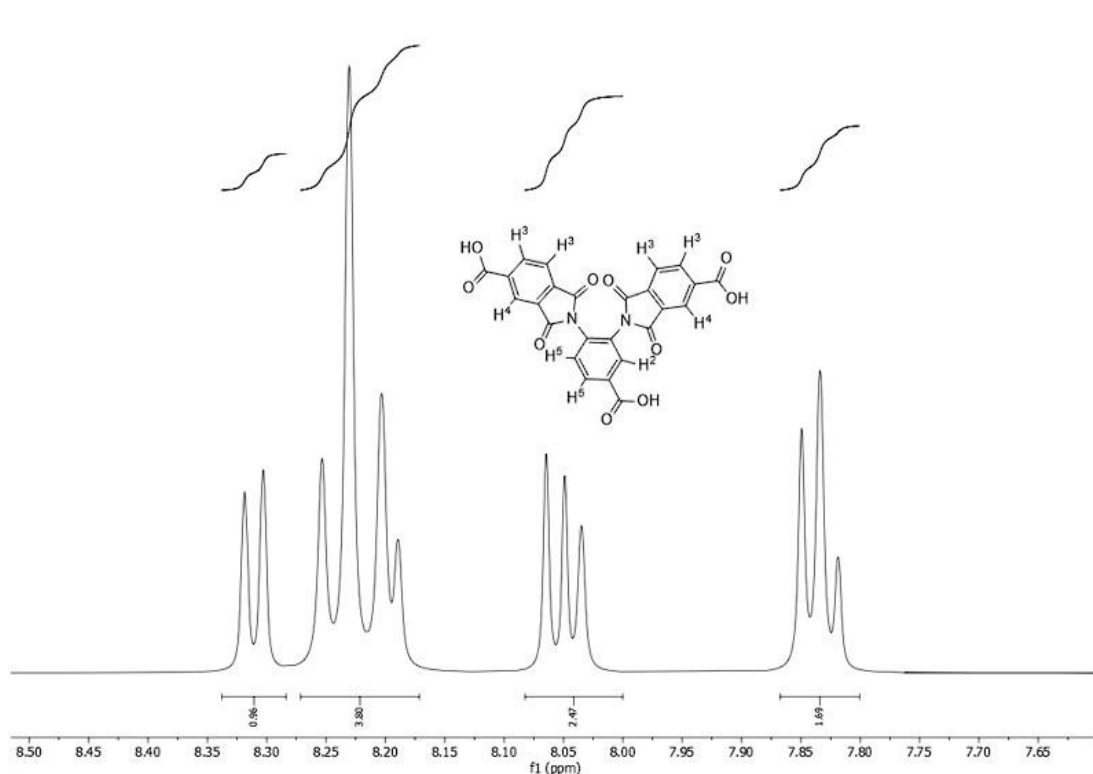


Figura 15: Espectro de ^1H -RMN de la 3,4-DITA

En el caso de la 3,4-DITA no se alcanza a apreciar el ion molecular, es muy común encontrar espectros de masas en donde ion molecular no se logre apreciar y esto se basa en la técnica, para este experimento se realizó un impacto electrónico el cual es muy agresivo para la estructura, de esta forma se genera una ionización de la molécula tan rápida que el equipo no puede detectar al ion molecular, para conocerlo fue necesario aplicar la técnica *fast atom bombardment* (FAB+) el cual implica que los electrones encargados de ionizar a la estructura primero golpean a átomos de gas Xenón, por tanto, los átomos cargados de Xenón impactan contra la estructura realizando un impacto menos agresivo, de esta forma es posible obtener un estudio de alta resolución para el compuesto, (Figuras 16-18), el resultado fue el compuesto con fórmula $\text{C}_{25}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_{10}$, para este caso se observa algo particular y es que, varias señales que se encuentran en el espectrograma de la 3,5-DITA aparecen en el de la 3,4-DITA, la razón de esto es que se trata de isómeros estructurales, el pico base en ambos casos se encontró en 411 m/z y, si bien varias señales aparecen de forma repetitiva en el espectro tanto sus intensidades como su significado físico cambia, se puede apreciar una menor cantidad de ruido químico en el espectro de la 3,4 que en el de la 3,5. De igual forma se aprecia el cambio en la estructura entre compuestos debido a la primera señal, en el caso de la 3,5 se encontró en 488 m/z indicando la pérdida de un carbono, mientras que, para la 3,4 se encontró en 467 m/z indicando la pérdida de casi todo un grupo carboxílico, esto igual da una idea general sobre la estabilidad relativa de la molécula, dado que, el impedimento estérico de la estructura influye en su estabilidad (denotada por la energía libre de Gibbs de formación) el compuesto 3,5-DITA tiende a ser más estable que el 3,4-DITA por la posición de sus radicales y su acomodo en el espacio.

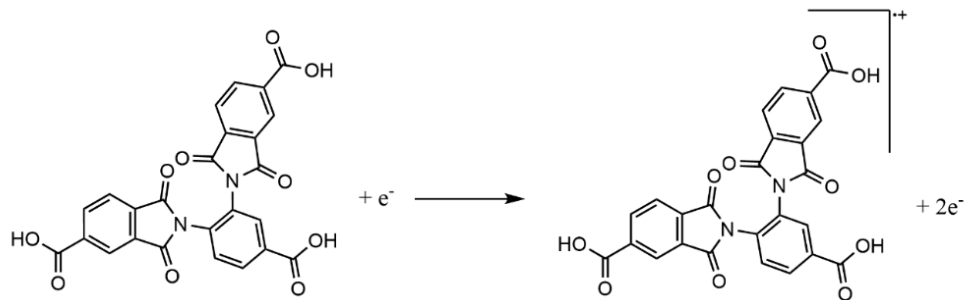


Figura 16: Ion molecular de la 3,4-DITA

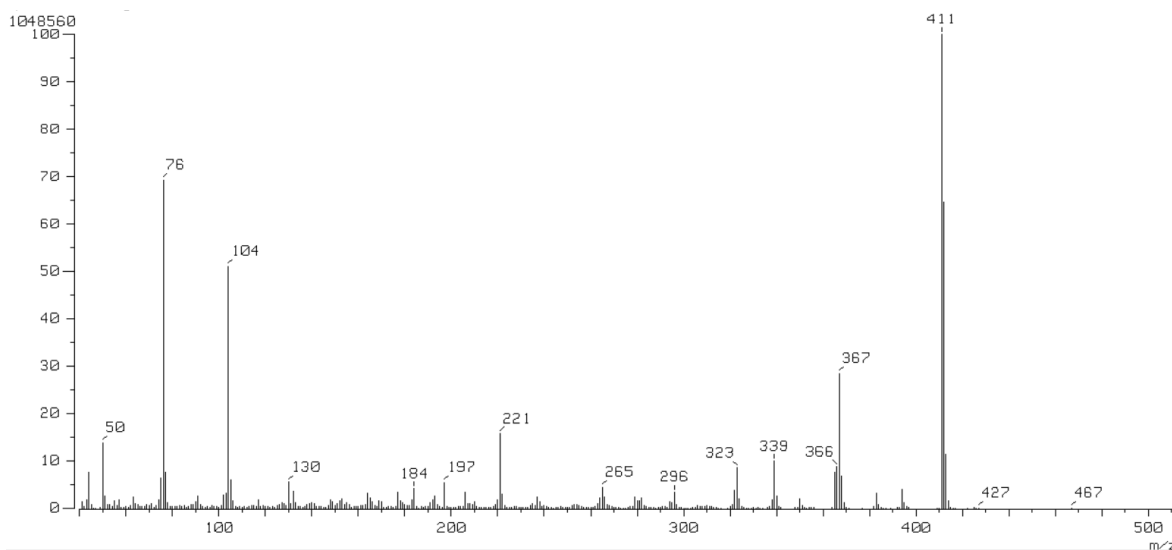
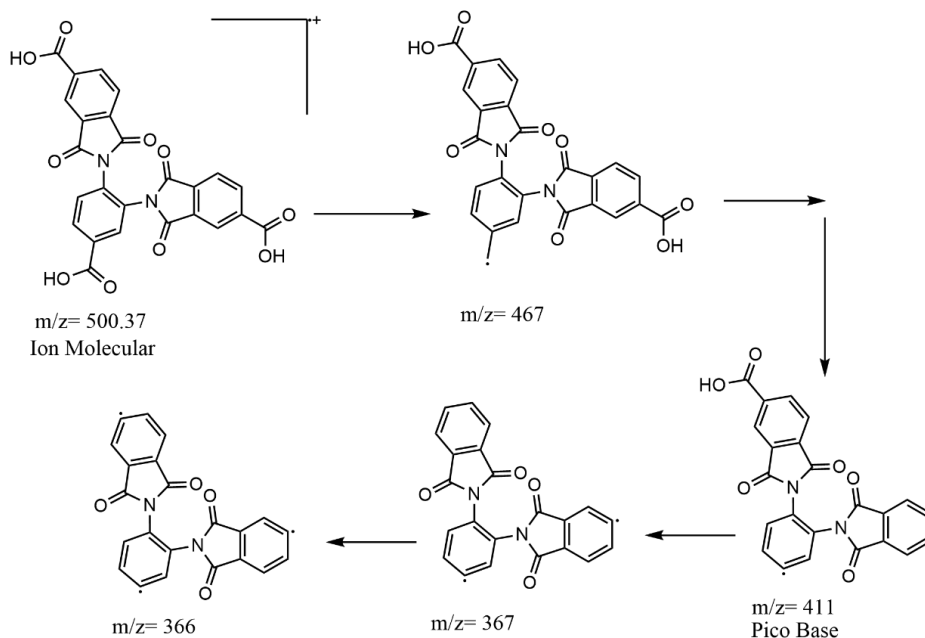


Figura 17: Espectrograma de masas de la 3,4-DITA



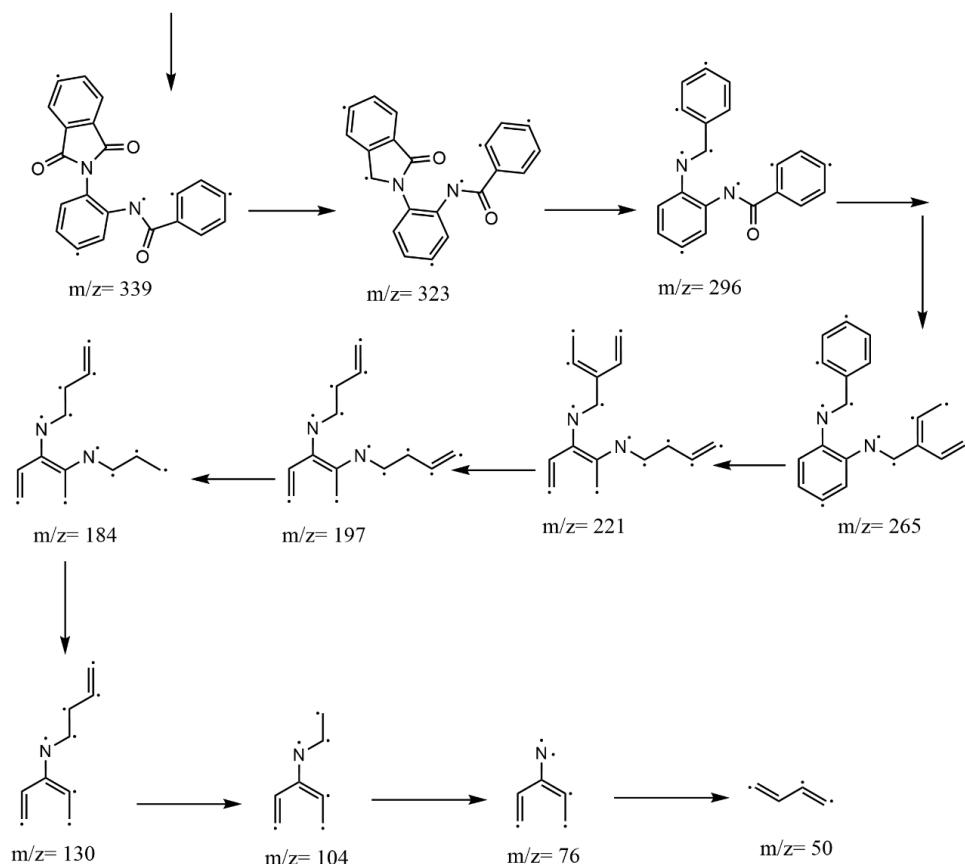


Figura 18: Ruta de fragmentación de la 3,4-DITA

Síntesis y purificación de la 3,5-DITA

Para la síntesis de 1 g de 3,5-DITA se utilizó la cantidad estequiométrica de TMA corregida por pureza (marca Merck al 97%) y llevada hasta 160 °C (temperatura de fusión para el TMA) por 30 min, después se adicionó la cantidad estequiométrica del ácido 3,5-diaminobenzoico (3,5-ADAB marca Merck al 98%), se mantuvo el mezclado bajo calentamiento por 15 min más, finalizado el periodo de tiempo la mezcla se mantuvo solo con agitación constante hasta su solidificación, el producto final tomó un color crema.

Para la purificación el producto fue puesto en 3 mL de agua desionizada, se realizó una filtración y un secado, el producto fue guardado dentro de un vial y puesto en un matraz Kitasato a baño maría (a 180 °C y una presión de vacío de 20 cmHg) por dos horas, el color del producto pasó de un color crema a un color café.

Se utilizó la técnica de cromatografía en capa fina como primera instancia para corroborar la pureza. Para ello se prepararon tres disoluciones para el punteo (TMA y 3,5-ADAB con acetato de etilo y para la 3,5-DITA con DMF), finalmente se utilizó agua desionizada como fase móvil. El resultado se presenta en la Figura 19.

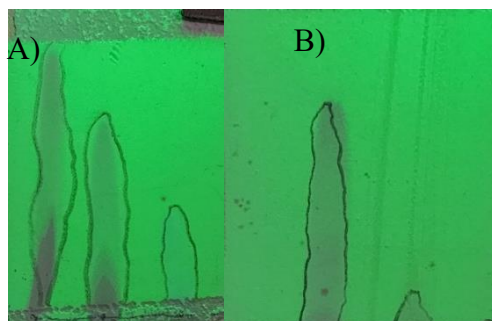


Figura 19: a) 3,5-DITA con impurezas, b) 3,5-DITA sublimada. Se muestra en primer lugar de izquierda a derecha al TMA, en segundo a la 3,5-ADAB y en tercer lugar a la 3,5-DITA

Las primeras dos líneas representan los reactivos y el último punto al producto, se observó que efectivamente el producto ya se encontraba puro. Realizando esta ruta de purificación se obtuvo un rendimiento general del 92%. La 3,5-DITA se caracterizó mediante la técnica térmica de DSC, y las técnicas espectroscópicas de FTIR-ATR, ^1H -RMN y análisis elemental. Los resultados de las caracterizaciones se muestran a continuación. En la figura 20 se observa una temperatura de fusión en 273°C , dado que el pico se encuentra definido se puede corroborar la pureza del compuesto, de igual forma, al notar que terminada la fusión la línea base no volvió a subir por completo es un indicador de que el compuesto se encuentra perdiendo masa, esto a su vez se comprobó pesando el crisol una vez terminado el experimento, el crisol se volvió a pesar y se observó que tuvo una pérdida del 27% respecto a su masa original (aproximadamente 0.36 mg siendo el peso original 1.33 mg).

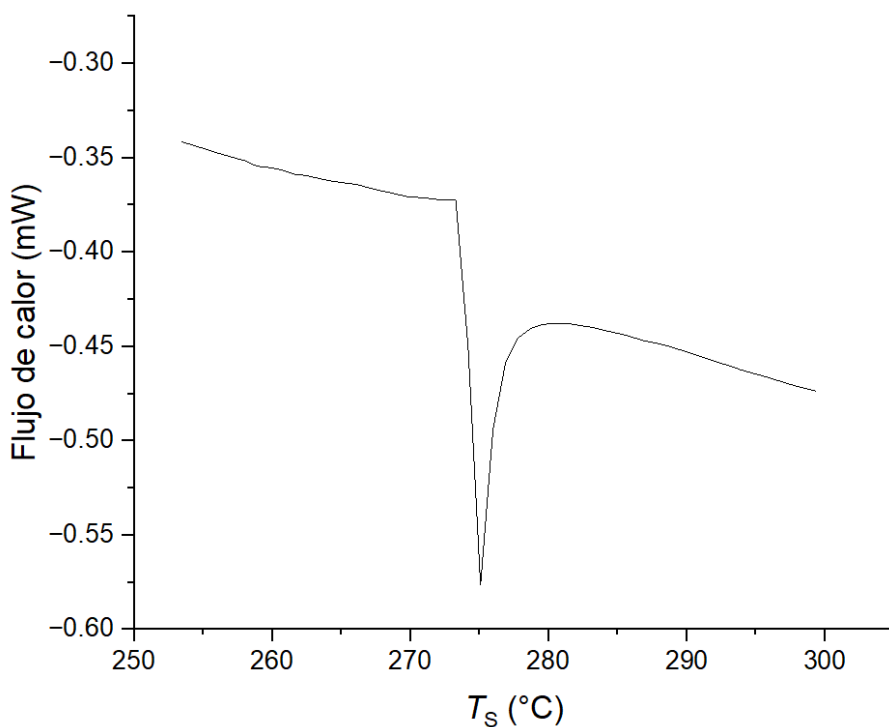


Figura 20: Termograma obtenido para la 3,5-DITA

Como se puede observar en la Figura 21 el espectro de infrarrojo presenta las bandas características del compuesto en cm^{-1} a 3359-2400 (ν RCOOH), 1700 (ν C=O, ácido carboxílico), 1780 (ν C=O, amida), 1092 (ν C-O), 1605 (ν C-H), 1362 (ν C-N-C). Con lo anterior se puede decir que tanto el grupo ácido como imida forman parte del producto final. Además, se presentan las bandas generales de posición 1,3,5 de un anillo aromático dentro del rango de 2000-1600 cm^{-1} .

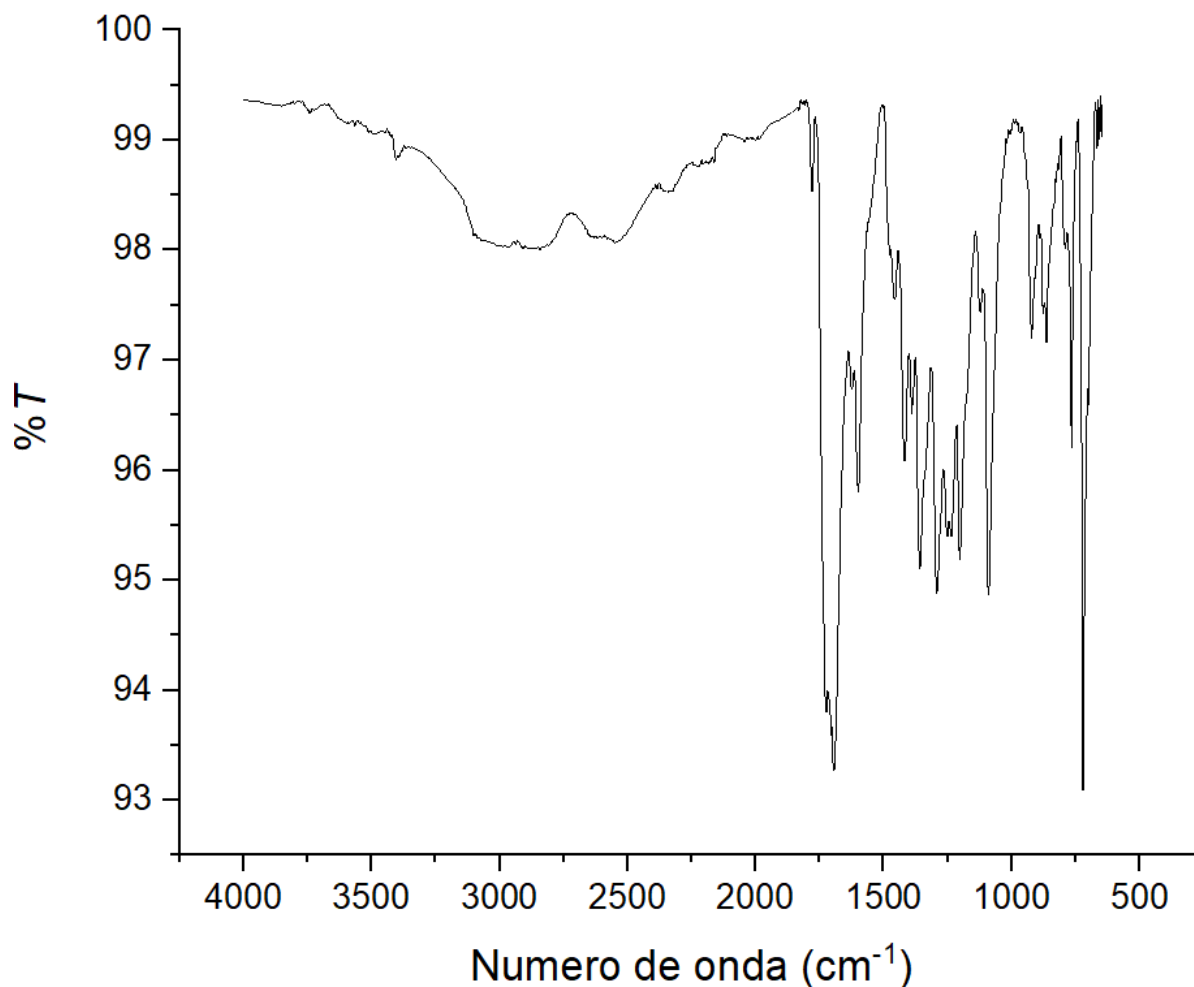


Figura 21: Espectro de absorción de la 3,5-DITA utilizando FTIR-ATR

En la Figura 22 se aprecia el espectro de ^1H -RMN (500 MHz, DMSO) para la 3,5-DITA, cuenta con 6 entornos químicos diferentes, con una integración total para 12 protones identificados en δ (ppm) 13.57 (3H, s, H¹), 8.44 (2H, d, $J = 6.3$ Hz, H²), 8.34 (2H, s, H³), 8.18 (2H, d, $J = 1.9$, H⁴), 8.12 (2H, d, $J = 7.7$, H⁵), 7.90 (1H, t, $J = 2.0$ Hz, H⁶).

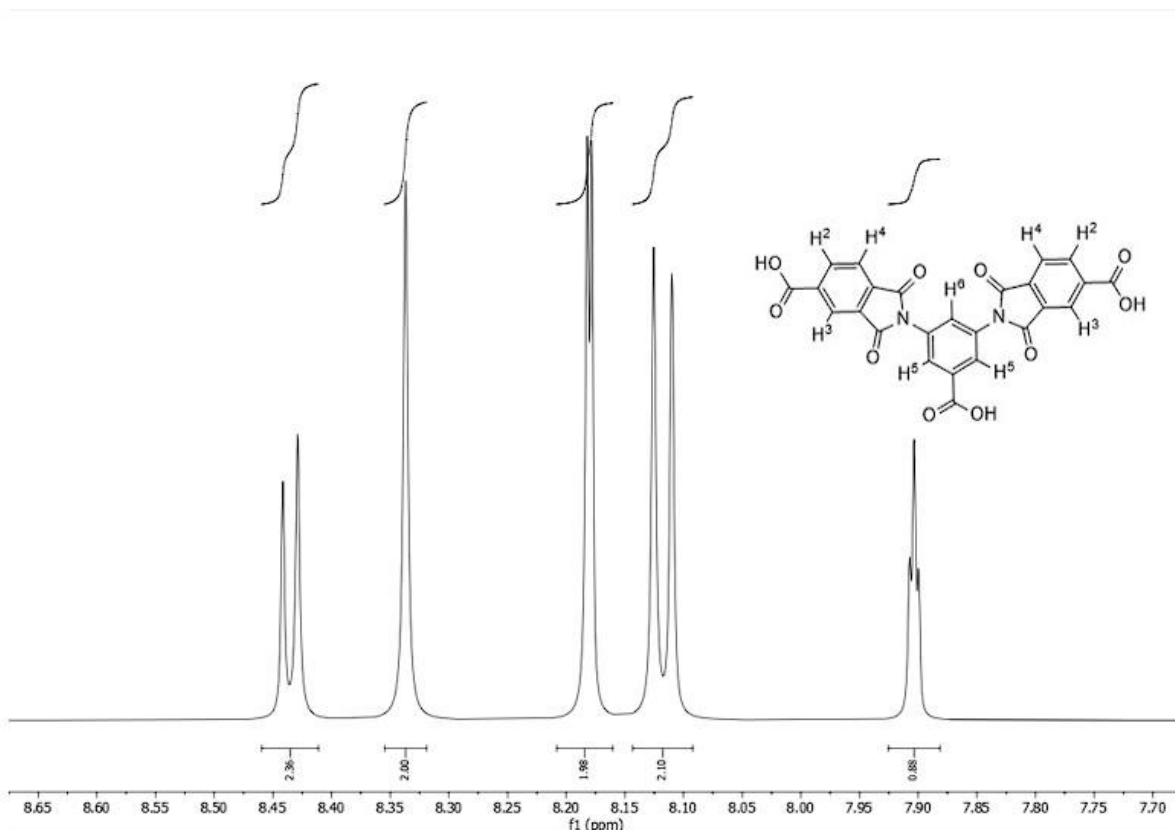


Figura 22: Espectro de ^1H -RMN de la 3,5-DITA

En el caso de la espectrometría de masas (Figuras 23 y 24) la señal de mayor masa molar encontrada fue de 488 m/z, la cual no representa al Ion molecular, por lo explicado anteriormente, nuevamente se aplicó un análisis FAB+ en donde se encontró que el ion molecular se trata del compuesto $\text{C}_{25}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_{10}$. La ruta de fragmentación se expone en la Figura 25.

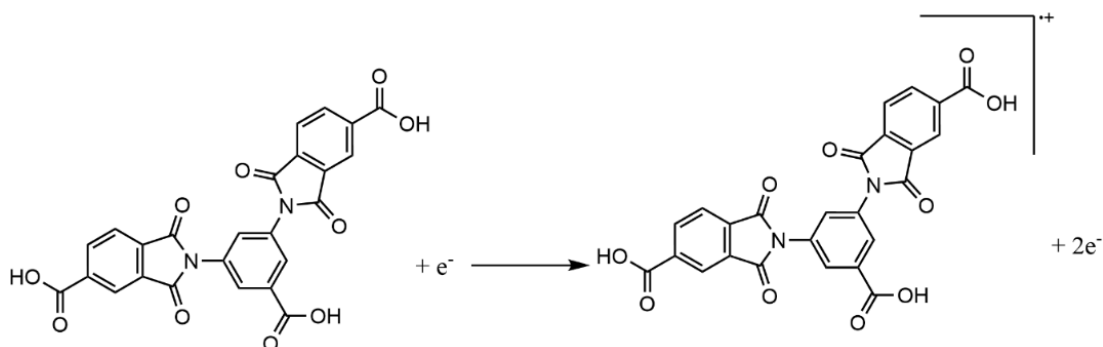


Figura 23: Ion molecular de la 3,5-DITA

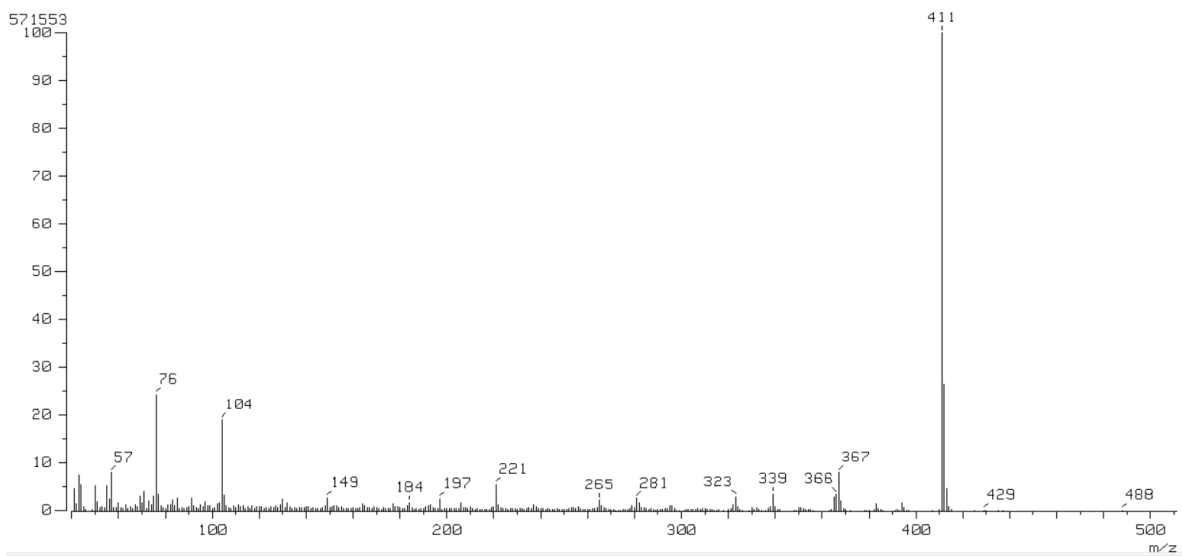
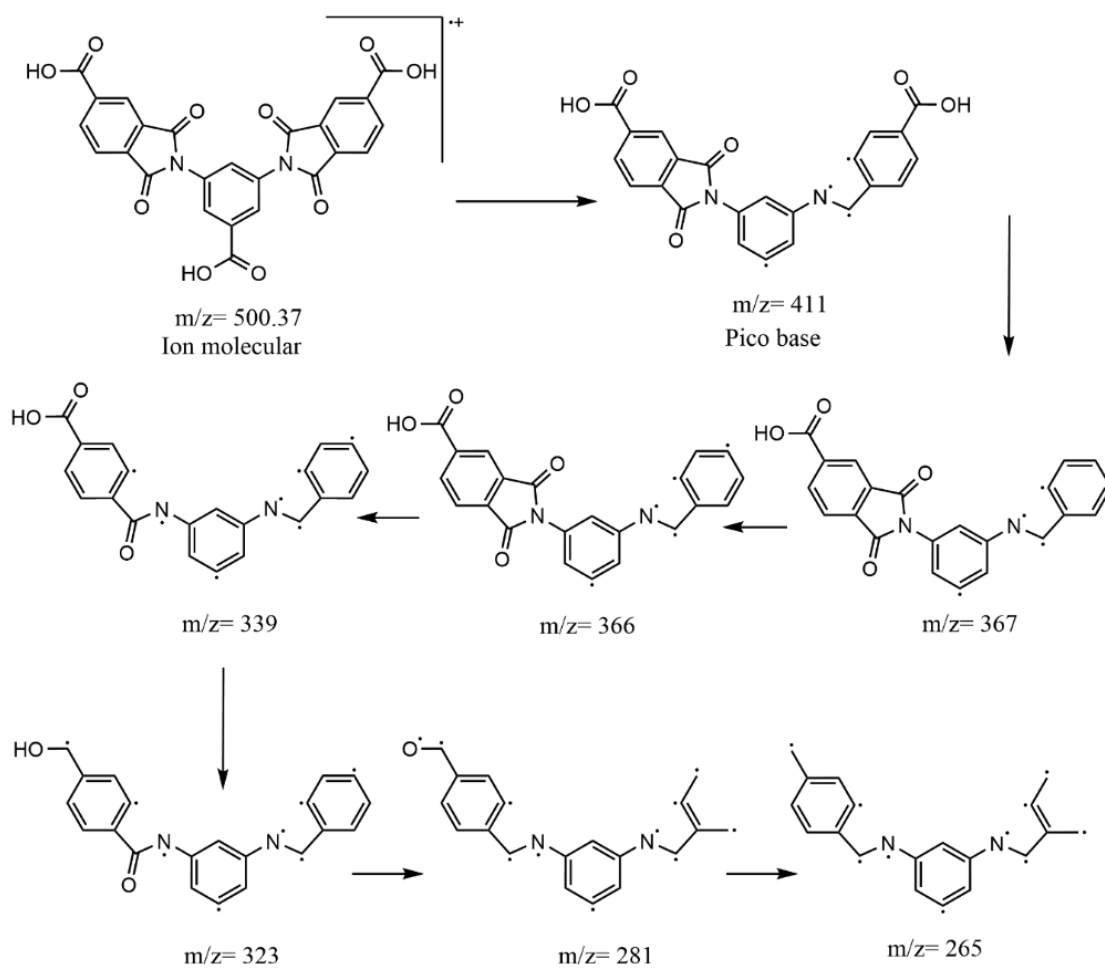


Figura 24: Espectrograma de masas de la 3,5-DITA



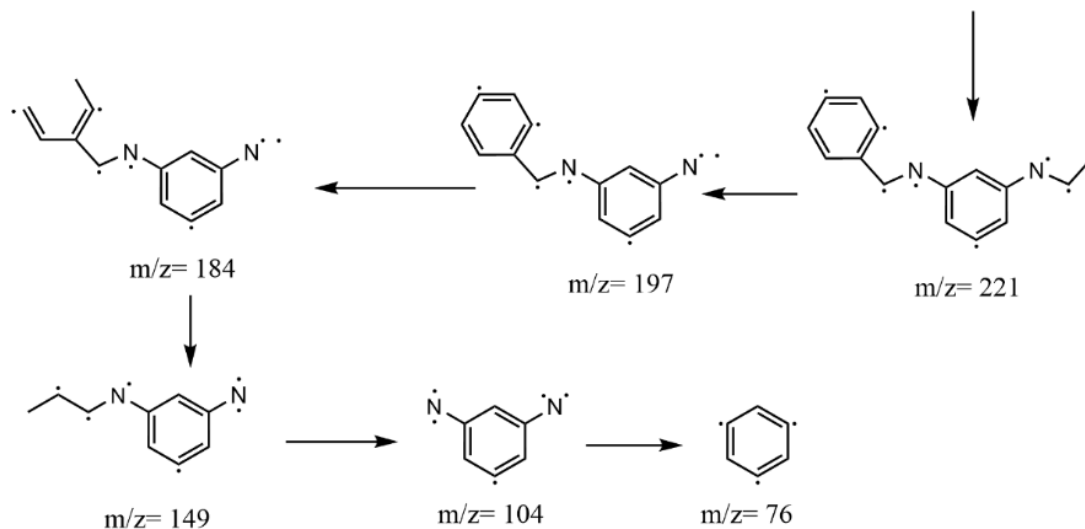


Figura 25: Ruta de fragmentación de la 3,5-DITA

Finalmente, en la Figura 26 se muestra una comparación en color entre las bisftalimidas obtenidas en estado sólido sin purificar y purificadas por sublimación, es posible observar cambios significativos en la apariencia física de los productos.

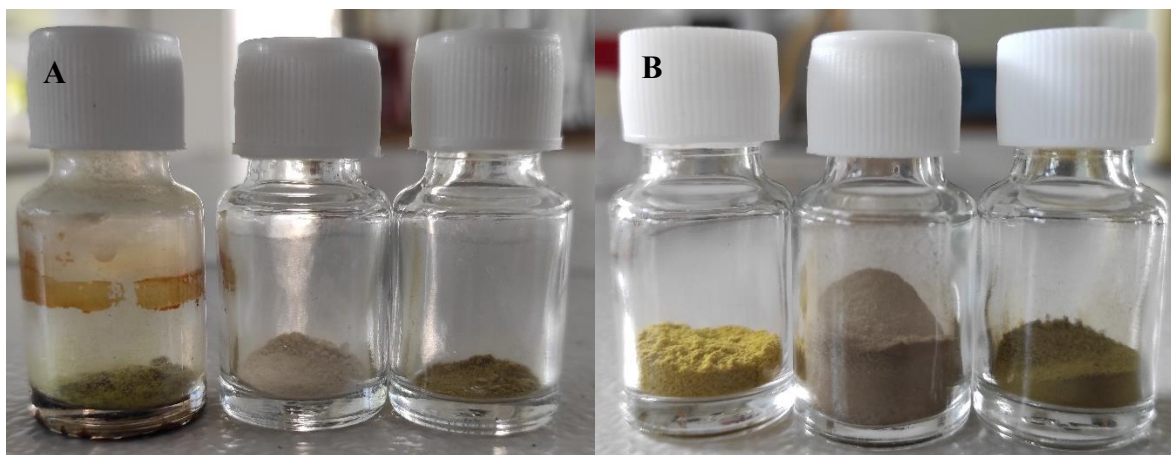


Figura 26: (A) o-DIDA, 3,5-DITA y 3,4-DITA sin purificar, (B) o-DIDA, 3,5-DITA y 3,4-DITA purificados por sublimación

Síntesis y caracterización de las AuNPs

Electrolito de oDIDA

Se realizaron pruebas de molaridad con el fin de conocer cuál es la concentración máxima que puede soportar el electrolito, se encontró que fue de $1 \cdot 10^{-3}$ M. En la figura 27 se muestra la reacción de neutralización de la oDIDA para la obtención del electrolito.

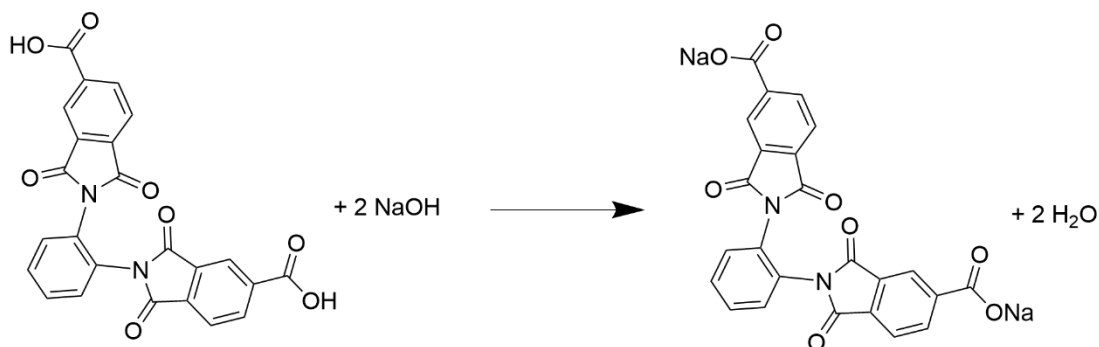


Figura 27: Reacción de neutralización de la oDIDA

De la misma forma que la oDIDA, se preparó una solución de precursor de oro utilizando ácido tetracloroáurico trihidratado ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) a una concentración de $1 \cdot 10^{-3}$ M y como solvente agua desionizada (18 ΩM). Se realizaron pruebas a diferentes relaciones en volumen tanto de electrolito como de solución de precursor de oro, con el fin de conocer cuál era la que presentaba un tiempo de estabilidad en suspensión coloidal más amplio. En la Tabla 7 se muestran las relaciones en volumen, así como el tiempo de estabilidad de las AuNPs, en ella se observa que la mejor proporción fue 5:1, por lo que se optó por esta relación para su aplicación.

Tabla 7: Relación de las soluciones de las AuNPs oDIDA

| Solución | Electrolito oDIDA, mL | Solución de precursor de oro, mL | Tiempo de estabilidad, días |
|----------|-----------------------|----------------------------------|-----------------------------|
| I | 1 | 1 | 30 |
| II | 3 | 1 | 40 |
| III | 5 | 1 | 105 |

En la Figura 28 se muestra la cinética por UV-VIS para las AuNPs a partir del electrolito oDIDA. Como se puede, el plasmón superficial se encuentra a 520 nm con una absorbancia de 0.3, la forma en la que se encuentra el plasmón de las nanopartículas y la región del espectro en donde absorben dan la idea de que se tiene una geometría esférica.

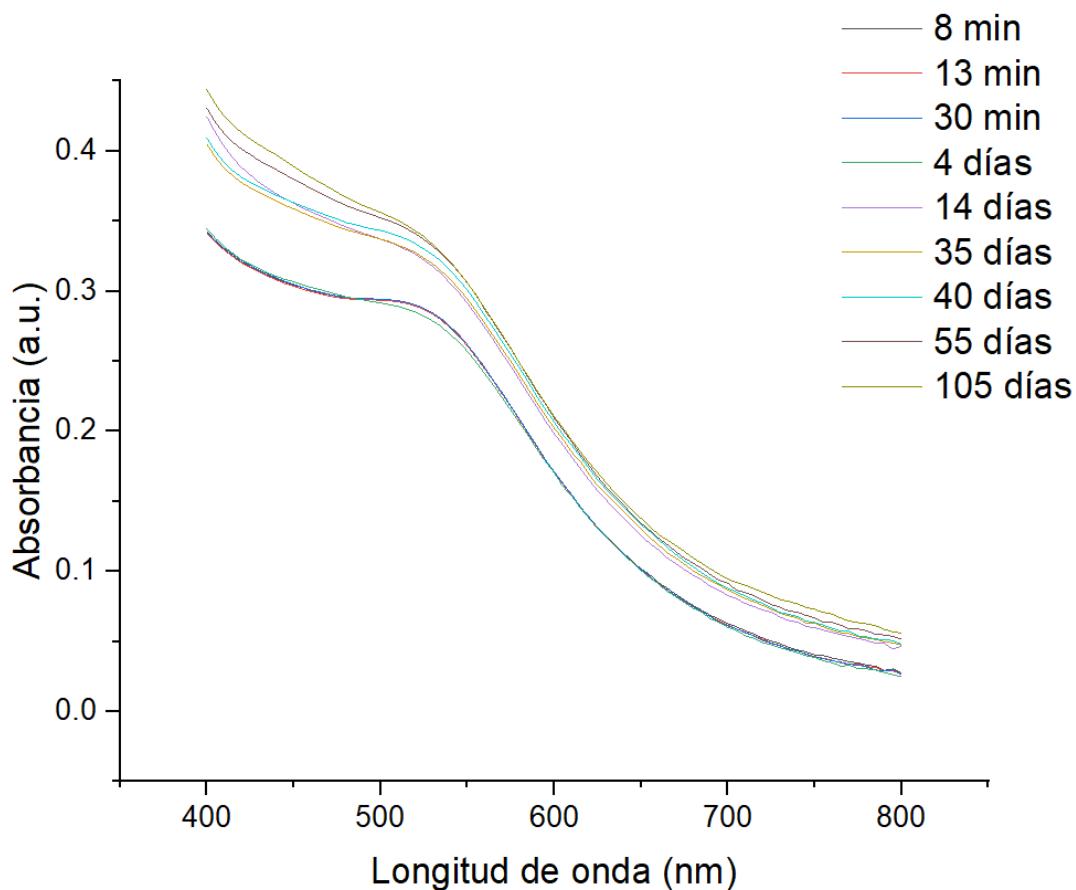


Figura 28: Espectro de UV-VIS de las AuNPs en relación 5:1 con electrolito de oDIDA

Electrolito de 3,4-DITA

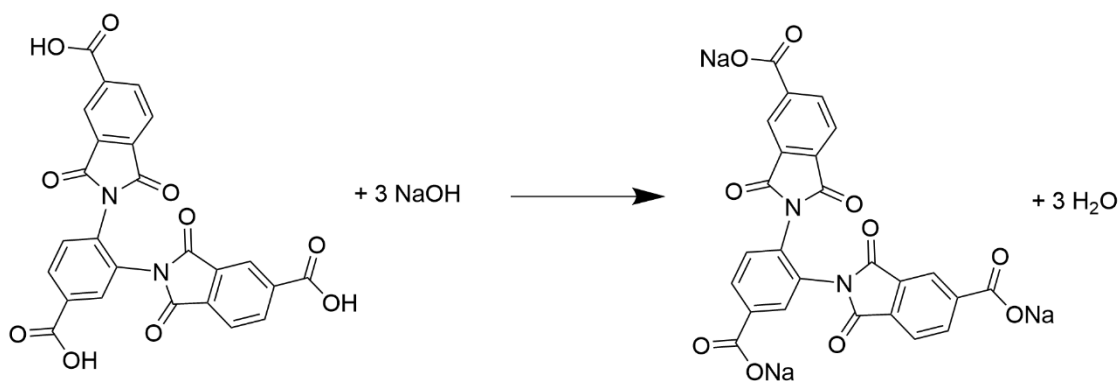


Figura 29: Reacción de neutralización de la 3,4-DITA

Se realizaron pruebas a diferentes relaciones de electrolito y solución de precursor de oro con el fin de conocer cuál era la que presentaba un tiempo de estabilidad en suspensión coloidal

más amplio. En la Tabla 8 se muestran las proporciones en volumen, así como el tiempo de estabilidad de las AuNPs. Como se puede observar la mejor proporción fue la 3:1, por lo que se utilizó esta relación para la síntesis de las AuNPs y su posterior aplicación.

Tabla 8: Relación de las soluciones de las AuNPs 3,4-DITA

| Solución | Electrolito 3,4-DITA, mL | Solución de precursor de oro, mL | Tiempo de estabilidad, días |
|----------|--------------------------|----------------------------------|-----------------------------|
| I | 1 | 1 | 35 |
| II | 3 | 1 | 125 |
| III | 5 | 1 | 20 |

En la Figura 30 se muestra la cinética por UV-VIS para las AuNPs a partir del electrolito 3,4-DITA. Como se puede, el plasmón superficial se encuentra a 520 nm con una absorbancia de 0.26, la forma en la que se encuentra el plasmón de las nanopartículas y la región del espectro en donde absorben dan la idea de que se tiene una geometría esférica.

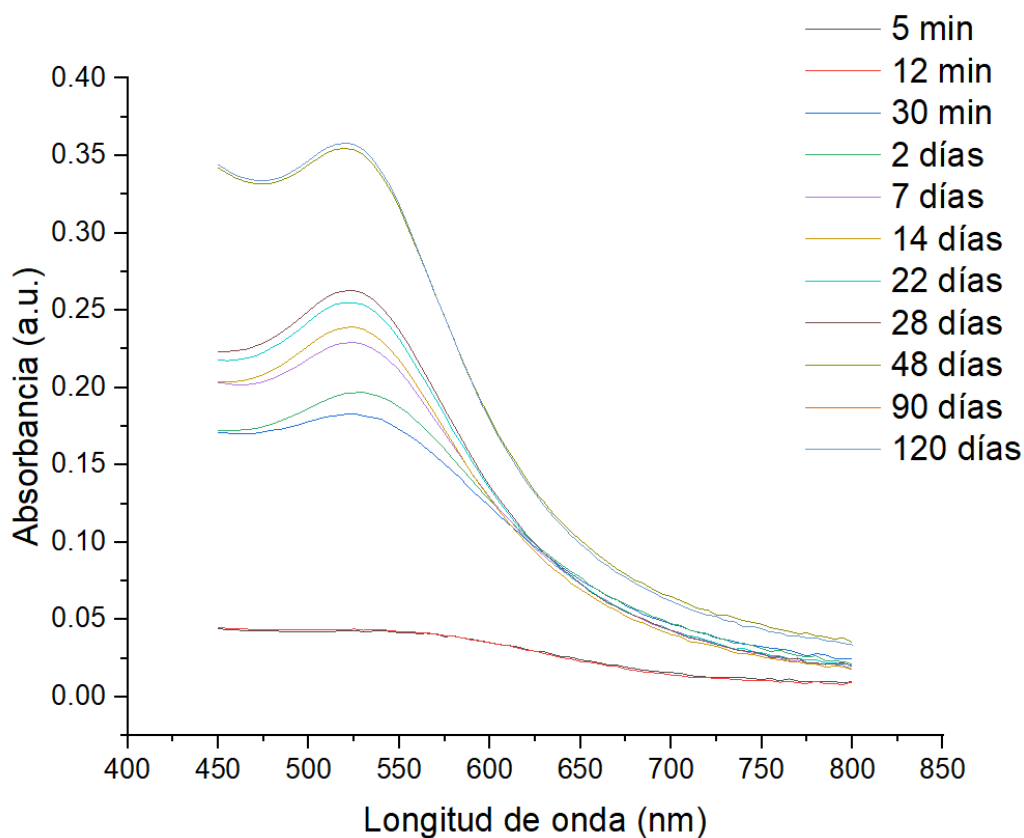


Figura 30: Espectro de UV-VIS de las AuNPs en relación 3:1 con electrolito de 3,4-DITA

Electrolito de 3,5-DITA

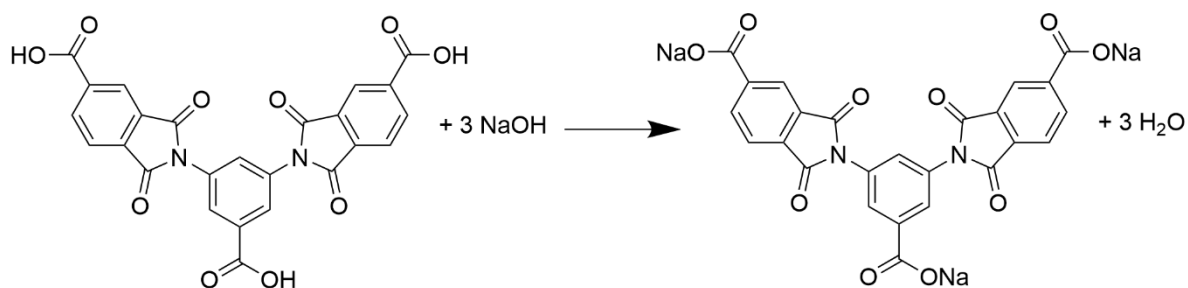


Figura 31: Reacción de neutralización de la 3,5-DITA

Se realizaron pruebas a diferentes relaciones de electrolito y solución de precursor de oro con el fin de conocer cuál era la que presentaba un tiempo de estabilidad en suspensión coloidal más amplio. En la Tabla 9 se muestran las relaciones en volumen, así como el tiempo de estabilidad de las AuNPs, en esta se puede observar que la mejor proporción fue la 3:1, por lo que se optó por esta relación para su posterior aplicación.

Tabla 9: Relación de las soluciones de las AuNPs 3,5-DITA

| Solución | Electrolito 3,5-DITA, mL | Solución de precursor de oro, mL | Tiempo de estabilidad, días |
|----------|--------------------------|----------------------------------|-----------------------------|
| I | 1 | 1 | 45 |
| II | 3 | 1 | 130 |
| III | 5 | 1 | 30 |

En la Figura 32 se muestra la cinética por UV-VIS para las AuNPs a partir del electrolito 3,5-DITA. Como se puede, el plasmón superficial se encuentra a 525 nm con una absorbancia de 0.8, la forma en la que se encuentra el plasmón de las nanopartículas y la región del espectro en donde absorben dan la idea de que se tiene una geometría esférica.

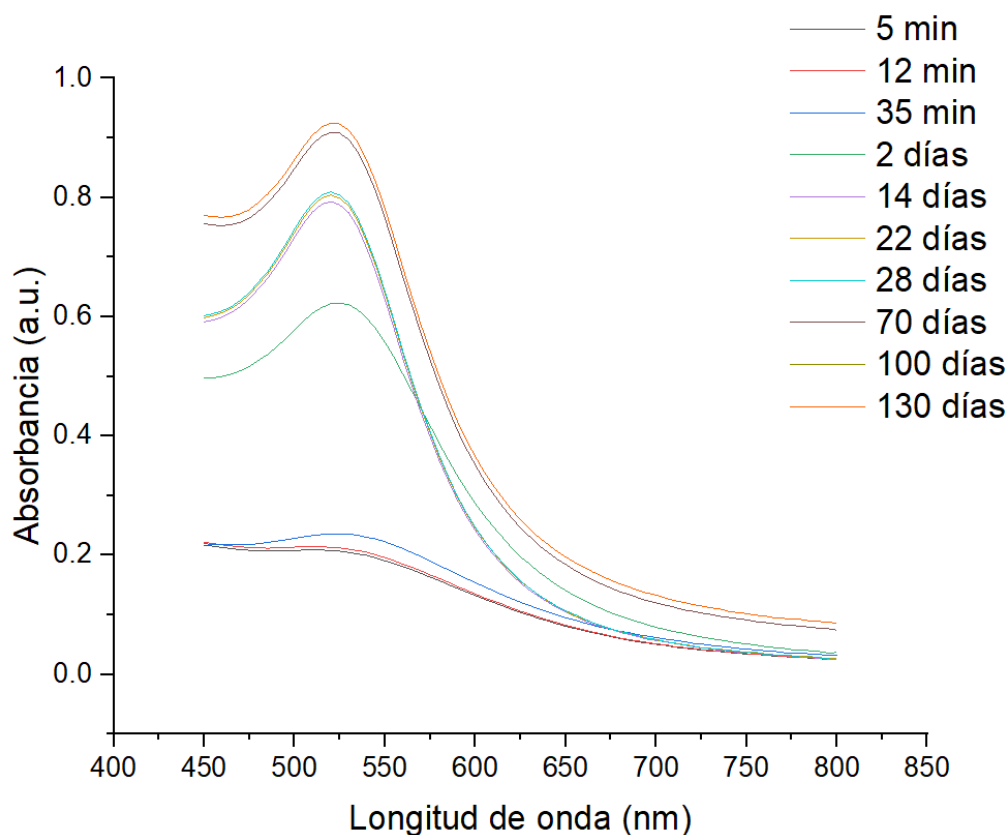


Figura 32: Espectro de UV-VIS de las AuNPs en relación 3:1 con electrolito de 3,5-DITA

Potencial Zeta

Las tres AuNPs obtenidas mediante los diferentes electrolitos fueron medidas por triplicado con 100 scans, con el fin de conocer su estabilidad. Para ello se sintetizaron las AuNPs y se midieron 24 horas después, el valor medio de cada medición se reporta en la Tabla 10, y en las Figuras 33-35 se muestran los gráficos de potencial obtenidos. Cabe recalcar que todos los experimentos se llevaron a cabo a 25°C estabilizando el equipo por un total de 120 segundos.

Tabla 10: Potencial Zeta obtenido para los diferentes compuestos en mV

| Compuesto | Potencial 1 | Potencial 2 | Potencial 3 | Promedio ^a |
|-----------|-------------|-------------|-------------|-----------------------|
| oDIDA | -41.0 | -45.4 | -45.1 | -45.2 ± 2.5 |
| 3,4-DITA | -43.5 | -47.0 | -43.3 | -44.6 ± 2.1 |
| 3,5-DITA | -40.3 | -41.0 | -44.6 | -42.0 ± 2.3 |

^a Las incertidumbres representan la desviación estándar media

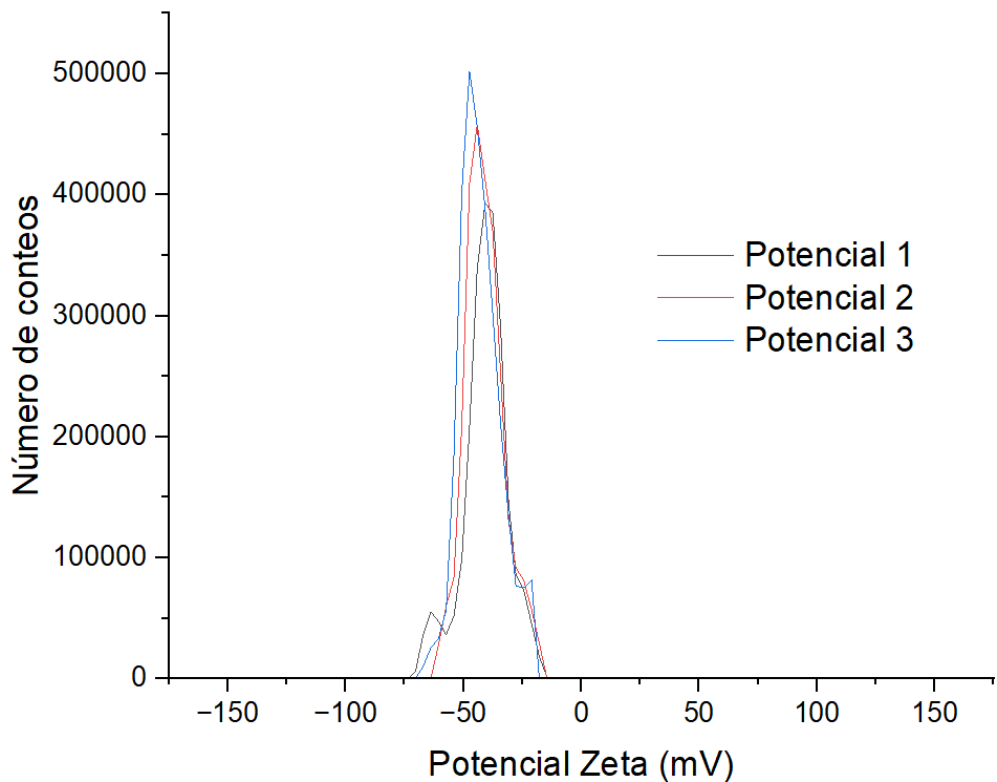


Figura 33: Potencial Zeta de la AuNPs obtenidas por medio del electrolito oDIDA

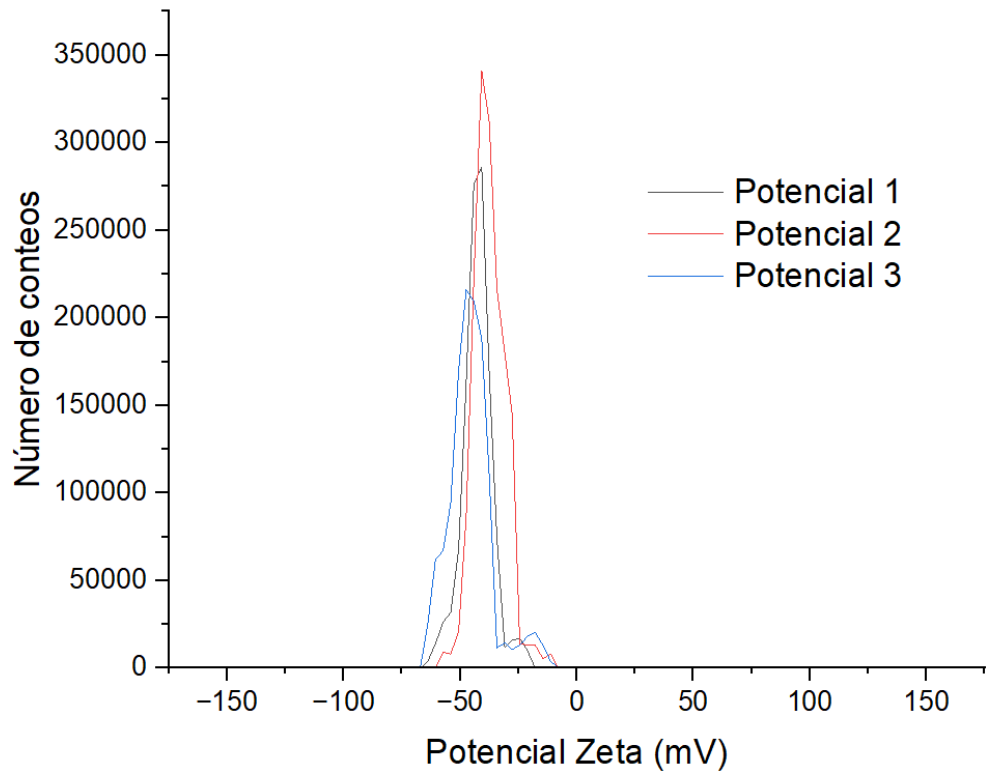


Figura 34: Potencial Zeta de la AuNPs obtenidas por medio del electrolito 3,4-DITA

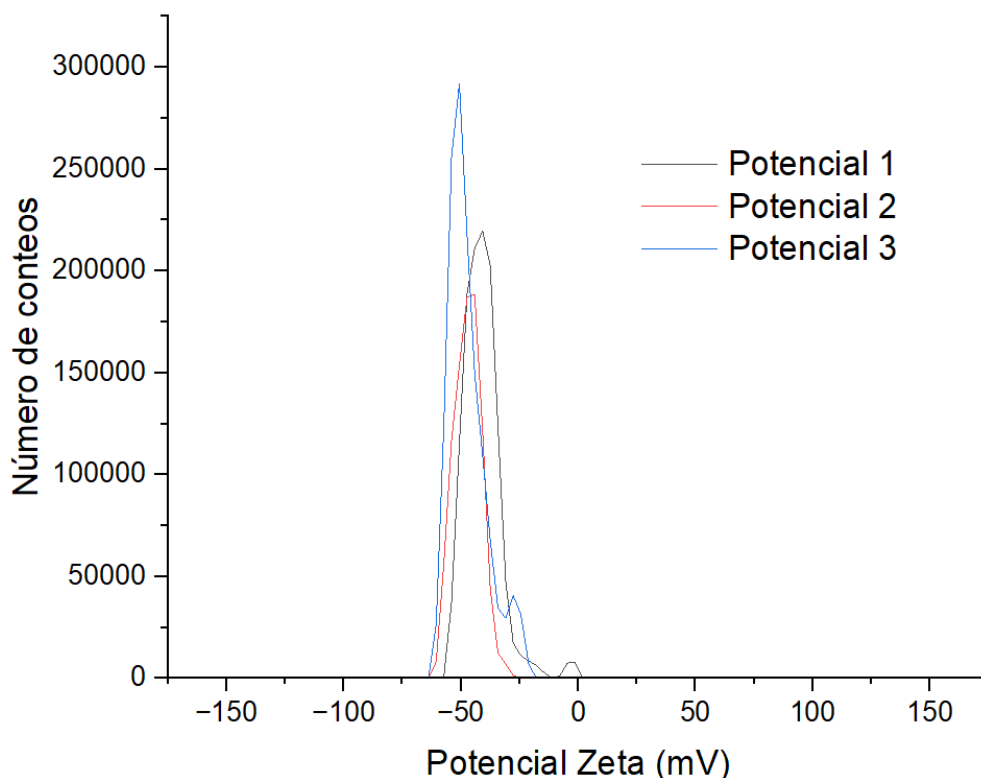


Figura 35: Potencial Zeta de la AuNPs obtenidas por medio del electrolito 3,5-DITA

Si bien el resultado de los potenciales indica que las nanopartículas son estables, es necesario recordar que, valores por debajo de -30 mV o superiores a 30 mV indican estabilidad, los valores obtenidos parecen estar cercanos a un punto en donde las AuNPs dejan de ser estables, el potencial se volvió a medir 130 días después, encontrando los valores reportados en la Tabla 11.

Tabla 11: Potencial Zeta obtenido para los diferentes compuestos en mV posterior a 130 días

| Compuesto | Potencial 1 | Potencial 2 | Potencial 3 | Promedio |
|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| oDIDA | -26.3 | -26.8 | -28.0 | -27.0 ± 0.9 |
| 3,4-DITA | -18.5 | -18.8 | -17.2 | -18.2 ± 0.8 |
| 3,5-DITA | -19.2 | -20.6 | -18.9 | -19.6 ± 0.9 |

^a Las incertidumbres representan la desviación estándar media

Se puede observar que con el paso del tiempo la oDIDA mostró estar más cerca de seguir con la estabilidad de las nanopartículas, esto puede ser debido a que en la formulación existe mayor presencia del electrolito (5:1) con respecto a las DITAS (3:1). El valor obtenido al inicio de la síntesis, aunque parezca relativamente bajo cuando se contrasta con el obtenido al paso de 130 días indica que los compuestos logran mantener una buena estabilidad, de igual forma, al tener valores negativos tanto al inicio como al final da una idea sobre cómo es que los compuestos logran estabilizar al oro, esto se logra del lado de los grupos imida de cada macromolécula. De esta forma las estructuras reducen al oro mediante el anión expuesto

del grupo carboxilo, posteriormente mediante los grupos imida estabilizan a la NP, dejando expuesto al grupo carboxilo.

Diámetro hidrodinámico

El diámetro hidrodinámico se calcula a partir del centro de la nanopartícula hasta el final de las cargas que la rodean (potencial zeta) es por lo que, de forma normal se tiene un tamaño más grande en comparación con los resultados del TEM. En el caso de las AuNPs obtenidas mediante la oDIDA y la 3,4-DITA se tuvieron tamaños de partícula menores debido al impedimento estérico generado por la misma molécula, para el caso de la 3,5-DITA ya que, los radicales imida se encuentran en posición meta esto genera un tamaño de partícula mayor al de los otros dos compuestos, esto comprueba lo obtenido mediante el potencial Zeta.

El tamaño de partícula para la oDIDA resultó en 5.0 nm, para la 3,4-DITA en 14.7 nm y para la 3,5-DITA en 15.5 nm, respectivamente. Las Figuras 36-38 y la Tabla 12, muestran la distribución de tamaños obtenidos para las AuNPs.

Tabla 12: Diámetro hidrodinámico obtenido para los diferentes compuestos en nm

| Compuesto | Medición 1 | Medición 2 | Medición 3 | Promedio |
|-----------|------------|------------|------------|------------|
| oDIDA | 4.7084 | 5.0688 | 5.2456 | 5.0 ± 2.5 |
| 3,4-DITA | 15.2834 | 14.1102 | 14.8533 | 14.7 ± 3.0 |
| 3,5-DITA | 15.7780 | 15.4127 | 15.3244 | 15.5 ± 2.5 |

^a Las incertidumbres representan la desviación estándar media

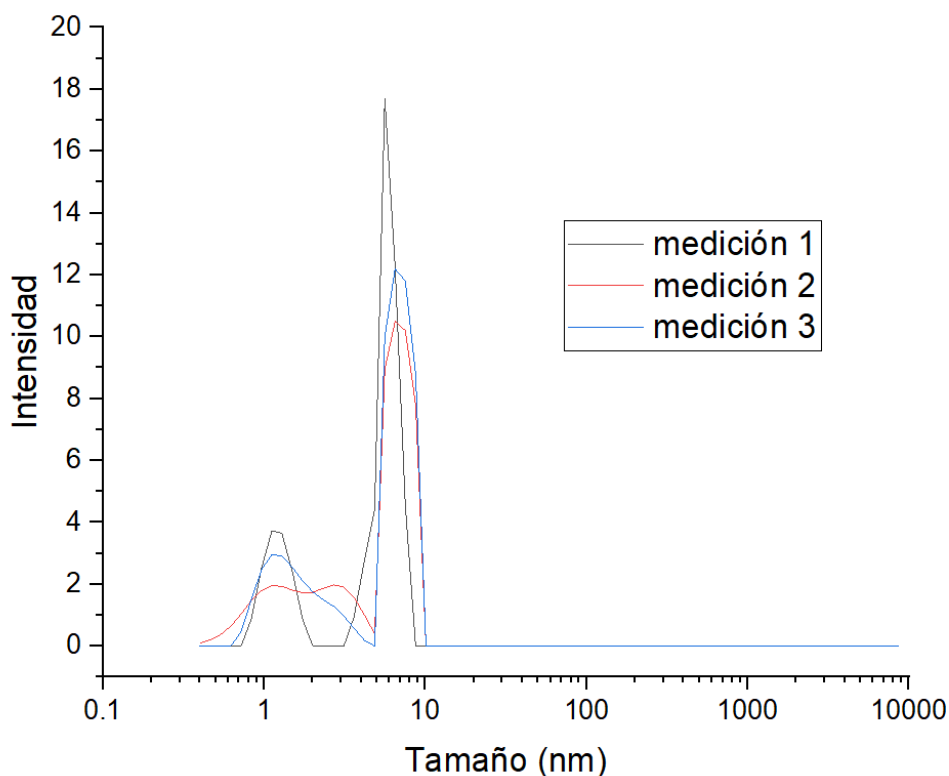


Figura 36: Diámetro obtenido para las AuNPs sintetizadas mediante la oDIDA

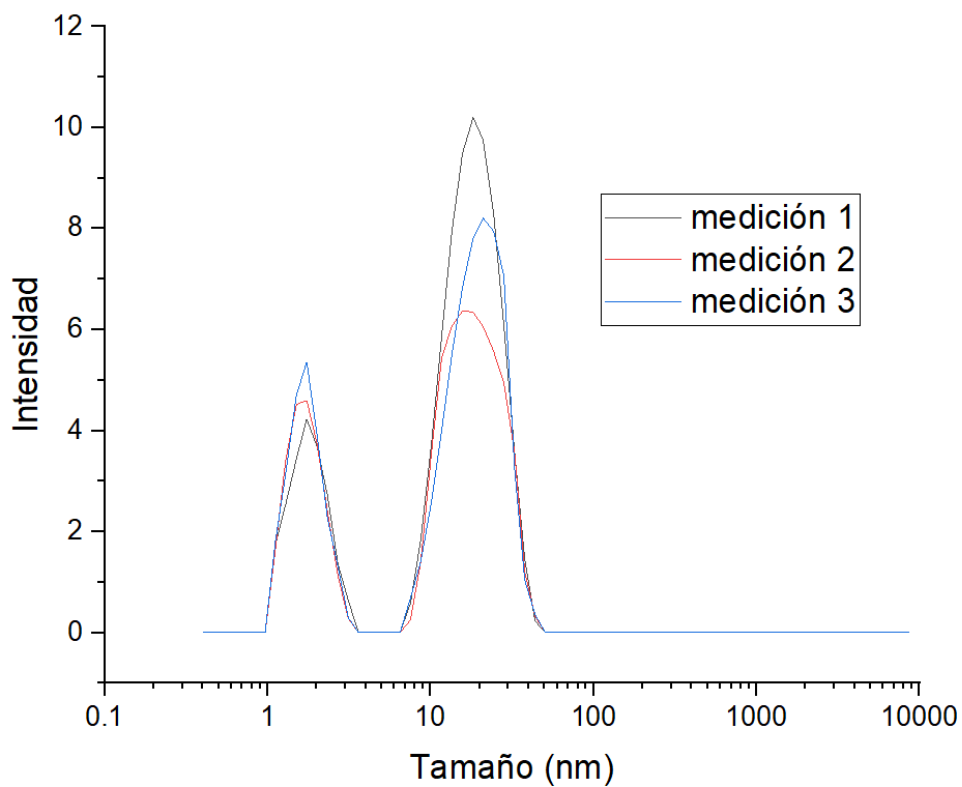


Figura 37: Diámetro obtenido para las AuNPs sintetizadas mediante la 3,4-DITA

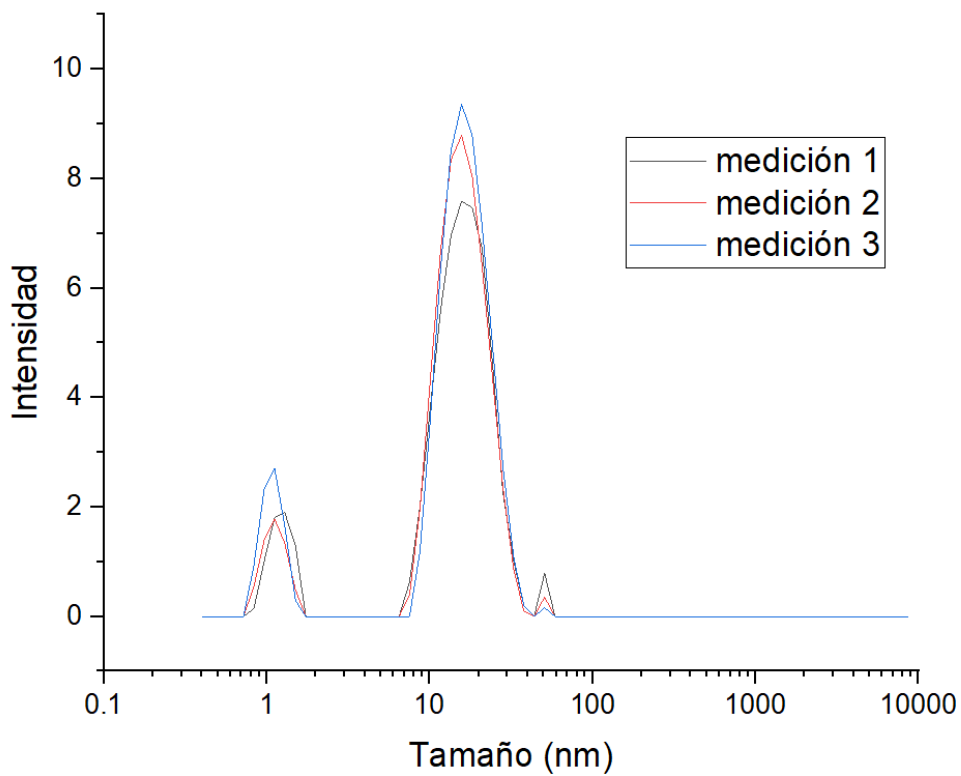


Figura 38: Diámetro obtenido para las AuNPs sintetizadas mediante la 3,5-DITA

Fase *in silico*

Mediante el programa *SwissTargetPrediction* se encontró la probabilidad de interacción que presentan las macromoléculas con las diferentes proteínas mostradas en la Tabla 13.

Tabla 13: Probabilidad de interacción de las macromoléculas con las proteínas

| Proteína | Macromolécula | Probabilidad (%) | Proteína | Macromolécula | Probabilidad (%) |
|---------------|---------------|------------------|---------------|---------------|------------------|
| IGF1R | oDIDA | 0.1202 | MDM2 | 3,4-DITA | 0.1257 |
| MMP9 | 3,4-DITA | 0.1257 | PARP1 | oDIDA | 0.1202 |
| | 3,5-DITA | 0.1257 | | 3,4-DITA | 0.1257 |
| PI3K γ | oDIDA | 0.1202 | APEX1 | 3,5-DITA | 0.1257 |
| | 3,4-DITA | 0.1257 | | oDIDA | 0.1202 |
| Src | 3,5-DITA | 0.1257 | MAPK1 | 3,4-DITA | 0.1257 |
| | CDK2 | oDIDA | | 0.1202 | oDIDA |
| Caspasa 8 | 3,5-DITA | 0.1257 | GSK3 α | 3,5-DITA | 0.1257 |
| | c-JUN | 3,4-DITA | | 0.1257 | oDIDA |
| FGF1 | oDIDA | 0.1202 | ESR2 | 3,4-DITA | 0.1257 |
| | | | | oDIDA | 0.1202 |
| | | | | 3,5-DITA | 0.1257 |

Previo a la realización de los acoplamientos se optimizaron las estructuras (estado de mínima energía) en Avogadro, para ello se insertó el código SMILES de cada macromolécula y se optimizó utilizando la función MMFF94, la cual fue diseñada específicamente para trabajar compuestos orgánicos que contengan en su estructura Carbono, Nitrógeno, Oxígeno e Hidrógeno [122]. Los resultados se muestran en las Figuras 39-41.

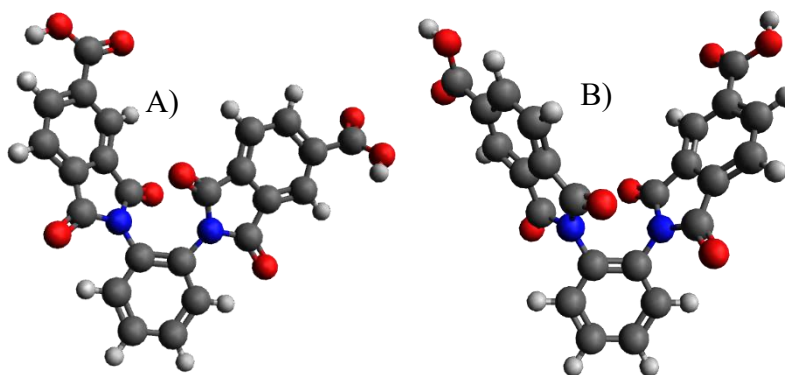


Figura 39: Optimización de la geometría de la oDIDA; A) oDIDA obtenida del código SMILES, B) oDIDA en su estado de mínima energía

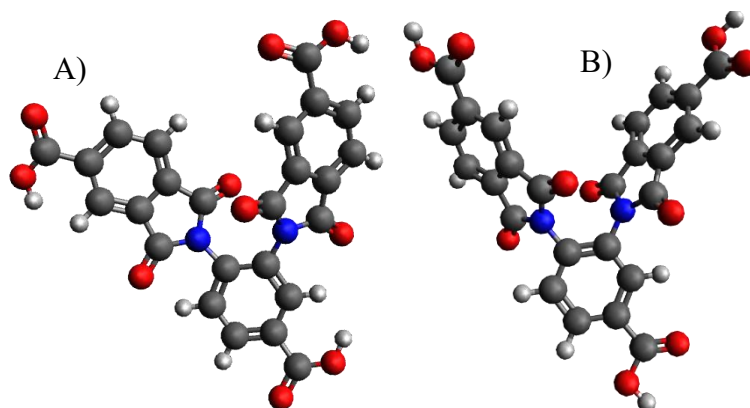


Figura 40: Optimización de la geometría de la 3,4-DITA; A) 3,4-DITA obtenida del código SMILES, B) 3,4-DITA en su estado de mínima energía

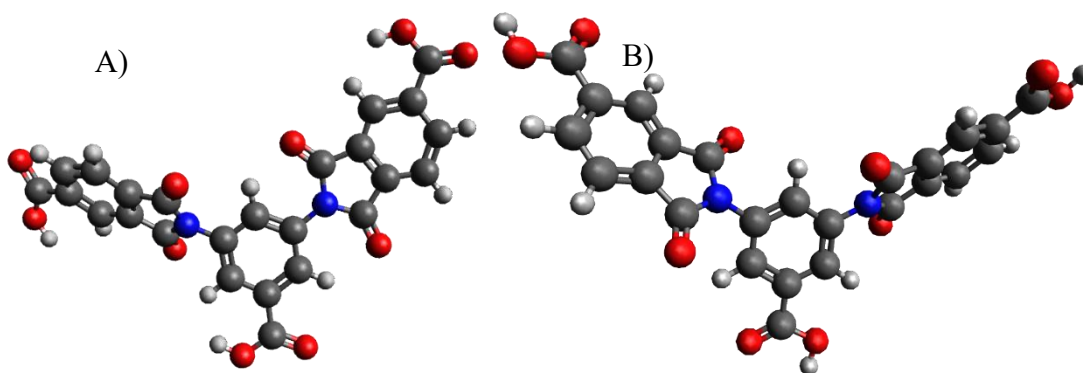


Figura 41: Optimización de la geometría de la 3,5-DITA; A) 3,5-DITA obtenida del código SMILES, B) 3,5-DITA en su estado de mínima energía

Con base en los resultados obtenidos en la Tabla 13, se realizaron los acoplamientos utilizando el Software de AutoDock 4.2.6, los parámetros utilizados fueron un total de 100 ejecuciones por macromolécula, un número de evaluaciones de energía de 2,500,000 (tipo medio), para los cálculos se utilizó el algoritmo genético Lamarckiano el cual ha mostrado ser el mejor para realizar este tipo de estudios [123]. Los enlaces de hidrógeno y el resto de las interacciones generadas durante el acoplamiento, así como la distancia de enlace se visualizaron en el software Biovia Discovery Studio. Adicionalmente con ayuda del software Pymol 2.5 se muestran las interacciones generadas de forma 3D.

Para el caso de la oDIDA (Tabla 14), los mejores acoplamientos resultantes fueron con las proteínas GSK3 α , MAPK1 y CDK2, esto basados en la energía libre de unión, aunque, CDK2 solo formó dos enlaces de hidrógeno que, de acuerdo a la literatura son enlaces fuertes debido a su distancia, por otro lado, el complejo generado con ESR2 y FGF1 formaron un total de 8 enlaces de hidrógeno pero, entre estos dos complejos el mejor resulta ser ESR2 ya que, la energía de enlace presenta un valor más negativo y contiene mayor cantidad de enlaces fuertes dados por la distancia encontrada, cabe resaltar que durante los acoplamientos no se encontró una interacción desfavorable en los complejos R-L. En el caso de MAPK1 y GSK3 α al ser tan iguales se puede tomar como un criterio extra la cantidad de interacciones

electrostáticas formadas, pero, como se mencionó con anterioridad, en fase gaseosa estas son igual o incluso mejores que los enlaces de hidrógeno, mientras que, para la fase condensada la fuerza de estas interacciones se verá afectada según el medio en donde se encuentre el complejo.

Tabla 14: Resultados del acoplamiento molecular para oDIDA

| Proteína | $-\Delta_{\text{bind}}G^a$ | Tipo de interacción ^b | | |
|---------------|----------------------------|----------------------------------|----------------|----------------|
| | | Enlace de hidrógeno | Hidrofóbica | Electrostática |
| PARP1 | 5 | LYS945 (1.77) | TYR930 (5.55) | |
| | | LYS945 (2.99) | LYS933 (4.74) | |
| | | GLU931 (1.81) | LEU932 (5.16) | HYS934 (4.16) |
| | | SER936 (2.47) | LEU932 (3.77) | |
| | | LYS933 (1.96) | HIS934 (5.17) | |
| PI3K γ | 5.82 | GLU546 (2.14) | TYR580 (5.12) | |
| | | ARG579 (1.70) | TYR580 (4.53) | ARG579 (3.92) |
| | | ARG613 (3.78) | PHE578 (5.76) | |
| ESR2 | 7.51 | SER422 (2.24) | | |
| | | ASP421 (1.77) | | |
| | | ALA420 (2.27) | | |
| | | LEU324 (1.91) | - | - |
| | | THR417 (2.68) | | |
| | | ALA416 (2.38) | | |
| | | THR417 (1.71) | | |
| | | THR415 (2.98) | | |
| FGF1 | 6.36 | HIS717 (2.32) | | |
| | | SER699 (2.23) | ARG661 (4.84) | |
| | | ASN659 (2.37) | | |
| | | GLN574 (2.20) | | |
| | | ARG661 (2.29) | | - |
| | | LYS665 (2.63) | ARG661 (5.08) | |
| | | LYS665 (1.84) | | |
| PRO702 (3.02) | | | | |
| IGF1R | 4.71 | LYS1171 (2.79) | GLY1172 (4.15) | |
| | | LYS1171 (2.34) | LEU1173 (5.36) | |
| | | LEU1173 (1.76) | VAL1176 (4.57) | CYS1171 (4.85) |
| | | VAL1176 (2.27) | VAL1176 (5.09) | |
| | | LEU1174 (2.44) | | |
| GSK3 α | 10.59 | LYS157 (2.06) | | ARG159 (4.93) |
| | | ARG159 (2.77) | | ARG159 (3.95) |
| | | ARG 159 (2.8) | VAL150 (4.38) | |
| | | ARG159 (2.19) | | ARG159 (4.13) |
| | | GLN152 (2.75) | | |

| | | | | |
|-------|-------|---------------|---------------|---------------|
| MAPK1 | 10.38 | ALA35 (2.42) | GLY34 (3.45) | LYS54 (4.45) |
| | | ASP167 (2.16) | | ARG67 (4.93) |
| | | ILE31 (2.56) | LEU156 (5.07) | ASP167 (4.21) |
| | | | | ASP167 (3.8) |
| | | | | ASP111 (4.04) |
| | | LYS114 (1.83) | VAL39 (5.21) | ASP111 (3.79) |
| | | CYS166 (3.93) | VAL39 (4.62) | LYS114 (4.88) |
| | | | | LYS114 (4.32) |
| APEX1 | 9.76 | SER100 (2.2) | LYS77 (4.76) | |
| | | LYS98 (2.03) | ALA74 (5.09) | |
| | | ALA74 (1.9) | ALA74 (4.53) | |
| | | | ALA74 (3.98) | CYS99 (4.82) |
| | | ARG73 (2.75) | ARG73 (3.95) | |
| | | ARG73 (2.38) | ARG73 (3.92) | |
| | | ARG73 (3.33) | ARG73 (4.42) | |
| | | ARG73 (3.82) | | |
| CDK2 | 10.03 | | LEU202 (3.93) | |
| | | ARG200 (2.09) | VAL251 (5.16) | |
| | | | PRO204 (4.65) | |
| | | | PRO204 (4.03) | ARG200 (3.89) |
| | | ARG200 (1.92) | ARG200 (5.32) | |
| | | | ARG200 (3.95) | |
| | | ARG200 (3.92) | | |

^a Los resultados se encuentran en kcal mol⁻¹, ^b las distancias se encuentran en Å.

A continuación (en las figuras 42-47), se muestra el sitio donde la oDIDA se unió a las 3 mejores proteínas MAPK1, GSK3 α y ESR2.

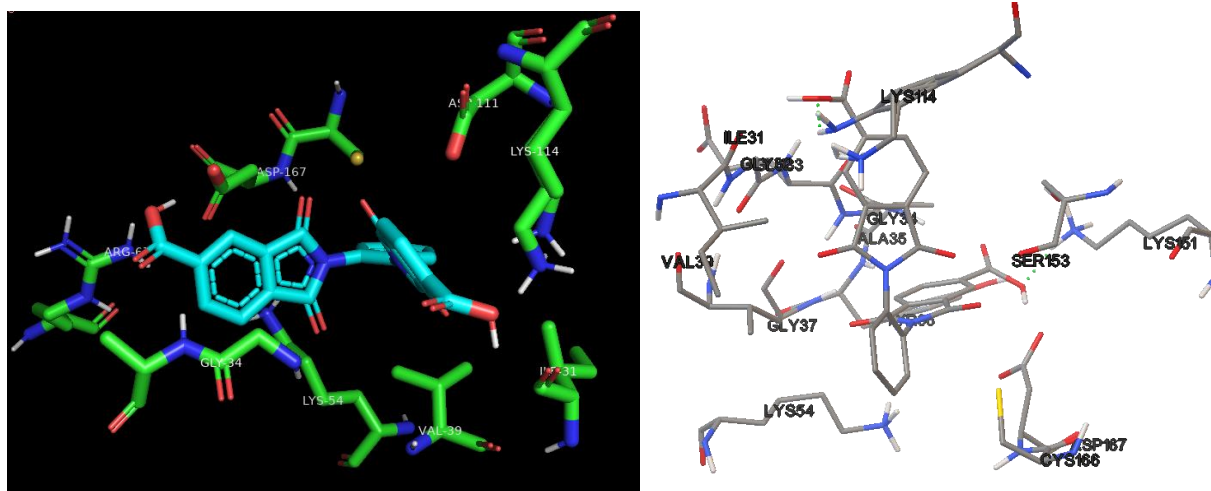


Figura 42: Interacciones del complejo MAPK1-oDIDA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

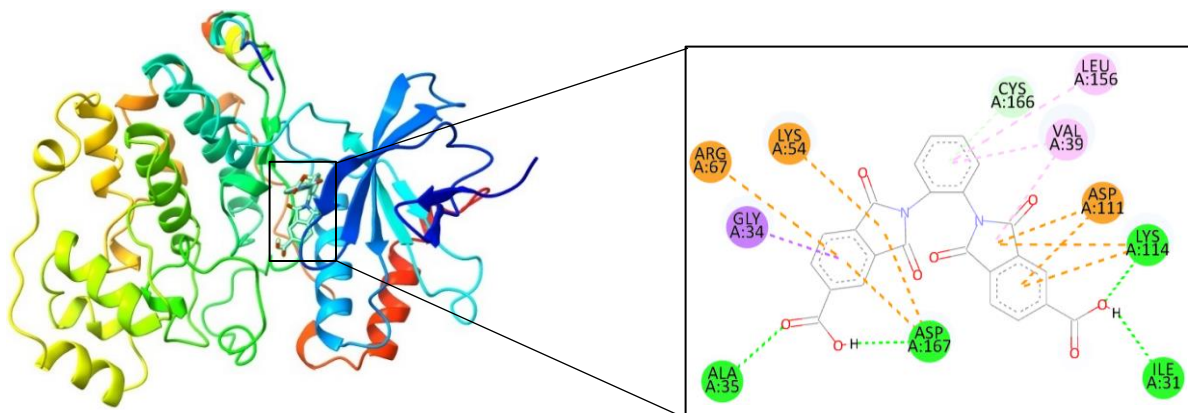


Figura 43: Sitio de unión de la oDIDA en la proteína MAPK1

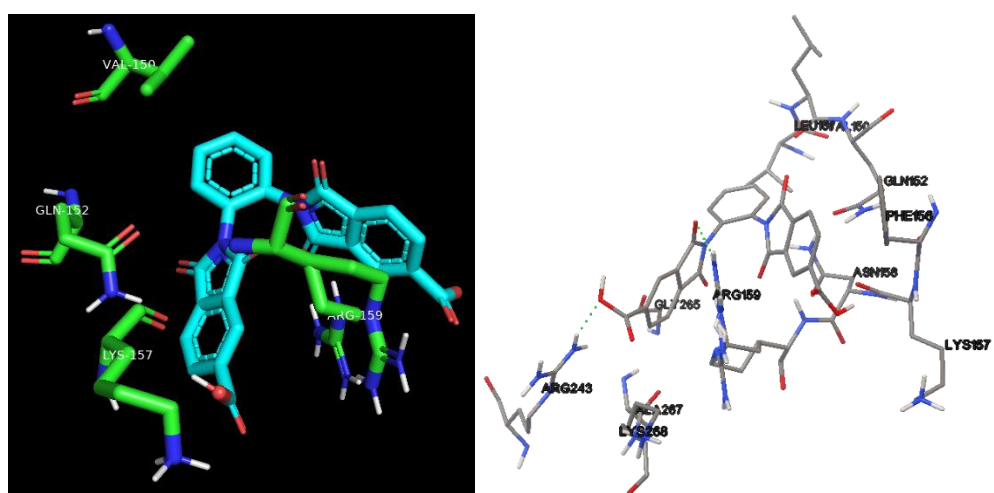


Figura 44: Interacciones del complejo GSK3 α -oDIDA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

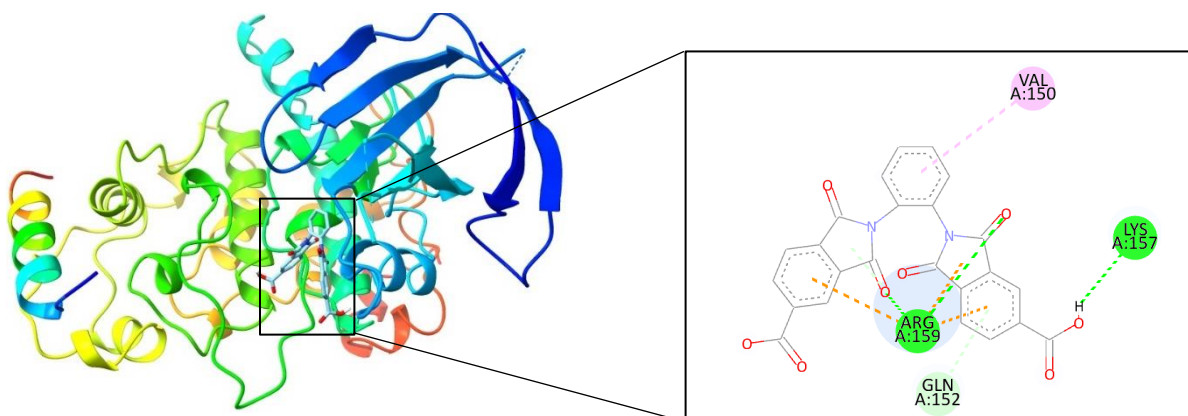


Figura 45: Sitio de unión de la oDIDA en la proteína GSK3 α

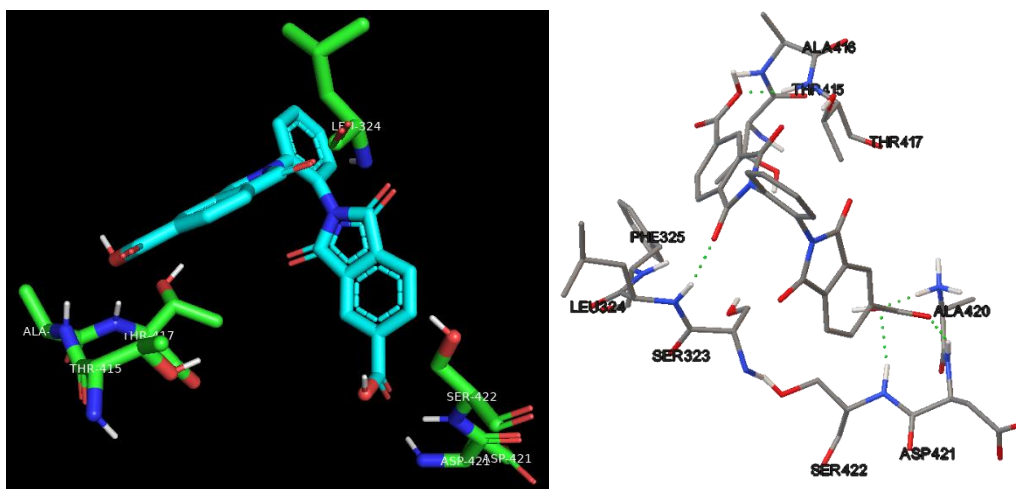


Figura 46: Interacciones del complejo ESR2-oDIDA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

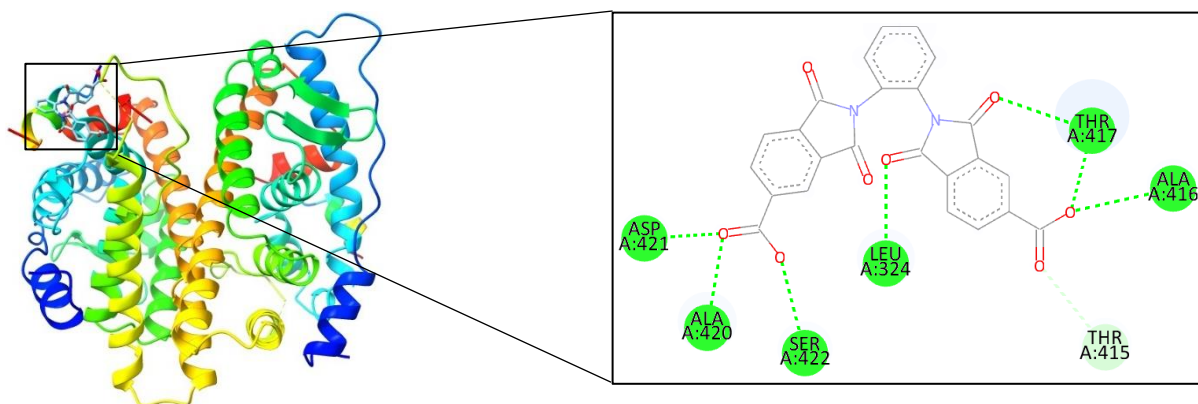


Figura 47: Sitio de unión de la oDIDA en la proteína ESR2

En el caso de los complejos formados para 3,4-DITA (Tabla 15), el mejor resultó con la proteína GSK3 α con una energía de unión de $-10.16 \text{ kcal mol}^{-1}$ y un total de 8 enlaces de hidrógeno, por otro lado, aunque con la proteína PARP1 formó una cantidad de enlaces de hidrógeno similar a GSK3 α por la distancia de enlace es posible observar que estas son interacciones moderadas, de ahí que la energía de unión haya resultado más baja, además con la proteína MMP9 se formó una interacción desfavorable aceptor-aceptor, por lo que, esta interacción dará una inestabilidad al complejo formado.

Tabla 15: Resultados del acoplamiento molecular para 3,4-DITA

| Proteína | $-\Delta_{\text{bind}}G^a$ | Tipo de interacción ^b | | | |
|---------------|----------------------------|----------------------------------|--------------|----------------|--------------|
| | | Enlace de hidrógeno | Hidrofóbica | Electrostática | Desfavorable |
| GSK3 α | 10.16 | GLY265 (2.34) | | ARG159 | |
| | | ASN158 (2.59) | | (3.79) | |
| | | LEU151 (2.12) | | | |
| | | ASP153 (2.2) | PHE156 | ARG159 | |
| | | ARG159 (1.97) | (5.42) | (3.38) | - |
| | | ARG159 (2.83) | | | |
| | | ARG159 (3.39) | | ARG159 | |
| | | | (3.83) | | |
| MDM2 | 7.87 | LYS31 (2.31) | VAL108 | | |
| | | | (5.22) | | |
| | | LYS31 (1.81) | ARG105 | | |
| | | TYR104 (2.05) | (5.43) | - | - |
| | | ARG105 (2.3) | TYR104 | | |
| | | ARG105 (1.93) | (3.61) | | |
| PI3K γ | 6.03 | LYS606 (2.86) | PHE578 | | |
| | | | (5.68) | | |
| | | LYS606 (2.98) | TYR580 | ARG579 | |
| | | | (5.2) | (3.32) | - |
| | | ARG579 (1.93) | (4.62) | | |
| PARP1 | 5.59 | ARG878 (1.75) | TYR889 | | |
| | | ARG878 (1.69) | (5.39) | | |
| | | ARG878 (2.72) | | | |
| | | GLY876 (2.15) | TYR889 | - | - |
| | | GLY892 (2.09) | (4.07) | | |
| | | GLY894 (2.29) | ALA880 | | |
| | | TYR889 (3.04) | (5.0) | | |
| APEX1 | 9.66 | SER100 (2.19) | CYS99 (4.64) | | |
| | | LYS98 (2.18) | LYS77 (5.39) | | |
| | | ARG73 (2.59) | LYS77 (5.26) | | |
| | | ARG73 (2.43) | ALA74 (5.28) | ARG73 | |
| | | | ALA74 (5.33) | (4.05) | - |
| | | ALA74 (1.82) | ALA74 (3.59) | | |
| | | | ARG73 (3.47) | | |
| | | ARG73 (3.37) | ARG73 (3.94) | | |
| | ARG73 (3.48) | | | | |
| MMP9 | 6.26 | ASP334 (2.5) | PRO219 | | GLU130 |
| | | | (5.35) | - | (2.98) |

| | | | | | |
|-------|------|---------------|------------------|------------------|---|
| | | | VAL218 (5.03) | | |
| | | | ALA333 (4.84) | | |
| | | | PRO272 (4.48) | | |
| | | ARG221 (1.81) | PRO133 (4.41) | | |
| | | | PRO133 (5.18) | | |
| | | | ARG134 (5.25) | | |
| | | | ARG279 (5.04) | | |
| | | THR331 (2.73) | ARG279 (3.81) | | |
| | | | PRO330 (5.46) | | |
| | | PHE309 (2.18) | ALA305 (4.49) | | |
| | | LYS303 (2.02) | | | |
| c-JUN | 8.02 | ASP343 (2.18) | ILE342 (5.38) | CYS283 (5.98) | - |
| | | GLY280 (2.98) | | | |
| | | CYS283 (2.06) | | | |
| | | CYS283 (3.19) | PRO282 (3.7) | | |

^a Los resultados se encuentran en kcal mol⁻¹, ^b las distancias se encuentran en Å.

A continuación (en las figuras 48-53), se muestra el sitio donde la 3,4-DITA se unió a las 2 mejores proteínas GSK3 α , c-JUN Y APEX1.

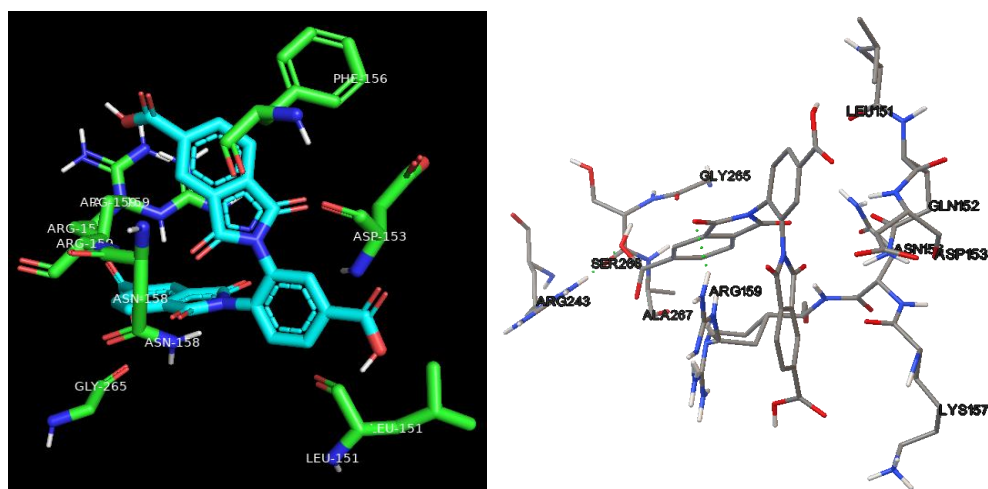


Figura 48: Interacciones del complejo GSK3 α -3,4DITA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

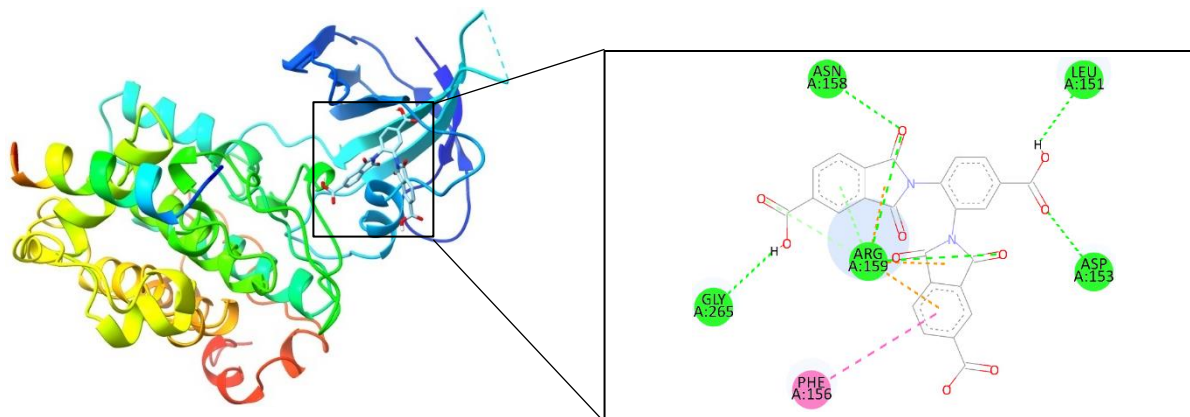


Figura 49: Sitio de unión de la 3,4-DITA en la proteína GSK3α

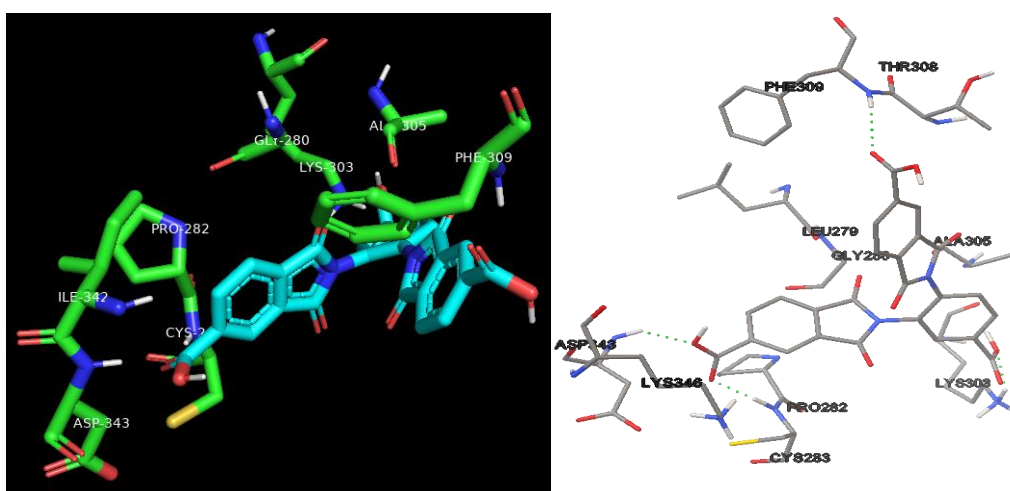


Figura 50: Interacciones del complejo cJUN-3,4DITA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

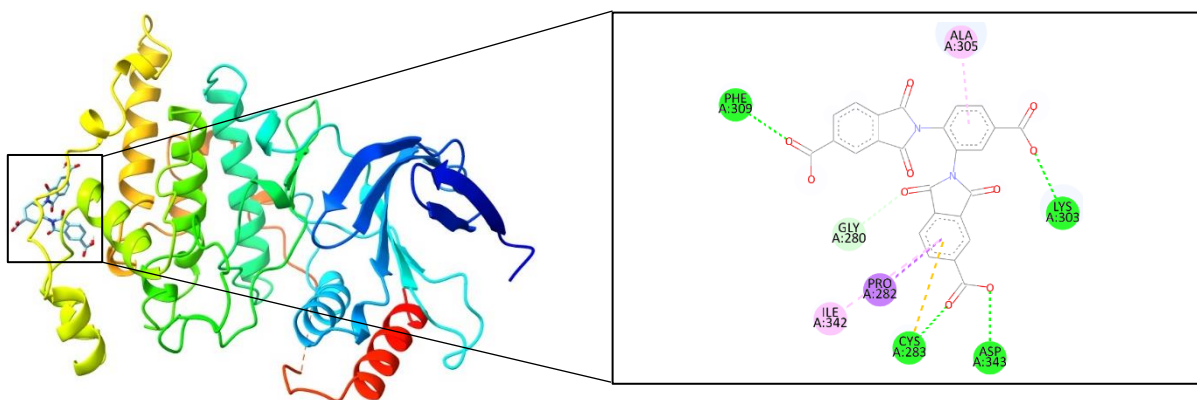


Figura 51: Sitio de unión de la 3,4-DITA en la proteína c-JUN

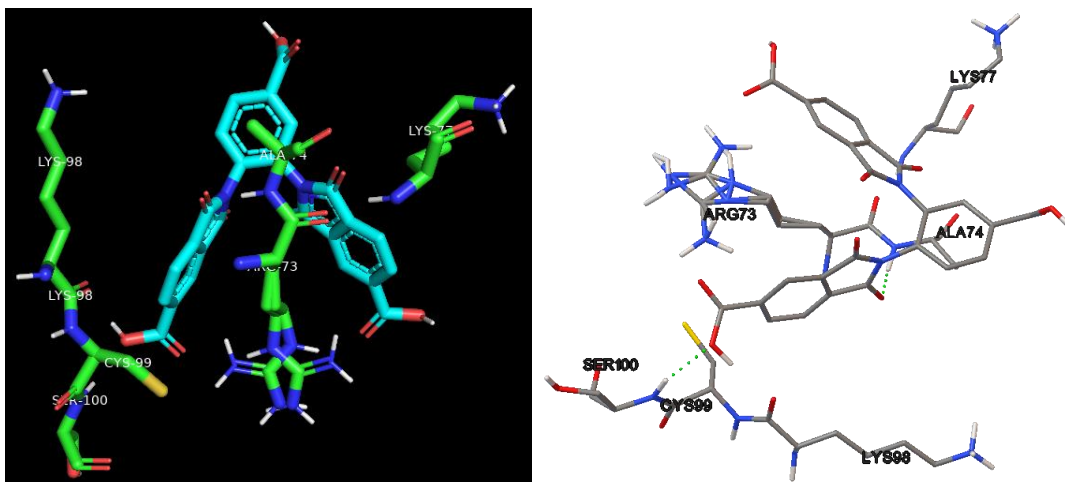


Figura 52: Interacciones del complejo APEX1-3,4DITA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

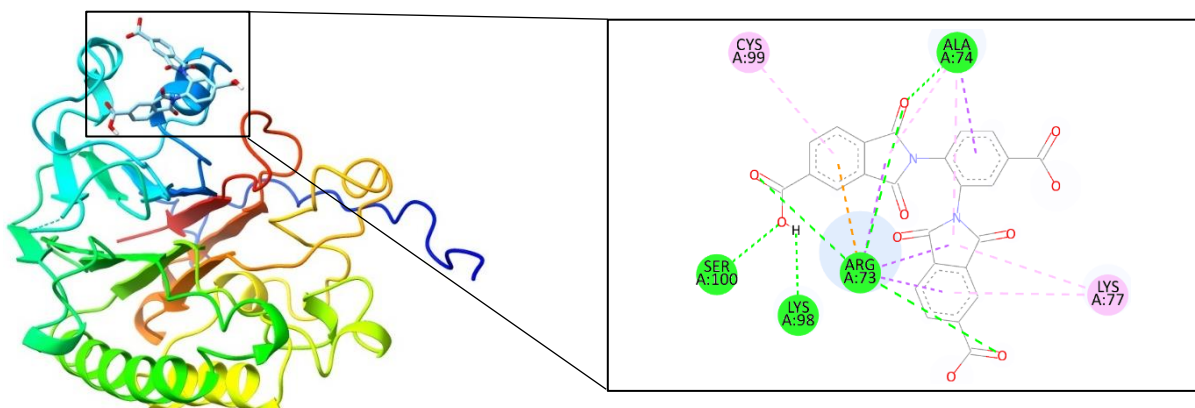


Figura 53: Sitio de unión de la 3,4-DITA en la proteína APEX1

En el caso de los complejos para 3,5-DITA (Tabla 16), los mejores complejos fueron con las proteínas MAPK1, ESR2 y Src, en los tres se cumplió que la energía de unión fuera altamente negativa y cuentan con al menos 6 enlaces de hidrógeno, cabe resaltar que no se encontró ninguna interacción desfavorable en los complejos R-L.

Tabla 16: Resultados del acoplamiento molecular para 3,5-DITA

| Proteína | $-\Delta_{\text{bind}}G^a$ | Tipo de interacción ^b | | |
|---------------|----------------------------|--|--|---|
| | | Enlace de hidrógeno | Hidrofóbica | Electrostática |
| PARP1 | 5.59 | LEU941 (2.49) LYS943 (2.70) | TYR930 (4.55) TYR930 (4.61) PRO942 (4.39) PRO942 (3.98) | - |
| PI3K γ | 6.71 | ARG613 (2.8) GLN609 (2.42) LYS606 (3.05) ARG579 (1.77) ARG579 (2.58) | TYR580 (5.24) | ARG579 (3.63) |
| MAPK1 | 11.04 | ASP106 (2.28) GLY85 (2.87) ARG24 (2.66) ARG24 (1.74) ARG353 (2.84) ARG353 (2.16) | - | - |
| ESR2 | 8.5 | ASP421 (2.07) ALA420 (1.61) ALA420 (2.55) GLN327 (3.14) LYS314 (2.46) LYS314 (2.92) | LEU324 (4.51) VAL320 (3.72) VAL320 (5.16) | - |
| MMP9 | 7.34 | GLY428 (1.8) ARG424 (2.4) HIS432 (2.11) | THR426 (3.48) HIS432 (4.0) ARG424 (5.18) | - |
| Src | 9.48 | ARG388 (2.0) ARG388 (2.11) PHE427 (2.04) ARG391 (2.88) ARG391 (2.86) CYS280 (2.35) GLY279 (2.33) | ALA411 (3.95) ALA411 (4.26) PRO428 (5.19) PRO428 (5.24) CYS280 (5.12) PHE281 (4.32) | ASP389 (4.58) LYS298 (4.35) ARG391 (3.67) |
| Caspasa 8 | 8.43 | GLN32 (2.02) ARG33 (1.89) GLU147 (1.94) GLU154 (1.87) LYS156 (1.89) | LYS156 (5.4) VAL150 (4.0) VAL150 (3.86) LYS148 (5.36) | - |

^a Los resultados se encuentran en kcal mol⁻¹, ^b las distancias se encuentran en Å.

A continuación (en las figuras 54-59), se muestran las interacciones en los complejos formados.

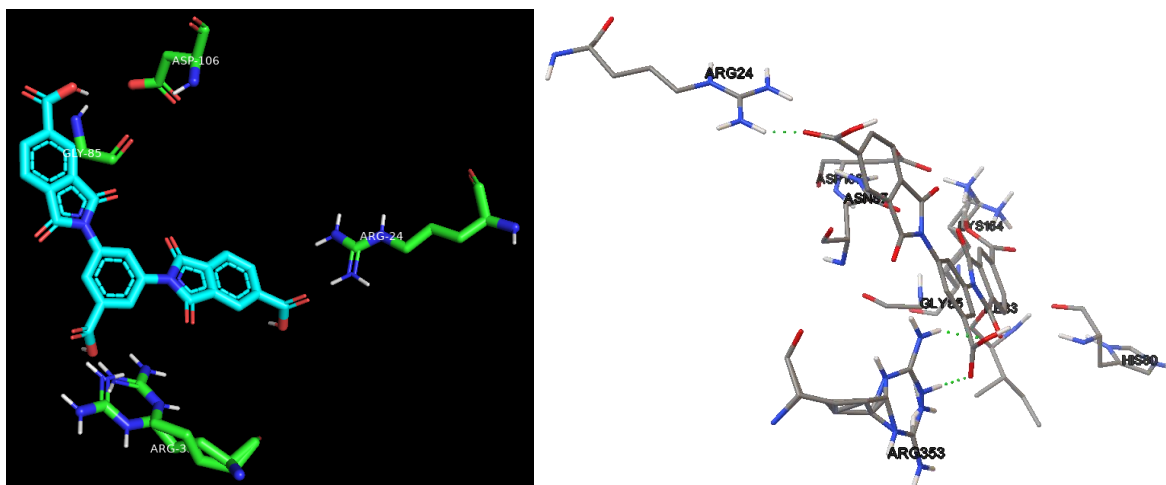


Figura 54: Interacciones del complejo MAPK1-3,5DITA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

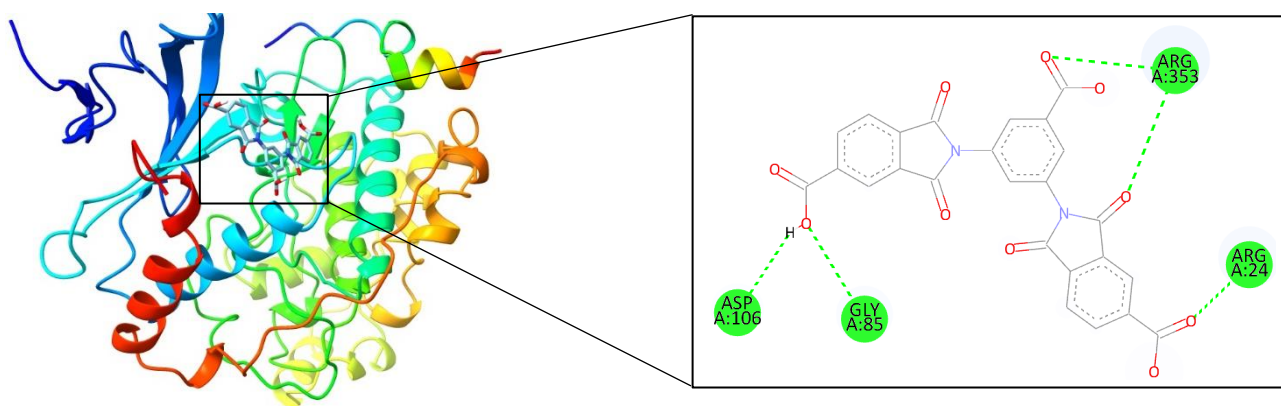


Figura 55: Sitio de unión de la 3,5-DITA en la proteína MAPK1

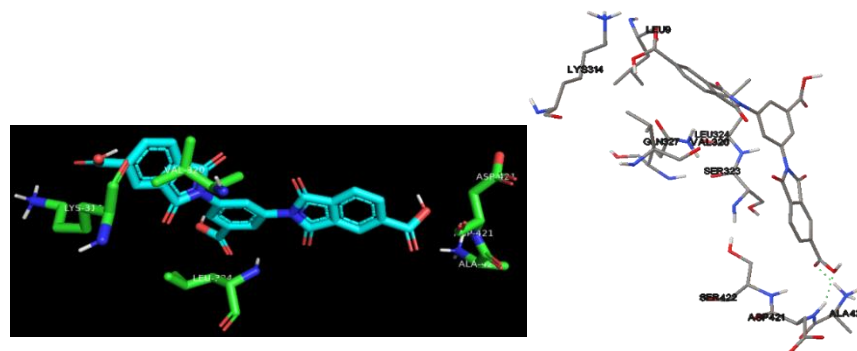


Figura 56: Interacciones del complejo ESR2-3,5DITA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

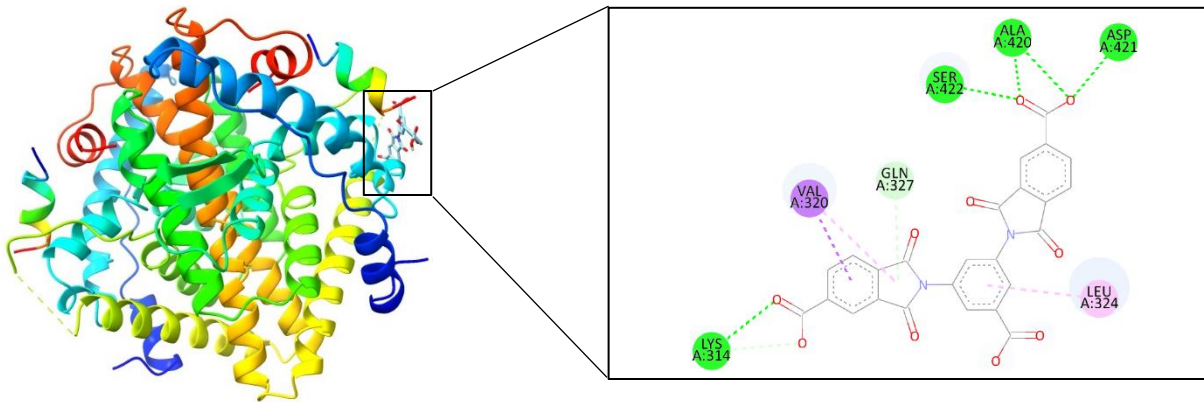


Figura 57: Sitio de unión de la 3,5-DITA en la proteína ESR2

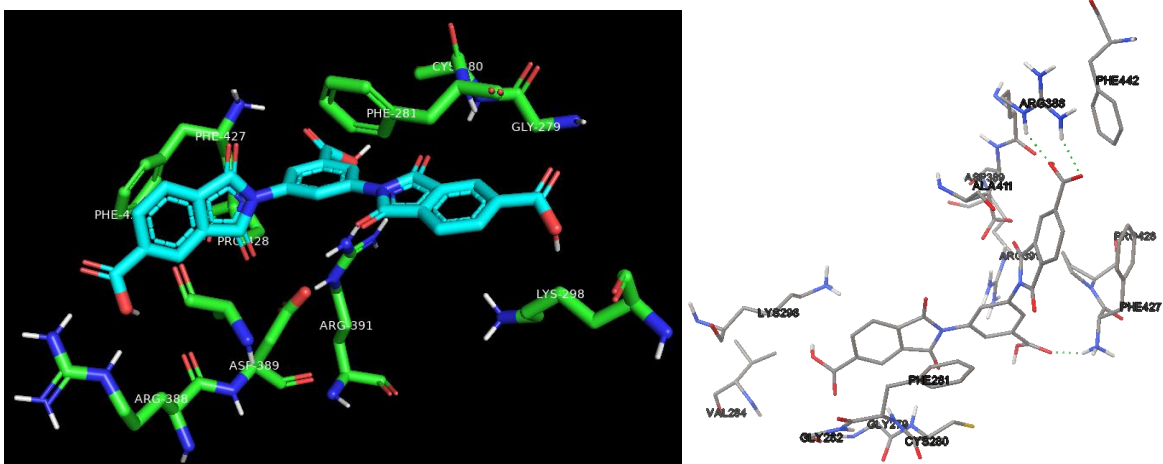


Figura 58: Interacciones del complejo Src-3,5DITA; del lado izquierdo se muestran las interacciones mediante Pymol y del lado derecho mediante AutoDock.

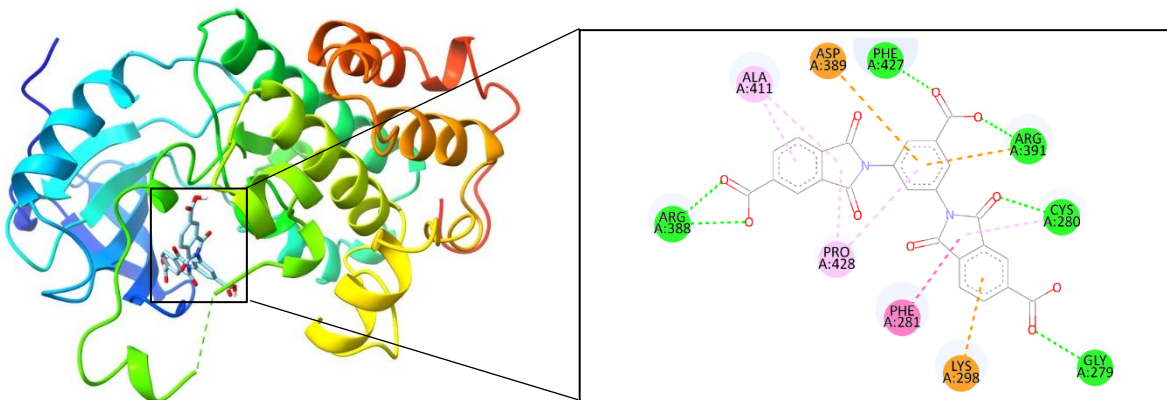


Figura 59: Sitio de unión de la 3,5-DITA en la proteína Src

Como se puede observar de los resultados de los acoplamientos moleculares, las macromoléculas estudiadas tienen su interacción con las vías de apoptosis, PI3K/Akt/mTOR, Ras/Raf y ciclo celular, así como en proteínas que se ven alteradas en el cáncer, además, se cuenta con la interacción de la proteína PARP1 la cual es encargada de reparar el ADN, así como ESR2, la cual es un receptor nuclear que modula la proliferación de células cancerosas y el crecimiento natural, específicamente, en el cáncer de mama, ESR2 tiene un papel como supresor de tumores. Las interacciones de las macromoléculas en las proteínas de las diferentes vías se muestran en las Figuras 60-64.

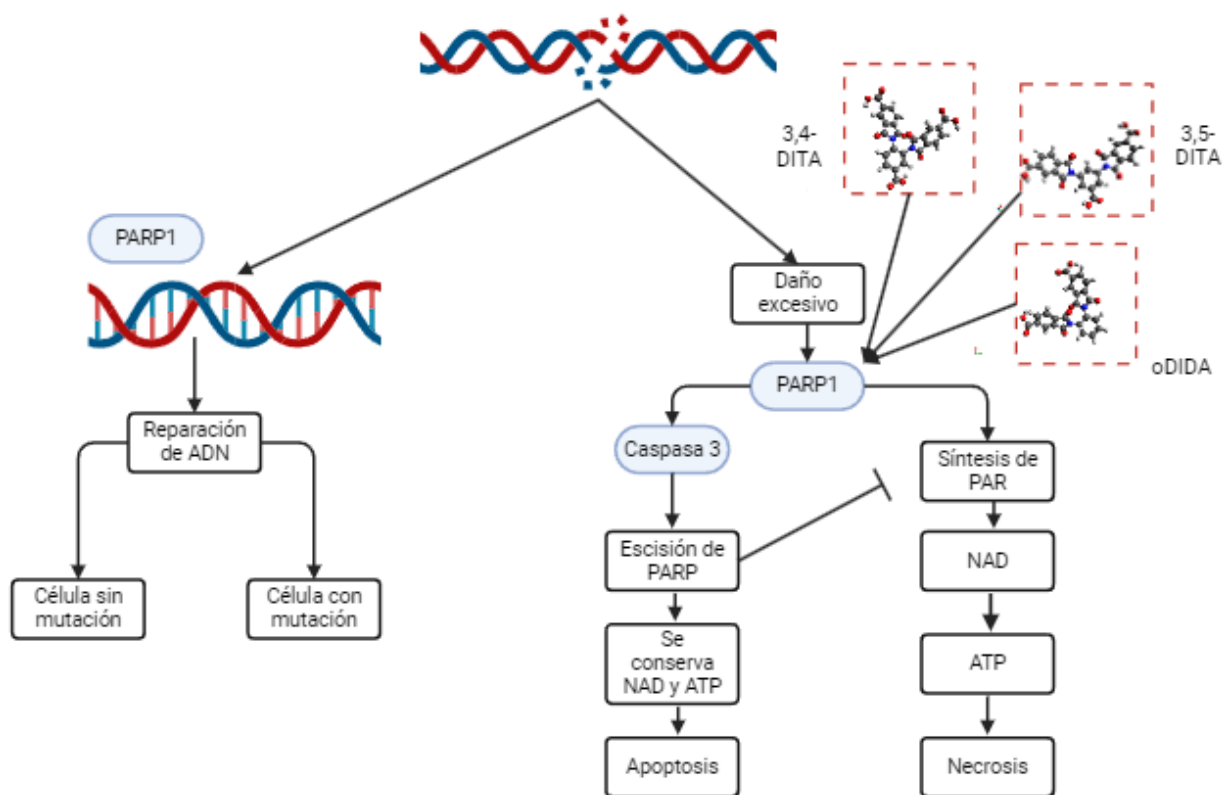


Figura 60: Funciones de PARP1 en el daño del ADN [124]

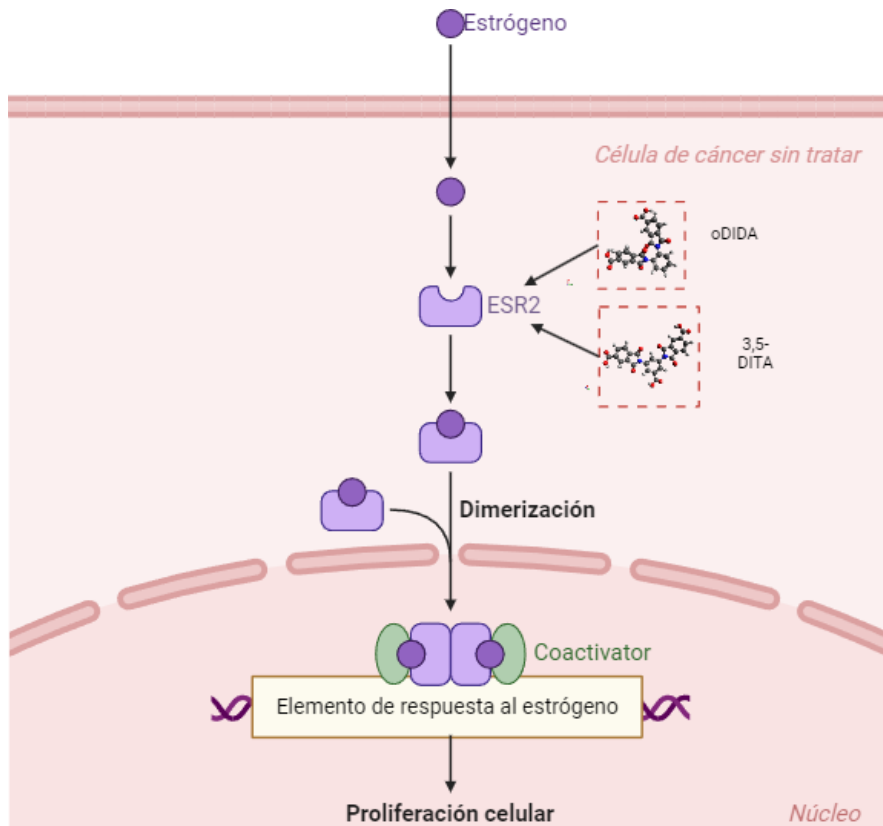


Figura 61: Función de ESR2 en la proliferación celular [125]

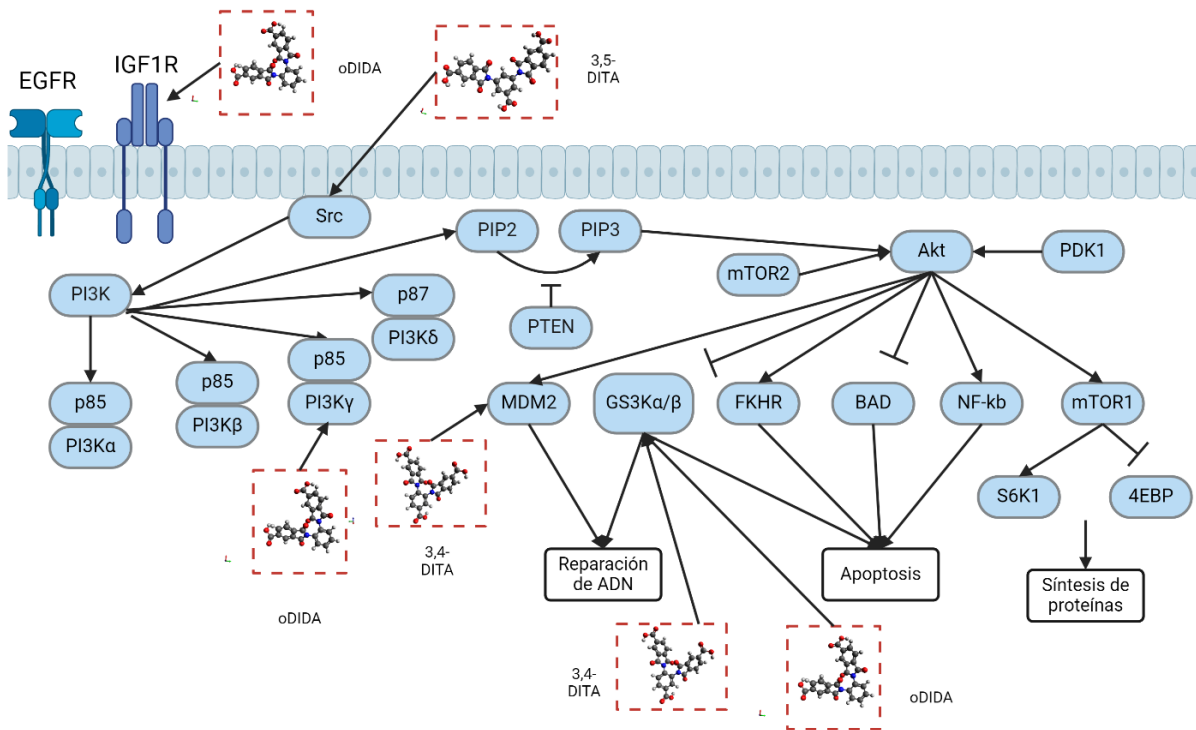


Figura 62: Blancos de las macromoléculas en la vía PI3K/Akt/mTOR [126]

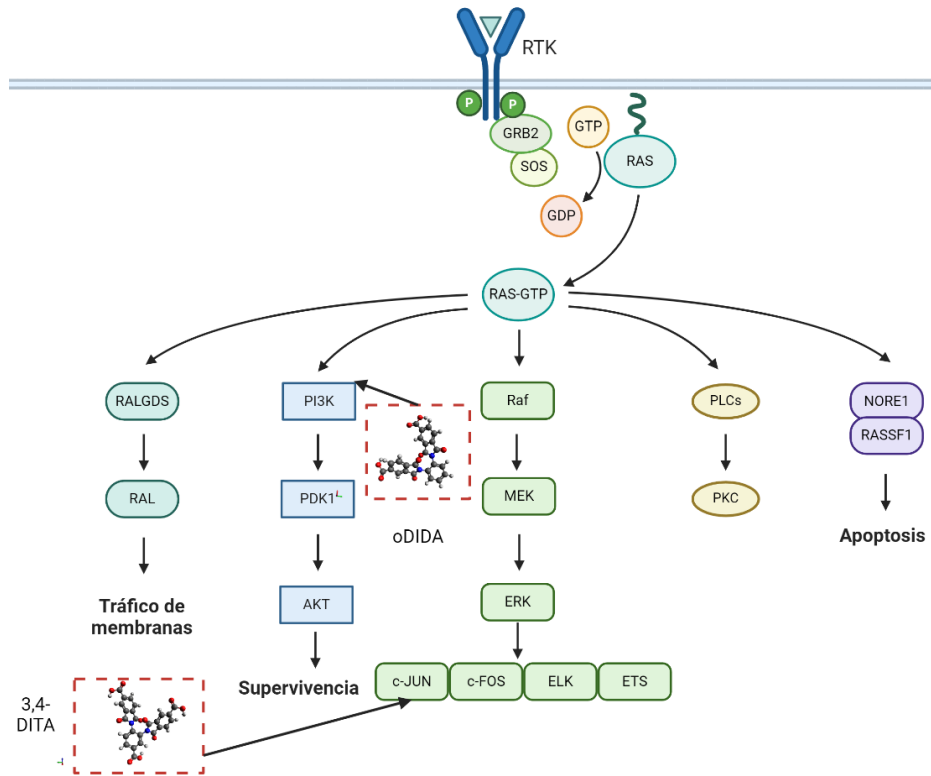


Figura 63: Blancos de las macromoléculas en la vía Ras/Raf [127]

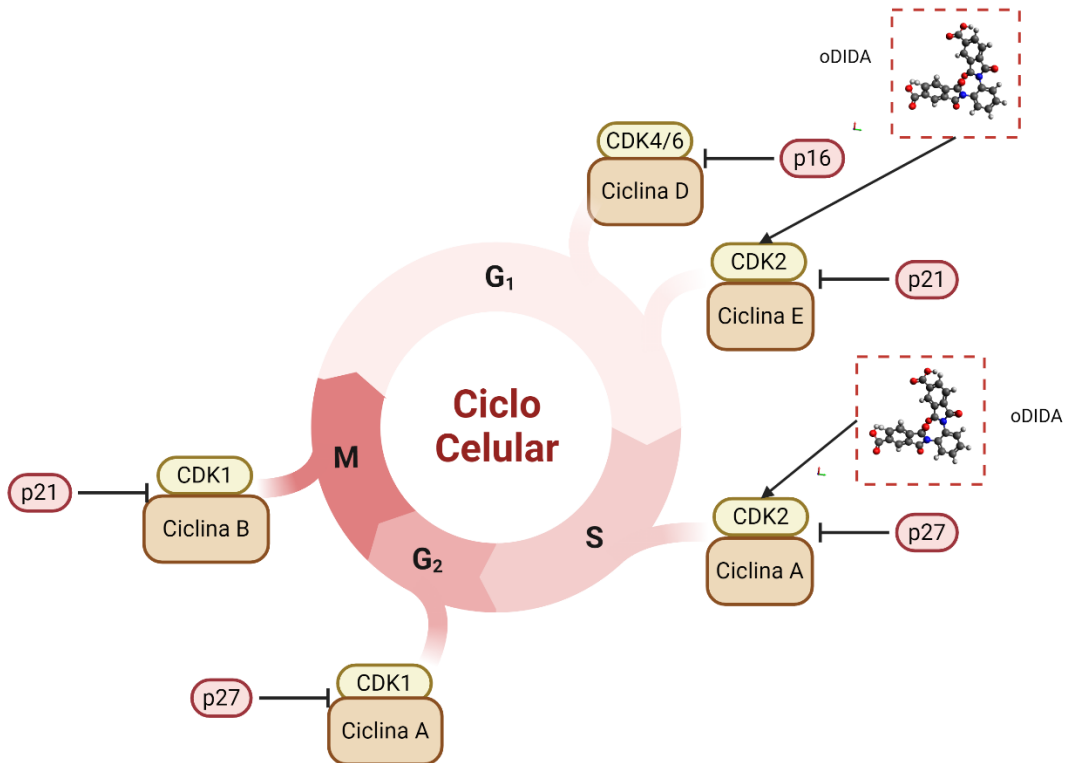


Figura 64: Blancos de las macromoléculas en el ciclo celular [128]

Resultados *in silico* con Gold

Se realizó un redocking de los mejores complejos resultantes por AutoDock, para esto se probaron MAPK1-oDIDA, GSK3 α -oDIDA, ESR2-oDIDA, GSK3 α -34DITA, cJUN-34DITA, APEX1-34DITA, MAPK1-35DITA, ESR2-35DITA y Src-35DITA, esto con el fin de conocer si las macromoléculas formarán los complejos al utilizar otro software. Los resultados se muestran en las Figuras 65-82.

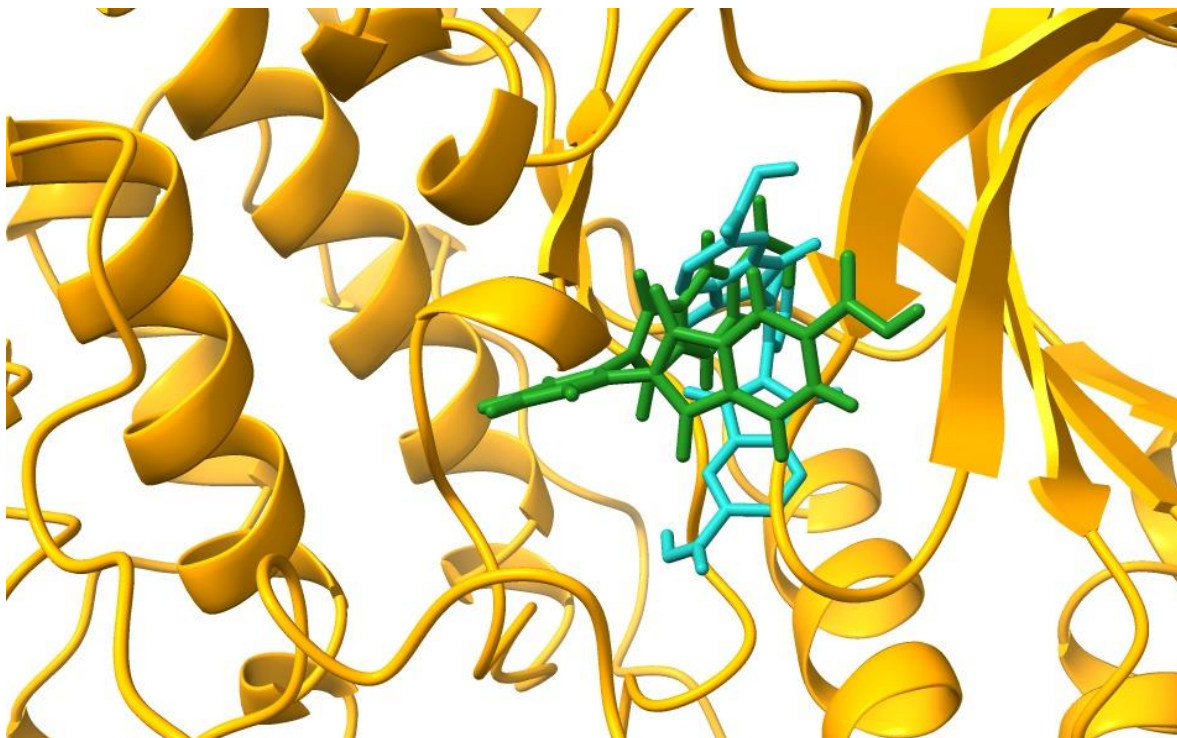


Figura 65: Comparación del acoplamiento molecular MAPK1-oDIDA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

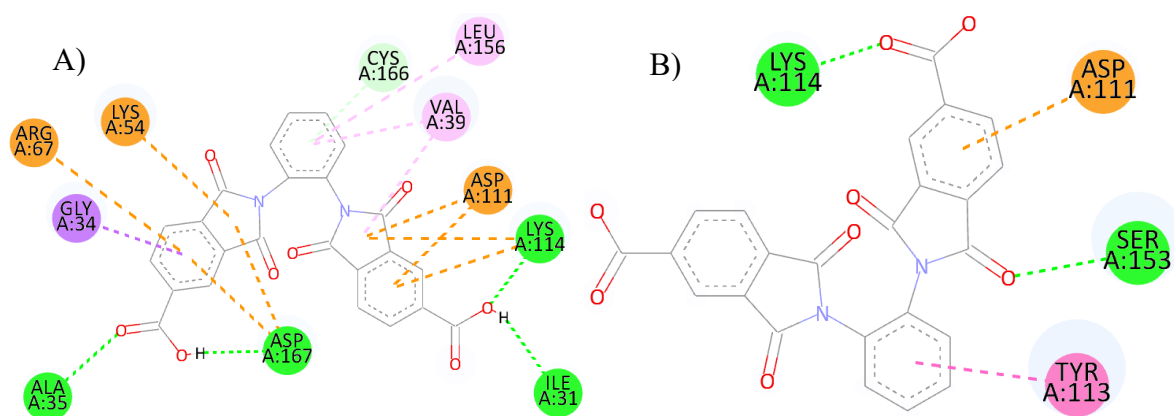


Figura 66: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo MAPK1-oDIDA; A) AutoDock, B) Gold

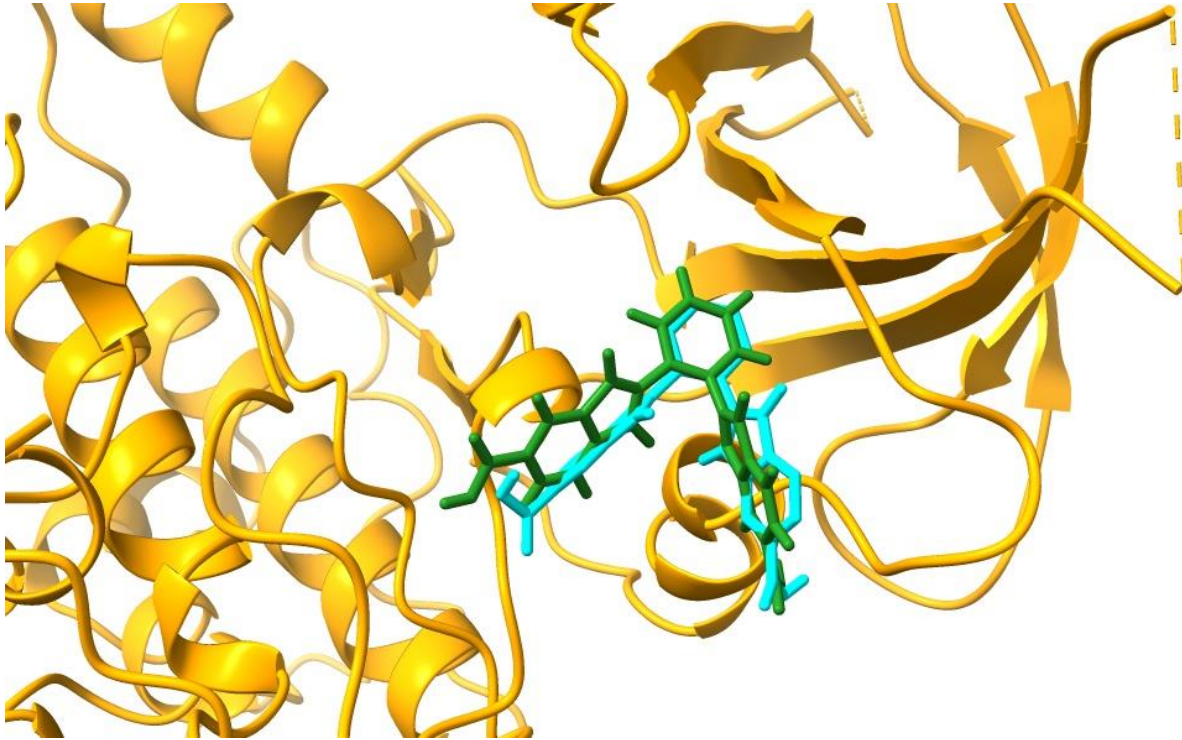


Figura 67: Comparación del acoplamiento molecular GSK3 α -oDIDA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

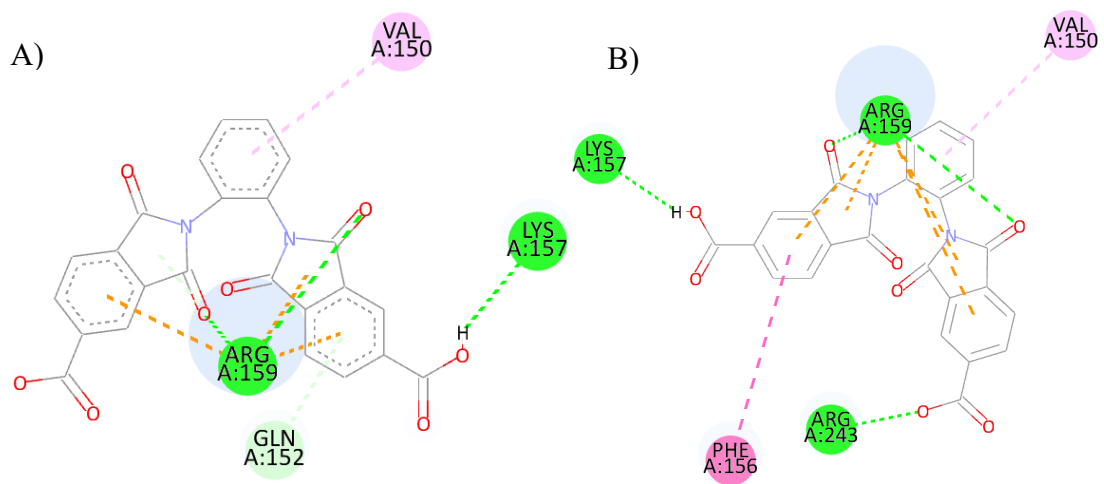


Figura 68: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo GSK3 α - oDIDA; A) AutoDock, B) Gold

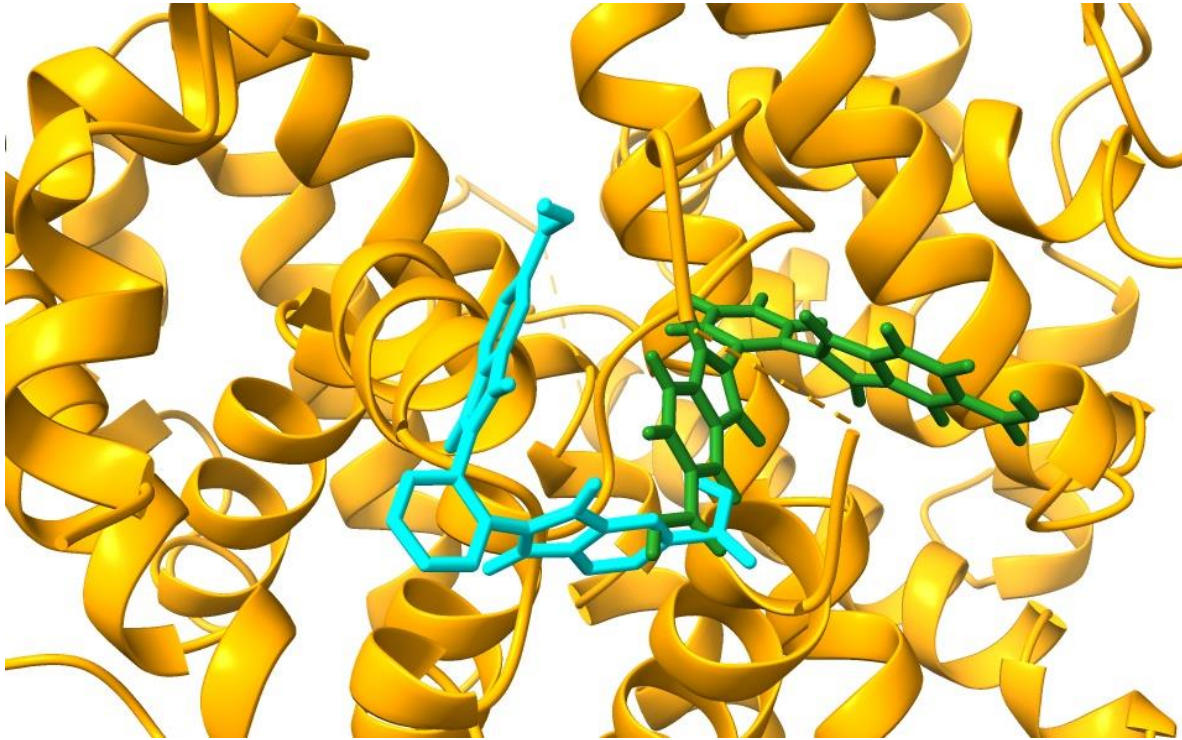


Figura 69: Comparación del acoplamiento molecular ESR2-oDIDA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

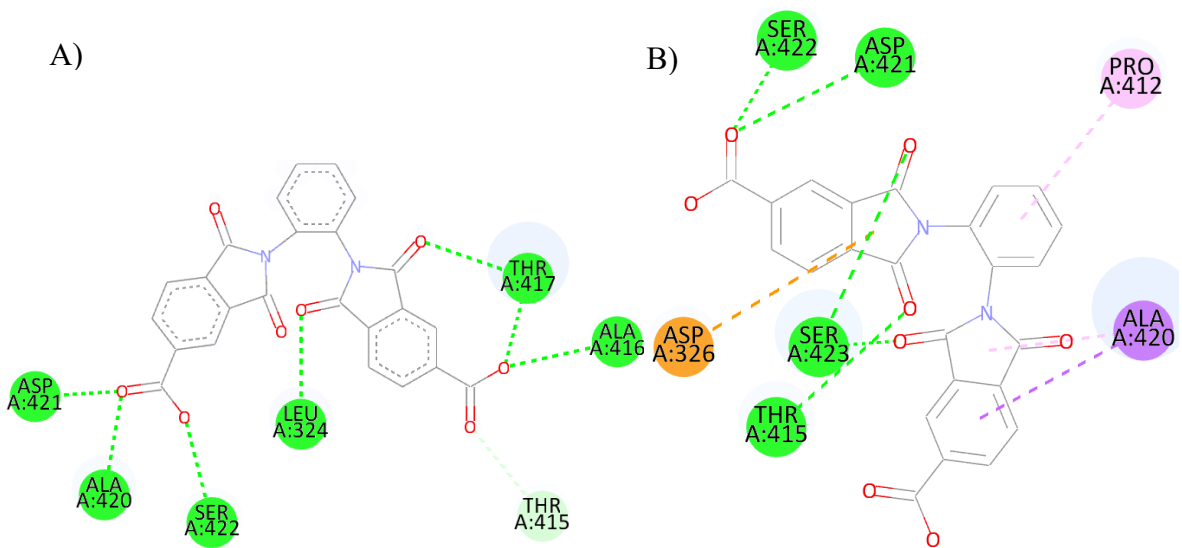


Figura 70: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo ESR2-oDIDA; A) AutoDock, B) Gold

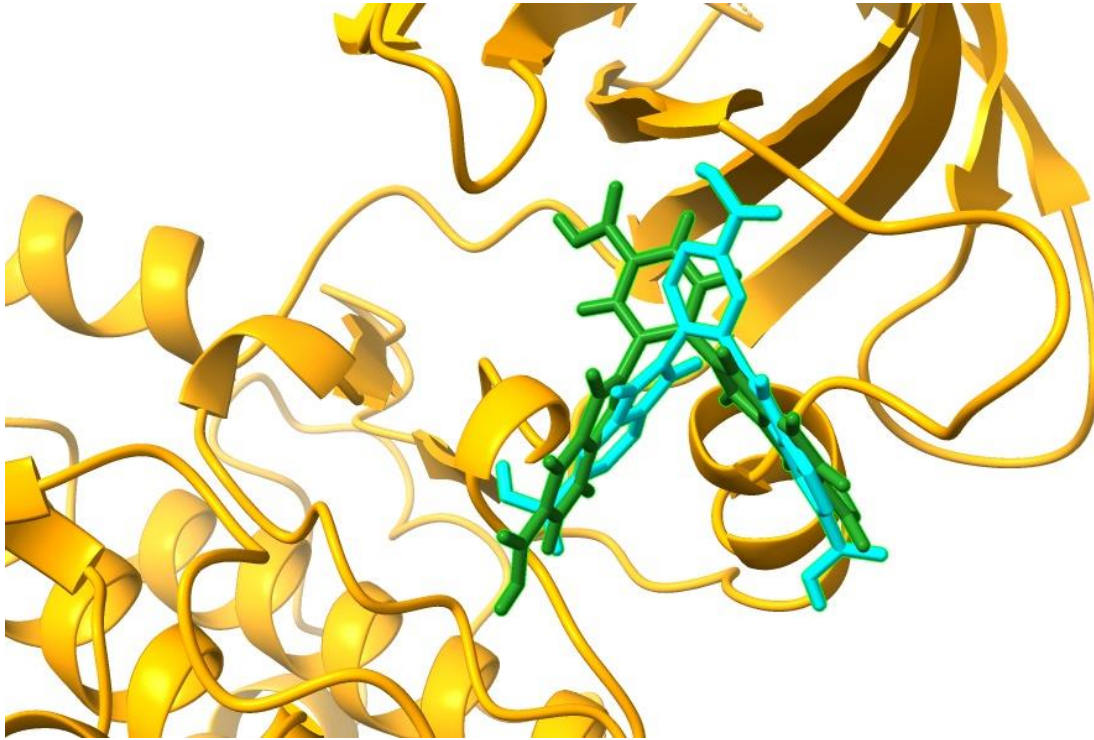


Figura 71: Comparación del acoplamiento molecular GSK3 α -34DITA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

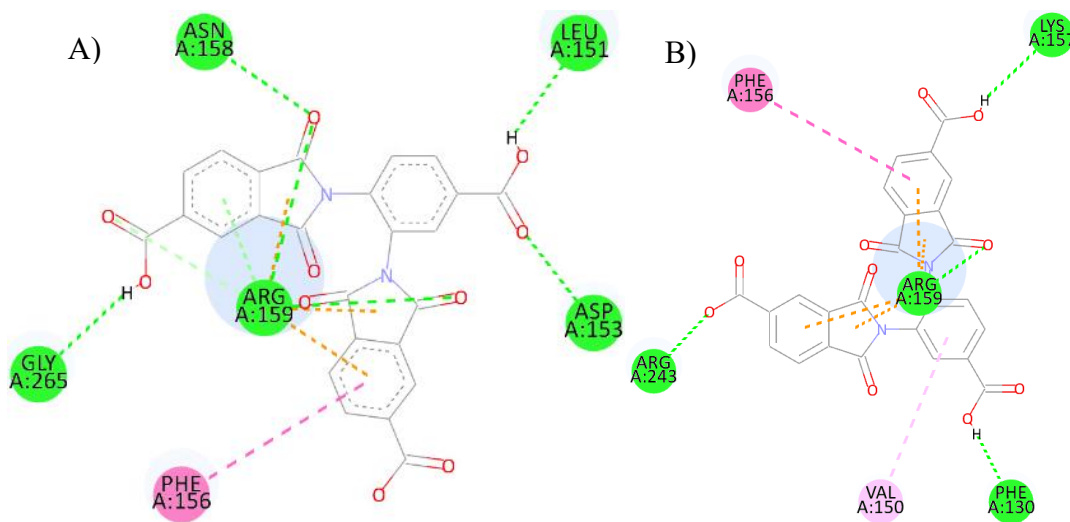


Figura 72: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo GSK3 α - 34DITA; A) AutoDock, B) Gold

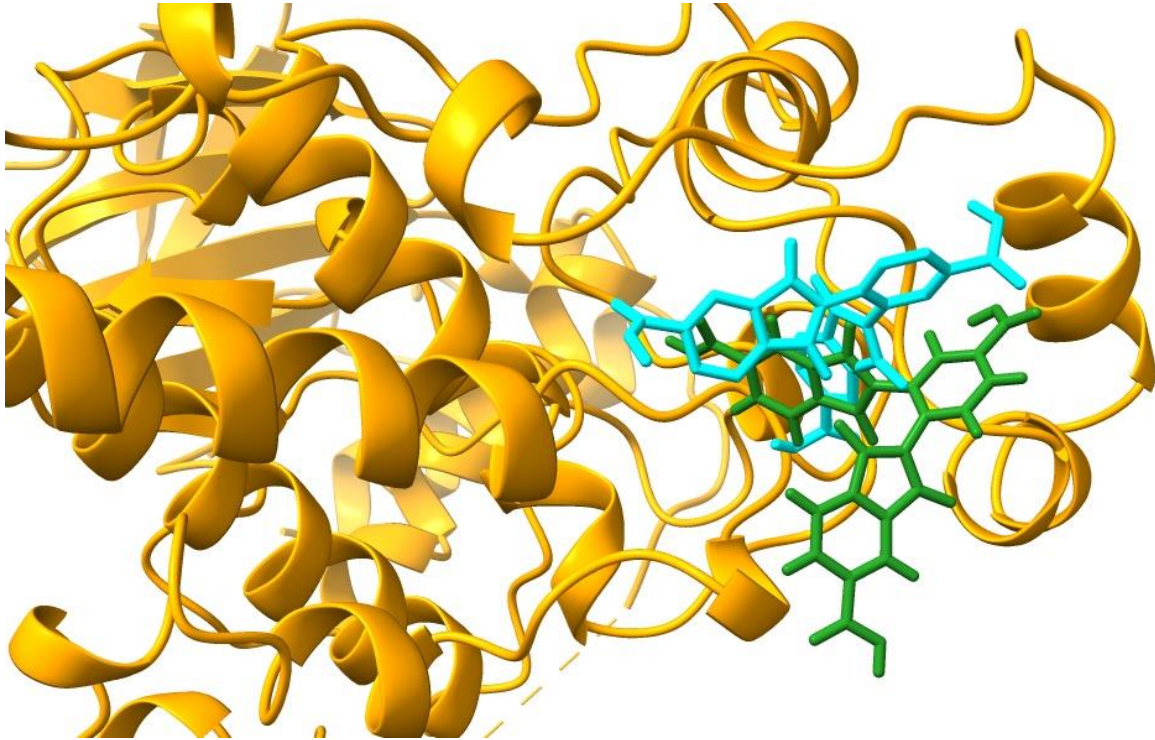


Figura 73: Comparación del acoplamiento molecular cJUN-34DITA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

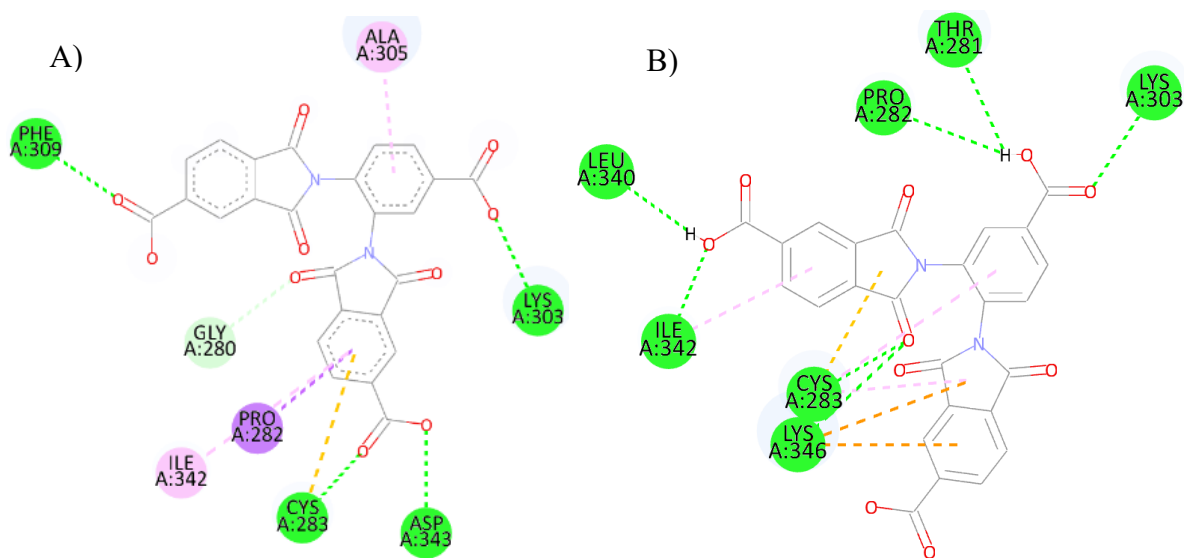


Figura 74: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo cJUN-34DITA; A) AutoDock, B) Gold

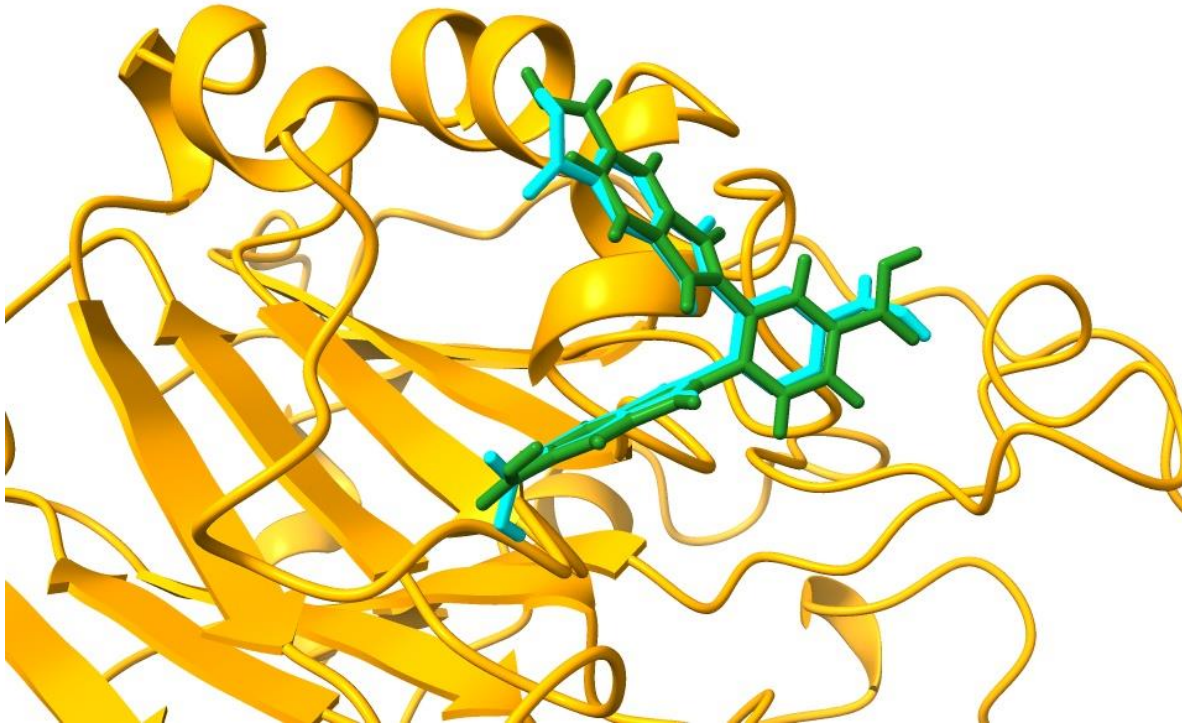


Figura 75: Comparación del acoplamiento molecular APEX1-34DITA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

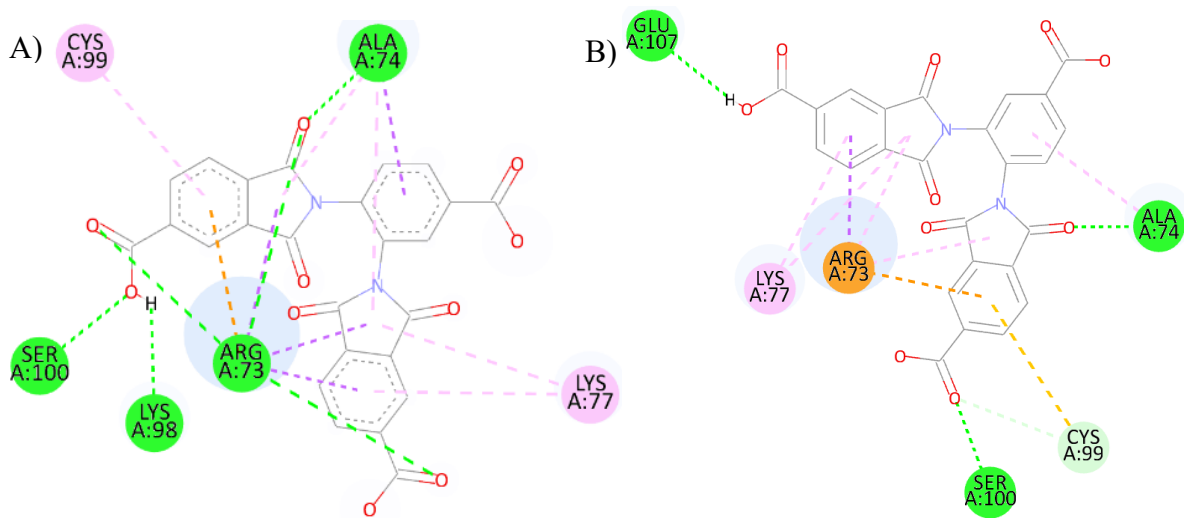


Figura 76: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo APEX1-34DITA; A) AutoDock, B) Gold

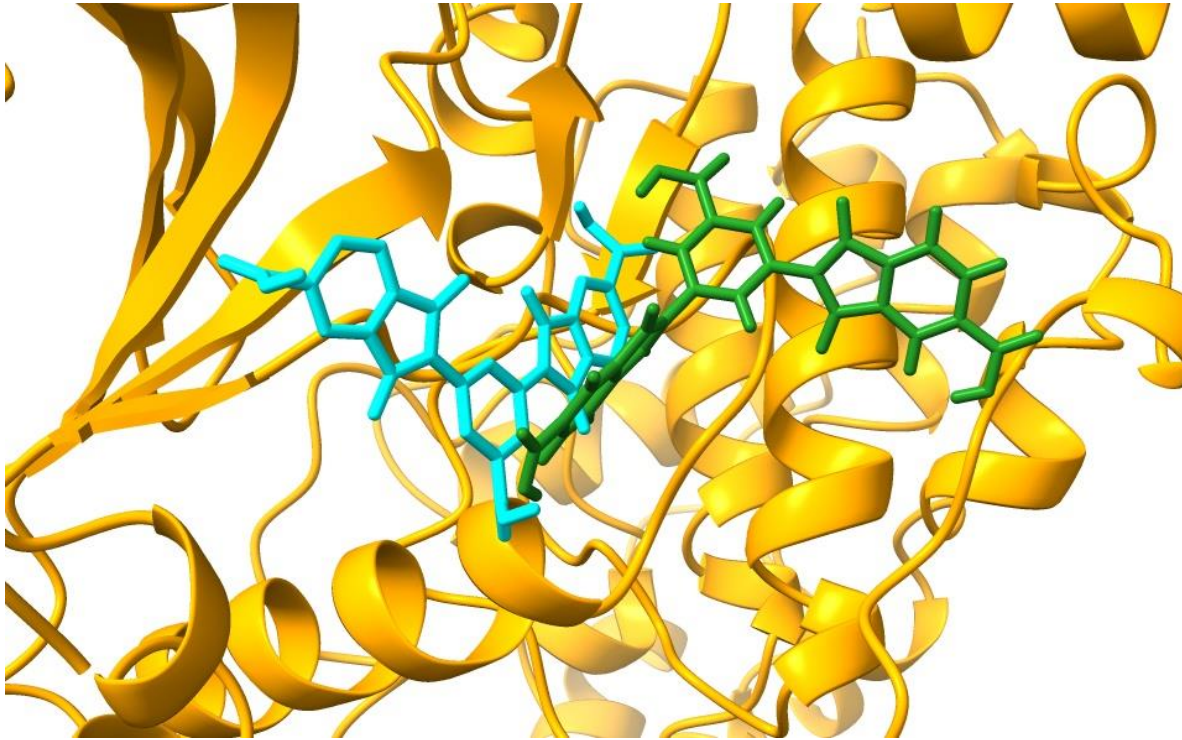


Figura 77: Comparación del acoplamiento molecular MAPK1-35DITA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

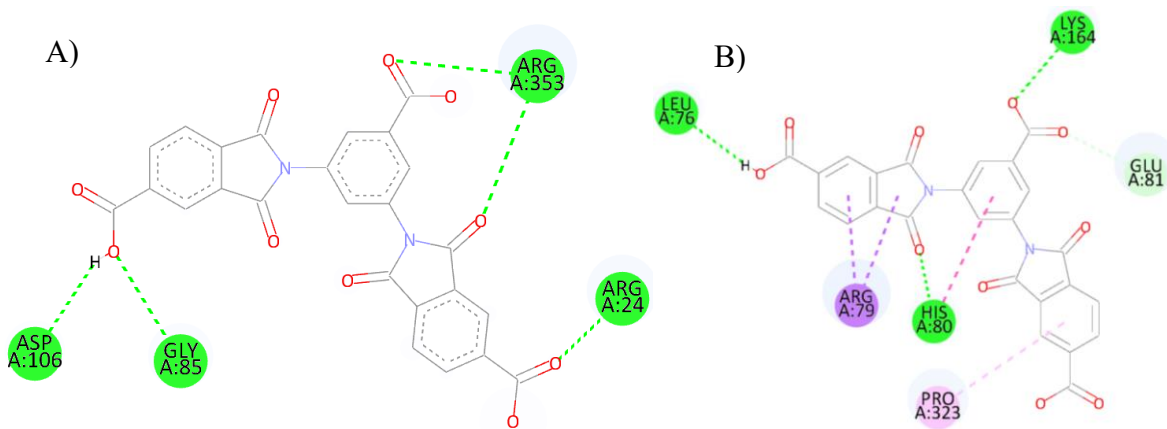


Figura 78: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo MAPK1-35DITA; A) AutoDock, B) Gold

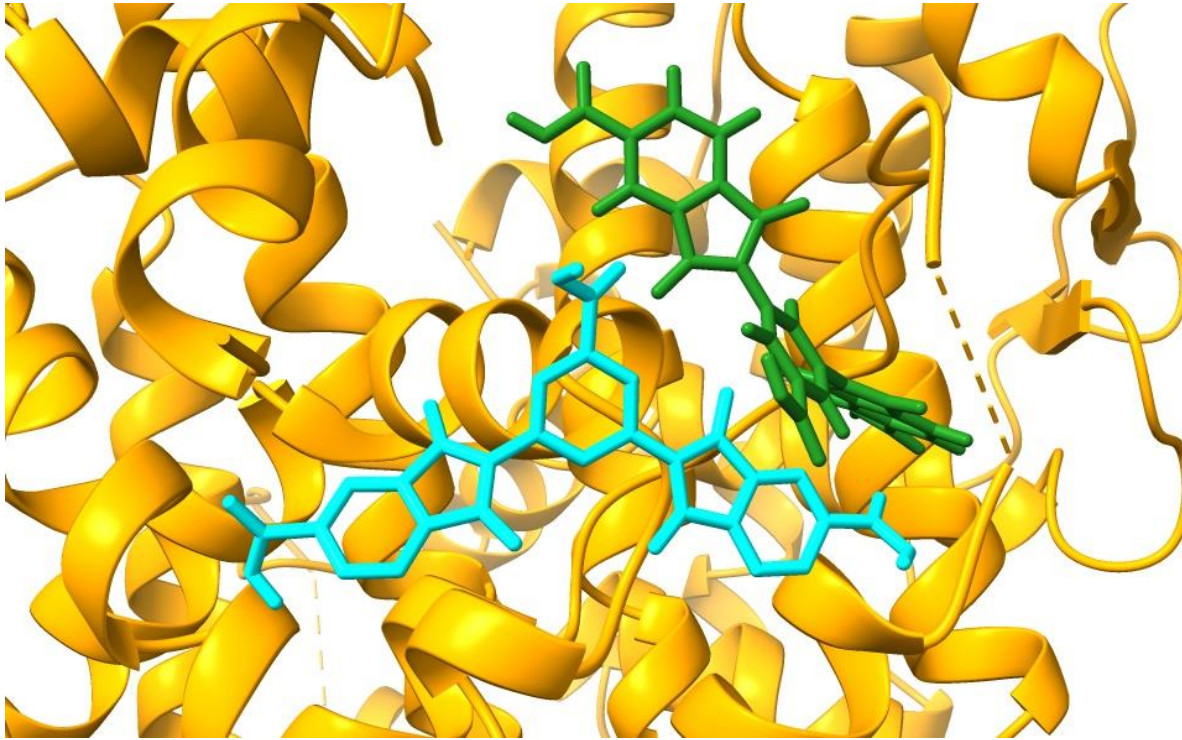


Figura 79: Comparación del acoplamiento molecular ESR2-35DITA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

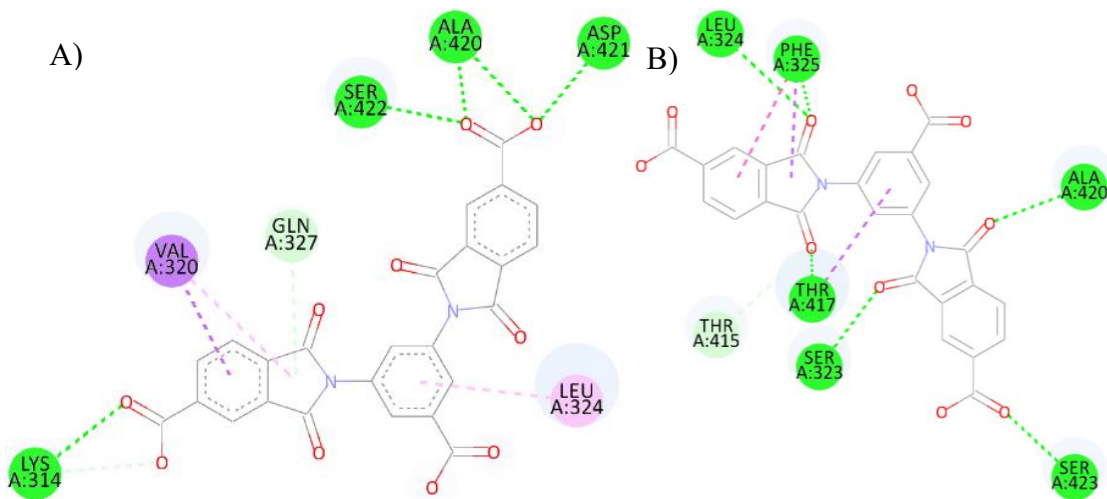


Figura 80: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo ESR2-35DITA; A) AutoDock, B) Gold

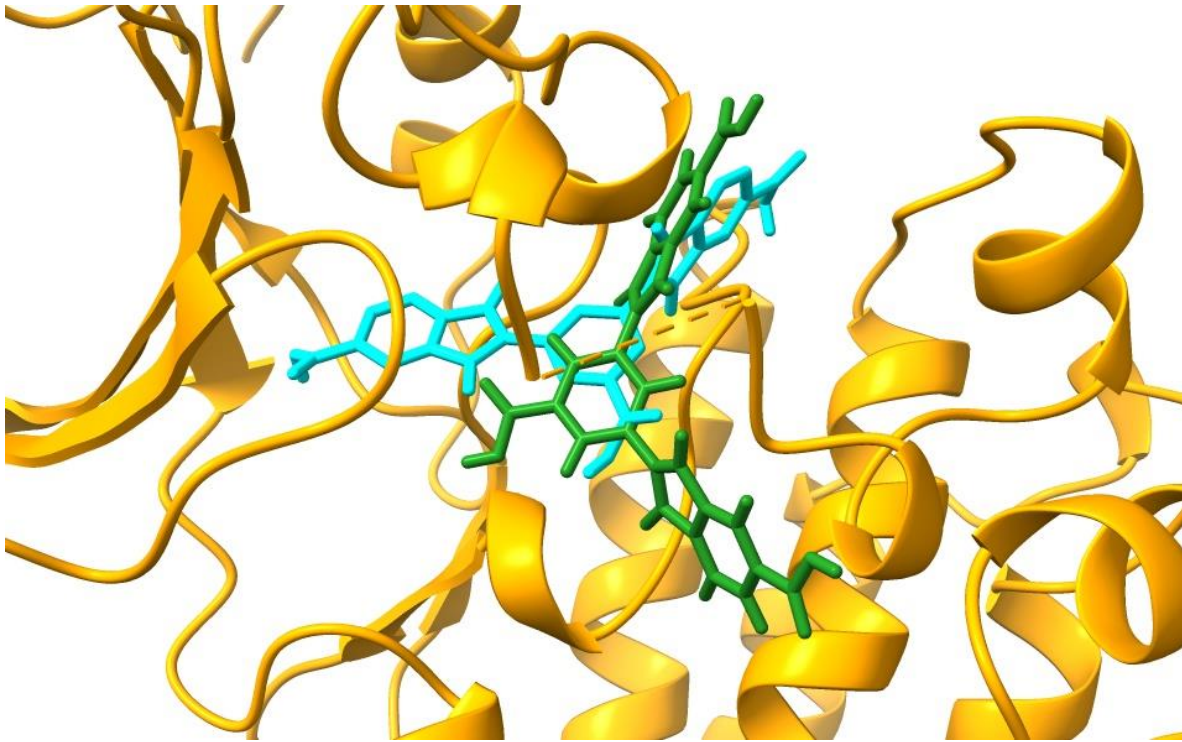


Figura 81: Comparación del acoplamiento molecular Src-35DITA (en cian se muestra el resultado de AutoDock y en verde el de Gold)

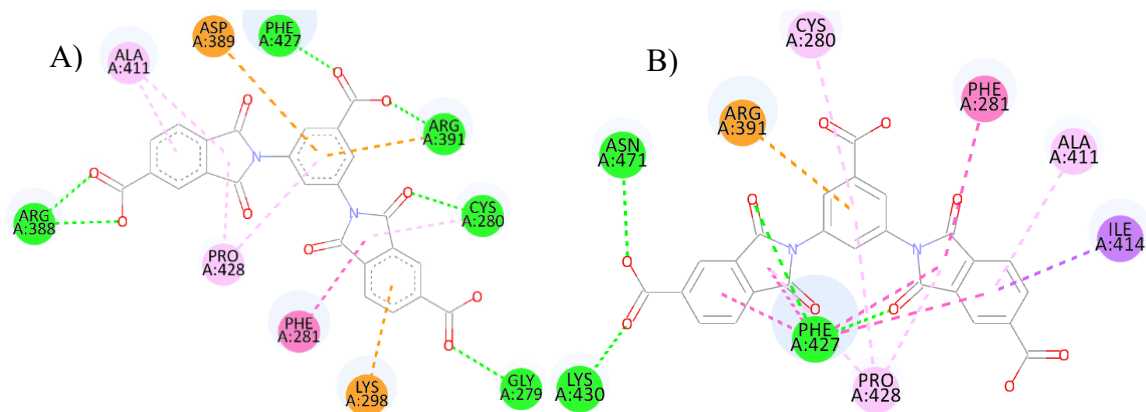


Figura 82: Comparación de las interacciones resultantes para el complejo Src-35DITA; A) AutoDock, B) Gold

Si bien, los resultados de ambos programas resultaron en que las macromoléculas terminaron en el mismo sitio de interacción de las proteínas, existen algunas diferencias notorias, en el caso del complejo MAPK1-oDIDA el resultado de Gold arrojó menos interacciones que el de AutoDock, se presentaron solamente 2 enlaces de hidrógeno y uno electrostático mientras que en AutoDock se presentaron 5 y más enlaces electrostáticos, esto se debe a que, en AutoDock la oDIDA entró más en la proteína por la parte del anillo aromático central, mientras que, en Gold solo uno de los radicales fue el que entró a la proteína y el resto de la

molécula se quedó en la superficie. En el caso de GSK3 α -oDIDA, se puede observar que en ambos casos la macromolécula queda en el mismo sitio, solo que en Gold los radicales tienen un acomodo espacial ligeramente diferente, pero, en el caso de enlaces de hidrógeno se mantuvieron iguales en ambos casos, las interacciones predominantes fueron para arginina 159 y, en Gold se encontró una interacción hidrofóbica en fenilalanina 156 la cual no se obtuvo con AutoDock. Si bien en el complejo ESR2-oDIDA la molécula se más alejada que en el acoplamiento original, las interacciones se muestran igualmente favorables, utilizando Gold se encontraron interacciones hidrofóbicas con alanina 420 y prolina 412 y, en el caso de treonina 415, con AutoDock resultó un enlace con carbono mientras que con Gold se formó un enlace de hidrógeno, la razón de esto es el oxígeno aceptor que realizó el enlace, en el primer caso corresponde al del grupo ácido, mientras que, en el segundo al grupo imida.

Por otra parte, el complejo GSK3 α -34DITA mostró una interacción similar al unirse en el mismo sitio con solo variaciones en la posición espacial de la macromolécula, por esta razón, los aminoácidos a los cuales se unió el compuesto cambian, pero, en cuestión de enlaces de hidrógeno se mantiene constante siendo la mejor interacción con arginina 159, aunque con Gold se encontró una interacción hidrofóbica con valina 150. El complejo cJUN-34DITA mostró una diferencia significativa en Gold puesto que, la molécula mantuvo la mayor parte de su estructura en la superficie de la proteína mientras que en AutoDock esto resulta contrario, la mayor parte de la macromolécula se posiciona más al fondo de la proteína, gracias a esta interacción los resultados de Gold se vuelven mejores ya que, genera 7 enlaces de hidrógeno contra 5 que originalmente se tienen, de igual forma las interacciones electrostáticas aumentaron, si bien estas son favorables para el complejo, como se mencionó previamente dependerán del medio en el que se encuentre el complejo. Finalmente, para APEX1-34DITA, las diferencias radican en la orientación que tienen los grupos ácidos del compuesto, debido a esto, las interacciones para arginina 73 con AutoDock resultaron con 3 enlaces de hidrógeno mientras que con Gold no se generó ninguno con este aminoácido.

Finalmente, en el caso de la comparación de los acoplamientos con 3,5-DITA, ninguno se solapó como con las macromoléculas anteriores, en el complejo con MAPK1, el compuesto tuvo una rotación de 180° y un desplazamiento hacia la derecha, aunque, se generaron en total 4 enlaces de hidrógeno contra los 5 que se tuvieron por AutoDock, un punto a resaltar es que la posición en la que se posicionó 3,5-DITA en Gold generó interacciones hidrofóbicas las cuales no existían anteriormente. El acoplamiento con la proteína ESR2 generó más enlaces de hidrógeno en Gold que en AutoDock, esto debido a la posición donde se situó el compuesto. Finalmente, el caso con la proteína Src, ambos acoplamientos tuvieron una mayor similitud, se puede observar que con Gold la molécula se posiciona ligeramente por debajo de AutoDock pero, se tiene una rotación de esta de 45°, este cambio originó una menor cantidad en los enlaces de hidrógeno y una mayor cantidad en las interacciones hidrofóbicas, para el caso de fenilalanina 427 se generaron muchas más interacciones, arginina 391 solo presentó el enlace electrostático y prolina 428 presentó mayor interacción.

Resultados *in silico* para el átomo de oro

Debido a que AutoDock no reconoce como tal al átomo de oro dentro de los parámetros para realizar un docking, primero fue necesario introducir nuevos parámetros al programa para conocer el sitio de unión más afín que tendrán las AuNPs dentro de las proteínas de la vía de señalización. Los parámetros fueron adicionados a los archivos “AD4_parameters.dat” y “AD4.1_bound.dat”, el primer archivo permite el reconocimiento del oro para la generación del grid durante el proceso del docking, mientras que el segundo permite que AutoDock reconozca dicho átomo en la generación del archivo “dlg” con el fin de calcular los valores de energía de Gibbs de unión ($-\Delta_{\text{bind}}G$). Adicionalmente, se tuvo que crear el archivo “PDBQT” para el oro de forma manual, se tomó como base otro archivo de la misma naturaleza generado para una de las moléculas estudiadas en la sección anterior.

Los datos introducidos en los archivos “dat” para el átomo de Au fueron los siguientes: atom_par Au 3.29 0.039 12.000 -0.00110 0.0 0.0 0 -1 -1 1 # Non H-bonding. Los resultados obtenidos para este docking se muestran en la Figuras 83-88, para las proteínas en donde las macromoléculas mostraron una mayor interacción.

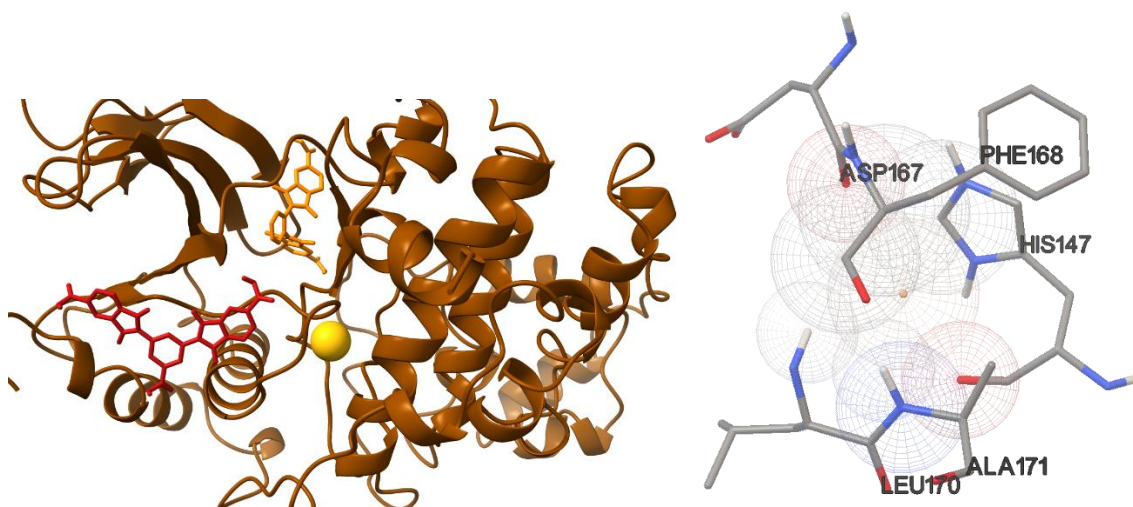


Figura 83: Sitio de unión para el átomo de Au en la proteína MAPK1 (en naranja se muestra el sitio de oDIDA y en rojo de 3,5-DITA)

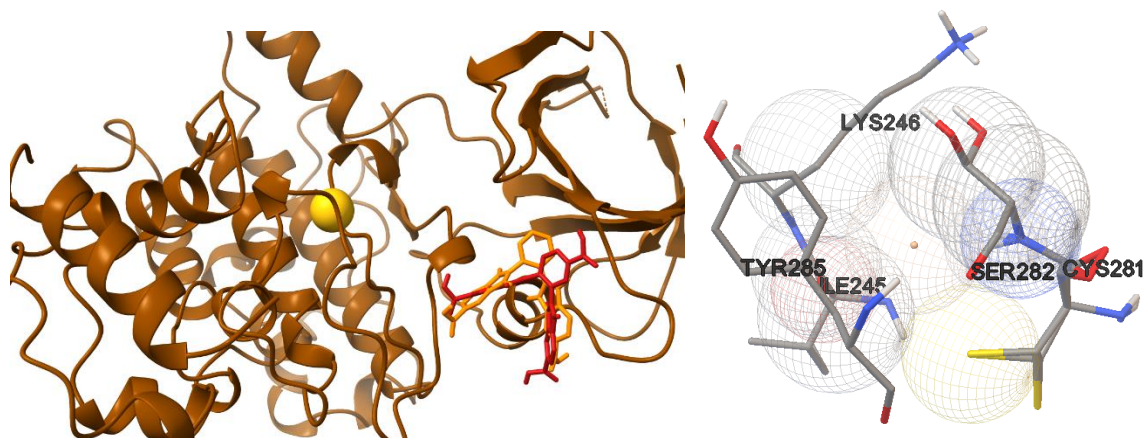


Figura 84: Sitio de unión para el átomo de Au en la proteína GSK3 α (en naranja se muestra el sitio de oDIDA y en rojo de 3,4-DITA)

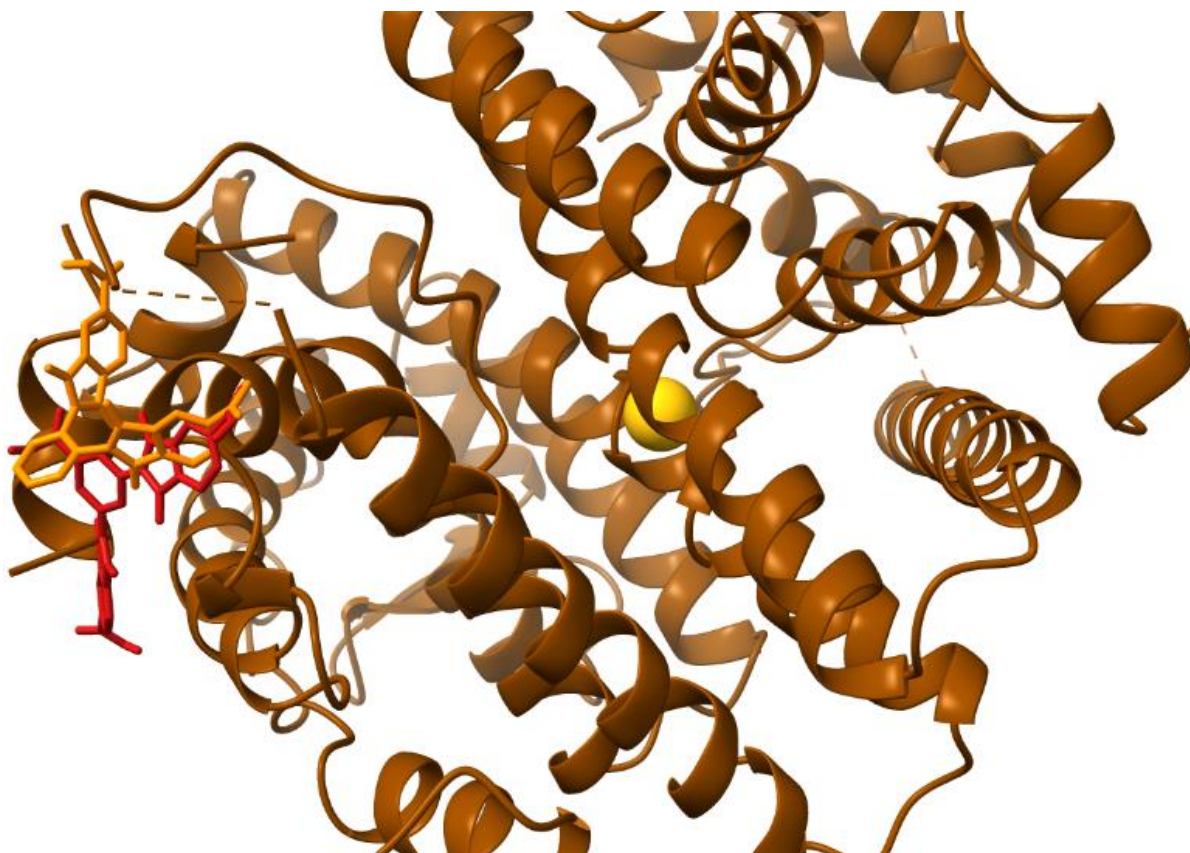


Figura 85: Sitio de unión para el átomo de Au en la proteína ESR2 (en naranja se muestra el sitio de oDIDA y en rojo de 3,5-DITA)

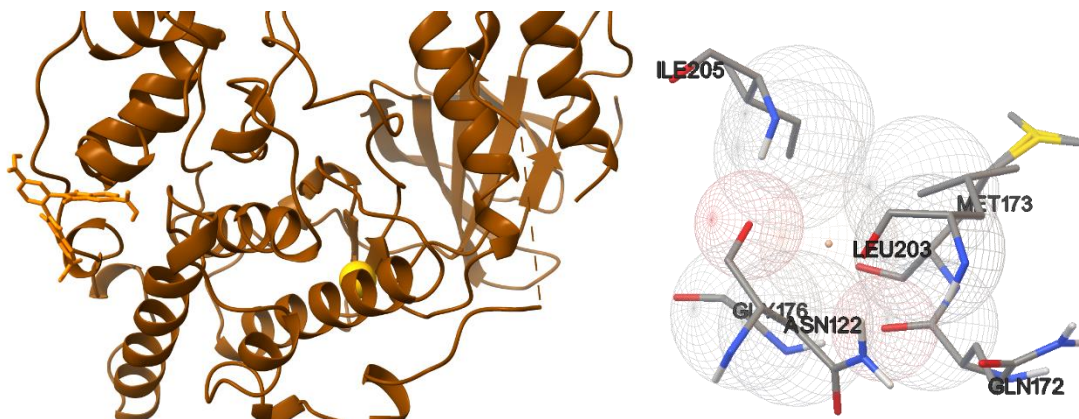


Figura 86: Sitio de unión para el átomo de Au en la proteína c-JUN (en naranja se muestra el sitio de 3,4-DITA)

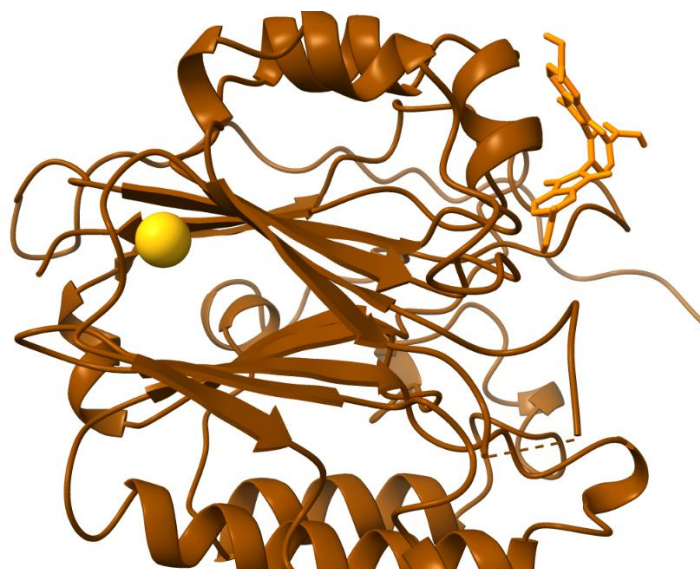


Figura 87: Sitio de unión para el átomo de Au en la proteína APEX1 (en naranja se muestra el sitio de 3,4-DITA)

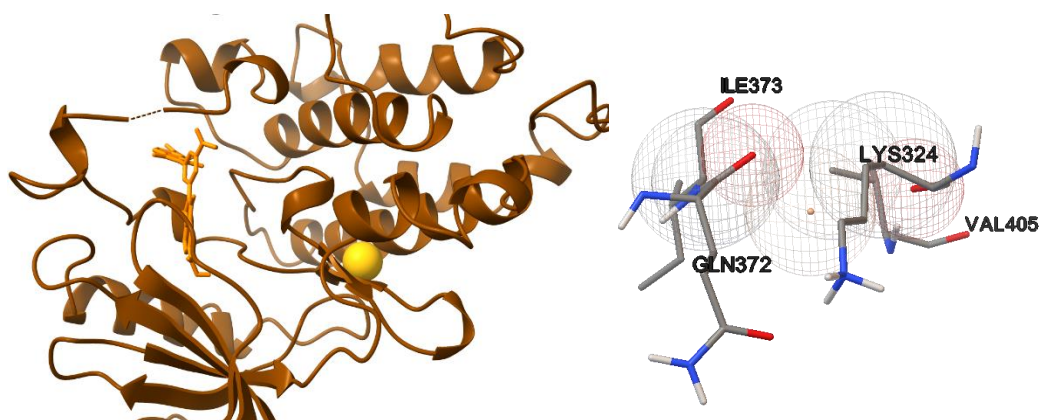


Figura 88: Sitio de unión para el átomo de Au en la proteína Src (en naranja se muestra el sitio de 3,5-DITA)

Para los acoplamientos realizados para el oro los valores de energía de unión rondan para todos los casos entre 0.15-0.25 kcal mol⁻¹, los valores tan bajos para esta energía no forzosamente representa una interacción débil con las proteínas, sino que se debe a que la simulación se realizó para un átomo neutro (en su forma de AuNP) en lugar de un átomo catiónico (como se encuentra en el precursor de oro), encontrar un valor para esta energía de unión se debe a que el oro tiene zonas cargadas eléctricamente en su superficie, es decir, que su campo eléctrico interactúa con algunos átomos de los aminoácidos.

En el caso de la MAPK1, GSK3 α y Src, se nota que tanto las macromoléculas como el oro se posicionaron dentro de un sitio de interacción similar, esto indica que dentro de los experimentos *in vitro* tanto el electrolito como las AuNPs se dirigirán al mismo sitio de acción para estas proteínas, esto podría estudiarse más a fondo mediante dinámica molecular y daría una idea más clara del mecanismo de acción. Por otro lado, en el resto de las proteínas se aprecia que las nanopartículas y las moléculas se encuentran en sitios diferentes, de esta forma sería posible inhibir a una menor concentración para producir el mismo efecto.

Consenso farmacológico

Finalmente, se predijeron las características fisicoquímicas de los compuestos estudiados, para ello se utilizó el programa SwissADME, el programa se centra sobre seis propiedades, las cuales son lipofilicidad, tamaño, polaridad, solubilidad, saturación y flexibilidad (Figura 89). Se muestra que las moléculas estudiadas poseen un alto grado de insaturación puesto que presentan muchos anillos aromáticos en su estructura, de igual forma la polaridad se sale de la escala normal dado que presentan una gran cantidad de átomos de oxígeno y nitrógeno (> 10 átomos polares a partir de la regla de Lipinski), el tamaño de las moléculas se encuentra en la barrera de lo normal para un fármaco, esto es bueno no superarlo puesto que al compuesto le costaría más trabajo atravesar la doble bicapa lipídica de una célula, se aprecia, además, que los compuestos son poco flexibles por lo mencionado anteriormente y tienen una lipofilicidad parecida a los fármacos convencionales, esto nuevamente puede ayudarlos a atravesar la bicapa lipídica.

Otras propiedades fisicoquímicas se muestran en la Tabla 17, es notorio que todas las macromoléculas no traspasan la barrera hematoencefálica, lo cual no representa un riesgo en su aplicación sobre el cuerpo humano, la desventaja es que, de igual forma presentan una absorción gastrointestinal baja debido a su alta área superficial topológica (> 140 Å²), lo anterior debido a la cantidad de átomos polares, para el caso de la DIDA 2 N y 8 O, mientras que para las DITAs 2 N y 10 O, por lo que, los compuestos no pueden ser administrados de forma oral sino que deben ser de forma intravenosa (en su forma de electrolito), los valores de solubilidad 0.0372 y 0.0547 mg/mL indican una baja solubilidad en agua lo cual puede afectar su biodisponibilidad oral, los valores del logaritmo de permeabilidad en piel corroboran que todas las macromoléculas estudiadas tienen una baja permeabilidad por lo cual deben ser administrados de forma intravenosa, al indicar que no existe una inhibición del citocromo, esto sugiere un bajo riesgo de interacciones metabólicas con otros fármacos, de igual manera para PGP, se indica que los compuestos no son expulsados activamente por este sustrato, por lo que, su eliminación del cuerpo no está influenciada por este transportador

lo que sugiere un metabolismo y eliminación más simples, además, solo las DITAs rompen dos reglas de Lipinski, esto debido a la cantidad de átomos aceptores (oxígenos) y a la masa molar de los compuestos. Finalmente, en la Figura 90 se muestra el diagrama del huevo hervido, mostrando que los compuestos no traspasan la barrera hematoencefálica (ya que no aparecen en la yema de huevo) y que tienen una baja absorción gastrointestinal (ya que no aparecen en la clara) pero, de los tres compuestos en cuestión, la oDIDA es la que más se acerca a poder ser absorbida gastrointestinalmente, lo cual implicaría el uso de esta molécula de forma oral.

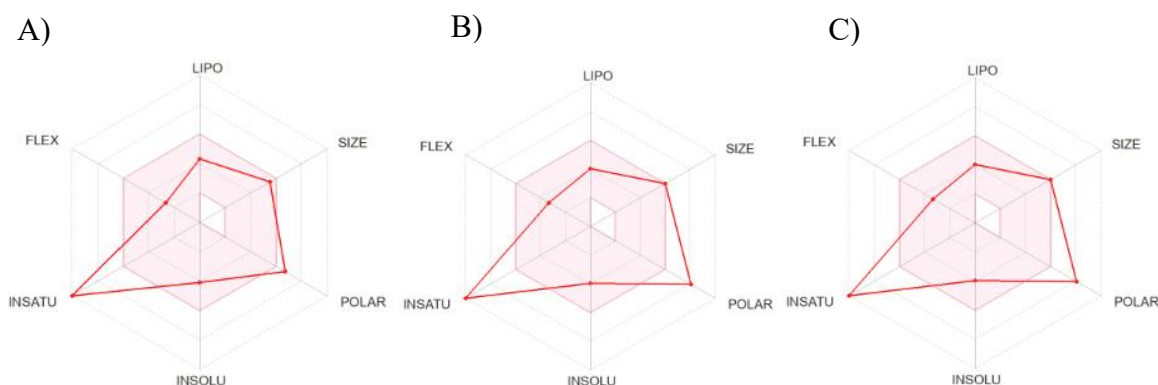


Figura 89: Gráfico de radar que muestra las seis propiedades fisicoquímicas predichas para los compuestos; A) oDIDA, B) 3,4-DITA y C) 3,5-DITA

Tabla 17: Perfil farmacocinético predicho para los compuestos investigados

| Compuesto | TPSA ^a | GIA ^b | Sol ^c | Log <i>K</i> _p ^d | ICYP ^e | PGP ^f | BBB ^g | LP ^h |
|-----------|-------------------|------------------|------------------|--|-------------------|------------------|------------------|-----------------|
| oDIDA | 149.36 | Bajo | 0.0372 | -7.63 | No | No | No | 0 |
| 3,5-DITA | 186.66 | Bajo | 0.0547 | -8.24 | No | No | No | 2 |
| 3,4-DITA | 186.66 | Bajo | 0.0547 | -8.24 | No | No | No | 2 |

^a Área de superficie polar topológica (Å²).

^b Absorción gastrointestinal.

^c Solubilidad (mg/mL).

^d Permeabilidad en piel (cm/s).

^e Inhibidor de CYP.

^f P-glicoproteína

^g Permeabilidad de la barrera hematoencefálica.

^h Lipinski (similar a un fármaco).

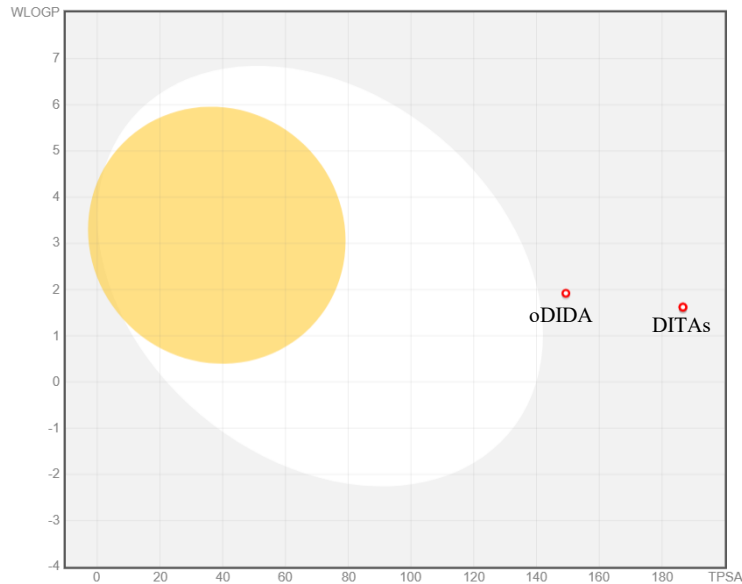


Figura 90: Gráfico del huevo hervido

Fase *in vitro*

Para esta fase se utilizaron las líneas celulares MDA-MB-231 y MCF-7, las cuales se cultivaron en cajas T25 hasta observar una confluencia del 80%, después se tripsinizaron y se pasaron a cajas T75 hasta alcanzar una confluencia del 80%, posteriormente las células se despegaron, se centrifugaron y se contabilizaron con el fin de saber la cantidad de células existentes por μL y con ello sembrar 6,000 células por pozo en la caja de 96 pozos. El procedimiento se explica en le Figura 91.

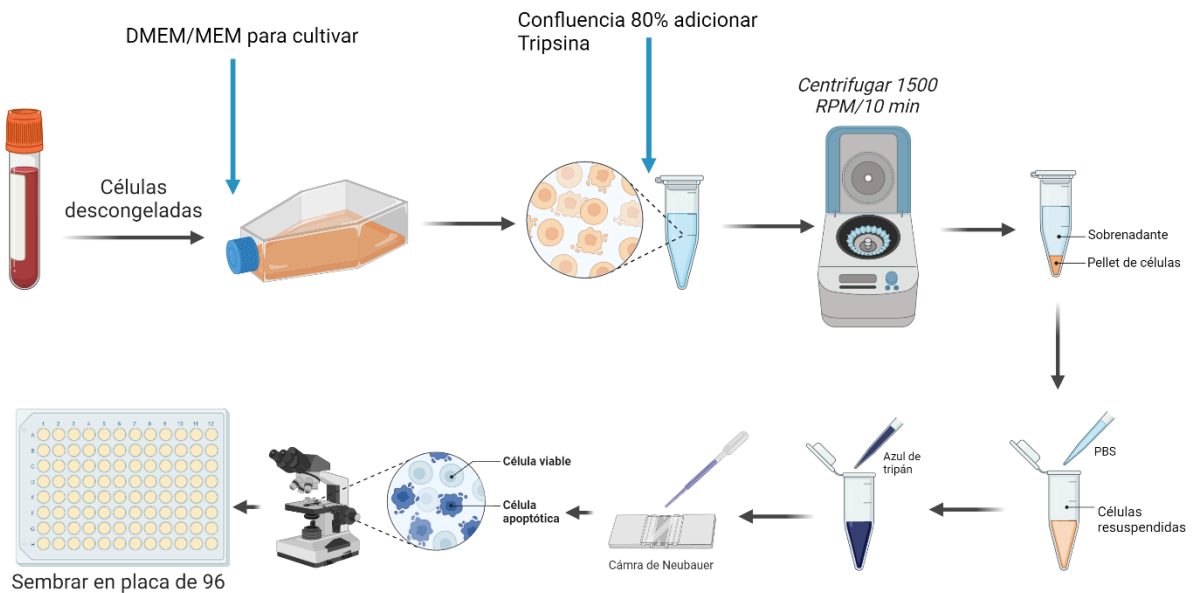


Figura 91: Procedimiento para el sembrado en placa de 96 pozos

Una vez realizado el procedimiento se encontró que para la línea MDA-MB-231 se contaba con un total de 340 células/ μL , mientras que, para MCF-7 se tuvo un total de 380 células/ μL , ambas líneas en un volumen total de 7mL En las Figuras 92 y 93 se muestra el cambio de las células recién sembradas y cuando estas crecen y se pegan a la caja (confluencia del 80%).

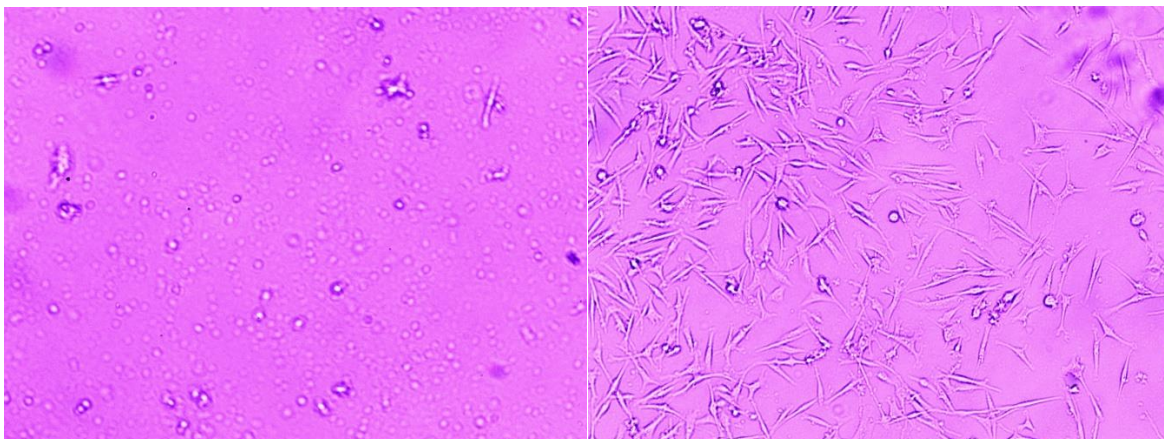


Figura 92: Línea celular MDA-MB-231. A) Recién sembradas, B) Confluencia al 80%

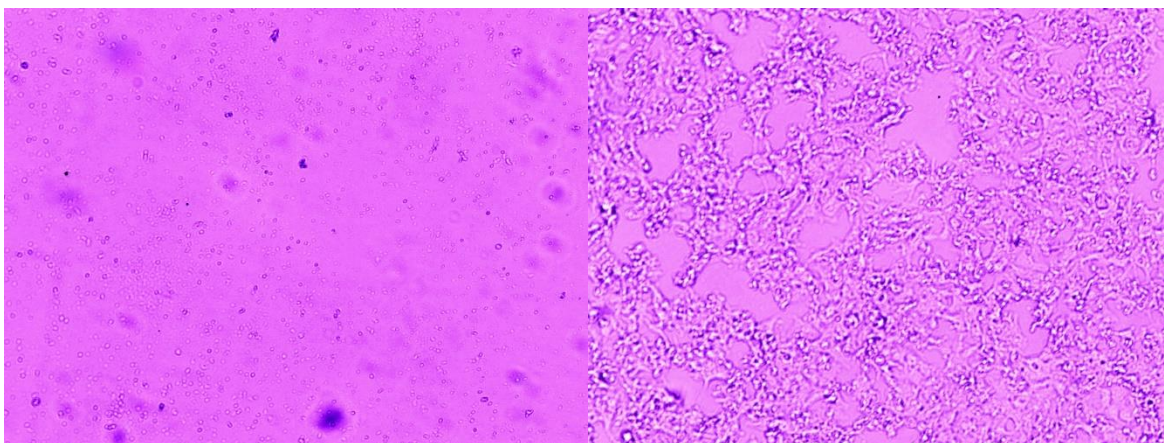


Figura 93: Línea celular MCF-7. A) Recién sembradas, B) Confluencia al 80%

Posterior a sembrar las células en la caja de 96 pozos, se retiró el medio de cultivo, se adicionaron los compuestos a probar y las AuNPs generadas por cada compuesto en concentraciones decrecientes (100 – 10 μM) y por triplicado, se complementó el volumen con medio suplementado hasta alcanzar los 200 μL y se incubó durante 24 horas. Finalmente, se utilizó el kit de proliferación celular XTT para medir la viabilidad celular, como control negativo se sembraron células a las cuales no se le aplicó ningún tratamiento. El procedimiento para el uso del XTT se encuentra explicado en la Figura 94.

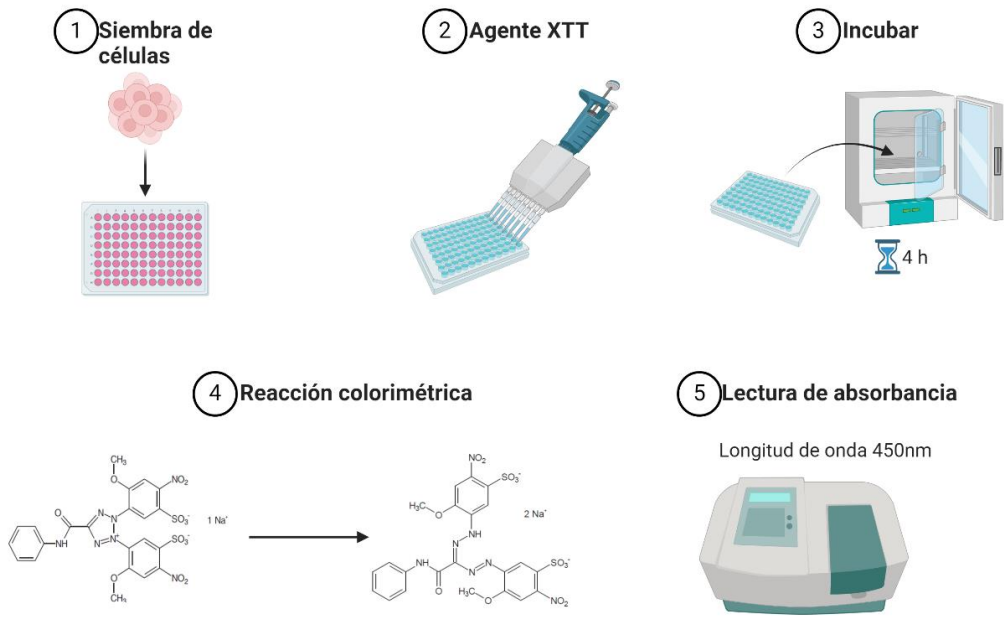


Figura 94: Ensayo de proliferación celular XTT

Adicionalmente, se realizó una prueba de normalidad Shapiro-Wilk con el fin de conocer si los datos encontrados son estadísticamente significativos, se utilizó un p valor de >0.05, posteriormente se realizó una prueba ANOVA con pruebas post hoc de Dunnett, Figuras 95-100. Los resultados se muestran en la Tabla 18.

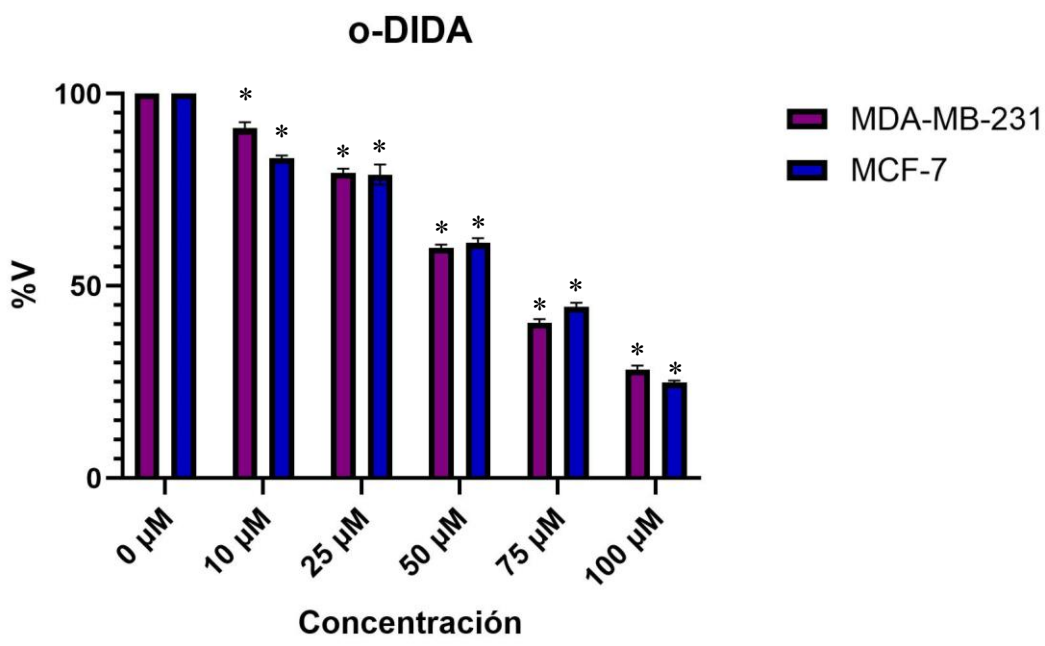


Figura 95: Efecto antiproliferativo de oDIDA sobre las líneas celulares
*p<0.05 vs control; ANOVA de una vía y post hoc de Dunnett

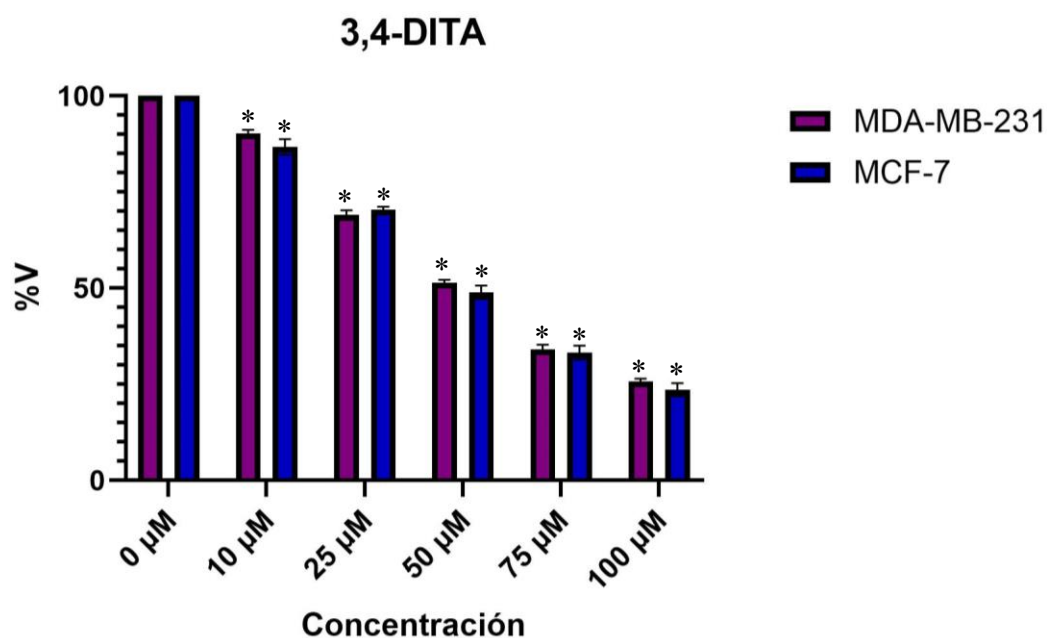


Figura 96: Efecto antiproliferativo de 3,4-DITA sobre las líneas celulares
 * $p < 0.05$ vs control; ANOVA de una vía y post hoc de Dunnett

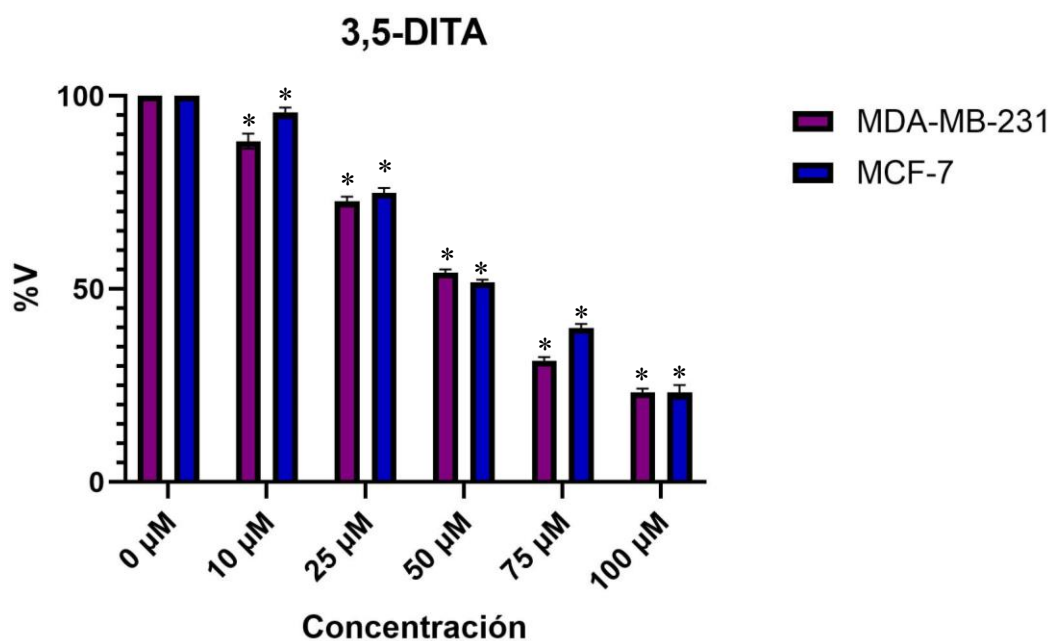


Figura 97: Efecto antiproliferativo de 3,5-DITA sobre las líneas celulares
 * $p < 0.05$ vs control; ANOVA de una vía y post hoc de Dunnett

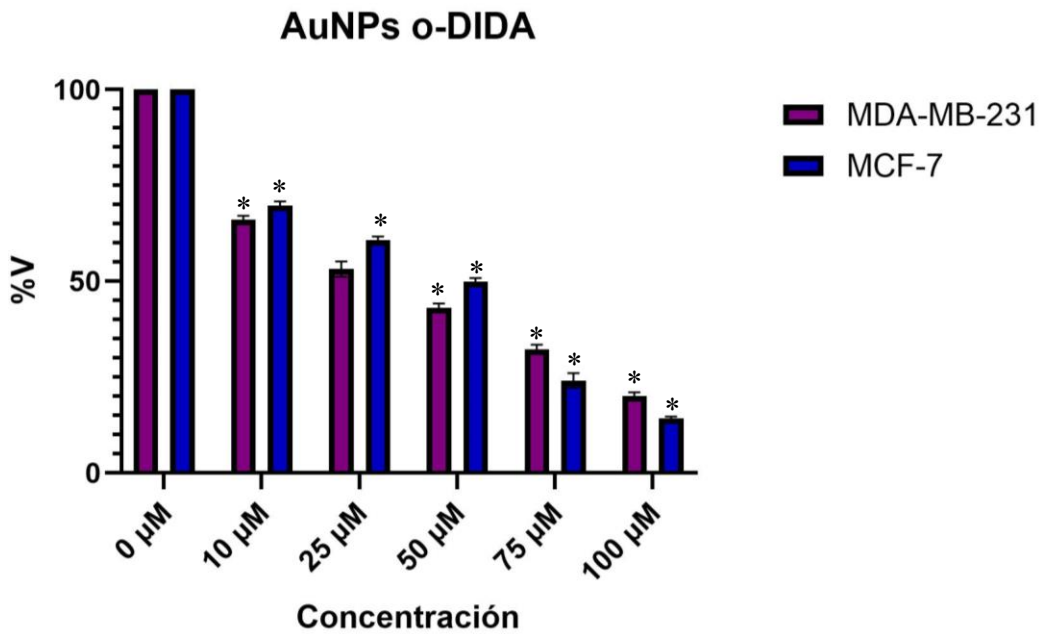


Figura 98: Efecto antiproliferativo de AuNPs oDIDA sobre las líneas celulares
 * $p < 0.05$ vs control; ANOVA de una vía y post hoc de Dunnett

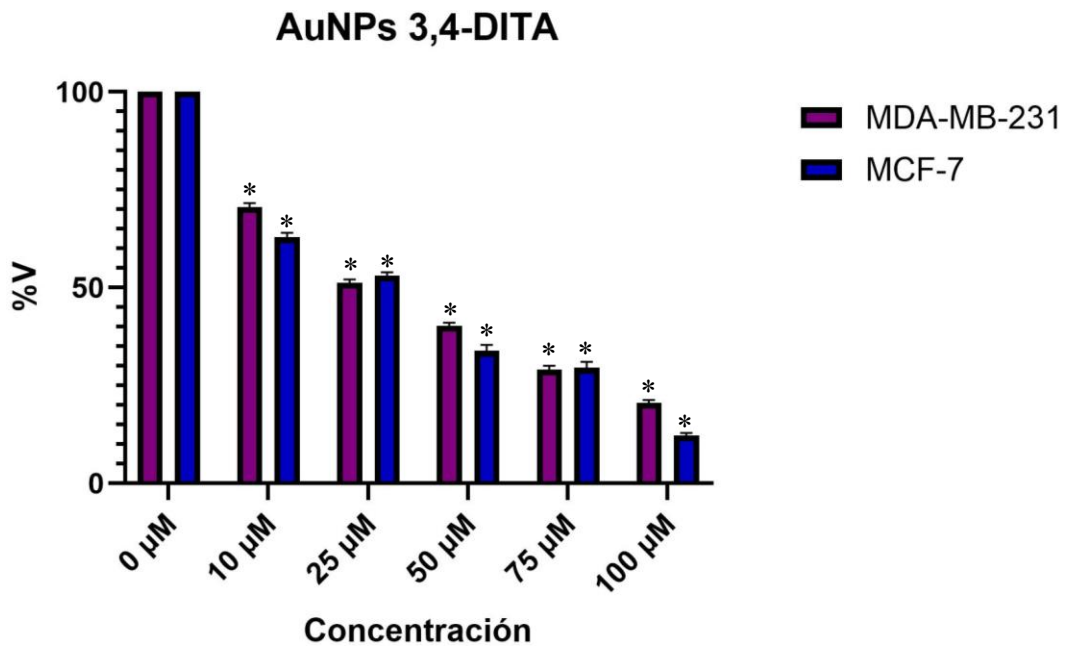


Figura 99: Efecto antiproliferativo de AuNPs 3,4-DITA sobre las líneas celulares
 * $p < 0.05$ vs control; ANOVA de una vía y post hoc de Dunnett

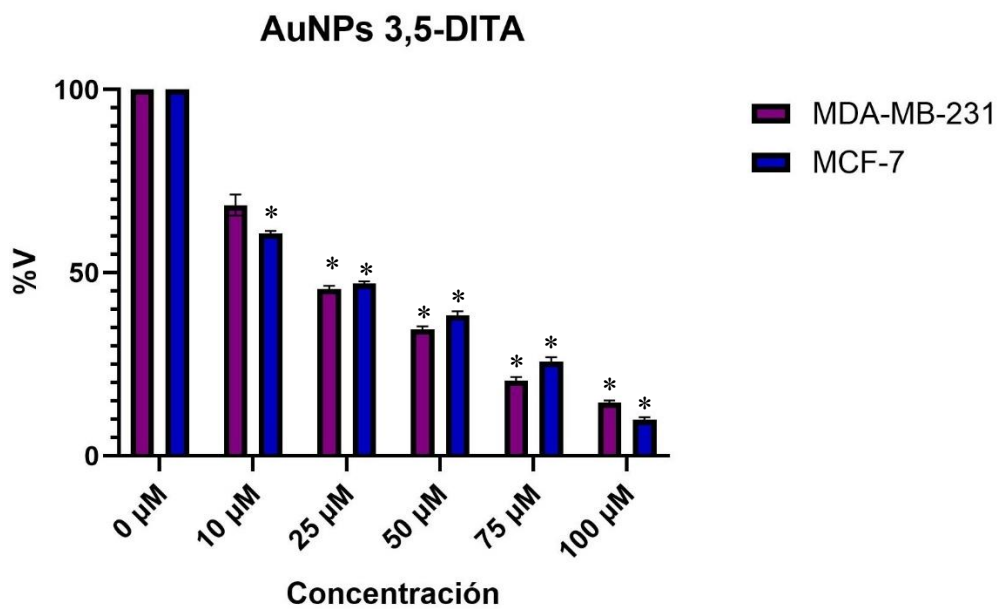


Figura 100: Efecto antiproliferativo de AuNPs 3,5-DITA sobre las líneas celulares
 * $p < 0.05$ vs control; ANOVA de una vía y post hoc de Dunnett

En las Figuras 95-100 se observó que, a partir de 10 μM ya se tuvo una disminución en la cantidad de células para ambas líneas, utilizando tanto las bisimidias como las AuNPs generadas por cada una.

En el caso de las nanopartículas obtenidas mediante los electrolitos, la 3,5-DITA fue la que presentó un efecto citotóxico mayor, esto debido al tamaño de partículas y los enlaces generados durante el acoplamiento (ver Fase *in silico*). Para las AuNPs formadas con oDIDA y 3,4-DITA si bien generaron un buen efecto este fue menor debido al tamaño de las nanopartículas sintetizadas.

Como puede notarse en la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk de la Tabla 18, todos los datos siguen una distribución normal ($p > 0.05$) por lo que fue posible realizar un ANOVA (Tabla 19). Para cada compuesto se presenta un valor F alto y un p-valor < 0.0001 , lo que indica que hay diferencias significativas entre los grupos comparados, por lo que, los compuestos tienen un efecto significativo en ambas líneas celulares, lo que sugiere que impactan en la viabilidad o el comportamiento de las células.

Tabla 18: Prueba de normalidad Shapiro-Wilk

| Compuesto | P valor MDA-MB-231 | P valor MCF-7 |
|----------------|--------------------|---------------|
| oDIDA | 0.5984 | 0.4635 |
| 3,4-DITA | 0.3347 | 0.2469 |
| 3,5-DITA | 0.3143 | 0.3198 |
| AuNPs oDIDA | 0.4756 | 0.2260 |
| AuNPs 3,4-DITA | 0.4132 | 0.4066 |
| AuNPs 3,5-DITA | 0.3873 | 0.5505 |

Tabla 19: Prueba ANOVA

| Compuesto | MDA-MB-231 | MCF-7 |
|----------------|--------------------|--------------------|
| oDIDA | F=473.3, p<0.0001 | F=264.2, p<0.0001 |
| 3,4-DITA | F= 614.1, p<0.0001 | F=217.9, p<0.0001 |
| 3,5-DITA | F=413.9, p<0.0001 | F= 451.0, p<0.0001 |
| AuNPs oDIDA | F= 165.2, p<0.0001 | F= 350.9, p<0.0001 |
| AuNPs 3,4-DITA | F= 445.7, p<0.0001 | F= 271.8, p<0.0001 |
| AuNPs 3,5-DITA | F= 190.2, p<0.0001 | F= 430.2, p<0.0001 |

Finalmente, en la Tabla 20 se presentan las IC₅₀ (concentraciones inhibitoras medias) para cada compuesto en ambas líneas celulares, estas concentraciones fueron probadas en la línea MCF-10A con el fin de conocer lo que los compuestos pueden hacerle a epitelio de mama sano. Se observa que para el caso de la oDIDA se presentan concentraciones similares, por tanto solo se utilizó la más alta (65.74 ± 1.06) para la realización del experimento, de forma general todos los electrolitos presentan una interacción similar en ambas líneas de cáncer al afectar su viabilidad celular, por otro lado, en el caso de las AuNPs ocurre lo mismo, esto puede deberse al exceso de electrolito presente en cada prueba, al eliminar este exceso posiblemente se podría apreciar un cambio mayor entre ambas IC₅₀ pero, dado que las AuNPs tienden a precipitar en menos de 1 día una vez eliminado el exceso de fase orgánica este experimento no pudo llevarse a cabo.

Tabla 20: IC₅₀ de los compuestos probados en μM

| Compuesto | MDA-MB-231 | R ² MDA-MB-231 | MCF-7 | R ² MCF-7 |
|----------------|---------------------|---------------------------|-------------------------------|----------------------|
| oDIDA | 65.74 ± 1.06 | 0.9906 | 65.24 ± 1.14 | 0.9890 |
| 3,4-DITA | 47.76 ± 3.45 | 0.9472 | 45.03 ± 3.33 | 0.9444 |
| 3,5-DITA | 57.42 ± 1.63 | 0.9750 | 61.28 ± 1.96 | 0.9659 |
| AuNPs oDIDA | 37.44 ± 1.52 | 0.9812 | 42.25 ± 1.67 | 0.9753 |
| AuNPs 3,4-DITA | 28.18 ± 1.18 | 0.9749 | 30.32 ± 2.24 | 0.9668 |
| AuNPs 3,5-DITA | 21.62 ± 0.94 | 0.9769 | 26.29 ± 1.67 | 0.9832 |
| Cisplatino | 433.26 ^a | - | 96.34 ± 0.81 ^b | - |

^a Tomado de la referencia [129], ^b Tomado de la referencia [130]

Prueba en la línea MCF-10A

En las células de la línea MCF-10A, las cuales corresponden a epitelio normal de mama se probaron tanto las macromoléculas como las nanopartículas de oro a las concentraciones inhibitoras medias (IC₅₀) con el fin de conocer la interacción que tienen los compuestos sobre células sanas. Los resultados se muestran en la Figura 101 y Tabla 21.

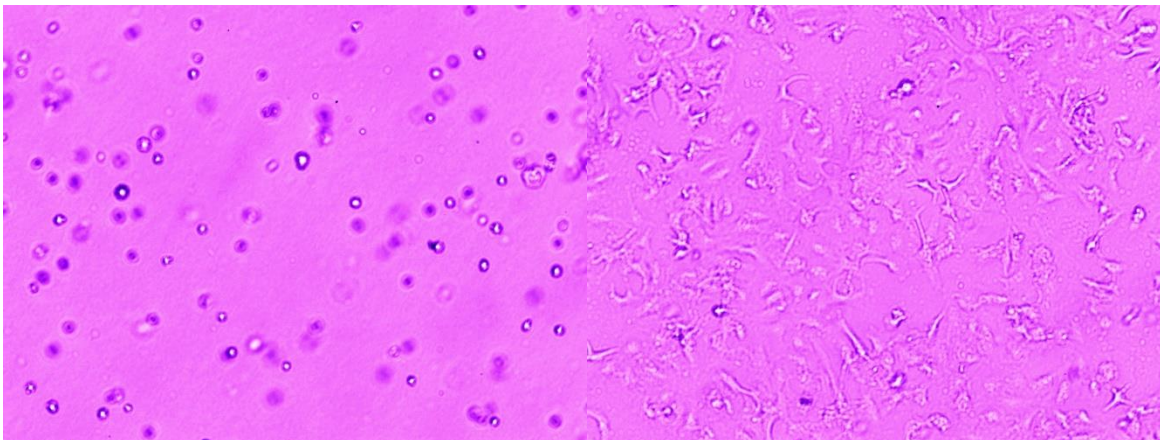


Figura 101: Línea celular MCF-10A. A) Recién sembradas, B) Confluencia al 80%

Tabla 21: Viabilidad celular de MCF-10A a partir de IC_{50} obtenido de los compuestos probados en MDA-MB-231 y MCF-7

| Línea celular | Compuesto | IC_{50} (μ M) | %V en MCF-10A |
|---------------|-------------------------|----------------------|------------------|
| MDA-MB-231 | oDIDA | 65.74 | 95.13 \pm 1.38 |
| | 3,4-DITA | 47.76 | 93.85 \pm 1.27 |
| | 3,5-DITA | 57.42 | 92.31 \pm 2.18 |
| | AuNPs oDIDA | 37.44 | 91.79 \pm 2.12 |
| | AuNPs 3,4-DITA | 28.18 | 94.36 \pm 1.11 |
| | AuNPs 3,5-DITA | 21.62 | 94.62 \pm 1.08 |
| | Cisplatino ^a | 433.26 | - |
| MCF-7 | oDIDA | 65.24 | 95.64 \pm 1.35 |
| | 3,4-DITA | 45.03 | 96.41 \pm 2.26 |
| | 3,5-DITA | 61.2 | 93.59 \pm 1.17 |
| | AuNPs oDIDA | 42.25 | 94.36 \pm 2.14 |
| | AuNPs 3,4-DITA | 30.32 | 96.41 \pm 2.11 |
| | AuNPs 3,5-DITA | 26.29 | 96.92 \pm 2.10 |
| | Cisplatino ^b | 96.34 \pm 0.81 | - |

^a Tomado de la referencia [131], ^b tomando de la referencia [132].

De esta forma se muestra que, tanto para los electrolitos como sus nanopartículas, sus IC_{50} se encuentran por debajo de lo ya reportado actualmente y comercializado para este tipo de enfermedades como lo es el Cisplatino, a partir de este análisis se comprueba que el mejor electrolito para ambas líneas celulares fue la 3,4-DITA dada su baja concentración y la viabilidad generada en MCF-10A, este efecto en comparación con las otras dos macromoléculas puede deberse al potencial electrostático dentro de la molécula que crece dada la repulsión generada por el impedimento estérico. Por otro lado, en las nanopartículas se encontró que las mejores fueron las generadas por la 3,5-DITA, lo anterior dado el tamaño obtenido por estas, cabe recalcar que la literatura muestra que en el caso de nanomedicina se prefieren tamaños mayores a 10 nm y menores a 100 nm para AuNPs.

Predicción de propiedades termoquímicas

Con base en la metodología de grupos funcionales propuesta por Benson se creó un conjunto de datos utilizando tanto ácidos carboxílicos como imidas, al conjunto de datos se le adicionaron valores experimentales de entalpía de formación en fase gaseosa, cristalina, entalpía de combustión y de sublimación, a los grupos funcionales se le adicionaron parámetros como la posición de los radicales dentro de la molécula y correcciones por aromaticidad ya que, el modelo original de Benson no contempla estos aspectos.

Se utilizaron los modelos SVR y KRR en donde, primero se fijó el hiperparámetro “random state” con el fin de poder tener resultados repetitivos, para ello se realizó una prueba en donde se probaron 1000 diferentes valores posibles para este, y se escogió la semilla donde se encontrara la mayor tasa de aprendizaje, es decir, aquella en donde las métricas de evaluación fueran las mejores tanto para el conjunto de entrenamiento como el de prueba, esta semilla fue diferente para cada predicción, es decir, se fijaron semillas tanto para la predicción de la fase gaseosa, cristalina, combustión y sublimación.

Empezando por la predicción de la entalpía de formación en la fase gaseosa, se contemplaron un total de 71 datos experimentales en el estado estándar y a 298.15K, por lo que, el valor de la predicción también se encontrará bajo esas condiciones. Para SVR se utilizó la técnica de evaluación sin reemplazo Hold Out (70/30) con la semilla 96 y un núcleo lineal, mientras que para KRR con la semilla 200. Las métricas de evaluación, así como los gráficos generados se presentan a continuación.

Tabla 22: Métricas de evaluación para cada modelo en la predicción de $-\Delta_f H^\circ$ (g, 298.15K)

| SVR | | | | | | | | |
|----------------|--------|--------|-----|--------|--------|------|--------|---------|
| | E | P | | E | P | | E | P |
| R ² | 0.9996 | 0.9982 | MAE | 2.0627 | 7.6388 | RMSE | 4.1354 | 9.4122 |
| KRR | | | | | | | | |
| | E | P | | E | P | | E | P |
| R ² | 0.9992 | 0.9977 | MAE | 4.3325 | 8.0945 | RMSE | 6.282 | 10.1114 |

E: conjunto de entrenamiento, P: conjunto de prueba.

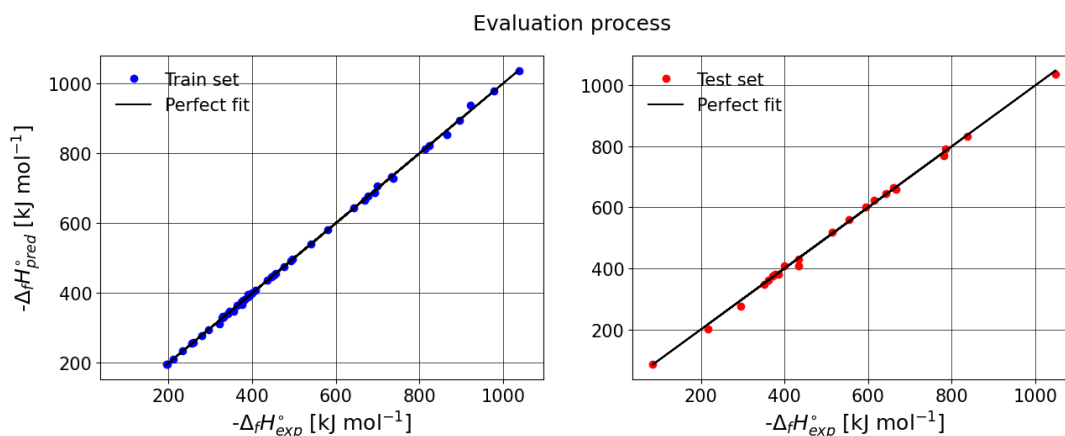


Figura 102: Comparación entre entrenamiento y prueba para $-\Delta_f H^\circ$ (g, 298.15K) con SVR

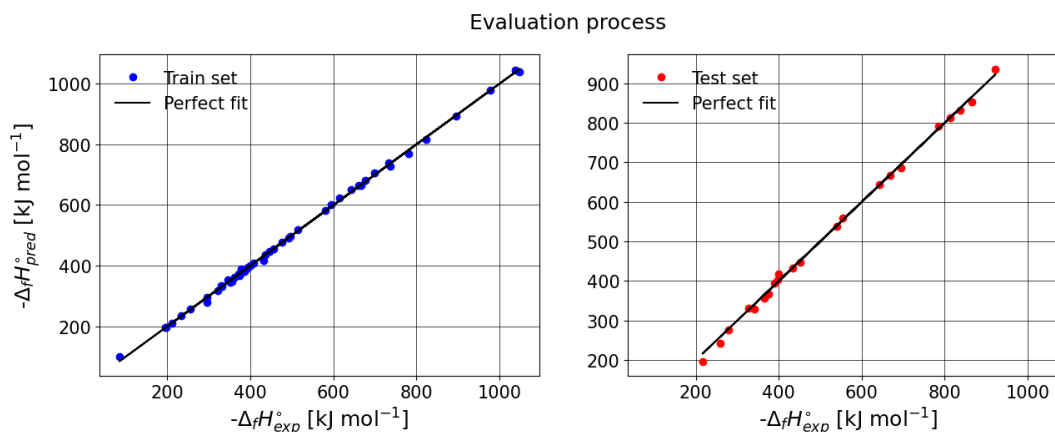


Figura 103: Comparación entre entrenamiento y prueba para $-\Delta_f H^\circ(\text{g}, 298.15\text{K})$ con KRR

Como se puede observar tanto en la Tabla 22 y en las Figuras 102-103, los resultados son muy similares cuando se habla de predicción y métricas de evaluación, ambos modelos presentan un coeficiente de determinación elevado por lo que, no existe un sobreajuste dentro de los modelos y es posible realizar predicciones para las moléculas estudiadas. Los resultados se muestran en la Tabla 23.

Tabla 23: $-\Delta_f H^\circ(\text{g}, 298.15\text{K})$ predichas para los compuestos sintetizados en kJ mol^{-1}

| Compuesto | SVR | KRR |
|-----------|--------|--------|
| oDIDA | 1024.9 | 1027.3 |
| 3,4-DITA | 1403.9 | 1400.7 |
| 3,5-DITA | 1417.9 | 1416.6 |

Por otro lado, para la predicción de la entalpía de formación en la fase cristalina se utilizaron un total de 84 valores experimentales repartidos entre los compuestos orgánicos previamente mencionados, tanto para SVR como KRR se utilizó la semilla 116 bajo los mismos criterios previamente establecidos. Las métricas de evaluación, así como los diagramas de paridad tanto para el conjunto de entrenamiento y prueba se presentan en la Tabla 24 y Figuras 104-105.

Tabla 24: Métricas de evaluación para cada modelo para $-\Delta_f H^\circ(\text{cr}, 298.15\text{K})$

| | | SVR | | | | KRR | | | |
|-------|--------|--------|-----|--------|---------|------|--------|---------|--|
| | E | P | | E | P | | E | P | |
| R^2 | 0.9995 | 0.9987 | MAE | 2.8923 | 8.4901 | RMSE | 5.7509 | 10.9034 | |
| | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | |
| R^2 | 0.9995 | 0.9959 | MAE | 4.0622 | 14.1927 | RMSE | 5.9195 | 19.5648 | |

E: entrenamiento, P: prueba.

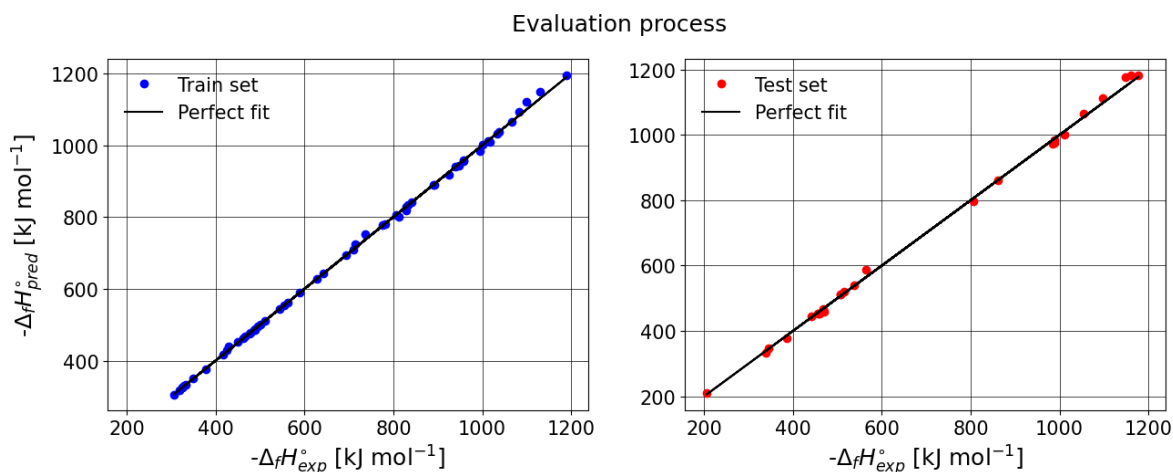


Figura 104: Comparación entre entrenamiento y prueba para $-\Delta_f H^\circ(\text{cr}, 298.15\text{K})$ con SVR

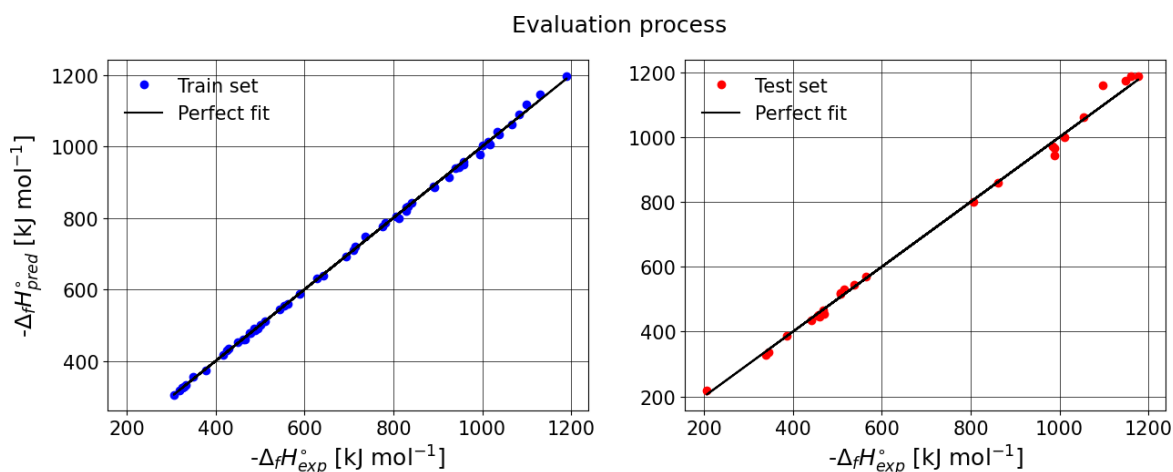


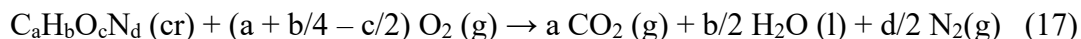
Figura 105: Comparación entre entrenamiento y prueba para $-\Delta_f H^\circ(\text{cr}, 298.15\text{K})$ con KRR

Como puede observarse en ambas Figuras 104 y 105, SVR realiza una mejor predicción que KRR y esto se puede comprobar gracias a los resultados de la Tabla 23 en donde se muestran las métricas de evaluación. Los valores resultantes de las predicciones para los compuestos interés por SVR y KRR se presentan en la Tabla 25.

Tabla 25: $-\Delta_f H^\circ(\text{cr}, 298.15 \text{ K})$ predichas para los compuestos sintetizados en kJ mol^{-1}

| Compuesto | SVR | KRR |
|-----------|--------|--------|
| oDIDA | 1267.4 | 1265.5 |
| 3,4-DITA | 1684.0 | 1681.5 |
| 3,5-DITA | 1693.6 | 1688.6 |

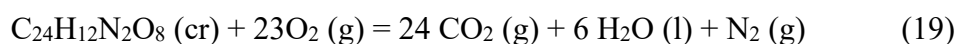
Otra forma de obtener la entalpía de formación en la fase cristalina es mediante una reacción de combustión, para ello se toma en cuenta la ecuación 17.



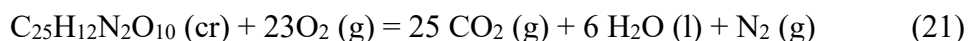
A partir de la ecuación 17 la entalpía de combustión se expresa de la siguiente forma.

$$\Delta_c H_m^\circ = n\Delta_f H_m^\circ CO_2 (g) + m\Delta_f H_m^\circ H_2O (l) - \Delta_f H_m^\circ C_aH_bO_cN_d (cr) \quad (18)$$

A través de ML es posible predecir dicho valor de combustión para los tres compuestos sintetizados, con este dato y, el valor de la entalpía de formación tanto del CO₂ como del H₂O que ya se encuentran reportados en la literatura como $-(393.51 \pm 0.13) \text{ kJ mol}^{-1}$ y $-(285.83 \pm 0.04) \text{ kJ mol}^{-1}$, respectivamente [133, 134], el valor de la entalpía de combustión se determinó a partir de las ecuaciones 19 y 22.



$$\Delta_c H_m^\circ = 24\Delta_f H_m^\circ CO_2 (g) + 6\Delta_f H_m^\circ H_2O (l) - \Delta_f H_m^\circ C_{24}H_{12}O_8N_2 (oDIDA, cr) \quad (20)$$



$$\Delta_c H_m^\circ = 25\Delta_f H_m^\circ CO_2 (g) + 6\Delta_f H_m^\circ H_2O (l) - \Delta_f H_m^\circ C_{25}H_{12}O_{10}N_2 (DITAs, cr) \quad (22)$$

Para la obtención de la entalpía de combustión se realizó una predicción, utilizando la semilla 797 con un total de 84 valores experimentales de entalpía de combustión a condiciones estándar y a 298.15 K. Las métricas de evaluación, así como los gráficos resultantes se presentan a continuación.

Tabla 26: Métricas de evaluación para cada modelo para $-\Delta_c H_m^\circ(cr, 298.15 \text{ K})$

| SVR | | | | | | | | |
|----------------|--------|--------|-----|--------|---------|------|--------|---------|
| | E | P | | E | P | | E | P |
| R ² | 0.9999 | 0.999 | MAE | 3.9738 | 30.4881 | RMSE | 9.4939 | 87.8686 |
| KRR | | | | | | | | |
| | E | P | | E | P | | E | P |
| R ² | 0.9999 | 0.9988 | MAE | 5.633 | 35.6762 | RMSE | 9.7835 | 94.5998 |

E: entrenamiento, P: prueba.

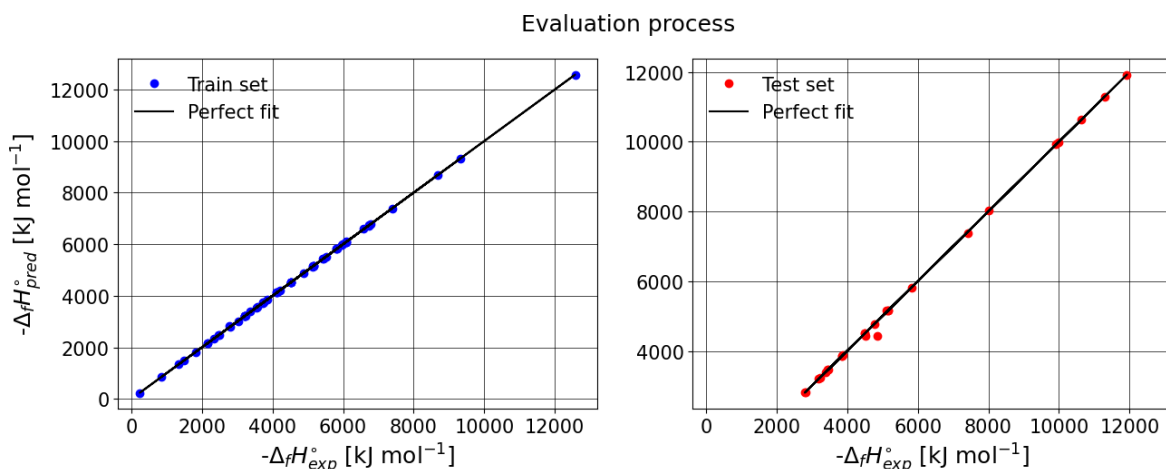


Figura 106: Comparación entre entrenamiento y prueba para $-\Delta_c H^\circ(\text{cr}, 298.15\text{K})$ con SVR

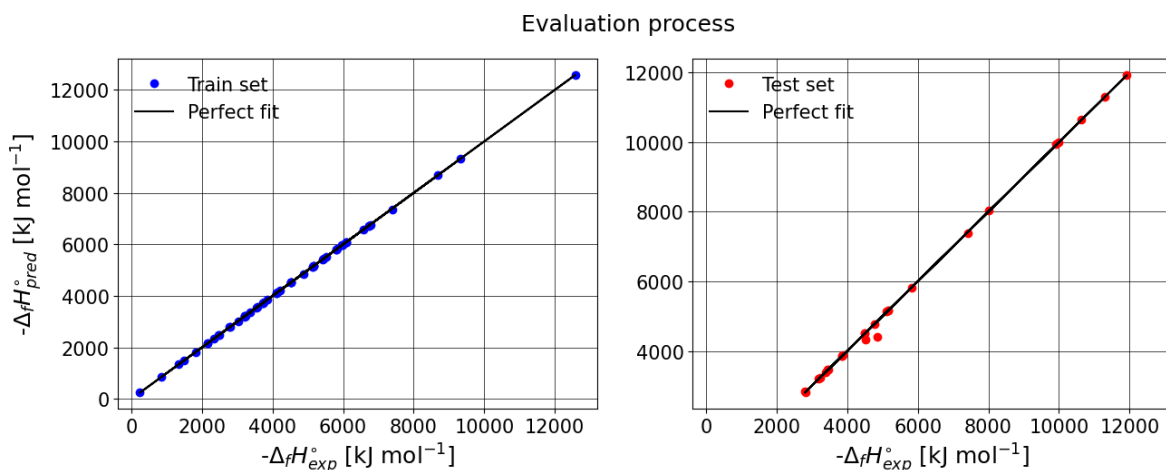


Figura 107: Comparación entre entrenamiento y prueba para $-\Delta_c H^\circ(\text{cr}, 298.15\text{K})$ con KRR

Si bien la Tabla 24 muestra un coeficiente de determinación elevado para el conjunto de prueba en ambos casos tanto MAE como RMSE resultan ser muy elevados, esto es debido a que al tener valores de predicción tan grandes si se llega a alejar alguno, como se puede ver en las Figuras 106 y 107 estas métricas se dispararán por lo que, hay que tener una interpretación diferente para estos resultados, al observar detenidamente los gráficos resultantes se aprecia que aproximadamente en el intervalo de [4300-5000] es donde el modelo llega a presentar problemas pero en el resto del gráfico se observa que se presentan buenas predicciones para el conjunto de prueba, tomando esto en cuenta los resultados obtenidos tanto por SVR como KRR se presentan en la Tabla 27.

Tabla 27: $-\Delta_c H^\circ(\text{cr}, 298.15 \text{ K})$ predichas para los compuestos sintetizados en kJ mol^{-1}

| Compuesto | SVR | KRR |
|-----------|--------|--------|
| oDIDA | 9894.1 | 9894.5 |
| 3,4-DITA | 9875.5 | 9873.2 |
| 3,5-DITA | 9847.8 | 9859.9 |

Utilizando los valores predichos por SVR y KRR para la entalpía de combustión es posible retomar las ecuaciones 19 y 22, con el fin de despejarlas y encontrar una segunda entalpía de formación en la fase cristalina teórica, pero, esta vez considerando valores experimentales como los son el CO_2 y el H_2O . Los resultados se muestran en la Tabla 28.

Tabla 28: $-\Delta_f H^\circ(\text{cr}, 298.15 \text{ K})$ obtenidas mediante el valor predicho de $-\Delta_c H^\circ(\text{cr}, 298.15 \text{ K})$ en kJ mol^{-1a}

| Compuesto | SVR | KRR |
|-----------|---------------|---------------|
| oDIDA | 1265.1 (2.3) | 1264.7 (5.2) |
| 3,4-DITA | 1677.2 (5.2) | 1679.5 (1.7) |
| 3,5-DITA | 1704.9 (11.3) | 1692.8 (-4.2) |

^a La diferencia entre el valor predicho directamente y el obtenido a partir de la reacción de combustión se presenta entre paréntesis.

De igual forma es posible comprobar la entalpía de formación en la fase gaseosa a partir de la predicción de la entalpía de sublimación, ecuación 23.

$$\Delta_{\text{sub}} H_m^\circ(298.15\text{K}) = \Delta_f H_m^\circ \text{C}_a\text{H}_b\text{O}_c\text{N}_d(\text{g}) - \Delta_f H_m^\circ \text{C}_a\text{H}_b\text{O}_c\text{N}_d(\text{cr}) \quad (23)$$

De esta forma la entalpía de formación en la fase gaseosa se calculará a partir de la ecuación 24.

$$\Delta_f H_m^\circ \text{C}_a\text{H}_b\text{O}_c\text{N}_d(\text{g}) = \Delta_{\text{sub}} H_m^\circ(298.15\text{K}) + \Delta_f H_m^\circ \text{C}_a\text{H}_b\text{O}_c\text{N}_d(\text{cr}) \quad (24)$$

Finalmente se realizó la predicción de la entalpía de sublimación para comprobar el valor de la entalpía de formación en la fase gaseosa, se utilizó un total de 62 valores experimentales, la semilla 296 bajo las mismas condiciones previamente mencionadas. Las métricas de evaluación, así como los diagramas de paridad resultantes se presentan a continuación.

Tabla 29: Métricas de evaluación para cada modelo de $\Delta_{\text{sub}} H_m^\circ(298.15\text{K})$

| | | SVR | | | | | | | |
|----------------|--|--------|--------|-----|--------|--------|------|--------|--------|
| | | E | P | MAE | E | P | RMSE | E | P |
| R ² | | 0.968 | 0.9644 | | 2.5902 | 4.223 | | 4.8769 | 5.3772 |
| | | KRR | | | | | | | |
| | | E | P | MAE | E | P | RMSE | E | P |
| R ² | | 0.9786 | 0.9752 | | 2.8667 | 3.3641 | | 3.987 | 4.492 |

E: entrenamiento, P: prueba.

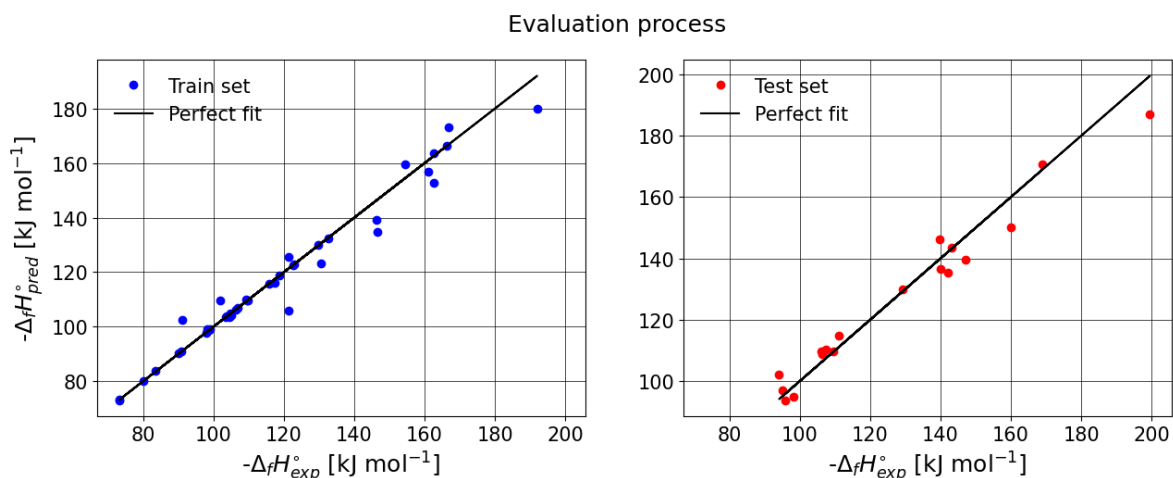


Figura 108: Comparación entre entrenamiento y prueba para $\Delta_{\text{sub}}H^\circ(298.15 \text{ K})$ con SVR

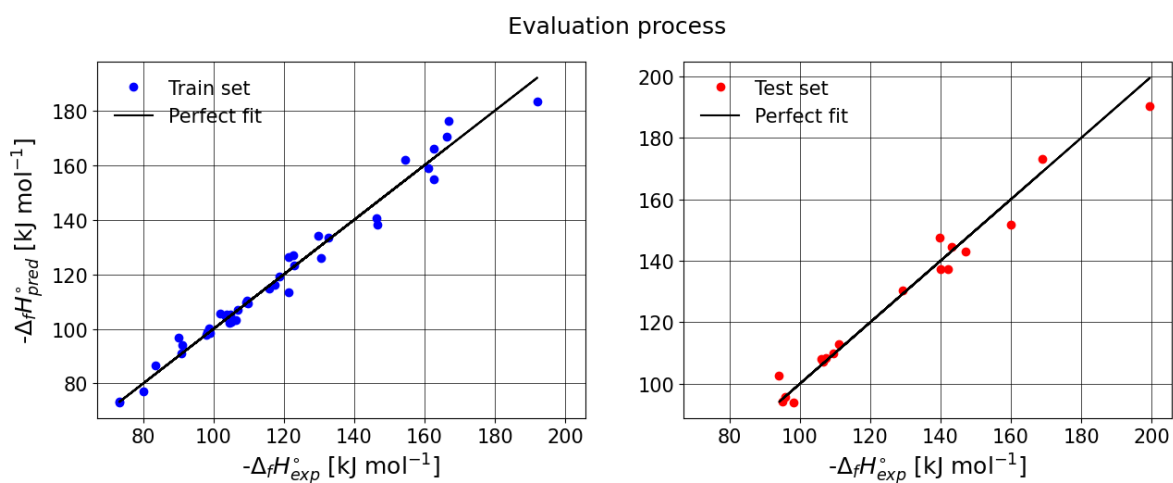


Figura 109: Comparación entre entrenamiento y prueba para $\Delta_{\text{sub}}H^\circ(298.15 \text{ K})$ con KRR

Estas predicciones resultaron tener métricas de evaluación más bajas que las predicciones presentadas con anterioridad, esto puede deberse a la complejidad de alcanzar las condiciones necesarias al llevar a cabo un experimento a condiciones de vacío. Los resultados obtenidos mediante estas predicciones se presentan en la Tabla 30.

Tabla 30: $\Delta_{\text{sub}}H^\circ(298.15 \text{ K})$ predichas en kJ mol⁻¹

| Compuesto | SVR | KRR |
|-----------|-------|-------|
| oDIDA | 233.3 | 237.7 |
| 3,4-DITA | 284.3 | 284.8 |
| 3,5-DITA | 276.1 | 277.0 |

Al utilizar la ecuación 24 se obtuvieron los resultados de entalpía de formación en la fase gaseosa mostrados en la Tabla 31.

Tabla 31: $-\Delta_f H^\circ(g, 298.15 \text{ K})$ obtenidas mediante el valor predicho de $\Delta_{\text{sub}} H^\circ(298.15 \text{ K})$ en kJ mol^{-1a}

| Compuesto | SVR | KRR |
|-----------|---------------|---------------|
| oDIDA | 1034.1 (-9.2) | 1032.2 (-4.9) |
| 3,4-DITA | 1398.1 (5.8) | 1396.4 (-3.1) |
| 3,5-DITA | 1417.5 (0.4) | 1411.6 (4.9) |

^a La diferencia entre el valor predicho directamente y el obtenido a partir de la reacción de combustión se presenta entre paréntesis.

A partir de la Tabla 31, se muestra que para el caso de la oDIDA y la 3,4-DITA por SVR los valores obtenidos mediante la entalpía de sublimación se alejan de los predichos directamente para esta propiedad, en el caso de KRR la diferencia entre ambas rutas de obtención es menor, por tanto, el valor experimental puede encontrarse cercano a los predichos.

Termodinámica mediante Gaussian

Análisis estructural

Se realiza una optimización de la geometría en donde, se varían las localizaciones de los núcleos hasta encontrar un mínimo en la energía electrónica (E_e), esto se logra gracias a muchos cálculos de un solo punto, cada punto calculado es seguido por un cálculo de gradiente de energía que ayuda al programa a decidir sobre la próxima geometría a tratar.

Posteriormente se realiza un cálculo de frecuencias vibracionales con el fin de constar que no existan frecuencias imaginarias, de esta forma se garantiza que la estructura y su energía se encuentran en un mínimo y, calcular propiedades termodinámicas como la C_v y la C_p en fase gaseosa.

Las geometrías de las estructuras analizadas en este trabajo fueron construidas en Avogadro utilizando su respectivo código SMILES, posteriormente se realizó una primera optimización utilizando mecánica molecular (MMFF94), finalmente se realizó una segunda optimización con el funcional B3LYP/6-311++g(d,p). Las estructuras optimizadas se muestran en la Figura 110.

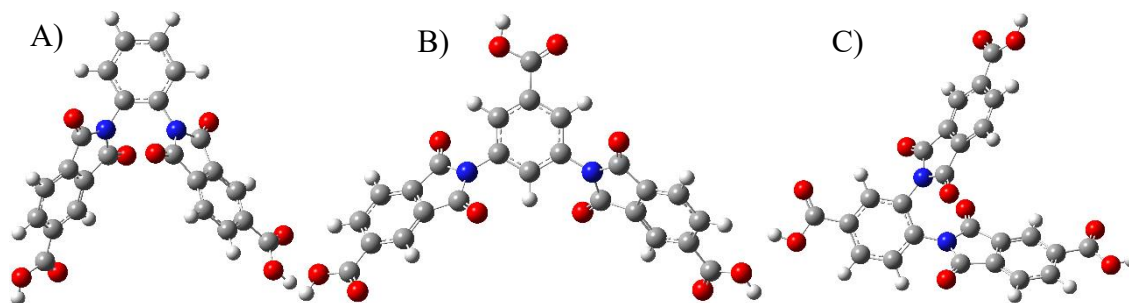


Figura 110: Estructura optimizada para los compuestos: A) oDIDA, B)3,5-DITA y C) 3,4-DITA

Análisis energético

En Gaussian es posible obtener propiedades termoquímicas como lo son la entalpía H , la capacidad calorífica $C_p(g)$, la entropía S y la energía de Gibbs G . para determinar la entalpía de una molécula se realizan algunas consideraciones.

$$H(298.15\text{ K})=E_e+ZPE+RT+H_{rot}+H_{tras}+\Delta H_{vib} \quad (25)$$

En donde E_e es la energía de la molécula optimizada, ZPE es una corrección a la energía vibracional en el punto cero que, al sumarse a E_e resulta en E_0 (energía interna), cuando se adiciona el término RT se proporciona la entalpía a 298K (H_0), mientras que los términos restantes corrigen la temperatura a 298.15K.

El término H_{rot} es una constante obtenida a partir del modelo de rotor rígido y equivale a $3/2 RT$ para moléculas no lineales, por otro lado, el término H_{tras} proviene del modelo del gas ideal y tiene el mismo valor para cualquier tipo de molécula.

Entalpía de formación

Los cálculos *ab initio* realizados en este trabajo para determinar las energías de los compuestos, así como su entalpía de formación se realizaron mediante la teoría CBS-QB3 desarrollada por Montgomery *et al* [135]. Estos autores desarrollaron el modelo como una alternativa a los métodos Gn propuesto por Curtiss *et al* [136], para moléculas de un número considerable de átomos (hasta 47) con una desviación media absoluta (MAD) a partir de valores experimentales de $0.67\text{ kcal mol}^{-1}$ contra $0.94\text{ kcal mol}^{-1}$ que se obtiene de un método G3. De igual forma el cálculo CBS-QB3 se realiza en la mitad del tiempo que un cálculo G2 con una precisión igual de buena que un cálculo G3, es por tanto que se optó por esta teoría para la determinación de las entalpías de formación. A continuación, se describe como se realiza un cálculo por G4 y CBS-QB3.

Teoría Gaussian-4 [137].

El método G4 es una evolución de la serie de métodos Gaussian (Gn), y su objetivo es alcanzar una precisión similar a la de un cálculo de nivel de energía de correlación completa.

Su enfoque principal es realizar un cálculo de energía en una serie de pasos ajustados y corregidos. La metodología sigue estos pasos:

1. Optimización de la Geometría:
 - Primero, la geometría molecular se optimiza utilizando el nivel de teoría MP2/6-31G(d). Esto se hace para minimizar el tiempo computacional en los cálculos posteriores.
2. Cálculo de Frecuencias Vibracionales:
 - Se calculan las frecuencias vibracionales en el mismo nivel (MP2/6-31G(d)) para confirmar que la geometría obtenida es un mínimo (sin frecuencias imaginarias) y para calcular la energía de punto cero (ZPE, Zero-Point Energy).
3. Cálculo de Energía Corregida (MP4):
 - Se realiza un cálculo de energía simple en el nivel de teoría MP4(SDQ) usando una base más extensa, 6-31G(2df,p), para obtener una mejor aproximación de la energía de correlación.
4. Cálculo de Energía Post-MP4:
 - La energía de correlación se refina aplicando una corrección usando CCSD(T) con la base 6-31G(d).
5. Cálculo con Pseudopotenciales y Corrección Relativista:
 - En el caso de elementos pesados, se usa una corrección de pseudopotencial para ajustar los efectos relativistas en la energía total.
6. Correcciones de Spin y Energía de Punto Cero:
 - Se aplica una corrección de spin-orbita y una corrección por la energía de punto cero (ZPE) derivada de los cálculos de frecuencias.
7. Ajuste Empírico Final:
 - Se ajusta la energía con un término empírico basado en una base de datos extensa de moléculas, buscando que los resultados sean lo más cercanos posibles a valores experimentales.

Teoría CBS-QB3 [135].

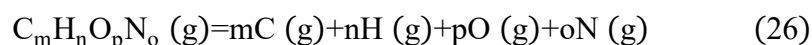
El método CBS-QB3 pertenece a la familia de métodos CBS (Complete Basis Set), que se basa en extrapolar energías para obtener valores precisos como si se usara una base infinita. La metodología para CBS-QB3 incluye:

1. Optimización de la Geometría:

- La molécula se optimiza usando MP2/6-31G(d), de manera similar al método G4. Esto permite obtener una buena geometría de partida con un coste computacional moderado.
2. Cálculo de Frecuencias Vibracionales:
 - Se realiza un cálculo de frecuencias vibracionales en el mismo nivel de teoría para verificar que la geometría corresponde a un mínimo de energía y para calcular la energía de punto cero (ZPE).
 3. Cálculo de Energía MP4 y CCSD(T):
 - A continuación, se realiza un cálculo de energía en el nivel MP4SDQ con la base 6-31+G(d,p), seguido de un cálculo CCSD(T)/6-31G.
 4. Cálculo de Correcciones de Energía:
 - Se incluyen correcciones por electrones de correlación y efectos relativistas mediante cálculos adicionales.
 5. Extrapolación de la Base Completa:
 - Usando los resultados de los cálculos anteriores, se extrapolan las energías para aproximarse a los valores que se obtendrían con una base infinita (CBS).
 6. Ajuste Final:
 - Finalmente, se aplica un ajuste empírico usando datos experimentales para asegurar que las energías calculadas tengan una buena concordancia con los valores experimentales.

Reacciones de atomización

Este tipo de reacciones está caracterizado debido a que un compuesto en fase gaseosa se descompone en su forma más elemental, es decir, en los átomos que constituyen a la molécula, estos estudios se realizan a una temperatura de 0K, la reacción general que se sigue está descrita en la ecuación 26.



A partir de este tipo de reacciones es posible determinar la entalpía de formación de un compuesto, para ello se sigue la siguiente expresión.

$$\Delta_{at}H^\circ = m\Delta_fH^\circ(C(g), 0K) + n\Delta_fH^\circ(H(g), 0K) + p\Delta_fH^\circ(O(g), 0K) + o\Delta_fH^\circ(N(g), 0K) - \Delta_fH^\circ(C_m H_n O_p N_o (g), 0K) \quad (27)$$

Los valores de la entalpía de formación estándar en fase gaseosa a 0K experimentales se encuentran reportados en literatura [136].

De igual forma que se sigue la ruta para una reacción de atomización experimental se puede realizar este procedimiento de forma teórica utilizando Gaussian, para ello es muy común utilizar las teorías Gn (en especial la G4) pero, como se abordó en la sección anterior, para moléculas de un tamaño considerable como las estudiadas es mejor optar por otro método como lo es el CBS-QB3, por lo que, la reacción de atomización queda de la siguiente forma, en donde CB es la teoría empleada para el cálculo de la energía a 0K.

$$\Delta_{at}H^{\circ}=mCB(C(g),0K)+nCB(H(g),0K)+pCB(O(g),0K)+oCB(N(g),0K)-CB(C_mH_nO_pN_o(g),0K) \quad (28)$$

Gracias a que las teorías utilizadas en Gaussian acercan el valor teórico al valor experimental, es posible igualar ambas ecuaciones con el fin de dar un valor lo más cercano posible al experimental a 0K.

$$\Delta_fH^{\circ}(C_mH_nO_pN_o(g),0K)=CB(C_mH_nO_pN_o(g),0K)-mCB(C(g),0K)-nCB(H(g),0K)-pCB(O(g),0K)-oCB(N(g),0K)+m\Delta_fH^{\circ}(C(g),0K)+n\Delta_fH^{\circ}(H(g),0K)+p\Delta_fH^{\circ}(O(g),0K)+o\Delta_fH^{\circ}(N(g),0K) \quad (29)$$

Dado que, los compuestos se estudian a una temperatura de 298.15K, la ecuación anterior debe ser corregida para dar este resultado, por tanto, surge la siguiente expresión.

$$\Delta_fH^{\circ}(C_mH_nO_pN_o(g),298.15K)=\Delta_fH^{\circ}(C_mH_nO_pN_o(g),0K)+\Delta H_T^{calc}(C_mH_nO_pN_o(g))-m\Delta H_T^{exp}[C(s)]-\frac{n}{2}\Delta H_T^{exp}[H_2(g)]-\frac{p}{2}\Delta H_T^{exp}[O_2(g)]-\frac{o}{2}\Delta H_T^{exp}[N_2(g)] \quad (30)$$

En donde, ΔH_T^{calc} puede ser determinado mediante la diferencia entre la entalpía a la temperatura T y 0K calculada a partir de los datos obtenidos por la teoría CBS-QB3, para ello se usan las aproximaciones del rotor rígido y el oscilador armónico, con el fin de calcular las contribuciones rotacional y vibracional respectivamente. ΔH_T^{exp} de C(s), $H_2(g)$, $O_2(g)$ y $N_2(g)$ son valores en sus estados estándar a 298.15K, los cuales ya se encuentran reportados en tablas [137].

Reacciones isodésmicas

Estas reacciones son de tipo hipotéticas, fueron introducidas por Benson [138] en 1965 y adoptadas en trabajos posteriores debido a la veracidad de los cálculos [139]. La particularidad de estas reacciones radica en que tanto reactivos y productos tienen el mismo número y tipo de enlaces, pero conectados de forma diferente. Es conveniente realizar varias reacciones isodésmicas durante el cálculo de la entalpía en la fase gaseosa ya que, los valores obtenidos pueden variar dependiendo de la exactitud de las entalpías experimentales y teóricas utilizadas.

Capacidad calorífica

A partir de los cálculos teóricos obtenidos mediante Gaussian y, utilizando la termodinámica estadística, es posible obtener la capacidad calorífica de un compuesto en la fase gaseosa tomando en cuenta las frecuencias vibracionales obtenidas. De forma general, las frecuencias pueden ser obtenidas por distintos métodos en Gaussian, el tipo de método escogido así como la base darán una idea de la calidad de los cálculos, es por lo que, para este punto destaca la teoría de densidad funcional con el funcional B3LYP y una base considerable como lo es 6-311++g(d,p), dicho funcional y base ya han sido probadas anteriormente [140] resultado en buenas aproximaciones a los valores experimentales tanto en frecuencias como en capacidad calorífica. La ecuación utilizada para este cálculo se muestra a continuación [141].

$$C_v(g) = 3R + R \sum_{i=1}^n \frac{\left(\frac{h\nu_i}{kT}\right)^2 \exp\left(\frac{h\nu_i}{kT}\right)}{\left[\exp\left(\frac{h\nu_i}{kT}\right) - 1\right]^2} \quad (31)$$

En donde ν_i representa la frecuencia vibracional, h es la constante de Planck, k es la constante de Boltzmann y R es la constante universal de los gases. Es posible obtener la C_p mediante los resultados generados por la ecuación 31, esto es, considerando que los compuestos tienen un comportamiento monoatómico ideal, la capacidad calorífica a presión constante se obtiene mediante la ecuación 32.

$$C_p - C_v = R \quad (32)$$

Resultados

Los cálculos se realizaron de dos formas, para el método CBS-QB3 para los ácidos 3,4- y 3,5-diaminobenzoico, así como para las utilizadas para las reacciones isodérmicas se hicieron en el Laboratorio de Super Cómputo del sureste de México de la BUAP, mientras que, para los cálculos para la obtención de la C_v y la C_p se utilizó una computadora con un procesador AMD Ryzen 9 5900X con 12 cores, 32.0 GB en memoria RAM, un sistema operativo Windows 11, una tarjeta gráfica Radeon Sapphire Pulse 7600XT de 16.0 GB y un disco duro en estado sólido de 1.0 TB.

Las entalpías de formación en fase gaseosa a 0K para los compuestos utilizados para las reacciones isodérmicas fueron obtenidas con base en reacciones de atomización, para ello se utilizaron las teorías CBS-QB3, G2, G3 y G4 con fines de comparación. Los resultados se presentan en las Tablas 32 y 33 y, posteriormente en la Tabla 34 se muestra el valor corregido de la entalpía a 298.15K.

Tabla 32: Energías calculadas a 0K para los átomos y compuestos de las reacciones isodésmicas por las teorías Gn^a

| Compuesto | G2 | | G3 | | G4 | |
|--------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | E_0 | H_{298} | E_0 | H_{298} | E_0 | H_{298} |
| C | -37.784301 | -37.78194 | -37.827717 | -37.825356 | -37.834168 | -37.831808 |
| H | -0.5 | -0.497639 | -0.501003 | -0.498642 | -0.50142 | -0.49906 |
| O | -74.98203 | -74.979669 | -75.030991 | -75.02863 | -75.045501 | -75.043141 |
| N | -54.51796 | -54.515599 | -54.564343 | -54.561982 | -54.573666 | -54.571306 |
| Metano | -40.410891 | -40.407075 | -40.457626 | -40.45381 | -40.465305 | -40.461489 |
| Etano | -79.630883 | -79.626397 | -79.723397 | -79.718911 | -79.73811 | -79.73366 |
| Propileno | -117.645085 | -117.639969 | -117.782188 | -117.777072 | -117.803859 | -117.798806 |
| Metilamina | -95.666913 | -95.662527 | -95.760124 | -95.755738 | -95.778287 | -95.773916 |
| Ac. Fórmico | -189.516479 | -189.512341 | -189.656709 | -189.65257 | -189.692994 | -189.688876 |
| Anilina | -287.056825 | -287.04988 | -287.375492 | -287.368547 | -287.427279 | -287.420469 |
| Benceno | -231.780531 | -231.775083 | -232.052179 | -232.04673 | -232.093994 | -232.088594 |
| Ac. Benzoico | -420.134694 | -420.126453 | -420.54575 | -420.537509 | -420.621926 | -420.613799 |
| Ac. Amino benzoico | -475.413736 | -475.403979 | -475.871876 | -475.862119 | -475.957964 | -475.94837 |

^a hartrees (E_h) = 2625.46 kJ mol⁻¹

Tabla 33: Energías calculadas a 0K para los átomos y compuestos de las reacciones isodésmicas por la teoría CBS-QB3^a

| Compuesto | CBS-QB3 | | Compuesto | CBS-QB3 | |
|-----------|------------|-------------|--------------------|-------------|-------------|
| | E_0 | H_{298} | | E_0 | H_{298} |
| C | -37.785377 | -37.783017 | Metilamina | -95.668446 | -95.664081 |
| H | -0.499818 | -0.497457 | Ac. Fórmico | -189.521015 | -189.519804 |
| O | -74.98763 | -74.985269 | Anilina | -287.068121 | -287.061296 |
| N | -54.520537 | -54.518176 | Benceno | -231.789708 | -231.784332 |
| Metano | -40.410004 | -40.406189 | Ac. Benzoico | -420.155852 | -420.147747 |
| Etano | -79.63057 | -79.626126 | Ac. Amino benzoico | -475.42761 | -475.422902 |
| Propileno | -117.64621 | -117.641158 | | | |

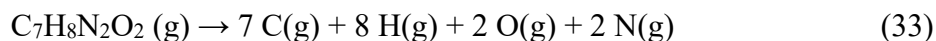
^a hartrees (E_h) = 2625.46 kJ mol⁻¹

Tabla 34: Entalpías de formación en fase gaseosa corregidas a 298.15K en kJ mol^{-1a}

| Compuesto | G2 | G3 | G4 | CBS-QB3 | Exp. |
|--------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| | $\Delta_f H^\circ$ (g) | $\Delta_f H^\circ$ (g) | $\Delta_f H^\circ$ (g) | $\Delta_f H^\circ$ (g) | $\Delta_f H^\circ$ (g) |
| Metano | -77.73 (2.84) | -75.91 (1.02) | -74.75 (-0.14) | -74.79 (-0.4) | -74.89 |
| Etano | -86.12 (2.27) | -85.24 (1.39) | -83.52 (-0.33) | -82.63 (-1.22) | -83.85 |
| Propileno | 22.07 (-2.31) | 19.87 (-0.11) | 20.19 (-0.43) | 24.56 (-4.8) | 19.76 |
| Metilamina | -22.97 (-0.04) | -18.76 (-4.25) | -19.6 (-3.41) | -19.85 (-3.16) | -23.01 |
| Ac. Fórmico | -387.16 (8.46) | -378.98 (0.28) | -378.99 (0.29) | -375.48 (-3.22) | -378.7 |
| Anilina | 102.78(-15.32) | 90.27 (-2.81) | 87.71 (-0.25) | 93.18 (-5.72) | 87.46 |
| Benceno | 98.81 (-16.01) | 85.34 (-2.54) | 83.61 (-0.81) | 88.61 (-5.81) | 82.8 |
| Ac. Benzoico | -289.33 (-6.37) | -297.74 (2.04) | -296.72 (1.02) | -298.92 (3.22) | -295.7 |
| Ac. Amino benzoico | -292.52 (-1.38) | -300.14 (6.24) | -299.70 (5.8) | -289.6 (-4.3) | -293.9 |

^a Los valores entre paréntesis representan la diferencia entre el valor experimental y el teórico.

Una vez que se compararon los valores obtenidos mediante las reacciones de atomización para los compuestos, el método quedó validado, posteriormente se aplicaron las teorías a los ácidos 3,4 y 3,5 diaminobenzoico. La reacción de atomización para estos compuestos se expone en la ecuación 33.



De igual forma que para los compuestos para las reacciones isodésmicas, las entalpías de formación en la fase gaseosa a 0 K fueron obtenidas mediante las teorías Gn y CBS, Tabla 29. La Tabla 36 presenta la entalpía de formación en fase gaseosa de los ácidos determinada mediante reacciones de atomización.

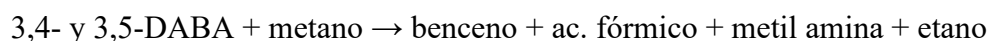
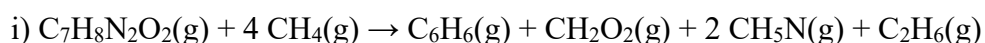
Tabla 35: Energías calculadas a 0K para los ácidos diaminobenzoicos

| Compuest o | G2 | | G3 | | G4 | | CBS | |
|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | E_0 | H_{298} | E_0 | H_{298} | E_0 | H_{298} | E_0 | H_{298} |
| 3,4- | 530.6901 79 | 530.6790 59 | 531.1954 61 | 531.1843 4 | 531.2925 86 | 531.2814 42 | 530.7168 44 | 530.7060 13 |
| 3,5- | 530.6880 56 | 530.6766 84 | 531.1932 92 | 531.1819 19 | 531.2899 27 | 531.2785 35 | 530.7140 67 | 530.7029 33 |

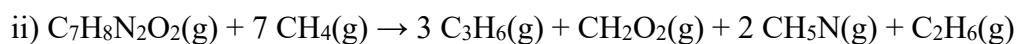
Tabla 36: Entalpías de formación en fase gaseosa para los ácidos corregidas a 298.15K en kJ mol^{-1}

| Compuesto | G2 | G3 | G4 | CBS |
|-----------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | $\Delta_f H^\circ(\text{g})$ | $\Delta_f H^\circ(\text{g})$ | $\Delta_f H^\circ(\text{g})$ | $\Delta_f H^\circ(\text{g})$ |
| 3,4-DABA | -289.3 | -296.3 | -298.8 | -301.2 |
| 3,5-DABA | -283.1 | -289.9 | -291.1 | -293.1 |

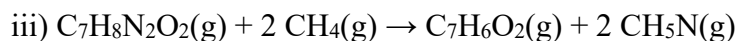
El valor más negativo del 3,4DABA se debe a que, gracias a la cercanía de sus grupos amino estos pueden generar enlaces de hidrógeno entre si dando de esta forma una mayor estabilidad a la molécula en comparación con su isómero estructural. De igual forma la entalpía se calculó mediante las siguientes reacciones isodésmicas, Tabla 37.



$\Delta_f H^\circ(\text{DABA}, 298\text{K}) = \Delta_f H^\circ(\text{benceno}, 298\text{K}) + \Delta_f H^\circ(\text{ac. fórmico}, 298\text{K}) + 2\Delta_f H^\circ(\text{metil amina}, 298\text{K}) + \Delta_f H^\circ(\text{etano}, 298\text{K}) - 4\Delta_f H^\circ(\text{metano}, 298\text{K}) + \text{Gn/CB}(\text{DABA}, 298\text{K}) + 4 \text{Gn/CB}(\text{metano}, 298\text{K}) - \text{Gn/CB}(\text{benceno}, 298\text{K}) - \text{Gn/CB}(\text{ac. fórmico}, 298\text{K}) - 2 \text{Gn/CB}(\text{metil amina}, 298\text{K}) - \text{Gn/CB}(\text{etano}, 298\text{K})$

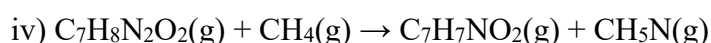


$\Delta_f H^\circ$ (DABA, 298K) = $3\Delta_f H^\circ$ (propileno, 298K) + $\Delta_f H^\circ$ (ac. Fórmico, 298K) + $2\Delta_f H^\circ$ (metil amina, 298K) + $\Delta_f H^\circ$ (etano, 298K) - $7\Delta_f H^\circ$ (metano, 298K) + Gn/CB (DABA, 298K) + 7Gn/CB (metano, 298K) - 3Gn/CB (propileno, 298K) - Gn/CB (ac. Fórmico, 298K) - 2Gn/CB (metil amina, 298K) - Gn/CB (etano, 298K)



3,4- y 3,5-DABA + metano \rightarrow ac. benzoico + metil amina

$\Delta_f H^\circ$ (DABA, 298K) = $\Delta_f H^\circ$ (ac. benzoico, 298K) + $2\Delta_f H^\circ$ (metil amina, 298K) - $2\Delta_f H^\circ$ (metano, 298K) + Gn/CB (DABA, 298K) + 2Gn/CB (metano, 298K) - Gn/CB (ac. benzoico, 298K) - 2Gn/CB (metil amina, 298K)



3,4- y 3,5-DABA + metano \rightarrow ac. aminobenzoico + metil amina

$\Delta_f H^\circ$ (DABA, 298K) = $\Delta_f H^\circ$ (ac. aminobenzoico, 298K) + $\Delta_f H^\circ$ (metil amina, 298K) - $\Delta_f H^\circ$ (metano, 298K) + Gn/CB (DABA, 298K) + Gn/CB (metano, 298K) - Gn/CB (ac. aminobenzoico, 298K) - Gn/CB (metil amina, 298K)



3,4- y 3,5-DABA + metano \rightarrow anilina + ac. fórmico + metil amina + etano

$\Delta_f H^\circ$ (DABA, 298K) = $\Delta_f H^\circ$ (anilina, 298K) + $\Delta_f H^\circ$ (ac. fórmico, 298K) + $\Delta_f H^\circ$ (metil amina, 298K) + $\Delta_f H^\circ$ (etano, 298K) - $3\Delta_f H^\circ$ (metano, 298K) + Gn/CB (DABA, 298K) + 3Gn/CB (metano, 298K) - Gn/CB (anilina, 298K) - Gn/CB (ac. fórmico, 298K) - Gn/CB (metil amina, 298K) - Gn/CB (etano, 298K)

Tabla 37: Entalpías de formación en fase gaseosa calculadas para los DABAs mediante reacciones isodésmicas a 298.15 K, en kJ mol^{-1}

| Compuesto | Teoría | Isodésmica | Isodésmica | Isodésmica | Isodésmica | Isodésmica |
|-----------|--------|------------|------------|------------|------------|------------|
| | | I | II | III | IV | V |
| 3,4DABA | G2 | -306.0 | -305.5 | -301.4 | -293.6 | -302.5 |
| | G3 | -309.7 | -310.6 | -300.5 | -295.3 | -304.7 |
| | G4 | -305.9 | -305.9 | -300.9 | -296.2 | -302.0 |
| | CBS | -316.2 | -323.5 | -300.3 | -308.2 | -313.3 |
| 3,5DABA | G2 | -299.8 | -299.2 | -295.2 | -287.3 | -296.2 |
| | G3 | -303.4 | -304.2 | -294.2 | -289.0 | -298.4 |
| | G4 | -298.2 | -298.3 | -293.2 | -288.6 | -294.4 |
| | CBS | -308.1 | -315.4 | -292.2 | -300.2 | -305.2 |

Los resultados de capacidad calorífica en fase gaseosa tanto para los ácidos como para las moléculas sintetizadas se muestran en las Tablas 38 y 39. El ajuste de los datos se realizó a través de una ecuación cúbica, con el cual se obtuvo un coeficiente de correlación del 0.9999, estas curvas se muestran en las Figuras 111 y 112.

Tabla 38: Resultados de $C_{p,m}$ (g) de la oDIDA, 3,4-DITA y 3,5-DITA

| $C_{p,m}$ (g)/(J mol ⁻¹ K ⁻¹) | | | | | | | |
|--|---------------|---------------|---------------|-----|--------|--------|--------|
| T/K | oDIDA | 34DITA | 35DITA | T/K | oDIDA | 34DITA | 35DITA |
| 296 | 436.70 | 479.36 | 479.99 | 452 | 612.08 | 664.53 | 664.88 |
| 298.15 | 439.43 | 482.26 | 482.89 | 454 | 614.00 | 666.55 | 666.89 |
| 300 | 441.78 | 484.75 | 485.37 | 456 | 615.90 | 668.55 | 668.90 |
| 302 | 444.30 | 487.43 | 488.05 | 458 | 617.80 | 670.55 | 670.89 |
| 304 | 446.82 | 490.11 | 490.72 | 460 | 619.69 | 672.53 | 672.87 |
| 306 | 449.34 | 492.77 | 493.38 | 462 | 621.57 | 674.51 | 674.85 |
| 308 | 451.85 | 495.44 | 496.04 | 464 | 623.44 | 676.48 | 676.81 |
| 310 | 454.35 | 498.09 | 498.69 | 466 | 625.30 | 678.43 | 678.77 |
| 312 | 456.85 | 500.74 | 501.33 | 468 | 627.16 | 680.38 | 680.71 |
| 314 | 459.34 | 503.38 | 503.96 | 470 | 629.00 | 682.32 | 682.65 |
| 316 | 461.82 | 506.01 | 506.59 | 472 | 630.84 | 684.25 | 684.58 |
| 318 | 464.30 | 508.63 | 509.21 | 474 | 632.67 | 686.18 | 686.50 |
| 320 | 466.77 | 511.25 | 511.82 | 476 | 634.49 | 688.09 | 688.41 |
| 322 | 469.23 | 513.86 | 514.43 | 478 | 636.30 | 689.99 | 690.31 |
| 324 | 471.68 | 516.46 | 517.02 | 480 | 638.10 | 691.89 | 692.21 |
| 326 | 474.13 | 519.05 | 519.61 | 482 | 639.90 | 693.78 | 694.09 |
| 328 | 476.57 | 521.64 | 522.19 | 484 | 641.69 | 695.65 | 695.97 |
| 330 | 479.01 | 524.21 | 524.76 | 486 | 643.47 | 697.52 | 697.83 |
| 332 | 481.44 | 526.78 | 527.33 | 488 | 645.24 | 699.38 | 699.69 |
| 334 | 483.86 | 529.34 | 529.88 | 490 | 647.00 | 701.23 | 701.54 |
| 336 | 486.27 | 531.90 | 532.43 | 492 | 648.75 | 703.08 | 703.38 |
| 338 | 488.67 | 534.44 | 534.97 | 494 | 650.50 | 704.91 | 705.21 |
| 340 | 491.07 | 536.98 | 537.50 | 496 | 652.24 | 706.74 | 707.04 |
| 342 | 493.46 | 539.50 | 540.03 | 498 | 653.96 | 708.55 | 708.85 |
| 344 | 495.84 | 542.02 | 542.54 | 500 | 655.69 | 710.36 | 710.66 |
| 346 | 498.22 | 544.53 | 545.05 | 502 | 657.40 | 712.16 | 712.45 |
| 348 | 500.59 | 547.03 | 547.54 | 504 | 659.10 | 713.95 | 714.24 |
| 350 | 502.95 | 549.53 | 550.03 | 506 | 660.80 | 715.73 | 716.02 |
| 352 | 505.30 | 552.01 | 552.51 | 508 | 662.49 | 717.51 | 717.79 |
| 354 | 507.64 | 554.49 | 554.98 | 510 | 664.17 | 719.27 | 719.56 |
| 356 | 509.98 | 556.95 | 557.45 | 512 | 665.84 | 721.03 | 721.31 |
| 358 | 512.30 | 559.41 | 559.90 | 514 | 667.51 | 722.78 | 723.06 |
| 360 | 514.62 | 561.86 | 562.35 | 516 | 669.17 | 724.52 | 724.80 |
| 362 | 516.93 | 564.30 | 564.78 | 518 | 670.82 | 726.25 | 726.53 |
| 364 | 519.24 | 566.73 | 567.21 | 520 | 672.46 | 727.97 | 728.25 |
| 366 | 521.53 | 569.15 | 569.63 | 522 | 674.09 | 729.69 | 729.96 |
| 368 | 523.82 | 571.57 | 572.04 | 524 | 675.72 | 731.39 | 731.67 |
| 370 | 526.09 | 573.97 | 574.44 | 526 | 677.34 | 733.09 | 733.36 |
| 372 | 528.36 | 576.36 | 576.83 | 528 | 678.95 | 734.78 | 735.05 |

| | | | | | | | |
|-----|--------|--------|--------|-----|--------|--------|--------|
| 374 | 530.63 | 578.75 | 579.21 | 530 | 680.55 | 736.46 | 736.73 |
| 376 | 532.88 | 581.13 | 581.58 | 532 | 682.15 | 738.14 | 738.41 |
| 378 | 535.12 | 583.49 | 583.95 | 534 | 683.73 | 739.81 | 740.07 |
| 380 | 537.36 | 585.85 | 586.30 | 536 | 685.31 | 741.46 | 741.73 |
| 382 | 539.59 | 588.20 | 588.65 | 538 | 686.89 | 743.11 | 743.38 |
| 384 | 541.81 | 590.54 | 590.99 | 540 | 688.45 | 744.76 | 745.02 |
| 386 | 544.02 | 592.87 | 593.31 | 542 | 690.01 | 746.39 | 746.65 |
| 388 | 546.22 | 595.19 | 595.63 | 544 | 691.56 | 748.02 | 748.27 |
| 390 | 548.41 | 597.50 | 597.94 | 546 | 693.10 | 749.64 | 749.89 |
| 392 | 550.60 | 599.81 | 600.24 | 548 | 694.64 | 751.25 | 751.50 |
| 394 | 552.77 | 602.10 | 602.53 | 550 | 696.17 | 752.85 | 753.10 |
| 396 | 554.94 | 604.38 | 604.81 | 552 | 697.69 | 754.45 | 754.69 |
| 398 | 557.10 | 606.66 | 607.08 | 554 | 699.20 | 756.03 | 756.28 |
| 400 | 559.25 | 608.92 | 609.34 | 556 | 700.71 | 757.61 | 757.86 |
| 402 | 561.39 | 611.18 | 611.60 | 558 | 702.21 | 759.19 | 759.43 |
| 404 | 563.52 | 613.43 | 613.84 | 560 | 703.70 | 760.75 | 760.99 |
| 406 | 565.65 | 615.66 | 616.07 | 562 | 705.18 | 762.31 | 762.55 |
| 408 | 567.76 | 617.89 | 618.30 | 564 | 706.66 | 763.86 | 764.10 |
| 410 | 569.87 | 620.11 | 620.52 | 566 | 708.13 | 765.40 | 765.64 |
| 412 | 571.97 | 622.32 | 622.72 | 568 | 709.59 | 766.94 | 767.17 |
| 414 | 574.05 | 624.52 | 624.92 | 570 | 711.05 | 768.46 | 768.70 |
| 416 | 576.13 | 626.71 | 627.11 | 572 | 712.50 | 769.98 | 770.22 |
| 418 | 578.21 | 628.89 | 629.28 | 574 | 713.94 | 771.50 | 771.73 |
| 420 | 580.27 | 631.06 | 631.45 | 576 | 715.38 | 773.00 | 773.23 |
| 422 | 582.32 | 633.22 | 633.61 | 578 | 716.81 | 774.50 | 774.73 |
| 424 | 584.37 | 635.38 | 635.76 | 580 | 718.23 | 775.99 | 776.22 |
| 426 | 586.40 | 637.52 | 637.90 | 582 | 719.65 | 777.48 | 777.70 |
| 428 | 588.43 | 639.65 | 640.03 | 584 | 721.06 | 778.95 | 779.18 |
| 430 | 590.45 | 641.78 | 642.16 | 586 | 722.46 | 780.42 | 780.64 |
| 432 | 592.46 | 643.89 | 644.27 | 588 | 723.85 | 781.89 | 782.10 |
| 434 | 594.46 | 646.00 | 646.37 | 590 | 725.24 | 783.34 | 783.56 |
| 436 | 596.45 | 648.10 | 648.47 | 592 | 726.62 | 784.79 | 785.01 |
| 438 | 598.44 | 650.18 | 650.55 | 594 | 728.00 | 786.23 | 786.45 |
| 440 | 600.41 | 652.26 | 652.63 | 596 | 729.37 | 787.67 | 787.88 |
| 442 | 602.38 | 654.33 | 654.69 | 598 | 730.73 | 789.10 | 789.31 |
| 444 | 604.34 | 656.39 | 656.75 | 600 | 732.09 | 790.52 | 790.73 |
| 446 | 606.29 | 658.44 | 658.80 | 602 | 733.44 | 791.93 | 792.14 |
| 448 | 608.23 | 660.48 | 660.83 | 604 | 734.78 | 793.34 | 793.54 |
| 450 | 610.16 | 662.51 | 662.86 | | | | |

Tabla 39: Resultados de $C_{p,m}$ (g) del ácido 3,4- y 3,5-diaminobenzoico

| | | $C_{p,m}$ (g)/(J mol ⁻¹ K ⁻¹) | | | |
|---------------|---------------|--|-----|--------|--------|
| T/K | 34DABA | 35DABA | T/K | 34DABA | 35DABA |
| 296 | 168.89 | 173.28 | 352 | 194.76 | 198.74 |
| 298.15 | 169.93 | 174.30 | 354 | 195.64 | 199.61 |
| 300 | 170.81 | 175.18 | 356 | 196.52 | 200.47 |
| 302 | 171.77 | 176.13 | 358 | 197.39 | 201.32 |
| 304 | 172.73 | 177.07 | 360 | 198.26 | 202.18 |
| 306 | 173.68 | 178.01 | 362 | 199.13 | 203.03 |
| 308 | 174.63 | 178.95 | 364 | 199.99 | 203.87 |
| 310 | 175.58 | 179.88 | 366 | 200.85 | 204.72 |
| 312 | 176.52 | 180.81 | 368 | 201.71 | 205.56 |
| 314 | 177.46 | 181.74 | 370 | 202.57 | 206.39 |
| 316 | 178.40 | 182.66 | 372 | 203.42 | 207.23 |
| 318 | 179.33 | 183.58 | 374 | 204.26 | 208.06 |
| 320 | 180.27 | 184.50 | 376 | 205.11 | 208.88 |
| 322 | 181.19 | 185.41 | 378 | 205.95 | 209.71 |
| 324 | 182.12 | 186.32 | 380 | 206.78 | 210.53 |
| 326 | 183.04 | 187.23 | 382 | 207.62 | 211.34 |
| 328 | 183.96 | 188.14 | 384 | 208.45 | 212.16 |
| 330 | 184.88 | 189.04 | 386 | 209.28 | 212.97 |
| 332 | 185.80 | 189.94 | 388 | 210.10 | 213.78 |
| 334 | 186.71 | 190.83 | 390 | 210.92 | 214.58 |
| 336 | 187.61 | 191.72 | 392 | 211.74 | 215.38 |
| 338 | 188.52 | 192.61 | 394 | 212.55 | 216.18 |
| 340 | 189.42 | 193.50 | 396 | 213.36 | 216.97 |
| 342 | 190.32 | 194.38 | 398 | 214.17 | 217.76 |
| 344 | 191.21 | 195.26 | 400 | 214.98 | 218.55 |
| 346 | 192.11 | 196.14 | 402 | 215.78 | 219.33 |
| 348 | 193.00 | 197.01 | 404 | 216.58 | 220.11 |
| 350 | 193.88 | 197.88 | | | |

$$C_{p,m}(\text{oDIDA, g})/(\text{J mol}^{-1}\text{K}^{-1})=1.58\cdot 10^{-7}(T/\text{K})^3-0.0013(T/\text{K})^2+1.99(T/\text{K})-48.24 \quad (34)$$

$$C_{p,m}(3,4\text{-DITA, g})/(\text{J mol}^{-1}\text{K}^{-1})=2.36\cdot 10^{-7}(T/\text{K})^3-0.0014(T/\text{K})^2+2.16(T/\text{K})-40.24 \quad (35)$$

$$C_{p,m}(3,5\text{-DITA, g})/(\text{J mol}^{-1}\text{K}^{-1})=2.28\cdot 10^{-7}(T/\text{K})^3-0.0014(T/\text{K})^2+2.15(T/\text{K})-38.07 \quad (36)$$

$$C_{p,m}(3,4\text{-DABA, g})/(\text{J mol}^{-1}\text{K}^{-1})=-2.29\cdot 10^{-7}(T/\text{K})^3-1.54\cdot 10^{-4}(T/\text{K})^2+0.63(T/\text{K})+0.59 \quad (37)$$

$$C_{p,m}(3,5\text{-DABA, g})/(\text{J mol}^{-1}\text{K}^{-1})=-1.11\cdot 10^{-7}(T/\text{K})^3-2.89\cdot 10^{-4}(T/\text{K})^2+0.68(T/\text{K})+1.10 \quad (38)$$

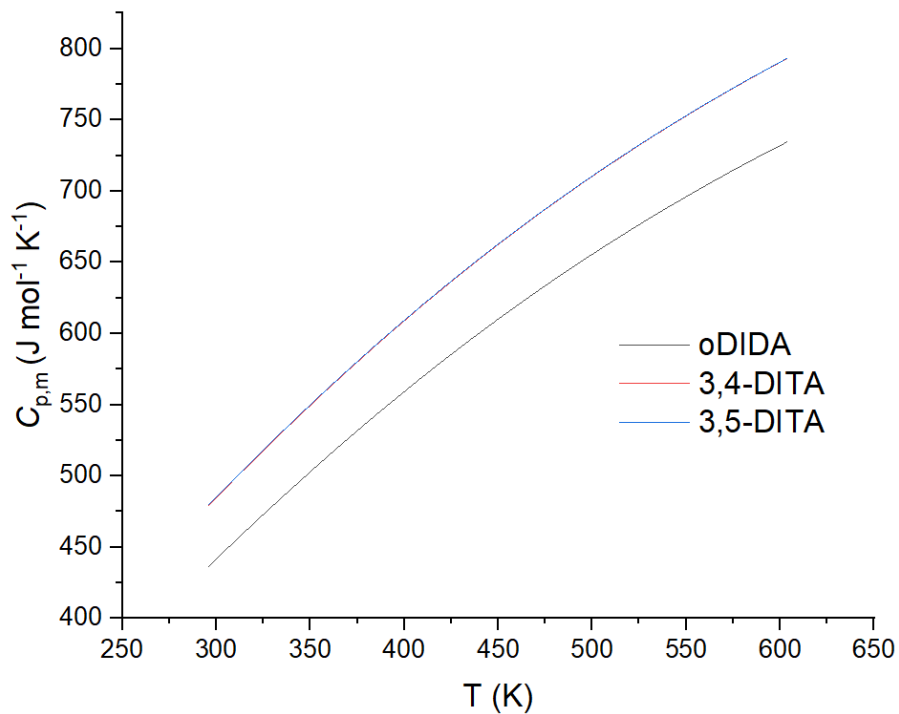


Figura 111: Curvas de capacidad calorífica en fase gaseosa en función de la temperatura para las macromoléculas sintetizadas

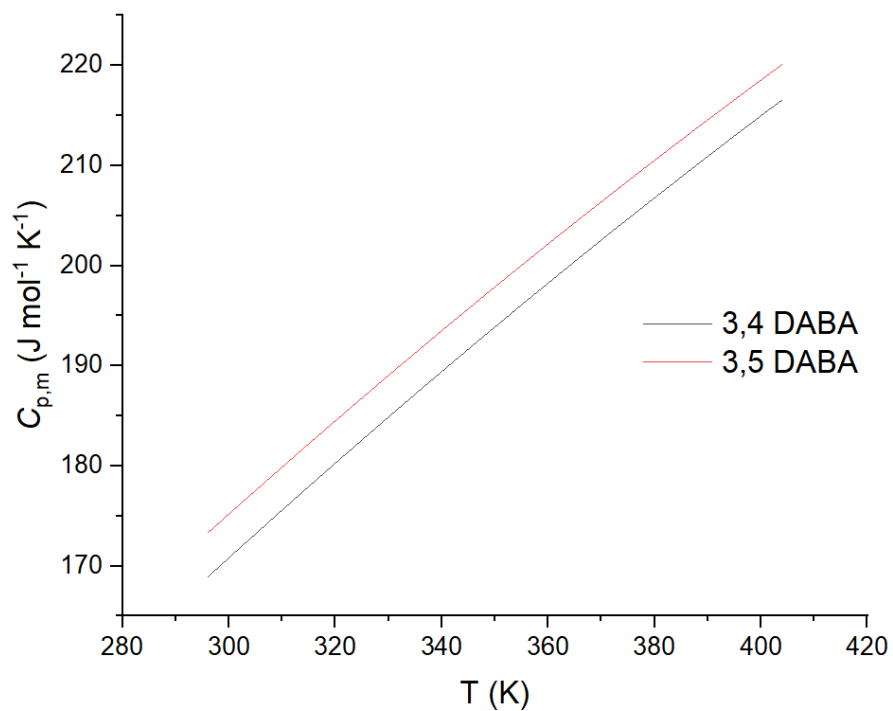


Figura 112: Curvas de capacidad calorífica en fase gaseosa en función de la temperatura para el ácido 3,4- y 3,5-diaminobenzoico

Adicionalmente se compararon los espectros de FTIR obtenidos teóricamente contra los experimentales, para ello se utilizó el funcional B3LYP con la base 6-311++g(d,p). Los resultados se muestran en las Figuras 113-115. De igual forma se compararon los espectros de la 3,4-DITA y la 3,5-DITA, es notorio que ambos presentan una capacidad calorífica similar resultando en la 3,5-DITA con una mayor a su isómero, esto es fácilmente distinguible en el espectro con la aparición de por lo menos una banda diferente. El análisis se muestra en la figura 116.

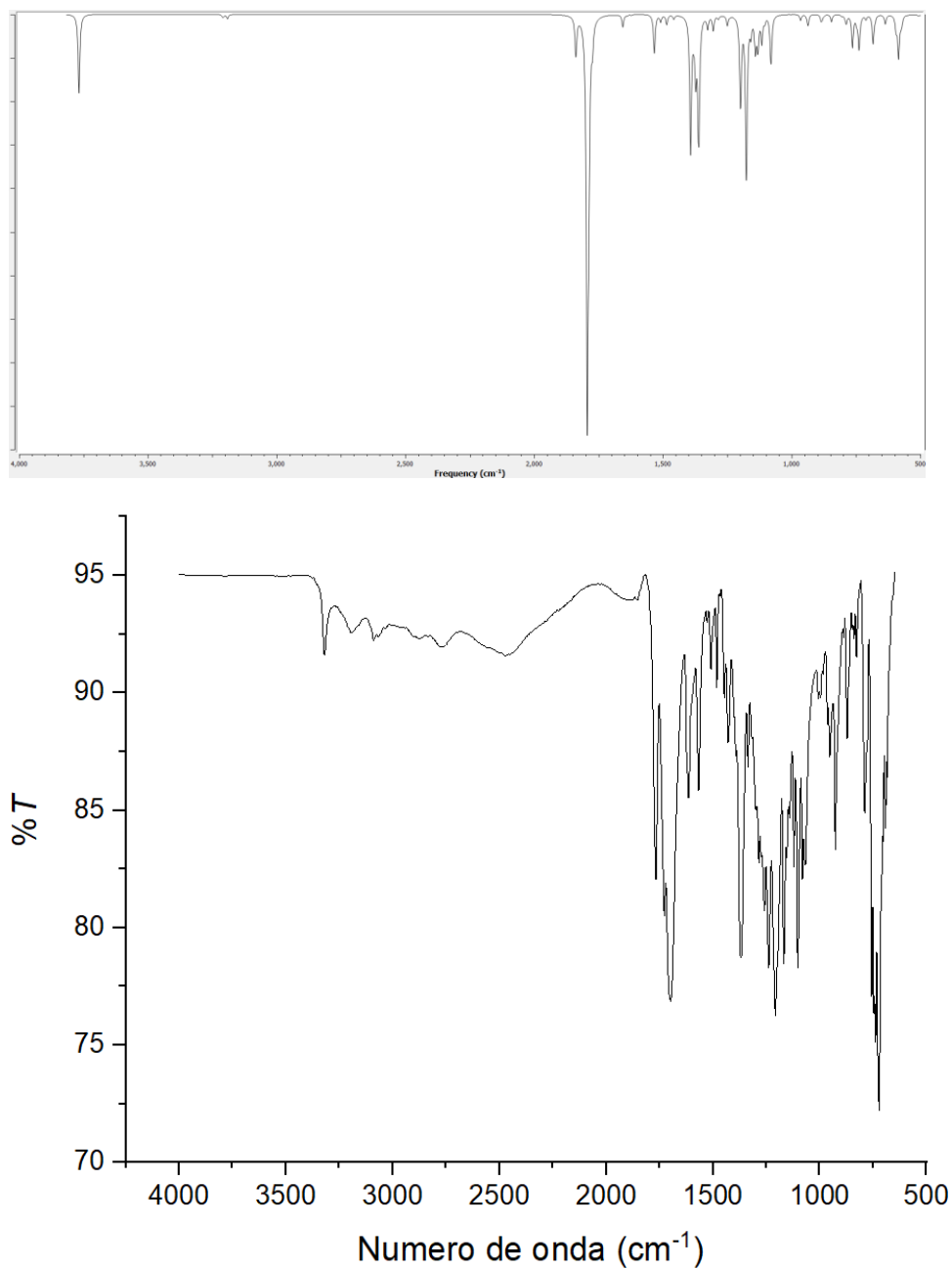


Figura 113: Comparación entre el espectro FTIR de la oDIDA obtenido de forma teórica y experimental

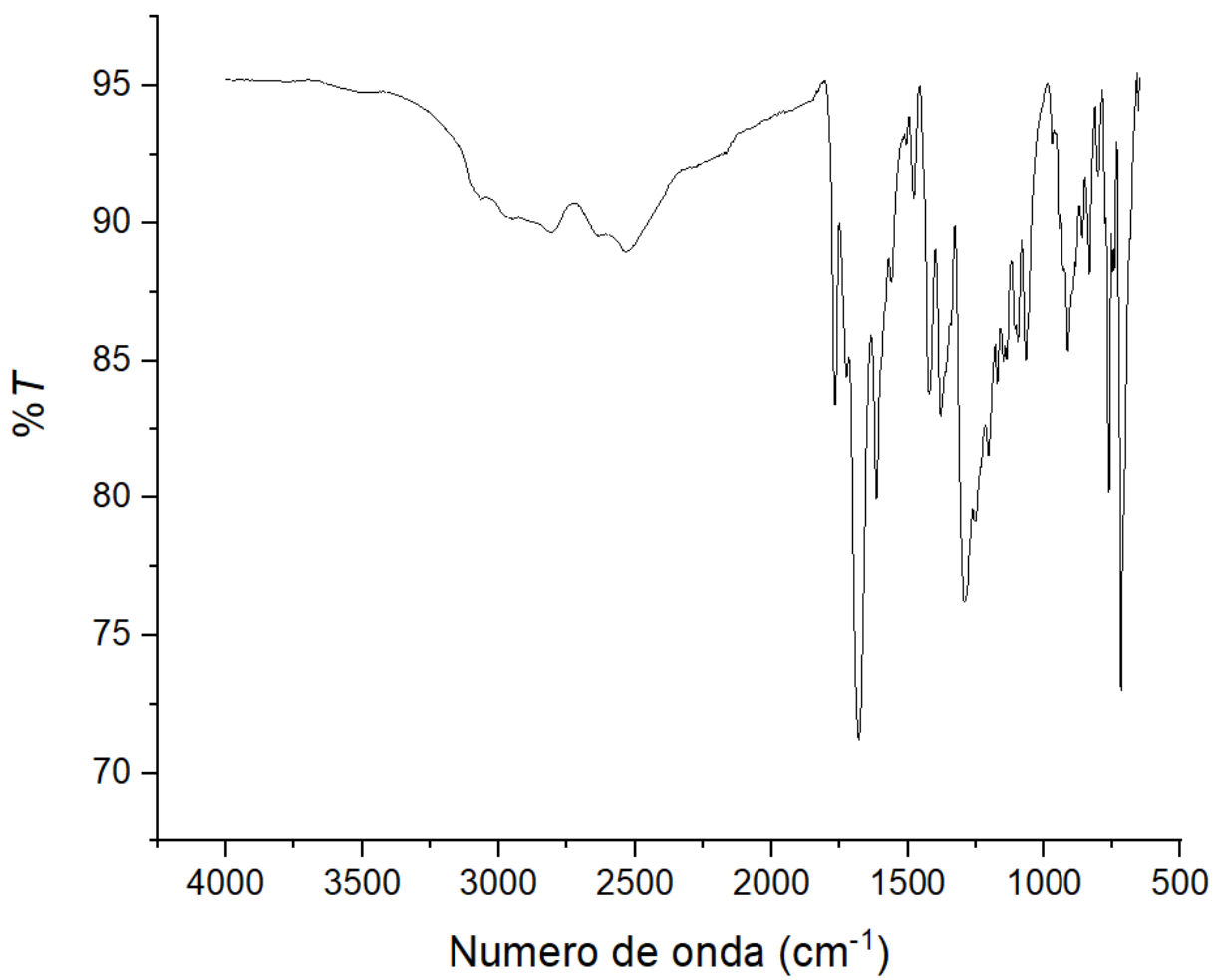
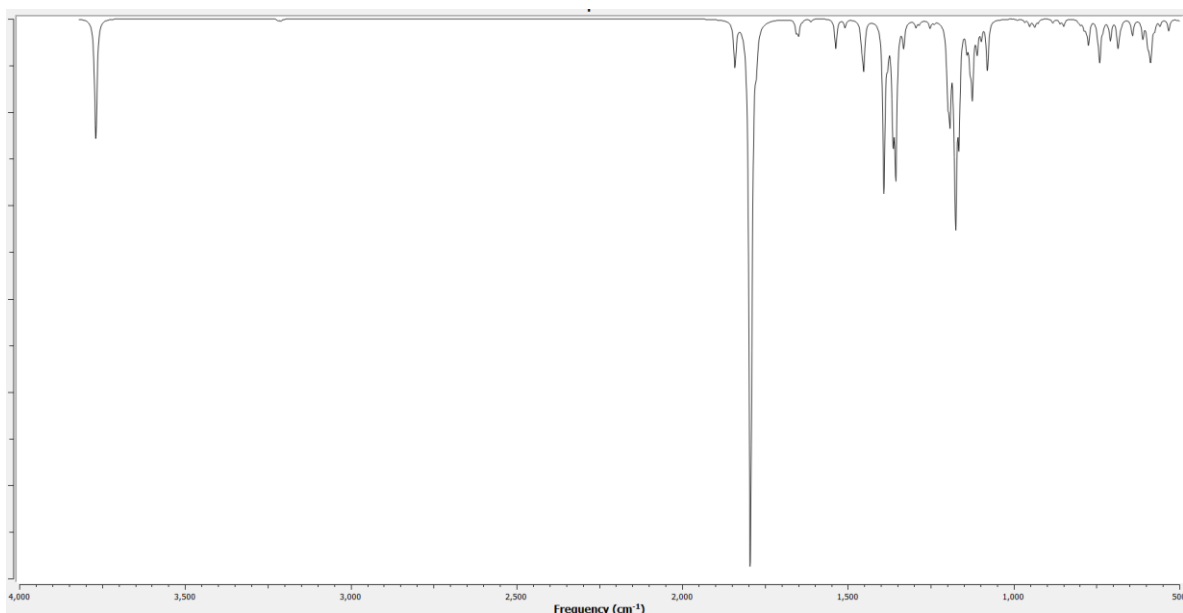


Figura 114: Comparación entre el espectro FTIR de la 3,4-DITA obtenido de forma teórica y experimental

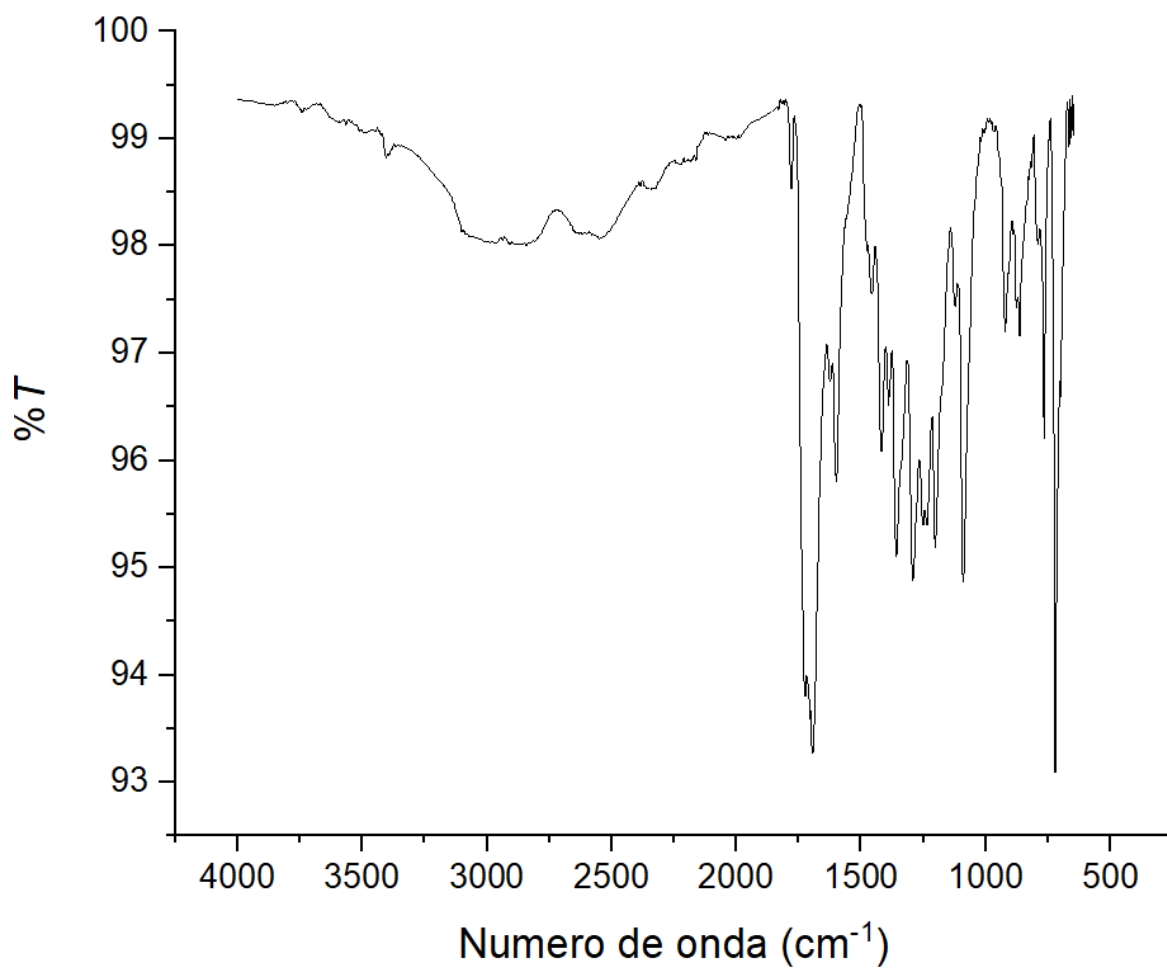
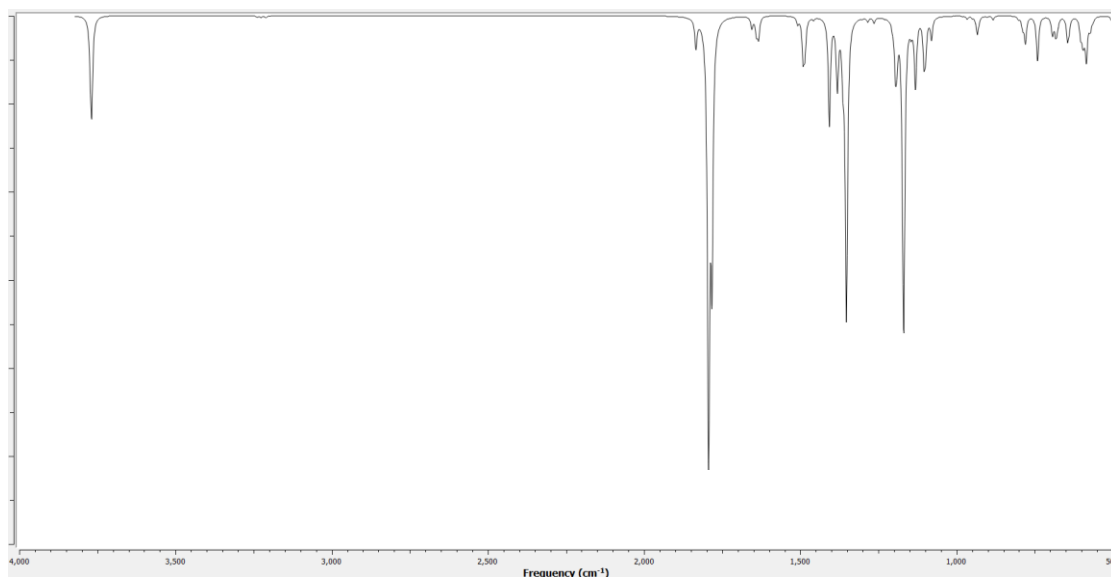


Figura 115: Comparación entre el espectro FTIR de la 3,5-DITA obtenido de forma teórica y experimental

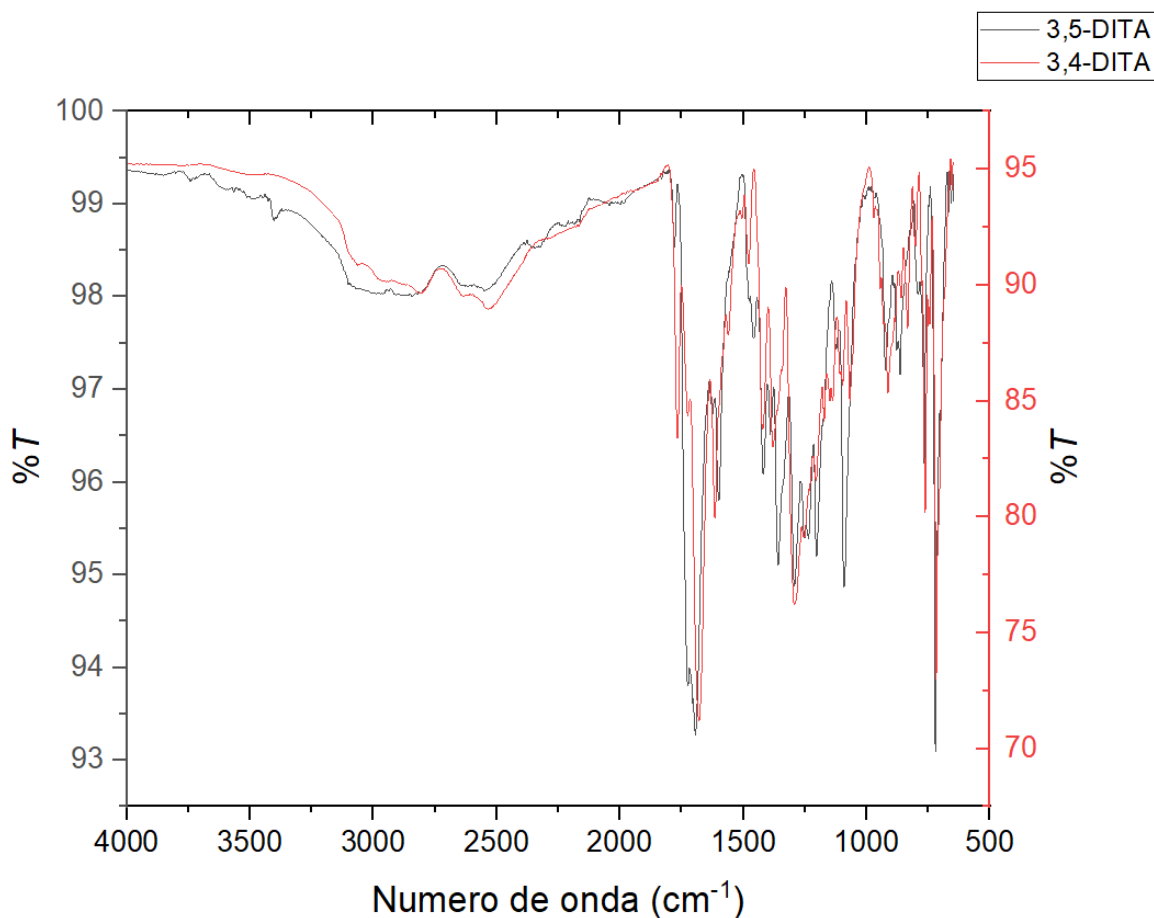


Figura 116: Comparación entre los espectros de FTIR de la 3,4- y 3,5-DITA

Como se puede observar en la comparación de la oDIDA en el espectro teórico se muestra una torsión en aproximadamente 3000 cm^{-1} la cual aparece de igual forma en el espectro experimental pero esta vez en 2000 cm^{-1} , por otro lado las bandas representativas de lo carbonilos siguen la misma tendencia en ambos espectros, así como las bandas del grupo imida dentro de la estructura, de esta forma se puede comprobar que la síntesis del compuesto resultó en de buena forma ya que tanto teórica como experimentalmente se obtienen resultados similares.

Para los espectros de la 3,4- y 3,5-DITA se observa algo similar teóricamente a lo experimental, esto es la intensidad de las bandas, la 3,5-DITA presenta en ambos casos bandas más pronunciadas lo cual también hace referencia a una capacidad calorífica mayor, de igual forma se observa en los espectros teóricos que el número de bandas crece para esta. Finalmente, en la comparación de los espectros experimentales se observa una banda adicional proveniente de la 3,5-DITA en 1360 cm^{-1} , de esta forma se comprueba la mayor capacidad calorífica de este compuesto sobre su isómero.

Energía de Gibbs de formación en fase gaseosa

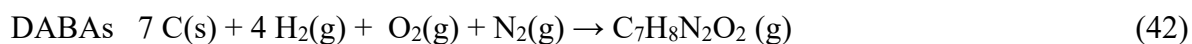
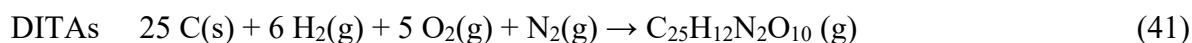
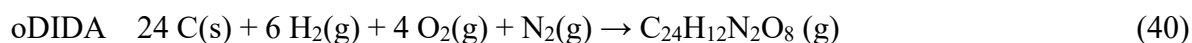
Debido a que la entalpía de formación solo se puede utilizar como criterio de estabilidad en condiciones de presión y entropía constantes, como en el caso de los isómeros estructurales,

se calcularon las energías de Gibbs de formación para los compuestos estudiados y los ácidos precursores de las DITAs. Para este procedimiento se estimaron los valores de entropía absoluta para los 5 compuestos a partir de las frecuencias vibracionales de sus geometrías optimizadas.

A partir de la entropía absoluta es posible calcular el cambio de entropía asociado a la reacción de formación en fase gaseosa de la siguiente forma.

$$\Delta_f S_m^\circ(g) = \sum S_m^\circ(g)(\text{productos}) - \sum S_m^\circ(g)(\text{reactivos}) \quad (39)$$

Para este cálculo sobre cada reacción de formación se utilizaron las siguientes reacciones para cada estructura, además de su valor de entropía absoluta, para el C(s) de (5.74 ± 0.10) J mol⁻¹ K⁻¹, para H₂(g) de (130.571 ± 0.003) J mol⁻¹ K⁻¹, O₂(g) de (205.043 ± 0.005) J mol⁻¹ K⁻¹, N₂(g) de (191.500 ± 0.004) J mol⁻¹ K⁻¹ [142].



Los resultados de energía de Gibbs de formación en fase gaseosa se presentan en la Tabla 40.

Tabla 40: Entropías absolutas, entalpías de formación, entropías de formación y energías de Gibbs de formación para los compuestos a $T = 298.15\text{K}$ ($p^\circ = 0.1 \text{ MPa}$)

| Compuesto | $S^\circ(\text{g})/\text{J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ | $\Delta_f H^\circ(\text{g})/\text{kJ mol}^{-1}$ | $\Delta_f S^\circ(\text{g})/\text{J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ | $\Delta_f G^\circ(\text{g})/\text{kJ mol}^{-1}$ |
|-----------|--|---|---|---|
| oDIDA | 771.4 | -1024.9 | -1161.5 | -678.6 |
| 3,4-DITA | 836.9 | -1403.9 | -1306.7 | -1014.3 |
| 3,5-DITA | 846.0 | -1417.9 | -1297.6 | -1031.0 |
| 3,4-DABA | 403.8 | -301.2 | -555.2 | -135.7 |
| 3,5-DABA | 408.8 | -293.1 | -550.2 | -129.1 |

Como se puede observar, en el caso de los ácidos aminobenzoicos el 3,4- presenta una mayor estabilidad como se había discutido en la sección anterior, nuevamente esto se debe a la formación de enlaces de hidrógeno generados por la cercanía de los grupos amino, pero, en el caso de las DITAs, se observa que la 3,5 tiene una mayor estabilidad, para este punto no existen enlaces de hidrógeno que puedan conceder estabilidad sino que, los grupos carbonilo de las imidas generan repulsión entre sí mismos, por esta razón en la 3,5-DITA al tener un menor impedimento estérico la energía de Gibbs tiende a ser más negativa en comparación con su isómero estructural.

Debido a que, el cálculo de la entropía absoluta y de formación requiere de un software especializado como Gaussian y cálculos computacionales de alto nivel que pueden requerir un tiempo de cómputo considerable como en el caso de la oDIDA de 12 horas y para las DITAS de 15 horas, esta tarea no puede replicarse sin el uso de hardware especializado, es

por lo que, a través de Machine Learning se realizó un modelo basado en la contribución de grupos funcionales para la predicción de dicha entropía.

Para este caso se utilizó una regresión lineal múltiple, nuevamente se realizó la programación en Google Collab con las librerías previamente mencionadas en el apartado de la predicción de la entalpía de formación. Las métricas de evaluación se presentan en la Tabla 41, los diagramas de paridad para el conjunto de entrenamiento como prueba se presentan en la Figuras 117-119.

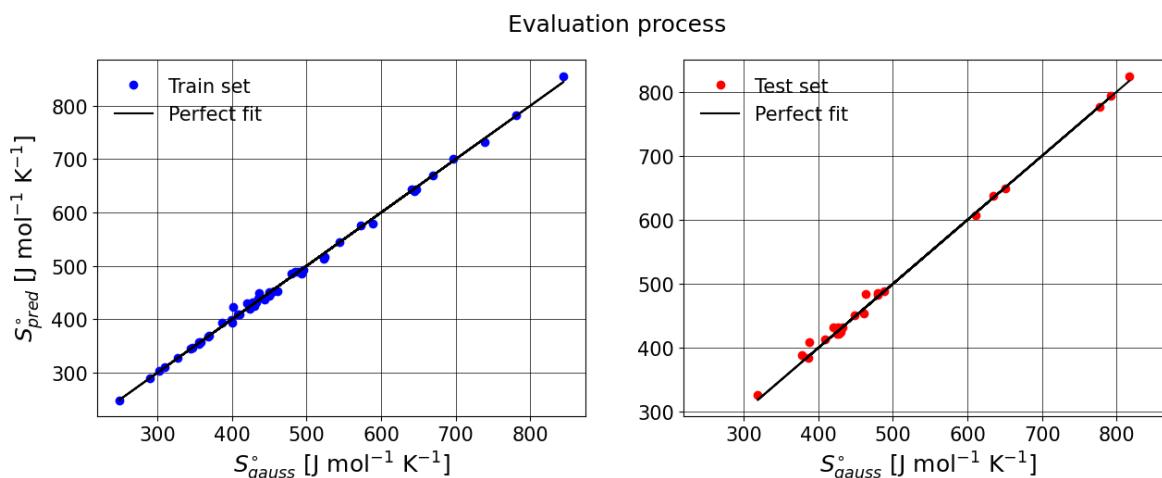


Figura 117: Predicción del conjunto de entrenamiento y prueba para la entropía absoluta

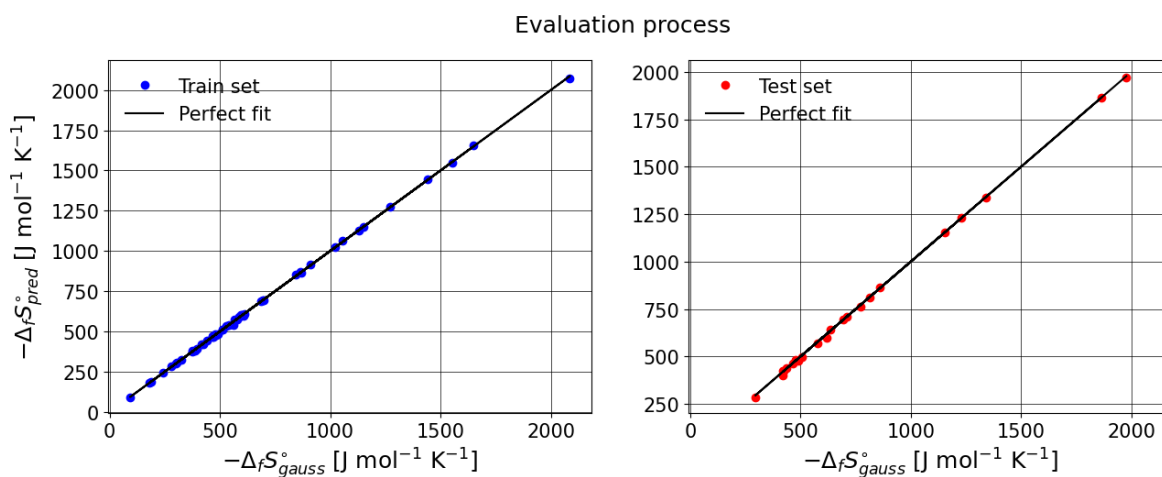


Figura 118: Predicción del conjunto de entrenamiento y prueba para la entropía de formación

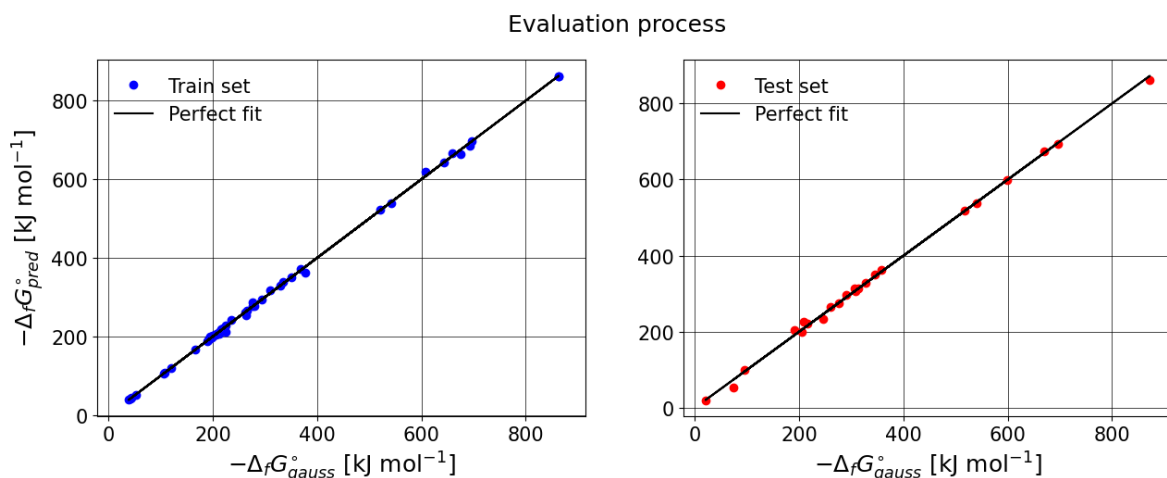


Figura 119: Predicción del conjunto de entrenamiento y prueba para la energía de Gibbs absoluta

Tabla 41: Métricas de evaluación para la regresión lineal

| S° (g, 298.15K) | | | | | | | | |
|----------------------------------|--------|--------|-----|--------|--------|------|--------|--------|
| | E | P | | E | P | | E | P |
| R^2 | 0.9979 | 0.9964 | MAE | 3.9272 | 6.1227 | RMSE | 5.7921 | 8.247 |
| $-\Delta_f S^\circ$ (g, 298.15K) | | | | | | | | |
| | E | P | | E | P | | E | P |
| R^2 | 0.9998 | 0.9996 | MAE | 3.9272 | 6.3722 | RMSE | 5.7921 | 8.481 |
| $-\Delta_f G^\circ$ (g, 298.15K) | | | | | | | | |
| | E | P | | E | P | | E | P |
| R^2 | 0.9994 | 0.9986 | MAE | 2.9398 | 5.7992 | RMSE | 4.9202 | 7.8588 |

E: entrenamiento, P: prueba

Finalmente se predijeron los valores de entropía absoluta, entropía de formación y energía libre de Gibbs de formación para los compuestos mencionados en la Tabla 40, se puede observar que los valores obtenidos mediante ML son muy próximos al obtenido mediante el funcional B3LYP de DFT, se obtuvo una variación de $5.9 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ en el caso de la oDIDA, mientras que para el caso de las DITAs las predicciones tuvieron una diferencia de $2.0 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ y $2.9 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ para la 3,5-DITA y 3,4-DITA respectivamente, de esta forma se comprueba que el uso de ML es una herramienta poderosa para el cálculo de estas propiedades termoquímicas.

Tabla 42: Entropías absolutas, entalpías de formación, entropías de formación y energías de Gibbs de formación para los compuestos a 298.15K ($p^\circ = 0.1 \text{ MPa}$) obtenidas con ML

| Compuesto | $S^\circ(\text{g})/\text{J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ | $\Delta_f H^\circ(\text{g})/\text{kJ mol}^{-1}$ | $\Delta_f S^\circ(\text{g})/\text{J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ | $\Delta_f G^\circ(\text{g})/\text{kJ mol}^{-1}$ |
|-----------|--|---|---|---|
| oDIDA | 777.3 | -1024.9 | -1155.6 | -675.6 |
| 3,5-DITA | 848.0 | -1417.9 | -1295.6 | -1023.8 |
| 3,4-DITA | 839.8 | -1403.9 | -1303.8 | -1017.9 |

En el caso de la oDIDA para la energía libre de Gibbs se obtuvo una diferencia de -3.0 kJ mol^{-1} , mientras que para las DITAs se obtuvieron diferencias de -7.2 kJ mol^{-1} y 3.6 kJ mol^{-1} , en el caso de la entropía de formación se obtuvieron diferencias de $-5.9 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, $-2.0 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ y $-2.9 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ para la oDIDA, 35-DITA y 3,4-DITA, respectivamente, si bien para la entropía absoluta las diferencia fue más pronunciada para la oDIDA, en el cálculo final de la energía de Gibbs esto no representó una diferencia significativa. Nuevamente se demuestra que dentro de los isómeros estructurales la 3,5-DITA resulta ser más estable en comparación con la 3,4-DITTA dado su impedimento estérico. Adicionalmente, la Tabla 43 muestra los valores obtenidos para la contribución de grupos funcionales propuesta por Benson complementado con ML.

Tabla 43: Valores para los grupos de Benson obtenidos mediante ML

| Grupo funcional | $S^\circ(\text{g})/\text{J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ | $\Delta_f S^\circ(\text{g})/\text{J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ | $\Delta_f G^\circ(\text{g})/\text{kJ mol}^{-1}$ |
|--|--|---|---|
| CO-(O)(CO) | 9.79 | -28.16 | -79.72 |
| CO-(C _D)(O) | -0.17 | 6.5 | -20.23 |
| CO-(C)(O) | 13.61 | -24.34 | -79.44 |
| CO-(H)(O) | -32.67 | 77.16 | -181.71 |
| CO-(O)(C _B) | 18.43 | -47.22 | 23.22 |
| O-(H)(CO) | 8.98 | -16.06 | -337.89 |
| O-(C)(C _B) | 18.77 | -60.84 | -37.25 |
| C _D -(H)(CO) | 21.74 | -23.82 | -67.02 |
| C _B -(CO)(C _B) ₂ | 41.55 | -78.55 | -21.67 |
| C _B -(O)(C _B) ₂ | 18.77 | -60.84 | -37.25 |
| C-(CO)(C) ₃ | 12.26 | -74.12 | 55.26 |
| C-(H) ₂ (CO)(C) | 37.04 | -99.27 | -9.41 |
| C-(H) ₃ (O) | 18.77 | -60.84 | -37.25 |
| C-(H) ₃ (C) | -5.39 | 6.09 | -114.10 |
| C-(H) ₃ (C _B) | 3.46 | 7.28 | -48.20 |
| C-(H) ₂ (C) ₂ | 31.12 | -105.19 | 10.78 |
| CD-(H) ₂ | -0.17 | 6.5 | -20.23 |
| C _B -(H)(C _B) ₂ | 2.38 | 2.38 | -8.79 |
| C _B -(C)(C _B) ₂ | 37.91 | -102.23 | 31.24 |
| C-(H) ₂ (C)(C _B) | 34.45 | -109.51 | 79.44 |
| C-(C) ₄ | 0.00 | 0.00 | 25.81 |
| CH ₃ (qua) | 24.52 | -148.24 | 110.51 |
| C _B -(C _B) ₃ | 18.22 | -58.55 | 40.84 |
| CO-(C)(N) | 12.21 | -14.54 | -153.75 |
| N-(H)(CO) ₂ | -23.65 | 78.45 | -124.97 |
| C-(H) ₃ (N) | -3.66 | 34.20 | -75.91 |
| N-(CO) ₂ (C) | 21.61 | -50.46 | -36.18 |
| CO-(C _D)(N) | 21.91 | -30.32 | -46.79 |
| CO-(N)(C _B) | 23.12 | -31.33 | -44.89 |
| C _B -(NO ₂)(C _B) ₂ | 58.75 | -176.76 | 57.45 |

| | | | |
|---|--------|---------|--------|
| C-(H) ₂ (N)(C) | 25.27 | -84.66 | 39.73 |
| C _B -(N)(C _B) ₂ | 30.65 | -66.09 | 38.44 |
| N-(CO) ₂ (C _B) | 30.65 | -66.09 | 38.44 |
| rsc | -20.22 | -20.22 | 4.19 |
| radical 1 | 2.78 | 2.78 | -4.35 |
| radical 2 | 0.32 | 0.32 | -3.34 |
| radical 3 | -3.47 | -3.47 | -2.00 |
| radical 4 | 0.86 | 0.86 | -1.81 |
| Correction o | -3.56 | -3.56 | 29.33 |
| Correction m | -1.91 | -1.91 | 14.90 |
| Correction p | -9.77 | -9.77 | 17.47 |
| <i>H</i> _{f0} | 272.69 | -153.46 | 168.44 |

Finalmente, con los valores obtenidos de entalpía de formación en fase gaseosa para cada compuesto se calcularon los incrementos entálpicos dependiendo de la posición de los radicales y grupos funcionales sobre la estructura química base. Para ello se trazaron rutas teóricas, de esta forma es posible corroborar la veracidad de los datos, ya que, las rutas paralelas deberán tener valores de incremento similar. Las Figuras 120-122 muestran las rutas teóricas trazadas, en color rojo se encuentra el valor predicho de entalpía mientras que, en color negro se muestra el incremento entálpico.

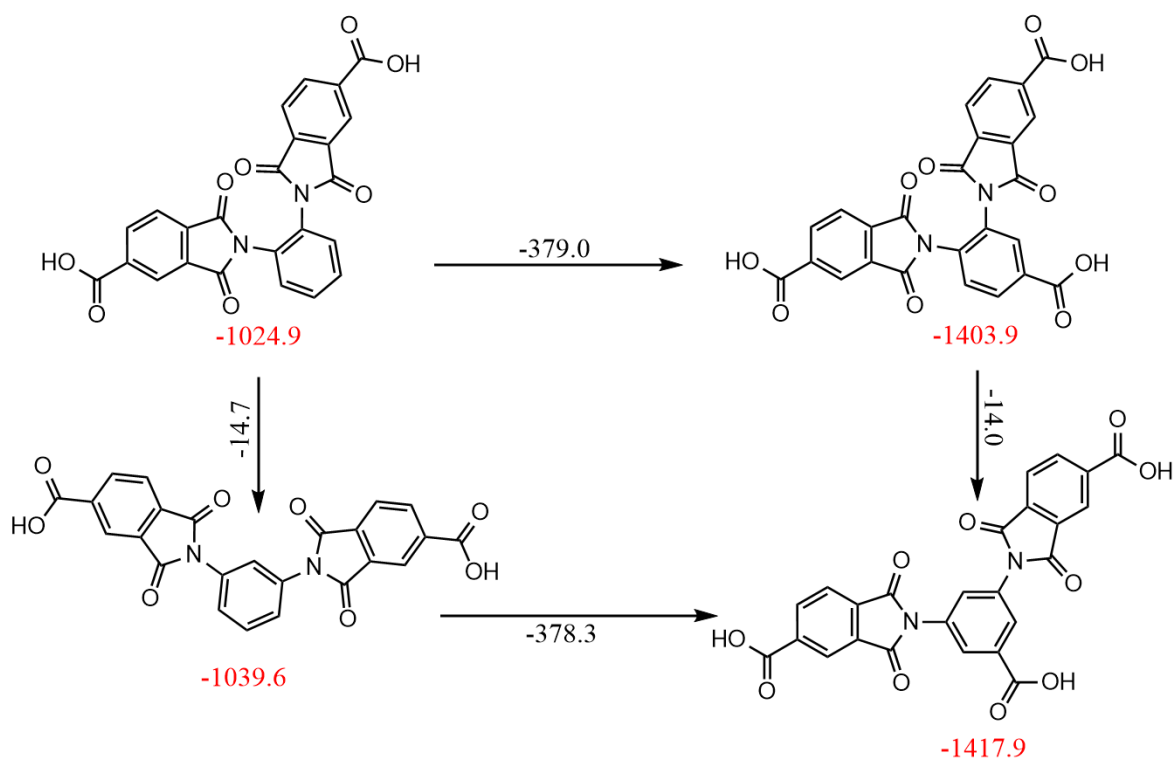


Figura 120: Incrementos entálpicos entre los compuestos estudiados

Conclusiones

Utilizando la síntesis en estado sólido fue posible obtener nuevas macromoléculas que funcionaron tanto como agentes reductores como estabilizantes en la síntesis de nanopartículas de oro (AuNPs), se obtuvieron conversiones del 80% para la oDIDA, 82% para la 3,4DITA y 92% para la 3,5DITA, tanto la síntesis como la purificación se llevaron a cabo sin el uso de solventes lo cual redujo el impacto ambiental causado por las síntesis tradicionales y en un tiempo de reacción menor, de esta forma se comprueba que el uso de esta ruta sintética permite la obtención de macromoléculas, buenos rendimientos, bajos tiempos de reacción y es más amigable con el medio ambiente.

A partir de Machine Learning (ML) y el uso de la contribución de grupos funcionales (GC) propuesto por Benson fue posible obtener la entalpía de formación tanto en fase gaseosa como cristalina, la entalpía de combustión en fase cristalina y la de sublimación, adicionalmente utilizando DFT a un nivel de teoría B3LYP/6-311++G(d,p) y las técnicas para determinar la entalpía, fue posible obtener la entropía absoluta, entropía de formación y la energía libre de Gibbs en fase gaseosa, utilizando esta metodología se reduce exponencialmente el tiempo de cómputo actualmente utilizado para la obtención de estos resultados, así como la posibilidad de obtener resultados en la fase condensada lo cual no es posible mediante las técnicas Quimi informáticas actuales.

Mediante la neutralización de las macromoléculas para obtener electrolitos de nueva generación fue posible sintetizar AuNPs las cuales mostraron una nucleación y crecimiento de las nanopartículas en los primeros 30 minutos, además se mantuvieron en suspensión coloidal en más de 100 días, mediante el potencial Zeta se demostró que los compuestos funcionan como agentes surfactantes dejando expuestos los grupos ácidos, adicionalmente pasados 130 días el potencial demostró que las AuNPs todavía pueden seguir siendo estables, mediante el diámetro hidrodinámico se demostró que las nanopartículas mostraron un tamaño entre 7 nm hasta 22 nm, si bien no se generan nanopartículas mono dispersas la mayoría se concentran en un solo tamaño de partícula y, ya que la técnica solo es aplicable a la forma esférica se comprueba la geometría obtenida.

Durante el estudio *in silico* como *in vitro* fue posible analizar la interacción de los compuestos con las diferentes proteínas de las vías de señalización para dar una explicación al efecto citotóxico encontrado, dicho efecto se generó a las 24 horas posteriores a la aplicación del tratamiento en donde se encontró que, todos los compuestos y sus AuNPs generaron una disminución en la viabilidad celular en ambas líneas, además, al probar la concentración inhibidora media en la línea MCF-10A los compuestos y sus nanopartículas no presentaron un efecto negativo en células sanas, adicionalmente, se realizó un estudio computacional para conocer el sitio de unión de las AuNPs dentro de las proteínas, de esta forma se encontró que las macromoléculas atacan dos zonas de una misma proteína y, finalmente mediante el programa *SwissADME* se determinó que los compuestos pueden ser utilizados de forma intravenosa como una alternativa a los tratamientos convencionales.

Referencias

1. Anu, M.E.; Saravanakumar, M.P. A review on the classification, characterization, synthesis of nanoparticles and their application. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 2017, 263, 032019.
2. Amato, R.D.; Falconieri, M.; Gagliardi, S.; Popovici, E.; Serra, E.; Terranova, G.; Borsella, E. Synthesis of ceramic nanoparticles by laser pyrolysis: From research to applications. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* 2013, 104, 461.
3. Yadav, T.P.; Yadav, R.M.; Singh, D.P. Mechanical Milling: a Top Down Approach for the Synthesis of Nanomaterials and Nanocomposites. *Nanosci. Nanotechnol.* 2012, 2, 22–48.
4. Nadaroglu, H.; Gungor, A.A.; Ince, S. Synthesis of Nanoparticles by Green Synthesis Method. *Int. J. Innovative Res. Rev.* 2017, 1, 6-9.
5. Hassan, A.I.; Saleh, H.M. Principles of Green Chemistry. *Green Organic Reactions* 2021.
6. Hasa, S. A Review on Nanoparticles: Their Synthesis and Types. *Res. J. Recent. Sci.* 2015, 4, 1-3.
7. Thakkar, K.N.; Mhatre, S.S.; Parikh, R.Y. Biological synthesis of metallic nanoparticles. *Nanomedicine (Lond.)* 2010, 6, 257-262.
8. Shaikh, S.F.; Mane, R.S.; Min, B.K.; Hwang, Y.J.; Joo, O.S. D-sorbitol-induced phase control of TiO₂ nanoparticles and its application for dye-sensitized solar cells. *Sci. Rep.* 2016, 6, 2010–2013.
9. Moura, D.; Souza, M.T.; Liverani, L.; Rella, G.; Luz, G.M.; Mano, J.F.; Boccaccini, A.R. Development of a bioactive glass-polymer composite for wound healing applications. *Mater. Sci. Eng. C* 2017, 76, 224–232.
10. Jamkhande, P.G.; Ghule, N.W.; Bamer, A.H.; Kalaskar, M.G. Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *J. Drug Delivery Sci. Technol.* 2019, 53, 101174.
11. Pandey, P.A.; Bell, G.R.; Rourke, J.P.; Sanchez, A.M.; Elkin, M.D.; Hickey, B.J.; Wilson, N.R. Physical vapor deposition of metal nanoparticles on chemically modified graphene: observations on metal–graphene interactions. *Small* 2011, 7, 3202–3210.
12. Guzman, M.G.; Dille, J.; Godet, S. Synthesis of silver nanoparticles by chemical reduction method and their antibacterial activity. *Int. J. Chem. Biomol. Eng.* 2009, 2, 104–111.
13. Chattopadhyay, D.P.; Patel, B.H. Nano metal particles: synthesis, characterization, and application to textiles. *Manufacturing Nanostructures* 2014, 184–215.
14. Cushing, B.L.; Kolesni, V.L.; O'Connor, C.J. Recent advances in the liquid-phase syntheses of inorganic nanoparticles. *Chem. Rev.* 2004, 104, 3893–3946.

15. Hasnidawani, J.N.; Azlina, H.N.; Norita, H.; Bonnia, N.N.; Ratim, S.; Ali, E.S. Synthesis of ZnO nanostructures using sol-gel method. *Procedia Chem.* 2016, 19, 211–216.
16. Marsalek, R. Particle Size and Zeta Potential of ZnO. *APCBEE Procedia* 2014, 9, 13–17.
17. Hodoroaba, V.; Rades, S.; Unger, W.E.S. Inspection of morphology and elemental imaging of single nanoparticles by high-resolution SEM/EDX in transmission mode. 2014.
18. Chen, W.; Cai, W.; Zhang, L.; Wang, G.; Zhang, L. Sonochemical processes and formation of gold nanoparticles within pores of mesoporous silica. *J. Colloid Interface Sci.* 2001, 238, 291–295.
19. Beyene, H.D.; Werkneh, A.A.; Bezabh, H.K.; Ambaye, T.G. Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review. *Sustainable Mater. Technol.* 2017, 13, 18-23.
20. Dodd, M.; Shah, R.; Anderson, T.; Liu, Z.; Zhang, W. Impact of lifestyle and environmental factors on breast cancer risk. *Oncol. Rev.* 2023, 37, 156–167.
21. Mueller, K.A.; Thompson, J.; Wu, C.; Patel, R.; Adams, H. BRCA1 and BRCA2: Genetic mutations and implications for breast cancer. *Cancer Genet.* 2023, 15, 89–101.
22. Jones, E.L.; Mehta, S.; Carter, M.; Brown, P.; Williams, N. Role of TP53 mutations in breast cancer aggressiveness. *J. Clin. Oncol.* 2023, 41, 221–234.
23. Lee, S.; Cheng, F.; Zhao, H.; Wang, Y.; Lee, J. The PI3K/Akt/mTOR pathway and drug resistance in breast cancer. *Ther. Adv. Med. Oncol.* 2023, 14, 134–145.
24. Kumar, R.; Brown, C.; Jones, K.; Park, M.; Garcia, A. HER2 as a prognostic and predictive factor in breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 2023, 183, 113–128.
25. Garcia, M.E.; Patel, A.; Nguyen, D.; Li, S.; Martinez, R. Triple-negative breast cancer: Challenges and recent advancements. *Curr. Oncol. Rep.* 2023, 25, 431–444.
26. Smith, L.J.; Nguyen, H.; Lee, T.; Chen, P.; Wu, S. Hormonal receptors and breast cancer subtypes. *Endocr.-Relat. Cancer* 2023, 30, 297–308.
27. Nguyen, C.D.; Alvarez, R.; Zhao, L.; Smith, T.; Kumar, S. Signaling pathways in breast cancer: A focus on ER, HER2, Wnt, and Notch pathways. *Mol. Cancer Res.* 2023, 21, 135–144.
28. Perez, R.R.; Kim, Y.; Williams, J.; Robinson, T.; Lewis, A. Autocrine and paracrine signaling in malignant breast cells. *Cell. Signalling* 2023, 99, 202–213.
29. National Cancer Institute. Genetic testing for BRCA1/2 mutations: An update. *NCI Cancer Bull.* 2023, 34, 312–3.
30. Cusabio. Breast Cancer. *Cusabio Official Website*. Disponible en: <https://www.cusabio.com/Breast-Cancer/>. Acceso el 5 de marzo de 2024.

31. Tenzer, S.; Docter, D.; Rosfa, S.; Wlodarski, A.; Kuharev, J.; Rekić, A.; Knauer, S.K.; Bantz, C.; Nawroth, T.; Bier, C. Nanoparticle size is a critical physicochemical determinant of the human blood plasma corona: A comprehensive quantitative proteomic analysis. *ACS Nano* 2011, 5, 7155–7167.
32. Saeed, M.; Gao, J.; Shi, Y.; Lammers, T.; Yu, H. Engineering Nanoparticles to Reprogram the Tumor Immune Microenvironment for Improved Cancer Immunotherapy. *Theranostics* 2019, 9, 7981.
33. McCulloch, W.S.; Pitts, W. A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *Bull. Math. Biophys.* 1943, 5, 115.
34. LeCun, Y.; Boser, B.; Denker, J.S.; Henderson, D.; Howard, R.E.; Hubbar, W.; Jackel, L.D. Backpropagation applied to handwritten zip code recognition. *Neural Comput.* 1989, 1, 541.
35. Raschka, S.; Patterson, J.; Nolet, C. Machine Learning in Python: Main Developments and Technology Trends in Data Science, Machine Learning, and Artificial Intelligence. *Information* 2020, 11, 193.
36. Virtanen, P.; Gommers, R.; Oliphant, T.E.; Haberland, M.; Reddy, T.; Cournapeau, D.; Burovski, E.; Peterson, P.; Weckesser, W.; Bright, J. SciPy 1.0: Fundamental Algorithms for Scientific Computing in Python. *Nat. Methods* 2020, 17, 261.
37. Mirjalili, S. Genetic Algorithm. *Evol. Algorithms Neural Networks* 2018, 780.
38. Orriols-Puig, A.; Casillas, J.; Bernardó-Mansilla, E. Genetic-based machine learning systems are competitive for pattern recognition. *Evol. Intell.* 2008, 1, 209.
39. Warin, T.; Stojkov, A. Machine Learning in Finance: A Metadata-Based Systematic Review of Literature. *J. Risk Financial Manag.* 2021, 17, 302.
40. Chicco, D. Ten quick tips for machine learning in computational biology. *BioData Min.* 2017, 10, 35.
41. Sidey-Gibbons, J.A.M.; Sidey-Gibbons, C.J. Machine learning in medicine: a practical introduction. *BMC Med. Res. Methodol.* 2019, 19, 64.
42. Mamoshina, P.; Vieira, A.; Putin, E.; Zhavoronkov, A. Applications of Deep Learning in Biomedicine. *Mol. Pharm.* 2016, 13, 1445.
43. Khanzode, K.C.A. Advantages and Disadvantages of Artificial Intelligence and Machine Learning: A Literature Review. *Int. J. Libr. Inf. Sci.* 2020, 9, 30.
44. Díaz-Sánchez, F.; García-Castro, M.A.; Amador, P.; Arzola-Flores, J.A.; Limón-Aguilar, X. Experimental Determination of the Standard Enthalpy of Formation of Trimellitic Acid and Its Prediction by Supervised Learning. *J. Phys. Chem. A* 2024, 128, 2200-2209.
45. Guo, K.; Yang, Z.; Yu, C.; Buehler, M.J. Artificial intelligence and machine learning in design of mechanical materials. *Mater. Horiz.* 2021, 8, 1153.

46. Ye, S.; Zhong, K.; Zhang, J.; Hu, W.; Hirst, J.D.; Zhang, G.; Mukamel, S.; Jiang, J. A Machine Learning Protocol for Predicting protein Infrared Spectra. *J. Am. Chem. Soc.* 2020, 142, 19071.
47. Ghosh-Dastidar, S.; Adeli, H. Spiking Neural Networks. *Int. J. Neural Syst.* 2009, 19, 295.
48. Guo, K.; Yang, Z.; Yu, C.; Buehler, M.J. Artificial intelligence and machine learning in design of mechanical materials. *Mater. Horiz.* 2021, 8, 1153.
49. Gu, J. Recent Advances in convolutional neural network. *Pattern Recognit.* 2018, 77, 354.
50. Andics, A.; McQueen, J.M.; Petersson, K.M.; Gál, V.; Rudas, G.; Vidnyánszky, Z. Neural mechanism for voice recognition. *NeuroImage* 2010, 52, 1528.
51. Popescu, M.C.; Balas, V.E.; Perescu-Popescu, L.; Mastorakis, N. Multilayer Perceptron and Neural Networks. *WSEAS Trans. Circuits Syst.* 2009, 8, 579.
52. TIOBE Index, The software quality company. (2023).
53. Sebastian, F.; Klein, S.A.; Reindl, D.T. A semi-empirical method to estimate enthalpy exchanger performance and comparison of alternative frost control strategies. *HVAC&R Res.* 2003, 9, 493-508.
54. Lyman, W.J.; Reehl, W.F.; Rosenblatt, D.H. *Handbook of Chemical Property Estimation Methods: Environmental Behavior of Organic Compounds*; ACS Washington DC, 1990.
55. Allinger, N.L.; Chen, K.; Lii, J.H. *J. Comput. Chem.* 1996, 17, 642.
56. Parr, R.G.; Yang, W. *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*; Oxford University: New York, 1989.
57. Holger, K.; Lars, G.; Stefan, G. Why the Standard B3LYP/6-31G Model Chemistry Should Not Be Used in DFT Calculations of Molecular Thermochemistry: Understanding and Correcting the Problem. *J. Org. Chem.* 2012, 77, 10824-10834.
58. Ochterski, J.W. *Thermochemistry in Gaussian*; Gaussian, INC., 2000
59. Bakowies, D. Ab Initio Thermochemistry with High-Level Isodesmic Corrections: Validation of the ATOMIC Protocol for a Large Set of Compounds with First-Row Atoms (H, C, N, O, F). *J. Phys. Chem.* 2009, 113, 11517.
60. Curtiss, L.A.; Redfern, P.C.; Raghavachari, K. Gaussian-4 theory. *J. Chem. Phys.* 2007, 126, 084108.
61. Smith, B.C. *Infrared Spectral Interpretation: A Systematic Approach*; CRC Press, 1998, 1, 1-266.
62. Claridge, T.D.W. *High-Resolution NMR Techniques in Organic Chemistry*; Elsevier, 2016, 3, 1-552.

63. Lambert, J.B.; Shurvell, H.F.; Lightner, D.A.; Cooks, R.G. *Organic Structural Spectroscopy*; Prentice Hall, 1998, 1, 1–485.
64. Gross, J.H. *Mass Spectrometry: A Textbook*; Springer-Verlag, 2011, 2, 1–753.
65. Stephens, D. *Mass Spectrometry in Drug Discovery*; CRC Press, 2001, 1, 1–304.
66. Wunderlich, B. *Thermal Analysis of Polymeric Materials*; Springer-Verlag, 2005, 1, 1–894.
67. Hatakeyama, T.; Quinn, F.X. *Thermal Analysis: Fundamentals and Applications to Polymer Science*; Wiley, 1999, 2, 1–188.
68. Amendola, V.; Pilot, R.; Frascioni, M.; Maragò, O.M.; Iati, M.A. Surface plasmon resonance in gold nanoparticles: a review. *J. Phys.: Condens. Matter* 2017, 29, 203002.
69. Byers, C.P.; Hoener, B.S.; Chang, W.; Yorulmaz, M.; Link, S.; Landes, C.F. *J. Phys. Chem. B* 2014, 118, 14047–55.
70. Collins, S.S.; Wei, X.; McKenzie, T.G.; Funston, A.M.; Mulvaney, P. *Nano Lett.* 2016, 16, 6863–9.
71. SigmaAldrich. Cell viability and proliferation assays. *SigmaAldrich* 2024.
72. Morris, G.M.; Huey, R.; Lindstrom, W.; Sanner, M.F.; Belew, R.K.; Goodsell, D.S.; Olson, A.J. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *J. Comput. Chem.* 2009, 30, 2785–2791.
73. Trott, O.; Olson, A.J. AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *J. Comput. Chem.* 2010, 31, 455–461.
74. Daina, A.; Michielin, O.; Zoete, V. SwissTargetPrediction: Updated Data and New Features for Efficient Prediction of Protein Targets of Small Molecules. *Nucleic Acids Res.* 2019, 47, W357–W364.
75. O’Boyle, N.M.; Banck, M.; James, C.A.; Morley, C.; Vandermeersch, T.; Hutchison, G.R. Open Babel: An Open Chemical Toolbox. *J. Cheminform.* 2011, 3, 33–41.
76. Forli, S.; Olson, A.J. A Force Field with Discrete Displaceable Waters and Desolvation for Ligand Docking with Explicit Hydrogens. *J. Med. Chem.* 2012, 55, 623–638.
77. Huey, R.; Morris, G.M.; Olson, A.J.; Goodsell, D.S. A Semiempirical Free Energy Force Field with Charge-Based Desolvation. *J. Comput. Chem.* 2007, 28, 1145–1152.
78. Biomodel. Hydrogen Bonds in Water. *Biomodel UAH Official Website* 2024.
79. University of Massachusetts. Protein Explorer Glossary. *Univ. Mass. Microbiol.* 2024.

80. Lipinski, C.A.; Lombardo, F.; Dominy, B.W.; Feeney, P.J. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Adv. Drug Delivery Rev.* 1997, 23, 3–25.
81. Segeritz, C.; Vallier, L. Cell Culture: Growing Cells as Model Systems In Vitro. *Basic Science Methods for Clinical Researchers* 2017, 151–72.
82. Pathak, M.; Pathak, P.; Rimac, H.; Grishina, M.; Bagale, U.; Kumar, V. Attenuation of hepatic and breast cancer cells by Polygonatum verticillatum embedded silver nanoparticles. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 2020, 30, 101863.
83. ATCC. XTT Cell Proliferation Assay Kit Instruction Manual. *ATCC* 2011, 1–6.
84. Dent, R.; Trudeau, M.; Pritchard, K.I.; Hanna, W.M.; Kahn, H.K.; Sawka, C.A.; Lickley, L.A.; Rawlinson, E.; Sun, P.; Narod, S.A. Triple-Negative Breast Cancer: Clinical Features and Patterns of Recurrence. *Clin. Cancer Res.* 2007, 13, 4429–4434.
85. Garcia, M.; Der, C.J.; Lara, R.; Standley, L.; Ferrer, I.; Palmer, M.; Martin, M.J.; Sahores, R.; Delgado, M.A. Understanding the PI3K/AKT Pathway in Breast Cancer. *Cancer Res.* 2008, 68, 682–689.
86. Musgrove, E.A.; Sutherland, R.L. Biological Determinants of Endocrine Resistance in Breast Cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2009, 9, 631–643.
87. Witsch, E.; Sela, M.; Yarden, Y. Roles for Growth Factors in Cancer Progression. *Physiology (Bethesda)* 2010, 25, 85–101.
88. Osborne, C.K.; Schiff, R. Mechanisms of Endocrine Resistance in Breast Cancer. *Annu. Rev. Med.* 2011, 62, 233–247.
89. Hanahan, D.; Weinberg, R.A. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* 2011, 144, 646–674.
90. Ali, R.; Wendt, M.K. The Epigenetic Regulatory Network Mediated by miRNAs in Breast Cancer. *Oncotarget* 2017, 8, 78295–78320.
91. Royston, P. An Extension of Shapiro and Wilk's W Test for Normality to Large Samples. *Appl. Stat.* 1982, 31, 115–124.
92. Snedecor, G.W.; Cochran, W.G. *Statistical Methods*; Iowa State University Press, 1989, 8, 1–503.
93. Montgomery, D.C. *Design and Analysis of Experiments*; John Wiley & Sons, 2019, 10, 1–768.
94. Domalski, E.S.; Hearing, E.D. Estimation of the Thermodynamic Properties of C-HN-O-S-Halogen Compounds at 298.15 K. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 1993, 22, 805.

95. Cohen, N. Revised group additivity values for enthalpies of formation (at 298 K) of carbon-hydrogen and carbon-hydrogen-oxygen compounds. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 1996, 25.
96. Holmes, J.L.; Aubry, C. Group additivity values for estimating the enthalpy of formation of organic compounds: An update and reappraisal. 1. C, H and O. *J. Phys. Chem. A* 2011, 115, 10576.
97. Su, X.; Yan, X.; Tsai, C. Linear Regression. *WIREs Comput. Stat.* 2012, 4, 275.
98. McDonald, G.C. Ridge Regression. *WIREs Comput. Stat.* 2009, 1, 93.
99. Ranstam, J.; Cook, J.A. LASSO Regression. *Br. J. Surg.* 2018, 105, 1348.
100. Smyth, G.K. Nonlinear regression. *Encyclopedia Environmetrics* 2002, 3, 1405.
101. Fox. Nonlinear regression and Nonlinear least squares. *An R and S-PLUS Companion to Applied Regression* 2002.
102. Baty, F.; Ritz, C.; Charles, S.; Brutsche, M.; Flandrois, J.P.; Delignette-Muller, M.L. A Toolbox for Nonlinear Regression in R: The Package nlstools. *J. Stat. Softw.* 2015, 66.
103. Mammone, A.; Turchi, M.; Cristianini, N. Support vector machines. *WIREs Comput. Stat.* 2009, 1, 283.
104. Welling, M. Support Vector Regression. 2018.
105. Awad, M.; Khanna, R. *Efficient Learning Machines Theories, Concepts, and Applications for Engineers and System Designers*; 2015, 68.
106. Zhang, F.; O'Donnell, L.J. Support vector regression. *Mach. Learn.* 2020.
107. Rifkin, R.; Yeo, G.; Poggio, T. Regularized Least-Squares Classification. *Adv. Learn. Theory: Methods, Models Appl.* 2003, 190, 131–154.
108. Huber, P.; Ronchetti, E. *Robust Statistics*; Wiley: New York, 2009.
109. Fushiki, T. Estimation of prediction error by using K-fold cross-validation. *Stat. Comput.* 2011, 21, 137.
110. Jung, Y. Multiple predicting K-fold cross-validation for model selection. *J. Nonparametric Stat.* 2018, 30, 197.
111. Burman, P. A Comparative Study of Ordinary Cross-validation, V-Fold Cross-validation and the Repeated Learning-Testing Methods. *Biometrika* 1989, 76, 503.
112. Willmott, C.J.; Matsuura, K.; Robeson, S.M. Ambiguities inherent in sums-of-squares-based error statistics. *Atmos. Environ.* 2009, 43, 749.
113. Chai, T.; Draxler, R.R. Root mean square error (RMSE) or mean absolute error (MAE)? Arguments against avoiding RMSE in the literature. *Geosci. Model Dev.* 2014, 7, 1247.

114. Taylor, M.H.; Losch, M.; Wenzel, M.; Schroeter, J. On the sensitivity of field reconstruction and prediction using empirical orthogonal functions derived from gappy data. *J. Climate* 2013, 26, 9194.
115. Willmott, C.; Matsuura, K. Advantages of the Mean Absolute Error (MAE) over the Root Mean Square Error (RMSE) in assessing average model performance. *Clim. Res.* 2005, 30, 79.
116. Geladi, P.; Kowalski, B.R. Partial least squares regression: a tutorial. *Anal. Chim. Acta* 1986, 187, 1.
117. Plonsky, L.; Ghanbar, H. Multiple Regression in L2 Research: A Methodological Synthesis and Guide to Interpreting R2 values. *Mod. Lang. J.* 2018, 102, 713.
118. Edwards, L.J.; Muller, K.E.; Wolfinger, R.D.; Qaqish, B.F.; Schabenberger, O. An R2 statistic for fixed effects in the linear mixed model. *Stat. Med.* 2008, 27, 6137.
119. Hodson, T.O. Root-mean-square error (RMSE) or mean absolute error (MAE): when to use them or not. *Geosci. Model Dev.* 2022, 15, 5481.
120. Kumari-Kuranashinga, D.S. Root mean square error or mean absolute error? Use their ratio as well. *Inf. Sci.* 2022, 585, 609.
121. Hejda, M.; Lycka, A.; Jambor, R.; Ruzicka, A.; Dostai, L. From C,N- and N,N-chelated chloroboranes to substituted 1H-2,1-benzazaboroles and 1H-pyrrolo[1,2-c][1,3,2]diazaborolidines: A straightforward route to five-membered rings containing B-N or N-B-N moiety. *R. Soc. Chem.* 2014.
122. Avogadro. Molecular Mechanics: Optimizing Geometry. *Avogadro Official Documentation* 2024.
123. Grefenstette, J.J.; Gopal, R.; Rosmaita, B.J.; Van Gucht, D.C. Genetic Algorithms for the Traveling Salesman Problem. *Proc. Int. Conf. Genet. Algorithms* 1985, 1, 160–165.
124. Weaver, A.N.; Yang, E.S. Beyond DNA repair: Additional functions of PARP1 in cancer. *Front. Oncol.* 2013, 3, 1–11.
125. Karp, G. Señalización celular y transducción de señales: comunicación entre las células. *Biol. Cel. Mol. Conceptos Exp.* 2010, 642–644.
126. Pinzón, C.E.; Serrano, M.L.; Sanabria, M.C. Papel de la vía fosfatidilinositol 3 kinasa (PI3K/Akt) en humanos. *Rev. Cienc. Salud* 2009, 7, 47–66.
127. Thorpe, L.M.; Yuzugullu, H.; Zhao, J.J. PI3K in cancer: divergent roles of isoforms, modes of activation, and therapeutic targeting. *Nat. Rev. Cancer* 2015, 15, 7–24.
128. Karp, G. Reproducción celular. *Biol. Cel. Mol. Conceptos Exp.* 2010, 560–569.

129. Lyu, S.Y.; Meshesha, S.M.; Hong, C.E. Synergistic Effects of Mistletoe Lectin and Cisplatin on Triple-Negative Breast Cancer Cells: Insights from 2D and 3D In Vitro Models. *Int. J. Mol. Sci.* 2025, 26, 366.
130. Akbarzadeh, S.; Ebrahimi, F.; Faghieh, Z.; Movahed, A.; Faghieh, Z. Cytotoxic Effect of Two Novel Platinum (II) Complexes on Breast Cancer: An in Vitro Study. *Apjcb* 2018, 3, 47-0.
131. Lyu, S.Y.; Meshesha, S.M.; Hong, C.E. Synergistic Effects of Mistletoe Lectin and Cisplatin on Triple-Negative Breast Cancer Cells: Insights from 2D and 3D In Vitro Models. *Int. J. Mol. Sci.* 2025, 26, 366. (Duplicate of 129)
132. Akbarzadeh, S.; Ebrahimi, F.; Faghieh, Z.; Movahed, A.; Faghieh, Z. Cytotoxic Effect of Two Novel Platinum (II) Complexes on Breast Cancer: An in Vitro Study. *Apjcb* 2018, 3, 47-0. (Duplicate of 130)
133. Cox, J.D.; Wagman, D.D.; Medvedev, V.A. *CODATA Key Values for Thermodynamics*; Hemisphere Pub. Corp., 1989.
134. CODATA recommended key values for thermodynamics, Report of the CODATA Task Group on key values for thermodynamics. *J. Chem. Thermodyn.* 1978, 10, 903.
135. Montgomery, J.A.; Frisch, M.J.; Ochterski, J.W.; Petersson, G.A. A Complete Basis Set Model Chemistry. IV. An Improved Atomic Pair Natural Orbital Method. *J. Chem. Phys.* 1999, 110, 2822–2827.
136. Curtiss, L.A.; Raghavachari, K.; Redfern, P.C.; Pople, J.A. Assessment of Gaussian-2 and Density Functional Theories for the Computation of Enthalpies of Formation. *J. Chem. Phys.* 1991, 94, 7221–7230.
137. Curtiss, L.A.; Redfern, P.C.; Raghavachari, K. Gaussian-4 Theory. *J. Chem. Phys.* 2007, 126, 084108.
138. Notario, R.; Castaño, O.; Abboud, J.L.M.; Gomperts, R.; Frutos, L.M.; Palmeiro, R. Organic Thermochemistry at High ab Initio Levels. 1. A G2(MP2) and G2 Study of Cyclic Saturated and Unsaturated Hydrocarbons (Including Aromatics). *J. Org. Chem.* 1999, 64, 9011-9014.
139. Benson, S.W. III-Bond Energies. *J. Chem. Educ.* 1965, 42, 502.
140. Hehre, W.J.; Ditchfield, R.; Radom, L.; Pople, J.A. What are Isodesmic Reactions? *J. Am. Chem. Soc.* 1970, 92, 4796–4801.
141. McQuarrie, D.; Simon, J.D. *Molecular Thermodyn.*; University Science Books: Suasalito, California, 2000.
142. Cox, J.D.; Wagman, D.D.; Medvedev, V.A. *CODATA Key Values for Thermodynamics*; Hemisphere Publishing Corp.: New York, 1989.

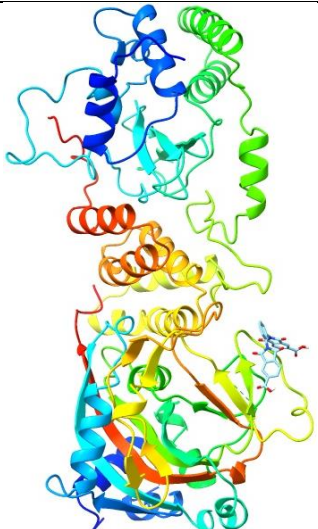
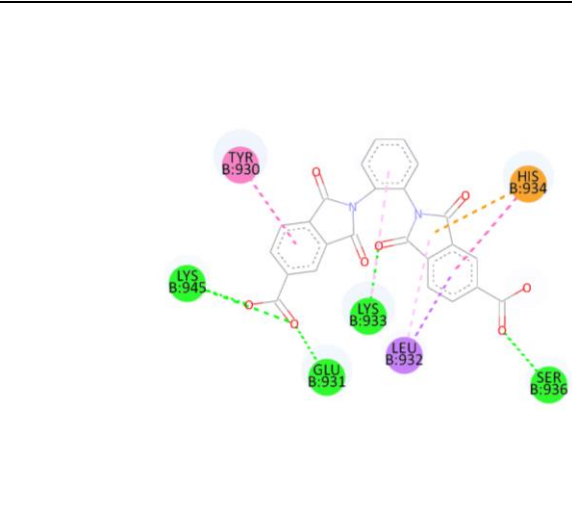
Anexo

Para conocer más acerca del código empleado en esta tesis, así como los conjuntos de datos utilizados y el modelo diseñado, referirse a la página personal del autor en GitHub escaneando el código QR.

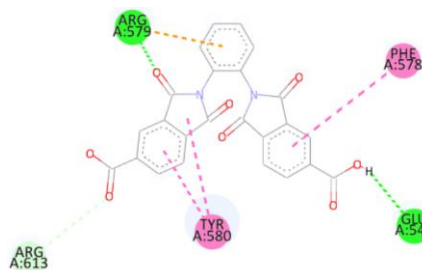
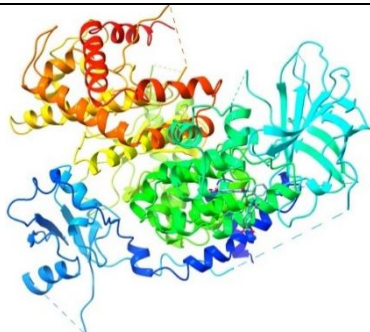


Anexo 1: Código de Python utilizado para la obtención de las diferentes entalpías

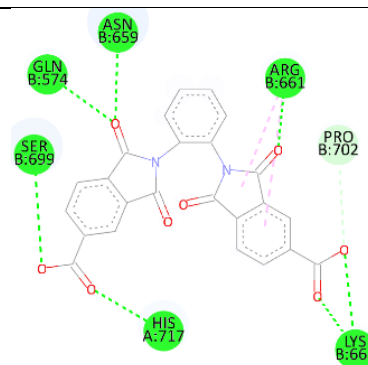
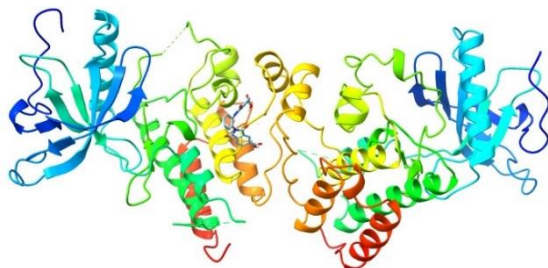
Anexo 2: Acoplamientos moleculares para los compuestos estudiados

| Complejo | Acoplamiento | Interacciones |
|-----------------|---|--|
| PARP1- oDIDA |  |  |

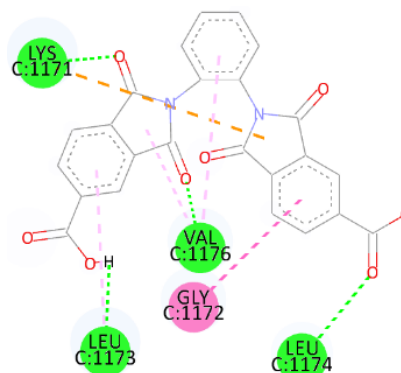
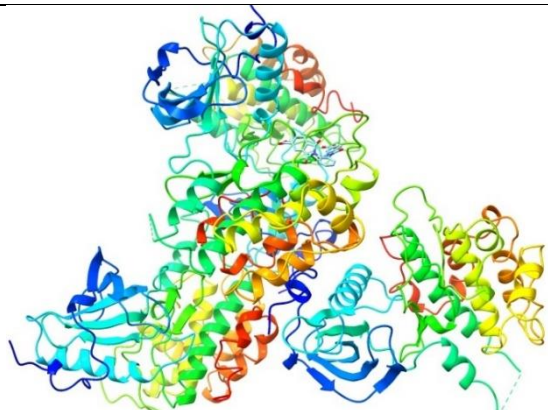
PI3K γ -
oDIDA



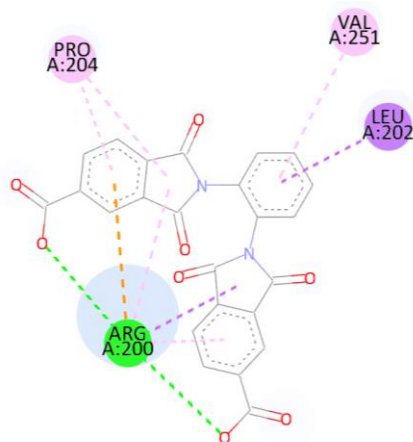
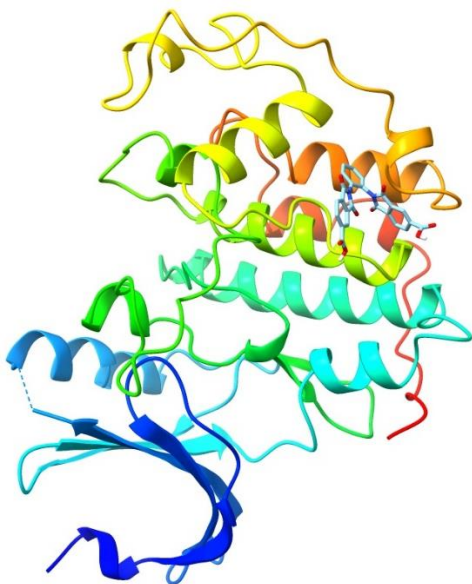
FGF1-
oDIDA



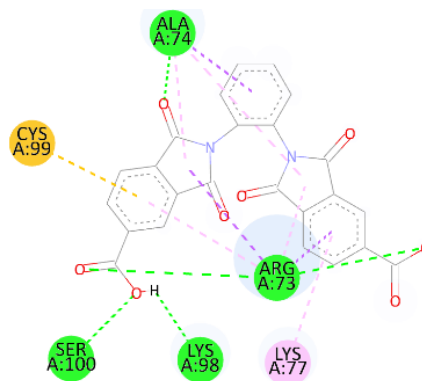
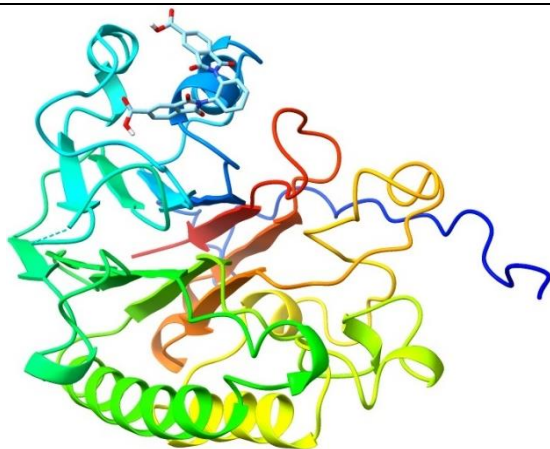
IGF1R-
oDIDA



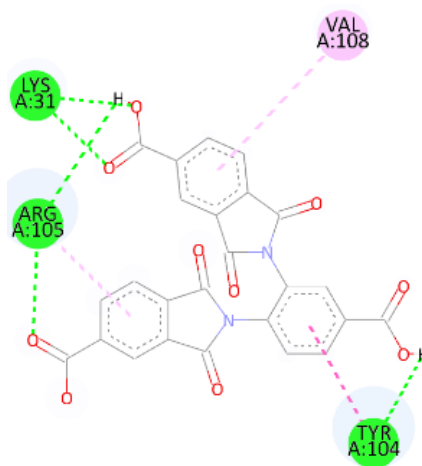
CDK2-
oDIDA



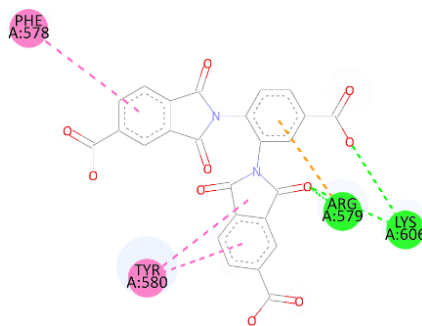
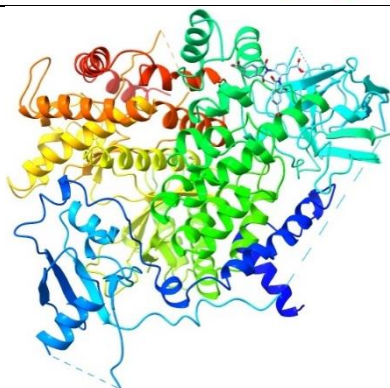
APEX1-
oDIDA



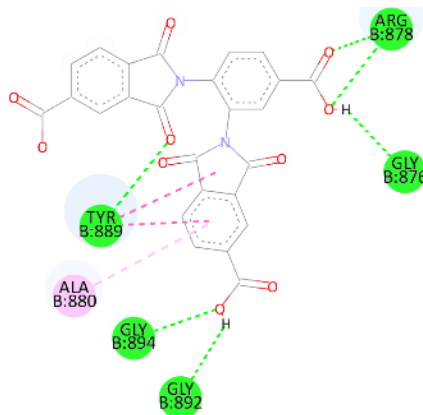
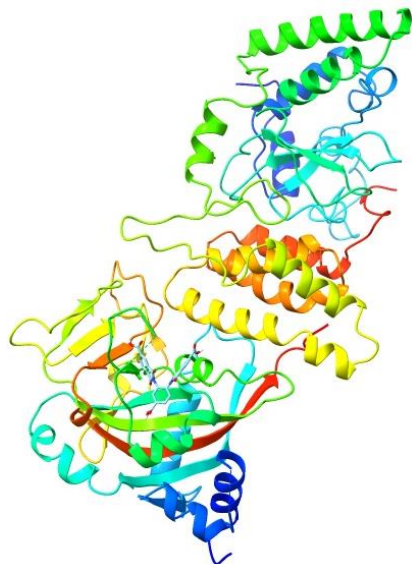
MDM2-
34DITA



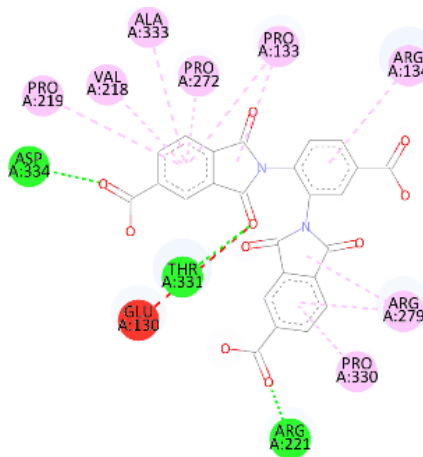
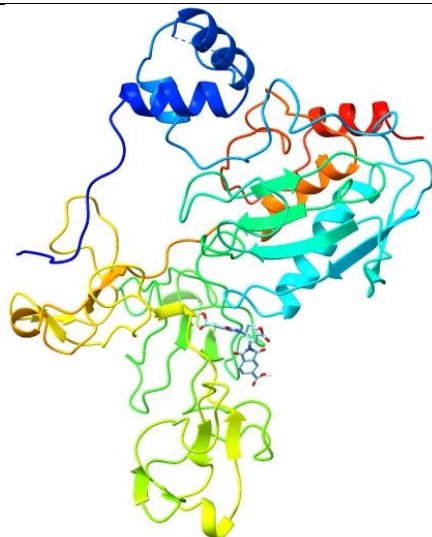
PI3K γ -
34DITA



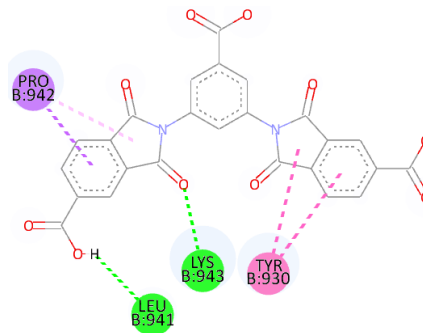
PARP1-
34DITA



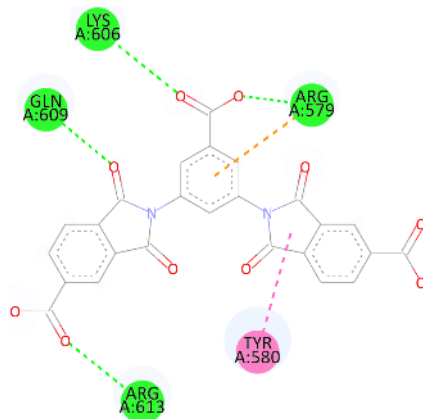
MMP9-
34DITA



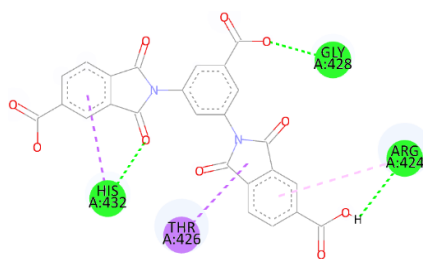
PARP1-
35DITA



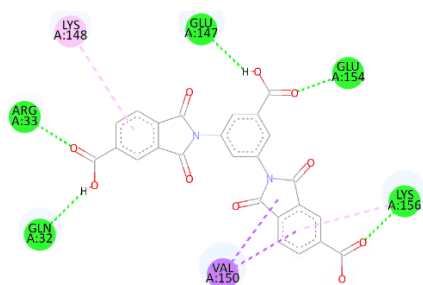
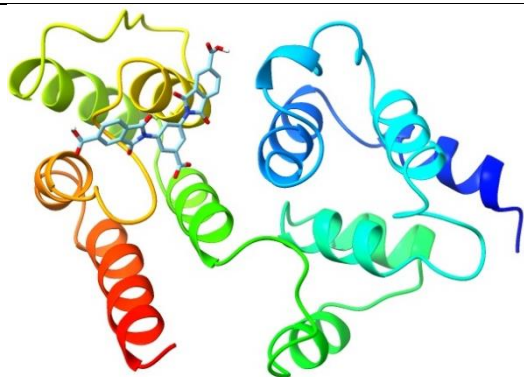
PI3K γ -
35DITA



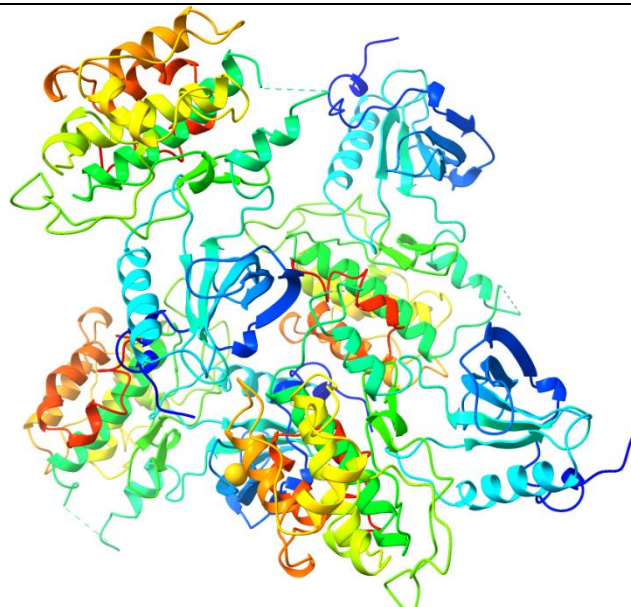
MMP9-
35DITA



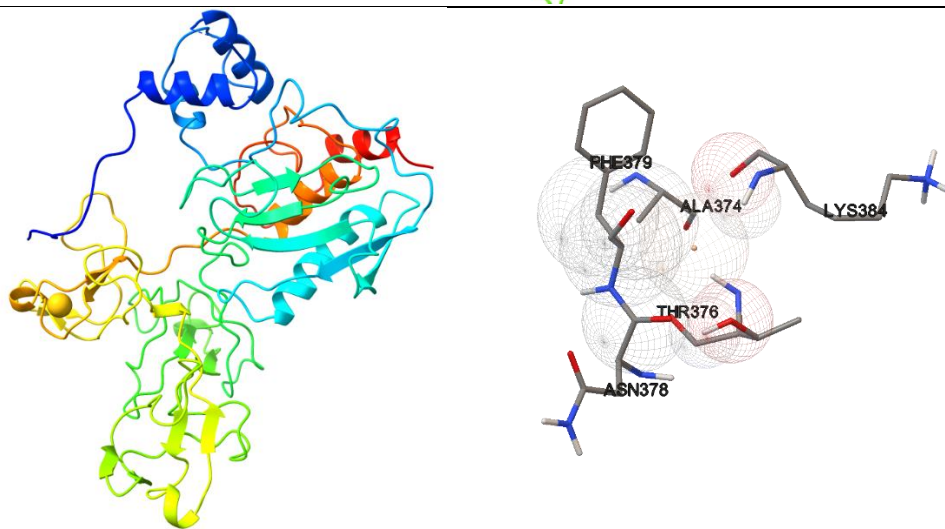
Caspasa
8-
35DITA



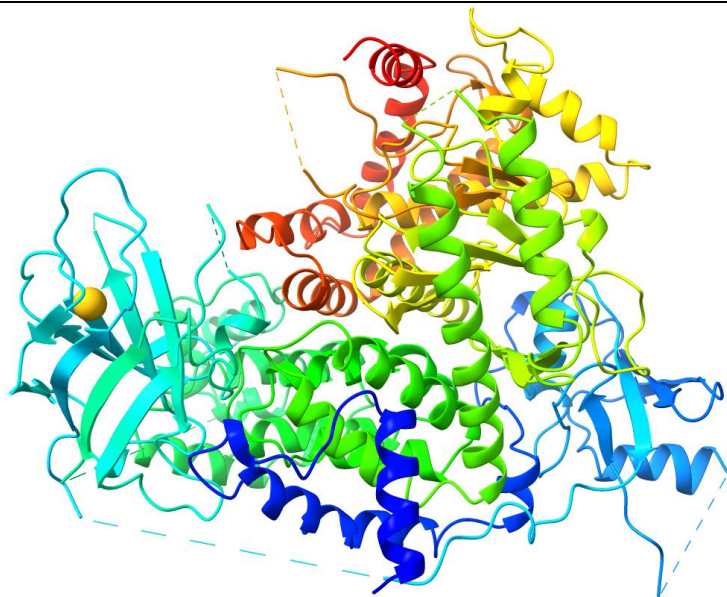
IGF1R-
Au



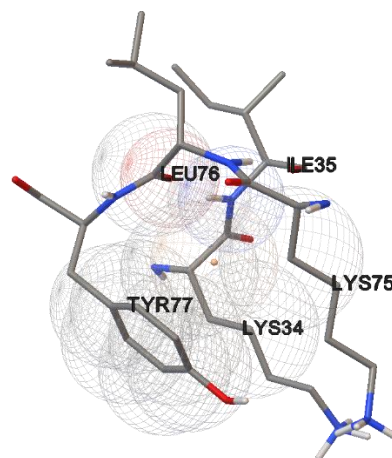
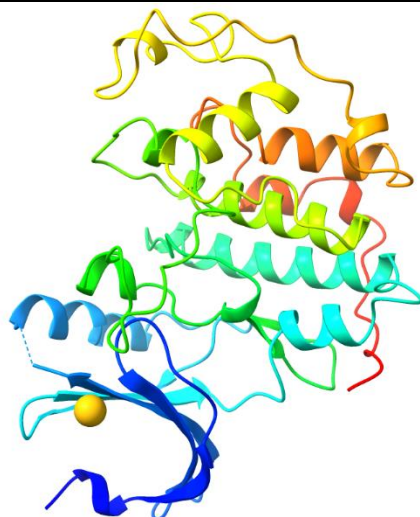
MMP9-
Au



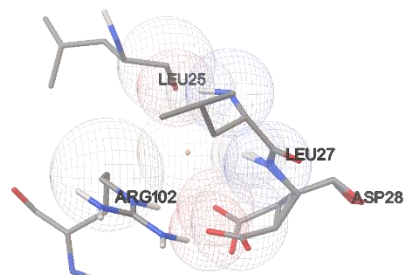
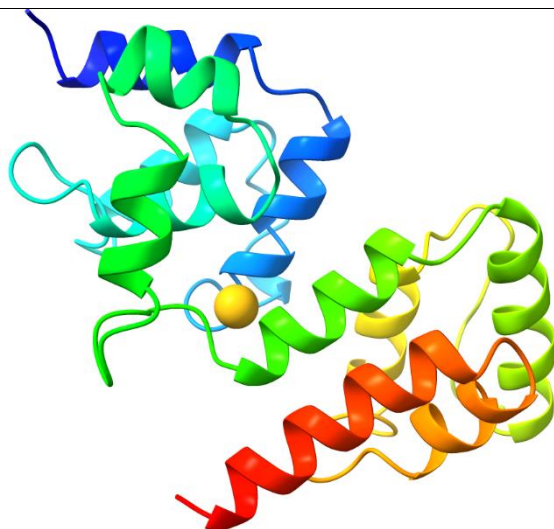
PI3K γ -
Au



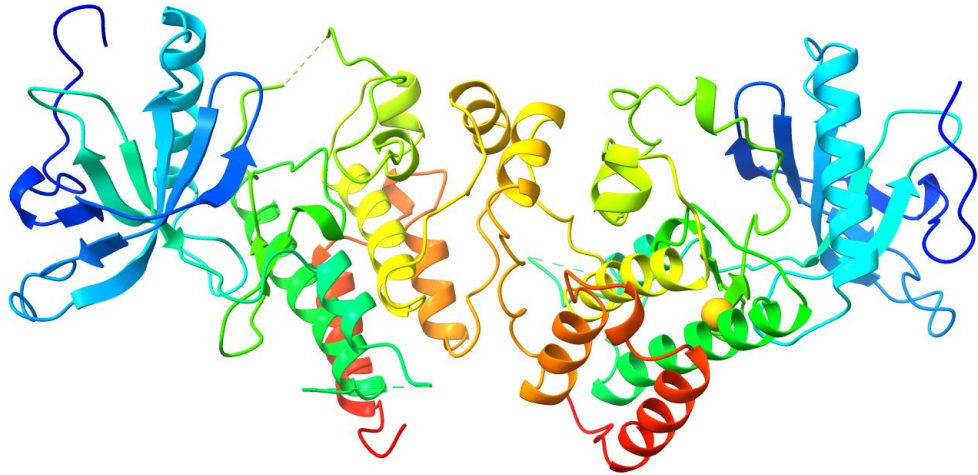
CDK2-
Au



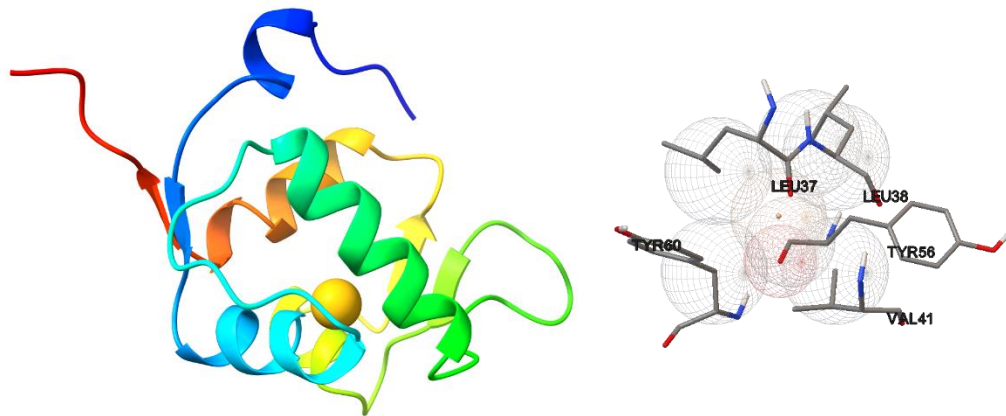
Caspasa
8- Au



FGF1- Au



MDM2-
Au



PARP1-
Au



Anexo 3: Pruebas Post Hoc

| Células y tratamiento | Prueba de Dunnett para comparaciones múltiples | P valor |
|------------------------|--|---------|
| MDA-MB-231 oDIDA | Control vs 10 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 25 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 50 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 75 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 100 μ M | <0.0001 |
| MCF-7 oDIDA | Control vs 10 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 25 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 50 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 75 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 100 μ M | <0.0001 |
| MDA-MB-231 3,4-DITA | Control vs 10 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 25 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 50 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 75 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 100 μ M | <0.0001 |
| MCF-7 3,4-DITA | Control vs 10 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 25 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 50 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 75 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 100 μ M | <0.0001 |
| MDA-MB-231 3,5-DITA | Control vs 10 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 25 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 50 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 75 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 100 μ M | <0.0001 |
| MCF-7 3,5-DITA | Control vs 10 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 25 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 50 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 75 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 100 μ M | <0.0001 |
| MDA-MB-231 AuNPs oDIDA | Control vs 10 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 25 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 50 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 75 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 100 μ M | <0.0001 |
| MCF-7 AuNPs oDIDA | Control vs 10 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 25 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 50 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 75 μ M | <0.0001 |

| | | |
|---------------------------|------------------------|---------|
| | Control vs 100 μ M | <0.0001 |
| MDA-MB-231 AuNPs 3,4-DITA | Control vs 10 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 25 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 50 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 75 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 100 μ M | <0.0001 |
| MCF-7 AuNPs 3,4-DITA | Control vs 10 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 25 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 50 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 75 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 100 μ M | <0.0001 |
| MDA-MB-231 AuNPs 3,5-DITA | Control vs 10 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 25 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 50 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 75 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 100 μ M | <0.0001 |
| MCF-7 AuNPs 3,5-DITA | Control vs 10 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 25 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 50 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 75 μ M | <0.0001 |
| | Control vs 100 μ M | <0.0001 |