

El impacto ambiental de los nanomateriales

## *La química como herramienta en* **NANOTOXICOLOGÍA**

En este artículo se hace un repaso de la situación actual de la química y su relación con otras ciencias. Puesto que todo lo que nos rodea está formado por sustancias químicas, podemos afirmar que la química es la ciencia de las cosas cotidianas. Esta característica hace que la química sea esencial para el ser humano, proporcionándole múltiples beneficios. Sin embargo, la imagen de la química frecuentemente está asociada a la contaminación ambiental. Este aspecto es tratado en este artículo, explicando algunas investigaciones con las que la química intenta paliar los problemas medioambientales. También se presentan las relaciones de la química con la biomedicina y la ciencia de los materiales, dos áreas multidisciplinares de cuyos avances dependerá el bienestar de la humanidad. Por último, se resumen algunas características del potencial impacto medioambiental y toxicológico de los nanomateriales y se describen los resultados del proyecto 'Impacto medioambiental de nanomateriales', investigación realizada por nuestro grupo.



Por **BERNARDO HERRADÓN**. Investigador científico del Instituto de Química Orgánica General, CSIC. Madrid. (b.herradon@csic.es). **YOLANDA PÉREZ**. Contratada Dra. de la Universidad Rey Juan Carlos. Madrid. **ENRIQUE MANN**. Contratado del Instituto de Química Orgánica General, CSIC. Madrid.

## La química: algunos conceptos básicos

La química es la ciencia que estudia la composición, estructura, propiedades y transformaciones de la materia, especialmente a nivel atómico y molecular.

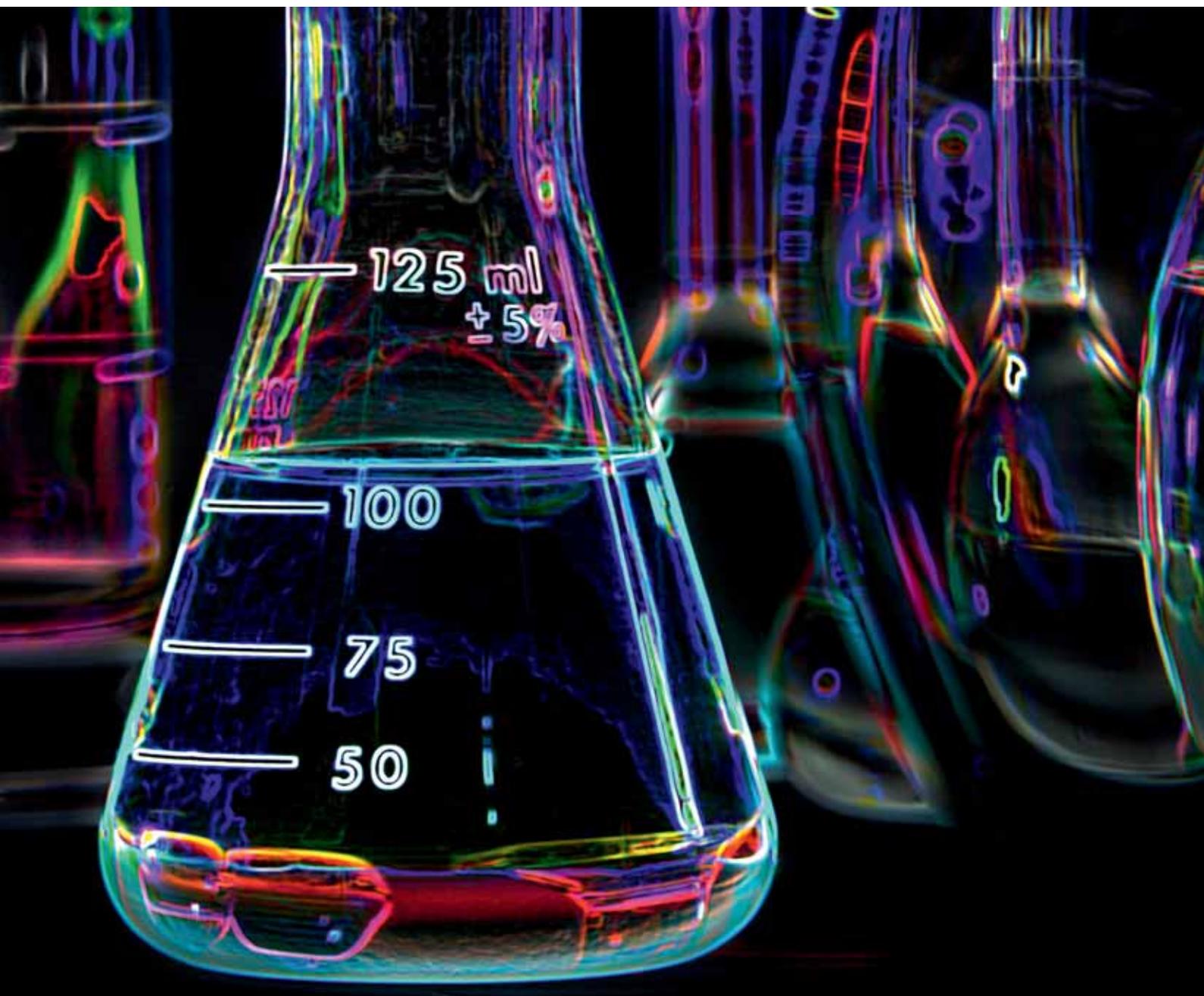
El átomo y la molécula son los principales objetos de estudio de la química. Las transformaciones, o reacciones químicas,

son los procesos en los que una especie química se convierte en otra.

El átomo es la unidad más pequeña de materia que mantiene su identidad y propiedades, y no es posible dividirlo mediante procesos químicos. Un átomo está constituido por un núcleo con carga positiva rodeado de electrones, que son partículas muy pequeñas con carga eléctrica negativa.

El interés de los químicos por los áto-

mos reside en su capacidad de agruparse para formar compuestos químicos y materiales. En la naturaleza no existen átomos aislados (se pueden tener en condiciones extremas o en experimentos muy controlados de laboratorio), y generalmente se combinan entre sí (una excepción la constituye un grupo de elementos químicos, los gases nobles, que tienen poca tendencia a formar compuestos químicos).



Latinstock

Las sustancias químicas deben su existencia a que son estables desde un punto de vista energético (termodinámico). Esta estabilidad se debe a la existencia de enlaces químicos, que se producen cuando dos o más átomos interactúan entre sí, compartiendo electrones o intercambiándolos. Los enlaces pueden ser principalmente de tres tipos: iónico, metálico o covalente.

En el enlace iónico, un átomo cede uno o más electrones a otro u otros átomos. La especie química que se genera por ganancia o pérdida de electrones, respecto al átomo eléctricamente neutro, se denomina ión. Si el átomo pierde electrones se genera un ión positivo o catión y si el átomo gana electrones, se forma un ión negativo o anión. El enlace iónico se produce por la interacción de aniones y cationes.

Los electrones de los elementos metálicos están muy ligeramente unidos a su núcleo y tienen una alta movilidad. Los metales se forman por la unión de muchísimos átomos metálicos que comparten sus electrones de alta movilidad, formando una especie de nube electrónica que es compartida por todos los átomos del metal, lo que constituye el enlace metálico. De esta manera, los electrones pertenecen a más de un átomo y se denominan electrones deslocalizados. Esta movilidad electrónica es la causante de las propiedades eléctricas, magnéticas y térmicas de los metales.

El enlace más común en química es el covalente, que se forma cuando dos átomos (idénticos o distintos) se unen compartiendo electrones. De esta forma se forma la molécula, unidad básica principal de estudio de la química. Por esta razón, la química se ha definido también como la ciencia molecular, aunque esta definición se queda corta en la definición de los límites de la química.

La capacidad de la química para transformar la materia está basada en las



reacciones químicas sufridas por las especies químicas, que transcurren a través de la creación, ruptura y reordenamiento de enlaces, que implica el movimiento de electrones dentro de las especies químicas.

Todo lo que nos rodea en nuestro planeta está constituido por especies químicas (iónicas, metálicas o covalentes). Por eso se puede afirmar que todo es química y que la química es la ciencia central.

### La química, la ciencia central

Las moléculas son herramientas útiles para estudiar procesos y desarrollar teorías en otras áreas científicas, contribuyendo al progreso de otras ciencias. Esta característica hace que la química sea considerada como la ciencia central.

La figura 1 muestra la relación de la química con otras ciencias. La química interactúa con otras ciencias, como la toxicología, la ciencia de los alimentos, las ciencias medioambientales, la ciencia de los materiales, las ciencias agrícolas, la medicina, la nanotoxicología y la física. Se observa que la flecha que une la química con el resto de ciencias tiene su origen en la química. En todas estas ciencias se usan conceptos y métodos de la química (basados en el empleo y manipulación de moléculas) para estudiar fenómenos y/o generar productos de consumo. La flecha que une la física con la química es de doble punta, lo que indica la contribución mutua entre ambas ciencias: la química contribuye con moléculas para realizar experimentos y verificar teorías y la física aporta base conceptual a la química. Finalmente, las aportaciones de la química a las matemáticas son escasas, siendo más importantes las de



Latinstock



Latinstock

estas a aquella, proporcionando una base teórica y métodos numéricos.

Cuando dos áreas distantes interactúan lo tienen que hacer al nivel ínti-

mo del objeto de su estudio, que generalmente suelen ser átomos y moléculas y, por lo tanto, a través de los dominios de la química. Se puede considerar, por ello, que la química es el nexo de unión entre ambas áreas científicas distantes.

Por poner algunos ejemplos, todo lo que comemos es una mezcla de sustancias químicas (ya sean naturales o artificiales), y de esta sinergia entre la ciencia de los alimentos y la química está naciendo una nueva disciplina científica, la gastronomía molecular. Por otro la-

do, la toxicología, y su aplicación en las ciencias medioambientales, deben racionalizar el resultado de un efecto tóxico de una sustancia química en un organismo o en un ecosistema, y para ello deben recurrir a la explicación a través de la interacción entre las biomacromoléculas y la sustancia exógena.

## La ciencia de las cosas cotidianas

Debido a la ubicuidad de las especies químicas, especialmente moléculas, se suele decir que todo es química. Sin embargo, esta definición no es absolutamente correcta, pues existen ciertos fenómenos de la naturaleza (especialmente los que tienen que ver con estructuras enormes, como las galaxias, o con muy altas energías, en los aceleradores de partículas) que quedan fuera del alcance de la química.

Por eso, es más correcto definir la química como la ciencia de las cosas cotidianas, puesto que todos los seres humanos interactuamos con miles de sustancias químicas al día: el aire que respiramos, los alimentos o el agua que ingerimos, el combustible que consumimos, la ropa que vestimos, etc.

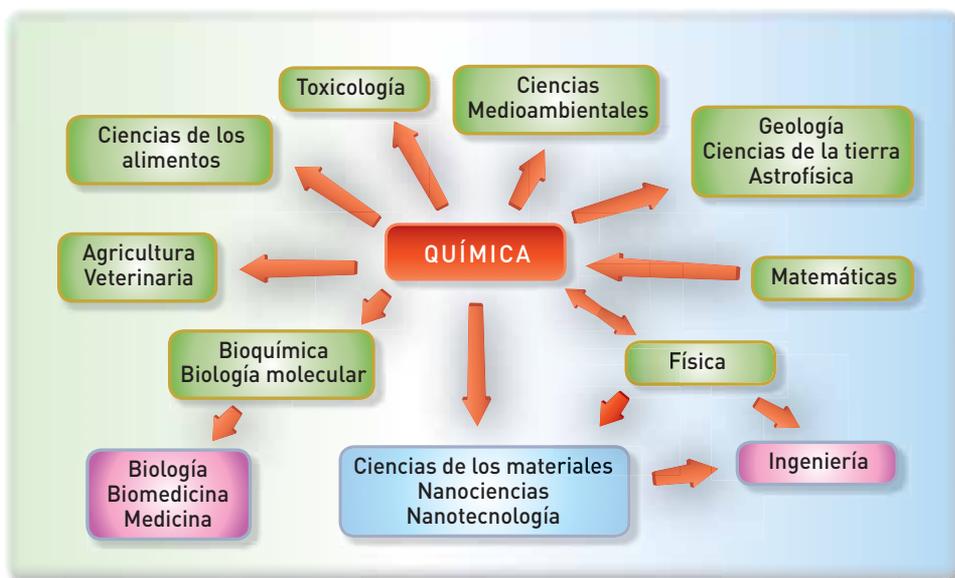


Figura 1. Relación de la química con otras ciencias.

### La química y los beneficios para la sociedad

Actualmente la química beneficia a la sociedad en las siguientes áreas:

- **Salud humana.** Proporcionando medicinas, materiales para diagnóstico y biomateriales variados.
- **Veterinaria.** Con sustancias químicas se cuida la salud de nuestro ganado y animales de compañía.
- **Agricultura.** Los fertilizantes hacen que los campos de cultivo sean más productivos. Los pesticidas, herbicidas y otros productos fitosanitarios protegen las cosechas. Por métodos químicos conocemos la composición de los terrenos cultivables y optimizamos los cultivos de acuerdo con las características del terreno. También por métodos químicos se analizan los productos de las cosechas, contribuyendo a su mejora de calidad.
- **Alimentación.** Debido a la mejora en agricultura y en ganadería no tenemos problemas de producción de alimentos. Los aditivos permiten modificar y mejorar las propiedades de los alimentos.
- **Purificación de agua.** Se consigue con sustancias químicas como el ozono o el dióxido de cloro, que son agentes oxidantes y bactericidas que eliminan las impurezas en el agua. El proceso se completa con una serie de tratamientos químico-físicos como floculaciones o filtraciones a través de membranas, también fabricadas con moléculas.
- **Energía.** Nuestra principal fuente de energía es la combustión de derivados de petróleo y gas natural, que son mezclas de compuestos químicos. La combustión es una reacción química de oxidación. Otra fuente de energía es la electroquímica, donde la energía química de iones es convertida en elec-

tricidad. Este es el fundamento de las pilas y las baterías.

- **Materiales cotidianos.** Todo lo que usamos a diario está formado por sustancias químicas.
- **Materiales tecnológicos.** La química produce moléculas con propiedades eléctricas, magnéticas, ópticas o mecánicas extraordinarias, generando materiales apropiados para aplicaciones tecnológicas diversas, como materiales para aeronáutica, grandes obras de ingeniería, electrónica, computación, etc.
- **Protección ambiental.** No hay que negar que el empleo masivo de sustancias químicas y, especialmente, el excesivo consumo energético, causa deterioro medioambiental. Este es el peaje que tiene que pagar una sociedad tecnológicamente avanzada. La contaminación química es un tema frecuente en los medios de comunicación. Hace unos años no éramos tan conscientes de los peligros medioambientales de muchos compuestos químicos, conocimiento que hemos adquirido por investigaciones realizadas por químicos. Muchos compuestos químicos de amplio uso (por ejemplo, abonos o fármacos) son beneficiosos en nuestra vida cotidiana, pero su utilización debe hacerse de una manera racional y controlada, lo que no siempre ocurre. Si se ponen los medios adecuados, la química puede contribuir a mejorar la situación medioambiental (ver más adelante).

### Relevancia de la contaminación química

Uno de los mayores problemas de la sociedad contemporánea es la contaminación, con implicaciones sanitarias y medioambientales. La llamada contaminación química se refiere a la con-

centración excesiva de sustancias químicas en un ambiente determinado (desde un organismo a un ecosistema) que causa perjuicio. Puesto que todo lo que nos rodea es química, también lo son las sustancias nocivas.

La definición anterior se debe matizar en relación con dos de sus términos relacionados, «concentración» y «perjudicial». La concentración es un concepto fundamental en química y hace referencia a la cantidad de una sustancia presente en un medio determinado (normalmente expresado por su capacidad o volumen, pudiéndolo ser desde un tubo de ensayo a un río, océano o la atmósfera). El impacto social de la contaminación ambiental provoca que noticias donde se informa de cierta cantidad de una sustancia química (fármaco, droga, producto de consumo, producto de transformación, etc.) en un ambiente determinado tengan un gran eco en los medios de comunicación. Generalmente, esta noticia es titulada como «en el



El vertido de residuos tóxicos de aluminio en Hungría, en octubre de 2010, es un ejemplo de las graves afecciones que pueden causar los contaminantes ambientales.

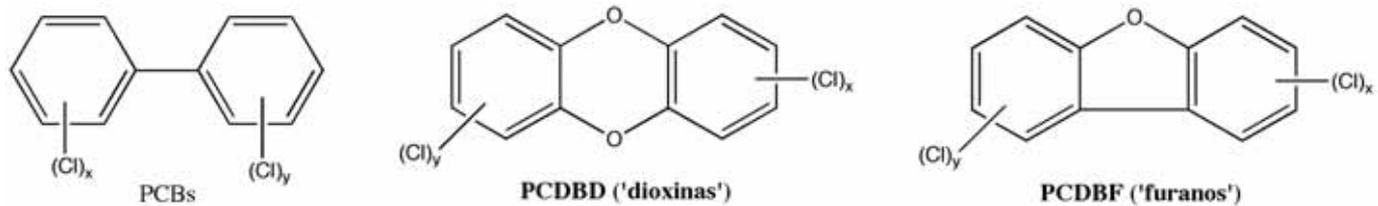


Figura 2. Estructuras químicas de algunos COPs.

sitio  $x$  hay y kg de la sustancia  $z$ ». Esta frase no tiene sentido para los químicos, pues falta el dato fundamental: en qué volumen del sitio  $x$  se ha detectado la sustancia  $z$ , es decir, la concentración.

En segundo lugar, la descripción anterior de contaminación química habla de «perjudicial». Para poder determinar lo perjudicial que es una sustancia química hay que tener información (con datos numéricos) de su actividad biológica<sup>[1]</sup>.

Un objetivo de nuestra investigación es la aplicación del método científico al área de la toxicología y las ciencias ambientales químicas: es decir, conocer la

relación entre la estructura y el efecto tóxico (una actividad biológica), de modo que podamos dar respuesta a los interrogantes planteados anteriormente sobre la «concentración perjudicial».

Cualquier propiedad de una sustancia química depende de su estructura. Un objetivo de esta investigación es obtener información de calidad sobre los efectos tóxicos de las sustancias químicas y relacionarlos con la estructura. Hay tres consecuencias útiles de este tipo de investigación.

Por un lado, si se conoce la biomacromolécula (enzima, receptor, ácido nucleico) con la que interacciona una sustancia química, podemos determinar su efecto tóxico a nivel molecular. Por otro lado, si acumulamos suficiente información entre la estructura y la toxicidad (estudios de «relación estructura-actividad», SAR por sus siglas en inglés), podemos predecir la toxicidad de una sustancia química antes de prepararla. Finalmente, de acuerdo al conocimiento SAR adquirido, podemos encontrar sustancias químicas que pueden sustituir a las actualmente en uso (por ser muy útiles) y con menos efectos tóxicos.

Desde el punto de vista medioambiental, conviene distinguir entre dos tipos de contaminantes químicos que, aparte de sus propiedades físicas, se distinguen también por el medio en el que se encuentran. Por un lado, los gases de efecto invernadero, de los que el  $CO_2$  es su principal exponente. Este problema ambiental está ligado a la excesiva dependencia de la producción de energía

a partir de combustibles fósiles, y debe resolverse a nivel global.

El otro gran tipo de contaminante ambiental son las sustancias de consumo y de transformación. Este tipo de contaminante podemos dividirlo, a su vez, en dos clases dependiendo de su carácter químico: especies metálicas y compuestos orgánicos. La alta concentración de especies metálicas en los ecosistemas es altamente peligrosa (que depende del catión concreto), como se ha comprobado recientemente (otoño de 2010) con el vertido ocurrido en Hungría.

Por otro lado, un grupo muy numeroso y variado lo constituyen los compuestos orgánicos, entre los que cabe mencionar las dibenzodioxinas policloradas («dioxinas»), los dibenzofuranos clorados («furanos»), los bifenilos policlorados (PCBs), los hidrocarburos aromáticos polianulares y los compuestos aromáticos y heterociclos diversos (figura 2). Este grupo de sustancias se denominan genéricamente «contaminantes orgánicos persistentes» (COPs), correspondiendo el término «persistente» al hecho de que permanecen mucho tiempo en el ambiente o en el organismo (se acumulan en ciertos organismos, especialmente en el tejido adiposo)<sup>[2]</sup>.

Si hay pruebas evidentes del impacto negativo para la salud de un compuesto químico, se debe prohibir. Si el compuesto es útil tecnológicamente se debería buscar un sustituto menos nocivo. Si el compuesto se genera de manera no intencionada, debemos encontrar el método para que no se forme o se transfor-



me en otra sustancia menos tóxica. En ambas posibles soluciones la química juega un papel fundamental, pues a través de los estudios estructurales podemos sacar conclusiones de las características responsables de la «buena propiedad» del compuesto en cuestión y diseñar sustitutos con propiedades beneficiosas similares pero sin efectos tóxicos. Podemos afirmar que «el problema de la contaminación química se resolverá por métodos químicos».

¿Por qué tenemos este problema medioambiental tan intenso y extendido? La respuesta es sencilla. Hemos estado usando multitud de sustancias químicas (beneficiosas para nuestro bienestar) sin ser conscientes de su lado perjudicial («la química y las sustancias químicas tienen estas dos caras»). No había información porque no había agentes reguladores que la solicitaran y, posiblemente, el ser humano tampoco era plenamente consciente de sus complicaciones medioambientales.

### El papel de la química en la protección ambiental

Actualmente somos conscientes de la posible toxicidad e impacto medioambiental de las sustancias químicas, razón por la cual los químicos se esfuerzan con objeto de paliar esos efectos. Para lograr estos fines se investigan los siguientes aspectos:

- Cuantificación de sustancias químicas en el ambiente.
- Determinación de la toxicidad de compuestos químicos y elucidación del mecanismo de acción biológica (en colaboración con biólogos).
- Diseño y síntesis de compuestos químicos con actividad biológica beneficiosa (en la dosis adecuada) que puedan paliar los efectos de otros agentes tóxicos.

- Desarrollo de procesos industriales que sean más benignos con el medio ambiente (química verde y química sostenible).
- Diseño e implantación de rutas químicas para el tratamiento de residuos.
- Investigación de procesos físicos y químico-físicos de separación selectiva de sustancias tóxicas.
- Investigación en procesos de generación de «energía limpia».

### La química del futuro

La ciencia tiene que abordar las necesidades que la sociedad le plantee. Los retos de la ciencia en las próximas décadas se darán en las siguientes áreas: energía, medio ambiente, alimentación, salud y tecnología. Además, estos progresos deberán hacerse con un enfoque social, intentando paliar las diferencias que existen entre seres humanos y países.

Para resolver estas necesidades, todas las ciencias y las tecnologías serán necesarias y se plantearán aproximaciones multidisciplinarias, en las que la química seguirá suministrando moléculas para preparar materiales y aportará métodos y conceptos para racionalizar resultados. Por ello, la química seguirá siendo la ciencia central en el siglo XXI.

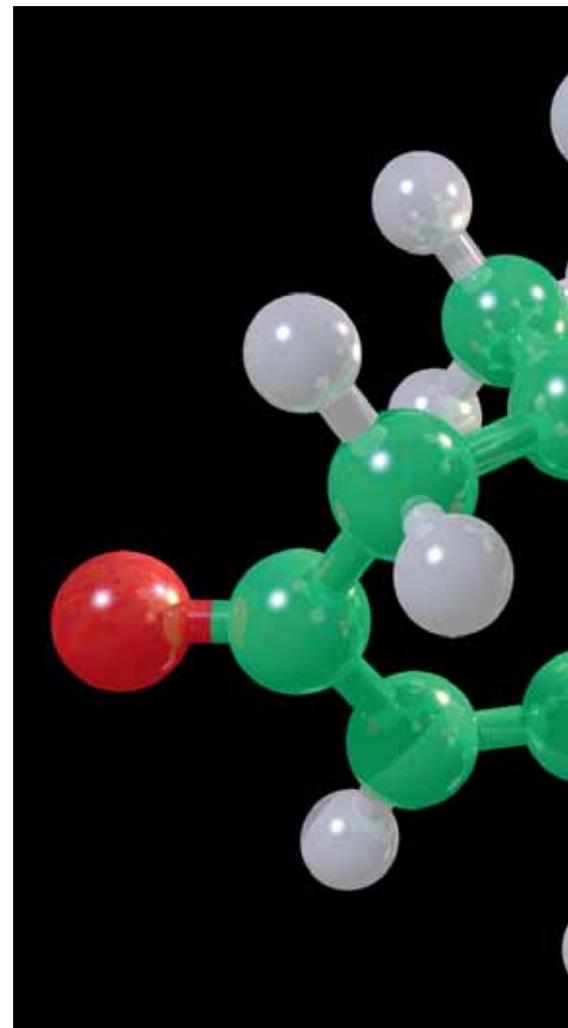
Para contribuir a abordar estos retos, la investigación química se está moviendo entre dos áreas multidisciplinarias, la biomedicina y la ciencia de los materiales, que serán las principales protagonistas de los avances científicos que beneficiarán a la sociedad.

### La química y la nanotecnología

En el futuro tenderemos a tener instrumentación lo más diminuta posible. Un límite factible de alcanzar es el tama-

ño molecular, es decir, a escala de decenas de angstroms ( $1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ m}$ ), donde ensamblajes de un número pequeño de moléculas serán capaces de transformar energía eléctrica, lumínica o térmica en movimiento (energía mecánica), en las denominadas máquinas moleculares.

Mientras este objetivo se alcanza, se están haciendo progresos en materiales en escala nanométrica (orden de escala de centenares de nanómetros,  $\text{nm}$ ,  $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ), lo que ha dado lugar a una rama científica, la nanociencia, y a su aplicación práctica, la nanotecnología. Actualmente se están estableciendo las bases científicas (ciencia fundamental) de esta área científica, pero las aplicaciones ya empiezan a ser una realidad. Hoy



en día existen más de 1.000 productos comerciales que contienen nanopartículas, desde cremas solares hasta material deportivo. Ya se ha publicado en los medios de comunicación que esta área de negocios experimenta un crecimiento espectacular, empezando a ser rentable.

## La química, entre la biomedicina y la ciencia de los materiales

Clásicamente, la química ha estudiado aspectos analíticos (caracterización y cuantificación de sustancias), físicos (determinación de propiedades) y sintéticos (preparación de sustancias). En

los últimos años, la química ha alcanzado un mayor grado de interdisciplinariedad, interaccionando con otras áreas, especialmente con la biomedicina y la ciencia de los materiales.

Para contribuir a estas áreas emergentes, la química estudia actualmente aspectos más complejos, como:

- Mecanismos de reacción.
- Interacciones intermoleculares.
- Explicación de fenómenos naturales a nivel molecular.
- Diseño y preparación de materiales con propiedades determinadas.

Estas nuevas áreas de investigación han permitido expandir el alcance de la química, reforzando su papel de ciencia central.

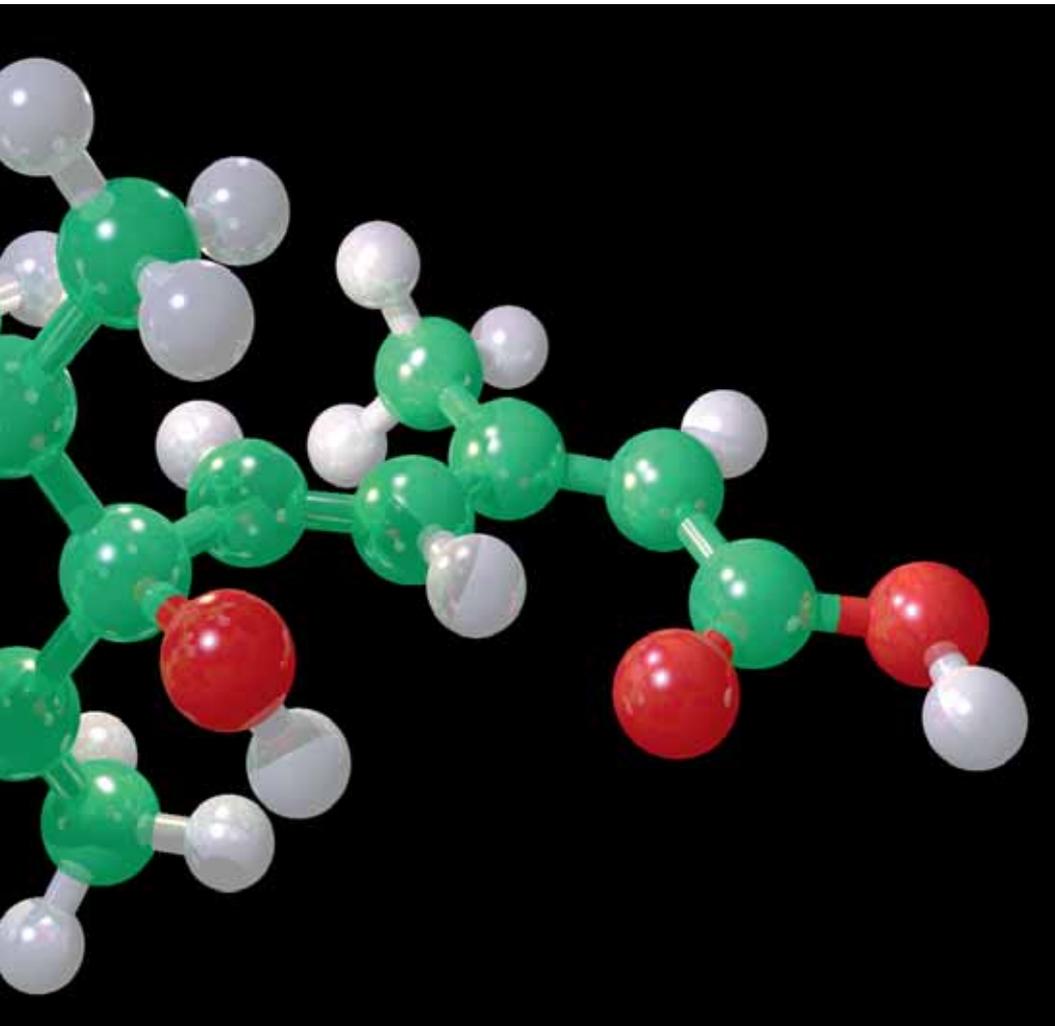
## La química, la biomedicina y los fármacos

Desde hace muchos años la química ha hecho aportaciones valiosas a la biomedicina: fármacos, materiales de diagnóstico, biomateriales (desde las «clásicas» lentillas a tejidos nuevos o huesos artificiales)<sup>[3]</sup> y compuestos que permiten estudiar procesos biológicos<sup>[4]</sup>. Todas estas aportaciones han mejorado considerablemente nuestra calidad de vida. Además, el arsenal de medicamentos (preparados por químicos) disponibles para tratar casi cualquier enfermedad ha contribuido a que las expectativas de vida hayan aumentado espectacularmente<sup>[5]</sup>.

La investigación en el desarrollo y producción de fármacos (química médica) ha evolucionado notablemente en los últimos años, debido principalmente a un par de factores.

Por un lado, se ha tomado conciencia de que un diseño racional previo ahorra mucho trabajo y dinero; y por otro, el conocimiento del mecanismo de acción de los compuestos activos es fundamental para mejorar la eficacia de un medicamento. Estos dos aspectos se han visto favorecidos por la disponibilidad de ordenadores potentes y métodos computacionales adecuados. El conocimiento de esos dos (amplios) aspectos de la investigación en química médica permite:

- Preparar los compuestos con la actividad específica deseada.
- Evaluar sus propiedades farmacocinéticas, tales como absorción y distribución en el organismo.
- Conocer el metabolismo del fármaco, así como las vías de eliminación.
- Ajustar la dosis adecuada del medicamento específico, lo que combinado con estudios genéticos (farmacogenómica) puede dar lugar a medicina personalizada<sup>[6]</sup>.



Latinstock

Aunque el desarrollo de esta investigación en biomedicina está todavía lejos de alcanzar su plena madurez, es indudable que se ha progresado considerablemente en los últimos años y que rendirá sus frutos a la sociedad en las próximas décadas.

### Química y toxicología

Aunque relacionada con la química médica («el efecto beneficioso de xenobióticos»), la toxicología química («el efecto perjudicial de los xenobióticos») es un área de investigación más compleja, que incluso engloba a aquella (cuando consideramos que la dosis excesiva de un fármaco lo puede convertir en un veneno)<sup>[7]</sup>, debido principalmente a que un fármaco tiene una única diana biológica.

La toxicología es una ciencia multidisciplinar y compleja que abarca desde aspectos moleculares a ecológicos. La química juega un papel importante en esta área de investigación, debido a que la primera causa de los efectos tóxicos es la estructura de las moléculas y sus interacciones.

Comparado con los desarrollos modernos de la química médica, la toxicología aún está en la infancia, y hay varios aspectos a considerar.

- Por un lado, muchos de los resultados de toxicidad (especialmente en ecosistemas) de compuestos químicos se han obtenido de manera no consistente, y frecuentemente el dato publicado se refiere a especies muertas por el efecto de algún contaminante. Para paliar esta situación, se ha intentado proporcionar escalas únicas de toxicidad (TEF, factor de equivalencia tóxica), pero un inconveniente es que los datos disponibles son muy pocos y a veces se han obtenido con procedimientos experimentales muy diver-



La investigación en el desarrollo y producción de fármacos (química médica) ha experimentado una notable evolución en los últimos años.

sos, lo que dificulta el establecimiento de conclusiones de cualquier estudio de relación estructural actualizado.

- Están descritos los resultados de toxicidad de muchas mezclas de compuestos (por ejemplo, los Aroclor, que son mezclas de bifenilo policlorados, PCBs); la toxicidad se considera que es la suma de las toxicidades individuales, sin tener en cuenta posibles sinergias entre los compuestos químicos.
- Aunque se admite que existen contaminantes con efectos a corto (generalmente con toxicidad aguda) y a largo plazo, no se suele relacionar con aspectos químicos. En un trabajo previo postulamos que el efecto a largo plazo de los PCBs está directamente relacionado con su momento dipolar y, por lo tanto, con su capacidad de interacción con las moléculas de grasa del tejido adiposo, favoreciendo su retención en el mismo y su liberación en un plazo largo. Este aspecto apenas ha

sido estudiado y merece ser analizado en profundidad, lo que constituye uno de los objetivos de nuestra investigación.

- Desconocimiento del mecanismo de toxicidad. Es un problema muy complejo en el que participan numerosos «actores»: diferentes receptores y procesos bioquímicos.
- El metabolismo de los agentes tóxicos apenas ha sido estudiado. La toxicidad es un proceso bioquímico muy complejo donde pueden intervenir diversos receptores celulares, (simultáneamente o en cascada), que pueden desencadenar respuestas bioquímicas variadas. Por ejemplo, es bien conocido que existe una relación estrecha entre los receptores de hidrocarburos aromáticos (AhR) y de estrógenos (ER), dos de las principales biomoléculas responsables de las respuestas tóxicas<sup>[8]</sup>. También puede ocurrir que el compuesto exógeno no sea el causante del efecto tóxico, sino que

sufra una transformación metabólica previa. Por otro lado, algunos de los receptores celulares que median la respuesta tóxica pueden ser activados por más de un mecanismo, como se ha encontrado recientemente con el receptor de hidrocarburos aromáticos (AhR), una biomacromolécula esencial en los procesos de toxicidad de compuestos aromáticos<sup>[9]</sup>.

- **Paliación (*remediation*)** de efectos tóxicos. También es un problema muy complejo cuya solución depende del conocimiento previo de los aspectos indicados anteriormente. Los progresos que se obtengan serán beneficiosos tanto para el organismo como para el ecosistema.

## Iniciativas internacionales y el papel de la química computacional

La toxicidad y su impacto sobre la salud humana y los ecosistemas es un tema de gran relevancia social. Tomando conciencia de este hecho, se están estableciendo una serie de actuaciones a nivel internacional, tales como el Protocolo de Kioto<sup>[10]</sup>, el Convenio de Estocolmo<sup>[11]</sup> y el REACH<sup>[12]</sup>. Especialmente los dos últimos, cuya aplicación es principalmente europea, tienen como objetivos la eliminación de los compuestos tóxicos más perjudiciales para el medio ambiente (los compuestos orgánicos persistentes, COPs) (el Protocolo de Estocolmo) y el análisis de los posibles efectos tóxicos de sustancias químicas (REACH), lo que supone decenas de miles cada año.

Actualmente, todos los países europeos se han comprometido a cumplir el Reglamento REACH, normativa que obliga a que todas las sustancias químicas producidas o comercializadas en Europa tienen que haber sido estudiadas y

caracterizadas por sus efectos perjudiciales para las personas, animales, plantas y ecosistemas. Este reglamento también afecta a las sustancias químicas ya en uso. Como se puede suponer, la implantación del Reglamento REACH supone un cambio de mentalidad para la industria química. Puesto que ya existen miles de productos químicos en el mercado, el obtener los datos de todos ellos supondrá un enorme coste y tiempo. Es inviable obtener los datos experimentales de todas las sustancias químicas en uso; por lo tanto, se debe buscar una alternativa al experimento, que se encuentra en la toxicología computacional, en la que nuestro grupo ha hecho contribuciones destacables en los últimos años. Esta investigación computacional se debe completar con datos fiables de actividad biológica de algunos compuestos que, una vez correlacionado con su estructura, nos permitirán predecir la toxicidad de compuestos sin necesidad del ensayo biológico.

La química tiene mucho que aportar en estos dos aspectos reguladores. En el caso de los COPs, puede aportar soluciones para su eliminación, y en el caso de los REACH, deberíamos poder predecir su toxicidad realizando cribados (*screening*) virtuales, que ahorrarán mucho tiempo y dinero. Para alcanzar este estadio es necesario realizar mucha investigación básica.

## Metodología computacional en toxicología

Una investigación exhaustiva de la bioactividad de compuestos potencialmente tóxicos requiere una gran colección de datos físico-químicos. Aunque estos datos pueden obtenerse experimentalmente, esto requiere un gran es-

fuerzo tanto en tiempo y como en dinero. Además, algunos compuestos no están disponibles en forma pura (la mezcla de isómeros y congéneres es frecuente en algunos contaminantes ambientales, tales como los compuestos polihalogenados). Por lo tanto, una aproximación computacional es una alternativa eficaz para poder obtener estos datos, que además evitaría la manipulación excesiva de sustancias tóxicas. Por otro lado, las herramientas de la química computacional también sirven para racionalizar resultados<sup>[13]</sup>.

Es bien conocido que la forma (geometría y distribución electrónica) de una molécula determina sus propiedades. Nuestra investigación en el área de toxicología ha demostrado que para estudiar y racionalizar la toxicidad molecular es necesario obtener numerosos datos, que incluyen:

- **Estructura molecular** (conectividad de átomos y geometrías).
- **Análisis conformacional**, que proporciona las energías y geometrías de cada estructura, que se complementa con aspectos dinámicos (movilidad entre conformeros).
- **Propiedades electrostáticas**, que incluyen el potencial electrostático molecular, momento dipolar, momento cuadrupolar, momentos electrostáticos de alto orden, polarizabilidad (que también tiene implicaciones en la reactividad).
- **Índices de reactividad**, entre ellos la dureza/blandura, polarizabilidad, electrofilia /nucleofilia.
- **Orbitales moleculares**, especialmente HOMO y LUMO, que son los orbitales responsables de la reactividad.
- **Aromaticidad**. Numerosos compuestos tóxicos tienen la propiedad de la aromaticidad, que prácticamente no ha sido empleada para racionalizar toxicidad. Nuestro grupo tiene experiencia directa en esta área, habiendo

establecido recientemente un método para cuantificarla<sup>[14]</sup>, y la hemos usado para racionalizar toxicidad<sup>[15]</sup>.

- **Modelización de reacciones metabólicas.** Algunas posibles reacciones son generación de radicales, reacciones de hidroxilación y conjugación con biomacromoléculas. Se ha intentado modelizar posibles rutas metabólicas de los compuestos xenobióticos que a su vez pueden ser más tóxicos que sus precursores.
- **Interacciones intermoleculares.** Muchas de las propiedades moleculares indicadas anteriormente son muy útiles para racionalizar y predecir interacciones no covalentes entre compuestos orgánicos (homo o hetero-interacciones) que pueden servir para estudiar efectos sinérgicos entre distintos contaminantes (importante en estudios ecotoxicológicos), interacción con ciertos órganos y tejidos (por ejemplo, la acumulación en el tejido adiposo de ciertos contaminantes con efectos nocivos a largo plazo). Otro aspecto a estudiar son las posibles interacciones con la biomacromolécula objetivo (receptores, enzimas, ácidos nucleicos, etc.).
- **Relaciones estructura-actividad.** A partir de los datos de propiedades y de actividad biológica se deben realizar estudios de relación estructura-actividad, usando varias estrategias (tales como el uso de los índices de similitud molecular o comparación de propiedades moleculares) y métodos (estadísticos, análisis de componentes principales y aplicación de redes neuronales).
- **Estudios de *docking* («apilamiento»).** En los casos en los que se conozca la estructura tridimensional de las biomacromoléculas objetivo biológico, o se puedan intuir por estudios de homología, se deben realizar estudios computacionales de su interacción

con los compuestos xenobióticos, usando técnicas de *docking*.

### Nanociencia, nanotecnología y medio ambiente

El futuro bienestar de la humanidad en áreas tales como bienes de consumo, electrónica, energía y medio ambiente dependerá de la disponibilidad de materiales adecuados para realizar de una forma eficaz ciertas funciones. Estos materiales tienen que cumplir los requisitos de eficiencia energética y miniaturización.

El límite en el diseño de los materiales está a nivel molecular. Sin embargo, la manipulación individual de moléculas es un objetivo que aún tardaremos en alcanzar, pues implica el trabajo en la escala de los amstrongs. Mientras tanto, podemos trabajar con agrupaciones de

moléculas, que generan estructuras nanomoleculares, es decir, del orden de unos centenares de nanómetros. En los últimos tiempos, la nanociencia (la ciencia que estudia las estructuras nanomoleculares) ha experimentado un desarrollo espectacular, obteniéndose información básica que es capaz de racionalizar el comportamiento particular de las nanoestructuras. Las aplicaciones de estas investigaciones básicas ya se están vislumbrando, dando lugar a la nanotecnología. Entre las nanoestructuras más investigadas figuran las nanopartículas metálicas, con numerosas aplicaciones en áreas tan diversas como óptica<sup>[16]</sup>, catálisis<sup>[17]</sup>, dispositivos electrónicos<sup>[18]</sup>, detección química<sup>[19]</sup> y biomedicina<sup>[20]</sup>.

Una extensión de las aplicaciones de las nanopartículas (NPs) procede de la versatilidad estructural y funcional que se obtiene al modificar las NPs por unión superficial (a través de interacciones no covalentes) de una variedad de moléculas,



Latinstock

las orgánicas, generando estructuras híbridas inorgánica-orgánica, estudiadas por nuestro grupo (ver más adelante)<sup>[21]</sup>.

Sin embargo, existen pocos datos sobre el potencial efecto de los nanomateriales sobre los seres vivos y ecosistemas. Esta información debe ser establecida de manera científicamente sólida antes de que sea demasiado tarde y la nanotecnología sea una herramienta habitual a escala industrial generando sustancias químicas sin control ni conocimiento (lo que ha ocurrido durante el desarrollo industrial de los últimos 200 años, como se ha comentado anteriormente).

El trabajo experimental y computacional con estos compuestos puede ser complicado (problemas de solubilidad, tamaño de la molécula, etc.), pero es necesario empezar a realizar avances en esta área<sup>[22]</sup>.

## Resumen de los resultados del proyecto 'Impacto medioambiental de nanomateriales'

Durante el año 2011 hemos realizado investigaciones sobre la síntesis, caracterización, estructura, estabilidad y propiedades biológicas de nanopartículas de oro (AuNPs) recubiertas por péptidos y derivados. Es una investigación en progreso y los resultados, aunque prometedores, son aún preliminares.

Las nanopartículas de oro (AuNPs) modificadas con moléculas orgánicas han sido ampliamente descritas en la bibliografía, con aplicaciones prácticas que ya se están vislumbrando<sup>[23]</sup>. Existen resultados contradictorios sobre la toxicidad de los nanomateriales basados en AuNPs<sup>[24]</sup>, por eso es conveniente avanzar en el conocimiento de estos compuestos. Hemos encontrado que la toxicidad y la actividad biológica son muy dependientes de la parte orgánica unida al núcleo metálico.

Se han sintetizado AuNPs con diferentes tamaños y han sido funcionalizadas con compuestos orgánicos de distinta estructura. Para ello, se han elegido híbridos péptidos-bifenilo (HPBs) como estabilizantes, cuya estructura consiste en dos cadenas péptidas unidas a las posiciones 2 y 2' de la unidad bifenilo<sup>[25]</sup>. Esta familia de compuestos presenta interesantes características como propiedades dinámicas en disolución, estructuras ordenadas en fase sólida y actividad biológica como inhibidores de calpaína<sup>[26]</sup>.

Las estructuras de algunos HPBs usados se indican en la figura 3. Las AuNPs modificadas con HPBs se han preparado en una fase formada por 2-propanol/agua/metanol y mediante la reducción del precursor metálico (HAuCl<sub>4</sub>)

con borohidruro de sodio (NaBH<sub>4</sub>) como se indica en la figura 4. Se ha comprobado cómo la estructura del HPB utilizado en la síntesis de las NPs influye tanto en el tamaño de las AuNPs resultantes como en su estabilidad. Un ejemplo se muestra en la figura 5.

## Estabilidad de AuNPs

Hemos comprobado que los residuos orgánicos proporcionan gran estabilidad a la nanopartícula. Las AuNPs que resultaron ser más estables, y a su vez que presentan una mayor homogeneidad de tamaños, fueron caracterizadas estructuralmente mediante técnicas diversas, como espectroscopía de ultra-

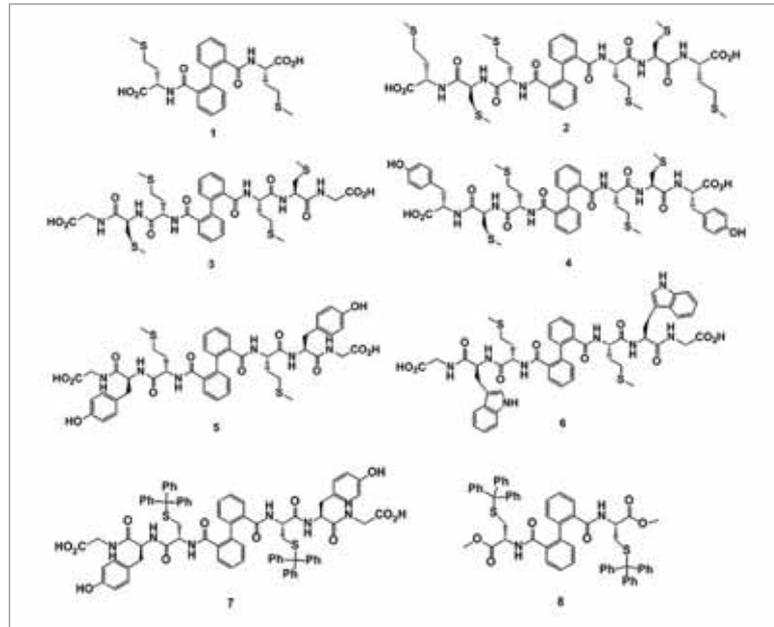


Figura 3. Estructura de algunos híbridos péptidos-bifenilo usados para estabilizar AuNPs.

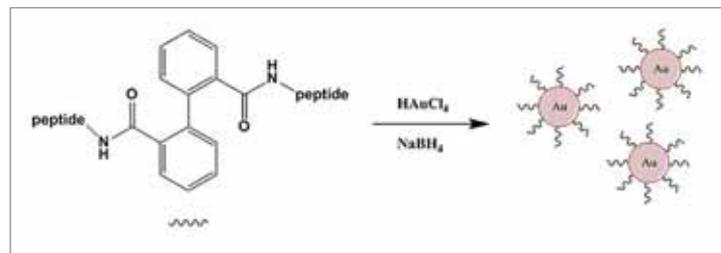
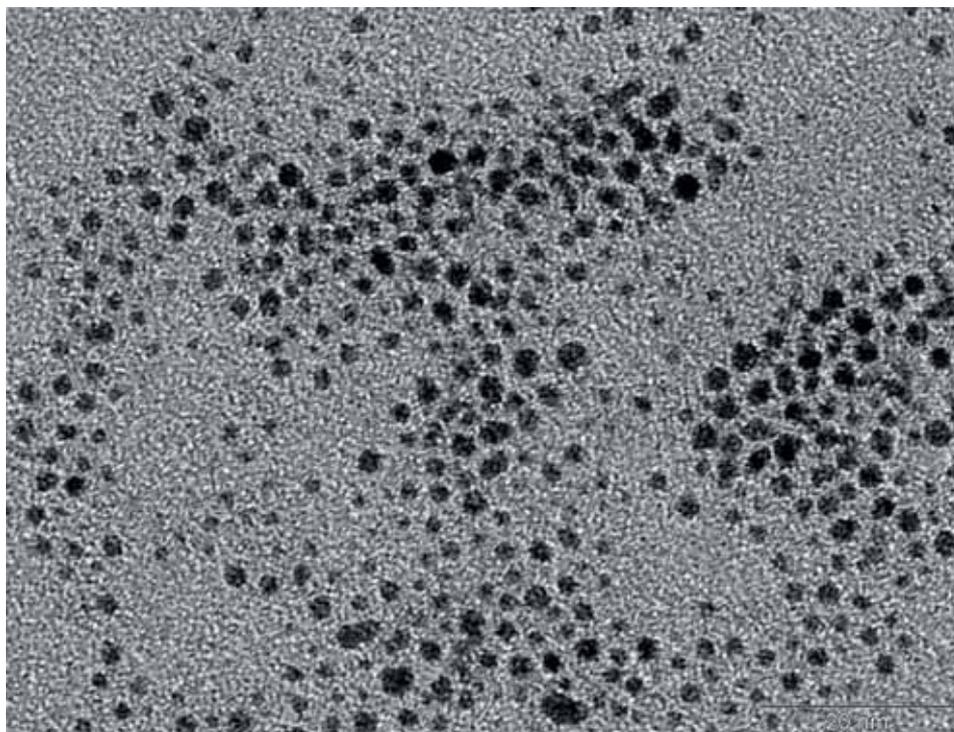


Figura 4. Esquema de síntesis de las AuNPs.



**Figura 5.** Imagen de TEM de AuNPs estabilizadas con péptidos.

violeta visible (UV-vis), espectroscopía infrarroja (FT-IR), microscopía electrónica de transmisión (TEM-EDX) y análisis elemental. Con ello se ha comprobado su funcionalidad y ha aportado información de los grupos funcionales que pueden estar implicados en el enlace del HPB con la superficie de la AuNP.

También hemos realizado diferentes estudios de estabilidad de las AuNPs en el medio de cultivo en el que se hacen los ensayos de toxicidad a nivel celular. Para ello hemos utilizado técnicas como la microscopía electrónica de transmisión (TEM), la dispersión de luz dinámica (DLS) y la espectroscopía de ultravioleta visible (UV-vis).

Así, mediante la técnica de dispersión de luz dinámica (DLS), se ha estudiado el diámetro de las AuNPs dispersadas en el medio de cultivo. El diámetro obtenido mediante esta técnica es el denominado diámetro hidrodinámico, y representa cómo la NP se difunde en el fluido. Con ello hemos comprobado como

algunas nanopartículas tienden a aglomerarse en el medio de cultivo debido principalmente a la presencia de sales. Las AuNPs no aglomeradas en solución son preferibles en los estudios de citotoxicidad por dos razones: libre movimiento y más facilidad y rapidez al atravesar la membrana<sup>[27]</sup>. Hemos visto cómo la no aglomeración depende de la estructura del compuesto orgánico unido a las nanopartículas, concluyendo qué estructuras orgánicas aportan mayor estabilidad a las AuNPs en el medio de cultivo. Disponemos de bastantes datos de estabilidad de diferentes muestras de AuNPs en el medio de cultivo, y con las más estables pretendemos realizar estudios de actividad antimarialaria.

### Estudios biológicos de AuNPs

A través de una colaboración con el profesor Bautista (Facultad de Veterina-

ria de la UCM), estamos ensayando actividad antimarialaria de compuestos preparados en nuestro grupo. Hemos suministrado algunas muestras de las AuNPs con péptido-bifenilo y hemos encontrado actividad antimarialaria. Estos resultados son aún muy preliminares y deben ser confirmados por el grupo de la UCM.

Por otro lado, hemos realizado estudios de toxicidad en colaboración con el grupo del Dr. Navas (INIA). Se están obteniendo resultados interesantes, observando que la actividad biológica depende de la estructura del ligando orgánico. Hemos realizado estudios de estrés oxidativo (en la línea celular HEP G2) y citotoxicidad de las AuNPs en el medio de cultivo biológico: EMEM con suero (EMEM/S+) y EMEM sin suero (EMEM/S-) (EMEM es el acrónimo de *Eagle's Minimal Essential Medium*, un medio de cultivo habitual en biología).

Investigaciones anteriores habían mostrado que las NPs inducen estrés oxidativo como un mecanismo de toxicidad, y este estrés oxidativo puede dar como resultado la muerte de la célula<sup>[28]</sup>. Para determinar si el estrés oxidativo responde a muerte celular en las líneas celulares HEP G2, se han realizado también estudios de citotoxicidad, que muestran también dependencia con el tiempo de exposición.

En resumen, los resultados de toxicidad han demostrado que ésta depende del residuo orgánico del híbrido orgánico-inorgánico.

### Estudios computacionales preliminares de AuNPs

Hemos realizado algunos estudios computacionales *ab initio* de clusters de átomos de oro, usando HF-DFT y bases de cálculo relativística. Debido a la complejidad de los sistemas, los cálculos son muy largos y no han dando resultados satis-

factorios. Estamos empezando a utilizar otra estrategia computacional, pero aún no tenemos resultados. Puesto que lo importante de estas estructuras es la superficie, estamos empleando métodos computacionales que modelizan la superficies de estos materiales, en vez de entrar en el detalle atómico. Se está usando la metodología ADF implantada en Cerius 2.

## Conclusiones

Cuando se planteó el proyecto, los objetivos propuestos eran limitados debido a la corta duración del mismo. Los resultados descritos en esta memoria ponen de manifiesto que la aproximación empleada está dando resultados satisfactorios y, al menos desde el punto de vista cualitativo, se pueden determinar relaciones entre la toxicidad y la estructura de las AuNPs.

Además, los resultados biológicos (tanto de toxicidad como de antimalaria) permiten aventurar que las NPs modificadas por híbridos péptido-biario pueden ser herramientas útiles en toxicología molecular y en biomedicina.

Los objetivos a medio-largo plazo de este proyecto son obtener datos fiables de actividad biológica y toxicológica de nanomateriales y la modelización computacional de los mismos. Los estudios computacionales aportarán información sobre la estructura de los materiales que permitirán establecer relaciones estructura-actividad biológica.

A partir de estos resultados se podrá determinar y racionalizar la toxicidad de nanopartículas híbridas orgánica-inorgánica con el fin de aportar conocimiento a la ciencia de los materiales, a las ciencias medioambientales y a la toxicología química. ♦

## AGRADECIMIENTOS

La investigación se ha realizado con el apoyo financiero de FUNDACIÓN MAPFRE y del MICINN (proyecto CTQ-2011-19295).

## Bibliografía general recomendada

- Atkins, P. Las moléculas de Atkins. Akal Editores. 2008.
- Ball, P. Designing the molecular World. Princeton University Press, 1994.
- Breslow, R. Chemistry, today and tomorrow. ACS, 1997.
- Herradón, B. Los avances de la química, Libros de la Catarata-CSIC, 2011.
- Nicolaou, K. C. y Montagnon, T. Molecules that changed the world. Wiley-VCH. 2008.
- Schwartz, A. T. y otros. Chemistry in context. Applying chemistry to society. ACS. 1997.
- Selinger, B. Chemistry in the marketplace. 5ª edición. Harcourt Brace. 1998.

## Sitios web de interés

**Los avances de la química y su impacto en la sociedad:** <http://www.losavancesdelaquimica.com/>

**Química y sociedad:** <http://www.madrimasd.org/blogs/quimicaysociedad/>

**Educación química:** <http://educacionquimica.wordpress.com/>

## PARA SABER MÁS

- [1] «Toda sustancia química es potencialmente tóxica, aunque su efecto depende de la dosis». Esta idea ya fue identificada por Paracelso (1493-1541) hace 500 años.
- [2] Chana, A.; Concejero, M. A.; De Frutos, M.; González, M. J.; Herradón, B. Chem Res. Toxicol. 2002, 15, 1514; y referencias citadas en esta publicación.
- [3] Vallet, M. SEBBM 2011, 169, 17.
- [4] Mann, E. SEBBM 2011, 169, 11.
- [5] Drews, J. Science, 2000, 287, 1960.
- [6] Ginsburg, G.S.; McCarthy, J. J. Trends Biotechnol. 2001, 19, 491.
- [7] Albert, A. Selective toxicity, the physico-chemical basis of therapy, Chapman and Hall, 1971.
- [8] Safe, S.; Wormke, M. Chem Res Toxicol. 2003, 16, 807.
- [9] Alonso, M.; Casado, S.; Miranda, C.; Tarazona, J. V.; Navas, J.M.; Herradón, B. Chem. Res. Toxicol. 2008, 21, 643; y referencias citadas en esta publicación
- [10] <http://unfccc.int/resource/docs/convkp/kpspan.pdf>
- [11] <http://europa.eu/scadplus/leg/es/lvb/l21279.htm>
- [12] <http://europa.eu/scadplus/leg/es/lvb/l21279.htm>. El Reglamento REACH se puede descargar en [http://reachinfo.es/centro\\_reach\\_docs/REACH\\_CORREGIDO\\_es.pdf](http://reachinfo.es/centro_reach_docs/REACH_CORREGIDO_es.pdf).
- [13] Ekins, S. (ed.), Computational toxicology: Risk assessment for pharmaceutical and environmental chemicals, Wiley, 2007
- [14] Alonso, M.; Herradón, B. Chem. Eur. J. 2007, 13, 3913; Alonso, M.; Herradón, B. J. Comp. Chem. 2010, 31, 917; Alonso, M.; Herradón, B. Phys. Chem. Chem. Phys. 2010, 12, 1305; Alonso, M.; Miranda, C.; Martín, N.; Herradón, B. Phys. Chem. Chem. Phys. 2011, 13, 20564.
- [15] Alonso, M. Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid, 2008
- [16] Kamat, P. V. J. Phys. Chem. B., 2002, 106, 7729.
- [17] Campbell, C. T. Science, 2004, 306, 234.
- [18] Reches M.; Gazit, E. Science, 2003, 300, 625.
- [19] Kim, Y.; Johnson, R. C.; Hupp, J. T. Nano Lett., 2001, 1, 165.
- [20] Pan, B.; Cui, D.; Sheng, Y.; Ozkan, C.; Gao, F.; He, R.; Li, Q.; Xu, P.; Huang, T. Cancer Res., 2007, 67, 8156; Misra, R.; Acharya, S.; Sahoo, S. K. Drug Discovery Today 2010, 15, 842.
- [21] Pérez, Y.; Mann, E.; Herradón, B. J. Colloid Interface Sci. 2011, 359, 443.
- [22] Klaine, S. J. *et al.* Environm. Toxicol. Chem. 2008, 27, 1825.
- [23] Bao, Y. P.; Wei, T.-F.; Lefebvre, P. A.; An, H.; He, L.; Kunkel, G. T.; Muller, U. R. Anal. Chem. 2006, 78, 2055; Dong, W.; Dong, C.; Shuang, S.; Choi, M. M. F. Biosens. Bioelectron. 2010, 25, 1043; Park, J.-A.; Reddy, P. A. N.; Kim, H.-K.; Kim, I. S.; Kim, G.-C.; Chang, Y.; Kim, T.-J. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2008, 18, 6135; Pérez, Y.; Aprile, C.; García, H.; Corma, A. Catal. Lett. 2010, 134, 204.
- [24] Connor, E. E.; Mwamuka, J.; Gole, A.; Murphy, C. J.; Wyatt, M. D. Small 2005, 1, 325; Shukla, R.; Bansal, V.; Chaudhary, M.; Basu, A. Bhone, R. R.; Sastry, M. Langmuir 2005, 21, 10644; Goodman, C. M.; McCusker, C. D.; Yilmaz, T.; Rotello, V. M. Bioconjugate Chem. 2004, 15, 897.
- [25] Herradón, B.; Montero, A.; Mann, E.; Maestro, M. A. Cryst. Eng. Commun. 2004, 6, 512.
- [26] Mann, E.; Montero, A.; Maestro, M. A.; Herradón, B. Helv. Chim. Acta 2002, 85, 3624; Montero, A.; Mann, E.; Chana, A.; Herradón, B. Chem. Biodiversity 2004, 1, 442.
- [27] Williams, E.; Ehrman, S. H.; Holoman, T. R. P. J. Nanobiotech. 4 (2006) 1.
- [28] Patra, H. K.; Banerjee, S.; Chaudhuri, U.; Lahiri, P.; Dasgupta, A. K. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine 2007, 3, 111.