



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

SIMULACION MOLECULAR DE DENDRIMEROS
FUNCIONALIZADOS PARA ACARRERAR FARMACOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERO QUIMICO
P R E S E N T A
AURELIO EVANGELISTA LARA



MEXICO, D.F.



2004

EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

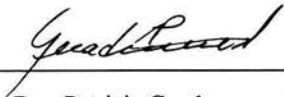
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente	Prof. Marco Antonio Uresti Maldonado.
Vocal	Prof. Jaime Medina Oropeza.
Secretario	Prof. Patricia Guadarrama Acosta.
1er Suplente	Prof. Minerva Estela Téllez Ortiz.
2do Suplente	Prof. Teresa Elizabeth Delgado Herrera.

Sitio donde se desarrolló el tema:

Instituto de Investigaciones en Materiales. Cd. Universitaria, D.F.



Dra. Patricia Guadarrama Acosta
(Asesora)



Aurelio Evangelista Lara
(Sustentante)

Agradecimientos

A mi madre, que es la persona que más quiero y admiro. Por el gran amor, inteligencia, confianza, fortaleza y apoyo que me ha dado, se lo agradezco con todo mi corazón.

A mis hermanos Rosa, Luis y Salvador, por su incondicional apoyo a lo largo de toda mi carrera, por su cariño y comprensión.

A ti Universidad por darme todas las herramientas necesarias.

A todos aquellos que me brindaron su amistad:

Abril, Alberto Rodríguez, Alberto Romo, Alonso, Andrea, Ángel, Antonio, Carlos, Chantal, Edgar Chumacero, Edgar Tovar, Emilio, Enrique, Fernando, Francisco Yoe, Guillermo Uribe, Graciano, Isaac, Itzel López, Itzel Patiño, Jorge Cornejo, Jorge Pascacio, Jorge Toro, Julio, Josué, J.Manuel, J. López, Karla, Lizbeth, Mariza, Marcos López, Marcos Jocoques, Mario, Miriam, Norma, Omar Ponce, Plutarco, Phill, Raúl Maruri, Raúl Tafolla, Ricardito, Ricardo Chow, Ricardo Tello, Ricardo Uribe, Rocío Guzmán, Rocío Pérez, Rosa, Roberto Best, Roberto Ramírez, Roberto Streaper, Sandra, Talina, Vianei, Víctor, Xelhua, Yasser. De manera muy especial a Guillermo Gaytá Bolaños, donde quiera que te encuentres camarada, quizá fue poco el tiempo que te traté de verdad y sin embargo me di cuenta que eras una persona auténtica y sincera.

A mis amigos de toda la vida: Eduardo, Cristian y Arturo, gracias por su amistad.

Agradezco profundamente a todas las personas que me han apoyado a lo largo de mi carrera y durante la realización de la presente tesis.

Especialmente a la Dra. Patricia Guadarrama por su paciencia y contribuciones para asesorar este trabajo. Al Dr. Sergei por su ayuda en la instalación de los programas y por alentarme en la toma de decisiones.

Gracias a los revisores de mi manuscrito por sus comentarios y sugerencias: Marco A. Uresti y Jaime Medina.

Al Instituto de Investigaciones en Materiales y a PROBETEL por el apoyo para realizar esta tesis.

A la Profra. Alba Mendoza por haber contribuido en mi formación de bachillerato. A la Profra. Angelina Guerrero por haberme alentado en los primeros semestres de la carrera. A los Profesores Reynaldo Sandoval y Antonio Reyes Chumacero por compartirme su conocimiento. Al Ingeniero Juan Sánchez Gabi por brindarme su amistad.

ÍNDICE

Lista de gráficas	iii
Introducción	1
Capítulo I: Objetivos y Planteamiento del Problema	3
Capítulo II: Antecedentes	5
PARTE I Dendrimeros y sus Aplicaciones	5
1.1 Historia.....	6
1.2 Síntesis y caracterización	9
1.3 Propiedades.....	11
1.4 Propiedades tipo huésped-anfitrión.....	13
1.5 Aplicaciones	16
1.6 Aplicación de dendrimeros como acarreadores de fármacos.....	17
PARTE II Química Computacional.....	20
1.7 Mecánica Molecular	20
1.8 Dinámica Molecular	23
1.9 Métodos basados en Mecánica Cuántica	26
1.10 Volumen de Disolvente Excluido	28
Capítulo III: Metodología.....	32
Capítulos IV: Resultados y Análisis.....	38
Capítulos V: Conclusiones	67
Glosario	70
ANEXO A: Simbología de los dendrimeros.....	74
Bibliografía	77

LISTA DE GRÁFICAS

<i>Número</i>	<i>Página</i>
4.1.1 Dinámica molecular de denamida	40
4.1.2 Dinámica molecular de denurea	42
4.2.1 Radio óptimo (p) para denamida 2^a G y $x = 3$	47
4.2.2 SEV y volumen de vander Waals vs longitud de cadena (denamida)	50
4.2.3 SEV y volumen de van der Waals vs longitud de cadena (denurea)	51
4.2.4 Densidad y ovalidad vs longitud de cadena (denamida)	52
4.2.5 Densidad y ovalidad vs longitud de cadena (denurea)	53
4.2.6 Volumen de cavidades (denamida vs denurea).	54
4.2.7 Volumen de cavidades vs generación y longitud de cadena (denamida).	57
4.2.8 Volumen de cavidades vs generación y longitud de cadena (denurea).	57

Introducción

Las macromoléculas sintéticas tienen gran versatilidad y bajo costo, por lo que la industria produce más de 10,000 diferentes materiales para ser usados en diversos productos. Esto gracias al avance científico puesto que se ha llegado al punto donde es factible diseñar una macromolécula con propiedades químicas y físicas específicas para una determinada aplicación. En la actualidad se le ha dado una considerable importancia a estructuras poliméricas más complicadas que las que poseen los polímeros convencionales, tal es el caso de los polímeros hiper-ramificados y los dendrímeros, debido a que poseen una gran cantidad de aplicaciones.

Los dendrímeros forman parte de los polímeros, pero su diferencia radica en que la distribución de las moléculas que constituyen a los polímeros lineales es probabilística, en tanto que en el caso de los dendrímeros, se tiene una estructura química precisa, donde los enlaces químicos entre los átomos pueden ser descritos con exactitud.

En el Instituto de Investigaciones en Materiales, el estudio de dendrímeros es de gran interés debido a las buenas propiedades del tipo huésped-anfitrión que presentan dichas macromoléculas, pudiendo ser diseñadas de manera adecuada para albergar a otras moléculas más pequeñas y que a su vez requieran de un acarreador, imitando así a las proteínas en la naturaleza, ya que al igual que éstas, los dendrímeros presentan cavidades que permiten la encapsulación de moléculas en su interior lo que aunado a un buen diseño permitirá que no solamente exista espacio suficiente sino que también exista una interacción favorable entre ambos sistemas. Los tres principales factores que se toman en cuenta para un diseño apropiado son, por un lado la naturaleza química de los grupos funcionales presentes en el **patrón fractal**, la **generación** y la **longitud de cadena** de sus ramificaciones que confieren flexibilidad al sistema. La presente tesis parte de un proyecto para diseñar mediante simulación molecular sistemas dendriméricos capaces de encapsular un tipo específico de fármacos: **lactonas macrocíclicas** y **salicilanilidos**, que son utilizados como antihelmínticos en la medicina veterinaria. Actualmente, dichos fármacos ven disminuida su acción

ante la incapacidad de llegar a su objetivo por la baja solubilidad que presentan. Debido a su morfología globular, los dendrímeros presentan una alta solubilidad y esta propiedad podría ser utilizada para resolver dicho problema. Uno de los dendrímeros que ya ha sido utilizado como acarreador de fármacos es el conocido como **PAMAM**¹.

Utilizando el programa computacional **Chem-3D-Ultra 7.0**, se construyeron macromoléculas dendriméricas con diferentes tipos de patrón fractal (grupos funcionales y longitud de cadena característicos) con la intención de evaluar sus propiedades de encapsulamiento para los fármacos señalados anteriormente. Mediante los métodos de Mecánica Molecular (**MM**) y Dinámica Molecular (**MD**) de la **Química computacional** se encontraron las estructuras más estables en térmicos energéticos, para posteriormente cuantificar el **volumen de cavidades** que presentan esta clase de dendrímeros utilizando como método el cálculo de volumen de disolvente excluido (**SEV**) basado en el **Algoritmo de Connolly** y finalmente se evalúan la interacción del sistema dendrímero-fármaco por métodos de mecánica molecular (**MM**).

Capítulo 2

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La potencialidad de los dendrímeros para llevar a cabo procesos de tipo huésped-anfitrión es muy grande, debido a los numerosos puntos de interacción y cavidades que presentan estas estructuras. Una de las áreas más atractivas donde es posible aplicar esta clase de materiales como sistemas huésped-anfitrión es la química farmacéutica donde existen fármacos cuya efectividad terapéutica se ve disminuida por la incapacidad de llegar a su destino debido a su baja solubilidad. Tal es el caso de unos fármacos utilizados en la medicina veterinaria como antihelmínticos y que pertenecen a los grupos de las **Lactonas macrocíclicas** y **Salicilanilidos**. En este sentido las macromoléculas dendriméricas se presentan como excelentes candidatos para utilizarse como acarreadores / liberadores de estos fármacos dadas sus buenas propiedades de solubilidad. Para ello se deberá diseñar el patrón fractal apropiado que permita albergar a los fármacos considerando los siguientes factores: tamaño (generación), flexibilidad (cadena alifática del patrón fractal) y naturaleza química (grupos funcionales del patrón fractal).

OBJETIVOS

1. Diseñar dendrímeros con grupos funcionales idóneos para interactuar con fármacos pertenecientes a las **Lactonas macrocíclicas** y a los **Salicilanilidos**, empleando Simulación Molecular.
2. Encontrar las estructuras dendriméricas más estables (que presentan el mínimo de energía) mediante los métodos de Mecánica Molecular (**MM**) y Dinámica Molecular (**MD**).
3. Evaluar el espacio disponible (**volumen de cavidades**) en cada uno de los receptores propuestos (estructuras dendriméricas), para albergar los respectivos fármacos mediante el método de Volumen de Disolvente Excluido (**SEV**) basado en el **Algoritmo de Connolly**.

Calcular energías totales de los dendrímeros y fármacos mediante **MM** y hacer una estimación de las energías de interacción de los complejos dendrimero-fármaco mediante el método diferencial.

Capítulo 3

ANTECEDENTES

PARTE I Dendrimeros y sus Aplicaciones

En la actualidad se reconocen básicamente cuatro grandes clases de arquitecturas macromoleculares: lineal, entrecruzada, ramificada y dendrímica (Figura 1.1.1). Dentro de la arquitectura dendrímica se encuentran entre otros los polímeros hiper-ramificados y los dendrimeros, tema central de la presente tesis.

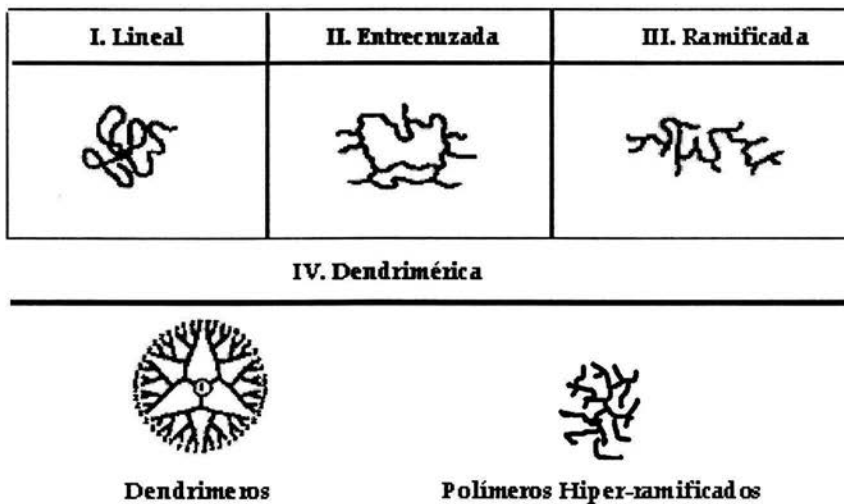


Figura 1.1.1. Principales arquitecturas macromoleculares.

La introducción de ramificaciones a materiales poliméricos se ha convertido en un tema de interés y actividad en años recientes² Este interés se debe al deseo de posterior manipulación para descubrir nuevas propiedades físicas, químicas y mecánicas. Los polímeros hiper-ramificados y los dendrímeros representan una nueva clase de moléculas con propiedades diferentes a las lineales, y ocupan un campo aparte en el área de la química de los polímeros. Los polímeros hiper-ramificados y los dendrímeros se caracterizan por tener un gran número de puntos de ramificación con numerosos grupos terminales, sin embargo un **polímero hiper-ramificado** presenta una distribución aleatoria en el tamaño de las moléculas y en su grado de ramificación, mientras que el dendrímero es una macromolécula bien definida con una ramificación perfecta. Esta diferencia estructural tiene su origen en el hecho de que los polímeros hiper-ramificados se preparan por una polimerización de un **monómero AB₂** (ver glosario) en un solo paso mientras que la macromolécula dendrímica se prepara por métodos laboriosos empleando la síntesis orgánica convencional³

1.1 Historia

Los primeros en investigar este tipo de macromoléculas fueron Vögtle, Tomalia, Newkome y Fréchet¹. Fue Vögtle⁴ en 1978, el primero en reportar la preparación, separación y caracterización de una estructura ramificada bien definida. El esquema consistía en una secuencia de reacciones que involucraban una adición de Michael de una amina a un acrilonitrilo. Sin embargo, fue el dendrímero conocido como **PAMAM** (Figura 1.1.2), sintetizado por Tomalia⁵, el que tuvo mayor interés. Trabajando con un grupo de colaboradores en los Laboratorios Dow en Midland, Michigan (USA), Tomalia logró sintetizar dicho compuesto. En 1979 descubrieron que el crecimiento generacional podía ser llevado a cabo alrededor de varios núcleos y que dicho crecimiento podía ser influenciado dramáticamente por la geometría y multiplicidad del núcleo iniciador. Los esfuerzos sintéticos de Laboratorios Dow (1981-1984) dieron como resultado el diseño de sistemas dendrímicos con determinado tamaño, forma, **topología** interior, flexibilidad y química de superficie a nivel molecular. En 1983, las predicciones matemáticas hechas por Gennes²³. mostraron que una serie de dendrímeros podía alcanzar una **generación** límite, parando de esta

manera su crecimiento. Esta limitante de crecimiento conduce a una estructura demasiado compacta evitando seguir adelante en su crecimiento

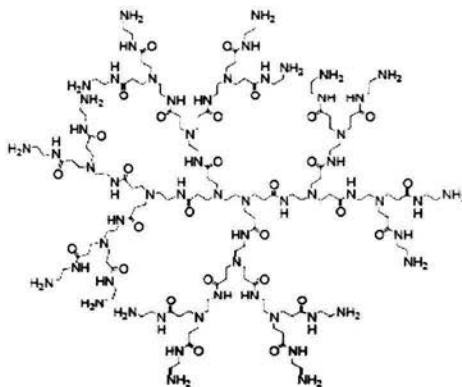


Figura 1.1.2. PAMAM (dendrímtero de poliamidoamina).

El nombre de “dendrímtero” se deriva de la palabra griega dendron = árbol, y del sufijo mer = segmento. Los dendrímteros son macromoléculas tridimensionales de construcción arborescente. Dichas moléculas se construyen etapa por etapa mediante la repetición de una secuencia de reacciones tales que permiten la multiplicación del número de unidades repetitivas y funciones terminales.

El dendrímtero está compuesto por 3 partes principales: el núcleo, las ramificaciones y los grupos terminales, ver Figura 1.1.3.

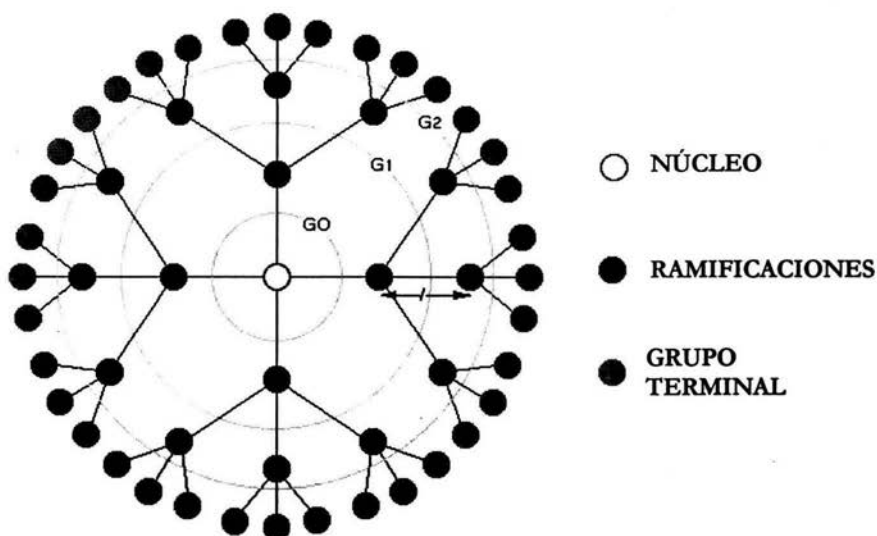


Figura 1.1.3. Partes de una molécula dendrímica

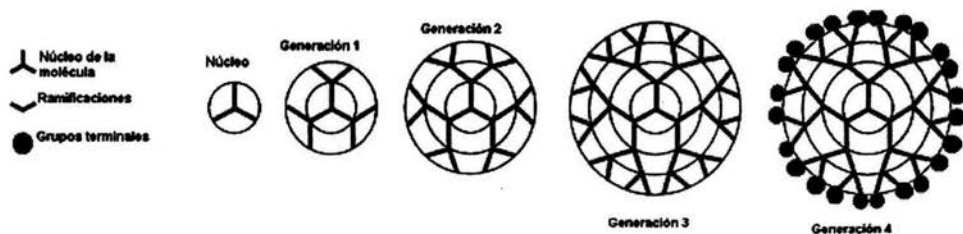


Figura 1.1.4. Crecimiento Generacional

Las macromoléculas dendrímicas presentan una forma de crecimiento generacional. A la molécula central se le conoce como “**generación 0**” y cada unidad repetitiva que se forma de las ramificaciones será la siguiente generación: “**generación 1 (G1)**”, “**generación 2 (G2)**” y así sucesivamente. Cada generación representa un tamaño de molécula con un peso molecular de

aproximadamente el doble de la generación anterior y con un número de sitios activos de dos veces respecto a la generación anterior.(Figura 1.1.4.).

1.2 Síntesis y Caracterización

Los métodos sintéticos para la preparación de dendrímeros se conocen como métodos iterativos de síntesis. Estos métodos definen el tipo y características del dendrímero sintetizado. Se han reportado en la literatura dos rutas sintéticas que son la convergente (Hawker⁶) y la divergente (Tomalia⁷ y Newcome⁸), las cuales son utilizadas para construir estructuras dendríméricas.

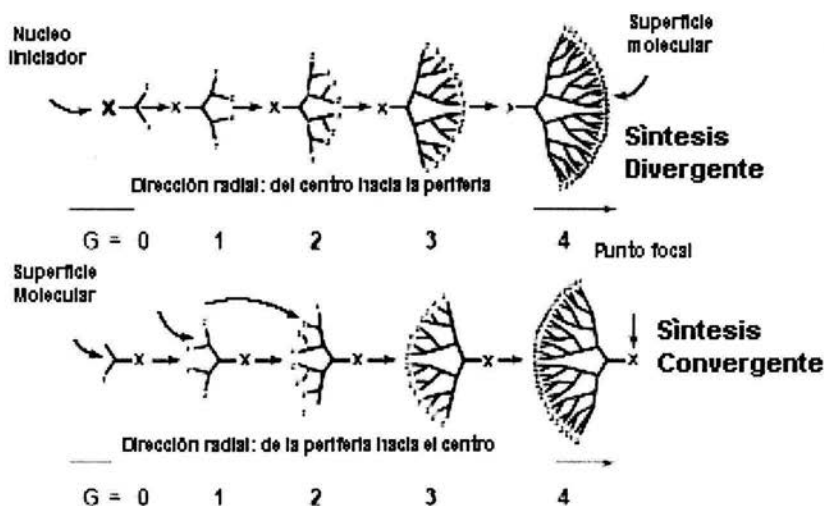


Figura 1.2.1. Métodos de Síntesis

En el método divergente la molécula es construida del núcleo a la periferia. De manera más formal, consiste en la construcción secuencial de ramificaciones a partir de un núcleo poli funcional donde la funcionalidad se incrementa a cada paso, mientras que en el método convergente, el dendrímero se sintetiza comenzando en la periferia y finalizando en el núcleo; es decir, se preparan precursores

dendríticos para acoplarlos posteriormente, dando productos monodispersos como se muestra en la Figura 1.2.1.

En la síntesis divergente el crecimiento está restringido a cierto límite de generaciones ya que, conforme aumenta el peso molecular, aumenta la funcionalidad en la periferia y por lo tanto la probabilidad de que se den imperfecciones en la estructura. Para evitarlo se hace uso de reactivos en exceso, asegurando que la reacción se de en su totalidad. Por otro lado, la síntesis convergente evita el uso de exceso de reactivos, facilitando así los procesos de purificación. El reto en este método de síntesis es diseñar hiper-núcleos que permitan el acoplamiento con los dendrones, evitando, en la medida de lo posible, los impedimentos estéricos.

En la literatura se ha reportado la síntesis de una gran cantidad de dendrímeros como son: poliamidoaminas (**PAMAM**), polipropil-1-amina (DAB-dendr-NH₂), poliéteres, poliésteres, polialcanos, polifenileno, polifenilacetileno, polisilanos³

En cuanto a la caracterización que se puede hacer de éstas macromoléculas, ésta va encaminada a obtener información como: estructura química, peso molecular, distribución de pesos moleculares, tamaño de la macromolécula, forma, entre otros datos.

Al igual que un polímero convencional, la información que se obtiene al caracterizar a una muestra dendrímica es muy valiosa, ya que se usa para conocer y mejorar las propiedades del producto terminado y controlar los procesos de obtención.

Las técnicas más comunes que se emplean en la caracterización de macromoléculas dendrímicas son las siguientes:

- a) Técnicas espectroscópicas comunes como: RMN, FT-IR, UV vis etc.

Técnicas más sofisticadas como:

-
-
- b) Técnicas de Espectroscopia de masas: Electro spray Ionization Mass Spectroscopy (ESI-MS) y Matrix Assisted Laser Desolvation Ionization – Time of Flight Mass Spectroscopy (MALDI-TOF-MS).
 - c) Métodos de dispersión de luz: Small Angle X-Ray Scattering (SAXS) y Small Angle Neutron Scattering (SANS).

1.3 Propiedades

Los dendrímeros muestran una serie de propiedades físicas y químicas diferentes cuando se les compara con sus análogos lineales. Los polímeros lineales tienen conformaciones asimétricas y relativamente abiertas, mientras que los dendrímeros presentan conformaciones mucho más compactas, con simetría cercana a la esférica, debido a la alta densidad de ramificaciones que conforman un patrón estructural regular y bien definido. En otras palabras, en una reacción de polimerización convencional, el proceso ocurre de manera aleatoria originando segmentos moleculares de diferentes pesos moleculares; es decir, una distribución heterogénea de pesos moleculares. Esta distribución se conoce como polidispersidad, que se define como el cociente del peso molecular promedio en número y el peso molecular promedio en peso ($Pd = M_w / M_n$). La polidispersidad presente en los polímeros convencionales es $\gg 1$, para los polímeros hiper-ramificados está en el rango de 2-10 y para los dendrímeros es de 1-1.05.

Entre las propiedades más importantes de los dendrímeros, junto con su polidispersidad cercana a 1, se encuentran las siguientes:

- a) Baja temperatura de transición vítrea.
- b) Baja viscosidad intrínseca.
- c) Alta solubilidad.
- d) Capacidad de formar sistemas tipo huésped-anfitrión.

Se ha encontrado semejanza de los dendrímeros con las proteínas²(Figura 1.3.1.) puesto que comparten características como: tamaño, peso molecular, estructura bien definida donde cada átomo y sus enlaces son bien conocidos y finalmente promoción de transporte celular.

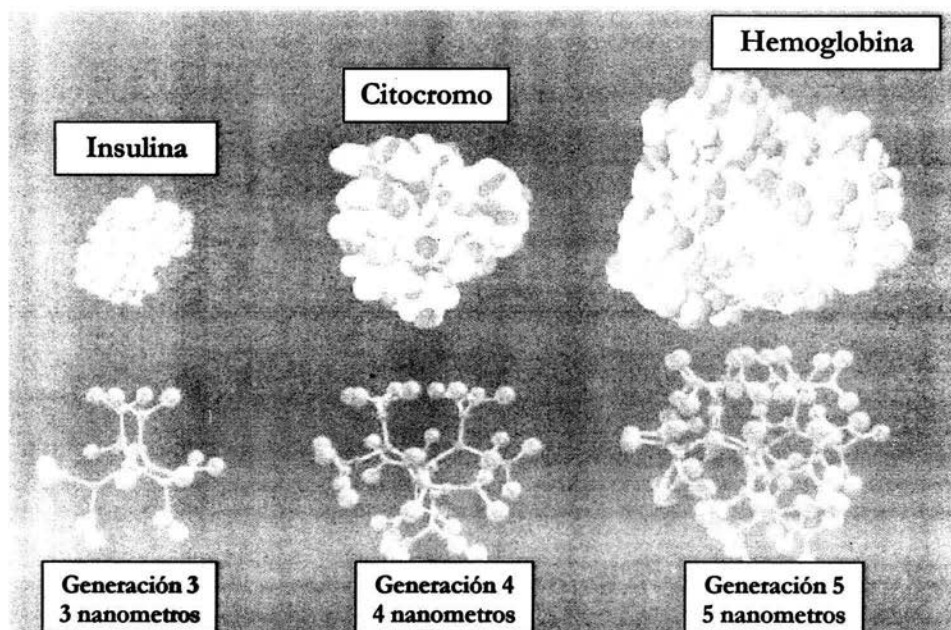


Figura 1.3.1. Dendrímeros y Proteínas

La desventaja de estas macromoléculas radica en que para su preparación se requiere de procedimientos de síntesis por pasos que implican mucho esfuerzo, para obtener al final productos en cantidades muy limitadas.

1.4 Propiedades tipo huésped-anfitrión

Como se mencionaba en la sección anterior, los dendrímeros tienen la propiedad de formar complejos huésped-anfitrión, donde la macromolécula dendrímica es capaz de actuar como un

sistema anfitrión que puede dar cabida a diferentes moléculas en número y tamaño. Para ello es necesario profundizar un poco más en el tema de compuestos huésped-anfitrión.

Los sistemas huésped-anfitrión se basan en el proceso llamado “**Reconocimiento molecular**” que se define como sigue: “Es un proceso que se define por la energía y la información involucrada en el enlace y selección de sustratos por un receptor dado”. Un simple enlazamiento no es Reconocimiento molecular, se requiere la capacidad de leer información externa y almacenarla”.

Son tres los principales factores que se consideran para que se diseñe correctamente un receptor (Ej. dendrímero) en un sistema huésped-anfitrión:

- a) Sitios enlazantes. (propiedades electrónicas, reactividad, arreglo, etc.)
- b) Arquitectura. (forma, tamaño, etc.)
- c) Medio rodeante. (polar, no polar)

El inciso a) se refiere a que los átomos y moléculas pueden interactuar para formar una nueva molécula, con enlaces covalentes, o bien formar una supramolécula con enlaces no covalentes. A diferencia de la química molecular, la cual se basa primordialmente en enlaces covalentes entre átomos (el primer caso), la **química supramolecular** se basa en **interacciones no covalentes** (segundo caso). Esas interacciones, aunadas a las características estereoquímicas y energéticas de las moléculas, hacen posible el diseño, síntesis y estudio de estructuras perfectamente definidas⁹ con funciones específicas, tales como de **reconocimiento molecular** o supramoléculas que simulen el comportamiento de procesos biológicos (Ej. Las proteínas).

Las fuerzas intermoleculares o no covalentes impactan de manera notable a los sistemas huésped-anfitrión y han sido estudiadas sistemáticamente desde hace algún tiempo. Estas interacciones varían en intensidad desde las interacciones iónicas ($100\text{-}350\text{ kJ mol}^{-1}$), los puentes de hidrógeno, hasta las débiles fuerzas (no por ello despreciables) de van der Waals ($< 5\text{ kJ mol}^{-1}$)¹⁰ Para mayor detalle ver la Tabla 1.4.1.

Tabla 1.4.1. Interacciones no covalentes¹¹

Tipo de Interacción	Características
<i>Electrostáticas</i>	Son producidas por la interacción de dipolos. (Puentes de hidrógeno, interacciones de van der Waals, Dipolo–Dipolo, Dipolo–Dipolo Inducido y Dipolo Inducido–Dipolo Inducido.
<i>Puentes de Hidrógeno</i>	Se crea cuando un átomo de hidrógeno, que esta unido a otro átomo formando una molécula polar con carga parcial positiva en el hidrógeno, interacciona con un átomo muy electronegativo, como O, N o F, de otra molécula.
<i>Interacciones de Transferencia de Carga</i>	Debe existir un buen donador de electrones y un buen aceptor de electrones entre los cuales habrá un flujo de carga del donador al aceptor y viceversa.
<i>Interacciones mediante un Ión</i>	Cuando en un sistema se encuentra un ión metálico como centro por ejemplo.
<i>Interacciones Hidrofóbicas</i>	Éstas ocurren en soluciones acuosas de sustancias orgánicas de bajo peso molecular, así como en sistemas bio-macromoleculares y proteínas.

Ya se ha mencionado la importancia de la interacción que debe existir entre el huésped y anfitrión para llevar a cabo dicho sistema. Otro factor que se menciona es el medio rodeante, es decir, el disolvente donde se encuentra el sistema. La polaridad jugará un papel determinante a la hora de llevar a cabo el proceso, sin embargo, los fines de esta tesis no abarcan tal aspecto.

Finalmente, el tercero y tema central de esta tesis es el que se refiere a los aspectos estructurales de la molécula receptora (anfitrión). También conocido como **topología** del receptor, consiste en definir tamaño y forma de cavidad. El tamaño y la forma de cavidad definirá la rigidez o flexibilidad del receptor y con ello quedarán definidas las propiedades de reconocimiento basadas en factores geométricos.

Los dendrímeros muestran propiedades semejantes a las proteínas, no solo en forma y tamaño sino que en su interior ambos tienen espacios vacíos también llamados cavidades. En las proteínas esto se presenta de manera natural y es así como la proteína es más estable energéticamente, mientras que en los dendrímeros es posible hacer un diseño para que estas llamadas cavidades sean lo suficientemente grandes para albergar las moléculas de interés. Esto es posible gracias a la manipulación del tamaño, flexibilidad y naturaleza química del **patrón fractal** del dendrímero.

Varios autores han descrito teórica y experimentalmente la presencia de cavidades en los dendrímeros, así como los distintos factores que son determinantes en la formación y dimensión de éstas (pH y fuerza iónica)¹²

En 1989 Goddard y Tomalia³ hicieron estudios teóricos de los dendrímeros de **PAMAM** (poliamidoamina), mostrando que a altas generaciones (arriba de la cuarta), el aspecto del dendrímero se vuelve globular, encontrándose cavidades en su interior. Como se puede observar en la Figura 1.4.1., se encontró que el dendrímero de **generación 1-3** presentaba una forma asimétrica y abierta, mientras que el de **generación 5-7** tenía una **topología** como el de un esferoide con cavidades en su interior, siendo estas últimas generaciones capaces de encapsular moléculas huésped.

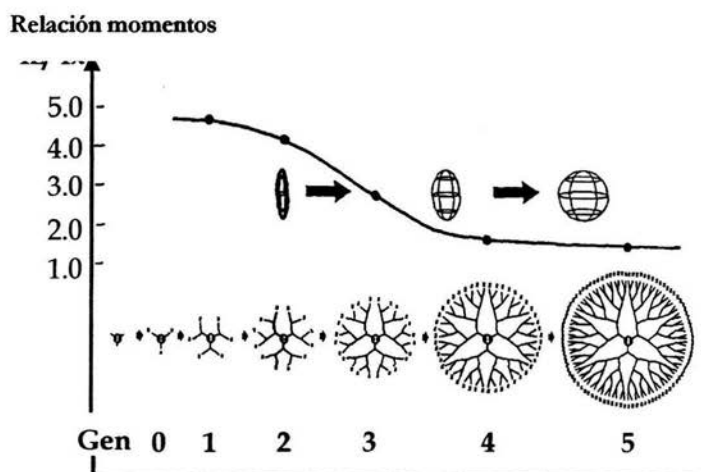


Figura 1.4.1. Topología de los dendrímeros.

La encapsulación basada en el espacio geométrico disponible¹³ de un dendrímero da como resultado generalmente un ovoide o esfera con un radio determinado por el tamaño del núcleo y el número de ramas a su alrededor (generación). En general la encapsulación geométrica de un dendrímero depende de: el patrón fractal, la flexibilidad de éste, la generación de los dendrímeros y por supuesto las interacciones que se dan dentro del dendrímero y con el medio como ya se ha explicado anteriormente.

Más adelante se explicará cómo la encapsulación dendrímica es muy útil en la parte de medicina / farmacia y las distintas formas como se puede llevar a cabo ésta.

1.5 Aplicaciones

Las principales aplicaciones y usos potenciales de los dendrímeros son: revestimiento, agente activador de superficies, catalizadores, modificador de viscosidad, sensor al responder a estímulos (disolventes químicos y luz), termoplásticos, nuevos materiales eléctricos, **aplicaciones en medicina farmacia** y agente descontaminante.

1.6 Aplicación de dendrímeros como acarreadores de fármacos

La aplicación de los dendrímeros en la medicina y química farmacéutica se está convirtiendo rápidamente en una de las áreas de mayor interés de los dendrímeros. Una variedad de aplicaciones han sido exploradas:

Se ha desarrollado un nuevo método en pruebas cardíacas (por DADE internacional Inc. USA.) donde las proteínas presentes en una muestra de sangre se mezclan con dendrímeros sobre una superficie de vidrio. Los resultados muestran si existe algún daño en las fibras musculares que conforman al corazón.

Otra aplicación de suma importancia es el uso de dendrímeros como agentes de contraste para resonancia magnética⁶. Las imágenes por resonancia magnética (MRI) son un método de fácil diagnóstico gracias a las imágenes anatómicas de órganos y vasos sanguíneos.

Otra aplicación no menos importante es cuando los dendrímeros actúan como agentes de transfección (los llamados vectores), en la terapia genética. Los vectores transfieren los genes a través de la membrana celular hasta el núcleo.

La estructura bien definida, compacta globular, forma, tamaño, monodispersidad y funcionalidad en la superficie hacen de los dendrímeros candidatos excelentes como acarreadores / liberadores de fármacos. El dendrímero conocido como **PAMAM** ya ha sido aprobado como anfitrión de moléculas como el ibuprofeno¹⁴ aspirina y el ácido 2,4 diclorofenoxiacético¹⁵ en el laboratorio aunque también existe antecedente de que comercialmente se aplica como¹⁶ suministro de medicamentos controlados, medicamentos y agentes terapéuticos que son alojados en las cavidades del interior y en la superficie de los dendrímeros para controlar la velocidad de liberación de estos fármacos dentro del cuerpo humano.

La empresa australiana Starpharma es líder en la comercialización de dendrímeros para aplicaciones farmacéuticas, teniendo como proyectos actuales el lanzamiento de medicamentos basados en dendrímeros para el año 2008: un gel microbicida para prevención del VIH y otras enfermedades de transmisión sexual en la mujer, agentes quimioterapéuticos, dendrímeros que ataquen enfermedades respiratorias y enfermedades tropicales.

Los dendrímeros pueden ser usados como agentes acarreadores / liberadores de fármacos en al menos dos formas, como se menciona en el siguiente apartado.

1.6.1 La molécula es unida covalentemente a la superficie del dendrímero.

Se observa cuando se acopla directamente el fármaco a la superficie del dendrímero mediante enlaces covalentes. Debido a los numerosos grupos terminales que una estructura dendrímica

puede tener, la cantidad de fármacos que pueden ser acarreados es grande, aunque si bien es cierto esto también depende del tamaño del fármaco. Ha habido diversos estudios de este tipo de complejos, y se ha demostrado que a pesar de que la mayoría de los fármacos son hidrofóbicos cuando estos son unidos al dendrímero en su interior hidrofóbico, sus grupos hidrofílicos en la superficie dan como resultado un complejo soluble.

1.6.2 La molécula es encapsulada físicamente dentro de la estructura dendrímica.

Los parámetros que deben considerarse para llevar a cabo un sistema de este tipo son: las cavidades presentes en el dendrímero y las interacciones de tipo no covalentes; las primeras con el objeto de tener espacio geométrico disponible para albergar al fármaco y las segundas para mantener unido el fármaco al dendrímero sin que esta unión sea demasiado fuerte y que bajo ciertas condiciones (pH, disolvente, etc.) se pueda llevar a cabo su liberación. En este sentido ha habido numerosas investigaciones como la hecha por Meijer²⁴ y colaboradores que reportaron que ciertas moléculas huésped (Ej. Rosa de Bengala) podían ser atrapadas físicamente dentro de la cavidad de un dendrímero de alta generación de poli(propilenimina); sin embargo, su liberación no era una tarea fácil. Por otro lado, Newcome reportó un sistema huésped-anfitrión donde encontró un mayor dominio de las interacciones del tipo puente de hidrógeno¹¹. Es importante aclarar que las interacciones intermoleculares de las que se ha comentado no pueden existir separadas y aunque normalmente una de ellas predomina, el poder discernir el grado de contribución de cada una resulta complicado.

PARTE II Química Computacional

La **Química computacional** permite examinar y modelar la estructura de las moléculas en estudio para obtener valores cuantitativos de energía, propiedades y geometría. Así, mediante este recurso es posible calcular el comportamiento de un compuesto o una reacción sin necesidad de recurrir a varios experimentos.

La Química computacional se subdivide en mecánica molecular y métodos basados en mecánica cuántica. Ambos se usan en la actualidad para el estudio de la estructura y reactividad de las moléculas. A continuación se describen sus características.

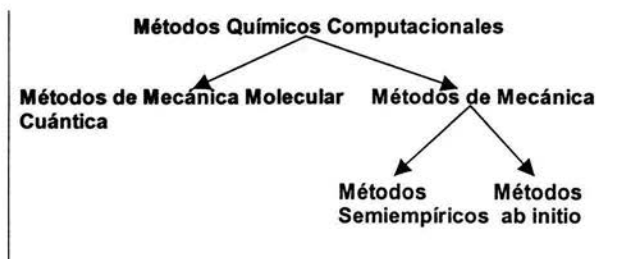


Figura 1.7.1. Métodos de Química computacional.

1.7 Mecánica Molecular

La mecánica molecular usa como principio básico las leyes de la mecánica clásica (**Ley de Hooke**, **Ley de Coulomb**), considerando a los átomos como partículas puntuales (dotadas de masa y energía) e interaccionando unas con otras mediante enlaces que semejan resortes. Ignora los movimientos electrónicos y permite calcular la energía de un sistema como función de las posiciones nucleares¹⁷.

Cada método es diferente y se caracteriza por su “campo de fuerza” que es el resultado de la definición del sistema. Para definir el sistema se toman en cuenta los siguientes componentes:

- a) El conjunto de ecuaciones que determinan cómo varía la **energía potencial** de una molécula con respecto a la posición de los átomos que la componen.
- b) El tipo de átomos, lo que define características y comportamientos diferentes dependiendo del ambiente que lo rodee. Ejemplo: un átomo de nitrógeno en el grupo funcional amina y en el grupo funcional nitro se comporta diferente.
- c) El conjunto de parámetros que relaciona las ecuaciones y los tipos de átomos con los datos experimentales. Estos parámetros pueden ser valores de ángulos y longitudes de enlace necesarias para relacionar las características atómicas y los componentes de la energía en una ecuación.

Las desviaciones a los valores ideales de ángulos y longitudes de enlaces desestabilizan la estructura y aumentan su energía potencial. Este aumento de energía potencial se traduce en energía de tensión de la estructura¹⁸.

La expresión matemática para la energía total potencial, V es:

$$V(r^N) = \sum_{\text{enlaces}} \frac{k_l}{2} (l_i - l_{i,0})^2 + \sum_{\text{ángulos}} \frac{k_\theta}{2} (\theta_i - \theta_{i,0})^2 + \sum_{\text{torsiones}} \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\varphi - \gamma)) + \sum_{i=1}^N \sum_{j=i+1}^N \left[4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \right]$$

Donde LJ representa el potencial de Lennard-Jones:

$$LJ = \left[4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \right]$$

Y Q las interacciones del tipo Coulombico:

$$Q = \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}^2}$$

En la expresión de energía potencial, se observa que en los términos que describen el estiramiento de los ángulos de enlace, se requiere de grandes valores de energía para modificar los valores de referencia. Es así como las variaciones de la estructura y la energía se deben principalmente a modificaciones en los términos de torsión y no enlace¹⁸ En términos generales los componentes principales de un “campo de fuerza” están indicados en la Figura 1.7.2.

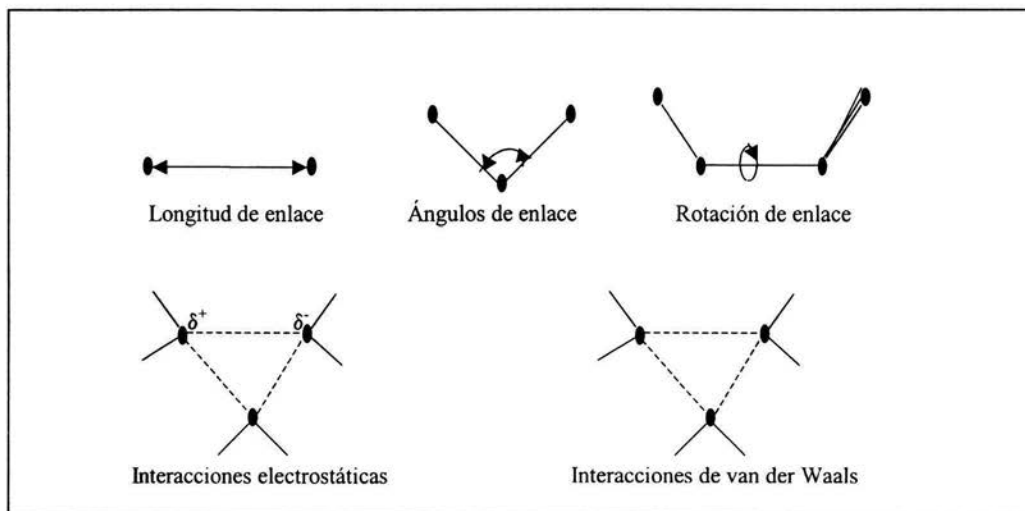


Figura 1.7.2. Representación esquemática de las cuatro contribuciones principales de un campo de fuerza

El término de contribuciones de no enlace se encarga de considerar las interacciones a través del espacio, interacciones tanto electrostáticas como de van der Waals.

La finalidad de un programa de cálculos es buscar la combinación de ángulos de enlace, distancias de enlace, hibridaciones, entre otras, que den como resultado una molécula de energía potencial baja. A este procedimiento se le llama minimización de energía potencial (Figura 1.7.3. y 1.7.4.), dado que la estructura más estable es la menos tensa. La energía absoluta de una molécula en mecánica molecular no tiene un significado físico intrínseco; los valores de energía total serán representativos siempre que se utilicen con fines de comparación entre moléculas (Ej. Cuando dos moléculas forman un complejo y la energía de este es comparada con las energías de las moléculas individuales antes de llevar a cabo el complejo). En el presente trabajo de tesis, se empleó el campo de fuerza MM2 incluido en el programa Chem-3D-Ultra 7.0¹⁹.

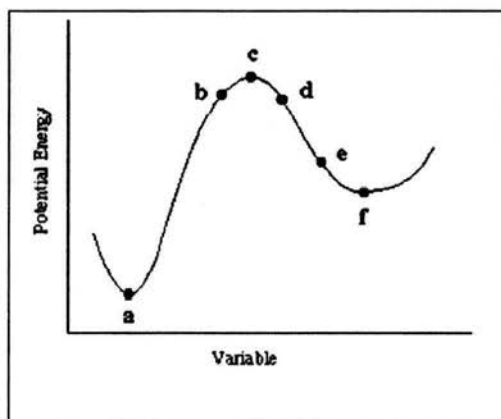


Figura 1.7.3. Dos dimensiones.

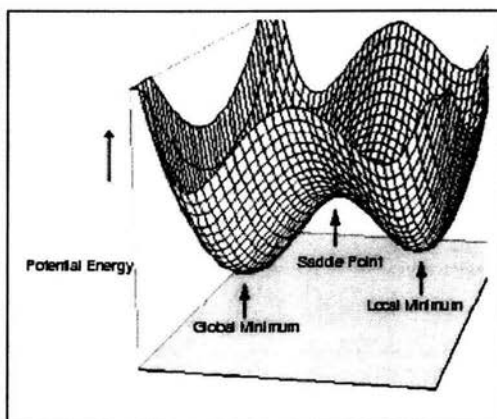


Figura 1.7.4. Tres dimensiones.

1.8 Dinámica molecular¹⁸

La utilización de mecánica molecular para obtener la energía mínima de un sistema, es un primer paso en la búsqueda de un mínimo (de energía) global; es decir, aunque mediante el método de mecánica molecular es posible encontrar un mínimo (de energía), éste no necesariamente será el mínimo global de energía. Existe un método que al igual que mecánica molecular utiliza las leyes de la física, específicamente las leyes integradas de movimiento de Newton: Dinámica molecular (MD). El resultado de aplicar este método es obtener una trayectoria que especifique la variación

de las posiciones y velocidades de las partículas del sistema con respecto al tiempo. Una característica de las simulaciones de dinámica molecular es que la longitud de la trayectoria calculada en un tiempo razonable es varios órdenes de magnitud más corta que cualquier proceso químico y que muchos procesos físicos que normalmente ocurren en nanosegundos o más. Esto permite estudiar propiedades que cambian dentro de intervalos cortos de tiempo tales como fluctuaciones de energía y posiciones atómicas.

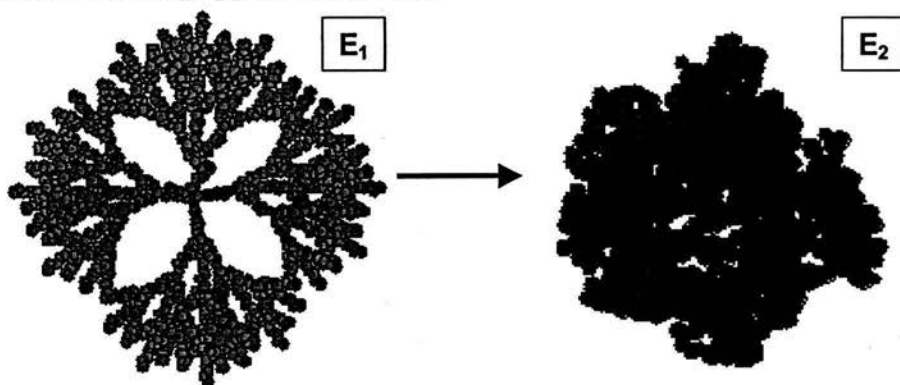


Figura 1.8.1. Dinámica molecular ($E_2 < E_1$).

De manera general, la molécula es calentada a una velocidad y Temperatura determinada con el objetivo de que la molécula pueda tomar diferentes conformaciones a lo largo de la trayectoria de calentamiento. Al final del proceso, se obtiene una cantidad finita de conformaciones que es posible valuar en la búsqueda del **conformero** de menor energía. Si bien es cierto el método no es exacto si nos da una buena aproximación de la estructura más estable de la molécula en estudio. Figura 1.8.1.

Dentro de los modelos que utiliza dicho método se encuentra uno muy simple: considerar a los átomos como esferas rígidas moviéndose a velocidad constante en línea recta entre colisión y colisión, considerando todas las colisiones perfectamente elásticas. La colisión tiene lugar cuando la separación entre los centros de las esferas es igual al diámetro de una de las esferas. En modelos más reales de interacciones moleculares, la fuerza sobre cada partícula cambiará cada vez que

cambie su posición o bien, cada vez que alguna partícula que interacciona con esta, cambie su posición. Bajo la influencia de un potencial continuo, los movimientos de todas las partículas se acoplan, dando lugar a un problema de muchos cuerpos que no puede resolverse analíticamente. En tales circunstancias, las ecuaciones de movimiento se integran mediante diferencias finitas. Este método se utiliza para generar trayectorias de dinámica molecular con modelos de potencial continuo. La idea es que la fuerza total sobre cada partícula se calcula como la suma vectorial de sus interacciones con otras partículas, en una configuración dada al tiempo t . Todos los algoritmos para integrar las ecuaciones de movimiento bajo la metodología de diferencias finitas asumen que las posiciones y propiedades dinámicas (velocidades, aceleraciones, etc.) pueden aproximarse mediante series de Taylor expandidas.

En cuanto a la elección del intervalo de tiempo en dinámica molecular, debe tenerse en cuenta que si éste es demasiado corto, la trayectoria cubrirá solo una parte limitada del espacio de conformaciones y si es demasiado largo, la inestabilidad debida a traslapes de alta energía entre átomos puede reflejarse en el algoritmo de integración. En el caso de moléculas flexibles con enlaces flexibles, el tiempo sugerido para describir movimientos de traslación, rotación, torsión y vibración no debe ser menor de 10^{-15} segundos.

Procedimiento General

- a) Se establece un sistema con una configuración inicial. Dicha configuración puede obtenerse a partir de datos experimentales o un método como mecánica molecular.
- b) Se asignan velocidades iniciales a los átomos y la temperatura de interés.
- c) Se evalúa cada uno de los conformeros para encontrar aquel que tiene la estructura más estable.

1.9 Métodos basados en Mecánica Cuántica¹⁷

Los métodos de estructura electrónica, emplean la mecánica cuántica para estudiar el comportamiento de núcleos y electrones que se consideran partículas puntuales con masa y carga fijas e invariables.

La mecánica cuántica establece que la energía y otras propiedades relacionadas de una molécula pueden ser obtenidas resolviendo la ecuación de Schrödinger¹⁸

$$H\Psi = E\Psi$$

Donde Ψ es la función de onda, H el operador Hamiltoniano y E la energía. Existen tres clases principales de estos métodos:

- b) *Métodos Semiempíricos*
- c) *Métodos ab initio*
- d) *Métodos de Funcionales de la Densidad*

Debido a que no es posible calcular la solución de manera exacta de la ecuación de Schrödinger para sistemas con tres o más partículas interactuando entre sí, la solución únicamente será aproximada. Para ello se introducen una serie de aproximaciones como las siguientes:

- a) Se asume que los núcleos de los átomos no se mueven (*Aproximación de Born-Oppenheimer*)
- b) Se reemplaza la función de onda de muchos electrones por el producto de funciones de onda de un electrón, reduciendo en gran medida el número de cálculos (*Aproximación de Hartree-Fock*)
- c) Se expresan los orbitales como una combinación lineal de un conjunto finito de funciones preescritas o funciones base (*Aproximación LCAO*).

Métodos Semiempíricos.

Los métodos semiempíricos introducen parámetros derivados de datos experimentales dando como

resultado una simplificación y un menor tiempo del cálculo. El resultado dependerá de la existencia de dichos parámetros para evaluar un sistema determinado.

Métodos ab initio

Los Métodos ab initio o de primeros principios, basan sus cálculos solamente en las leyes de la mecánica cuántica y solo en un pequeño número de constantes físicas (Ej. Velocidad de la luz, la masa y carga del electrón, etc.). Las aproximaciones que utilizan éstos métodos son matemáticamente muy rigurosas.

Métodos de Funcionales de la Densidad. (DFT)

Esta tercera clase de métodos de estructura electrónica ha llegado a tener bastante aplicación por las correlaciones electrónicas que involucran. Los cálculos que realizan están basados en la mecánica cuántica y son capaces de calcular la energía de estructuras en donde las **interacciones no covalentes** o bien la ruptura y formación de enlaces son muy importantes.

Una de las aproximaciones inherentes a esencialmente todos los métodos ab initio es la introducción de un conjunto de funciones base. El cálculo de un orbital molecular será más preciso si se utilizan una serie infinita de funciones base, sin embargo eso carecería de sentido por lo que es indispensable presentar una serie finita de funciones base y a medida que ese número de funciones sea mayor se tendrá un cálculo más confiable aunque también más lento.

Evaluando los métodos de cálculo, los métodos de mecánica molecular son muy económicos computacionalmente y les permite ser aplicados en el estudio de sistemas muy grandes que contienen muchos miles de átomos²¹ los métodos semiempíricos predicen con bastante exactitud las energías de los sistemas moleculares si se cuenta con los parámetros necesarios y el gasto computacional es relativamente barato. En contraste los cálculos ab initio predicen con mayor precisión la energía de manera cuantitativa y no están limitados a un tipo de molécula, sin embargo el gasto computacional resulta muy elevado.

1.10 Volumen de disolvente Excluido y Superficie accesible al disolvente²²

Se puede discutir que las moléculas no tienen superficie ni volumen en comparación con la percepción que tenemos de objetos macroscópicos. Sin embargo es de suma utilidad visualizar las moléculas de una manera aproximada que permita definir el volumen que ocupa una molécula en el espacio y sus posibles interacciones tanto en ella misma o con un posible sustrato, prediciendo el comportamiento de éstas a nivel laboratorio.

Las superficies de interés incluyen la superficie de van der Waals, definida como la superficie de la molécula cuando los átomos son considerados como esferas rígidas con radio igual al de Van der Waals (ver Fig. 1.10.1.), la superficie molecular de Connolly (**Am**) y la superficie accesible al disolvente (**SAS**). La superficie molecular y la superficie accesible al disolvente son definidas con ayuda de una molécula de disolvente (también considerada como una esfera rígida) de radio r .

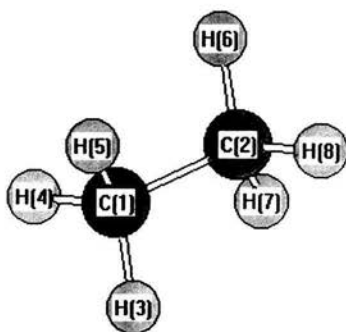


Figura 1.10.1. Modelo de esferas rígidas.

De manera particular, la superficie molecular (**Am**) será aquella en que la molécula de disolvente hace contacto con la superficie de van der Waals; el volumen que se derive de esta superficie es el

volumen de van der Waals. Por otro lado la superficie accesible al disolvente (SAS), está definida por el trazado que parte del centro de la molécula de disolvente cuando esta rodea la superficie de

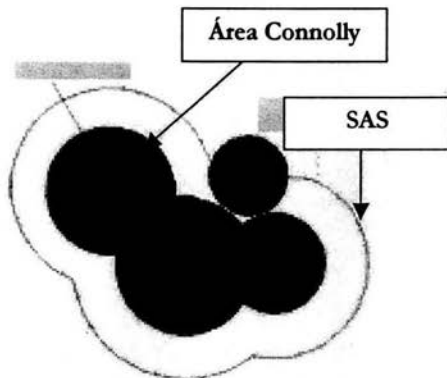


Figura 1.10.2. Área molecular de Connolly.

van der Waals de la molécula de interés; de forma análoga el volumen derivado de esta superficie corresponderá al volumen de solvente excluido (SEV). En otras palabras, ambas superficies toman como base el rodamiento sobre su superficie de la molécula de disolvente, la diferencia radica que el área accesible al disolvente se toma a partir de una distancia r que es precisamente el radio del disolvente. La Figura 1.10.2. y 1.10.3., representa mejor lo dicho anteriormente.

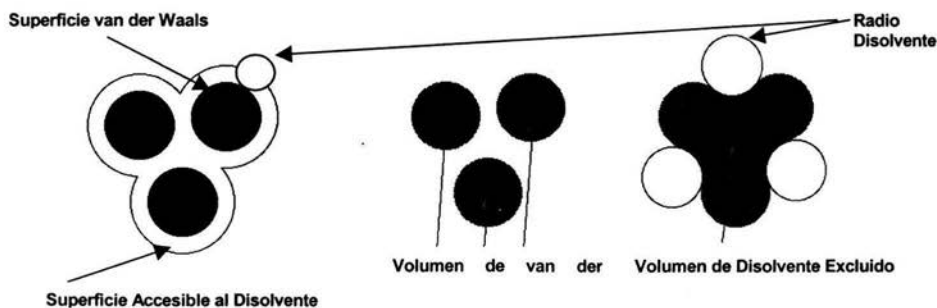


Figura 1.10.3. Área Accesible al Disolvente.

Se han desarrollado para ello varios métodos numéricos y analíticos computacionales para el cálculo de volúmenes y superficies moleculares. La mayoría de estas técnicas involucran una aproximación donde se aplica una descomposición del espacio ocupado por la molécula basándose en figuras geométricas (círculos, triángulos, poliedros, etc.) o una cubierta de superficies con un gran número de puntos. Todas estas técnicas son más o menos precisas y rápidas desde el punto de vista de cálculo computacional. Por otro lado los métodos analíticos, lo que persiguen es obtener expresiones cercanas a la descripción total desde el punto de vista geométrico de la molécula, sin embargo esto no es una tarea fácil y si bien es cierto son técnicas que pueden dar un valor más cercano a la realidad, el tiempo en obtener resultados es mayor que las anteriores aunado a que no es tan práctico aplicarlo a sistemas muy complejos.

Un método analítico empleado desde los años 80's que ha tenido bastante éxito dada su precisión y rapidez fue desarrollado por Michael L. Connolly²² quien pudo elaborar este método basado en la representación gráfica de la molécula, pudiendo calcularse áreas moleculares y volúmenes a partir de la representación de la superficie. A diferencia de representaciones gráficas anteriores, este método muestra solamente los átomos que son accesibles a una esfera de disolvente. Desde su creación hasta nuestros días este método se ha aplicado en enzimología, diseño racional de fármacos y al entendimiento del DNA.

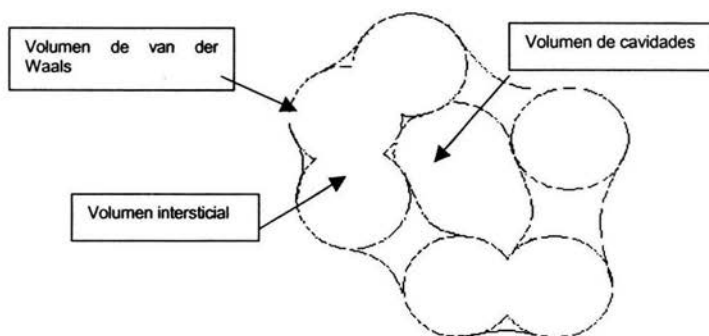


Figura 1.10.4. Volumen de cavidades.

En todos los casos lo que se requiere es el cálculo y una representación lo suficientemente precisa de la superficie y el volumen. Otra información muy útil es el cálculo de huecos o cavidades presentes en la molécula que pueden ser calculados de manera indirecta cuando se aplica el siguiente criterio:

Entonces tenemos que si el:

$$V_{TOTAL} = [V_{vanderWaal\ s} + V_{Cavidades} + V_{Intersticial}]$$

Aproximando

$$V_{TOTAL} \approx SEV$$

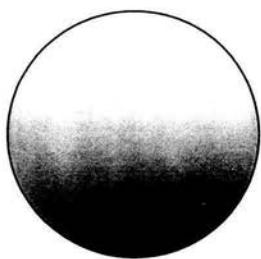
$$V_{Intersticial} \approx 0$$

$$V_{Cavidades} = [SEV - V_{vanderWaal\ s}]$$

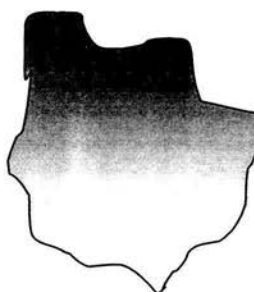
Otro parámetro geométrico utilizado para describir a las moléculas es la **Ovalidad**, que está definida como la relación:

$$Ov = \frac{\text{ÁreaSuperficieMolecular}}{\text{ÁreaSuperficieMínima}}$$

El Área Superficial Mínima se refiere al área superficial de una esfera, lo que quiere decir que una esfera perfecta tendría una $Ov = 1$ y a medida que se va perdiendo el aspecto esférico la Ov será mayor que 1. Ver Fig. 1.10.4.



$Ov = 1$



$Ov > 1$

Figura 1.10.5. Ovalidad.

Capítulo 3

METODOLOGÍA

Todas las estructuras: dendrímeros, fármacos y compuestos huésped-anfitrión (fármaco-dendrímero) fueron generados en el programa de Química computacional Chem-3D-Ultra 7.0.

Los dendrímeros generados tienen dos tipos de patrones fractales descritos a continuación:

- a) Dendrímero conformado por el grupo oxo y amida (en lo subsiguiente **denamida**):

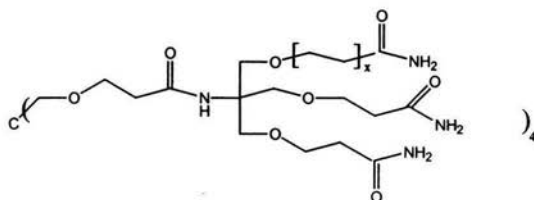


Figura 2.1. denamida.

- b) Dendrímero conformado por el grupo oxo y urea (en lo subsiguiente **denurea**):

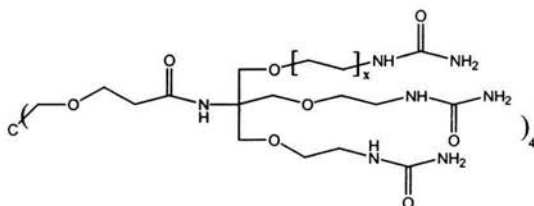


Figura 2.2. denurea.

Para mayor detalle de la constitución y nomenclatura de un dendrímero cualquiera ver **Anexo A**.

Estas “ramas” con un patrón fractal característico son colocadas en un punto focal que tiene su base en el pentaeritriol. Si bien este trabajo no tiene alcances de síntesis de dendrímeros, el siguiente esquema (Figura 2.3.) explicará cómo es la síntesis del primero de ellos para tener una idea más clara de cómo se está atacando el problema desde el punto de vista de Química computacional.

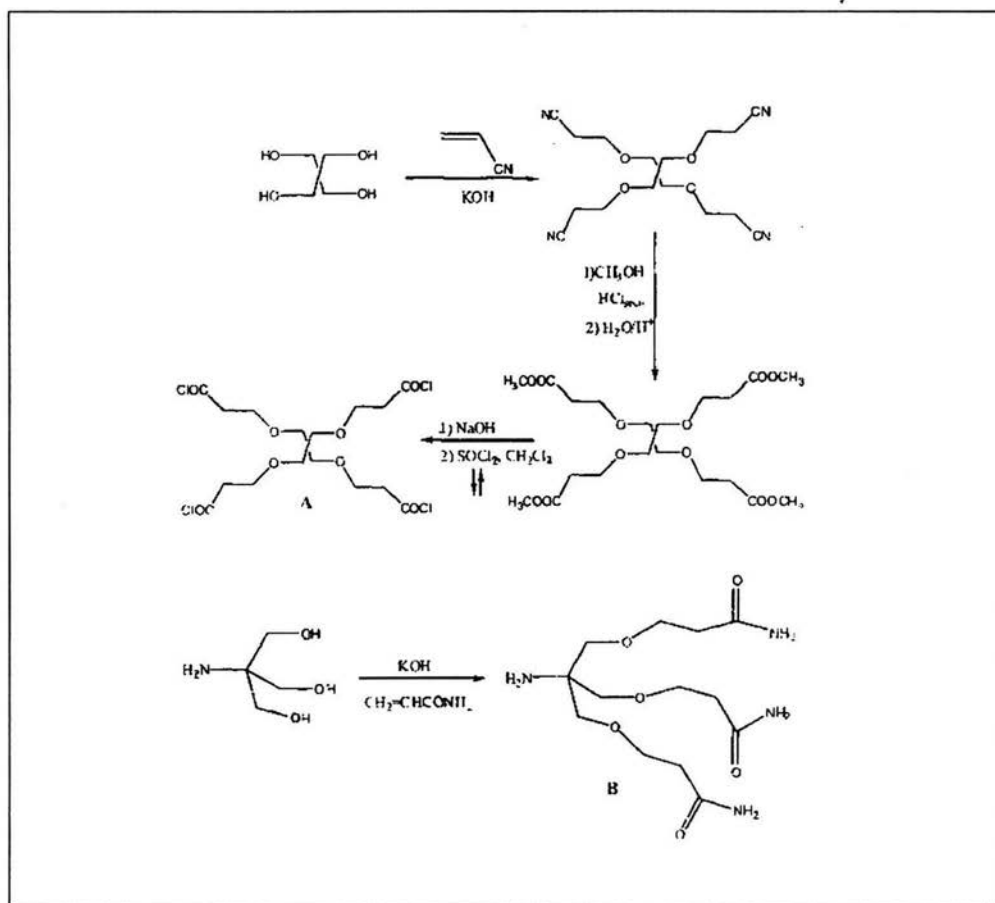


Figura 2.3. Síntesis 1ª Generación.

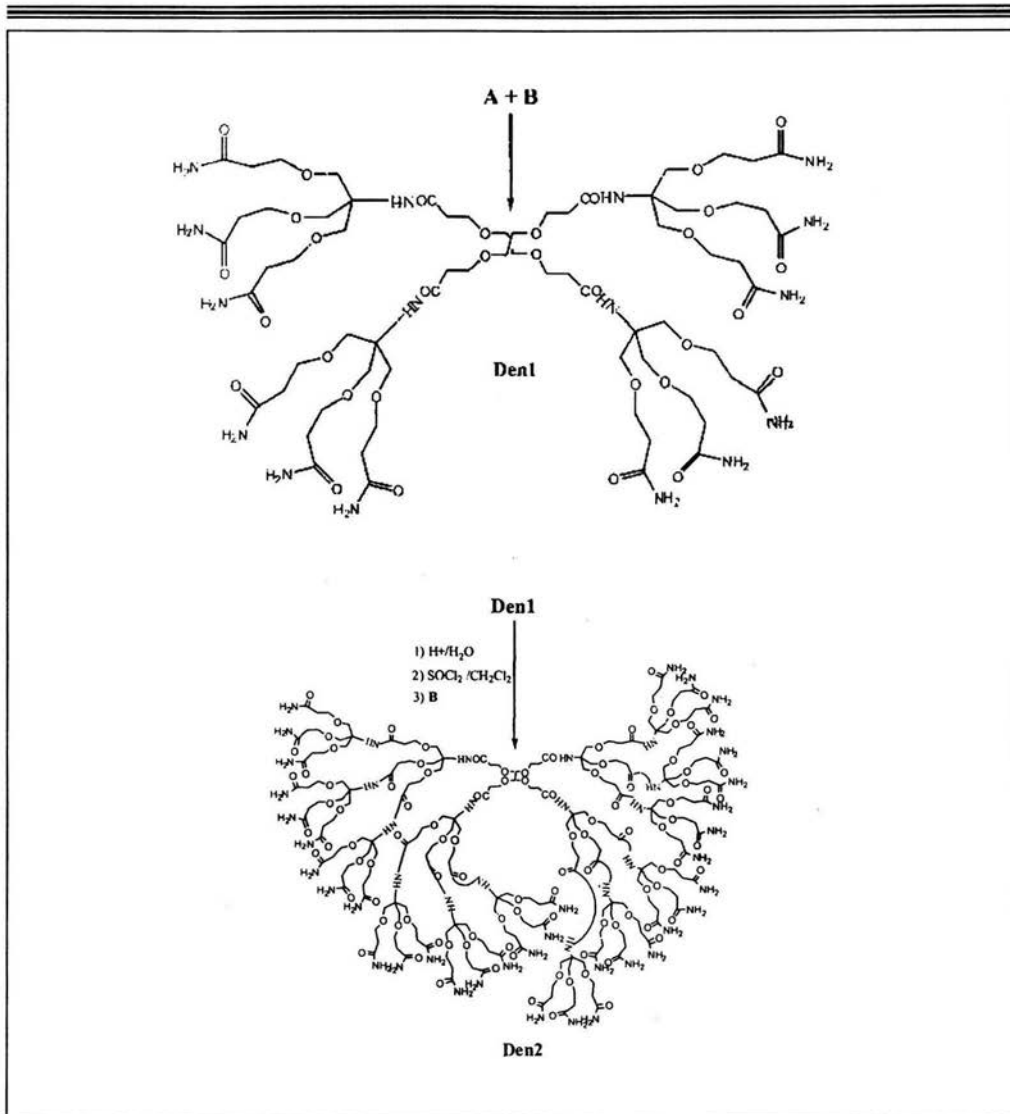


Figura 2.3. continuación.

El patrón fractal utilizado con grupos amida, urea y oxi tiene su fundamento en la existencia del tipo y número de puntos de interacción así como la flexibilidad (x) y polaridad que redundará en una mejor solubilidad. Los grupos funcionales (grupo amida, urea y oxi) son grupos que dan origen

a interacciones del tipo puentes de hidrógeno, idóneas considerando los grupos polares (-O-, OH, COOH) que poseen los distintos fármacos.

Las principales variables que se manipularon fueron las siguientes:

- a) **Longitud de cadena (x)** (# de carbonos en la cadena alifática) (2,3,4,5 y 6)
- b) **Generación (G)** (2,3 y 4)

Para encontrar las estructuras más estables se utilizó el método de Dinámica Molecular (**MD**). Estos cálculos se llevaron a cabo a una velocidad de calentamiento de 1 Kcal. / Átomo / fs¹ (siendo esta velocidad la que determina el monto de energía que se proporciona al sistema para que llegue al equilibrio) y una temperatura de 300 K (temperatura que se alcanza en el proceso). Posteriormente mediante Mecánica Molecular (**MM**) se llevó a cabo la optimización de cada **conformero** (estructura con una energía de estabilización característica) obtenidos mediante **MD**; el campo de fuerza utilizado fue el **MM2** que tiene parámetros de interacciones electrostáticas y de van der Waals que mejoran la velocidad de cálculo para sistemas moleculares grandes como el que se está estudiando; es decir, las energías de interacción entre dos cargas separadas por una distancia r es proporcional a $1/r$, algunas interacciones como carga-dipolo, dipolo-dipolo y energías de van der Waals tienen términos como $1/r^3$ y $1/r^6$, éstos son los términos que en determinado momento se desprecian para tener un cálculo más rápido pero no por ello erróneo.

Por otra parte, las 12 estructuras de fármacos utilizadas fueron: Ivermectina B1a-B1b, Avermectina B1a-B1b, Milbemicina oxime A3-A4 y Moxidectina del grupo de las **Lactonas macrocíclicas**, y Oxiclozamida, Brotiamida, Closantel, Clioxamida y Niclosamida del grupo de los **Salicilanilidos**. La simulación molecular se llevó a cabo acorde al procedimiento utilizado para los dendrímeros descrito anteriormente.

¹ 1 femtosegundo (fs) = 1×10^{-15} seg.

Posteriormente se llevó a cabo un análisis principalmente geométrico de las estructuras dendríméricas como posibles encapsuladores de los fármacos y un análisis preliminar de la energía de interacción de los sistemas dendrímero-fármaco (unidos mediante **interacciones no covalentes**).

En primera instancia, utilizando las estructuras más estables se realizaron cálculos de volúmenes basándose en el **Algoritmo de Connolly** para calcular el SEV (Volumen de disolvente excluido) y el **Volumen de van der Waals** con el objeto de calcular el **volumen de cavidades**. Este algoritmo, incluido también en el paquete **Chem3D-Ultra**, obtiene de manera directa el SEV únicamente ajustando el parámetro p (ver Antecedentes, Pág. 25); ajuste que será explicado en la parte de Resultados y Análisis;. En cuanto al Volumen de van der Waals, éste es obtenido aproximando p a cero. En lo que respecta al volumen de cavidades, éste se obtiene de manera indirecta:

$$V_{cavidades} = (SEV + V_{vanderWaals})$$

Otras propiedades como el área de disolvente excluido, **ovalidad** y densidad fueron obtenidas directa o indirectamente utilizando este mismo algoritmo (Connolly).

Posteriormente, se generaron los complejos dendrímero-fármaco y una vez más, con los métodos de **MD** y **MM** bajo las mismas condiciones, se encontraron las estructuras más estables para llevar a cabo un análisis energético de tipo semicuantitativo, considerando que el nivel de teoría utilizado no es lo suficientemente alto como para considerarlo netamente cuantitativo, únicamente es usado con fines comparativos entre los diferentes sistemas.

Para encontrar la energía del complejo dendrímero-fármaco se empleó el **Método diferencial o de variación** que estima indirectamente las energías de los compuestos huésped-anfitrión como la diferencia entre la energía de sistema huésped-anfitrión y las energías individuales (huésped y anfitrión)¹¹:

$$\Delta E = [E_{huésped-anfitrión} - (E_{huésped} + E_{anfitrión})]$$

Donde:

$$E_{\text{huésped}} = E_{\text{fármaco}} \quad E_{\text{anfitrión}} = E_{\text{dendrímtero}}$$
$$E_{\text{huésped-anfitrión}} = E_{\text{fármaco-dendrímtero}}$$

Ésta es una forma rápida y menos demandante para el cálculo de dicha energía ya que en este trabajo se estudian sistemas moleculares grandes y algún otro método implicaría un costo computacional mucho mayor.

Al ser un trabajo totalmente teórico se utilizó un trabajo análogo que presenta resultados experimentales de laboratorio y corrobora de esta forma la validez de los resultados obtenidos teóricamente. El sistema huésped-anfitrión de referencia utilizado fue el ibuprofeno-PAMAM (fármaco usado como antiinflamatorio que pertenece a la clase de los ácidos propiónicos y dendrímtero de poliamido amina de 3^a y 4^a G). Este sistema tiene, por un lado, un dendrímtero de peso molecular y grupos funcionales similares a aquellos presentes en los dendrímteros considerados en esta tesis (por Ej. tiene grupos amida pero no tiene oxi ni urea) y, por otro lado, una molécula huésped como el ibuprofeno, que tiene fines farmacéuticos.

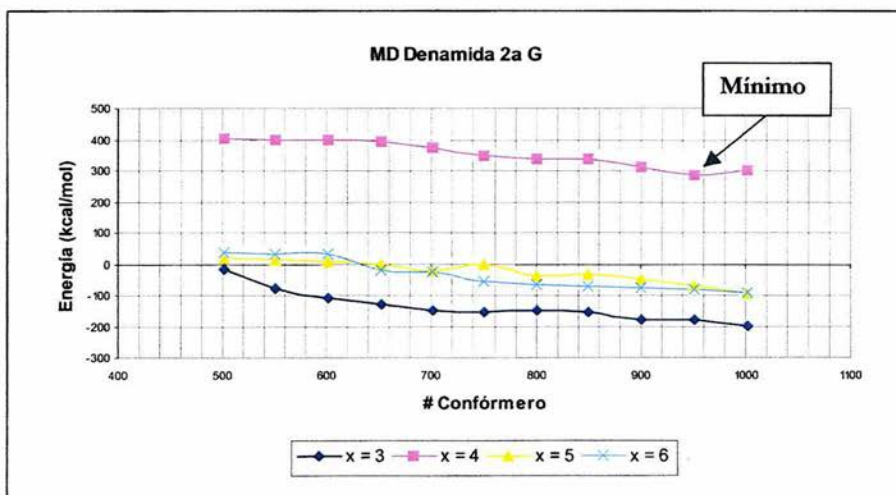
Todos los cálculos fueron hechos al vacío, es decir sin la presencia de un factor externo como el disolvente. Esta condición al vacío se compara con las condiciones teta: de solubilización muy pobre.

Capítulo 4

RESULTADOS Y ANÁLISIS

4.1 Generación de estructuras y Dinámica Molecular(MD).

Las gráficas 4.1.1. y 4.1.2. muestran el comportamiento de las dos familias de dendrímeros estudiadas (denamida y denurea ver Figura 2.1 y 2.3) cuando se aplica el método de Dinámica Molecular (MD) en conjunto con el de Mecánica Molecular bajo ciertas condiciones (vc.ⁱⁱ de 1 kcal / átomo / fs y T de 300 K). El objetivo de estos métodos como se mencionaba en el capítulo anterior es encontrar el **confórmero** más estable o de menor **energía potencial**. En la gráfica únicamente se muestran los dendrímeros de 2^a **generación**, variando la **longitud de cadena** (x), una de las variables manipuladas en esta trabajo. Se puede apreciar que en general, el confórmero que presenta el mínimo de energía está en la parte de extrema derecha de la gráfica para ambas familias.



Gráfica 4.1.1. Dinámica Molecular de denamida.

ⁱⁱ Vc = Velocidad de calentamiento

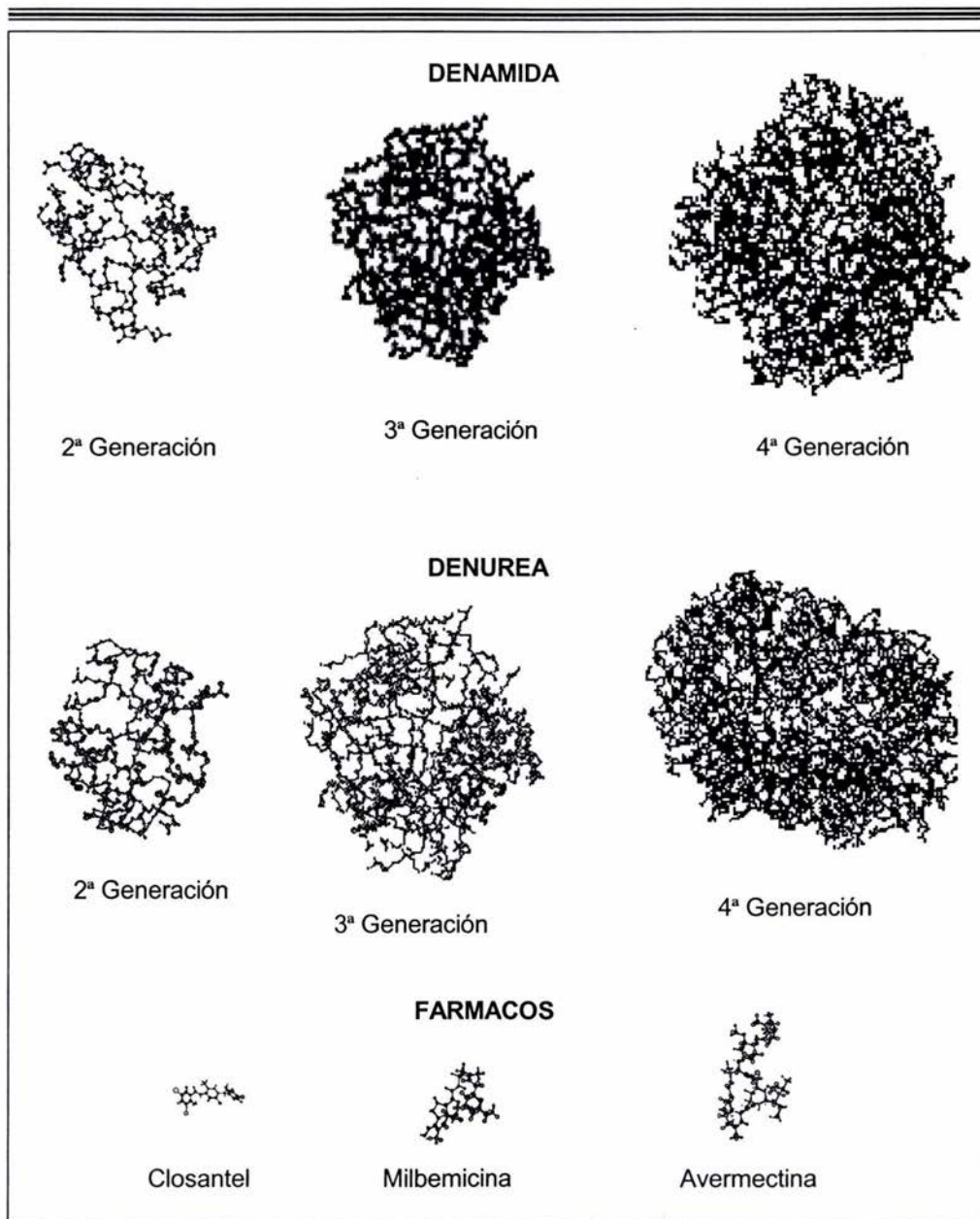
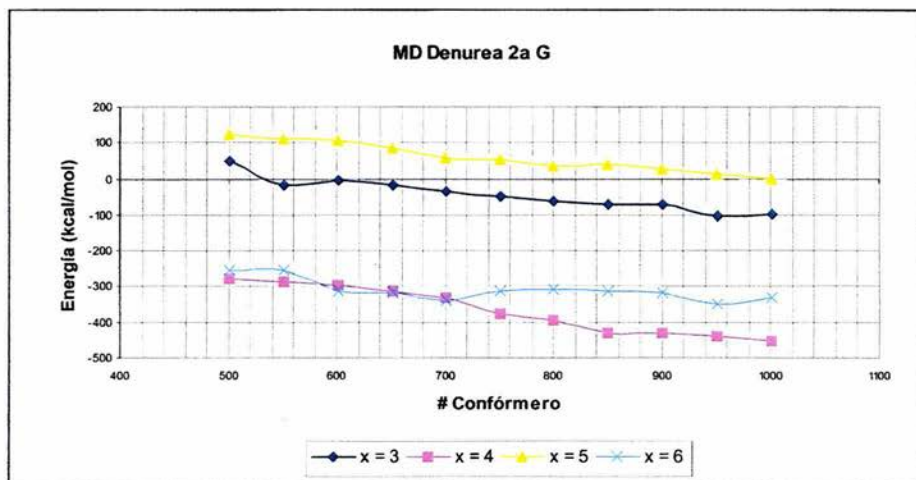


Figura 4.1.1. Relación de tamaños.



Gráfica 4.1.2. Dinámica molecular de denurea.

Para la familia **denamida** de 2^a generación, de los 4 casos presentados, únicamente en uno ($x = 4$) se observa que el mínimo se presenta en un conformero diferente del último ($\# C = 1001$). Se grafica la Energía (Kcal. / mol) vs $\#C$ (número de conformero), en donde se representa cada una de las estructuras con sus respectivas energías características a lo largo de toda la trayectoria. Como se puede observar el dendrímero con una $x = 3$ representa la estructura más estable energéticamente hablando, mientras que aquella con una $x = 4$ es la menos relajada. Esto se observa no solo comparando con los otros patrones fractales ($x = 3, 5$ y 6) sino también por su valor positivo de energía.

Para la familia **denurea** de 2^a generación, existen dos casos de estructuras cuyos valores de energía son los más favorables ($x = 4$ y 6); al igual que en **denamida**, **denurea** presenta un conformero con energía desfavorable (valor cercano a cero), tal es el caso del conformero cuya x es igual a 5.

En ambos casos no se observa una relación directa entre la energía de estabilización y la longitud de la cadena (x). En general, las dos familias presentan estructuras individuales que tienen energías

de estabilización favorables (valor negativo), esto es importante señalarlo porque tendrá una repercusión directa cuando se forma el complejo dendrímero-fármaco. Esto significa que una energía de estabilización demasiado buena (negativa, estable) quizás sea un impedimento para formar posteriormente un complejo, ya que la interacción que existe en el interior del dendrímero podría entrar en competencia con aquella que se da con el fármaco y hacer menos estable al complejo dendrímero-fármaco. Dicho lo anterior, los dendrímeros del tipo **denamida** presentan energías favorables pero no tan negativas en comparación con las de **denurea**, lo que puede repercutir en una interacción más favorable con los fármacos a tratar.

Pesos moleculares

A continuación se presentan dos tablas, la 4.1.1. indica los distintos pesos moleculares de las estructuras dendríméricas a estudiar, de acuerdo a las variables consideradas: **longitud de cadena (x)** y **generación (G)**. La tabla 4.1.2. indica los pesos moleculares de los fármacos de los dos grupos de antihelmínticos (Lactonas macrocíclicas y Salicilanilidos).

Tabla 4.1.1 Pesos moleculares de dendrímeros.		
Longitud de cadena (x). G(2)	Denamida	Denurea
	PM (u.m.a.)	PM (u.m.a.)
2	16922.30	19264.60
3	6171.26	6891.96
4	6844.55	7565.26
5	7517.85	8238.55
6	8191.14	8911.85
Generación (G) (x = 2)	Denamida	Denurea
2	5497.96	6218.67
3	16922.30	19264.60
4	51195.4	58402.5

Como se puede apreciar en la primera tabla, la variación del peso molecular respecto a la generación es notable siendo en términos prácticos de aproximadamente 3 veces de generación a generación. Por otro lado, la variación del peso molecular cuando la variable es la longitud de cadena es mucho menor. Esto se entiende debido a la cantidad de grupos que se agregan al aumentar de generación a generación (G), en comparación con el aumento de longitud de cadena (x). Definitivamente la introducción de un Nitrógeno (N) al patrón fractal en la familia **denurea** tiene como consecuencia un aumento en el peso molecular respecto a la otra familia (**denamida**).

Tabla 4.1.2. Pesos moleculares de los fármacos.		
Fármaco		PM (g / mol)
Lactonas macrocíclicas		
	Avermectina B1a	873.0
	Avermectina B1b	859.0
	Ivermectina B1a	875.1
	Ivermectina B1b	861.0
	Milbemicina Oxime A3	541.0
	Milbemicina Oxime A4	555.0
	Moxidectina	639.8
Salicilanilidos		
	Oxyclozamida	401.5
	Brotiamida	463.6
	Closantel	663.0
	Clioxamida	541.5
	Niclosamida	327.1

En general, los pesos moleculares de los fármacos comparados con los dendrímeros son inferiores y del orden de 10^2 - 10^3 . Las estructuras de cada uno de ellos se presentan a continuación, nótese que casi todas ellas tienen grupos polares como oxi e hidroxilo, siendo compatibles con los patrones fractales de las dos familias de dendrímeros elegidas para este trabajo.

Avermectinas

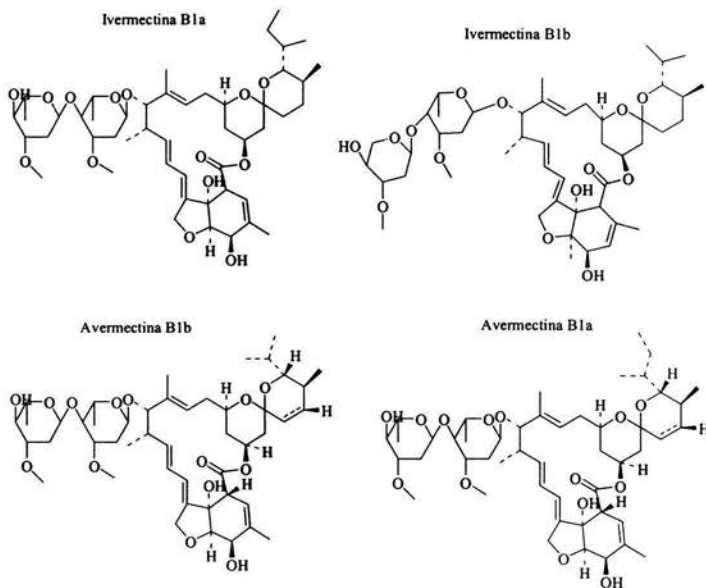
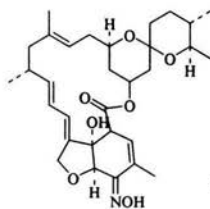


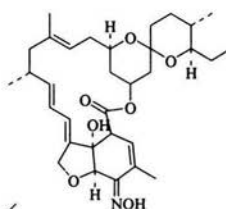
Figura 4.1.2. Estructura química de los fármacos.

Milbemicinas

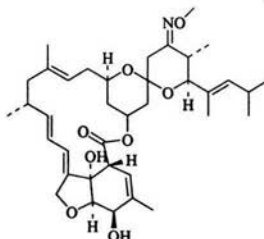
Milbemicina oxime A3



Milbemicina Oxime A4

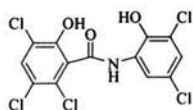


Moxidectina

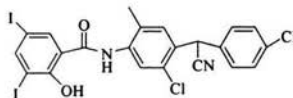


Salicilanílicos

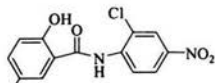
Oxiclozamida



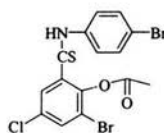
Closantel



Niclosamida



Brotiamida



Cliozamida

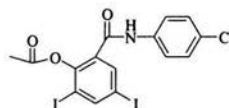


Figura 4.1.3. Continuación.

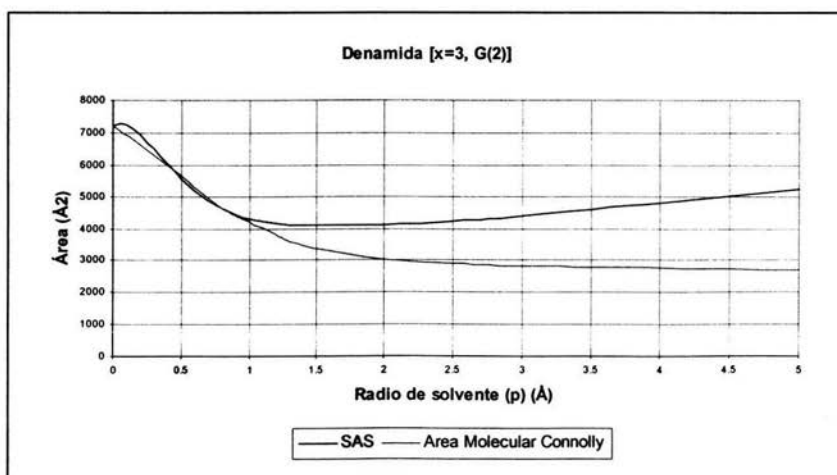
4.2 Análisis Geométrico del receptor

El análisis de esta tesis se centra principalmente en el aspecto geométrico del receptor, es decir del dendrímero. Una vez encontrada las estructuras más estables, en este apartado se lleva a cabo un análisis geométrico de las dos familias de dendrímeros (**denamida** y **denurea**) respecto a la longitud de cadena (x) y la generación (G). Para ello, la cuantificación del volumen de cavidades de las dos familias de dendrímeros fue indispensable. Ello se realizó mediante el método de Volumen de Disolvente Excluido basado en el Algoritmo de Connolly (ver Antecedentes Pág. 26).

$$V_{\text{cavidades}} = (SEV + V_{\text{vanderWaals}})$$

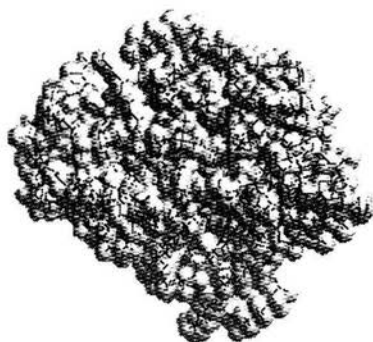
Radio del disolvente idóneo (p)

Para aplicar este método, (SEV) el primer paso fue encontrar un **radio de disolvente (p)** adecuado que permitiera calcular el volumen total (SEV) sin sobreestimarlos, y evitando con ello una repercusión en el valor del volumen de cavidades. Fue indispensable el uso de dos variables ya comentadas en los antecedentes: el área accesible al disolvente (SAS) y el **Área Molecular de Connolly (Am)**, que tienen

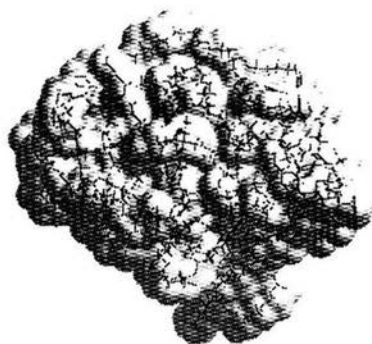


Gráfica 4.2.1. Radio del disolvente (p) óptimo para denamida 2ª G y x = 3

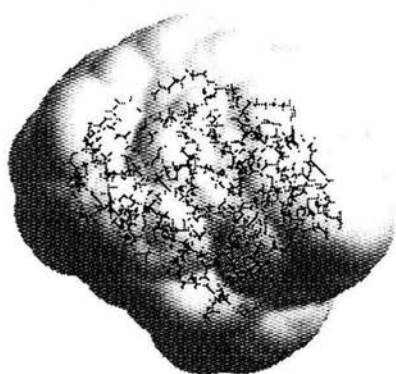
su principio en el algoritmo de Connolly al graficar ambas áreas con respecto al radio del disolvente (p), se encontraron dos comportamientos distintos (ver gráfica 4.2.1). En primera instancia, se observa que a medida que el radio de disolvente se aproxima a cero, el área accesible al disolvente (SAS) y el área molecular de Connolly (A_m) convergen y estrictamente hablando llegan a ser la misma área, es decir, el área correspondiente a la de van der Waals. Por otro lado, a medida que el radio crece, el área molecular permanece constante ya que representa la forma intrínseca de la molécula; mientras que el SAS se incrementa, con una consecuente pérdida de detalles estructurales (ver Figura 4.1.2)



Radio $p = 0.1$ cercano a la Superficie y Volumen de van der Waals



Radio $p = 1.4$ radio idóneo



Radio $p = 10$ Superficie y Volumen sobreestimado

Figura 4.1.2. Área accesible al solvente a diferentes p 's.

El radio de disolvente óptimo, que fue usado más tarde para calcular las cavidades de la molécula, se encontró a partir de la misma gráfica, tomando en consideración solo el comportamiento que tiene el SAS respecto al radio de disolvente. El radio óptimo es aquel que corresponde al punto de inflexión (el mínimo) en la gráfica. Siguiendo este procedimiento, el radio de disolvente elegido para cada una de las moléculas dendriméricas se presenta a continuación en la tabla 4.2.1.

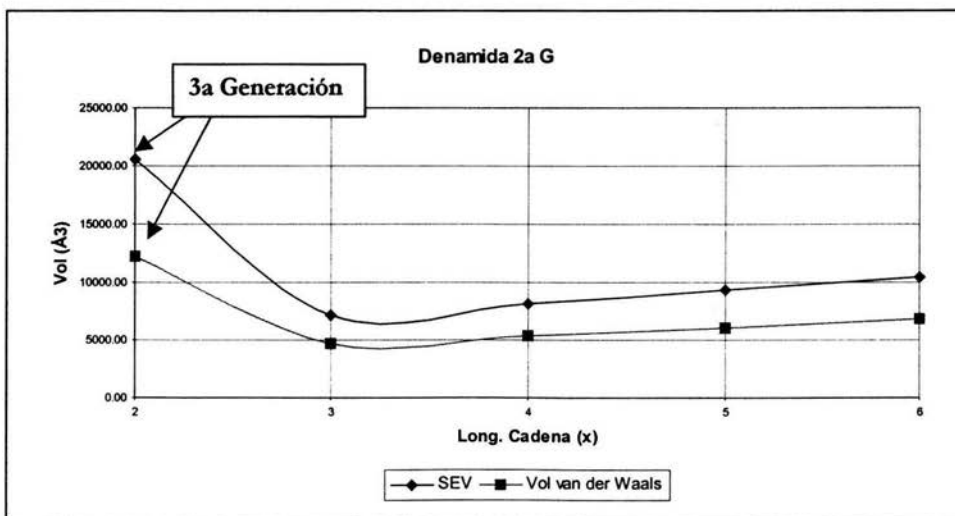
Tabla 4.2.1. Radio óptimo.			
		Denamida	Denurea
		p óptimo	p óptimo
Longitud de cadena (G2)	3-6	1.7	1.4
Generación (x = 2)		p óptimo	p óptimo
	2	1.4	1.4
	3	2.5	2.5
	4	3.4	3.4

Variación de longitud de cadena

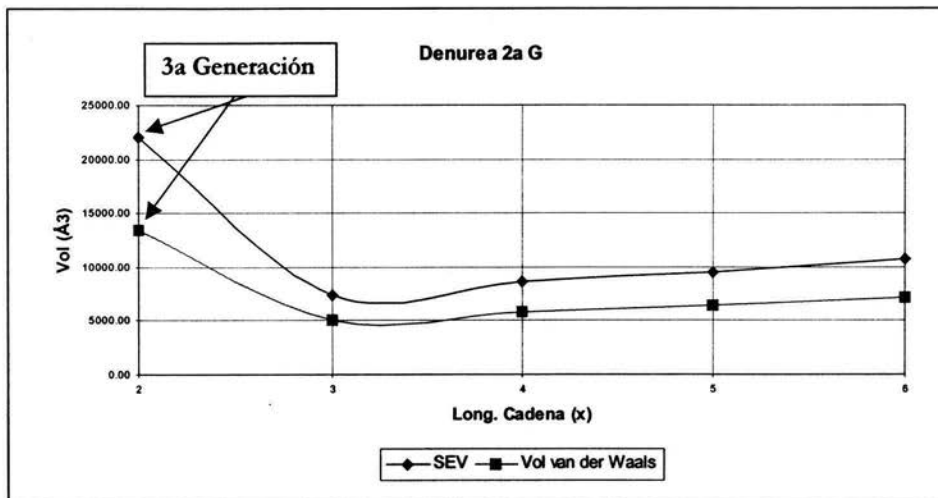
Una vez encontrados los radios óptimos fue posible comenzar el análisis de las dos familias de dendrímeros, utilizando como primera variable la longitud de cadena (x). La tabla 4.2.2. muestra los valores de SEV y Volumen de van der Waals para aquellos dendrímeros de segunda generación.

Las gráficas 4.2.2. y 4.2.3. muestran el comportamiento que tienen los dos tipos de volúmenes cuando x se incrementa. La diferencia entre el SEV y el Volumen de van der Waals representa el volumen de cavidades. Se aprecia gráficamente que esa diferencia se incrementa de manera paulatina conforme la longitud de cadena aumenta. Los valores correspondientes a las terceras generaciones se indican en las gráficas. Se puede observar que no solo es notable el incremento en ambos volúmenes, sino que también la diferencia en dendrímeros de una generación mayor, crece notablemente.

Tabla 4.2.2. SEV y Volumen de van der Waals.			
	Longitud de cadena (x)	denamida (Å ³)	denurea (Å ³)
Volumen			
SEV	3	7087.26	7442.58
	4	8140.00	8584.53
	5	9334.87	9511.38
	6	10467.00	10731.00
Van der Waals	3	4650.71	5034.67
	4	5348.03	5731.16
	5	6037.42	6417.17
	6	6752.97	7126.26



Gráfica 4.2.2. SEV y Volumen de van der Waals vs x (denamida).



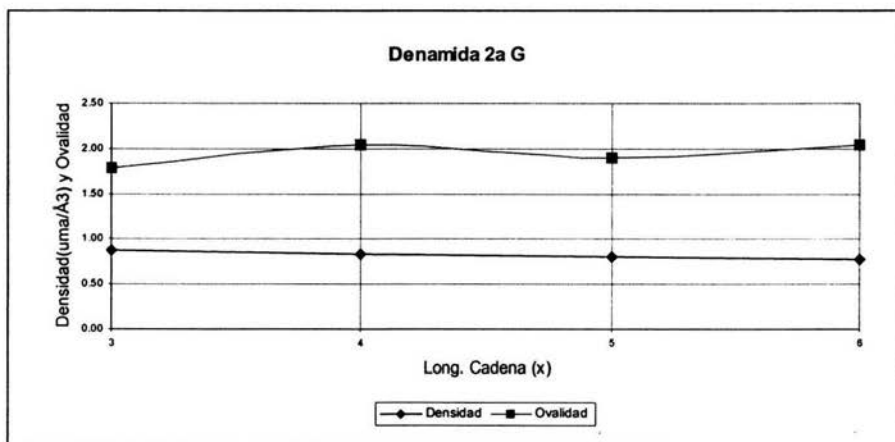
Gráfica 4.2.3. SEV y Volumen de van der Waals vs x (denurea).

Ovalidad y densidad. Otras dos propiedades que se calcularon para evaluar el comportamiento de los dendrímeros variando la longitud de cadena, fueron la ovalidad y densidad. La primera indica que tan globular es la estructura dendrímica mientras que la segunda está directamente relacionada con las cavidades que presenta el dendrímero.

	Longitud de cadena (x)	denamida (Å ³)	denurea (Å ³)
Ovalidad	3	1.782	1.858
	4	2.038	1.984
	5	1.891	2.102
	6	2.035	2.290
Densidad	3	0.87	0.93
	4	0.84	0.88

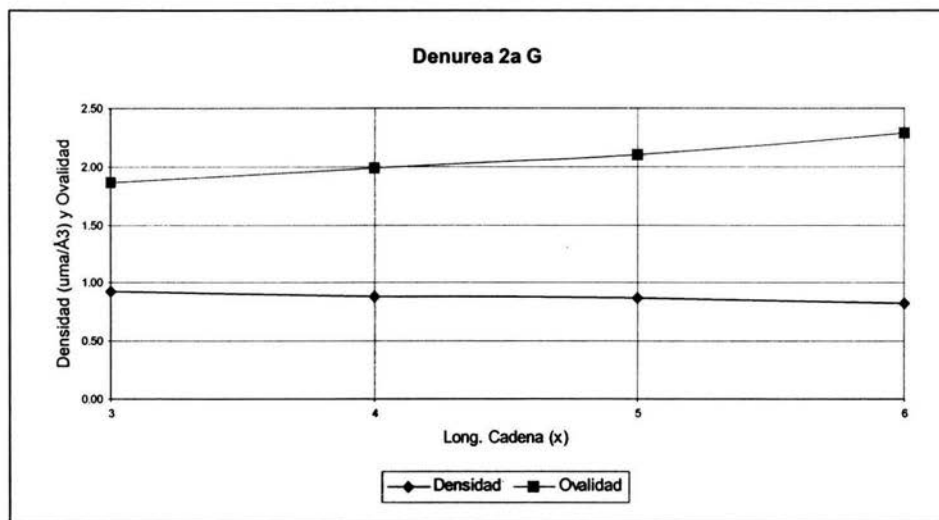
	Longitud de cadena (x)	denamida	denurea
	5	0.81	0.87
	6	0.78	0.83

Nota: Las unidades de la densidad son: u.m.a. / Å³.



Gráfica 4.2.4. Densidad y Ovalidad vs x (denamida).

De acuerdo a la tabla 4.2.3., la familia **denamida** presenta las estructuras menos densas en comparación con las de **denurea**. Remontándonos a la tabla 4.1.1. la familia **denurea** tiene pesos moleculares más elevados, sin embargo no es el motivo por el que tenga una mayor densidad, puesto que presenta también volúmenes moleculares (SEV) más elevados. Una posible explicación a ello es la presencia de un mayor volumen de cavidades en la familia **denamida**, dando como resultado una proporción masa / volumen menor que en la familia **denurea**.

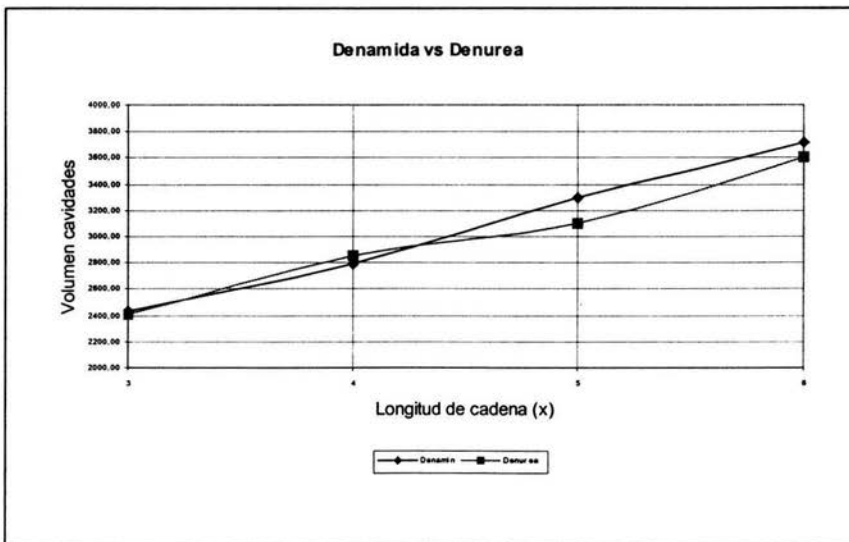


Gráfica 4.2.5. Densidad y Ovalidad vs x (denurea).

En ambas familias, la densidad disminuye y la ovalidad aumenta a medida que crece x . Esto significa que un aumento en la longitud de cadena trae como consecuencia un dendrímoro menos denso y menos globular. La disminución en la densidad encuentra su explicación en el aumento de los pesos moleculares y volúmenes moleculares, en ambas familias el incremento en los pesos moleculares es constante ($m_6 - m_5 = m_5 - m_4 = m_4 - m_3$, etc.), mientras que el incremento en los volúmenes moleculares crece a medida que crece x ($v_6 - v_5 > v_5 - v_4 > v_4 - v_3$, etc.). En otras palabras, el volumen aumenta más de lo que aumenta el peso molecular del dendrímoro para una variación de x determinada.

Vol. cavidades y % Cav. Una de las maneras de evaluar dos tipos de receptores (**denamida** y **denurea**) desde el punto de vista geométrico, es la comparación directa de sus volúmenes de cavidades. Ya se había hecho hincapié anteriormente que los valores de densidad eran un indicativo de un mayor volumen de cavidades en la familia **denamida**, sin embargo es mediante la presentación de resultados en la tabla 4.2.4. que se corrobora esto.

Tabla 4.2.4. Volumen y % Cavidades.			
	Longitud de cadena (x)	Denamida	Denurea
		(Å ³)	(Å ³)
Volumen	3	2436.55	2407.91
	4	2791.97	2853.37
	5	3297.45	3094.21
	6	3714.03	3604.76
% Cavidades	3	34.38	32.35
	4	34.30	33.24
	5	35.32	32.53
	6	35.48	33.59



Gráfica 4.2.6. Volumen de cavidades (denamida vs denurea).

La gráfica 4.2.6., muestra que la familia **denamida** presenta un mayor volumen de cavidades en todas las estructuras dendriméricas de segunda generación excepto cuando x es igual a 4. El % de cavidades calculado como Volumen de cavidades / Volumen total o SEV, es otro indicativo de cómo la familia de segunda generación que presenta un mayor **porcentaje de cavidades** en su interior es **denamida**. Sin embargo, ese mayor volumen de cavidades no es contundente, siendo solo 6.6 % mayor en el mejor de los casos, lo que quiere decir que las dos familias de segunda generación tienen resultados similares para diferentes valores de x. La decisión de usar una u otra familia como receptor, dependerá del tipo de molécula huésped y de un análisis posterior sobre la interacción dendrímero-huésped.

Variación de generación

La otra variable principal involucrada en este análisis geométrico del receptor, es la generación; se utilizó para ello la 2ª 3ª y 4ª generación, siendo la segunda la que fue ampliamente explorada en el apartado anterior cuando la variación correspondía a la longitud de cadena (x).

A continuación se muestran los resultados encontrados en % de cavidades y densidad para las dos familias estudiadas (**denamida** y **denurea**):

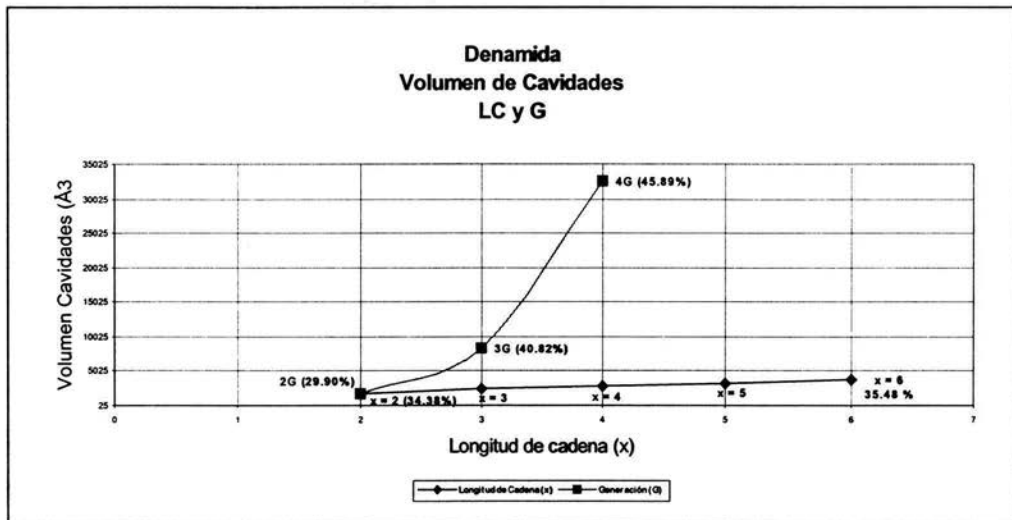
	Generación	denamida	denurea
% Cavidades		%	%
	2	29.9	30.27
	3	40.82	39.27
	4	45.89	44.18
Densidad		u.m.a. /	u.m.a. / Å³
	2	0.98	1.01

	Generación	denamida	denurea
	3	0.82	0.88
	4	0.72	0.81

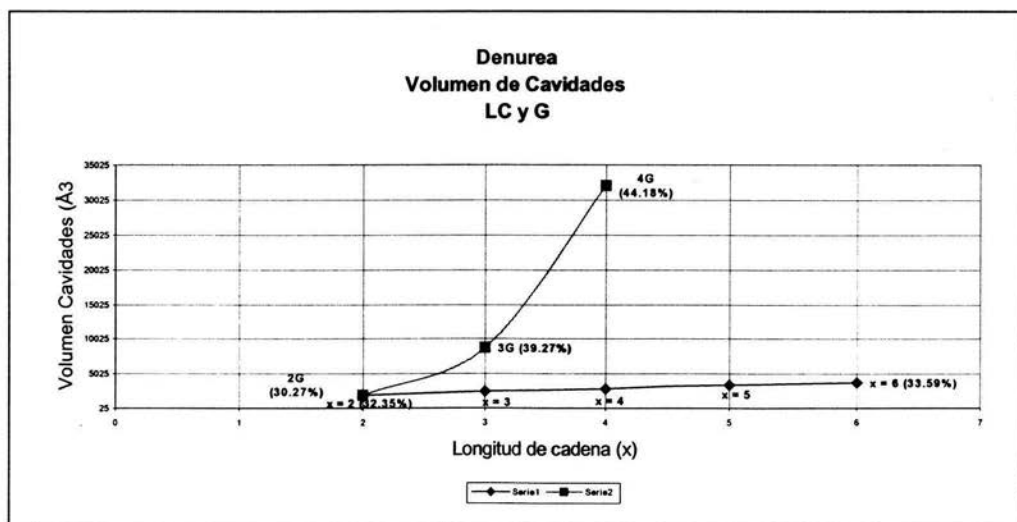
El % de cavidades se ve beneficiado en ambos casos a medida que la generación crece. Ese porcentaje sin embargo tiene un aumento de 10 unidades de 2ª G a 3ª G mientras que de 3ª G a 4ª G el incremento se ve disminuido a la mitad. Tal parece que el % de cavidades se va viendo mermado para generaciones superiores, y que pudiera en determinado momento tender a un valor límite, sin embargo esto último no deja de ser una hipótesis que para corroborarla sería necesario construir dendrímeros de generaciones superiores con patrones fractales iguales a los utilizados en este trabajo. La comparación entre las dos familias deja como resultado nuevamente una ventaja de **denamida** respecto a **denurea**, al menos en la 2ª G y 3ª G. La primera de ella ampliamente corroborada en el apartado anterior.

Por otra parte, la densidad sigue un comportamiento similar a la mostrada cuando se hace variar la longitud de cadena. La densidad disminuye cuando crece el peso molecular debido a un cambio generacional, esto quiere decir nuevamente que el cambio en el volumen (dV), es mayor que en la masa (dM). El dendrímero de **denurea** es más denso en todas las generaciones con una longitud de cadena de $x = 2$ en comparación con el de **denurea**, dando lugar a un menor volumen de cavidades.

En la gráfica 4.2.7. y 4.2.8. se aprecia una comparación, para ambas familias (**denamida** y **denurea**), del comportamiento del volumen de cavidades respecto a las dos principales variables utilizadas en este trabajo: longitud de cadena (x) y generación (G). Se aprecia visiblemente que un cambio generacional tiene mayores implicaciones en las propiedades topológicas de un dendrímero, que aquellas mostradas por un cambio en la longitud de cadena (x). Sin embargo, vale la pena señalar que los dos dendrímeros de 2ª G con $x = 6$ presentan un volumen de cavidades $\approx 50\%$ mayor



Gráfica 4.2.7. Volumen de cavidades vs G y x (denamida).



Gráfica 4.2.8. Volumen de cavidades vs G y x (denurea).

a aquellos con una $x = 2$ y que este volumen es aproximadamente la mitad de aquel mostrado por un dendrímero de 3^a G; esto quiere decir que a pesar de la ventaja topológica de un dendrímero de mayor generación con respecto a uno de menor generación pero con mayor longitud de cadena, es posible encontrar ventajas en este último en cuestión de espacios de cavidades, dependerá del volumen del huésped (fármaco) y la cantidad de éstos que se pretendan introducir en el interior del dendrímero para evaluar cual es la mejor opción considerando que subir de generación desde el punto de vista sintético tiene su problemática. Lo dicho anteriormente aún no considera interacciones dendrímero-fármaco, únicamente evalúa el espacio físico necesario para albergar a la molécula huésped.

	Denamida	Denurea	
Volumen de Cavidades	+	-	G 2
	-	+	G 3
	+	-	G 4

Finalmente, la tabla 4.2.6. presenta una evaluación de las dos familias de dendrímeros que permite identificar cual familia tiene el mayor volumen de cavidades variando la generación (G). Como se había comentado anteriormente, la diferencia entre una familia y otra no es notable y el objeto de esta evaluación es establecer una jerarquía de cada uno de los dendrímeros y no contemplar a la familia **denamida** como la única opción.

Fármacos. La tabla 4.2.7. muestra el SEV o volumen molecular de los diferentes fármacos a utilizarse como moléculas huésped:

Fármacos		SEV (Å³)	
Lactonas macrocíclicas		Salicilanilidos	
Avermectina B1a	844.27	Oxyclozamida	236.02
Avermectina B1b	827.47	Brotiamida	276.15
Ivermectina B1a	854.92	Closantel	356.03
Ivermectina B1b	831.17	Clioaxamida	272.67
Milbemicina Oxime A3	509.54	Niclosamida	216.52
Milbemicina Oxime A4	534.51		
Moxidectina	629.38		

Comparativo entre las dos familias de dendrímeros

Desde el punto de vista de tamaños de los dendrímeros y fármacos, es posible establecer una relación entre el volumen disponible en el interior de las estructuras dendriméricas (el volumen de las cavidades) y el volumen de las moléculas huésped (fármacos). Los fármacos más voluminosos son las avermectinas seguidas de las milbemicinas, con un promedio de 850 y 550 Å³ de volumen de disolvente excluido respectivamente. Los salicilanilidos son más pequeños y tienen un rango de alrededor de 230 Å³. La tabla 4.2.8., muestra una estimación razonable del número de moléculas de los fármacos que podrían ser albergadas en los diferentes dendrímeros, suponiendo claro que los dendrímeros son estructuras rígidas que no interactúan con el fármaco.

Como se esperaba, existe una pequeña diferencia entre las dos familias de dendrímeros, nuevamente los dendrímeros compuestos por el patrón fractal oxi-amida son ligeramente más ventajosos desde el punto de vista geométrico.

Tabla 4.2.8. N° de moléculas de fármaco por dendrímero.

Fármaco	Familia Denamida			Familia denurea		
	3 ^a G	2 ^a G x=3 y 4	2 ^a G x=5 y 6	3 ^a G	2 ^a Gx=3 y 4	2 ^a G x=5 y 6
Avermectinas	~ 10	~ 3	~ 4	~ 10	~ 3	~ 3-4
Milbemicinas	~ 11	~ 3	~ 5	~ 11	~ 3	~ 4
Salicilanilidos	~ 36	~ 11	~ 15	~ 37	~ 11	~ 14

4.3 Comparación con un sistema experimental

Para avalar los resultados obtenidos teóricamente, se comparo el método utilizado (MD, MM y SEV) con otro sistema que involucraba macromoléculas dendríméricas y fármacos. Tal estudio muestra resultados experimentales obtenidos en laboratorio que son comparados con cálculos teóricos, utilizando los mismos métodos empleados en este trabajo de tesis. El sistema comparativo está compuesto por el dendrímero conocido como PAMAM (poliamidoamina) y el fármaco ibuprofeno. Se estimaron volúmenes de cavidades de los dendrímeros de 3^a G y 4^a G, así como el SEV del ibuprofeno. La tabla 4.3.1 muestra la estimación:

Tabla 4.3.1. Cálculos geométricos del sistema PAMAM-ibuprofeno				
Dendrímero PAMAM	SEV (Å³)	Volumen van der Waals (Å³)	Volumen de cavidades (Å³)	Volumen de Ibuprofeno (Å³)
3 ^a Gen	8562.9	5380.6	3182.3	197.70
4 ^a Gen	17721.3	11066.0	6655.0	197.70

La estimación teórica del número de moléculas de ibuprofeno que pueden ser albergadas en los dendrímeros de PAMAM de 3^a G y 4^a G se muestran en la siguiente tabla y al lado de ellos los respectivos datos experimentales:

Tabla 4.3.2. Datos teóricos vs. datos experimentales.		
Datos teóricos #moléculas Ibuprofeno /dendrímero	Datos Experimentales #moléculas Ibuprofeno /dendrímero	Número de Grupos terminales
~ 16	32	32
~ 36	78	64

Se puede observar claramente que mientras los datos teóricos apuntan a un límite de 16 y 36 moléculas de ibuprofeno en el interior del dendrímero, los datos experimentales señalan prácticamente el doble de moléculas. A simple vista el método teórico pareciera no satisfacer la realidad experimental; sin embargo existe un factor que puede estar influyendo notablemente, el dendrímero de PAMAM tiene una periferia propicia para la complejación, ya que los grupos terminales amina del PAMAM y la molécula de ibuprofeno con su grupo terminal dan lugar a una fuerte interacción $-NH_2$ y $-COOH$. En el caso de la 3ª G de PAMAM, cada grupo terminal ($-NH_2$) está interactuando con una molécula de ibuprofeno, se puede apreciar que el número de grupos terminales y el número de moléculas de ibuprofeno coinciden (32), sin embargo para la 4ª G de PAMAM, el número de moléculas de ibuprofeno (78) que forman el sistema huésped-anfitrión no corresponde estrictamente con el número de grupos terminales (64), tal parece que de las 78 moléculas, 64 se encuentran en la periferia y las 14 restantes se localizan en el interior del dendrímero. No obstante, esto corresponde con los datos teóricos, debido a que el límite para albergar moléculas de ibuprofeno es de máximo 36, número que no está siendo rebasado. Así, por un lado se tiene un receptor de 3ª G que, a pesar de tener espacio en el interior, no presenta una funcionalización adecuada (lo que si sucede en su periferia) y por otro, un receptor de 4ª G que a pesar de tener una periferia que está atrayendo a la mayoría de moléculas de ibuprofeno, el mayor tamaño de cavidades en su interior provoca que un 18% de todas las moléculas si se puedan albergar en su interior después de saturar los sitios activos en la superficie.

Para asegurarse de lo anterior, se realizaron cálculos de mecánica molecular (**MM**) que permitieran evaluar la interacción entre el dendrímero de PAMAM y el ibuprofeno tanto en la periferia como en el interior. Los resultados dan como favorable la interacción que ocurre en la periferia (tabla 4.3.3.) para ambas generaciones, en comparación con aquella que ocurre cuando el fármaco es introducido en el interior del dendrímero. También existe una buena coincidencia entre la simulación molecular (**MM**) del ibuprofeno en el interior del PAMAM de 4ª G, coincidiendo con los resultados experimentales, ya que más de 14 moléculas de ibuprofeno en el interior son rechazadas debido a interacciones no favorables. Queda entonces demostrado que debe existir espacio geométrico

suficiente en el interior del dendrímtero, y aunque este no sea el único factor que influya, si debe ser el primero en considerarse ya que una buena interacción dendrímtero-fármaco dependerá, en primera instancia, del tamaño adecuado de las cavidades.

Dendrímtero / Fármaco	ΔE/interior (Kcal. /mol)	ΔE/periferia (Kcal./mol)
PAMAM-3 ^a gen / ibuprofeno	-41.810	-96.370
PAMAM-4a gen / ibuprofeno	-42.320	-147.720

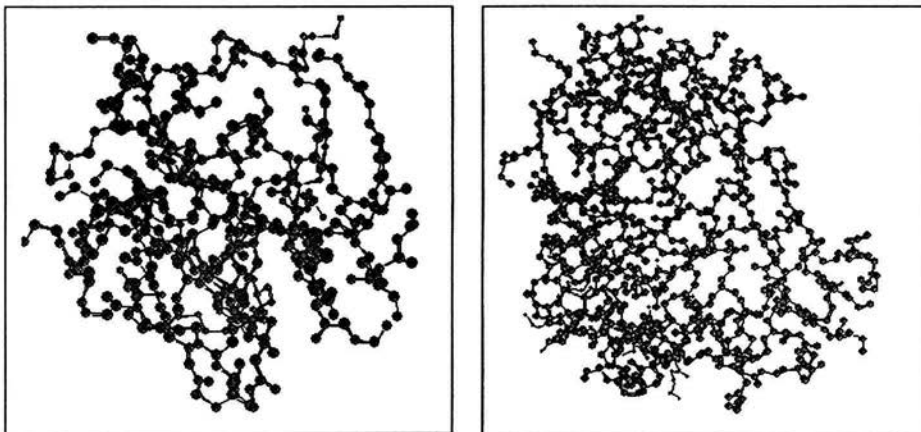


Figura 4.3.1. PAMAM de 3^a G y de 4^a Gⁱⁱⁱ

ⁱⁱⁱ Los átomos de Hidrógeno son omitidos en la figura para una mejor visualización de la molécula.

4.4 Análisis energético semicuantitativo

El análisis geométrico representa un primer paso para evaluar la factibilidad de un **compuesto huésped-anfitrión** (fármaco- dendrímero) determinado; sin embargo, si bien es un primer paso necesario, éste no es suficiente. Es indispensable que el receptor tenga espacio para albergar al huésped, pero ese espacio no es garantía de que el receptor interactúe apropiadamente con ese huésped. Este apartado no abarca un análisis completo de la interacción de la estructura dendrímica con cada uno de los fármacos, aunque se pretende sentar las bases para que dicho análisis se realice de una manera más profunda. Un análisis confiable y completo utilizaría como métodos de cálculo los llamados métodos de primeros principios o **ab initio**, basados en mecánica cuántica (descritos en Antecedentes Pág. 22). Debido a su complejidad y costo computacional no fue posible emplear tales métodos en este trabajo, tomando en cuenta el tamaño de los sistemas moleculares aquí estudiados (macromoléculas). En lugar de ello se emplearon métodos teóricos basados en Mecánica Molecular (leyes de Newton) que permitieran dar una estimación de la interacción dendrímero-fármaco, aunque estrictamente hablando el resultado fuese tratado semicuantitativamente.

Las tablas 4.4.1. y 4.1.2. muestran valores de energía totales de las estructuras individuales (dendrímero y fármaco) sin formar aún el complejo. Como se había mencionado antes, estos resultados más allá de que nos brinden un valor cuantitativo, sirven únicamente con fines comparativos. Así por ejemplo, ambos dendrímeros presentan una energía total negativa (estable), sin embargo el dendrímero de la familia **denurea** de 3^a G es el que tiene un valor más elevado que aquel de la familia **denamida**. Esto quiere decir que en su interior la introducción de un Nitrógeno más por parte del grupo urea en comparación con la otra familia (grupo amida) da como resultado una interacción atractiva que incrementa la estabilidad del dendrímero **denurea** reflejándose en el valor presentado de la energía.

Generación (G)	Longitud de cadena (x)	denamida	denurea
		E (Kcal. / mol)	E (Kcal. / mol)
2	6	-94.46	-328.29
3	2	-852.41	-1759.34

Fármaco	E (Kcal. / mol)
Avermectina B1a	132.54
Milbemicina Oxime A3	51.99
Closantel	-1.395

En la tabla 4.4.3. se presentan resultados de las energías de interacción de compuestos huésped-anfitrión formados por las dos familias (**denamida** y **denurea**) de 3ª G y x = 2 y también de 2ª G y x = 6, evaluando de esta manera los efectos de **generación** y **longitud de cadena**. Por otra parte y basándose en el caso comparativo de PAMAM / ibuprofeno, donde el ibuprofeno en su mayoría se encontraba en la periferia, se llevó a cabo el cálculo en ambos casos: interior y periferia. El fármaco utilizado fue la avermectina, uno de los fármacos (antihelmínticos) más voluminosos.

Complejo (denamida)	ΔE (Kcal. / mol)	ΔE (Kcal. / mol)	Complejo (denurea)	ΔE (Kcal. / mol)	ΔE (Kcal. / mol)
3ª G, x = 2	Interior	Periferia	3ª G, x = 2	Interior	Periferia
amida/avermectina	17.54	-104.31	urea/avermectina	306.74	-188.09
2ª G, x = 6	Interior	Periferia	2ª G, x = 6	Interior	Periferia
amida/avermectina	-500.40	-560.25	urea/avermectina	-122.17	-106.27

Las energías de interacción son calculadas basándose en el método diferencial (ver Antecedentes, Pág. 36):

$$\Delta E = [E_{\text{huésped-anfitrión}} - (E_{\text{huésped}} + E_{\text{anfitrión}})]$$

Como se aprecia en la tabla, para la 3^a G y una $x = 2$, tanto en danamida como en denurea la energía de interacción calculada indica una mayor estabilidad para el compuesto huésped-anfitrión cuando el fármaco (Avermectina) se localiza en la periferia (ver Figura 4.4.1.). La energía de interacción para el complejo cuando el fármaco se encuentra en el interior es positiva, dando como resultado un compuesto huésped-anfitrión poco estable. Es importante mencionar que esto se da presumiblemente por que la energía de auto-estabilización de los dendrímeros es bastante favorable, siendo la interacción en el interior de ellos mismos muy atractiva, sobre todo en el caso de la familia **denurea** (-1747 kcal/mol); es decir, existe una competencia entre la interacción que existe en el interior del dendrímero y aquella que se da en el complejo dendrímero-fármaco, siendo la primera la que domina en este caso (3^a G y $x = 2$).

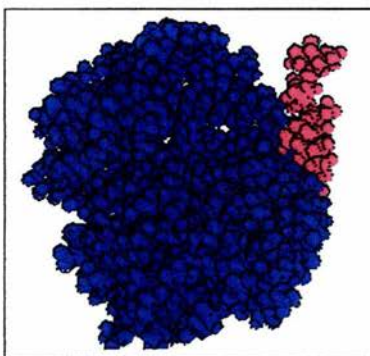


Figura 4.4.1. Fármaco en la periferia.

Para la segunda generación con $x = 6$, (2^{a} G y $x = 6$), el dendrímero denurea presenta una energía de interacción más favorable (más negativa) cuando el fármaco se encuentra en el interior del dendrímero. Aunque en **denamida** se presenta lo contrario (más favorable en la periferia), esa diferencia es mínima en comparación con el valor propio de la energía y ambos casos (interior y periferia) son favorables. En el caso particular de **denurea**, está claro que la energía del dendrímero por separado no es tan negativa (Ver tabla 4.4.1.), mostrando una auto-estabilización menos eficiente y dando como resultado una mejor interacción dendrímero-fármaco en comparación con el de 3^{a} G. La Figura 4.4.2. ilustra lo señalado anteriormente, mientras que la Figura 4.4.3. presenta la estructura más estable del complejo denurea-avermectina corroborando lo presentado en el apartado de análisis geométrico, donde se indicaba que el receptor (dendrímero) solo tiene espacio suficiente para 3 moléculas de fármaco de avermectina.

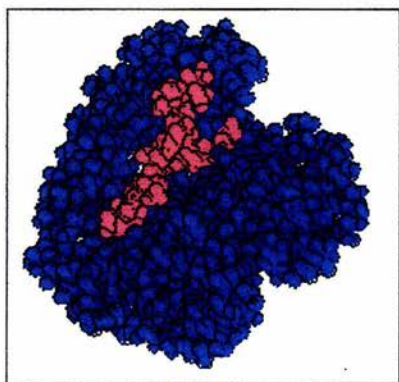


Figura 4.4.2. Fármaco en el interior.

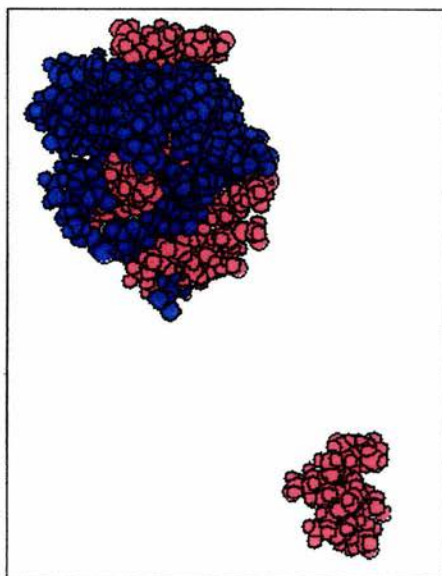


Figura 4.4.3. Rechazo de 4º fármaco

La elección de la generación y longitud de cadena para este análisis energético, se llevó a cabo de esta manera porque el dendrímero cuya longitud de cadena igual a 6 representa una opción viable

en comparación con uno de mayor generación y menor longitud de cadena ($3^{\text{a}} \text{ G } \times 2$). Las ventajas de un dendrímero de 2^{a} G respecto a una de 3^{a} G reducen significativamente el número de pasos en la síntesis.

Después de presentar la evaluación de cada uno de los patrones fractales considerados en este trabajo desde el punto de vista geométrico principalmente y en un segundo plano considerando los aspectos energéticos (de interacciones), en el siguiente apartado se presentan las conclusiones finales de este trabajo de tesis.

Capítulo 5

CONCLUSIONES

- Utilizando la herramienta de la **Química computacional** fue posible evaluar patrones fractales dendriméricos con grupos funcionales, **generación** y **longitud de cadena** específicos; para emplearlos como posibles acarreadores de fármacos.
- De las dos familias de dendrímeros elegidas para este trabajo (**denamida** y **denurea**), se encontró que la capacidad para albergar fármacos del grupo de las **Lactonas macrocíclicas** y los **Salicilanilidos** (con una misma **generación(G)** y **longitud de cadena(x)**) fue muy similar en la mayoría de los casos, siendo solo un 6% superior en **denamida** en el mejor de los casos.
- Una mayor **longitud de cadena** en el **patrón fractal** de ambas familias, da como resultado estructuras más densas y con un mayor **volumen de cavidades**; sin embargo ese **volumen de cavidades** comparado con el de una estructura de **generación** superior es significativamente menor (50% menor).
- Las estructuras de 2^a G con x=6 de **denamida** y **denurea**, presentan el mayor % de cavidades en su interior respecto a estructuras de la misma **generación** y un **volumen de cavidades** 50% menor que el observado en un dendrímero de 3^a G y una x = 2. Ello da pie a pensar en utilizar los primeros como posibles candidatos para el sistema huésped-anfitrión debido a sus ventajas geométricas respecto a otros de la misma generación y una simplificación en la síntesis al disminuir el número de pasos.
- Del análisis energético semicuantitativo, se concluye que la estructura **denurea** de 3^a G y x = 2 presenta una energía de auto-estabilización muy grande debido a la fuerte interacción que existe internamente (grupo urea) en comparación con **denamida** (grupo amida). Esa

energía de estabilización elevada da como resultado una energía de interacción poco favorable al momento de formar el sistema fármaco-dendrímico cuando el fármaco es colocado a propósito en el interior. La energía de interacción sí es favorable cuando el fármaco se coloca en la periferia.

- En contraste, el dendrímico **denurea** de 2^a G y $x = 6$ presenta mejores resultados para la formación del sistema huésped-anfitrión en el interior, específicamente con el fármaco avermectina, el más voluminoso ($E = -122$ Kcal./mol). Esto viene a reforzar la propuesta de utilizar el dendrímico **denurea** de 2^a G como el acarreador de fármacos.
- Para concluir el análisis energético, se propone utilizar métodos de cálculo que se basen en mecánica cuántica y utilicen un método que estudie a la molécula por partes (compuestos modelo) debido al costo computacional, y de esta manera permitan un análisis más a fondo sobre el tipo de **interacciones no covalentes** que ocurren entre los dendrímeros con cada uno de los fármacos.

RECOMENDACIONES

Dada su naturaleza teórica, la presente tesis no pretende ser un trabajo terminal, por el contrario es parte de un proyecto que involucra la realización experimental en laboratorio de las simulaciones teóricas demostradas en este trabajo.

Se recomienda para llevar a cabo la subsiguiente parte experimental seguir los siguientes puntos:

- Analizar y utilizar toda la información disponible en este trabajo y hacer énfasis en las conclusiones teóricas que se derivan al respecto.
- Investigar cada una de las técnicas en laboratorio de acoplamiento huésped-anfitrión (en este caso fármaco-dendrímico) con el objeto de elegir la mejor opción en base a la disponibilidad de equipo y materiales en el laboratorio.
- Si los resultados experimentales en el laboratorio corroboran en buena parte lo demostrado teóricamente con las simulaciones computacionales, establecer la viabilidad técnica y económica de este proyecto.

GLOSARIO

Agente acarreador / liberador de fármacos. Receptor que permite que el fármaco (sustrato) llegue en una dosis apropiada al organismo debido a su alta solubilidad.

Algoritmo de Connolly. Algoritmo matemático que permite calcular el volumen de solvente excluido colocando una molécula de disolvente tangente a la molécula en estudio.

Área Molecular de Connolly. Es la superficie en la que la molécula de disolvente hace contacto con la superficie de van der Waals. El volumen que se deriva de esta superficie es el volumen de van der Waals.

Compuesto huésped-anfitrión. Tiene su base en los procesos de **Reconocimiento molecular**, donde el huésped es el sustrato y el anfitrión el receptor.

Confórmero. Estructura característica que presenta una energía potencial también característica.

Chem-3D. Programa de química computacional que permite el modelamiento y análisis molecular de la firma CambridgeSoft.

Dendrímero. Macromolécula monodispersa o bien definida con una ramificación perfecta.

Denamida. Dendrímero cuyo patrón fractal está compuesto por los grupos funcionales oxi y amida con un punto focal basado en el pentaeritriol.

Denurea. Dendrímero cuyo patrón fractal está compuesto por los grupos funcionales oxi y urea con un punto focal basado en el pentaeritriol.

Energía potencial. También llamada energía estérica, es aquella energía que involucra la posición de los átomos que tiene una molécula y se compone de términos como son energía de van der Waals, electrostática, por estiramiento y acortamiento del enlace, torsión y ángulo de enlace.

Femtosegundo. Unidad de tiempo equivalente a 1×10^{-15} seg.

Fuerzas de van der Waals. Interacciones no covalentes de largo alcance cuya energía es menor a los 5 kJ mol^{-1} .

Generación. Cada generación representa un tamaño de molécula con un peso molecular de aproximadamente el doble que el anterior y con un número de grupos activos de dos veces con respecto a la generación anterior.

Interacciones no covalentes. Son aquellas interacciones de largo alcance: interacciones iónicas, fuerzas de van der Waals, puentes de hidrógeno, entre otras.

Lactonas macrocíclicas. Grupo de fármacos que son utilizados como antihelmínticos en la medicina veterinaria. Tienen dos grupos principales: avermectinas y milbemicinas.

Ley de Coulomb. La fuerza de atracción o repulsión que se ejerce entre dos cuerpos cargados eléctricamente es directamente proporcional a sus cargas e inversamente proporcional a la distancia que los separa $F = q/r$.

Ley de Hooke. Ley que describe el fenómeno de la deformación de los cuerpos elásticos. La fuerza ejercida por un resorte es proporcional a la posición que presenta este $F = -kx$.

Longitud de cadena. Número de CH pertenecientes al patrón fractal del dendrímero o también llamada cadena alifática.

Método diferencial o de variación. Método que estima indirectamente las energías de los compuestos huésped-anfitrión como la diferencia entre el sistema huésped-anfitrión y las energías individuales.

Métodos ab initio. También llamados métodos de primeros principios, sus algoritmos se basan en la ecuación Schödinger de la mecánica cuántica.

MD (Molecular Dynamics). Método por el cual la molécula es calentada a una velocidad y temperatura determinados para encontrar el conformero más estable.

MM (Molecular Mechanics). Método basado en las leyes de Newton que permite encontrar un mínimo de energía de una molécula.

MM2. Campo de fuerza de la mecánica molecular cuyos parámetros fueron proporcionados por el Dr. N.L. Allinger.

Monómero AB₂. Monómeros precursores de un polímero hiper-ramificado, compuesto de dos unidades repetitivas: A y B, donde A y B representan una parte específica de la molécula. Ej. A =

COOH y B = OH, entonces $\begin{matrix} & B \\ & / \quad \backslash \\ A & & B \end{matrix}$ puede ser $\begin{matrix} & & OH \\ & & / \quad \backslash \\ COOH & & OH \end{matrix}$.

Ovalidad. Se define como el cociente del área superficial molecular y el área superficial mínima.

PAMAM. Dendrímico de poliamidoamina con buenas propiedades tipo huésped-anfitrión

Patrón fractal. Unidad repetitiva característica (grupos funcionales, longitud de cadena, etc) de un dendrímico.

Polímero hiper-ramificado. Son polímeros que presentan una distribución aleatoria en el tamaño de las moléculas y en su grado de ramificación.

Porcentaje de cavidades (%). Volumen de cavidades / SEV.

Ángstrom. Equivalente a 10^{-8} cm.

Química computacional. Parte de la química que enfoca su estudio de las moléculas basándose en métodos teóricos para obtener valores cuantitativos de energía, propiedades y geometría.

Química supramolecular. Se basa en el estudio de las organizaciones moleculares basadas en interacciones no covalentes.

Radio de disolvente (p). Radio de van der Waals de una molécula de disolvente cuando esta se considera como una esfera rígida.

Reconocimiento molecular. Proceso que se define por la energía y la información involucrada en el enlace y selección de sustratos por un receptor dado.

Salicilanilidos. Grupo de fármacos que son utilizados como antihelmínticos en la medicina veterinaria. Brotiamida, clioxamida, closantel, niclosamida y oxiclosamida.

SEV (Solvent excluded volume). El volumen de disolvente excluido es como su nombre lo dice el volumen que excluye al disolvente cuando este es modelado como una esfera rígida.

SAS (Sovent accesible area). El área accesible al disolvente es el área trazada a partir del centro de la molécula de disolvente a medida que esta rueda a través de la superficie propia de la molécula de interés.

Superficie de van der Waals. Es el área ocupada por los átomos cuando éstos se consideran esferas rígidas, es el límite del SEV.

Topología. Se refiere a tamaño, forma de cavidad y posición de los sitios enlazantes y con ello las interacciones intermoleculares del compuesto a formar.

U.m.a. Unidad de masa atómica.

Volumen de cavidades. En términos prácticos es considerado como la diferencia del volumen total de la molécula menos el volumen de van der Waals de la misma.

Volumen intersticial. Es aquel volumen que se compone de los defectos de empaque entre aquellos átomos que son demasiado pequeños para que la molécula de disolvente entre. Este es igual a la diferencia entre el SEV y el de van der Waals.

Volumen de van der Waals. Es el volumen ocupado por los átomos cuando éstas se considera como esferas rígidas con un radio llamado también de van der Waals.

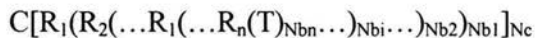
ANEXO A. Nomenclatura de dendrímeros.

Dado que los dendrímeros son altamente simétricos y poseen unidades repetitivas bien definidas algunos investigadores han referido sus moléculas con nombres triviales, por ejemplo, arbores, silvanoles, dendrímeros o fractales moleculares. Sin embargo, el incremento en la diversidad de funcionales y diseños pone de manifiesto la necesidad de una nomenclatura sistemática para este tipo de macromoléculas.

Una nomenclatura sistemática que representa adecuadamente a los dendrímeros fue propuesta por Newkome y colaboradores²³ y se describe a continuación.

Previo a las reglas son necesarias algunas definiciones.

Fórmula lineal general de un polímero cascada:



Donde :

C : fórmula de la unidad del centro

R_i : fórmula de la unidad repetitiva (o rama)

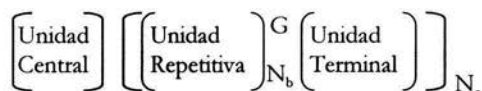
N_{bi} : multiplicidad de ramificación de la i-ésima unidad repetitiva

N_c : multiplicidad de ramificación de la unidad central

Número de unidades terminales

$$Z = N_c \prod_{i=1}^n N_{bi}$$

Para polímeros cascada con la misma unidad repetitiva a través de la estructura, la forma lineal puede ser simplificada y se representa como:



G: número de generaciones.

Las reglas a seguir son:

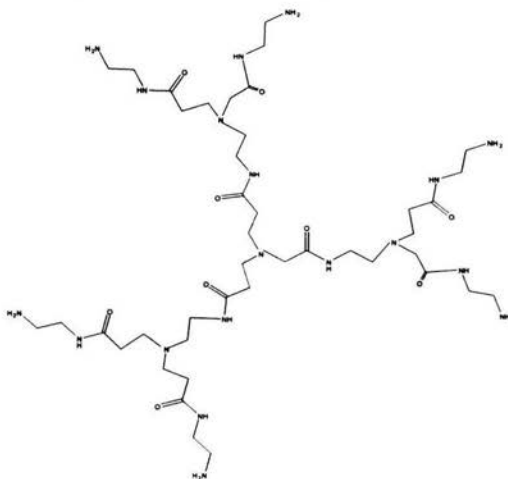
1. En la nomenclatura cascada, los componentes (nombres de unidades) son separados el uno de los otros por dos puntos y citados en secuencia desde la unidad central hasta la unidad terminal.
2. El nombre comienza con el número correspondiente al número de funcionalidades en la periferia (Z) seguido por un guión y la palabra "Cascada" (de acuerdo a lo propuesto por Vögtle, quien fue el primero en reportar este tipo de macromoléculas) y se nombra la unidad central, unidades intermedias repetitivas y finalmente las unidades terminales.
3. La multiplicidad de ramificación en la unidad central es indicada por un número en corchetes cuadrados inmediatamente después del nombre de la unidad central; si son necesarios números locales, éstos son incluidos dentro de los corchetes, separados por comas entre si y por un guión de la multiplicidad.
4. La unidad intermediaria repetitiva consiste de un fragmento molecular extendido desde un punto de ramificación hasta el siguiente y se incluye entre paréntesis.
5. La cadena original de un intermediario o unidad terminal siempre termina en un sitio de ramificación.
6. El superíndice de la unidad denotada entre paréntesis es el número de repeticiones sucesivas de la unidad.
7. La numeración de cadenas de las unidades, incluyendo el centro y los grupos terminales, es en orden descendente en la dirección: centro-unidades terminales (este orden preserva las bien establecidas reglas de la IUPAC).

8. La repetición de combinaciones de unidades repetitivas es indicado conservando los nombres de las unidades repetitivas dentro de los paréntesis y separadas por dos puntos. El superíndice de la unidad denotada entre paréntesis es el número de repeticiones sucesivas de la unidad.
9. Cuando una unidad repetitiva esta compuesta por ramas no equivalentes extendidas desde un sitio de ramificación, el nombre de esas unidades incluye el nombre de cada rama.
10. Para moléculas cascada con diferentes ramas que nacen del centro, el nombre de cada segmento; excepto el del centro, es dado entre corchetes cuadrados. Los nombres de los segmentos son separados por un guión y arreglados en orden alfabético, precedidos por el número que indica la posición de origen y la multiplicidad de los grupos, cuando es necesario.

Por ejemplo:

Fórmula: $[N][(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{N})_2 (\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2)]_3$

Nombre: 6-Cascada:amonio[3]: (1,4-diazo-5-oxoheptilideno)¹:3-azo-4-oxohexilamina



BIBLIOGRAFÍA

- 1) Bosman, A.W., Cansen, H.M., and Meijer, E.W., *Chemical Review*, 1665-1668, (1999).
- 2) Fréchet, J.M.J. *Science*, 1994, 263, 1710
- 3) Donald A. Tomalia, Adel M. Naylor, and William A. Goddard III, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 29 (1990) 138-175.
- 4) J. N. H. Reek, P.W.N.M. van Leeuwen et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2001, 40, 1828-1849.
- 5) G.R. Newkome; C.N. Moorefield; F. Vögtle; *Dendritic molecules, Germany, 1996.*
- 6) Hawker, C. and Fréchet, *Journal of Chemical Society Cominications*, 1010, (1990).
- 7) Tomalia D. et al, *Polymer Journal. (Tokio)*, 17, 117, (1985).
- 8) Newcome, G., *Journal of Organic Chemistry*, 50, 2003, (1985).
- 9) Ivory D. Hills, *Some Recent Advances in Supramolecular Catalysis; Massachusets Institute of Technology, Cambridge.*
- 10) Luigi R. Nassimbeni, *Physicochemical aspects of Host-Guest compounds. Accounts of Chemical Research*, 36, 631-637 (2003).
- 11) Klaus Müller-Dethlefs and Pavel Hobza, *Chem Rev.*, 2000, 100, 143-167.
- 12) P. Welch; M. Muthukumar, *Macromolecules*, 1998, 31, 5892.
- 13) Stefan Hecht and Jean M.J. Fréchet, *Angew. Chem. Int. Ed.* , 40, 74-91, 2001.

-
-
- 14) [P. Kolhe; E. Misra; R.M. Kannan; S. Kannan; M. Lieh-Lai, *Int. J. Pharm.*, **2003**, 143-160.
- 15) A.M. Naylor; W.A. Goddard; G.E. Kiefer; D.A. Tomalia, *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, 2339.
- 16) <http://www.dendritech.com/pamam.html>
- 17) James B. Foresman and Aleen Frisch, *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods.*, 2ND Edition, Gaussian, Inc. **1996**.
- 18) Andrew R. Leach, *Molecular Modeling. Principles and Applications.*, 2nd Edition., Prentice Hall, **2001**.
- 19) Chem2D Ultra version 7.0(2002) CambridgeSoft Corporation, 1986-2002.
- 20) *Introduction to Computational Chemistry.* Frank Jensen, Jhon Wiley & Sons, England, **1999**.
- 21) *Quantum Chemistry: Fundamentals to applications.* Tamàs Veszprém, Miklòs Feher, Plenum Publishing, **1999**.
- 22) *Solvent-Accessible Surfaces of Proteins and Nucleic Acid*, Michael L. Connolly, v 21, 709-713, **1983**.
- 23) Gennes et al., *Phys. Lett. (Paris)* **1983**.
- 24) Janson et al. , *Science* **1994**, 266, 1226