



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

Laboratorio de Química Teórica
Facultad de Ciencias Químicas
BUAP



Facultad de Ciencias Químicas

Tesis:

**Para obtener título de
Químico Farmacobiólogo**

Tesis:

**ESTUDIO COMPUTACIONAL DE LA ESTRUCTURA
ELECTRÓNICA EN FÁRMACOS ANTI-CANCERÍGENOS**

Presenta:

Rosa Arenas Saldaña

Asesores

**Dr. Francisco Javier Meléndez
Bustamante
Facultad de Ciencias Químicas,
BUAP**

**Dr. Ramsés E. Ramírez Gutiérrez
Facultad de Ciencias Químicas,
BUAP**

Puebla, Pue.

Noviembre 2014

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1. PROBLEMA BIOLÓGICO	3
2.2. ANTECEDENTES EXPERIMENTALES	5
2.3. ANTECEDENTES TEÓRICOS.....	6
3. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS	7
3.1. JUSTIFICACION.....	7
3.2. OBJETIVO GENERAL	8
3.3. OBJETIVOS PARTICULARES	8
4. FUNDAMENTOS TEÓRICOS	9
4.1. ECUACIÓN DE SCHRÖDINGER	9
4.1.1. Hamiltoniano molecular	10
4.1.2. Aproximación de Born-Oppenheimer	11
4.1.3. Método variacional.....	13
4.1.4. Determinante de Slater	14
4.1.5 Aproximación de Hartree-Fock.....	15
4.2. MÉTODOS PARA EL CÁLCULO DE LA ESTRUCTURA ELECTRÓNICA.....	17
5. METODOLOGÍA	23
5.1. ESTRUCTURA MOLECULAR	23
5.2. CÁLCULOS DE REACTIVIDAD.....	26
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	27
6.1. ANÁLISIS DE ESTRUCTURAS MOLECULARES.	27
6.2. ANÁLISIS DE REACTIVIDAD.....	33
6.2.1. Propiedades globales.....	33
6.2.2. Propiedades locales.....	37
7. CONCLUSIONES	41
8. BIBLIOGRAFÍA	42

1. INTRODUCCIÓN

La búsqueda de principios generales que permiten entender la materia así como su estructura, ha llevado al uso continuo de la mecánica cuántica, la cual se considera como uno de los logros trascendentales realizados por la comunidad científica, ya que en las ciencias ha abierto un nuevo enfoque en las investigaciones y aplicaciones, siendo una de ellas la Química lo que ha originado a la Química Cuántica [1].

Aunado a lo anterior la Química Cuántica se ha visto beneficiada con la aparición de computadoras más potentes cuyo objetivo es utilizar programas informáticos, los cuales se basan en algoritmos y teorías desarrolladas, mismos que se han convertido en una herramienta de gran valor para el estudio y comprensión de los sistemas químicos y biológicos. Así, la química cuántica computacional se ha constituido como un área de importancia, porque ha logrado explicar y reproducir de manera precisa resultados experimentales y de esta manera la confrontación simultánea de la información experimental con aquella predicha según modelos mecano-cuánticos, conduciendo a resultados confiables y creativos que incluyen información experimental y teórica [2].

Se debe tener presente que la información teórica no solo es un complemento de los datos experimentales, sino que también es una fuente independiente de información acerca del comportamiento de átomos y moléculas, por ejemplo, su geometría y sus propiedades ópticas, eléctricas, magnéticas y mecánicas. Además ha permitido estudiar sistemas moleculares que experimentalmente son difíciles de estudiar o diseñar, como es el caso de la obtención de nuevos fármacos, convirtiéndose en herramientas útiles para el estudio y diseño de nuevos compuestos, reduciendo en tiempo los procesos de prueba y error ligados a la síntesis orgánica.

Desde este enfoque, el presente trabajo se centra en un estudio mecano-cuántico que evaluará la estructura y reactividad química de moléculas antiangiogénicas, las cuales son especies de interés por su aplicación contra el cáncer pero con limitada eficacia, por lo tanto, se considera que este tipo de estudio contribuirá a entender el comportamiento químico de dichas estructuras.

La presente tesis se ha dividido de la siguiente manera:

Introducción, donde se contextualiza y describe de manera breve el trabajo, así como el contenido de esta tesis.

Antecedentes, en este apartado se describen brevemente el problema biológico y los trabajos previos que se han realizado sobre los inhibidores de la angiogénesis, tanto a nivel teórico como experimental.

Justificación y objetivos, en esta sección se plantean los objetivos, general y particulares del trabajo.

Fundamentos teóricos, en este capítulo se presentan los principios de la mecánica cuántica y los diferentes métodos teóricos para calcular la estructura molecular y los descriptores globales y locales, los cuales respaldan la metodología utilizada.

Metodología, describe las etapas en que se dividió el trabajo, así como los métodos empleados para lograr los objetivos planteados y la secuencia en que se realizaron cada uno de los procedimientos.

Resultados y discusión, se presentan los resultados obtenidos y su discusión, así como las aportaciones del trabajo.

Conclusiones, en este apartado se exponen los aspectos más destacables del trabajo de tesis de acuerdo a los resultados obtenidos.

Bibliografía, donde se listan las referencias usadas durante la realización de la tesis.

2. ANTECEDENTES

2.1. PROBLEMA BIOLÓGICO

A nivel mundial una de las enfermedades con mayor tasa de mortalidad es el cáncer, tan solo en México en el 2011 [], según información del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) los tumores malignos fueron la tercera causa de muerte después de las enfermedades del corazón y la diabetes mellitus, muriendo 71 mil 350 personas y estimándose que 195 personas mueren a diario por esta enfermedad.

El cáncer se ha definido como el crecimiento anormal y desordenado de las células del cuerpo. Esto es causado por alteraciones celulares ocurridas cuando la clave cromosómica genética es alterada, por lo que las células reciben mensajes erróneos. Las células cancerosas pierden el control de su propio desarrollo, de modo que se dividen en más células a mayor velocidad que el resto de los tejidos a los que pertenecen, sin cumplir las funciones para las que se crearon [3]. Este crecimiento anormal de las células puede llegar a formar masas de tejidos llamadas tumores. Los tumores malignos se conocen por su capacidad de invadir y destruir tejidos y órganos, tanto cercanos como los que están lejos del tumor original. Las células cancerosas atacan al tejido sano y nunca dejan de multiplicarse. La muerte se produce cuando la propagación del cáncer daña los tejidos y los órganos vitales como el hígado, los pulmones o el cerebro, entre otros, de tal manera que estos órganos dejan de funcionar progresivamente [4].

A pesar de enormes esfuerzos y recursos en investigación, cirugías, fármacos y radioterapias, el problema de la lucha contra el cáncer radica en que nuestro material genético tiene la posibilidad de ser la fuente de diversos tumores malignos y por lo tanto, cada tejido es capaz de desarrollar células cancerosas a partir de sus propios genes. Considerando lo anterior, queda claro que el cáncer es difícil de tratar porque cada caso es diferente y que para el bloqueo del crecimiento tumoral debe considerarse un punto estratégico clave que pueda inhibir dicho proceso cancerígeno, siendo el más sobresaliente el papel que juega la inhibición de la angiogénesis [5], la cual es un proceso que conduce a la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de la vasculatura pre-existente permitiendo distribuir oxígeno y nutrientes vitales para el funcionamiento de las células.

Actualmente se reconoce al sistema que incluye al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y a sus receptores (VEGFRs) como los principales reguladores del proceso de la angiogénesis. Así, los inhibidores de los receptores del VEGF, cuyo objetivo es la reducción de la angiogénesis han demostrado que poseen actividad anticancerígena. Generalmente, son moléculas sintéticas pequeñas que actúan por un mecanismo competitivo mediante la unión al sitio del trifosfato de adenosina (ATP) del dominio proteína quinasa del receptor [6, 7]. Sin embargo, los diferentes receptores de VEGF y las familias de receptores tirosina quinasa (TK) como PDGFR, CSFR, c-Kit, FLT3, comparten una secuencia homóloga en su dominio catalítico, como resultado de esta similitud los inhibidores de VEGFR muestran afinidad por otros TKs dirigiéndose a más de un receptor, lo que los hace ser no selectivos y definidos como inhibidores multiquinasa.

Tomando en cuenta que las terapias basadas en agentes antiangiogénicos son menos tóxicas que la quimioterapia convencional, y que la angiogénesis es un proceso normalmente restringido al tumor creciente [8], este tipo de medicamentos son menos propensos a la inducción de mutaciones enzimáticas (lo que confiere resistencia al fármaco por sí mismo) [9, 10]. Aunque la terapia basada en inhibidores de VEGFR ha demostrado retraso en la progresión del tumor, lo que lleva a beneficios de supervivencia global en comparación con la quimioterapia estándar, se han asociado efectos adversos como eventos tromboembólicos, hipertensión, insuficiencia cardíaca y perforación gastrointestinal [11], siendo más frecuentes con inhibidores multiquinasa.

En este sentido resulta evidente la importancia de abordar estos estudios de manera teórica basados en la simulación molecular, ya que estos permitirán estudiar y obtener propiedades a nivel molecular evaluando la estructura y reactividad química. Por lo tanto, se considera que este tipo de estudios contribuirán a entender el comportamiento químico de diez estructuras dirigidas contra el proceso de la angiogénesis.

2.2. ANTECEDENTES EXPERIMENTALES

A partir de los estudios de Folkman [12] a principios de 1970, se ha demostrado que el crecimiento de los tumores primarios y su posterior metástasis son dependientes de la angiogénesis. Teniendo en cuenta que el oxígeno se distribuye por la sangre a todas las células del cuerpo de un organismo, es necesario que las células estén localizadas entre 100 a 200 μm de un vaso sanguíneo para poder sobrevivir [13, 14], por lo que si un grupo de células tumorales necesita evadir la inanición, requerirán promover el proceso normal de la angiogénesis para formar su propia fuente sanguínea mediante el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos y así superar la falta de distribución de oxígeno y nutrientes evadiendo la muerte [15].

En 1989, Ferrara *et al* [16] secuenciaron el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) un péptido identificado posteriormente como VEGF-A. Estudios posteriores demostraron que este factor de crecimiento es un potente estimulador de la angiogénesis y es parte de una familia compuesta por cinco miembros de glicoproteína homodiméricas, VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, y el factor de crecimiento de placenta (PlGF) [17]. Actualmente se reconoce, al sistema que incluye al VEGF y sus tres receptores como el principal regulador de células endoteliales vasculares y de la formación de vasos sanguíneos [18].

El proceso de señalización que resulta en la angiogénesis se encuentra mediado por uniones de alta afinidad de los VEGFs con receptores específicos de actividad tirosina cinasa (RTKs), los cuales fueron identificados por los trabajos realizados por Bruce Terman *et al* [19] en 1992. Localizados tanto en la superficie de las células endoteliales, en células derivadas de la médula ósea [20], como en forma soluble en circulación sanguínea [21]. Todas las isoformas del VEGF son capaces de unirse a alguno de estos tres receptores: VEGFR-1 (también conocido como Flt-1), VEGFR-2 (KDR o Flk-1) y VEGFR-3 (Flt-4). Estos receptores contienen siete dominios homólogos a inmunoglobulina (Ig) en su parte extracelular, una región transmembranal, un dominio yuxtamembranal y un dominio intracelular de señalización tirosina cinasa interrumpido por un inserto de cinasa de 69 aminoácidos y la región carboxi-terminal.

La unión de VEGF a VEGFR induce la dimerización del receptor, provocando la modificación en la conformación del dominio intracelular. Estos cambios conformacionales conducen a la exposición del sitio de unión a ATP, lo cual permite el enlace del mismo, seguido de auto o transfosforilación en residuos específicos de tirosina, en el dominio catalítico del receptor [22]. Este mecanismo origina una cascada de transducción de señales, que activa varias vías enzimáticas, incluyendo p38MAPK, Raf / MEK / ERK y PI3K / PKB [23], las cuáles son las responsables de la migración, permeabilidad y proliferación de las células.

2.3. ANTECEDENTES TEORICOS

La estructura y el acoplamiento de los inhibidores del VEGFR fueron discutidos por Du J *et al* [24]. Las estructuras cristalinas de rayos X de sorafenib, sunitinib, motesanib, vandetanib, y AEE 788 se utilizaron para aclarar el modo de unión de estos ligandos en complejos con proteínas quinasas depositadas en el Protein Data Bank [25].

A pesar de sus propiedades biológicas interesantes, los inhibidores de VEGFR siguen siendo una clase de agentes antiangiogénicos estructuralmente no caracterizados, razón por la cual existen pocos estudios teóricos sobre sus estructuras y reactividad química.

En el 2011 Milan Remko *et al* [26] realizaron un estudio de química computacional en fase gas y disolución de moléculas anti-cancerígenas para determinar propiedades físico-químicas tales como pka, solubilidad y absorción, mediante los métodos HF/6-31G (d), B3LYP/6-31G (d) y B3LYP/6-31++G (d,p).

También, se han hecho estudios que engloban la estructura-actividad de estas estructuras, usando QSAR, sin embargo no han relacionado la reactividad química de las estructuras.

3. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

3.1. JUSTIFICACIÓN

En este trabajo se aborda el problema de especificidad y eficacia que presentan los fármacos inhibidores de VEGF dirigidos contra el cáncer, mediante el uso de técnicas químicas computacionales, basadas en la mecánica cuántica, las cuales permitirán un estudio que evaluará la estructura y descriptores locales y globales de la reactividad química, aún no descritos de dichas moléculas. La elucidación de estos aspectos mecanísticos constituyen una herramienta clave para el diseño de nuevos medicamentos que tengan un mejor efecto farmacológico y mínimas reacciones secundarias, con la finalidad de disminuir el proceso de prueba y error ligado al diseño de un fármaco, ahorrando tiempo, dinero, recursos y evitando fracasos, esto permite colaborar con la parte experimental y juntas atacar el problema económico, sanitario y social que provoca esta enfermedad al país, así como al estado de Puebla (el cual ocupa el sexto lugar a nivel nacional en cuanto a incidencia).

3.2. OBJETIVO GENERAL

- ▶ Realizar un estudio computacional de diez estructuras dirigidas contra el proceso angiogénico que permitirá evaluar la estructura electrónica y la reactividad química de los mismos y proporcionar con ello una herramienta para entender su aplicación terapéutica anticancerígena.

3.3. OBJETIVOS PARTICULARES

- ▶ Usar herramientas de química computacional en sistemas biológicos.
- ▶ Reproducir computacionalmente las estructuras electrónicas moleculares antiangiogénicas actualmente utilizadas contra el cáncer, de tal manera que sean lo más cercano a lo que se tiene *in vivo*.
- ▶ Evaluar la reactividad de diez fármacos propuestos, tomando en cuenta el potencial electrostático, el potencial químico, la dureza molecular, el índice de electrofilia y las funciones de Fukui.
- ▶ Servir de base para estudios posteriores que permitan obtener moléculas con un efecto similar a los fármacos que se encuentran en el mercado, mejorando sus propiedades, con la finalidad de colaborar con la parte experimental en el diseño de nuevos fármacos.

4. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

La comprensión del mundo que nos rodea implica, entre otros muchos aspectos, el estudio de la materia, tanto el comportamiento de las partículas microscópicas tales como los electrones y los núcleos de los átomos y de las moléculas los cuales se rigen por la mecánica cuántica.

4.1. ECUACIÓN DE SCHRÖDINGER

El punto de partida de toda descripción cuántica de un sistema es a partir de la utilización de la ecuación de Schrödinger, la cual para describir el estado de un sistema considera la existencia de una función que depende de las coordenadas de las partículas del sistema y del tiempo, llamada función de onda o función de estado Ψ .

Erwin Schrödinger en 1926 representó la ecuación que permite describir cómo cambia la función de onda con las coordenadas y el tiempo. Para el caso de una partícula la ecuación de Schrödinger está dada por la siguiente expresión

$$\left[-\frac{\hbar^2}{8\pi^2m} \nabla^2 + V \right] \Psi(\vec{r}, t) = \frac{i\hbar}{2\pi} \frac{\partial \Psi(\vec{r}, t)}{\partial t} \quad (4.1)$$

Donde \hbar es la constante de Planck, m es la masa de la partícula, V es el potencial en el cual se mueve la partícula y ∇^2 es el operador Laplaciano. La ecuación de Schrödinger para un conjunto de partículas es similar, en tal caso Ψ es una función de las coordenadas de todas las partículas en el sistema así como del tiempo t . El producto de la función de onda con su complejo conjugado le da un significado físico a la ecuación que es interpretado como la distribución de probabilidad de la partícula. Al resolver la ecuación de Schrödinger para Ψ , sujeta a las condiciones establecidas adecuadas, es posible obtener propiedades del sistema como la energía entre otras.

Si la función de energía potencial depende de la posición pero no del tiempo, la ecuación de Schrödinger se simplifica usando el método de separación de variables, por lo que la

función de onda se puede escribir como el producto de una función espacial y una función temporal:

$$\Psi(\vec{r}, t) = \psi(\vec{r})\Phi(t) \quad (4.2)$$

Sustituyendo estas funciones en la ecuación (4.1) se obtienen dos ecuaciones, una que depende del tiempo y otra que es función de la posición de la partícula.

En la mayoría de las aplicaciones de la mecánica cuántica a la química se tiene interés por los estados estacionarios, los cuales son estados que no dependen del tiempo, es decir, la densidad de probabilidad no cambia con el tiempo y la energía es constante. Para los sistemas que no dependen del tiempo se resuelve la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo:

$$\left[-\frac{\hbar^2}{8\pi^2m} \nabla^2 + V \right] \psi(\vec{r},) = E\psi(\vec{r}) \quad (4.3)$$

Donde E es la energía de la partícula y la entidad que aparece entre corchetes en esta ecuación es el *operador Hamiltoniano* (\hat{H}).

4.1.1. Hamiltoniano molecular

Un operador es una regla que transforma una función dada en otra, por lo tanto la ecuación (4.3) sugiere que tenemos un operador energía que, al actuar sobre la función de onda, nos devuelve a la propia función de onda multiplicada por un valor permitido de la energía volviéndose esta una ecuación de valor propio. Las diferentes soluciones para esta ecuación corresponden a los diferentes estados estacionarios de la partícula y el nivel de más baja energía.

Como primera aproximación para el Hamiltoniano de un sistema molecular completo, omitiendo las interacciones *spin-orbita* y todas las interacciones magnéticas y relativistas, toma la siguiente representación:

$$\hat{H} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^{elec} \left(\frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_i^2} \right) - \frac{1}{2} \sum_{\mu=1}^{nucl} \left(\frac{\partial^2}{\partial x_\mu^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_\mu^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_\mu^2} \right)$$

$$+ \sum_{\mu=1}^{nucl} \sum_{\nu>\mu} \frac{Z_{\mu}Z_{\nu}}{|\vec{\mathbf{R}}_{\mu} - \vec{\mathbf{R}}_{\nu}|} - \sum_{\mu=1}^{nucl} \sum_{i=1}^{elec} \frac{Z_{\mu}}{|\vec{\mathbf{r}}_i - \vec{\mathbf{R}}_{\mu}|} + \sum_{i=1}^{elec} \sum_{j>i} \frac{1}{|\vec{\mathbf{r}}_i - \vec{\mathbf{r}}_j|} \quad (4.4)$$

donde μ y ν se refieren a los núcleos, mientras que i y j se refieren a los electrones.

En esta ecuación las coordenadas de los núcleos y los electrones están referidas a un origen de coordenadas fijo en el espacio. El primer término de esta ecuación es el operador correspondiente a la energía cinética de los electrones; el segundo término concierne al operador para la energía cinética de los núcleos; el tercero representa las repulsiones entre los núcleos, siendo $\vec{\mathbf{R}}_{\mu}$ y $\vec{\mathbf{R}}_{\nu}$ los vectores de posición del núcleo μ y del núcleo ν de número atómico Z_{μ} y Z_{ν} respectivamente; el cuarto término representa la energía potencial de las atracciones entre los electrones y los núcleos, siendo $\vec{\mathbf{r}}_i$ y $\vec{\mathbf{R}}_{\mu}$ los vectores de posición del electrón i y del núcleo μ ; siendo el último término es el operador de energía potencial de repulsión entre pares de electrones i y j .

Para un sistema molecular, la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo tiene la siguiente forma:

$$\hat{\mathbf{H}}\Psi(\vec{\mathbf{r}}, \vec{\mathbf{R}}) = E\Psi(\vec{\mathbf{r}}, \vec{\mathbf{R}}) \quad (4.5)$$

donde Ψ es una función que depende de la posición de los electrones ($\vec{\mathbf{r}}$) y los núcleos ($\vec{\mathbf{R}}$) en la molécula. Los símbolos $\vec{\mathbf{r}}$ y $\vec{\mathbf{R}}$ representan el conjunto de las componentes de los vectores que describen la posición de electrones y núcleos, respectivamente.

4.1.2. Aproximación de Born-Oppenheimer

Born y Oppenheimer en 1927 desarrollaron el postulado que permite tratar por separado los movimientos electrónicos y los movimientos nucleares (vibración y rotación) de un sistema molecular. La aproximación de Born-Oppenheimer se basa en suponer que las masas nucleares son mucho mayores que las electrónicas, por lo tanto los electrones siguen instantáneamente los cambios en la posición de los núcleos, de modo que su distribución para cada configuración nuclear depende únicamente de las posiciones de los núcleos y no de sus velocidades [27].

Es posible reordenar el Hamiltoniano molecular y factorizar la función de onda de modo que la energía cinética nuclear se encuentre separada del resto de las contribuciones:

$$\hat{\mathbf{H}}(\vec{\mathbf{r}}, \vec{\mathbf{R}}) = \hat{\mathbf{H}}_{el}(\vec{\mathbf{r}}, \vec{\mathbf{R}}) \cdot \hat{\mathbf{T}}_N(\vec{\mathbf{R}}) \quad (4.6)$$

Donde $\hat{\mathbf{H}}_{el}(\vec{\mathbf{r}}, \vec{\mathbf{R}})$ es el hamiltoniano puramente electrónico

$$\begin{aligned} \hat{\mathbf{H}}_{el}(\vec{\mathbf{r}}, \vec{\mathbf{R}}) = & -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^{elec} \left(\frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_i^2} \right) \\ & - \sum_{\mu=1}^{nucl} \sum_{i=1}^{elec} \frac{Z_{\mu}}{|\vec{\mathbf{r}}_i - \vec{\mathbf{R}}_{\mu}|} + \sum_{i=1}^{elec} \sum_{j>i} \frac{1}{|\vec{\mathbf{r}}_i - \vec{\mathbf{r}}_j|} + \sum_{\mu=1}^{nucl} \sum_{\nu>\mu} \frac{Z_{\mu}Z_{\nu}}{|\vec{\mathbf{R}}_{\mu} - \vec{\mathbf{R}}_{\nu}|} \end{aligned} \quad (4.7)$$

Cuyas coordenadas de los electrones están referidos al centro de masa de la molécula, por tanto

$$\Psi(\vec{\mathbf{r}}, \vec{\mathbf{R}}) = \Phi_{el}(\vec{\mathbf{r}}, \vec{\mathbf{R}}) \cdot \Phi_N(\vec{\mathbf{R}}) \quad (4.8)$$

Escribiéndose la ecuación de Schrödinger de la siguiente forma:

$$[\hat{\mathbf{H}}_{el}(\vec{\mathbf{r}}, \vec{\mathbf{R}}) + \hat{\mathbf{T}}_N(\vec{\mathbf{R}})] \Phi_{el}(\vec{\mathbf{r}}, \vec{\mathbf{R}}) \cdot \Phi_N(\vec{\mathbf{R}}) = E \Phi_{el}(\vec{\mathbf{r}}, \vec{\mathbf{R}}) \cdot \Phi_N(\vec{\mathbf{R}}) \quad (4.9)$$

Para una configuración nuclear fija ($\vec{\mathbf{R}}_0$) se pueden omitir los términos de energía cinética nuclear y la ecuación de Schrödinger para el Hamiltoniano electrónico es:

$$\hat{\mathbf{H}}_{el}(\vec{\mathbf{r}}, \vec{\mathbf{R}}_0) \Phi_{el}^n(\vec{\mathbf{r}}, \vec{\mathbf{R}}_0) = E_{el}^n \Phi_{el}^n(\vec{\mathbf{r}}, \vec{\mathbf{R}}_0) \quad (4.10)$$

Obteniéndose así valores de las energías de los estados electrónicos E_{el}^n y funciones de onda electrónicas que dependen paramétricamente de la configuración nuclear ($\vec{\mathbf{R}}_0$). Al resolver la ecuación de Schrödinger electrónica para diferentes configuraciones nucleares ($\vec{\mathbf{R}}_k$), se genera una red de puntos de energía para cada estado electrónico n que constituye la superficie de energía potencial $U_N^n(\vec{\mathbf{R}}_k)$ (energía electrónica incluyendo la repulsión nuclear) para el movimiento de los núcleos en el campo promedio creado por los electrones. Una vez obtenidas las funciones de onda y energías electrónicas, es decir

calculada la superficie de energía potencial para el estado electrónico n y de acuerdo a que los electrones se mueven mucho más rápido que los núcleos (al cambiar estos su configuración, aquellos se ajustan inmediatamente al cambio $U_N^n(\vec{\mathbf{R}}_k)$). Definiéndose así el hamiltoniano nuclear efectivo:

$$\hat{\mathbf{H}}_N^n(\vec{\mathbf{R}}) = \hat{\mathbf{U}}_N^n(\vec{\mathbf{R}}) - \frac{1}{2} \sum_{u=1}^{elec} \left(\frac{\partial^2}{\partial^y x_u^2} + \frac{\partial^2}{\partial^y y_u^2} + \frac{\partial^2}{\partial^y z_u^2} \right) \quad (4.11)$$

De manera que la ecuación de Schrödinger para el movimiento nuclear se escribe como:

$$\hat{\mathbf{H}}_N^n(\vec{\mathbf{R}}) \Phi_n(\vec{\mathbf{R}}) = E_{T\Phi N}(\vec{\mathbf{R}}) \quad (4.12)$$

Donde los valores propios de energía E_T representan las energías totales de la molécula, ya que se pueden apreciar en la ecuación (4.12), el operador hamiltoniano $\hat{\mathbf{H}}_N^n$ incluye a los operadores que representan las energías electrónicas y nucleares.

La ecuación electrónica de Schrödinger no tiene una solución analítica, excepto en el caso de átomos hidrogenoides (átomos con carga nuclear Z y un solo electrón). Por lo tanto, nos vemos obligados a recurrir a métodos matemáticos que permiten construir soluciones aproximadas. En química cuántica se utilizan fundamentalmente las aproximaciones del método Variacional, Determinante de Slater y Aproximación de Hartree-Fock.

4.1.3. Método variacional

El método variacional es un método de aproximación para resolver la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo, sin resolver de forma exacta la ecuación de Schrödinger.

Este método se basa en el principio variacional, “que establece que la energía del estado fundamental calculada con una función de onda aproximada es siempre el límite superior de la energía exacta”. Es decir, dado un sistema con Hamiltoniano $\hat{\mathbf{H}}$, si Ψ es una función normalizada que se comporta bien y que satisface las condiciones a la frontera del problema, se cumple que:

$$\int \Psi^* \hat{\mathbf{H}} \Psi d\tau \geq E_0 \quad (4.13)$$

donde E_0 es el valor exacto o experimental de la energía del estado fundamental.

En su forma más extendida, el método variacional se aplica expresando la función de prueba como una combinación lineal de un conjunto de funciones de base:

$$\Psi = \sum_i c_i \Phi_i \quad (4.14)$$

y se trata de buscar los coeficientes que minimizan la energía. Imponiendo la condición de mínimo y de ortonormalidad de las funciones, el problema de resolver la ecuación de Schrödinger se transforma en la resolución de un sistema lineal de ecuaciones de la forma:

$$\sum_i c_i \left[\int \Phi_k^* \hat{H} \Phi_i d\tau - E \delta_{ij} \right] = 0 \quad (4.15)$$

donde δ_{ij} es la delta de Kronecker y el término entre corchetes define el determinante secular. Los valores propios del determinante son los valores de energía para los distintos niveles y cada vector propio proporciona los valores de los coeficientes c_i que corresponden a cada uno de los niveles de energía.

Las energías electrónicas en el estado fundamental se obtienen aplicando el principio variacional, para ello se elige una forma funcional matemática para la función de onda sin normalizar ψ_{el} con parámetros variables y se minimiza la expresión:

$$E_{el} = \frac{\int \psi_{el}^* \hat{H}_{el} \psi_{el} d\tau}{\int \psi_{el}^* \psi_{el} d\tau} \quad (4.16)$$

con respecto a las variaciones de los parámetros elegidos.

4.1.4. Determinante de Slater

Para resolver la ecuación de Schrödinger para una molécula es utilizar una función de onda inicial que se refina usando el principio variacional. Para N electrones se usa una función de onda para cada electrón (orbital molecular) independiente de los demás.

Cada función monoeléctronica, $\phi(\chi_i)$, denominada *spin-orbital*, se representa por:

$$\phi(\chi_i) = \phi_i(r)\alpha(\omega)$$

$$\phi(\chi_{i+1}) = \phi_i(r)\beta(\omega) \quad (4.17)$$

siendo $\phi_i(r)$ un orbital espacial, α o β son funciones de *spin* y χ_i representa las coordenadas r y ω .

La aproximación orbital propone definir la función de onda polielectrónica como un producto de orbitales moleculares monoeléctricos, conocido como producto de Hartree, y el Hamiltoniano total como la suma de Hamiltonianos independientes mono-electrónicos.

El principio de Pauli exige que la función de onda sea antisimétrica, es decir, que cambie de signo respecto al intercambio de coordenadas espaciales y de *spin*. Esto implica que la función de onda se puede representar como un determinante de Slater:

$$\Psi(\chi_1, \chi_2, \dots, \chi_N) = \frac{1}{\sqrt{N!}} \begin{vmatrix} \phi_1(\chi_1) & \phi_2(\chi_1) & \dots & \phi_N(\chi_1) \\ \phi_1(\chi_2) & \phi_2(\chi_2) & \dots & \phi_N(\chi_2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \phi_1(\chi_N) & \phi_2(\chi_N) & \dots & \phi_N(\chi_N) \end{vmatrix} \quad (4.18)$$

donde $(N!)^{-1/2}$ es el factor de normalización. Las filas de un determinante de Slater están definidas por los electrones y las columnas por los *spin*-orbitales. Un determinante de Slater introduce correlación de intercambio, lo cual significa que dos electrones con *spin* paralelo están interrelacionados.

4.1.5 Aproximación de Hartree-Fock

La aplicación del principio variacional usando como función de prueba un determinante de Slater define el método de Hartree-Fock (HF). El principio variacional establece que la mejor función de onda de esta forma funcional proporcionará la energía más baja posible:

$$\begin{aligned} E_0 = \langle \Psi | \hat{H} | \Psi \rangle &= \sum_a^N \langle \Psi_a(r_1) | h(r_1) | \Psi_a(r_1) \rangle \\ &+ \frac{1}{2} \sum_a^N \sum_b^N \langle \Psi_a(r_1) \Psi_b(r_2) | r_{12}^{-1} | \Psi_a(r_1) \Psi_b(r_2) \rangle \\ &- \langle \Psi_a(r_1) \Psi_b(r_2) | r_{12}^{-1} | \Psi_b(r_1) \Psi_a(r_2) \rangle \end{aligned} \quad (4.19)$$

donde \hat{H} es el Hamiltoniano electrónico completo. El primer término de la ecuación (4.19) es el Hamiltoniano mono-electrónico o de *core*. En este término el operador $h(r_1)$ tiene la forma:

$$h(r_1) = -\frac{1}{2}\nabla_1^2 - \sum_A \frac{Z_A}{r_{1A}} \quad (4.20)$$

El segundo término en (4.20) se denomina integral de Coulomb y tiene el análogo clásico de la repulsión interelectrónica. El tercer término es la integral de intercambio, que aparece como consecuencia de la antisimetría de la función de onda de los electrones y no tiene un análogo clásico.

Minimizando E_0 con respecto a la elección de los *spin*-orbitales se deriva la ecuación de Hartree-Fock, la cual determina los *spin*-orbitales óptimos. La ecuación de Hartree-Fock es una ecuación de valores propios de la forma:

$$f|\Psi_a\rangle = \varepsilon_a|\Psi_a\rangle \quad (4.21)$$

siendo f el operador efectivo para un electrón, llamado operador de Fock:

$$f(r_1) = h(r_1) + \sum_b j_b(r_1) - k_b(r_1) \quad (4.22)$$

mientras que j y k son los operadores de Coulomb y de intercambio, respectivamente:

$$j_b(r_1)\Psi_a(r_1) = \langle\Psi_b(r_2)|r_{12}^{-1}|\Psi_b(r_2)\rangle\Psi_a(r_1) \quad (4.23)$$

$$k_b(r_1)\Psi_a(r_1) = \langle\Psi_b(r_2)|r_{12}^{-1}|\Psi_a(r_2)\rangle\Psi_b(r_1) \quad (4.24)$$

La ecuación (4.23) representa el potencial local promedio en r_1 que surge de un electrón en Ψ_b , es decir, que la repulsión coulombiana electrón-electrón se reemplaza por una repulsión promedio.

4.2. MÉTODOS PARA EL CÁLCULO DE LA ESTRUCTURA ELECTRÓNICA

Los métodos de cálculo de estructura electrónica, están basados principalmente en las leyes de la mecánica cuántica, más que en mecánica clásica. Los estados cuánticos, energía y otras propiedades relacionadas, se obtienen resolviendo la ecuación de Schrödinger, pero sólo para muy pocos sistemas esta ecuación puede ser resuelta exactamente. Los métodos de cálculo de estructura electrónica se caracterizan por las aproximaciones matemáticas para resolver esta ecuación. Las cuatro aproximaciones más importantes para calcular las propiedades moleculares son: el método de mecánica molecular, los métodos semiempíricos, los métodos *ab initio* y los métodos DFT.

Los métodos de *Mecánica Molecular (MM)* no están basados en la mecánica cuántica, y usan como modelo una molécula compuesta por átomos (considerándolos partículas puntuales dotadas de masa y carga) unidos por enlaces que se pueden comparar con resortes [28].

Los métodos *Semiempíricos (SE)* son métodos químico cuánticos, es decir, obtienen la energía y orbitales moleculares, pero lo hacen simplificando el Hamiltoniano, al remplazar valores esperados de la función de onda o de funcionales de la densidad electrónica por formas paramétricas ajustadas estadísticamente empleando grandes conjuntos de datos experimentales (geometrías moleculares y calores de formación) y/o datos teóricos generados por métodos *ab initio* o DFT [2].

Métodos *ab initio*, resuelven de modo aproximado la ecuación de Schrödinger para obtener la energía y la función de onda electrónicas del sistema de interés [29, 30]. Se denominan *ab initio* porque no emplean otra información empírica que no sea la de las constantes físicas fundamentales.

Los métodos basados en la *teoría de funcionales de la densidad (DFT)* formulan el problema mecanocuántico de la estructura electrónica en términos de una magnitud observable, la densidad electrónica r , en vez de la función de onda polieletrónica.

4.3. TEORÍA DE FUNCIONALES DE LA DENSIDAD

En la búsqueda de funciones que impliquen menos variables que la función de onda y que se puedan utilizar para calcular la energía y otras propiedades ha surgido la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT). La teoría DFT se cimentó en el hecho de que para moléculas con un estado fundamental no degenerado, la energía molecular, la función de onda y todas las demás propiedades electrónicas están determinadas unívocamente por la densidad de probabilidad electrónica del estado fundamental $\rho_0(x, y, z)$, la cual es una función de solamente tres variables [31, 32].

La teoría DFT intenta calcular E_0 y otras propiedades moleculares a partir de la densidad electrónica del estado fundamental, ρ_0 . El punto de partida para su aplicación química son los teoremas de Hohenberg y Kohn [33].

El primer teorema de Hohenberg y Kohn postula que la energía electrónica del estado fundamental E_0 es un funcional de ρ_0 , es decir:

$$E_0 = E_0[\rho_0] \quad (4.25)$$

El segundo teorema de Hohenberg y Kohn establece que la verdadera densidad electrónica del estado fundamental ρ_0 minimiza el funcional de energía $E_0[\rho']$ igual que la verdadera función de onda normalizada del estado fundamental minimiza la integral variacional:

$$E_0[\rho'] \geq E_0[\rho_0] \quad \text{si} \quad \rho' \neq \rho_0 \quad (4.26)$$

Puesto que la energía es un funcional de la densidad, se puede afirmar que sus componentes también lo son:

$$E_0[\rho_0] = T[\rho_0] + E_{ee}[\rho_0] + E_{en}[\rho_0] + V_{nn} \quad (4.27)$$

donde el término T es la energía cinética electrónica, E_{ee} y E_{en} son las interacciones electrón-electrón y electrón-núcleo respectivamente y finalmente el término V_{nn} representa la repulsión internuclear.

Esta expresión se puede dividir en la parte dependiente del sistema, que es la que contempla la atracción electrón-núcleo E_{en} (en la que intervienen las coordenadas específicas de los

núcleos) y la independiente con validez universal que se representa como F_{HK} y define el llamado *funcional de Hohenberg-Kohn*:

$$F_{HK}[\rho_0] = T[\rho_0] + E_{ee}[\rho_0] \quad (4.28)$$

Si se conociera este funcional, se podría resolver de manera exacta la ecuación de Schrödinger, sin embargo el problema estriba en que este funcional no es conocido.

En el funcional F_{HK} se puede dividir la parte de interacción electrón-electrón en un término que corresponde a la interacción clásica de Coulomb de una densidad electrónica consigo misma, $J[\rho_0]$, y otro término que describe el resto de interacciones no clásicas (intercambio, correlación o corrección a la autointeracción):

$$E_{ee}[\rho_0] = J[\rho_0] + E_{xc}[\rho_0] \quad (4.29)$$

La energía total queda como:

$$E_0[\rho_0] = E_{en}[\rho_0] + V_{nn} + J[\rho_0] + (T[\rho_0] + E_{xc}[\rho_0]) \quad (4.30)$$

donde los términos dentro del paréntesis, funcional de energía cinética y funcional de intercambio-correlación, se evalúan de acuerdo a distintos modelos.

La teoría DFT introduce las ecuaciones de Kohn y Sham [33], en este formalismo el término de energía cinética se calcula de forma exacta para un conjunto de N electrones no interaccionantes cada uno descrito por un orbital Ψ_i de forma que:

$$T = \sum_{i=1}^N \left\langle \Psi_i \left| -\frac{1}{2} \nabla^2 \right| \Psi_i \right\rangle \quad (4.31)$$

Se considera que la energía cinética que no se tiene en cuenta se incorpora en el término de intercambio-correlación, E_{xc} .

El problema en DFT es derivar las fórmulas para el término E_{xc} el cual se considera como la suma de un término de intercambio y otro de correlación:

$$E_{xc}[\rho_0] = E_x[\rho_0] + E_c[\rho_0] \quad (4.32)$$

Aplicando variaciones para minimizar la energía en función de los orbitales, se llega a las *ecuaciones de Kohn-Sham*, que se resuelven iterativamente aplicando el método SCF. El resultado y la ventaja es que el tiempo de un cálculo DFT es similar al de un cálculo HF, pero incluyendo energía de correlación.

Los métodos DFT se clasifican según el método utilizado para calcular el término de intercambio-correlación.

Por lo anterior la teoría del funcional de la densidad (DFT), se ha convertido en un amplio y riguroso marco teórico unificador para el desarrollo de la reactividad química [34-36]. Esto se debe fundamentalmente a que a través de una estructura matemática que es adecuada para la descripción de las respuestas químicas frente a diferentes estímulos o perturbaciones externas en el sistema. Las ecuaciones básicas de la DFT, se obtienen a través de la minimización del funcional de energía de la densidad electrónica, $E[\rho]$ con la restricción que el número de electrones (N) permanezca constante, conduciendo a la expresión mostrada en la ecuación

$$\delta \left(E - \mu \int \rho(r) dr \right) \quad (4.33)$$

Donde

$$\int \rho(r) dr = N \quad (4.34)$$

A partir de esto, se genera un conjunto de propiedades globales que dan cuenta de la reactividad del sistema por las variaciones de la energía con respecto a N . Entre las propiedades globales se encuentra el potencial químico (μ) y la dureza (η), los cuales pueden definirse como la primera y segunda derivada de la energía E con respecto al número total de electrones a potencial externo $v(r)$ constante: [37]

$$\mu = \left(\frac{\partial E}{\partial N} \right)_{v(r)} \quad ; \quad \eta = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N^2} \right)_{v(r)} \quad (4.35)$$

Físicamente, el potencial químico electrónico, corresponde a la capacidad de un sistema para donar electrones, de tal modo que la transferencia de electrones, entre reactantes fluye desde el potencial más alto hacia donde el potencial químico es bajo, mientras que la dureza

puede ser entendida como la resistencia a la transferencia de carga del sistema. En numerosas aplicaciones el potencial químico electrónico y la dureza se calculan mediante la energía de ionización (EI) y la afinidad electrónica (AE) respectivamente como se muestra en la Ecuación 4.36. [39]

$$\mu = \frac{1}{2}(EI + AE) \quad \eta = \frac{1}{2}(EI - AE) \quad (4.36)$$

Asimismo es posible conocer los valores de potencial químico y dureza en términos de las energías orbitales basadas en la aproximación de diferencias finitas de tres puntos y el teorema de Koopmans:

$$\mu = \frac{1}{2}(E_{LUMO} + E_{HOMO}) \quad (4.37)$$

$$\eta = \frac{1}{2}(E_{LUMO} - E_{HOMO}) \quad (4.38)$$

Donde, E_{LUMO} y E_{HOMO} , son las energías de los orbitales moleculares (LUMO y HOMO) más bajo desocupado y mas alto ocupado respectivamente.

El concepto de electrofilicidad global (ω), fue introducido para medir la estabilización de la energía cuando el sistema es saturado por electrones que provienen de los alrededores. El índice de electrofilicidad puede ser determinado a partir de μ y η (4.39).

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (4.39)$$

Para conocer el lugar donde la reacción es favorable, se utilizan los descriptores de la función de Fukui (FF) que nos dicen que el lugar donde ocurre una reacción es donde el reactante produce un cambio en el potencial químico del sistema electrónico. La FF, se define como: [40, 41]

$$f(r) = \left(\frac{\partial \rho(r)}{\partial N} \right)_{v(r)} \quad (4.40)$$

La cuantificación de la FF es posible, a través de un esquema de condensación sobre una región atómica de la molécula, empleando análisis de población, dando lugar a las siguientes Ecuaciones [42, 43]:

$$f_k^+ = [\rho_k(N + 1) - \rho_k(N - 1)] \quad (4.41a)$$

$$f_k^- = [\rho_k(N) - \rho_k(N - 1)] \quad (4.41b)$$

$$f_k^0 = [\rho_k(N + 1) - \rho_k(N - 1)] \quad (4.41c)$$

donde, $\rho_k(N + 1)$, $\rho_k(N - 1)$ y $\rho_k(N)$ denotan la población electrónica del átomo k , en la especie aniónica, catiónica y neutra respectivamente.

5. METODOLOGÍA

La metodología en el presente trabajo se dividió en dos etapas:

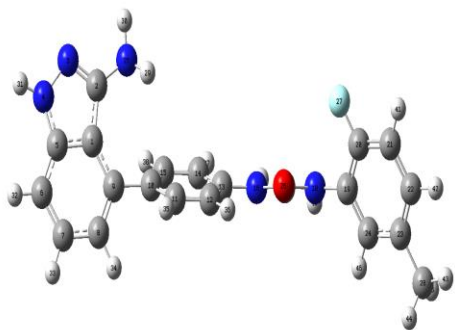
1. Se realizó el cálculo de la optimización y energía electrónica de las estructuras químicas antiangiogénicas. Con dichos resultados se efectuó una comparación entre las estructuras optimizadas y las estructuras determinadas por rayos-X, asimismo se calculó la energía potencial y las frecuencias asociadas.
2. La segunda etapa consistió en calcular los descriptores de reactividad química a cada molécula tomando en cuenta parámetros como el potencial químico, dureza molecular e índice de electrofilicidad, así como las funciones de Fukui, mismas que permitieron evaluar la reactividad global y local para dichas moléculas.

5.1. ESTRUCTURA MOLECULAR

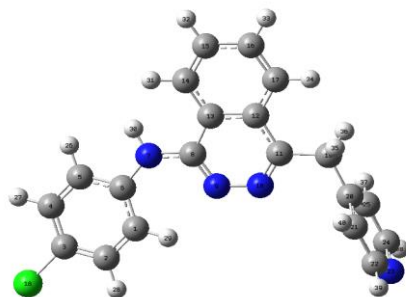
Para llevar a cabo esta etapa, primero se definieron las estructuras moleculares de diez fármacos antiangiogénicos (Fig. 1) de las cuales, seis se obtuvieron de la base de datos *Protein Data Bank* y cuatro se construyeron en el programa Spartan 08 V1.2.0

Los cálculos computacionales se llevaron a cabo con el paquete mecano cuántico Gaussian 09 [44], optimizando las estructuras moleculares antiangiogénicas, sin restricciones a nivel de teoría Hartre Fock y DFT con el funcional híbrido B3LYP y M06 [45, 46] y la base cc-pVTZ en fase gaseosa como en fase acuosa usando el modelo de solvente SMD al mismo nivel de teoría, y con una constante dieléctrica de 78.5 a una temperatura de 25°C correspondiente a la constante dieléctrica experimental del agua a dicha temperatura. Asimismo se realizaron cálculos de frecuencias para corroborar que las estructuras correspondían a un mínimo.

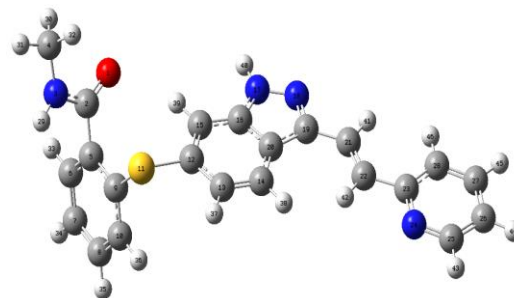
LINIFANIB



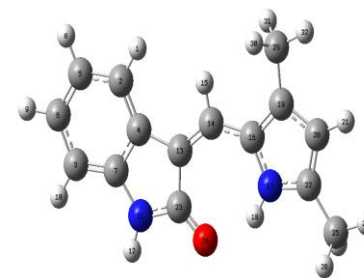
VATALANIB



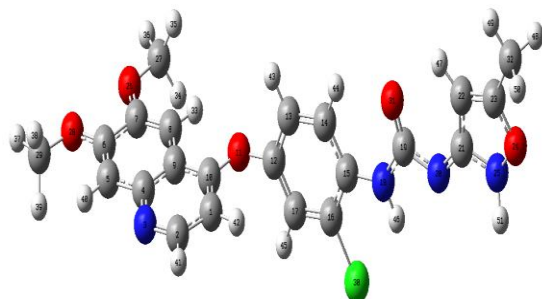
AXITINIB*



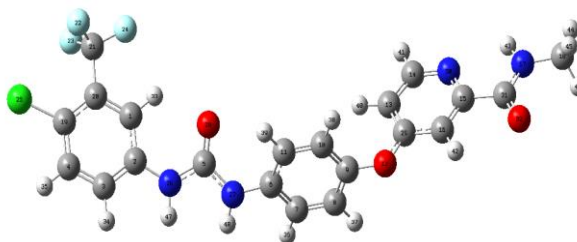
SEMAXANIB



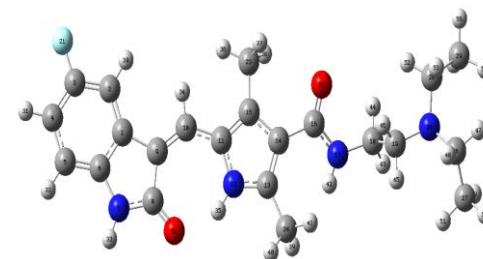
TIVOZANIB*



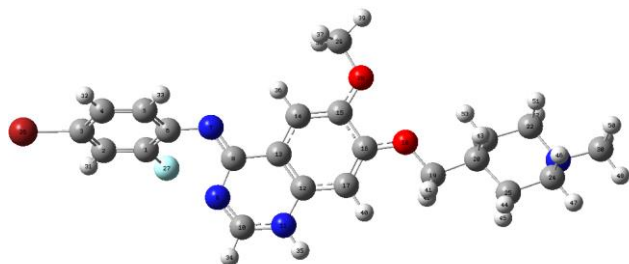
SORAFENIB*



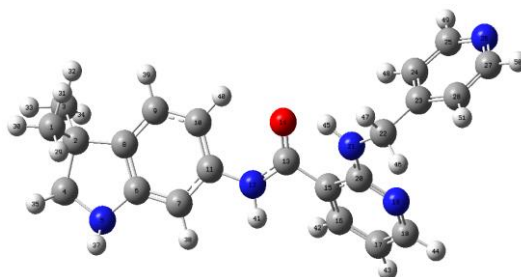
SUNITINIB*



VANDETANIB*



MOTESANIB*



PAZOPANIB

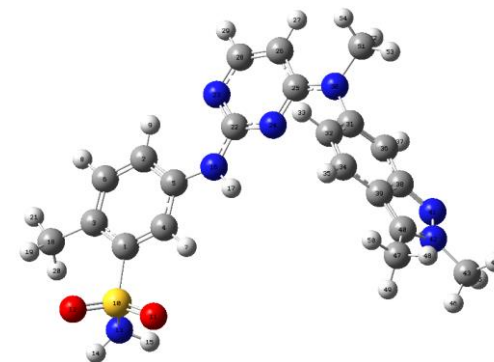


Fig. 1. Estructuras antiangiogénicas de estudio.

*Estructuras obtenidas del *Protein Data Bank*.

Gris: Carbono; Blanco: Hidrogeno; Azul: Nitrógeno; Rojo: Oxígeno; Amarillo: Azufre; Verde: Cloro; Guinda: Bromo; Azuláceo: Flúor.

La obtención de la optimización geométrica se utilizó para localizar la conformación más estable de cada una de nuestras estructuras, habiéndose realizado antes de cualquier análisis o cálculo adicional debido a que de ésta dependen sus propiedades físicas y químicas caracterizadas por la distancia de enlace, el ángulo de enlace y el ángulo de torsión de dicha molécula, siendo este último del que dependieron principalmente. Por lo que las propiedades como la energía potencial relacionada a la rotación interna de cada enlace simple, así como interacciones entre enlaces simples, dobles y pares de electrones libres, efectos estéricos, y los momentos dipolares determinaron la conformación.

La optimización geométrica llevo a cabo el siguiente proceso iterativo y comenzó con una geometría de partida que siguió los siguientes pasos:

1. El cálculo de la energía en un punto único se realizó sobre la geometría de partida.
2. Las coordenadas para un subconjunto de átomos se cambiaron y se recalculo un nuevo punto de energía aislado para determinar la energía de la nueva conformación.
3. La primera derivada de la energía con respecto a las coordenadas atómicas determinaron cuanto y en qué dirección se debía cambiar el siguiente incremento de geometría y la segunda permitió el cálculo de las frecuencia, por consiguiente se realizó el cambio.
4. A continuación se determinó de nuevo la energía y sus derivadas y el proceso continuo hasta que se alcanzó la convergencia que se fijó, terminando en ese momento el proceso de minimización.

Los cálculos de energía de un punto único se utilizaron para calcular las propiedades de la geometría. Los valores de estas propiedades dependieron de donde estuvo situado el modelo en la superficie de potencial de acuerdo a la consideración que relaciona que un cálculo de energía en un punto único en un mínimo global nos dará la información sobre el modelo en la conformación más estable.

De acuerdo a lo anterior las estructuras optimizadas se caracterizaron como mínimos mediante cálculos de frecuencias y de energías, continuando con la comparación con la

estructura de rayos-X, la comparación se hizo en términos de la raíz del error cuadrático medio, σ ecuación 5.1, de los parámetros estructurales (ángulos de valencia y ángulos diedros) calculados teóricamente con respecto a los determinados por rayos-X.

$$\sigma_{parametro} = \sqrt{\frac{\sum (X_{teo} - X_{exp})^2}{n}} \quad (5.1)$$

donde X_{teo} y X_{exp} son los valores teórico y experimental respectivamente para distancias de enlace, ángulos de valencia y ángulos diedro y n indica el número de datos considerados.

5.2. CÁLCULOS DE REACTIVIDAD

Como segunda etapa del trabajo, se calcularon los descriptores de la reactividad utilizando el método de la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) [47, 48]. El aspecto conceptual de esta teoría, ha logrado definir conceptos tales como el potencial químico electrónico (μ), la dureza (η), la electrofilicidad (ω) [50,51] y las funciones de Fukui (FF) [51] los cuales son descriptores globales y locales de reactividad.

Todos los cálculos computacionales se llevaron a cabo con el paquete de programas Gaussian 09[44]. Los descriptores de reactividad fueron obtenidos por cálculos puntuales empleando el nivel de teoría B3LYP/cc-pvtz [45,46] y utilizando geometrías optimizadas con el método Hartree Fock y base cc-pvtz. El potencial químico electrónico (μ), la dureza (η) y el índice de electrofilicidad [48,50], corresponden a descriptores globales de reactividad y se calcularon mediante las ecuaciones 4.37, 4.38 y 4.39 respectivamente. La función de Fukui es un índice que mide la reactividad local y se calculó mediante las ecuaciones 4.41a, 4.41b, 4.41c, utilizando los programas Gaussian 09 y gOpen mol.

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados divididos en dos partes: análisis de las estructuras moleculares y cálculos de las reactividades globales y locales para los sistemas en estudio.

6.1 ANÁLISIS DE ESTRUCTURAS MOLECULARES.

La comparación entre estructuras del mínimo global calculada teóricamente a nivel HF, B3LYP y M06 y las estructuras de rayos-X de las moléculas antiangiogénicas se llevó a cabo en términos de la raíz del error cuadrático con respecto a distancias de enlace, ángulos de enlace y ángulos diedros, de acuerdo a la ecuación (5.1).

Las desviaciones de las distancias de enlace no mostraron una diferencia significativa entre las estructuras optimizadas y las de rayos X, razón por la cual no son consideradas.

Los valores obtenidos para los ángulos de valencia en la Tabla 1, se muestra que no existe una diferencia significativa de los valores de este parámetro, entre los métodos utilizados para describir las moléculas de estudio, no obstante la molécula de sorafenib en el método Hartree Fock fue la estructura que presentó una mayor desviación en fase disolución respecto a B3LYP y M06, esto se le atribuye a la presencia de grupos halógenos en la estructura. Sin embargo, dicho método fue más constante con desviaciones estándar pequeñas para los ángulos de enlace describiendo mejor las estructuras de estudio.

Los ángulos diedros presentan mayores desviaciones con respecto a los rayos-X, variando en fase gaseosa y disolución, sin embargo, nuevamente el método HF fue el mejor para describir los valores de este parámetro. Las estructuras como tivozanib, axitinib y sunitinib, en el método HF muestran una mayor desviación estándar en disolución. Es importante remarcar que sunitinib es la molécula que mayor desviación presenta de todas las estructuras estudiadas esto puede deberse a la ramificación en uno de los extremos de la estructura y la presencia de átomos como nitrógenos así como al encontrarse en fase acuosa hace que el par de electrones libre de los nitrógenos, como las interacciones de puentes de hidrogeno con moléculas de agua influyan en los ángulos de diedro en gran manera. Opuesto a esto, las estructuras como motesanib, sorafenib y vandetanib, mostraron una

mayor desviación en fase gaseosa, lo que sugiere que la conformación dependa más de las interacciones que del medio en que se encuentra, como por ejemplo, si uno de los átomos centrales posee uno o más pares de electrones libres.

No se encontró patrón alguno que permitiera relacionar ambas fases, pero nuevamente el método HF fue el más constante para describir a los ángulos diedro.

Como se muestra en la Tabla 1, la geometría de las moléculas se modificó en ambas fases. Evidentemente, se observa que el método HF permitió hacer una descripción adecuada de las geometrías estudiadas, pues los parámetros geométricos fueron más cercanos a los datos experimentales que los datos comparados con los funcionales B3LYP y M06 (Fig. 2). En todos los casos, los complejos mantuvieron una geometría cuadrado planar con ángulos próximos a los valores ideales de 90° y 180° , lo cual es razonable ya que comparten características estructurales similares. Por otro lado, la inclusión del efecto del disolvente permitió mejorar la descripción de los parámetros geométricos para dichas moléculas en estudio (Fig. 3), permitiendo simular de una manera más cercana la parte biológica.

El método de cálculo se validó por medio de la comparación de los parámetros geométricos calculados de las *estructuras antiangiogénicas* con las estructuras de rayos-X, así como con los cálculos de las frecuencias y de las energías lo cual aseguró la obtención de la conformación más estable, Tabla 2.

Tabla 1. Desviaciones estándar de ángulos de valencia y ángulos diedros de estructuras antiangiogénicas calculados teóricamente comparados con los parámetros geométricos determinados por rayos-X en fase gaseosa y disolución.

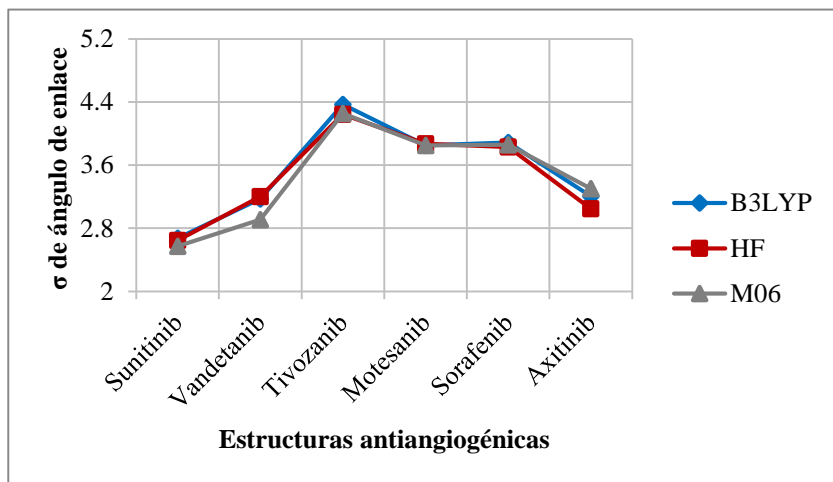
Parámetro	Fase Gaseosa			Fase Disolución		
	B3LYP	HF	M06	B3LYP	HF	M06
<i>Ángulo de enlace(°)</i>						
Sunitinib	2.676	2.645	2.571	5.066	5.001	5.065
Vandetanib	3.173	3.203	2.909	2.889	3.040	2.724
Tivozanib	4.37	4.245	4.255	3.678	3.393	3.639
Motesanib	3.851	3.871	3.849	3.751	3.663	3.710
Sorafenib	3.888	3.831	3.857	3.904	7.697	3.908
Axitinib	3.206	3.047	3.304	3.186	2.982	3.256
<i>Ángulo diedro(°)</i>						
Sunitinib	20.960	18.730	19.710	80.570	79.810	80.480
Vandetanib	2.237	11.265	2.718	5.161	9.723	4.300
Tivozanib	11.290	11.420	10.540	17.290	17.150	16.880
Motesanib	20.298	13.734	18.264	19.289	13.197	20.368
Sorafenib	24.141	18.284	22.604	22.200	17.425	19.521
Axitinib	17.080	20.895	17.170	16.677	21.935	15.431

Tabla 2. Comparación de energía en diferentes métodos en fase gaseosa y disolución

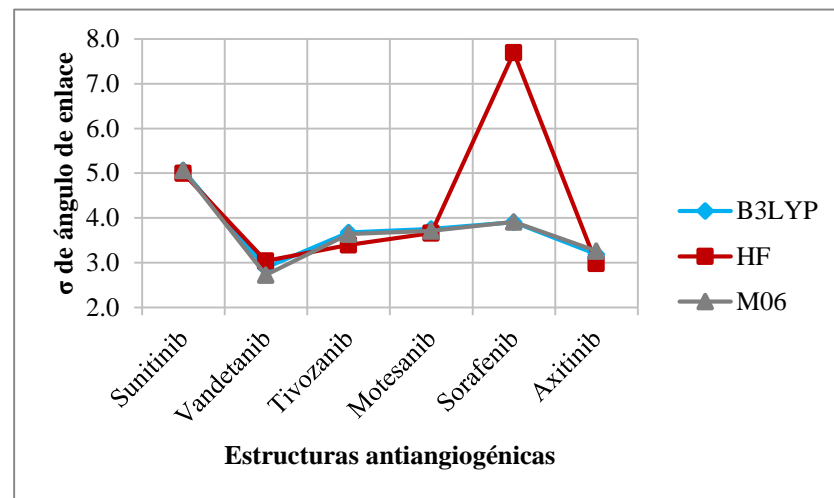
Fármaco	Fase Gaseosa			Fase Disolución		
	B3LYP*	HF	M06	B3LYP*	HF	M06
Axitinib	0.000	4958.808	560.570	0.000	4956.425	561.434
Linifanib	0.000	4826.838	559.423	0.000	4823.174	560.202
Motesanib	0.000	4785.569	561.757	0.000	4781.682	561.877
Pasopanib	0.000	5680.779	622.960	0.000	5675.507	623.814
Semaxanib	0.000	3051.311	362.630	0.000	3048.855	362.915
Sorafenib	0.000	6016.751	638.411	0.000	6012.401	639.674
Sunitinib	0.000	5137.669	588.669	0.000	5133.527	589.144
Tivozanib	0.000	5905.590	638.973	0.000	5902.009	639.639
Vandetanib	0.000	6204.728	656.108	0.000	6202.098	656.730
Vatalanib	0.000	4414.842	498.392	0.000	4411.367	499.077

*Método tomado como referencia

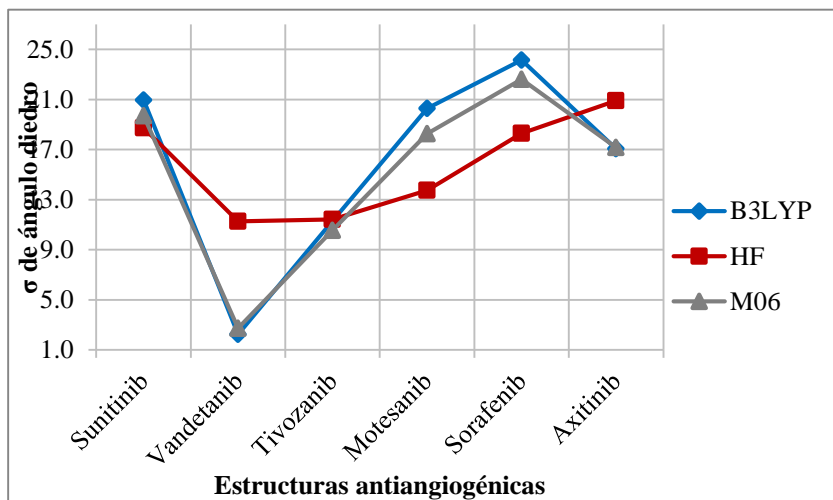
Desviaciones estándar de los ángulos de enlace de las estructuras antiangiogénicas calculadas teóricamente comparados con los parámetros geométricos determinados por rayos-X en fase gaseosa.



Desviaciones estándar de los ángulos de enlace de las estructuras antiangiogénicas calculadas teóricamente comparados con los parámetros geométricos determinados por rayos-X en fase disolución.



Desviaciones estándar de los ángulos diedros de las estructuras antiangiogénicas calculadas teóricamente comparados con los parámetros geométricos determinados por rayos-X en fase gaseosa.



Desviaciones estándar de los ángulos diedros de las estructuras antiangiogénicas calculadas teóricamente comparados con los parámetros geométricos determinados por rayos-X en fase disolución.

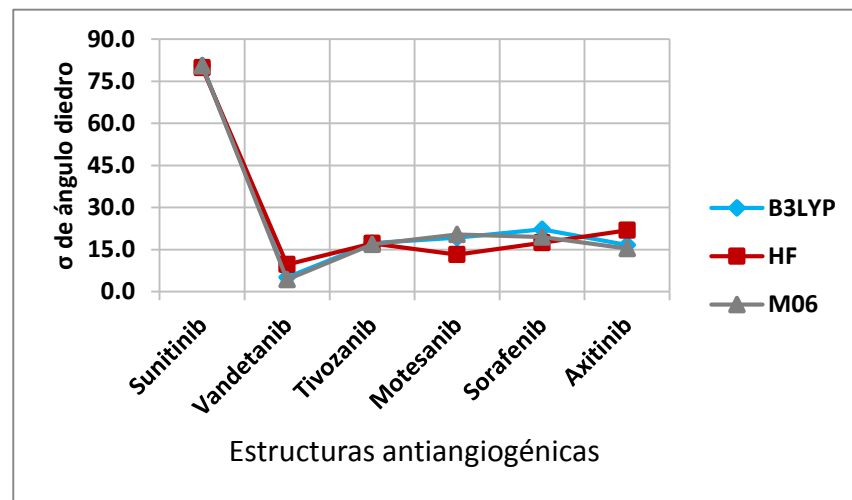


Fig. 2 Gráficas que muestran la variación de los parámetros geométricos calculados con los métodos HF, B3LYP y M06, respecto a las estructuras de rayos X.

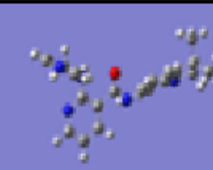
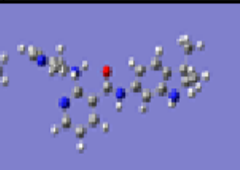
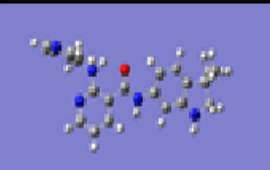
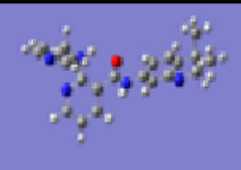
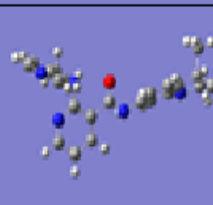
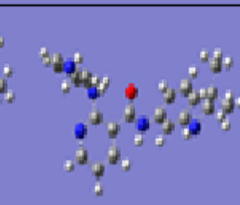
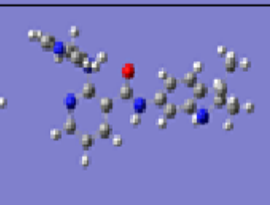
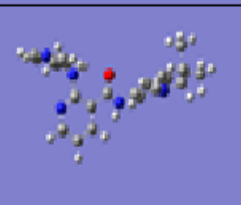

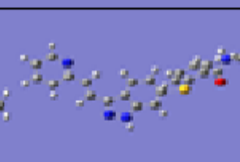
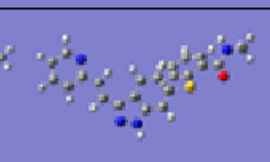
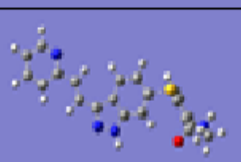
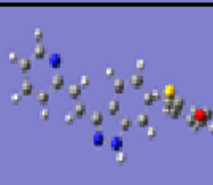
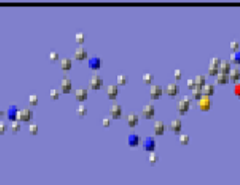
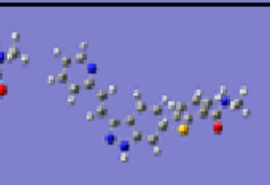
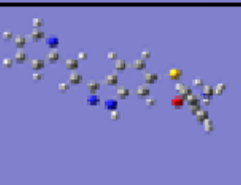
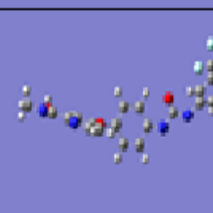

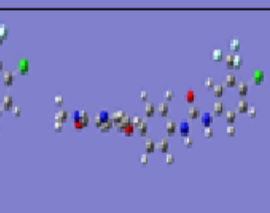
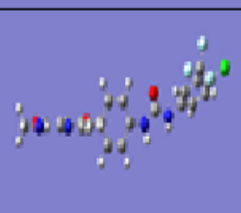
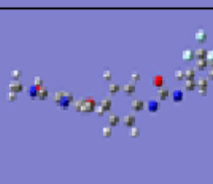
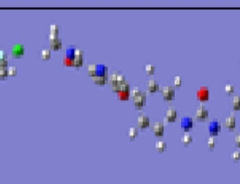

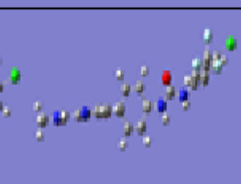
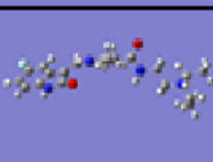


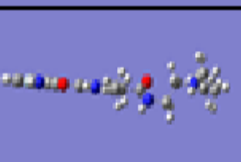
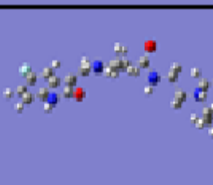
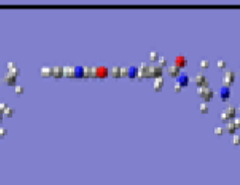

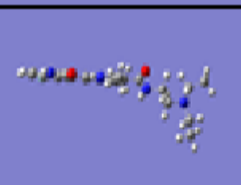
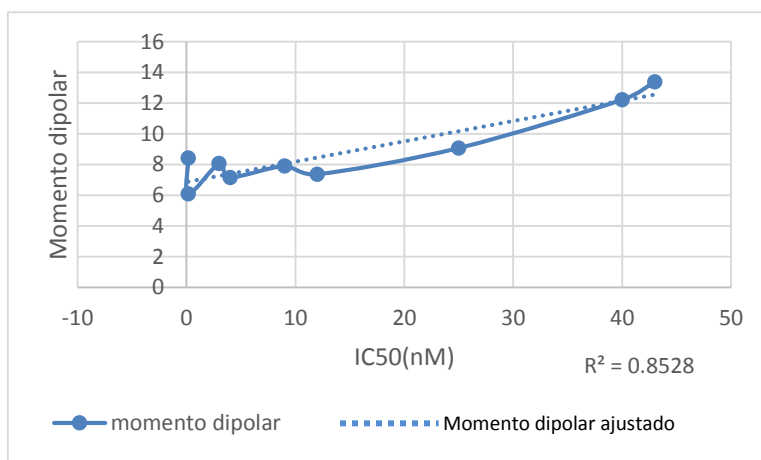
Rayos X	B3LYP	M06	HF	MOLECULA
				Motesanib Fase Gas
				Motesanib Fase Disolución
				Axititinib Fase Gas
				Axititinib Fase Disolución
				Sorafenib Fase Gas
				Sorafenib Fase Disolución
				Sunitinib Fase Gas
				Sunitinib Fase Disolución

Fig.3 Estructuras moleculares de las moléculas antiangiogénicas calculadas teóricamente en los diferentes métodos de estudio, comparadas con las geometrías determinadas por rayos-X en fase gaseosa y disolución.

Otra consideración, que nos permitió definir al método HF como el mejor en este estudio, fue la relación que se estableció entre los resultados obtenidos del momento dipolar (MD) en los diferentes métodos estudiados y la concentración inhibitoria máxima media (IC50) que es la medida de la eficacia de la función biológica de un fármaco. Siendo esto una contribución importante de este trabajo ya que relaciona una propiedad física (MD) con un parámetro experimental (IC50).

Tabla 3. Momento dipolar(MD) calculado teóricamente relacionado con el IC50 de las estructuras antiangiogénicas*

Disolución HF		
Fármaco	IC50 (nM)	Momento Dipola(MD)r
Vatalanib	43.00	13.394
Vandetanib	40.00	12.223
Sorafenib	25.00	9.079
Pazopanib	12.00	7.375
Sunitinib	9.00	7.905
Linifanib	4.00	7.173
Motesanib	3.00	8.073
Axitinib	0.18	6.092
Tivozanib	0.16	8.432



En la tabla 3 se observa una relación directamente proporcional entre el momento dipolar y el IC50 con un R^2 de 0.853. Lo anterior indica que entre mayor sea el momento dipolar de una estructura dirigida contra el receptor VEGF menor será su eficacia, esto es consistente ya que el lugar donde actúan estas moléculas es un sitio hidrófobo [52].

6.2. ANÁLISIS DE REACTIVIDAD

Por otra parte, la caracterización teórica de la reactividad química de los complejos estudiados, se llevó a cabo mediante descriptores globales y locales de la reactividad mediante los métodos de la teoría de los funcionales de la densidad. En la Tabla 4 se presentan los valores de los descriptores de reactividad calculados a nivel B3LYP/cc-pVDZ para los sistemas moleculares (Fig.1).

Se realizó un análisis de los índices globales y locales de reactividad en términos de la concentración máxima inhibitoria (Tabla 3), la cual es un referente experimental de la actividad biológica de una estructura, indicando que a un mayor número de IC50 esta presentará una limitada eficacia.

6.2.1. Propiedades globales

6.2.1.1. Potencial químico

El potencial químico(μ) físicamente se puede describir como la capacidad de un sistema para donar electrones. En la Tabla 4 se presentan los resultados del potencial químico para las moléculas en estudio en fase gaseosa y acuosa. Se puede observar que las estructuras antiangiogénicas varían su comportamiento de μ dependiendo de la fase en la que se encuentran (Fig. 4), sin embargo, se encontró que la molécula linifanib presenta el valor más alto de μ y sorafenib el valor más pequeño siendo consistentes en ambas fases. Analizando las estructuras de las moléculas antes mencionadas se intuye que el valor de potencial más alto obtenido para linifanib se debe al grupo indazol ya que es el que tiene mayor número de átomos de nitrógenos unidos a la estructura, los cuales lo hacen ser más propenso a ceder electrones que las demás estructuras, esto se puede corroborar con la función de Fukui negativa (Fig. 7), donde la zona propensa a reaccionar para ceder electrones se localiza en estos átomos. Por otro lado, analizando la estructura de sorafenib se observa que cuenta con la mayor cantidad de átomos halógenos unidos a su estructura, los cuales la estabilizan, haciendo que la molécula no pueda donar electrones con facilidad.

6.2.1.2. Dureza

El índice de dureza (η) da idea de la reactividad intrínseca de las moléculas, ya que a partir de Principio del Máxima Dureza [53] se puede establecer que los sistemas con una dureza alta tenderán a ser menos reactivos, mientras que los que presenten una dureza baja tendrán una mayor reactividad. En la Tabla 4 se presentan los valores de dureza para las estructuras antiangiogénicas. La mayoría de las moléculas de estudio tienden a ser más estables en disolución (Fig. 5). Sorafenib es la estructura más estable, siendo consistente con su valor de potencial químico obtenido en la cual se reflejó que la molécula no tiende a ceder sus electrones debido a que es estabilizada por los átomos de halógeno en su estructura. En fase disolución, vatalanib presenta la reactividad más alta, si tomamos en cuenta el IC50, se observa que esta también tiene el IC50 mas alto, por lo que podemos concluir que una reactividad alta de la molécula no garantiza una mayor eficacia. Por otro lado, una reactividad baja tampoco es una mejor opción, puesto que se observa que también sorafenib tiene un IC50 alto.

Tabla 4. Propiedades estructurales y electrónicas de las estructuras antiangiogénicas.

Fármaco	Fase gaseosa			Fase acuosa		
	μ (eV)	η (eV)	ω (Ev)	μ (eV)	η (eV)	ω (Ev)
Motesanib	-3.553	2.067	3.054	-3.523	2.156	2.879
Axinitinib	-3.664	2.120	3.165	-3.707	2.096	3.279
Sorafenib	-3.930	2.600	2.971	-3.788	2.451	2.927
Sunitinib	-3.878	1.747	4.303	-3.775	1.751	4.070
Tivozanib	-3.603	2.182	2.975	-3.623	2.417	2.715
Vandetanib	-3.352	2.145	2.620	-3.388	2.246	2.556
Linifanib	-3.139	2.250	2.189	-3.232	2.261	2.310
Pazopanib	-3.347	2.280	2.456	-3.704	2.214	3.099
Semaxanib	-3.592	1.714	3.765	-3.461	2.326	2.575
Vatalanib	-3.922	1.980	3.884	-3.627	1.710	3.847

6.2.1.3. Electrofilicidad

El índice de electrofilicidad (ω) es una medida de la estabilización energética del sistema cuando se satura de electrones que provienen del medio externo, éste puede ser usado para

describir la nucleofilia y electrófilia de un sistema. En la Tabla 4 se muestran los valores del índice de electrofilicidad (ω) a nivel B3LYP notándose que éstos son muy variantes para las estructuras estudiadas, presentando valores desde 4.3eV a 2.1eV para sunitinib y linifanib respectivamente, lo cual está en total acuerdo con el potencial químico calculado considerándose a linifanib como la estructura con el mayor poder nucleofílico (Fig. 6).

Entre los diversos descriptores moleculares globales y locales, el índice de electrofilicidad (ω) es el parámetro más adecuado para evaluar la toxicidad [54] y de acuerdo a esto sunitinib es la molécula cuya citotoxicidad es mayor dentro del grupo de estudio. Lo anterior puede atribuirse a que ésta cuenta con la peculiaridad de tener una ramificación en su estructura, que parece ser que crea un efecto que desestabiliza a la molécula, ocasionando que la molécula no pueda donar electrones con facilidad. Por lo que una estructura parecida a dicha molécula tenderá a un aumento de toxicidad según lo establecido por Parthasarathi et al [55-57]. Se puede considerar lo mismo para vatalanib, puesto que su estructura difiere de las demás y tiene un IC50 alto, además de ser la segunda molécula más reactiva.

Los valores de los descriptores globales no se relacionaron con el IC50, debido a que no guardaron una relación directa o inversamente proporcional.

Fig.4 Potencial químico (μ) calculada teóricamente de las estructuras antiangiogénicas

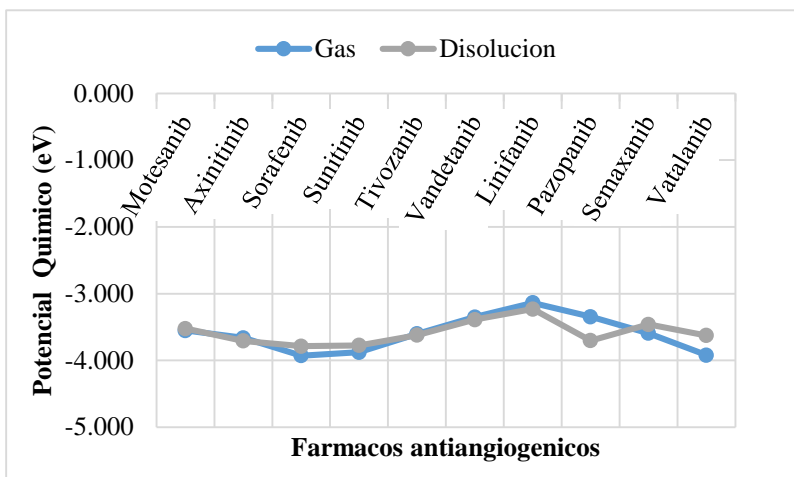


Fig. 5 Dureza molecular calculada teóricamente de las estructuras antiangiogénicas

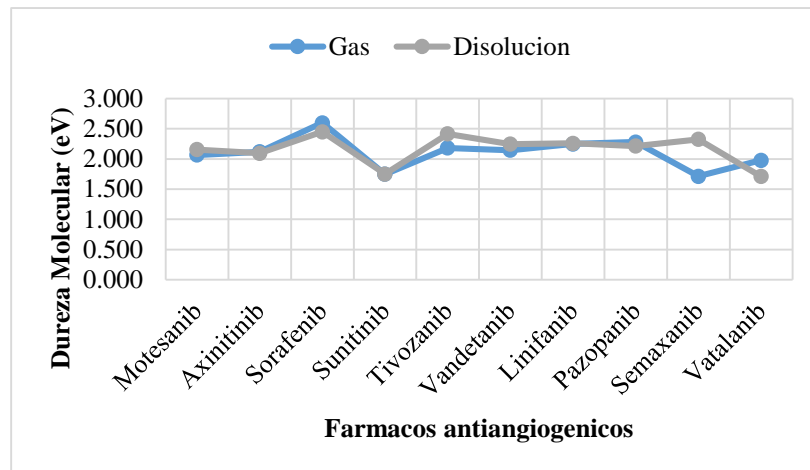
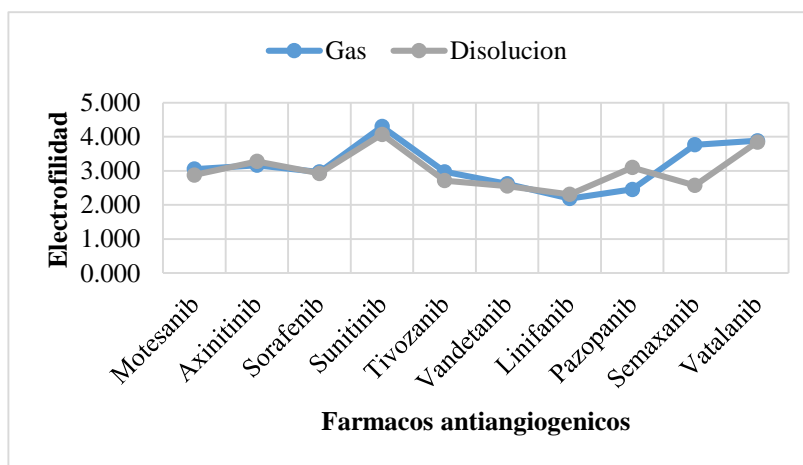


Fig.6 Índice de electrofiliidad calculada teóricamente de las estructuras antiangiogénicas



6.2.2. Propiedades locales

6.2.2.1 Función de Fukui

La función de Fukui (f_k) es una herramienta para medir la reactividad local intrínseca de una molécula, permitiendo establecer zonas donde puede ocurrir un ataque electrófilico o nucleófilico, (f_k^+ , f_k^-), respectivamente. Los valores de la función de Fukui se calcularon a partir de las cargas condensadas y densidades, siendo un mejor descriptor el último, ya que los resultados de las cargas condensadas no permitieron describir de manera adecuada la reactividad de los sistemas en estudio. Los cálculos de las funciones de densidad presentan en la Fig. 7. Las zonas con mayor reactividad se presentan en los anillos de los sistemas moleculares, siendo consistente para un ataque nucleófilico y electrófilico para la mayoría de las moléculas, excepto para sorafenib, motesanib y pazopanib en las cuales los ataques están ubicados en diferentes regiones. Por otra parte, la electronegatividad de los átomos como el oxígeno y los halógenos no participan directamente en la reactividad de las moléculas, sin embargo es importante para la polaridad de las mismas.

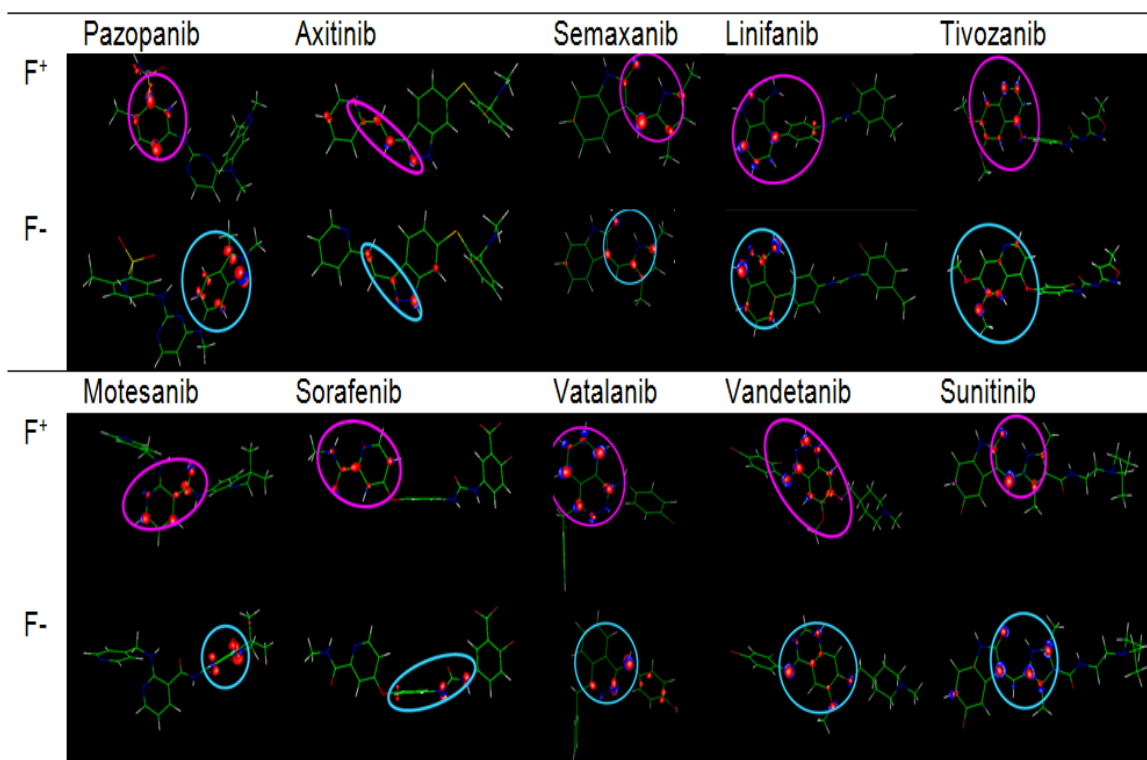
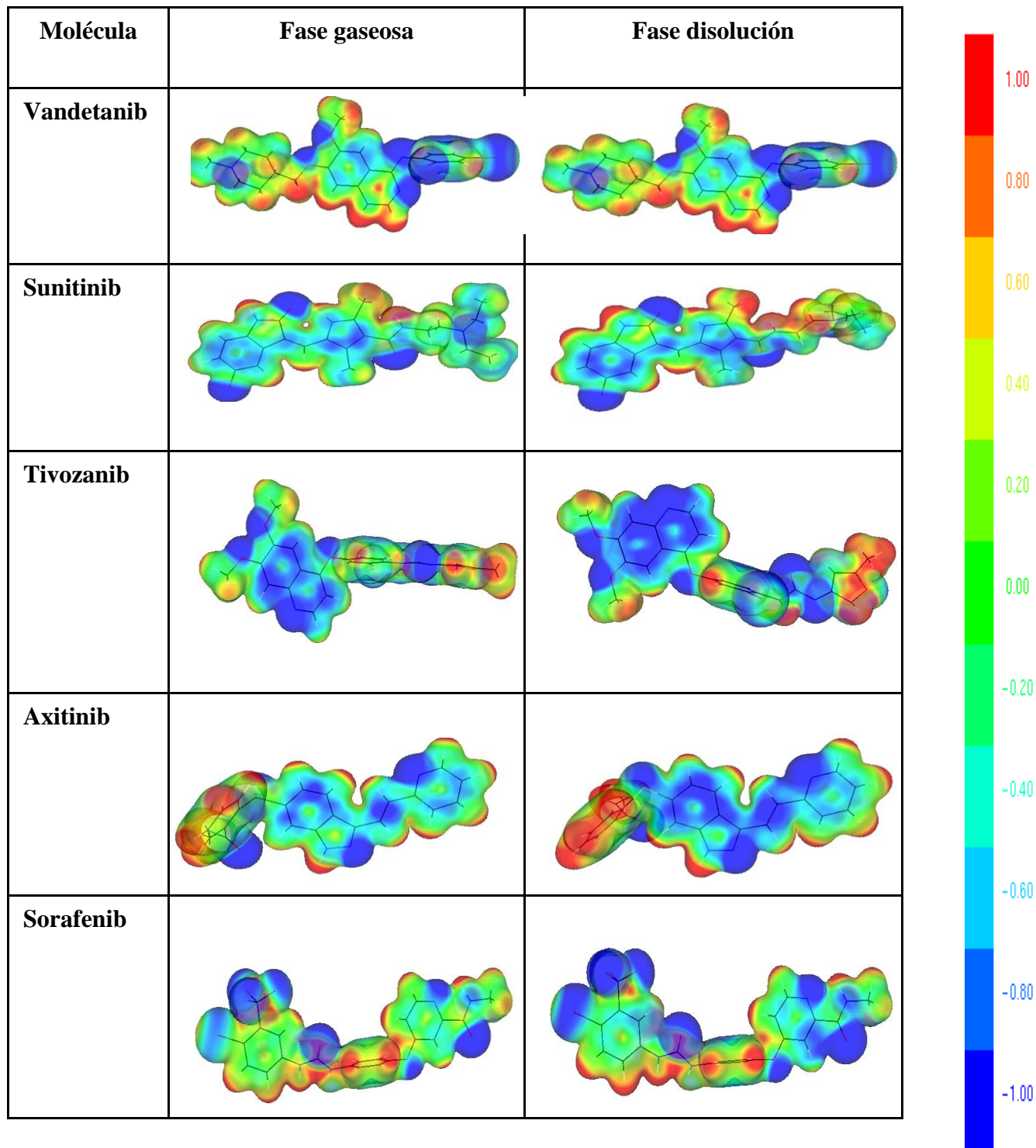
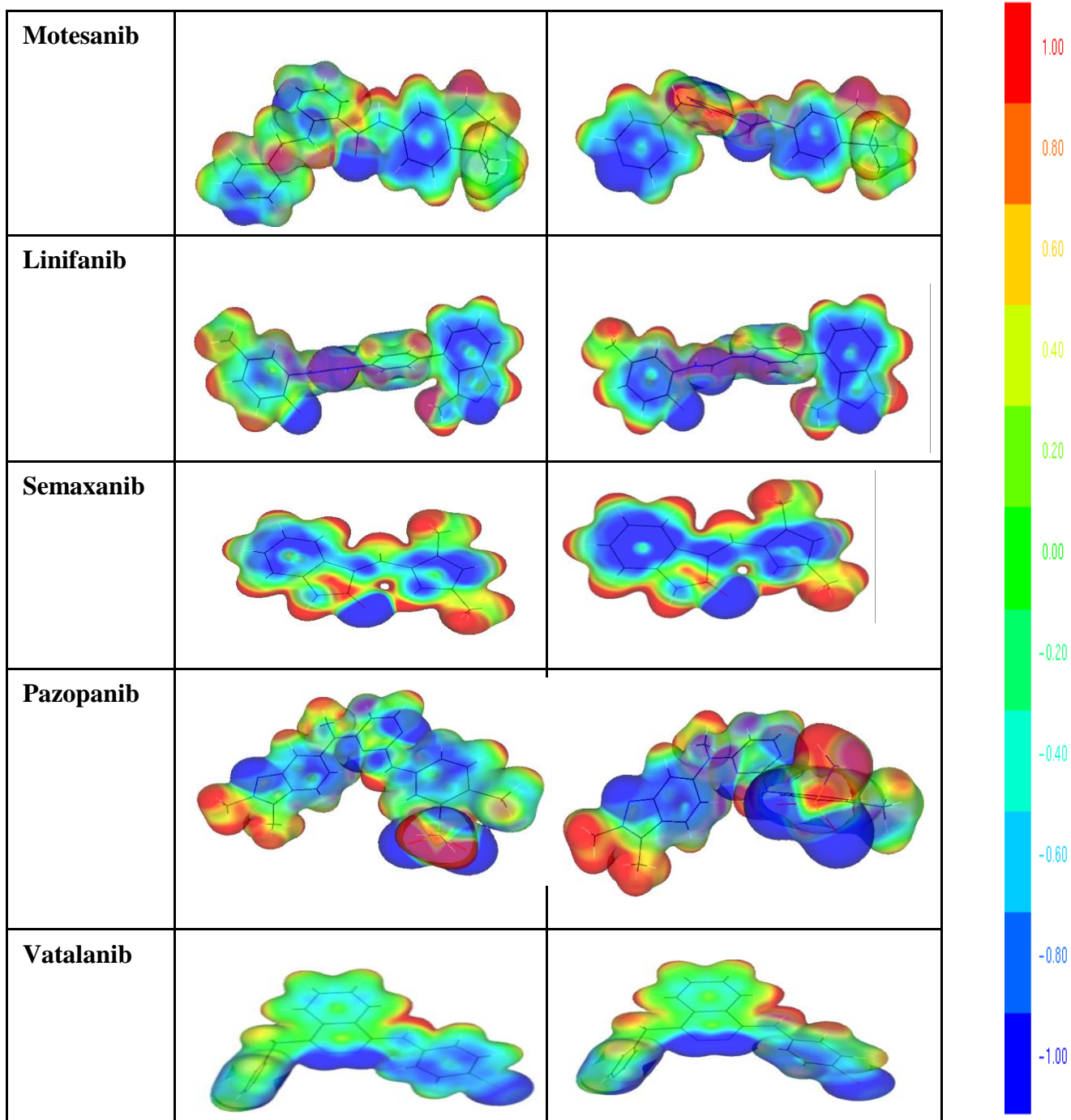


Fig.7 Funciones de Fukui de las estructuras antiangiogénicas en estudio.

Al evaluar la reactividad química con los mapas de potencial electrostático obtenidos a nivel de teoría B3LYP (Fig. 6), los resultados obtenidos en fase gaseosa como en fase disolución reflejaron las partes electrofílicas y nucleofílicas de las moléculas en estudio. El cambio de naturaleza del ligando en disolución provee de más regiones positivas y negativas a la molécula, lo que aumenta el número de sitios de interacción con el receptor VEGF, siendo el grupo indazol que se encuentra interaccionando con el disolvente el que aumenta la densidad electrónica. Lo anterior concuerda con las funciones de Fukui determinadas, donde las cargas se localizan en regiones específicas cuando la molécula se encuentra en disolución, dichas regiones determinadas son fundamentales para el efecto farmacológico de la molécula y para el diseño de otras estructuras con mejor eficiencia terapéutica.

Fig. 6. Mapas de potencial electrostático





Azul: zona rica en electrones; Roja: zona deficiente de electrones; Verde: zona neutral.

7. CONCLUSIONES

A lo largo de este trabajo se generaron numerosas aportaciones tanto para la parte teórica como para la parte experimental. Así, las conclusiones que se pueden extraer de esta tesis son las siguientes:

El método Hartree Fock permitió hacer una descripción adecuada de las geometrías de las moléculas estudiadas, ya que los parámetros geométricos obtenidos resultaron muy cercanos a los datos experimentales, respecto a los obtenidos con los funcionales B3LYP y M06.

El momento dipolar con el método HF establece una relación directamente proporcional con la concentración media máxima inhibitoria (IC50)

Los descriptores de la reactividad global y local permitieron realizar un análisis adecuado del comportamiento químico de las moléculas, lo cual es fundamental para diseñar nuevas rutas sintéticas y comprender los mecanismos de acción de este tipo de fármacos.

No se puede establecer ninguna relación entre la toxicidad y los descriptores globales, debido a que no existe relación directa con el IC50.

Para todas las moléculas antiangiogénicas, la función de Fukui permitió describir que la zona estructural más importante fue el grupo indazol, lugar donde se puede llevar a cabo un ataque electrófilico o nucleófilico, asimismo este es un lugar clave para el diseño de nuevos fármacos antiangiogénicos.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Levine, I.N. Quantum chemistry. Prentice Hall: New Jersey, 1991.
2. Lewars, E. Computational chemistry. Introduction to the theory and applications of molecular and quantum mechanics, 2nd ed., Springer, 2011.
3. Heppner, G. Tumor heterogeneity. *Cancer Res.* 1984, 44. 2259–2265.
4. Lee, H. Molecular and cellular aspects of tumor cell invasion. *Nat. Med.* 2000, 5. 167-170.
5. Eichhorn, M., Kleespies, A., Angele, M., Jauch, K., Bruns, C. Angiogenesis in cancer: molecular mechanisms, clinical impact. *Springer.* 2007, 392. 371–379.
6. Schenone, S., Bondavalli, F., Botta, M. Antiangiogenic agents: an update on small molecule VEGFR inhibitors. *Curr. Med. Chem.* 2007, 14. 2495–2516.
7. Gille, J., Heidenreich, R., Pinter, A., Schmitz, J., Boehme, B., Hicklin, D. J., Henschler, R., Breier, G. Simultaneous blockade of VEGFR-1 and VEGFR-2 activation is necessary to efficiently inhibit experimental melanoma growth and metastasis formation. *Int. J. Cancer.* 2007, 120. 1899–908.
8. Manley, P. W., Bold, G., Bruggen, J., Fendrich, G., Furet, P., Mestan, J., Schnell, C., Stolz, B., Meyer, T., Meyhack, B., Stark, W., Strauss, A., Wood, J. Advances in the structural biology, design and clinical development of VEGF-R kinase inhibitors for the treatment of angiogenesis. *Biochim. Biophys. Acta* 2004, 1697. 17–27.
9. Kerbel, R., Folkman, J. Clinical translation of angiogenesis inhibitors. *Nat. Rev. Cancer* 2002, 2. 727–739.
10. Cheng, H., Force, T. Molecular mechanisms of cardiovascular toxicity of targeted cancer therapeutics. *Circ. Res.* 2010, 106. 21–34.
11. Jain, R. K., Duda, D. G., Clark, J. W., Loeffler, J. S. Lessons from phase III clinical trials on anti-VEGF therapy for cancer. *Nat. Clin. Pract. Oncol.* 2006, 3. 24–40.
12. Folkman, J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N. Engl. J. Med.* 1971, 285. 1182–1186.
13. Semenza, G. Angiogenesis in ischemic and neoplastic disorders. *Annual Rev. Med.* 2003, 54. 17-28

14. Carmeliet, P., Jain, R. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000, 407. 249-257.
15. Zetter, B. Angiogenesis and tumor metastasis. *Annual Rev. Med.* 1998, 49. 407-424.
16. Leung, D. W., Cachianes, G., Kuang, W. J., Goeddel, D. V., Ferrara, N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*. 1989, 246. 1306–1309.
17. Holmes, K., Roberts, O. L., Thomas, A. M., Cross, M. J. Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition. *Cell. Signalling*. 2007, 19. 2003–2012.
18. Ferrara, N. Role of vascular endothelial growth factor in physiologic and pathologic angiogenesis: therapeutic implications. *Semin. Oncol.* 2002, 29. 10-14.
19. Bruce, D., Tan, P. H. Vascular endothelial growth factor receptors and the therapeutic targeting of angiogenesis in cancer: *Cell Commun. Adhes.* 2011, 18, 85–103.
20. Ferrara, N., Gerber, H.P., LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat. Med.* 2003, 9. 669-676.
21. Dvorak, H.F. Angiogenesis: update 2005. *J. Thromb. Haemost.* 2005, 3. 1835-1842.
22. Holmes, K., Roberts, O. L., Thomas, A. M., Cross, M. J. Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition. *Cell. Signalling* 2007, 19. 2003–2012.
23. Morabito, A., De Maio, E., Di Maio, M., Normanno, N., Perrone, F. Tyrosine kinase inhibitors of vascular endothelial growth factor receptors in clinical trials: current status and future directions. *Oncologist* 2006, 17. 753–764.
24. Du J., Lei B., Qin J., Liu H., Yao X. *J Mol Graph Model.* 2009, 27:642–654
25. Berman, H.M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T.N., Weissig, H., Shindyalov, I.N., Bourne, P.E. The protein data bank nucleic acids research. *Nucleic Acids Res.* 2000, 28. 235–242.
26. Remko, M., Bohac, A., Kovacikova, L. Molecular structure, pKa, lipophilicity, solubility, absorption, polar surface area, and blood brain barrier penetration of some antiangiogenic agents. *Struct. Chem.* 2011, 22. 635–648.

27. Born, M., Oppenheimer, J.R. Zur Quanttheorie der Moleculen Annual Phys. 1927, 389. 457-484.
28. Leach, A.R. Molecular modelling. Principles and applications. Pearson Education. 2001.
29. Jensen, F. Introduction to computational chemistry. 2nd. Ed. John Wiley & Sons. 2007.
30. Cramer, C. J. Essentials of computational chemistry. Theories and models. John Wiley & Sons. 2004.
31. Hohenberg, P., Kohn, W. Inhomogenous electron gas. Phys. Rev. 1964, 136. B864-B871.
32. Curtiss, L. A., Raghavachari, K., Pople, J. A. Gaussian-3 theory using density functional geometries and zero-point energies. J. Chem. Phys. 1999, 110. 7650-7657.
33. Kohn, W., Sham, L.J. L. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. Phys. Rev. 1965, 140. A1133-A1138.
34. Moens, J., Geerlings, P., Roos, G. A conceptual DFT approach for the evaluation and interpretation of redox potentials. Chem. Eur. J. 2007, 13. 8174-8184.
35. De Vleeschouwer, F., Van Speybroeck, V., Waroquier, M., Geerlings, P., De Proft, F. Electrophilicity and nucleophilicity index for radicals. Org. Lett. 2007, 9. 2721-2724.
36. Chermette, H. Chemical reactivity indexes in density functional theory J. Comput. Chem. 1999, 20. 129-154.
37. Parr, R. G. Density-Functional Theory of Atoms and Molecules. Oxford University Press. Clarendon Press: New York. 1994.
38. Lackner, K. S., Zweig, G. Phys. Rev. 1987, 36. 1562-1569. Introduction to the chemistry of fractionally charged atoms: Electronegativity
39. Maynard, A. T., Huang, M., Rice, W. G., Covell, D. G. Reactivity of the HIV-1 nucleocapsid protein p7 zinc finger domains from the perspective of density-functional theory. PNAS 1998, 95, 11578-11583.

40. Parr, R.G., Yang, W. Density Functional - Approach to the Frontier-Electron Theory of Chemical Reactivity. *J. Am. Chem. Soc.* 1984, 106. 4049-4050.
41. Dronskowski, R. Theoretical Increments and Indices for Reactivity, Acidity, and Basicity within Solid-State Materials. *J. Am. Chem. Soc.* 1992, 114. 7230-7244.
42. Yang, W., Mortier, W.J. The Use of Global and Local Molecular Parameters for the Analysis of the Gas-phase Basicity of Amines. *J. Am. Chem. Soc.* 1986, 108. 5708-5711.
43. Galembeck, S. E., Caramori, G. F. Qual o Sítio de Reação? Um Experimento Computacional. *Quim. Nova.* 2003, 26. 957-959
44. Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., Scalmani, G., Barone, V., Mennucci, B., Petersson, G. A., Nakatsuji, H., Caricato, M., Li, X., Hratchian, H. P., Izmaylov, A. F., Bloino, J., Zheng, G., Zheng, G., Sonnenberg, J. L., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Vreven, T., Montgomery, J. A., Jr., Peralta, J. E., Ogliaro, F., Bearpark, M., Heyd, J. J., Brothers, E., Kudin, K. N., Staroverov, V. N., Kobayashi, R., Normand, J., Raghavachar, K., Rendell, A., Burant, J. C., Iyengar, S. S., Tomasi, J., Cossi, M., Rega, N., Millam, J. M., Klene, M., Knox, J. E., Cross, J. B., Bakken, V.; Adamo, C., Jaramillo, J., Gomperts, R.; Stratmann, R. E., Yazyev, O., Austin, A. J., Cammi, R., Pomelli, C., Ochterski, J. W., Martin, R. L., Morokuma, K., Zakrzewski, V. G., Voth, G. A., Salvador, P., Dannenberg, J. J., Dapprich, S.; Daniels, A. D., Farkas, O., Foresman, J. B., Ortiz, J. V., Cioslowski, J., Fox, D. J. *Gaussian 09, Revision A.02.*, Junio 11, 2009.
45. Becke, A.D. Density-Functional Thermochemistry. III. The Role of Exact Exchange *J. Chem. Phys.* 1992, 98. 5648-5652.
46. Lee, C., Yang, W., Parr, R.G. Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron Density. *Phys. Rev. B.* 1988, 37. 785-789.
47. Burke, K. J. Perspective on density functional theory. *Chem. Phys.* 2012, 136.
48. Carloni, P., Alber, F., Mannhold, R., Kubinyi, H., Folkers, G. Quantum Medicinal Chemistry. *J. Am. Chem. Soc.* 1983, 105. 7512-7516.
49. Parr, R. G., Pearson, R. G. Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity *J. Am. Chem. Soc.* 1983, 105. 7512-7516.

50. Geerlings, P., De Proft, F., Langenaeker, W. Conceptual Density Functional TheorChem. Rev. 2003, 103. 1793-1874.
51. Parr, R.G., Yang, W. Functional Theory of Atoms and Molecules. Oxford University Press, New York. 1989.
52. Zhang, J., Yang, P., Gray, N., Sarkar, U., Padmanabhan, J., Parthasarathi, R., Subramanian, V., Chattaraj, P.K. Targeting cancer with small molecule kinase inhibitors. J. Mol. Struct. Theochem. 2006,758. 119–125.
53. Pearson, R.G. Chemical Hardness: Applications from Molecules to Solids. Wiley-VCH Verlag GMBH, Weinheim. 1997.
54. Sarkar, U., Padmanabhan, J., Parthasarathi, R., Subramanian, V., Chattaraj, P. K. Toxicity analysis of polychlorinated dibenzofurans through global and local electrophilicities. J. Mol. Struct. Theochem. 2006, 758. 119–125.
55. Parthasarathi, R.; Padmanabhan, J.; Subramanian, V.; Maiti, B.; Chattaraj, P. K. Chemical Reactivity Profiles of Two–Selected Poly Chlorinated Biphenyls J. Phys. Chem. A 2003, 107. 10346. 10352.
56. Parthasarathi, R.; Padmanabhan, J.; Subramanian, V.; Sarkar, U.; Maiti, B.; Chattaraj, P. K. Benzidine Through Chemical Reactivity and Selectivity Profiles: A DFT Approach. Internet Electron. J. Mol. Des. 2003, 2. 798-813.
57. Roy D. R.; Parthasarathi R., Maiti B.; Subramanian V.; Chattaraj P.K. Electrophilicity as a possible descriptor for toxicity prediction Bioorganic & Medicinal Chemistry 2005,13. 3405–3412.