

## ESTUDIO DE LA ADSORCIÓN DE DACARBAZINA EN GRAFENO, PRÍSTINO Y FUNCIONALIZADO CON EL GRUPO CARBOXILO: DEPENDENCIA DEL pH

### STUDY OF DACARBAZINE ADSORPTION ON GRAPHENE, PRISTINE AND FUNCTIONALIZED WITH THE CARBOXYL GROUP: pH DEPENDENCE

**Gabriel Román<sup>a,b</sup>, Gabriela Dodero<sup>b</sup>, Emilia Nosedá Grau<sup>a,b</sup> y Sandra Simonetti<sup>a,b</sup>**

*<sup>a</sup>Universidad Tecnológica Nacional (UTN), 11 de Abril 461, B8000LMI - Bahía Blanca, Argentina.*

*<sup>b</sup>Instituto de Física del Sur (IFISUR), Departamento de Física, Universidad Nacional del Sur (UNS), CONICET, Av. L. N. Alem 1253, B8000CPB - Bahía Blanca, Argentina.*

**Palabras clave:** Adsorción, funcionalización, DFT, liberación controlada.

**Resumen.** En este trabajo estudiamos la adsorción de la molécula dacarbazina en grafeno, prístino y funcionalizado con el grupo carboxilo, utilizando el programa Vienna Ab-initio Simulation Program (VASP). Se observan interacciones débiles entre el fármaco dacarbazina y la superficie de carbono prístina que limitarían considerablemente la eficacia de su administración. Sin embargo, la superficie de carbono funcionalizada con carboxilo tiene un efecto significativo sobre la adsorción de dacarbazina a pH neutro y ácido. Las superficies de carbono funcionalizado con carboxilo podrían mejorar la administración del fármaco dacarbazina adaptándose al requerimiento de la terapia de acuerdo al pH.

**Keywords:** Adsorption, functionalization, DFT, drug delivery

**Abstract.** In this work we study the adsorption of the dacarbazine molecule on graphene, pristine and functionalized with the carboxyl group, using the Vienna Ab-initio Simulation Program (VASP). Weak interactions were observed between the drug and the pristine carbon surface that would limit the efficacy of its administration. However, the carboxyl-functionalized carbon surface has a significant effect on dacarbazine adsorption at neutral and acid pH. Carboxyl-functionalized carbon surfaces could improve dacarbazine drug delivery by adapting to the therapy requirement according to pH.

## 1 INTRODUCCIÓN

La dacarbazina [5- (3,3-dimetiltriazeno) imidazol-4carboxamida] es un derivado de la imidazolcarboxamida, estructuralmente correlacionado con las purinas. Es un miembro de la clase de agentes alquilantes, que destruyen las células cancerosas al agregar un grupo alquilo ( $C_nH_{2n+1}$ ) a su ADN. La dacarbazina pertenece a la familia de los compuestos triazenos y el sitio activo de estos compuestos está representado por el grupo triazenilo, es decir, tres átomos de nitrógeno adyacentes son responsables de las propiedades químicas, físicas y antitumorales de la molécula (Marchesi et.al. 2007). Después de la activación metabólica, la dacarbazina ataca el ADN y alquila las bases, evitando así la multiplicación de las células tumorales de rápido crecimiento (Sanada et. al.2004).

Debido a los efectos secundarios tóxicos de la mayoría de los fármacos terapéuticos, es crucial desarrollar fármacos dirigidos a las células en portadores adecuadamente diseñados. Los materiales de carbono son requeridos para un número creciente de aplicaciones. La función se establece por su textura y química superficial (Rodríguez-Reinoso 1998). La porosidad y la superficie resultante hacen que este material sea útil para la adsorción de una amplia variedad de moléculas (Wigmans 1986; Nielsen et. al.2014). Una estrategia propuesta para crear portadores con nuevos perfiles farmacológicos es mediante la modificación de la química de la superficie del carbono a través de la funcionalización (Zhi y Liu 2016).

En el presente trabajo, estudiamos una superficie de carbón activado como portador del fármaco dacarbazina. Los métodos basados en la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) pueden aportar aspectos importantes al proporcionar detalles atómicos de la dacarbazina adsorbida en la superficie del carbono. En consecuencia, se analizan la capacidad de las superficies de carbón activado prístina y funcionalizada con el grupo carboxilo (-COOH) para adsorber al fármaco. Se calculan las diferentes geometrías (relajadas) para la molécula de dacarbazina neutra adsorbida en carbón activado prístino. Para la configuración óptima, se calcula la energía para las especies de dacarbazina protonada y desprotonada. Luego, se funcionaliza la superficie con el grupo carboxilo y se evalúa el comportamiento de adsorción de las distintas especies a diferentes pH.

## 2 METODOLOGÍA Y MODELO

Los cálculos DFT se realizaron con el programa Viena Ab initio Simulation Package (VASP), que utiliza una base de ondas planas y un método de supercelda periódica (<https://www.vasp.at/>). Las interacciones de van der Waals se consideraron mediante el método DFT-D2 de Grimme. Se empleó el método de PAW (Projector-augmented wave) para las interacciones iónicas, mientras que los efectos de intercambio y correlación fueron calculados con la aproximación del gradiente generalizado (GGA), utilizando el funcional desarrollado por Perdew – Burke – Ernzerhof (PBE). Se obtuvieron optimizaciones de la geometría minimizando la energía total de la celda, utilizando un algoritmo de gradiente conjugado para relajar los iones. Las cargas electrónicas en los átomos se calcularon utilizando el análisis de Bader.

Como base para la discusión de la estructura del carbón activado, es apropiado considerar la estructura del grafito ideal en el sentido que se aproxima mucho a la unidad estructural básica tanto del carbón activado como del carbón negro (Walker 1962). La estructura del grafito ideal puede observarse en la Fig.1. Esta estructura está compuesta por un sistema de infinitas capas de hexágonos fusionados. Dentro de cada capa, la distancia del enlace carbono-carbono es 1.415 Å, lo que indica un tercio de carácter de doble enlace. Tres de los cuatro electrones del carbono forman enlaces covalentes

regulares con átomos vecinos y están localizados, mientras que el cuarto resuena entre varias estructuras de enlaces de valencia, dando a cada enlace carbono-carbono un carácter de enlace doble de un tercio. Las fuerzas de van der Waals relativamente débiles actúan entre las capas paralelas para mantener la distancia de separación en aproximadamente 3.35 Å. Las capas de carbono forman una secuencia de apilamiento a-b-a-b-a-b en la que la mitad de los átomos de carbono en cualquier plano se encuentran por encima del centro de los hexágonos en la capa inmediatamente debajo de ella. Los átomos de carbono se superponen directamente en capas alternas. La disposición de los átomos de carbono en los espectros de difracción de cristal de grafito obtenidos para la mayoría de los grafitos naturales indica que esta configuración estructural es de hecho predominante (Walker 1962).

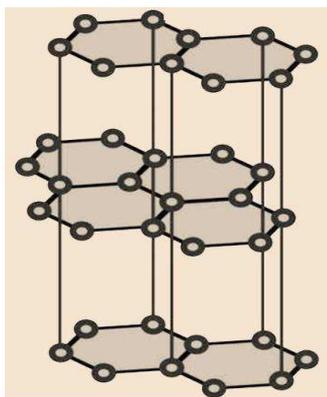


Figura 1: El arreglo de átomos de carbono en el cristal de grafito.

Hemos modelado la superficie con una celda de cinco capas de espesor. El espacio de vacío entre dos celdas repetidas es de 11 Å. Se utilizó un conjunto de puntos k de Monkhorst-Pack 3x3x1 para la Zona Brillouin. Durante la optimización, se permitió que la especie adsorbida y las tres primeras capas superficiales se relajaran. Se utilizó un límite de energía cinética de 400 eV para todos los cálculos de convergencia de la energía.

### 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se calcularon las diferentes geometrías relajadas para la molécula de dacarbazina neutra adsorbida en la superficie del carbón activado. La configuración óptima se muestra en la Fig. 2. La geometría más estable corresponde a una energía de  $-0.77$  eV. La molécula se adsorbe de forma cuasiplanar en la superficie del carbono, con el átomo de oxígeno apuntando hacia la superficie. La molécula está unida a la superficie del carbono por fuerzas de atracción de van der Waals. Estas fuerzas intermoleculares son débiles. En general, las fuerzas de interacción débiles dependen radicalmente de la distancia; la fuerza de interacción disminuye a medida que aumenta la distancia del fármaco a la superficie mientras se produce la adsorción física (Koehlert 2017). Por lo tanto, las interacciones débiles generadas entre la dacarbazina y la superficie de carbono prístino limitarían considerablemente la eficacia del tratamiento medicinal.

Es conocido que, dependiendo del pH, los confórmeros o tautómeros distintivos de un fármaco tienen diferente actividad biológica (Balsamo et. al.1979). Nuestro primer objetivo es investigar la estabilidad de los posibles confórmeros del fármaco dacarbazina.

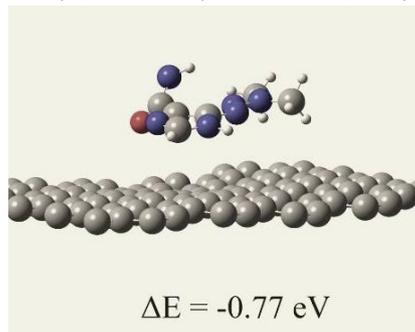


Figura 2: Geometría optimizada del fármaco dacarbazina adsorbido en la superficie de carbón activado prístina.

Las geometrías iniciales utilizadas para la optimización de las estructuras se obtuvieron de los datos de difracción de rayos X (Freeman y Hutchinson 1979). La diferencia entre los distintos conformeros está relacionada con la ubicación del segundo hidrógeno en el anillo de imidazol. En una especie, el nitrógeno protonado del anillo de imidazol es adyacente al grupo triazeno, mientras que en la otra especie es adyacente al grupo carboxamida.

Los cálculos VASP nos permiten explicar en detalle la adsorción de los conformeros de la dacarbazina. La pequeña energía relativa de ambos conformeros apunta a la posibilidad de coexistencia de estas estructuras, por lo que podría esperarse su interconversión estructural ( $\Delta E = -1.11$  eV vs  $-1.03$  eV). La presencia de las diferentes especies moleculares de dacarbazina depende del pH de la solución. Así, al disminuir el valor de pH de la solución predomina la especie protonada, mientras que al aumentar el valor de pH, la especie desprotonada se vuelve predominante (Chis et al. 2016).

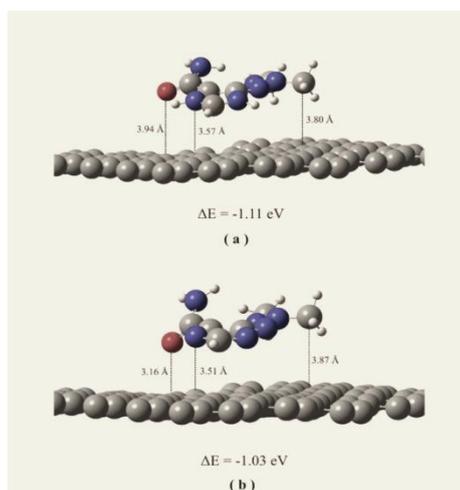


Figura 3: Geometrías optimizadas de las especies de la dacarbazina (a) protonada y (b) desprotonada, adsorbidas en una superficie de carbón activado prístina.

La incorporación de dacarbazina en la estructura del carbón activado funcionalizado con el grupo carboxilo (-COOH) podría permitir futuras aplicaciones en la industria farmacéutica. La dacarbazina es una especie anfótera debido a la presencia de sitios tanto ácidos como básicos en la molécula; por otro lado, el grupo funcional en la superficie se puede protonar/desprotonar con los cambios de pH del medio. La presencia de grupos

carbonilo/amina activos en la molécula y grupos carboxilo en la superficie pueden contribuir a la formación de interacciones fármaco-superficie más favorables.

Las características del material funcionalizado resultante para la potencial adsorción del fármaco se estudiaron calculando las distancias de enlace, la energía de adsorción y prediciendo el comportamiento de liberación de las especies protonada, neutra y desprotonada en las condiciones de pH: ácido, neutro y básico, respectivamente.

A pH bajo, la dacarbazina tiene carga positiva debido a la protonación que experimenta la molécula. La superficie funcionalizada con carboxilo (-COOH) actúa como centro de atracción para la molécula protonada a través de la formación de enlaces hidrógeno e interacciones de tipo electrostáticas, que dan como resultado una menor energía de adsorción ( $\Delta E = -2.91$  eV) con la cual podría esperarse una liberación más controlada (Fig. 4 (a)).

A pH neutro, la molécula se encuentra neutra (Fig. 4 (b)). El proceso de adsorción se produce con un aumento de la energía del sistema ( $\Delta E = -2.06$  eV). Es de esperar en este caso un aumento en la tasa y la cantidad de fármaco liberado atribuido a la disminución de las interacciones electrostáticas entre la dacarbazina neutra y los grupos -COOH en la superficie. A pH básico, la dacarbazina tiene una mayor carga negativa debido a la desprotonación que experimenta la molécula (Fig. 5 (c)). Además, dado que los grupos carboxílicos se ionizan (-COO<sup>-</sup>) a un pH alto, se produce repulsión electrostática entre la molécula desprotonada y el grupo -COO<sup>-</sup> en la superficie; en consecuencia, este proceso presenta la energía de adsorción más alta ( $\Delta E = -0.97$ eV) y es de esperar que la velocidad de liberación del fármaco aumente.

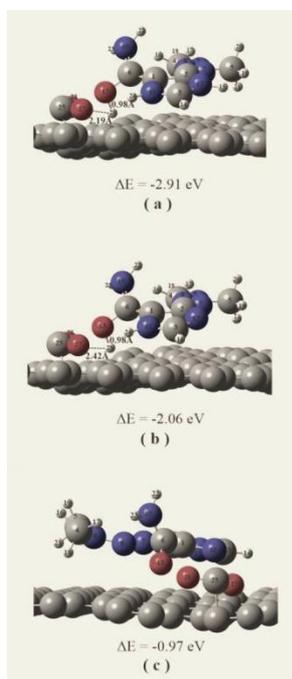


Figura 4: Especies de dacarbazina encontradas a diferentes pH: (a) protonada, (b) neutra, (c) desprotonada, adsorbidas sobre la superficie de carbón activado funcionalizada. Las interacciones puente hidrógeno y la longitud de los enlaces se indican en (a) y (b).

Seleccionamos las geometrías optimizadas para realizar los cálculos de la estructura electrónica (ver Tabla 1; la referencia para los átomos se puede ver en la Fig. 4). Los cálculos muestran que el reordenamiento electrónico en la especie protonada ocurre principalmente en los átomos C4, C5, C6 y N10. Cuando la molécula dacarbazina se

adsorbe en la superficie, estos átomos aumentan su carga; mientras que los átomos C1, N7, N9 y O13 de la dacarbazina disminuyen su carga electrónica a medida que el fármaco se adsorbe en la superficie funcionalizada.

A pH neutro, podemos observar un aumento importante de la carga en los átomos C1, C3, C5, C6, N8, N10 y O13, y una disminución en la carga de los átomos C2 N9 y N11 de la dacarbazina. A pH básico, hay principalmente un aumento de carga en los átomos C1, N9, N11 y N12, y una pérdida de carga electrónica en el átomo N7 de la dacarbazina desprotonada (ver Tabla 1). Se presenta un mayor intercambio de carga cuando se adsorben las especies protonada y neutra sobre la superficie funcionalizada. Esto está de acuerdo con las energías de adsorción más bajas encontradas para estas especies. También hay cambios importantes en los átomos de hidrógeno de la dacarbazina: H15, H18 y H20 en el fármaco protonado; H14, H21 y H22 en la especie neutra; y H14, H18 y H19 en la molécula desprotonada. Estos átomos modifican su carga después de la adsorción contribuyendo principalmente a la estabilización de la dacarbazina en la superficie de carbono funcionalizada.

Los átomos de oxígeno del grupo funcional carboxilo (O26 y O27) aumentan su carga electrónica una vez que el fármaco ha sido adsorbido, mientras que el átomo de carbono (C25) disminuye su carga cuando se adsorbe tanto la especie protonada como la neutra (ver Tabla 1). Por otro lado, se evidencian pocos cambios en el grupo carboxilo cuando la especie desprotonada se absorbe en la superficie funcionalizada.

Los mayores cambios se observan cuando la dacarbazina protonada y neutra se adsorben, de acuerdo con las mejores energías de enlace obtenidas para estos sistemas.

Los resultados muestran que no solo la carga del fármaco debe considerarse como parámetro importante para determinar su capacidad de adsorción en el carbón activado. Dependiendo de la afinidad química entre la especie farmacéutica y la superficie, cambios importantes en la adsorción pueden tener lugar. Por otro lado, este hecho se debe principalmente al grupo oxígeno incorporado a la matriz de carbono a través de la funcionalización. El oxígeno, además de atraer átomos de moléculas polares, también puede reaccionar con grupos funcionales de la molécula, especialmente con carbonilos y aminas, dando lugar a fuertes fuerzas de adsorción. Los grupos funcionales -COOH en la superficie del carbono, que contienen oxígeno, actúan como sitios activos y alteran el equilibrio de electrones de la superficie del carbono. La basicidad y acidez de la superficie del carbono juega un papel importante en las propiedades de sorción. El origen de la basicidad/acidez en las superficies de carbono es un tema de investigación en curso (Tascon 2012).

#### 4 CONCLUSIONES

Las interacciones débiles entre el fármaco dacarbazina y la superficie prístina de carbono limitarían considerablemente la eficacia del tratamiento. Por el contrario, la presencia del grupo funcional carboxilo en la superficie del carbono tiene un efecto significativo en la adsorción del fármaco a pH neutro y ácido. Cuando se funcionaliza la superficie, la molécula se adsorbe más fuertemente en comparación con la adsorción en la superficie de carbono prístina. El cambio en el pH puede causar una desprotonación / protonación de los grupos funcionales amina en la molécula y en el grupo funcional -COOH de la superficie, que conduce a un cambio en la carga de estos grupos. De acuerdo con esto, a pH ácido, el fármaco dacarbazina protonado es atraído por los grupos carboxílicos (-COOH) de la superficie a través de enlaces puente hidrógeno e interacciones electrostáticas, que resultan en la energía de adsorción más baja. A pH

neutro, las interacciones electrostáticas disminuidas entre la molécula neutra y el grupo -COOH causan una disminución en la energía de adsorción. Finalmente, a un pH básico, la fuerte repulsión electrostática entre el fármaco desprotonado y el grupo ionizado (-COO<sup>-</sup>) en la superficie da como resultado la mayor energía de adsorción para el fármaco dacarbazina en la superficie de carbono funcionalizada.

Átomos de dacarbazina	Protonada aislada	Protonada adsorbida	Neutra aislada	Neutra adsorbida	Desprotonada aislada	Desprotonada adsorbida
C1	0.7344	0.8081	1.3557	0.7593	1.5923	1.4912
C2	2.5185	2.4604	2.1935	2.7568	2.6626	2.6415
C3	2.4357	2.3708	2.6651	2.5066	2.6499	2.6983
C4	0.7531	0.6567	0.6945	0.6730	0.6234	0.6271
C5	0.7300	0.6151	0.6518	0.5283	0.5743	0.5224
C6	2.7873	2.1916	2.8316	2.4249	2.8073	2.7548
N7	-1.8097	-1.7394	-1.4421	-1.3803	-1.4030	-1.3250
N8	-0.1506	-0.1312	-0.0483	-0.1676	-0.0626	-0.0736
N9	-1.5840	-1.4034	-1.4364	-1.3191	-1.2666	-1.4124
N10	-3.0695	-3.1542	-3.0082	-3.1044	-2.9891	-2.9768
N11	-2.8988	-2.8613	-2.9976	-2.8341	-2.8984	-2.9387
N12	-2.9226	-2.9708	-2.9375	-2.9881	-2.9678	-3.0422
O13	-1.9165	-1.8534	-1.8597	-1.9502	-1.8310	-1.8453
H14	0.9992	0.9991	0.9993	0.1822	0.1092	0.0474
H15	0.1643	0.2316	-----	-----	-----	-----
H16	0.0271	0.0078	0.0245	0.0191	0.0419	0.0259
H17	0.0445	0.0666	0.0172	0.0374	0.0741	0.0533
H18	0.0527	0.1051	0.0521	0.0735	0.0744	0.1265
H19	0.0384	0.0626	0.0752	0.0785	0.0274	0.0888
H20	-0.0171	0.0397	0.0557	0.0521	0.0374	0.0453
H21	0.0843	0.0835	0.0604	0.1459	0.1454	0.1525
H22	0.9995	0.9994	0.0540	0.9994	0.9995	0.9992
H23	0.9999	0.9999	0.9994	0.9995	0.9996	0.9994
H24	0.9997	1.0000	0.9998	1.0000	-----	-----

Átomos de Carboxilo	Carboxilo aislado	Luego de adsorber la molécula protonada	Luego de adsorber la molécula neutra	Ion hidroxilo aislado	Luego de adsorber la molécula deprotonada
C25	2.5166	2.5667	2.5466	2.5033	2.5029
O26	-1.8111	-1.9999	-2.0230	-2.0017	-2.0146
O27	-1.9271	-2.0228	-1.9915	-2.0121	-2.0079
H28	0.9999	1.0000	1.0000	-----	-----

Tabla 1: Carga parcial en los átomos de la molécula dacarbazina protonada, neutra y desprotonada en la superficie del carbono funcionalizada con carboxilo.

## REFERENCIAS

- Balsamo A., Crotti P., Lapucci A., Macchia B., Macchia F., Del Tacca M., Mazzanti L., Ceserani R., *J. Med. Chem.* 22:738, 1979.
- Chi, s M., Baia M., Cainap C., Chi, s V., *Studia UBB Physica*, 61 (LXI), issue No. 1: 9, 2016.
- Freeman H. C., Hutchinson D., *Acta Crystallogr. B* 35 : 2051, 1979.

- Koehlert K., *Activated Carbon Fundamentals and New Applications*, Chemical Engineering, 2017.
- Marchesi F., Turriziani M., Tortorelli G., Avvisati G., Torino F., De Vecchis L., *Pharmacol. Res.* 56 : 275, 2007.
- Nielsen Lilja, Biggs Mark J., Skinner William, Bandosz Teresa J., *Carbon*, 80: 419, 2014.
- Rodriguez-Reinoso F., *Carbon* 36: 159, 1998.
- Sanada M., Takagi Y., Ito R., Sekiguchi M., *DNA Repair* 3: 413, 2004.
- Tascon J. M. D., *Novel Carbon Adsorbents*, Elsevier, Oxford, 2012.
- Walker P. L. jr., *Am. Sci.* 50: 259, 1962.
- Wigmans T., in *Carbon and Coal Gasification*, edited by Figueiredo J. L. and Moulijn J. A. (Martinus Nijhof Publishers, Dordrecht, The Netherlands) (1986), pp. 559.
- Zhi Y., Liu J., *Chemosphere* 144:1224, 2016.