



Ciencia e Ingeniería
de Materiales

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES

**ESTUDIO TEÓRICO DE LA ARQUITECTURA
DENDRIMÉRICA EN PROCESOS DE
ENCAPSULAMIENTO MOLECULAR**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIA
E INGENIERÍA DE MATERIALES**

P R E S E N T A

I.Q. DELIA SOTO CASTRO



TUTORA: Dra. PATRICIA GUADARRAMA

MÉXICO, D.F.

2006.



Universidad Nacional
Autónoma de México



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

Presidente: Dra. Ana María Martínez Vázquez
Vocal: Dra. Patricia Guadarrama Acosta
Secretario: Dr. Fernando Cortés Guzmán
Suplente: Dr. Gabriel Cuevas González
Suplente: Dr. Mikhail Zolotukhin

Esta tesis se desarrollo en el Instituto de Investigaciones en Materiales,
UNAM, en Ciudad Universitaria. México D.F. 2006.

Dra. Patricia Guadarrama Acosta
Tutora

IQ. Delia Soto Castro
Sustentante

AGRADECIMIENTOS

Hoy concluyo un objetivo más en mi vida y agradezco profundamente a todos los que han sido partícipes de este logro.

A **mis padres**, por el apoyo, cariño y comprensión me han brindado.

A **Patricia Guadarrama**, mi directora de tesis, por todo el tiempo que me ha brindado, por sus sugerencias e ideas para sacarle provecho al trabajo.

A **Gabriel Cuevas y Sergei Fomine**, por sus valiosas sugerencias durante el desarrollo de este trabajo.

A todo el **jurado** por sus aportaciones y sugerencias.

A **CONACYT** y a **DGEP** por el apoyo económico brindado y a todo el personal del IIM que me facilitaron la realización de esta tesis.

Y muy especialmente a todos los que me han brindado su amistad y cariño, por que eso es lo que me mueve a continuar creciendo.

GRACIAS

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	6
CAPITULO I. ANTECEDENTES	
1.1 Dendrímeros	8
1.1.1 Generalidades	8
1.1.2 Síntesis	9
1.1.3 Caracterización	11
1.1.4 Propiedades	13
1.1.5 Aplicaciones	15
1.1.5.1 Acarreadores de Fármacos	16
1.2 Salicilanilidos	21
1.3 Interacciones Intermoleculares	23
CAPITULO II. QUÍMICA COMPUTACIONAL	
2.1 Química Computacional	26
2.2 Mecánica Clásica	27
2.2.1 Mecánica Molecular	27
2.2.2 Dinámica Molecular	29
2.2.3 Estudio de Superficies	32
2.2.4 Análisis Conformacional	35
2.3 Mecánica Cuántica	37
2.3.1 Modelos de Correlación Electrónica	41
2.3.1.1 Møller-Plesset	41
2.3.1.2 Funcionales de la Densidad	42
2.3.1.3 Modelos Semiempíricos	46
2.4 Grupos Base	48
2.5 Error de Superposición de Base	50
2.6 ONIOM	51

CAPITULO III. PROBLEMA Y OBJETIVOS	55
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1 Metodología	57
4.2 Estudio de Complejos en Sistemas Modelo	59
4.2.1 Selección de patrones fractales	59
4.2.2 Optimización de geometrías con B3LYP/LAV3P*	66
4.2.3 Funcionales y bases	70
4.2.3.1 Efecto del funcional	72
4.2.3.2 Efecto de la base	75
4.3 Análisis Geométrico	78
4.3.1 Dendrímeros	78
4.3.2 Salicilanilidos	88
4.3.3 Capacidad de encapsulamiento	88
4.4 Complejos Dendrímico-Fármaco	94
4.4.1 ONIOM	102
4.5 Ruta de Síntesis Propuesta	105
CAPITULO V. CONCLUSIONES	112
Abreviaturas	114
REFERENCIAS	117

INTRODUCCIÓN

En las últimas dos décadas los sistemas dendriméricos han llamado la atención en diversas investigaciones, principalmente por su arquitectura bien definida y las múltiples aplicaciones potenciales en áreas como la medicina, biología y catálisis. En especial los dendrímeros han sido probados exitosamente como agentes encapsulantes de diferentes moléculas hidrofóbicas.

En este estudio, haciendo uso de la química computacional, se describe el diseño y evaluación de diferentes patrones fractales para la formación de dendrímeros capaces de encapsular a los fármacos de la familia de los salicilanilidos con la finalidad de mejorar la solubilidad de éstos y disminuir las dosis empleadas, formando complejos unidos mediante puentes de hidrógeno y otras interacciones intermoleculares.

Un primer estudio en sistemas modelo se realizó con métodos de funcionales de la densidad (B3LYP/LAV3P*, BHHLYP/LAV3P* y BHHLYP/LanL2DZ (en G03)), con el objetivo de diseñar patrones fractales dendriméricos óptimos para interactuar con los salicilanilidos. Y fue posible establecer que las características ideales para estos fines son que los patrones fractales se constituyan sólo de dos ramas (multiplicidad=2), posean cadenas alifáticas que les brinden flexibilidad y grupos funcionales que interactúen eficientemente con los fármacos, en este caso los grupos carbamato, alcohol y amina son los que interactúan más favorablemente. También para sistemas modelo se realizaron estudios de optimización de geometrías usando diferentes bases para los átomos de C, N, O, H, S y Cl (6-31G*, 6-31G** y 6-31G*⁺) observando que la adición de funciones doblemente polarizadas o difusas no generan una mejora considerable en la descripción de sistemas de decenas de átomos, siendo suficiente con una base 6-31G*.

Finalmente, con el estudio realizado y empleando análisis conformacional y cálculos ONIOM para la optimización de complejos dendrímero-fármaco, es factible proponer a

los dendrímeros de la familia 1 (formados por un núcleo de etilendiamina, con el PF1 ($-\text{[CH}_2\text{CH}_2\text{NHCOOCH}_2\text{CH(OH)NH}_2\text{]}_2$) y el grupo $-\text{C(CH}_2\text{OH)}_3$) como grupo superficial) como anfitriones adecuados para los fármacos de la familia de los salicilanilidos, aunque cabe mencionar que se requiere mayor trabajo para seleccionar sistemas anfitrión para huéspedes específicos (salicilanilidos) que puedan formar complejos de inclusión capaces de realizar las funciones de acarreo y liberación de fármacos.

CAPITULO I

ANTECEDENTES

1.1. DENDRÍMEROS¹

Desde hace más de dos décadas surgió un gran interés en un tipo de macromoléculas hiperramificadas bien definidas que presentan una estructura globular. Estas macromoléculas son conocidas como dendrímeros. Se dice que este tipo de macromoléculas son “para hacerse a la medida”¹, con características específicas de densidad, masa molecular, grupos funcionales o cavidades; es por ello que los dendrímeros pueden ser aplicados en áreas tales como biología, medicina y catálisis entre otras.

1.1.1 GENERALIDADES^{2,3}

Los dendrímeros¹ son macromoléculas altamente ramificadas que presentan una estructura tridimensional bien definida y se obtienen mediante una secuencia iterativa de reacciones por pasos.

Los primeros en investigar este tipo de macromoléculas fueron Vögtle, Tomalia, Newkome y Fréchet⁴. Fue Vögtle, en 1978³, el primero en reportar la preparación, separación y caracterización de una estructura ramificada bien definida, sin embargo fue el dendrímero conocido como PAMAM (poliamidoamida), sintetizado por Tomalia², el que tuvo mayor interés.

Las características estructurales tales como, forma, tamaño y masa molecular de los dendrímeros son las responsables de que estas macromoléculas presenten un comportamiento físico diferente al de los polímeros lineales. En general las desviaciones son observables a altas generaciones dendriméricas, en las cuales la estructura se aproxima a una forma esférica. A diferencia de los polímeros lineales, en los dendrímeros la viscosidad intrínseca disminuye al aumentar el peso molecular; la solubilidad se ve favorecida en un mayor número de

¹ Del griego dendron= árbol y meros=parte⁵

disolventes orgánicos; son monodispersos y aún a altas masas moleculares la estructura esta bien definida y no presentan enmarañamiento.

1.1.2 SÍNTESIS

En términos generales la síntesis de los dendrímeros se divide básicamente en dos métodos: divergente y convergente. Ambos consisten en una repetición de reacciones y cada repetición da lugar al crecimiento de una o más nuevas generaciones.

En el método divergente el dendrímero crece de adentro hacia afuera, comienza su crecimiento en un centro funcionalizado el cual se hace reaccionar con moléculas monoméricas, dando lugar a la primera generación. Entonces la nueva periferia de la molécula es activada y se realiza la reacción con más monómero y así sucesivamente hasta llegar al crecimiento deseado (figura 1)¹. El método convergente propuesto por Fréchet en 1990², surge para corregir las deficiencias que la síntesis divergente presenta. En esta síntesis se comienza por la construcción de dendrones o ramas dendriméricas; cuando tienen el tamaño deseado son unidas a un centro funcionalizado y el dendrímero es formado (figura 1). Ambos métodos usualmente emplean pasos complementarios de protección y desprotección y requieren ser purificados después de cada etapa de crecimiento.

Se dice que la síntesis divergente presenta mayores problemas que la convergente². El mayor problema de la síntesis divergente se presenta cuando las reacciones no ocurren completamente, dando lugar a defectos estructurales que se acarrean hasta la última generación por que los defectos no pueden ser detectados a tiempo. Por ello, la pureza de los dendrímeros obtenidos en esta síntesis es gobernada por la estadística y al igual que para la síntesis convergente, esto se ve reflejado en la polidispersidad². En el caso de la síntesis convergente, debido a la disminución de pasos de síntesis, es menos probable que existan

² Cociente entre el masa molecular promedio en masa y masa molecular promedio en número

$$\frac{M_w}{M_n} = \frac{\sum_i N_i M_i^2 / \sum_i N_i M_i}{\sum_i N_i M_i / \sum_i N_i}$$

defectos y los que se presentan son separados en el proceso de purificación, dando lugar a una síntesis libre de defectos².

En la figura 1 es posible distinguir algunas diferencias básicas entre los dos métodos de síntesis. Primero, mientras que en la síntesis divergente la cantidad de monómero requerida se incrementa en cada etapa en función de la multiplicidad de cada generación, en la síntesis convergente el monómero empleado es el inverso de la multiplicidad del monómero que funge como conector. Esta diferencia desemboca en un mayor número de problemas (como se mencionó anteriormente) en la síntesis divergente por las cantidades de material empleado. Otra gran diferencia son los puntos para conectar al monómero; en la síntesis divergente para cada generación se multiplican, mientras que en la síntesis convergente se mantienen siempre constantes.

Aunque la mayoría de los dendrímeros que se sintetizan son estructuras construidas a base de enlaces covalentes, también se han sintetizado otros a base de interacciones no covalentes, por ejemplo, mediante puentes de hidrógeno, empleando cationes metálicos como centro o mediante interacciones iónicas¹⁰.

Sin embargo, independientemente del método usado para sintetizar dendrímeros, las estructuras obtenidas son las macromoléculas con la más definida y la más perfecta estructura primaria que se conoce hoy en día. Además, son las únicas macromoléculas para las cuales se puede saber a priori su masa molecular (M), el número de grupos funcionales en la periferia (Z) y el número de puntos de ramificación en cada generación (BC), que corresponde al número de enlaces covalentes formados por generación, en función de la generación (G) y de las multiplicidades del centro (N_c) y de las ramas (N_b), de acuerdo a las siguientes ecuaciones⁶:

$$Z = N_c N_b^{G-1}$$

$$BC = N_c \left[\frac{N_b^G - 1}{N_b - 1} \right]$$

$$M = M_c + N_c \left[M_{Ru} \left(\frac{N_b^G - 1}{N_b - 1} \right) + M_t N_b^G \right]$$

M_{Ru} y M_t , se refieren a los pesos moleculares de la rama unitaria y de la rama terminal respectivamente.

De acuerdo a la definición matemática de Z se observa que el número de grupos superficiales crece de forma exponencial con G , mientras que el diámetro del dendrímico es una función lineal de G , esto dará lugar, a una generación específica, a que se produzca una “congestión”, es decir, se formará una estructura geoméricamente cerrada, y en esa misma generación el crecimiento completo del dendrímico será imposible debido a que el volumen disponible para acomodar la siguiente generación es insuficiente.

1.1.3 CARACTERIZACIÓN⁷

Una amplia variedad de herramientas experimentales han sido empleadas para la caracterización y detección de defectos estructurales en dendrímicos, entre ellas, varias técnicas de NMR (^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{31}P), análisis elementales, y cromatografías; sin embargo ninguna de esas técnicas puede revelar pequeñas cantidades de material con defectos estructurales, sobre todo a altas generaciones de dendrímicos. A la par del gran desarrollo e investigación en la química de dendrímicos también se desarrollaron técnicas de caracterización de mayor resolución. La técnica MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption / Matriz Asistida de Desorción Láser) es hoy la más adecuada para caracterizar y detectar errores debido a su alta sensibilidad.

Otras técnicas, tales como SAXS (Small Angle X-ray Scatterin), SANS (Small Angle Neutron Scattering), TEM (Transmission Electron Microscopy) y AFM (Atomic Force Microscopy), son usadas para determinar diferentes parámetros importantes de los dendrímicos. En la tabla 1 se muestra el campo de aplicación de las técnicas SANS, SAXS y TEM.

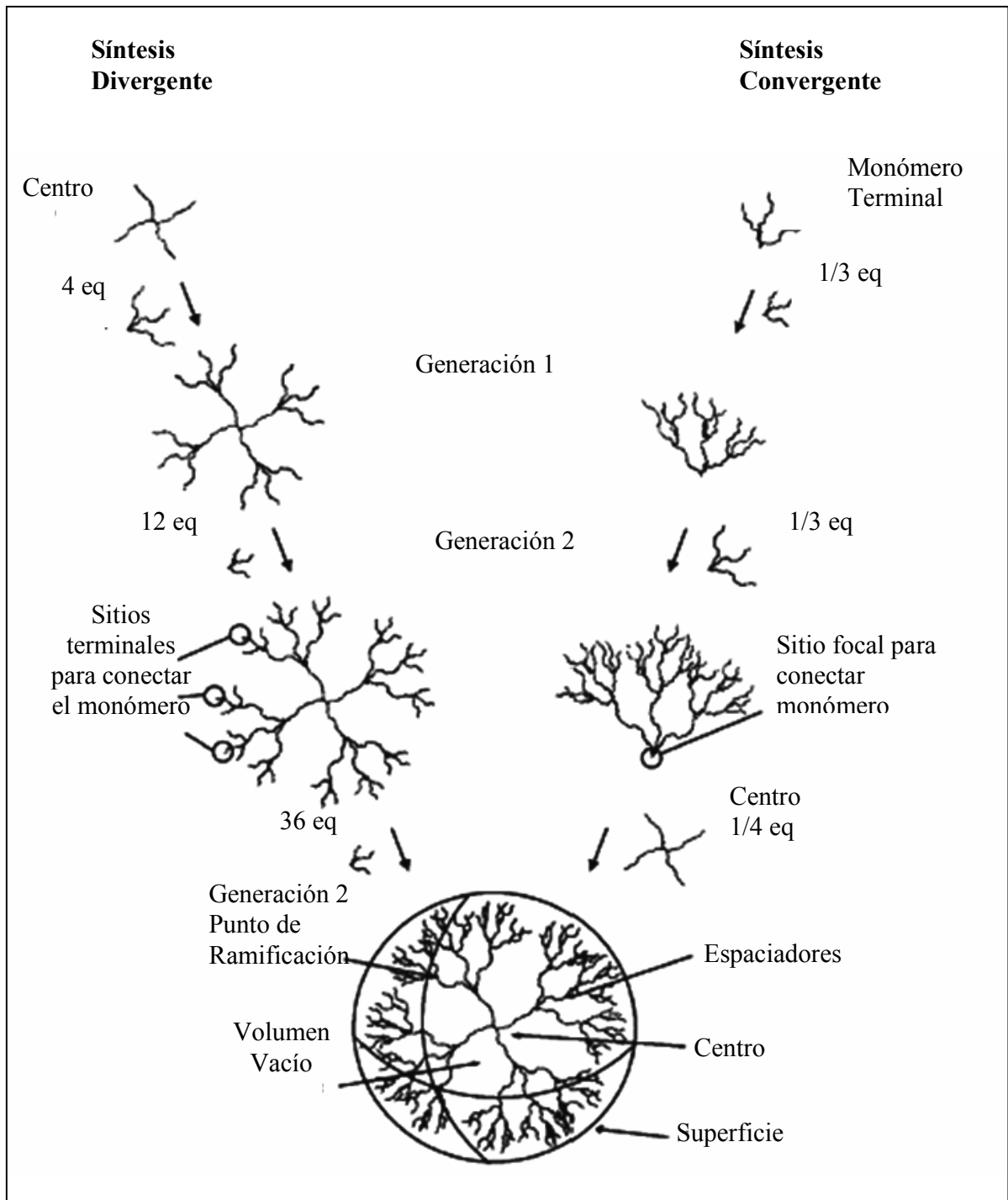


Figura 1. Representación esquemática de las síntesis divergente y convergente.

Tabla 1 Campo de aplicación de las técnicas de análisis SANS, SAXS y TEM			
Los signos ++ indican que es la mejor técnica, + técnica aceptable y – técnica no aceptable.			
Parámetro/Técnica	SANS	SAXS	TEM
Distribución de segmentos	+	++	+
Tipo de ramificación	+	+	+
Localización de grupos terminales	++	+	-
Interacciones dendrímero-dendrímero	+	++	+
Variación del tamaño en el solvente	+	+	-

1.1.4 PROPIEDADES⁸

Los dendrímeros, comparados con sus análogos³ lineales, presentan una serie de propiedades físicas y químicas marcadamente diferentes que se hacen visibles a altas generaciones (4^a en adelante, figura 2). Esas diferencias son producto del tipo de síntesis empleada en cada caso. En el caso de los dendrímeros el alto control que se tiene da lugar a estructuras que tienden a ser esféricas, no enmarañadas y con un número de grupos superficiales determinado a priori. Mientras que para los polímeros lineales la síntesis es un proceso estadístico y poco controlado (recientemente se esta mejorando el control mediante procesos de polimerización viviente), produciendo polímeros lineales que tienden a enmarañarse y de los cuales no es posible predecir sus características estructurales.

En la tabla 2 se enumeran algunas de las propiedades que marcan la diferencia entre dendrímeros y sus análogos lineales y en la figura 2 se puede observar el comportamiento de algunas propiedades dendriméricas en función de la generación.

³ entiéndase por análogo un polímero con un peso promedio equivalente al del dendrímero en comparación.

Tabla 2. Polímeros lineales vs dendrímeros		
Propiedad	Polímero lineal	Dendrímero
Polidispersidad ⁴	>1, por la falta de control en la síntesis (Polidispersos)	≈ 1, por el alto control, (Monodispersos)
Temperatura de transición vítrea	Variable, sin embargo se incrementa por el enmarañamiento	Baja
Viscosidad intrínseca	Aumenta con el incremento en masa molecular	Disminuye con el incremento en la masa molecular
Solubilidad*	Solubles en bajas concentraciones y sólo en un número reducido de disolventes	Altamente solubles en un amplio rango de disolventes orgánicos.
Reactividad*	Poco reactivos	Altamente reactivos en función de los grupos terminales
Conformación en solución	En forma de espirales	Empacada esférica
Capacidad de encapsulamiento	No existe	Posible debido a los huecos que poseen.

*La diferencia en solubilidad y reactividad se presenta debido a que los dendrímeros poseen un gran número de grupos *accesibles* en la superficie, y en los polímeros lineales, debido al enmarañamiento, pueden estar en el interior

Una propiedad única de los dendrímeros es su capacidad de encapsulamiento debido a los huecos y cavidades que posee y al entorno químico presente en dichas cavidades. En la figura 3 se muestra un ejemplo de encapsulamiento, aunque también se puede dar en cavidades céntricas cuando éstas existen.

⁴ Definida como el cociente de las masas molares promedio en número y en peso

$$\frac{M_w}{M_n} = \frac{\sum_i N_i M_i^2 / \sum_i N_i M_i}{\sum_i N_i M_i / \sum_i N_i}$$

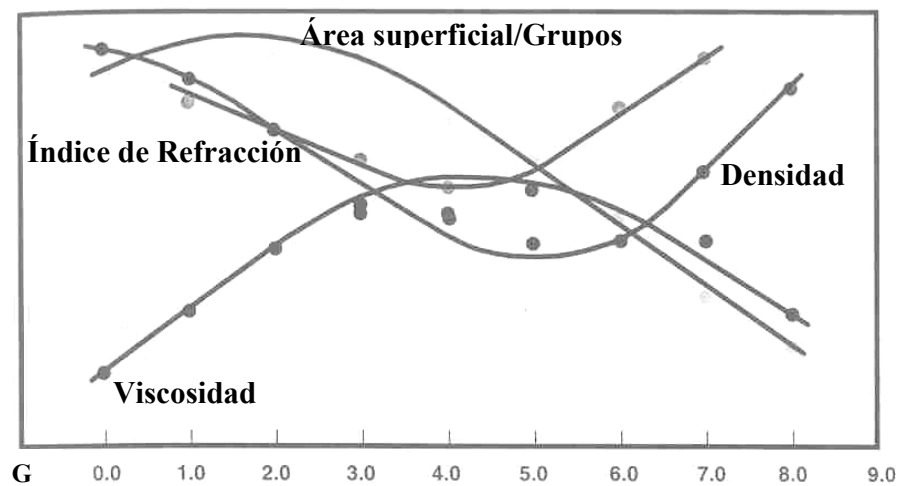


Figura 2. Variación de las propiedades en los dendrímeros en función de la generación

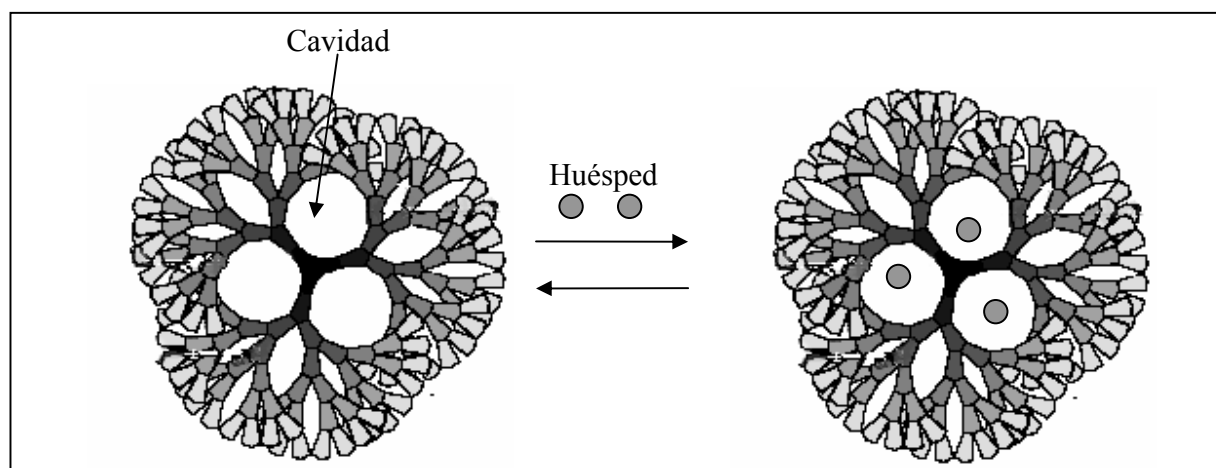


Figura 3. Encapsulamiento de moléculas huésped.

1.1.5 APLICACIONES

La estructura bien definida, la forma globular compacta y el control que se tiene sobre el tamaño, la forma, la monodispersidad y las funcionalidades superficiales, hacen de los

dendrimeros excelentes candidatos potenciales en diferentes aplicaciones; por ejemplo, en el diseño de sensores de gas basado en metalodendrimeros⁷, en la simulación de comportamiento enzimático.^{4,9}, como antenas moleculares, en el área de medicina como agentes terapéuticos en la “técnica de captura de neutrón de boro”; lo que representa un método para el tratamiento de formas poco curables de cáncer⁵, con fines de diagnóstico⁵, como vehículos para medicamentos⁷ y como posibles modelos de sistemas biológicos tales como las proteínas globulares⁶. Además han sido probados con éxito como agentes antivirales¹¹ contra el VIH y como microbicidas¹² con actividad contra infecciones de herpes simple.

El modelado de proteínas globulares es posible ya que dendrimeros como el PAMAM (poliamidoamina) presentan gran similitud en términos de tamaño y conformación con algunas proteínas tales como la insulina, el citocromo c y la hemoglobina (figura 4). Sin embargo, aunque hay grandes similitudes, también existen diferencias significativas. Mientras que en las proteínas la estructura globular se debe al doblamiento de las estructuras lineales que las forman, éstas son muy frágiles y susceptibles a desnaturalizarse bajo ciertas condiciones de temperatura, luz y pH. Además, el doblamiento de las proteínas da lugar a la formación de regiones, no predecibles, interiores y exteriores, hidrofílicas e hidrofóbicas y a cavidades. En contraste, los dendrimeros pueden poseer las mismas regiones y cavidades pero de forma controlada y predecible, presentando la ventaja de que se trata de estructuras covalentemente unidas, y por lo tanto más estables a cambios en las condiciones de temperatura y pH.

1.1.5.1 Dendrimeros como Acarreadores de Fármacos

Los dendrimeros, como se menciona anteriormente, pueden poseer cavidades estables con ambientes químicos predeterminados, característica que los coloca como excelentes candidatos para fungir como acarreadores y liberadores de fármacos. Potencialmente, los dendrimeros pueden ser usados como agentes acarreadores en al menos dos formas: como *endo-receptores*, cuando se de un encapsulamiento de los fármacos en el interior del dendrímtero mediado por diferentes interacciones no covalentes; y como *exo-receptores*, cuando las moléculas puedan ser unidas covalentemente a la superficie del dendrímtero, formando un complejo dendrímtero-fármaco.

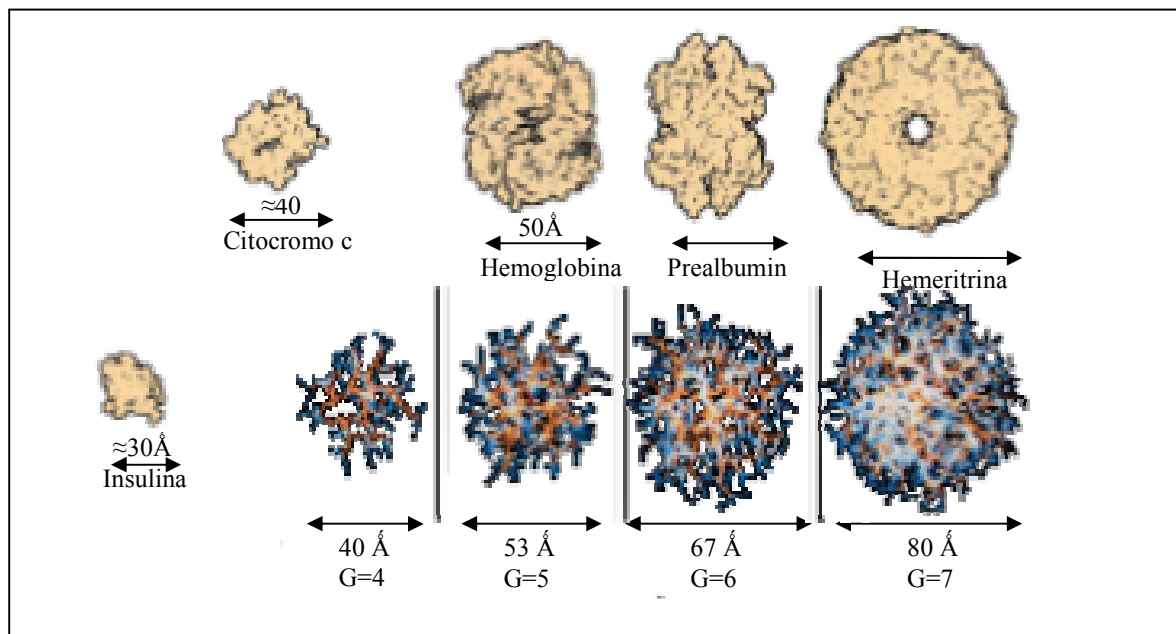


Figura 4. Comparación de una serie de dendrímeros de PAMAM con algunas proteínas

Endo-Receptores

Diversos estudios han mostrado que las cavidades internas de las estructuras dendriméricas pueden ser usadas para encapsular fármacos en básicamente dos formas. La primera estrategia para el encapsulamiento de moléculas huésped en dendrímeros fue reportada por Meijer y colaboradores^{13, 14}, quienes reportaron que moléculas como el ácido p-nitrobenzoico y el colorante Rosa de Bengala podían ser físicamente atrapadas en las cavidades del dendrímero de polipropilenimina (PPI) de altas generaciones cuando un derivado de aminoácido se utilizaba como grupo superficial, ya que la última capa formada está densamente empacada e impide que las moléculas encapsuladas salgan, dando lugar a la formación de una “caja dendrimérica”. La cantidad de moléculas huésped encapsuladas es directamente proporcional a la forma y tamaño de éstas, así como a la cantidad, forma y tamaño de las cavidades internas disponibles en el dendrímero.

La segunda estrategia de encapsulamiento está basada en múltiples interacciones no covalentes, tales como puentes de hidrógeno o hidrofóbicas. Al respecto diversos trabajos se han realizado. Newkome² y colaboradores reportaron dendrímeros de poliamidoéter que

contenían moléculas de 2,6-dicilaminopiridina unidas mediante puentes de hidrógeno. Otro caso es el de las “cápsulas dendriméricas” que encapsulan mediante interacciones no covalentes moléculas hidrofóbicas (10-hidroxicampotheicin, **10HCPT**) en dendrímeros de poliglicerol (PGLSA-COONa); este estudio demuestra la mejora en la solubilidad del 10HCPT sin la pérdida de actividad anticancerígena de la molécula¹⁵. Un caso similar es el reportado por Twyman, Beeper, Mitchell et.al.⁵¹ quienes obtuvieron dendrímeros altamente solubles a partir del PAMAM. Esos dendrímeros son capaces de encapsular y solubilizar moléculas ácidas, insolubles en agua e hidrofóbicas, tale como el ácido benzoico, el ácido salicílico y el 2,6-dibromonitrofenol, en el caso del dendrímero de segunda generación aproximadamente 46 moléculas de ácido benzoico pueden ser disueltas, en principio unidas mediante las interacciones que se dan entre la funcionalidad ácido y los nitrógenos terciarios (básicos) del dendrímero, sin embargo el mecanismo de enlace aun no esta bien definido.

En relación a lo anterior cabe mencionar que la formación de compuestos de inclusión está dominada por el proceso de reconocimiento molecular, principalmente por los factores de complementariedad química y geométrica, y aunque las cavidades en dendrímeros no son precisamente rígidas, si las dimensiones y afinidad química entre huésped y anfitrión no son las necesarias, es posible que se de la formación de compuestos de semi-inclusión, donde sólo una parte del fármaco esté encapsulada. Aun cuando el diseño de la caja dendrimérica es muy atractivo, su uso en aplicaciones de transporte de fármacos esta limitado por las condiciones requeridas para remover la capa densamente empacada y tener acceso al contenido. En contraste, la estrategia de encapsular moléculas huésped mediante interacciones intermoleculares es más atractiva por la simplicidad que presenta y por que los fármacos serían más fácilmente accesibles.

En los párrafos anteriores se ha hablado del potencial que poseen los dendrímeros para encapsular moléculas huésped, en general, dicha potencial, esta definido por la topología del dendrímero. Topológicamente un dendrímero esta formado por tres partes: centro, interior y superficie¹⁸ (figura 5) y cada una afecta drásticamente las capacidades del dendrímero como endo-receptor, ya que la composición y conformación de las partes que lo forman determinan sus propiedades físicas y químicas¹⁶.

Centro (I). Es la parte que define en mayor grado el tamaño, la forma y la direccionalidad del dendrímero, ya que dependiendo del tamaño y grado de ramificación⁵ de éste, el dendrímero puede adquirir geometrías esféricas u ovoides. Existen casos, cuando el centro tiene una gran longitud, en que pueden formarse dos pseudo-dendrímicos (figura 6), donde el centro domina tanto la forma como el encapsulamiento¹⁷.

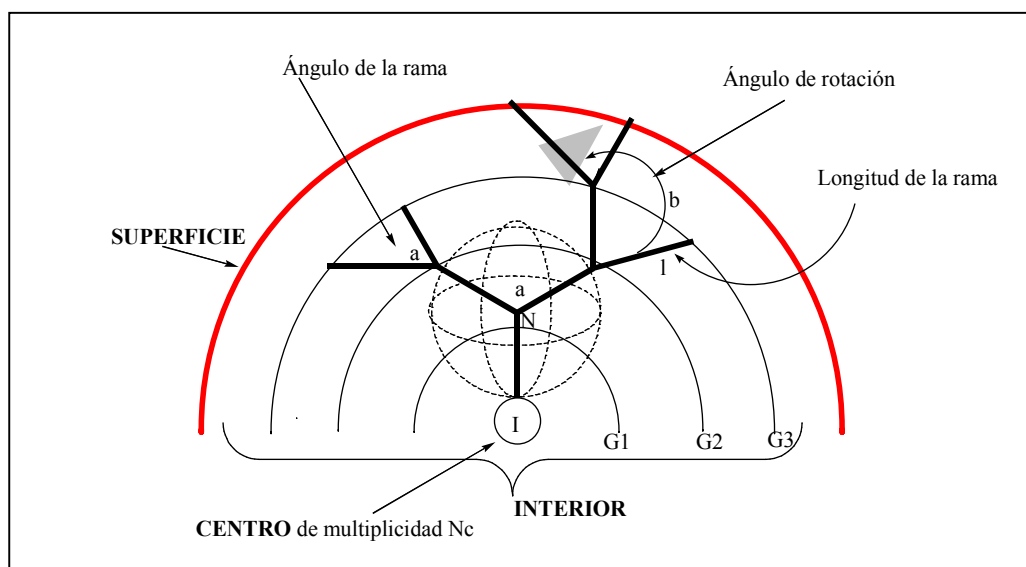


Figura 5. Parámetros geométricos que determinan las propiedades encapsulantes de un dendrímico

Interior. Esta constituido por las ramas dendriméricas, define la forma y tamaño de volumen disponible que puede estar encerrado por los grupos terminales en función de la longitud (l) y flexibilidad de las ramas, los ángulos de las ramas (a) están determinados por la naturaleza química del punto de ramificación, mientras que los ángulos de rotación (b) están influenciados por efectos estéricos e interacciones intermoleculares¹⁶. La multiplicidad de las ramas dendriméricas determina la densidad y grado de amplificación como una función exponencial de la generación. En conjunto, la composición química y el volumen disponible determinan la naturaleza de las interacciones dendrímico-fármaco, interacciones que serán posibles sólo a cierta generación.

⁵ Comúnmente en la literatura se encuentra como multiplicidad, sin embargo para no confundir con multiplicidad electrónica se utiliza grado de ramificación.

Superficie. Consta de grupos terminales que pueden ser reactivos o no reactivos y sus funciones son variadas, por ejemplo, pueden controlar la entrada de las moléculas al interior ó definir el carácter hidrofílico o hidrofóbico del dendrímico. Además, los efectos citotóxicos y hemolíticos son grandemente influenciados por el tipo y número de grupos superficiales¹⁹.

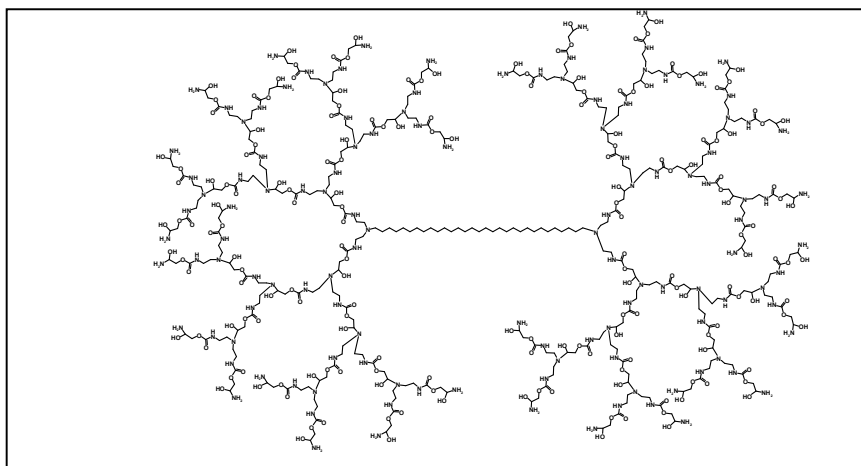


Figura 6. Efecto del centro en la conformación del dendrímico

Exo-Receptores

Cuando los dendrímicos actúan como exo-receptores la construcción de los complejos (dendrímico-fármaco) consiste simplemente en unir los fármacos a la superficie del dendrímico. Una molécula de dendrímico puede acarrear múltiples moléculas de fármacos, dependiendo de la generación y de las condiciones de acoplamiento¹⁹. Sin embargo, esta metodología, aunque relativamente sencilla, no puede aplicarse para acarrear fármacos hidrofóbicos o mejorar su solubilidad, ya que al unirlos a la superficie del dendrímico el complejo obtenido también será hidrofóbico.

Independientemente del acarreador empleado existen ciertas características básicas deseables para que el acarreador pueda aplicarse en sistemas biológicos^{6, 20}, estas son:

- Solubilidad en medios acuosos
- Biocompatibilidad y biodegradabilidad
- No citotóxicos
- Adhesión celular apropiada
- No inmunogénico

1.2 SALICILANILIDOS

Los salicilanilidos son una familia de compuestos derivados de la salicilamida (figura 7). Por su composición son altamente eficaces como antibacteriales²¹ y antihelmínticos⁶, es decir, como compuestos que expulsan los parásitos y los helmintos intestinales.

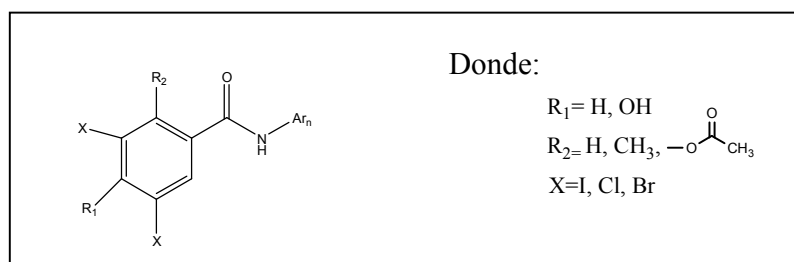


Figura 7. Salicilamida

En general, la familia de los salicilanilidos, formada por la *brotianida*, la *clioxanida*, *closantel*, *niclosamida* y *oxiclosanida* (figura 8), ha tenido una gran aceptación en la medicina veterinaria debido a que presenta una actividad superior contra bacterias como la *S. aureus* y la *E. faecium*, que anteriormente se trataba con vancomicina, metilcilina y/o oxacilina²¹. Además se ha demostrado su alta efectividad contra la “*fasciolosis*”, enfermedad causada por los parásitos *fasciola hepática* y *fasciola gigantica*²², estos últimos presentan alta resistencia a todos los antiparásitos comunes, razón por la cual habían sido tratados únicamente con mezclas, y en grandes dosis de antihelmínticos, lo que repercutía en la salud del animal tratado. Otro ejemplo es el uso de la niclosamida contra la enfermedad llamada “*Bilharzia*”, producida por la “*biomphalaria alexandrina*”, en los ríos de Egipto²³.

Aunque esta familia presenta grandes ventajas sobre los fármacos comúnmente empleados, también presenta algunos problemas. El primero, los salicilanilidos presentan muy baja permeabilidad en las paredes de los intestinos²¹, debido a su carácter hidrofóbico, es por ello que son inefectivos contra las bacterias como la “*E. coli*, *K. pneumoniae* y la *P. aeruginosa*”,

⁶ compuesto que ataca a los helmintos (parásitos intestinales planos)

que poseen carácter aniónico. Otro problema se presenta en el caso de la Bilharzia, contra la cual se emplean concentraciones muy altas debido a que la niclosamida se hidroliza y pierde su efectividad.

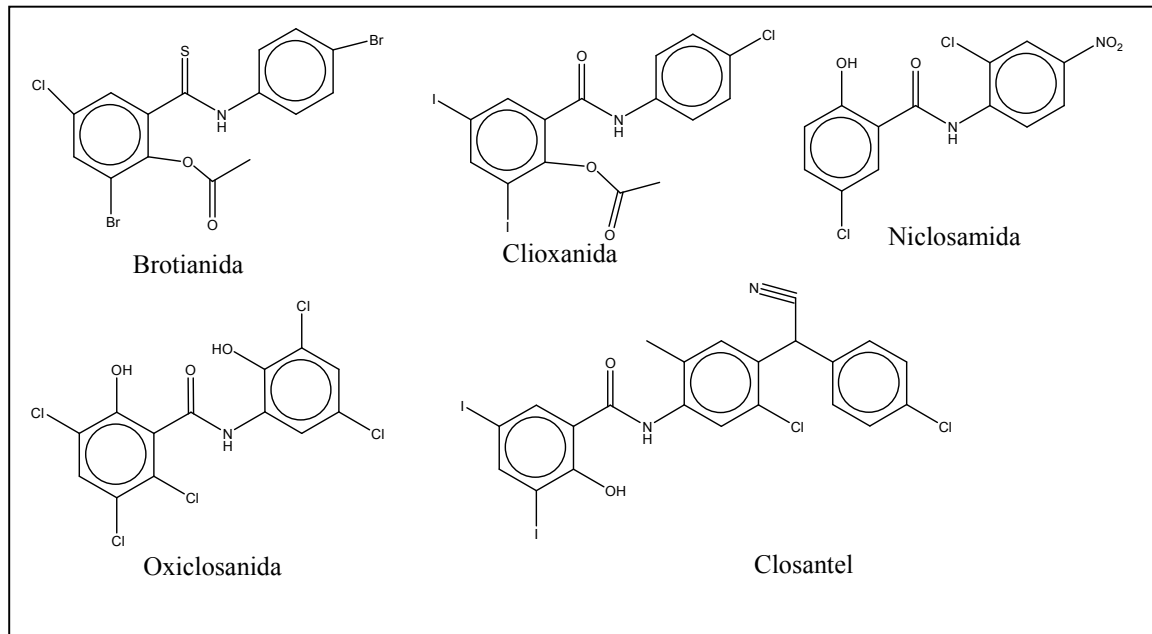


Figura 8. Salicilanilidos

Ante dichos problemas se ha evaluado la posibilidad de emplear medios encapsulantes para transportar a los fármacos al lugar adecuado mejorando su solubilidad y disminuyendo a la vez las dosis empleadas ya que se evitaría la hidrólisis, en el caso de la niclosamida. Ejemplos de estos medios son los polímeros y las micelas, sin embargo presentan problemas de agregación y en el caso de las micelas son poco estables a los cambios de temperatura y pH.

1.3 INTERACCIONES INTERMOLECULARES

La formación y estabilización de compuestos huésped-anfitrión, de supramoléculas y el doblamiento de las proteínas, son sólo algunos de los procesos dominados por las interacciones intermoleculares. Las interacciones de mayor impacto en dichos procesos han sido estudiadas sistemáticamente. Éstas varían en estabilidad y van desde las interacciones fuertes de tipo iónico (100-350 kJ/mol), pasando por los puentes de hidrógeno, las interacciones catión- π ó π - π , hasta las fuerzas débiles de van der Waals (<5 kJ/mol)²⁴. De todas ellas, los puentes de hidrógeno tienen una contribución clave en dichos procesos y es preciso estudiarlos con un enfoque adecuado.

Un puente de hidrógeno se puede definir como una interacción parcialmente covalente entre un átomo de hidrógeno unido covalentemente a un átomo electronegativo y un átomo aceptor electronegativo²⁶. Los puentes de hidrógeno recientemente se han clasificado como débiles, fuertes y muy fuertes²⁴ en función de su energía de interacción, misma que es función de los 4 parámetros geométricos²⁶ descritos en la figura 9.

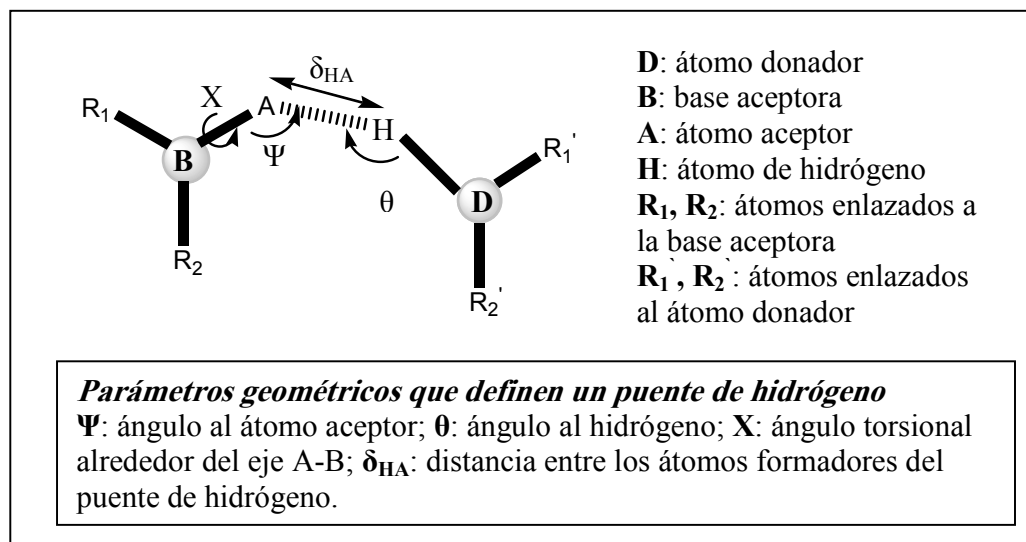


Figura 9. Definición geométrica de un puente de hidrogeno.

Las interacciones entre C-H \cdots O, C-H \cdots N y C-H \cdots π , son clasificadas como puentes débiles y aunque su contribución energética es de <2 kJ/mol, son de gran importancia en los procesos de solvatación y en la química de macromoléculas y moléculas biológicas. Estudios teóricos reportan que estas interacciones tienen distancias mayores de 2.5 Å y su direccionalidad varía entre 100° y 170°. ²⁵

Además de los puentes de hidrógeno, las otras interacciones presentes en los procesos antes mencionados se describen a continuación.

*Interacciones de van der Waals*²⁹, son aquellas debidas a la interacción entre: dipolo–dipolo, dipolo–dipolo inducido y dipolo inducido–dipolo inducido. Las interacciones dipolo-dipolo se presentan en moléculas con dipolos permanentes como consecuencia de la diferencia de electronegatividades de los átomos que las conforman. Las interacciones dipolo–dipolo inducido se producen cuando una molécula no polar es introducida en un medio polar y por el movimiento de electrones en las moléculas polares se produce una distorsión en los electrones de la capa electrónica de la molécula no polar (inducción de dipolos), generando así una interacción entre el dipolo inducido y el dipolo permanente de la molécula polar. Así, las interacciones dipolo inducido–dipolo inducido son provocadas entre moléculas no polares debido a que el movimiento de los electrones en un momento dado originan zonas de mayor densidad electrónica y ésta a su vez produce un dipolo en la otra molécula y se genera una interacción entre ambas, a este tipo de interacción también se le conoce como fuerzas de dispersión o de London. Dentro de las interacciones intermoleculares las de dispersión son las que contribuyen a la estabilidad de la molécula, mientras que el resto de las interacciones no covalentes son las responsables de la conformación estructural que la molécula adopta.

*Interacciones hidrofóbicas.*³⁰ Éstas ocurren en soluciones acuosas de sustancias orgánicas de bajo peso molecular, así como en sistemas bio-macromoleculares y proteínas. Las interacciones hidrofóbicas representan la tendencia de los grupos no polares a asociarse en soluciones acuosas.

Debido a la importancia de las interacciones intermoleculares, su modelado ha sido de gran interés en los últimos años y diversas publicaciones sugieren el uso de niveles de teoría (vease capítulo II) como la teoría de las perturbaciones; MPn (Moller-Plesset) para su estudio^{25,26,27}, sin embargo, éstos están limitados a unos cuantos átomos y no es posible aplicarlos en el estudio de sistemas macromoleculares. Con la finalidad de reproducir los valores experimentales mediante química teórica (ver cap II), se han realizado estudios utilizando diferentes niveles de teoría para analizar los puentes de hidrógeno y éstos ponen de manifiesto que:

- Diferentes campos de fuerza como OPLS-AA, MM3-2000, entre otros, modelan los puentes de hidrógeno como interacciones puramente electrostáticas, lo que claramente no es una buena descripción de estas interacciones²⁶, sin embargo, en ocasiones son la única alternativa para modelar sistemas de cientos de átomos.
- Las predicciones de energías de interacción con HF son sobreestimadas con más de un 40% de error ya que los efectos de correlación electrónica son despreciados y predice distancias de interacción muy cortas²⁷.
- La teoría de funcionales de la densidad (DFT), que introduce el efecto de correlación, es considerablemente mejor que HF. Sin embargo, los cálculos con DFT basados en la Aproximación de Densidad Local (LDA), subestiman las energías de interacción. Mientras que los DFT basados en la Aproximación de Gradiente Generalizado (GGA), que introduce una correlación dinámica, predice valores comparables con los obtenidos con métodos MP²⁷.

Recientemente Yan Zhao y Donald G Truhlar²⁸ realizaron un estudio probando diferentes funcionales para simular interacciones no enlazantes y en él concluyen que los funcionales que mejor modelan los puentes de hidrógeno son PBE, PBE1PBE, B3P86, MPW1K, B971 y BHHLYP, tomando como punto de partida dicho estudio en el presente trabajo se empleo, además del funcional B3LYP, el funcional BHandHLYP con la finalidad de ver el efecto del cambio de funcional en el estudio de sistemas de decenas de átomos que interactúan mediante puentes de hidrógeno principalmente.

2.1 QUÍMICA COMPUTACIONAL

Se denomina Química Computacional a la obtención de información estructural de sistemas químicos por medio de cálculos matemáticos basados en leyes fundamentales de la física.

En la actualidad la única teoría capaz de dar una interpretación a las ecuaciones de movimiento de sistemas del tamaño de las moléculas es la mecánica cuántica, sin embargo, debido al costo computacional de estos cálculos, frecuentemente se hace uso de la física clásica, encontrándonos así ante dos grandes modelos teóricos para obtener geometrías moleculares de mínima energía, mismas que recientemente se emplean conjuntamente en los cálculos ONIOM.

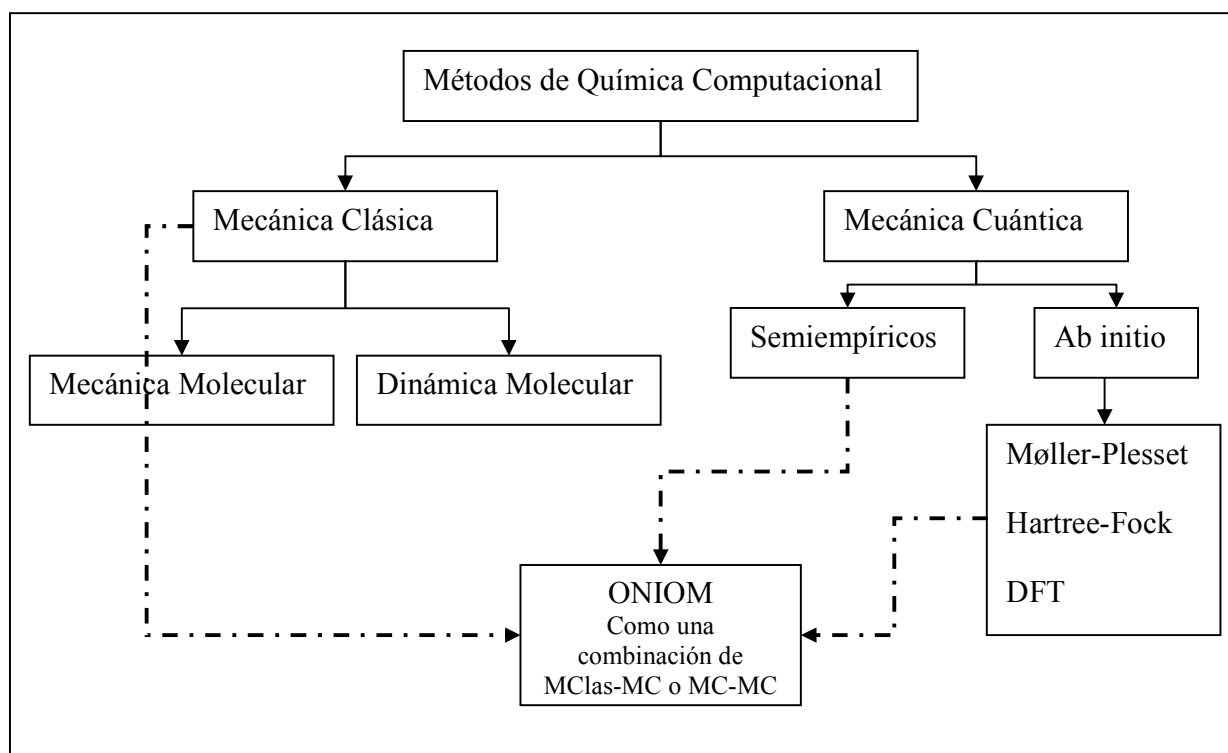


Figura 10. Métodos en química computacional

2.2 MECÁNICA CLÁSICA ³¹

2.2.1 MECÁNICA MOLECULAR

La mecánica molecular fue desarrollada con la finalidad de describir estructuras moleculares y sus propiedades de manera práctica. Así, este modelo describe a las moléculas en términos de esferas rígidas unidas entre sí, y la geometría molecular en términos de distorsiones de las distancias de enlace, ángulos de enlace, y ángulos diedros respecto a valores ideales (figura 11). Además considera interacciones no enlazantes ó de van der Waals y coulombicas³².

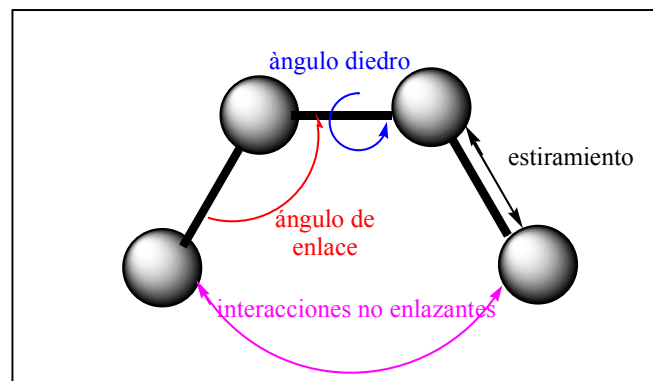


Figura 11. Variables energéticas de los campos de Mecánica Molecular

De acuerdo a las variables antes mencionadas, la energía se calcula como:

$$E^{total} = \sum_i^{enlaces} E_i^{estiramiento} + \sum_i^{ángulos} E_i^{áng.enlace} + \sum_i^{diedros} E_i^{torsion} + \sum_i \sum_j^{átomos noenlazados} E_{ij}^{noenlazado} \quad \text{Ec.1}$$

En la ecuación (1) los primeros dos términos, correspondientes a las desviaciones de distancias y ángulos de enlace, se modelan con la ley de Hook, matemáticamente:

$$E^{estiramiento}(r) = \frac{1}{2} k^{estiramiento} (r - r_0)^2 \quad \text{Ec. 2}$$

$$E^{áng.enlace}(\alpha) = \frac{1}{2} k^{áng.enlace} (\alpha - \alpha_0)^2 \quad \text{Ec.3}$$

Además se pueden incluir términos cúbicos o de mayor orden para considerar las correlaciones entre estiramiento y giro.

Para representar la energía de torsión se utiliza una función periódica simple:

$$E^{torsion}(w) = k^{torsion1}(1 - \cos(w - w_0)) + k^{torsion2}(1 - \cos 2(w - w_0)) + \dots \quad \text{Ec.4}$$

Este término se suma o se resta de acuerdo a las necesidades energéticas del sistema.

La energía debida a las interacciones de los átomos no enlazados son función únicamente de la distancia de separación de los átomos y se compone de dos términos: interacciones de van der Waals e interacciones coulombicas. Las primeras son representadas como la suma de términos repulsivos y atractivos, mientras que las coulombicas representan la interacción entre las cargas de los átomos. Matemáticamente:

$$E^{noenlazados}(r) = E^{VDW}(r) + E^{Coulombica}(r) \quad \text{Ec.5}$$

$$E^{VDW}(r) = \epsilon \left[\left(\frac{B_{ij}}{r} \right)^{12} - \left(\frac{A_{ij}}{r} \right)^6 \right] \quad \text{Ec.6}$$

$$E^{Coulombico}(r) = \frac{q_i q_j}{r} \quad \text{Ec.7}$$

En las ecuaciones 6 y 7 la constante A se obtiene de experimentos de polarizabilidad atómica y B de datos cristalográficos.

La premisa básica en mecánica molecular es el alto grado de transferibilidad de parámetros geométricos de una molécula a otra, así como la dependencia predecible de los parámetros con la hibridación atómica, por ello es posible definir diferentes CAMPOS DE FUERZA, variando únicamente los parámetros empleados.

La mecánica molecular se aplica para³³:

- Moléculas que contienen cientos de átomos.
- Moléculas orgánicas, péptidos, sacáridos y sólo en algunos casos compuestos organometálicos.
- Estudios en vacío o en ambientes con disolvente implícito o explícito.
- Moléculas en estado basal.
- Propiedades termodinámicas y cinéticas vía dinámica molecular
- Propiedades geométricas

La gran velocidad de los cálculos de mecánica molecular permite su uso en procedimientos tales como dinámica molecular y/o en búsquedas conformacionales.

2.2.2 DINÁMICA MOLECULAR³⁴

En el más amplio sentido, la dinámica molecular se basa en el movimiento inter e intramolecular que es inherente a todos los procesos químicos, por ejemplo estiramiento-acortamiento de longitud de enlaces, cambio de ángulo de enlace, etc. La fuerza motriz de esos procesos es descrita por la termodinámica, que dicta las relaciones energéticas entre los diferentes estados y marca cuales de ellos son posibles, mientras que el mecanismo y la rapidez de interconversión entre estados están descritos por la cinética.

El proceso que se sigue en dinámica molecular consiste en generar cambios en las posiciones atómicas en función del tiempo, es decir, calcular la velocidad atómica variando progresivamente los grados de libertad intramoleculares. Con el dato de velocidad y basándose en la 2ª Ley de Newton (Ec. 8) es posible simular el movimiento y conocer las posiciones de cada uno de los átomos.

$$F_i = m_i * a_i \quad \text{Ec. 8}$$

Para simular el movimiento se parte del hecho de que todas las moléculas tienen una energía cinética inicial que es función de la temperatura, por lo tanto es posible conocer las velocidades iniciales de cada átomo y a partir de este punto se simula un calentamiento muy

suave que irá generando consecutivamente estructuras de equilibrio con una energía cinética (función de la temperatura), a partir de la cual es posible conocer las velocidades de equilibrio (figura 12).

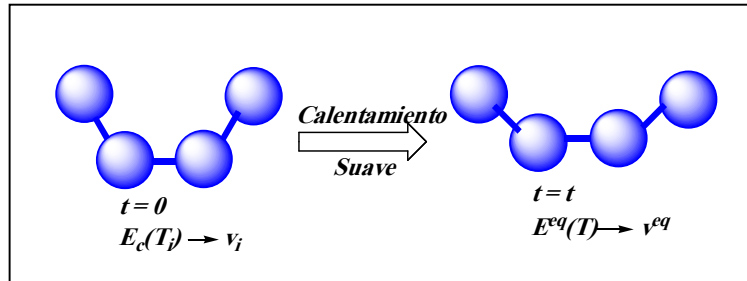


Figura 12. Proceso de dinámica molecular

Con las energías se calculan las fuerzas sobre cada átomo y empleando la ley de Newton es posible conocer las posiciones a través de un tiempo especificado (frecuentemente de 10ps), de acuerdo a las ecuaciones 9 y 10.

$$F_i = -\frac{dE}{dr_i} = m_i \frac{dv_i}{dt} \quad \text{Ec.9}$$

$$v_i = \frac{dr_i}{dt} \quad \text{Ec.10}$$

Finalmente, como resultado, lo que se obtiene es una **trayectoria**, es decir, un conjunto de “fotos” de los cambios estructurales sobre el tiempo. La dinámica molecular, a diferencia de un proceso de minimización, no tiene un punto de terminación definido sino que lo marca el tiempo que dura la simulación. 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 sólo 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.

A diferencia de la mecánica molecular, que permite conocer mínimos energéticos de una estructura, la dinámica molecular se emplea para encontrar, mediante el análisis de la

trayectoria, el mínimo global energético de un sistema (figura 13). Cabe mencionar que las velocidades y direcciones del movimiento de los átomos se rigen por la presencia de otros átomos, es decir, 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, por esta razón la fuerza sobre cada átomo se calcula como la suma vectorial de todas las fuerzas producidas por las interacciones con átomos vecinos. Por lo expuesto anteriormente es que se tienen que emplear métodos de integración finita para calcular las posiciones atómicas; 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. Las ecuaciones empleadas son las mismas que en mecánica molecular y sólo para el caso de cargas puntuales es necesario hacer cálculos previos con niveles de teoría altos, siempre que las interacciones electrostáticas existentes sean el factor dominante.

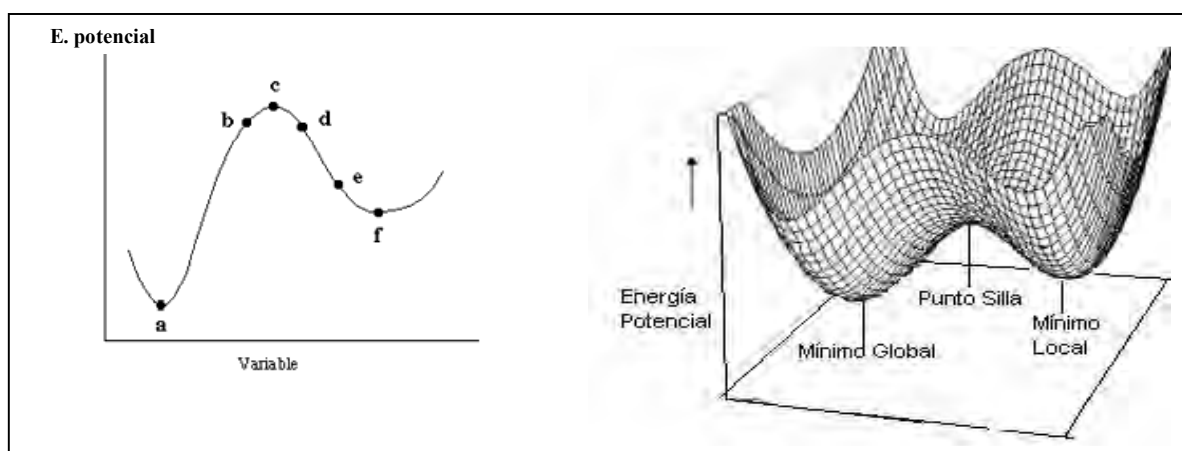


Figura 13. En la gráfica izquierda los puntos, a, b, c, d, e, f, son calculados con mecánica molecular, mientras que la trayectoria es obtenida mediante dinámica molecular. La grafica a la derecha muestra los diferentes mínimos en una sabana de energía potencial.

2.2.3 ESTUDIO DE SUPERFICIES

Es necesario especificar que el estudio de las superficies moleculares en físico-química no tienen contraparte real, sin embargo, resulta de gran utilidad visualizar las moléculas de una manera aproximada que permita definir el volumen que ocupa una molécula en el espacio y sus posibles interacciones intramoleculares o intermoleculares con un posible sustrato, prediciendo el comportamiento experimental de éstas a nivel laboratorio.

Existen diferentes modelos que permiten realizar estudios de superficies^{35,36}, entre ellos están los modelos de Alay y Wodak, de Gibson y Scheraga, de Richards y Finney, de Richmond y el de Connolly. La mayoría de éstos 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.

El modelo de Connolly³⁶, desarrollado por Michael Connolly en la década de los 80's, se diferencia del resto por que muestra solamente los átomos que son accesibles a una esfera de disolvente. Siguiendo la línea de mecánica clásica se emplea un modelo de esferas rígidas, aunque claramente las propiedades físicas y químicas de una molécula no están completas ni adecuadamente representadas considerando a la molécula como una colección de esferas y las interacciones con el disolvente son más complejas que simples exclusiones estéricas con una esfera de prueba, sin embargo, desde su creación hasta nuestros días este método se ha aplicado en enzimología, diseño racional de fármacos y, específicamente para este trabajo, nos permitirá tener una idea de las capacidades de encapsulamiento de ciertas moléculas³⁶.

Las superficies de interés incluyen la *superficie de van der Waals*, definida como la superficie de la molécula cuando los átomos están definidos con radio igual al de van der Waals, a partir de ésta se define el *volumen de van der Waals* como el volumen de las esferas traslapadas que forman la molécula; *el área molecular* o *superficie de Connolly (A_m)* (también puede

referirse como superficie de contacto o superficie molecular) y la *superficie accesible al disolvente (SAS)*. Estas últimas son definidas con ayuda de una molécula de disolvente (también considerada como una esfera rígida) de radio r . El *área molecular (Am)* será la parte de la superficie de van der Waals que es tocada por la esfera de disolvente sin que ésta experimente traslape con algún átomo; a partir de esta área se deriva el *Volumen de Solvente Excluido (SEV⁷, Solvent Excluded Volumen)*, que es el volumen del cual el solvente está excluido por la presencia de la molécula. El SEV es la suma del volumen de van der Waals, y el volumen intersticial, este último se define como el volumen generado por los defectos de empaquetamiento entre átomos que están lo suficientemente juntos para no admitir a la esfera de prueba. Por otro lado la *superficie accesible al disolvente (SAS)*³⁷ representa la porción de la molécula a la que el solvente puede tener acceso y está definida por el trazado que parte del centro de la molécula de disolvente cuando ésta es rodada sobre la superficie de van der Waals de la molécula de interés. En la figura 14 están representadas las superficies y en la figura 15 los volúmenes.

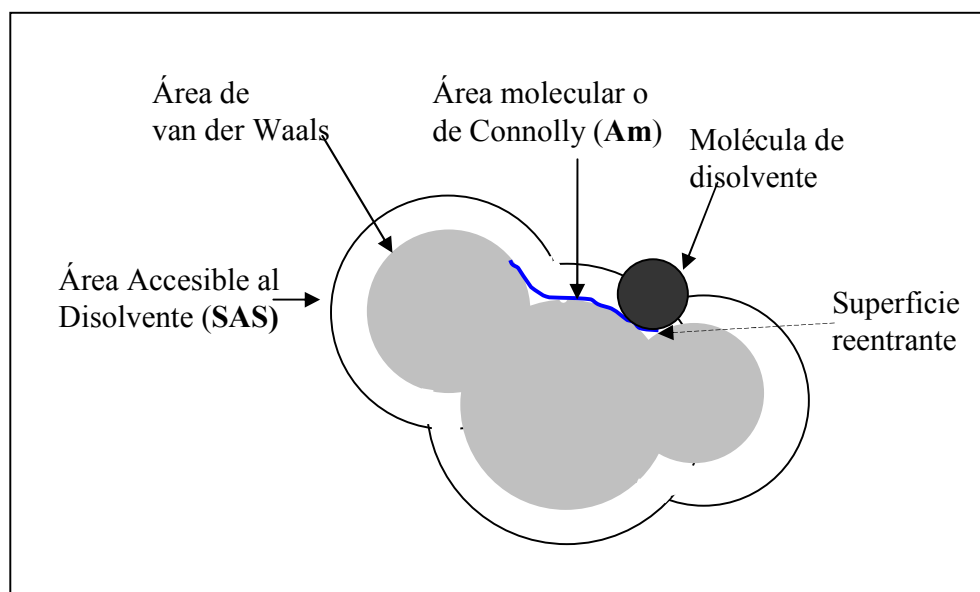


Figura 14. Superficies en un modelo de esferas rígidas

⁷ La definición del SEV varía dependiendo del método aplicado, para Tim Richmond (1984) el SEV es el volumen definido a partir del área accesible al disolvente. (www.netsci.org/Science/Compchem/)

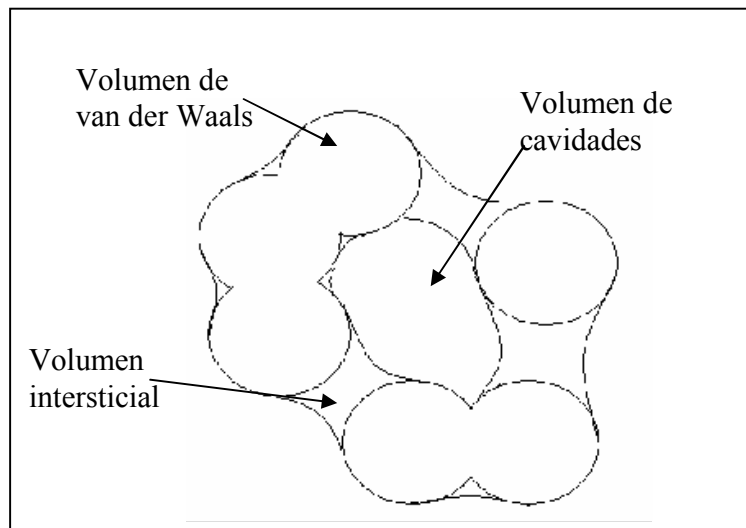


Figura 15. Volúmenes en un modelo de esferas rígidas

Para los fines de este trabajo la información más útil que se puede obtener es el cálculo de huecos o cavidades presentes en la molécula, mismos que pueden ser calculados de manera indirecta bajo ciertas consideraciones: *a)* considerando que el volumen total es aproximadamente igual al SEV y *b)* que el volumen intersticial es prácticamente cero. Bajo esos criterios, y definiendo el volumen total³⁴ de acuerdo a la ecuación 11, se puede obtener el volumen de cavidades de acuerdo a la ecuación 12.

$$SEV \approx V_{TOTAL} = [V_{vanderWaals} + V_{Cavidades} + V_{Intersticial}] \quad \text{Ec. 11}$$

$$V_{Cavidades} = [SEV - V_{vanderWaals}] \quad \text{Ec. 12}$$

Un segundo parámetro geométrico muy importante a considerar es la **ovalidad**, este parámetro es una medida de la esfericidad de una molécula, se define de acuerdo a la ecuación 13 o como la relación entre los principales momentos de inercia (I_z/I_x), es muy importante en el diseño de acarreadores de fármacos, ya que aparentemente las moléculas de ovalidad mayor a dos son citotóxicas, es decir, resultan dañinas para las células, motivo por el cual se debe buscar que la ovalidad tienda a uno⁵⁰.

$$Ov = \frac{\text{Área.Molecular}}{\text{Área.Mínima}} = \frac{I_z}{I_x} \quad \text{Ec. 13}$$

En el caso de una esfera ambas áreas son iguales y la ovalidad es 1, sin embargo, para sistemas moleculares el área molecular es mayor al área mínima y por lo tanto la ovalidad aumenta, como se observa esquemáticamente en la figura 16.

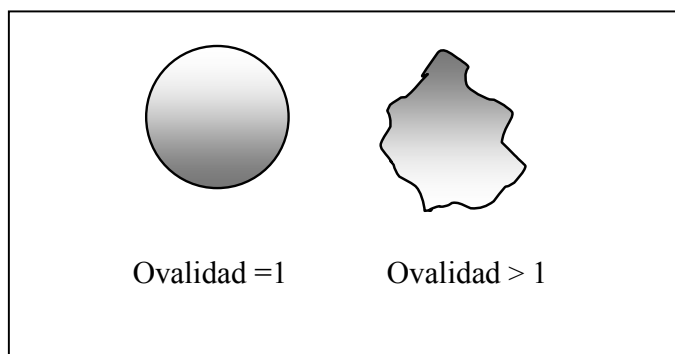


Figura 16. Ovalidad

2.2.4 ANÁLISIS CONFORMACIONAL

La localización de los puntos estacionarios, particularmente de mínima energía, juegan un papel central en la química computacional. Las propiedades físicas, químicas y biológicas de una molécula dependen fuertemente de la conformación adoptada, y ésta a su vez del punto energético en que se encuentre la estructura en estudio.

Para poder entender e interpretar los resultados de una simulación molecular es necesario partir de una molécula cuya conformación sea la “preferida”, en otras palabras la más estable o la de menor energía sobre la superficie de energía potencial (PES). Con esa finalidad se realiza un análisis conformacional. Es importante resaltar que una característica de los métodos para realizar minimizaciones de energía es que los parámetros geométricos (distancias de enlace, ángulos de enlace y diedros y distancias entre átomos no enlazantes) sólo se mueven en puntos cercanos al punto de partida.

Para moléculas pequeñas es posible realizar el análisis conformacional de forma sistemática, sin embargo, para grandes sistemas existen métodos al azar que se basan en perturbaciones geométricas para pasar de un mínimo local a otro con la finalidad de explorar el espacio

conformacional y encontrar un mínimo local muy cercano al mínimo global³⁸. Uno de ellos es el método de Monte Carlo (multiple minimum MCMM).

En el método de Monte Carlo (MC), partiendo de una geometría dada, nuevas configuraciones son generadas con movimientos al azar de uno o más átomos, es decir, variando parámetros geométricos como longitud o ángulos de enlace o de giro. En MC la nueva geometría es aceptada como punto de partida para un nuevo paso de perturbación si ésta es menor en energía que la de partida. De lo contrario el factor de Boltzmann $e^{-\Delta E / K_B T}$ es calculado y comparado con un número al azar entre 0 y 1. Si $e^{-\Delta E / K_B T}$ es menor que este número, la nueva geometría es aceptada, de otra forma el siguiente paso se realiza desde la geometría anterior³⁸.

Una de las ventajas de este método es que durante la búsqueda se tiene la capacidad de saltar barreras energéticas y así explorar diferentes regiones del espacio conformacional³⁹.

Una vez encontrada la conformación más cercana al mínimo global es posible realizar una minimización de energía y calcular las propiedades del sistema con un nivel de teoría y una base adecuadas para el mismo.

2.3 MECÁNICA CUÁNTICA^{32,33}

La mecánica cuántica, a diferencia de la mecánica molecular, describe a las moléculas en términos de interacciones entre el núcleo y los electrones, y la geometría molecular esta definida por los arreglos nucleares de mínima energía.

La mecánica cuántica establece que la energía y otras propiedades relacionadas de una molécula pueden obtenerse al resolver la ecuación de Schrödinger, ya que existe un postulado que dice que “para todo sistema aislado existe una función matemática que contiene toda la información significativa del sistema”, a dicha función se le conoce como función de onda del sistema (ψ). Y si a esta función se le asocia un operador ligado con la energía del sistema se puede escribir la ecuación de Schrödinger generalizada:

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad \text{Ec.11}$$

El operador Hamiltoniano (\hat{H}), en términos generales se define de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\hat{H} = \frac{-\hbar^2}{8\pi^2} \sum_A \frac{1}{M_A} \nabla_A^2 - \frac{\hbar^2}{8\pi^2 m} \sum_a \nabla_a^2 - e^2 \sum_A \sum_a \frac{Z_A}{r_{Aa}} + e^2 \sum_{A>B} \sum \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} + e^2 \sum_{a>b} \sum \frac{1}{r_{ab}} \quad \text{Ec.12}$$

Los primeros dos términos en la ecuación 12 describen la energía cinética de los núcleos (A) y de los electrones (a) y los últimos tres términos describen las interacciones coulombicas entre núcleo-electrón, núcleo-núcleo y electrón-electrón respectivamente.

De acuerdo al postulado antes mencionado, al resolver la ecuación de Schrödinger (encontrar los valores de E y Ψ tales que se cumpla la igualdad) es posible:

- determinar la posición de los núcleos y electrones de una molécula y por lo tanto determinar: configuración, conformación, tamaño, forma, etc.
- con un conjunto de especificaciones, conocer las energías de las moléculas y con éstas: calor de formación, estabilidad conformacional, reactividad química y otras propiedades.

Desafortunadamente la solución a la ecuación de Schrödinger para sistemas multielectrónicos (con tres o más partículas) sólo es posible numéricamente y haciendo uso de diferentes aproximaciones dependiendo del sistema tratado. Algunas de las aproximaciones utilizadas son las que a continuación se enumeran.

- *Aproximación de Born-Oppenheimer*^{40,32}

Debido a la diferencia de masas entre el núcleo y el electrón se considera que *los núcleos no se mueven*, ya que, para una misma energía cinética, la velocidad del núcleo es despreciable respecto a la del electrón, en consecuencia el primer término de la ecuación 12 (del operador Hamiltoniano) tiende a cero, y el cuarto término es una constante. Por lo tanto el Hamiltoniano, ahora electrónico, se puede describir como:

$$\hat{H}^e = -\frac{\hbar^2}{8\pi^2 m} \sum_a^{\text{electrones}} \nabla_a^2 - e^2 \sum_A^{\text{nucl}} \sum_a^{\text{electr.}} \frac{Z_A}{r_{Aa}} + e^2 \sum_{a>b}^{\text{elect}} \sum \frac{1}{r_{ab}} \quad \text{Ec. 13}$$

De manera que la ecuación de Schrödinger se describe, también en términos electrónicos, de acuerdo a la ecuación 14 y la energía total del sistema será la energía electrónica más el término correspondiente a la interacción coulombica entre núcleos.

$$\hat{H}^e \Psi^e = E^e \Psi^e \quad \text{Ec. 14}$$

$$E = E^e + e^2 \sum_{A>B}^{\text{nucleo}} \sum \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}} \quad \text{Ec. 15}$$

Sin embargo, aun con esta aproximación la ecuación de Schrödinger sigue siendo irresoluble.

- *Aproximación de Hartree-Fock*^{39,40}

Para resolver la ecuación de Schrödinger es necesario hacer aproximaciones adicionales, y la más obvia es realizar una separación de variables y obtener un operador monoeléctrico. Con esta finalidad la aproximación de Hartree-Fock considera que un electrón puede ser descrito independientemente del resto, y todo el resto forma un potencial efectivo; por lo tanto cada electrón j se comporta como si existiera una carga distribuida en el espacio.

Lo anterior permite que el problema de n electrones se transforme en n problemas de un electrón, que en principio se puede resolver numéricamente.

En términos matemáticos lo que se hace es reemplazar la función de onda de n electrones (Ψ) por el producto de n funciones de onda de un solo electrón, conocidas como espín-orbitales u orbitales moleculares (ψ). Estas funciones dependen únicamente del arreglo espacial y de una de las dos posibles partes del espín (α ó β). Estas funciones, α ó β , tienen el valor de 0 o 1 dependiendo del valor cuántico m_s del electrón. Así, cada orbital sólo puede acomodar dos electrones con espines apareados.

$$\Psi(n.\text{electrones}) \Rightarrow \Psi(r_1, r_2, \dots, r_n) = \psi_1(r_1)\psi_2(r_2)\dots\psi_n(r_n) \quad \text{Ec. 16}$$

Con esta aproximación la definición del operador Hamiltoniano también sufre modificaciones ya que el término referente a las interacciones electrón-electrón es ahora un potencial efectivo, de forma que el Hamiltoniano de Hartree-Fock se describe como:

$$\hat{H}^{HF} = \sum_a^{\text{electrones}} h_a = \sum_a^{\text{electrones}} (h_a^0 + V_a^{\text{effect}}) \quad \text{Ec. 17}$$

Y ahora el problema es que para resolver la ecuación de Schrödinger es necesario conocer los orbitales moleculares.

- *Combinación Lineal de Orbitales Atómicos (LCAO)*^{32,39,40}

Para solucionar el problema anterior se propone que los espín orbitales sean expresados como una combinación lineal de un conjunto finito de funciones base conocidas (ϕ), matemáticamente:

$$\psi_i = \sum_{\mu=1}^K C_{\mu i} \phi_{\mu} \quad \text{Ec. 18}$$

Debido a que las funciones base generalmente son centradas en la posición del núcleo (aunque no hay razón que obligue a ello) éstas son referidas como orbitales atómicos, y la expansión de la ecuación 18 es llamada Combinación Lineal de Orbitales Atómicos (LCAO, Linear

Combination of Atomic Orbitals). De acuerdo a la ecuación 18 pueden existir K funciones base y cabe esperar que se deriven K orbitales moleculares (aunque no todos estuvieran ocupados por electrones). El número más pequeño de funciones base para un sistema molecular será aquel que acomode en forma justa a todos los electrones de la molécula.

De acuerdo al teorema variacional, es necesario encontrar el grupo de coeficientes $C_{\mu i}$ que generen la menor energía y esto ocurrirá cuando la energía esté en un mínimo, es decir, cuando la derivada de la energía con respecto a cada uno de los coeficientes sea cero.

Basado en el teorema variacional⁴⁰, que establece que la energía obtenida a partir de una aproximación de la función de onda verdadera siempre será mayor que la energía real, y con las aproximaciones anteriores se tiene la posibilidad de encontrar una solución (aproximada) de la ecuación de Schrödinger. Se parte de un conjunto de funciones aleatorias construidas como una combinación lineal de un conjunto de funciones base, a esas funciones se les aplica el operador Hamiltoniano y se obtiene la energía de orbital (ϵ_i), nombrada así ya que se obtiene a partir de las funciones espín-orbitales. De manera iterativa se recalculan las funciones moleculares y la energía hasta que el cambio no sea mayor al error permitido, es decir, hasta que los valores sean autoconsistentes. El procedimiento antes descrito es conocido como Campo Autoconsistente¹⁰ (SCF, Self-Consistent-Field).

Ya que se trata de un método iterativo es necesario tener un buen punto de partida, ϕ_i lo más próximas al valor exacto, por lo cual, una herramienta muy empleada es la hipótesis de Hartree, que propone que el potencial efectivo tiene simetría esférica y por lo tanto sólo es función del radio.

Al tomar las aproximaciones de Hartree-Fock y LCAO y aplicarlas a la ecuación de Schrödinger, se obtienen las ecuaciones de Roothaan-Hall :

$$\sum_v^K (F_{\mu v} - \epsilon_i S_{\mu v}) C_{v i} = 0 \quad \text{Ec. 19}$$

En la ecuación anterior S es la matriz de traslape y es una medida de cuanto “ve una función base a cada una de las otras”. A diferencia de la ecuación de Schrödinger, aquí se emplea la matriz de Fock (F) que es análoga al operador Hamiltoniano. Los métodos resultantes de la

solución de las ecuaciones de Roothaan-Hall son conocidos como *Modelos Ab Initio* o *Hartree-Fock*. La energía correspondiente a un conjunto de bases infinito es llamada energía de Hartree-Fock que, cabe mencionar, no es igual al valor experimental.

2.3.1 TEORÍAS DE CORRELACIÓN ELECTRÓNICA³²

Uno de los mayores inconvenientes de la teoría de Hartree-Fock es que trata el movimiento de los electrones, con el mismo espín, como independiente uno del otro y esto genera que la energía de repulsión electrón-electrón sea sobreestimada y por lo tanto la energía total del sistema sea mayor. En realidad, los movimientos de los electrones están correlacionados y tienden a evitarse unos a otros más de lo que la teoría de Hartree-Fock considera, dando lugar a que la energía de repulsión electrón-electrón disminuya y por ende la energía total sea menor.

La energía de correlación se define como la diferencia entre la energía de Hartree-Fock (E^{HF}) y la energía experimental. La correlación electrónica está justificada, especialmente cuando se requiere información cuantitativa, y más aún, cuando se estudian efectos de dispersión, mismos que juegan un papel muy importante en las interacciones intermoleculares.

2.3.1.1 Teorías Møller-Plesset³²

Existen diferentes métodos para incorporar los efectos de correlación en un cálculo ab initio, la mayoría de éstos involucran la mezcla de la función de onda del estado basal (Hartree-Fock) con funciones de onda de estados excitados. Lo anterior implica, de manera implícita o explícita, la promoción de electrones de orbitales ocupados a orbitales vacíos.

Entre los esquemas más prácticos están los modelos Møller-Plesset, los cuales, basados en la teoría de perturbación de Rayleigh-Schrödinger, están descritos en términos de un Hamiltoniano electrónico definido como la suma de un operador de orden cero y una perturbación; λ (Ec. 20), parámetro adimensional que varía entre 0 y 1. Cuando λ es igual a

cero se dice que H_λ es igual a su valor verdadero. Las funciones de onda (Ψ_λ) y energías (E_λ) correspondientes para el sistema descrito por el Hamiltoniano H_λ , pueden expresarse como una expansión en series de potencias.

$$\hat{H}_\lambda = \hat{H}_0 + \lambda \hat{V} \quad \text{Ec. 20}$$

$$\Psi_\lambda = \Psi^{(0)} + \lambda \Psi^{(1)} + \lambda^2 \Psi^{(2)} + \dots \quad \text{Ec. 21}$$

$$E_\lambda = E^{(0)} + \lambda E^{(1)} + \lambda^2 E^{(2)} + \dots \quad \text{Ec. 22}$$

E^1 y Ψ^1 son las correcciones de primer orden a la energía y a la función de onda respectivamente, E^2 y Ψ^2 son las correcciones de segundo orden y así sucesivamente. La energía de segundo orden está dada por:

$$E^{(2)} = \sum_{i < j}^{\text{orbitales llenos}} \sum_{a < b}^{\text{moleculares vacíos}} (\varepsilon_a + \varepsilon_b - \varepsilon_i - \varepsilon_j)^{-1} [(ij || ab)]^2 \quad \text{Ec. 23}$$

las ε_i y ε_j son las energías de los orbitales llenos, mientras ε_a y ε_b corresponden a los orbitales vacíos y las integrales $(ij || ab)$ toman en cuenta todos los cambios en las interacciones electrón-electrón como resultado de la promoción.

La teoría de Møller-Plesset terminada en segundo orden, o MP2, aun cuando es el modelo más simple basado en la promoción electrónica, ofrece mejoras significativas sobre la teoría de Hartree-Fock. Modelos de orden 3 y 4 (MP3 y MP4) han sido formulados, sin embargo su aplicación esta restringida a sistemas muy pequeños o a cálculos “single-point”.

2.3.1.2 Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT)

Estas teorías representan una buena alternativa para el tratamiento de correlación electrónica en un sistema de muchos electrones. A pesar de ser un planteamiento planteado hace poco más 40 años, sólo en los últimos años se ha generalizado su utilización, fundamentada en el teorema de Hohenberg-Kohn y desarrollada a partir de las ecuaciones de Kohn-Sham⁴¹.

El teorema de Hohenberg-Kohn, publicado en 1964, pone de manifiesto que el estado de mínima energía de un conjunto de electrones bajo la influencia de un campo externo (Coulombico) únicamente es funcional (función de una función que genera un valor numérico) de la densidad electrónica⁴¹. La propuesta anterior resulta muy atractiva ya que a partir de la densidad electrónica es posible obtener toda la información estructural del sistema, con la ventaja de que la densidad depende únicamente de las tres coordenadas del espacio, mientras que la función de onda depende de las coordenadas de cada una de las N partículas que componen al sistema.

Mientras que en la teoría de Hartree-Fock, la energía está descrita por cuatro términos, (ecuación 24) la repulsión nuclear (E^N), la energía cinética y atracción entre electrones y núcleo (E^C), las repulsiones coulombicas entre electrones (E^{Coul}) y el término de intercambio que considera las interacciones entre electrones y reduce el término de repulsiones, el funcional de la energía en DFT reemplaza el término de intercambio por dos funcionales, uno de intercambio y uno de correlación^{32,39,33}.

$$E^{HF} = E_N + E_C + E_{Coul} + E_{XC} \quad \text{Ec. 24}$$

$$E^{DFT} = E_N + E_C + E_{Coul} + E_X(\rho(r)) + E_C(\rho(r)) \quad \text{Ec. 25}$$

$$\rho(r) = \sum_{i=1}^{N_{ocupados}} |\psi(r)|^2 \quad \text{Ec. 26}$$

$$\Phi = \begin{pmatrix} \varphi_1(x_1) & \varphi_2(x_1) & \dots & \varphi_N(x_1) \\ \varphi_1(x_2) & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \varphi_1(x_n) & \varphi_2(x_n) & \dots & \varphi_N(x_n) \end{pmatrix} \quad \text{Ec. 27}$$

La energía obtenida mediante cálculos DFT suele ser referida como energía de Kohn-Sham, ya que generalmente se utiliza la implementación realizada por ello, en la cual la densidad está representada como si fuera una derivada de un determinante de Slater sencillo con orbitales ortonormales, ecuación 27. El uso de los “orbitales de Kohn-Sham” permite que la energía sea optimizada utilizando un grupo de ecuaciones de un electrón, pero que incluye la correlación electrónica, siendo esta una de las ventajas principales de la aproximación de los funcionales de la densidad.

Los funcionales son usualmente una integración sobre una función de la densidad electrónica y algunas veces sobre sus gradientes, sin embargo, debido a que normalmente no se conocen las formas exactas de los funcionales, se da lugar a la introducción de errores ya que no se sabe como considerar completamente todas las propiedades de correlación e intercambio de todos los cuerpos. Por tal razón surgen diferentes aproximaciones a la energía de intercambio y correlación.

- *Aproximación de Densidad Local (LDA)*⁴¹

Esta aproximación asume que la energía de intercambio y correlación (E_{XC}) de un electrón es descrita en un gas electrónico homogéneo de densidad uniforme ($\rho(r)$), y que la densidad de carga varía lentamente a través de la molécula, de forma tal que una región de la molécula se comporta como un gas homogéneo de electrones. Si $\epsilon_{XC}[\rho(r)]$ es la energía de intercambio y correlación por electrón en un gas de electrones homogéneo, la energía de intercambio y correlación para el sistema está dada por la ecuación 28, y es una función que depende únicamente de la densidad local en una posición dada. Con esta aproximación el problema puede ser minimizado variacionalmente.

$$E_{XC}^{LDA} = \int \rho(r) \epsilon_{XC}[\rho(r)] dr \quad \text{Ec. 28}$$

Aunque esta aproximación es muy empleada, es sabido que en realidad la densidad electrónica varía, por lo tanto para algunos sistemas es necesario aplicar otra aproximación.

- *Aproximación de Gradiente Corregido*⁴¹

Los funcionales que emplean esta aproximación son también conocidos como funcionales de densidad no local y se usan para sistemas en los que la LDA no da buenos resultados. En este caso se introduce una dependencia explícita en el gradiente de la densidad electrónica, además de la densidad por si misma. Cuando la densidad es una función que varía lentamente, se emplea una expansión en series de potencias; sin embargo, en el límite de gradientes altos, el cálculo diverge y se emplea la *Aproximación de Gradiente Generalizado (GGA)*. Esta aproximación consiste en elegir una función de corrección (F_{XC}) que satisfaga las condiciones

del sistema, sin embargo aun no es claro un método para realizarlo por lo que se recurre a parametrizaciones basadas en observaciones experimentales. La GGA está definida por la ecuación 29 y es una función dinámica

$$E_{XC}^{GGA} = \int \rho(r) \varepsilon_{XC}[\rho(r)] dr + \int F_{XC}[\rho(r), |\nabla\rho(r)|] dr \quad \text{Ec. 29}$$

- *Funcionales Híbridos*⁴¹

Los funcionales híbridos son aquellos que definen el funcional de intercambio y correlación como una combinación de los términos de los funcionales de intercambio de Hartree-Fock, local y de gradiente corregido. Uno de los más conocidos es probablemente el funcional de intercambio de Becke-3 (B3), usualmente usado en combinación con el funcional de correlación de Lee-Yang-Parr (LYP), (ec. 30). Estos funcionales en muchos casos han demostrado ser superiores a los funcionales tradicionales. Sin embargo, se debe tener en cuenta que existen muchas combinaciones y que para seleccionar al funcional adecuado se debe hacer en función del problema a tratar, y tener presente que dependiendo del programa la definición del funcional no es precisamente la misma.

$$E_{XC} = a_0 E_X^{HF} + (1 - a_0) E_X^{LDA} + a_x \Delta E_X^B + (1 - a_c) E_C^{VWN} + a_c \Delta E_C^{LYP} \quad \text{Ec. 30}$$

En la siguiente tabla⁸ se enumeran algunos funcionales de intercambio y de correlación y sus posibles combinaciones:

⁸ Las referencias sobre cada funcional se encuentran en la página:
<http://www.ua.es/cuantica/docencia/ccem/teoria/node4.html>, donde además se encuentran los fundamentos de la química teórica.

Funcionales de Intercambio locales ^a y con Correcciones de Gradiente ^b	Funcionales de correlación locales y no locales
<p>^aHFS, S Método de Slater para el intercambio (LD).</p> <p>^aXALPHA, XA Es el conocido método $X\alpha$ de Slater</p> <p>^bHFB, B Usa el intercambio de A. D. Becke</p> <p>^bPW91 Usa el intercambio de J. P. Perdew, K. Burke, and Y. Wang</p> <p>^bMPW Modificación del PW91 por C. Adamo and V. Barone</p> <p>^bG96 Funcional de intercambio de P. M. W. Gill</p> <p>^bPBE Funcional de P. Perdew, K. Burke, and M. Ernzerhof</p> <p>^bO Funcional modificado de Becke, por Handy</p>	<p>VWN Funcional de Vosko, Wilk y Nusair. (funcional III en S. H. Vosko, L. Wilk, and M. Nusair)</p> <p>VWN5 Funcional V de Vosko, Wilk y Nusair.</p> <p>PL Perdew 1981</p> <p>LYP Lee, Yang y Parr</p> <p>P86 Correcciones a su funcional local, por Perdew 1986</p> <p>PW91 Perdew 1991</p> <p>B95 Definido como parte de su funcional (Becke) híbrido parametrizado, con correcciones "time-dependent"</p> <p>PBE El funcional con corrección de gradientes de Perdew, Burke and Ernzerhof.</p>
<p>Funcionales</p> <p>Híbridos</p>	<p>B3LYP (Es el más popular), B3P86, B1B95, B1LYP, MPW1PW91, B98, B97x, PBE1PBE, BHandH, BHandHLYP</p>

2.3.1.3 Modelos Semiempíricos³²

Existen grandes dificultades para utilizar métodos *ab initio* en el estudio de moléculas o sistemas de tamaño mediano y grande, por lo que se desarrollaron otros modelos aproximados, los semiempíricos. En estos modelos, primero, el problema del tamaño es reducido ya que el tratamiento es restringido únicamente a los electrones de valencia, considerando a los electrones internos como parte del núcleo; y segundo los grupos base son reducidos a bases mínimas

La aproximación central de los modelos semiempíricos es conocida como Traslape Diferencial Nulo (ZDO, Zero Differential Overlap), la cual desprecia todos los productos de las funciones base que dependen de las coordenadas del mismo electrón cuando se localizan en diferentes átomos.

Para compensar las aproximaciones hechas se introducen parámetros derivados de datos experimentales, excepto para metales de transición, que están basados en datos de otros cálculos. La solución aproximada que se da a la ecuación de Schrödinger depende de que se tengan los parámetros para el sistema en investigación.

Los diferentes modelos semiempíricos que existen se diferencian por las integrales que desprecian (aproximaciones extra) y por como se realiza la parametrización. Entre estos modelos están:

- NDDO (Neglect of Diatomic Differential Overlap). Este modelo desprecia el traslape diferencial entre orbitales atómicos en diferentes átomos. En consecuencia todas las integrales tri y tetra-céntricas son nulas y sólo se calculan las bielectrónicas.
- MNDO (Modified Neglected of Diatomic Overlap). Esta basado en NDDO, sin embargo, sobreestima la repulsión entre átomos separados por una distancia aproximadamente igual a la suma de sus radios de van del Waals y en consecuencia, con MNDO no es posible modelar en forma precisa sistemas que involucren interacciones tipo puente de hidrógeno.
- PM3 (Parametric Method number 3). Se basa en MNDO y su nombre se debe a que es la tercera parametrización de MNDO, siendo AM1 la segunda parametrización. Para AM1 los parámetros fueron obtenidos aplicando los conocimientos de la química, y para PM3 mediante un procedimiento automático. Sin embargo, aun cuando tienen parámetros que pueden llegar a ser muy diferentes, ambos están basados en las mismas aproximaciones y predicen propiedades termodinámicas y estructurales hasta un nivel de exactitud muy cercano entre ellos.

2.4 CONJUNTOS BASE

Una de las herramientas más importantes para la química computacional son los orbitales moleculares, como se mencionó anteriormente los métodos ab initio usan, para su representación, un conjunto de funciones base como aproximación. Básicamente un conjunto base es un conjunto finito de funciones atómicas a partir de las cuales un orbital molecular es formado mediante una combinación lineal de orbitales atómicos (ecuación 18). El grupo base puede entenderse como las restricciones de los electrones a ocupar una región determinada en el espacio.

J.C. Slater desarrolló una expresión general para las funciones base, a éstas se les conoce como orbitales tipo Slater (STO, Slater Type Orbitals)⁴¹, matemáticamente los STO se escriben como una función exponencial del producto de un coeficiente orbital y el radio, ecuación 31.

$$STO = Ne^{-ar} \quad \text{Ec. 31}$$

$$GTO = Ne^{-ar^2} \quad \text{Ec. 32}$$

Aunque los STO son una excelente opción para representar los orbitales de una molécula, éstos presentan problemas en la integración de sistemas de muchos cuerpos. Por ello, S. F. Boys desarrolló un método en el cual se usa una combinación de orbitales tipo Gaussianos (GTO, Gaussian Type Orbitals, ecuación 32)⁴¹ para expresar la ecuación de Slater. La gran diferencia entre los STO y los GTO está en la potencia de r, lo que permite expresar las funciones gaussianas como el producto de dos gaussianas primitivas, con coeficiente pre-optimizado, y con ello facilitar el cálculo. Sin embargo, al representar a los orbitales con funciones gaussianas se pierde exactitud, misma que se puede compensar mediante la combinación de tantas funciones como exactitud se desee.

Los diferentes tipos de base que se pueden usar son:

*Grupos base mínimos*³¹. Contienen un número mínimo de funciones base necesarias para describir los aspectos básicos de cada átomo. El grupo base mínimo es conocido como STO-

NG, donde N representa el número de funciones gaussianas primitivas para simular la ecuación de Slater.

*Grupos base de valencia dividida*³¹. Considera el número mínimo de funciones base y además cada orbital de valencia lo considera dos veces. Por ejemplo, mientras en una base mínima se requieren orbitales 1s, 2s y 2p_x, en la base dividida se emplean 1s, 1s', 2s, 2s', 2p_x, 2p_x', Ejemplos de estas bases son la 3-21G ó D95.

*Grupos base polarizados*³¹. Las bases de valencia desdoblada consideran un cambio en el tamaño, pero no consideran un cambio de forma debido al acercamiento de dos átomos. Las bases polarizadas eliminan esta limitación adicionando orbitales con momentos angulares más allá de los que se requieren para describir cada estado basal de un átomo. Es decir, se pueden agregar funciones *p*, *d* o *f* según el elemento en investigación. Se representan con un *, ejemplos de estas bases son 6-31G (d) conocida como 6-31G*, o 6-31G**, las cuales adicionan orbitales *p* para los átomos de hidrógeno y orbitales *d* para los átomos pesados.

*Grupos base difusas*³¹. Incrementan el tamaño de las funciones tipo *s* y *p*. Estas permiten que los orbitales ocupen una región mayor en el espacio mediante una múltiple polarización de funciones. Estas bases son importantes para sistemas donde los electrones está relativamente lejos de sus núcleos: moléculas con electrones sin aparear, aniones y otros sistemas con carga negativa significativa. Estas bases se representan con el signo + o ++ (cuando se incluye al hidrógeno y helio en el tratamiento).

*Grupos base pseudopotenciales*⁴². Los cálculos que involucran elementos pesados, en particular, metales de transición o algunos halógenos, pueden simplificarse si solamente se toman en consideración explícitamente los electrones de valencia dentro de los cálculos, mientras que los electrones internos se reemplazan por alguna forma de potencial. Lo anterior es lo que hacen los llamados grupos base pseudopotenciales. Algunos ejemplos de estas bases son LAV3P, LACVP, LACV3P, LANL2DZ entre otras.

Para la elección de la base es necesario, principalmente tomar en cuenta el tipo de átomos presentes en la molécula, el costo computacional y la información deseada.

2.5 ERROR DE SUPERPOSICIÓN DE GRUPOS BASE (BSSE)⁴³

En teoría, la energía de interacción, $\Delta E_{interacción}$, debida a la interacción de 2 especies, A y B, estaría dada por la ecuación 33, donde E_{AB} es la energía del complejo AB y E_A y E_B son las energías de los monómeros A y B en estado relajado, todos analizados con el mismo grupo base.

$$\Delta E_{(int\ eracción)} = E_{AB} - (E_A + E_B) \quad \text{Ec. 33}$$

En el límite de un conjunto de funciones base infinito, la ecuación 33 es verdadera, ya que añadir funciones base no produciría ninguna mejora. Sin embargo, en términos reales no es posible usar una base infinita, por cuestiones de gasto computacional. Usando un grupo base finito, durante la optimización del complejo las funciones que describen a A mejorarán la descripción de B y viceversa. Esta mejora en la descripción de las geometrías de A y B con respecto a sus descripciones aisladas es lo que da origen a lo que se conoce como Error de Superposición de Grupos Base (BSSE). Una forma aproximada de evaluar el BSSE⁴³ es la corrección de Counterpoise (CP) de Boys y Bernardi, en la que el error es estimado como la diferencia entre las energías de los monómeros, ambos casos en la geometría del complejo, con la base regular (E_A^+, E_B^+) y con el grupo completo de funciones base (E_A^*, E_B^*), es decir, con las funciones base de A más las de B (Ec. 34). La energía del monómero A disminuirá debido a las funciones fantasma de B, por que la base se vuelve más completa.

$$\Delta E_{CP} = E_A^* + E_B^* - E_A^+ - E_B^+ \quad \text{Ec. 34}$$

La energía de interacción corregida por counterpoise esta dada por la ecuación 35

$$\Delta E_{interacción} - \Delta E_{CP} = E_{AB} - (E_A^* + E_B^*) - (E_A - E_A^+) - (E_B - E_B^+) \quad \text{Ec. 35}$$

Aun cuando el ΔE_{CP} es una aproximación, hasta ahora se ha visto que es el método que produce los mejores resultados para estimar el BSSE, pero no provee límites inferior ni superior.

2.6 ONIOM

A lo largo de los años, varios métodos computacionales han sido desarrollados para el estudio de sistemas químicos, tanto en la mecánica molecular (MM) como en la mecánica cuántica (MC). Por un lado, la MM, por su rapidez y bajo costo computacional, es usada para modelar sistemas muy grandes pero no es capaz de modelar reacciones químicas o energías de interacción (inducción, dispersión, electrostáticas, de intercambio, entre otras) de forma realista. Por ello, para obtener datos más confiables se hace uso de la MC, sin embargo, estos cálculos implican un alto costo computacional que se incrementa con el número de átomos presentes (por ejemplo, la teoría de HF cuyo costo se escala con el número de átomos (N) como N^3 , o los Møller-Plesset de segundo orden⁴⁴ que escalan como N^5) y por ende no es aplicable a grandes moléculas como las proteínas o los dendrímeros.

Frecuentemente para resolver el problema, principalmente de modelado de energías de interacción en sistemas grandes, se usan dos aproximaciones. La primera es estudiar sistemas modelo pequeños con niveles de teoría altos (ab initio). La segunda es utilizar métodos semiempíricos, teniendo presente que la validez de aplicación de estos métodos depende de la parametrización de los sistemas. Sin embargo, una solución más realista consiste en dividir al sistema en dos o más capas (figura 17), donde la capa de interés sea tratada con un nivel de teoría alto y el resto con niveles menos demandantes, semiempíricos y/o mecánica molecular. Esta propuesta fue desarrollada por Morokuma y colaboradores^{44,45,46} y aunque puede encontrarse en la literatura con diferentes nombres es identificada como ONIOM (**O**ur **o**wn **n**-layered **I**ntegrated molecular **O**rbital, molecular **M**echanics). La confiabilidad del empleo de estos métodos de cálculo híbridos se ha demostrado en diversos estudios, por ejemplo, en el estudio de sistemas biológicos unidos mediante puentes de hidrógeno⁴⁴, en el estudio de reacciones de protonación, de desprotonación y adiciones nucleofílicas⁴⁷, en el modelado de proteínas⁴⁹ y en la optimización de geometrías^{45,48} por mencionar algunos.

En un sistema de tres capas, ONIOM3, se emplean tres niveles de teoría. Con el nivel de MM se describen los efectos estéricos y electrostáticos de la parte exterior del sistema, con algún método intermedio se describen los efectos electrónicos de los grupos funcionales o ligandos

cerca del centro de acción y finalmente, con un método ab initio adecuado se describe la correlación electrónica en el centro de acción del sistema⁴⁶.

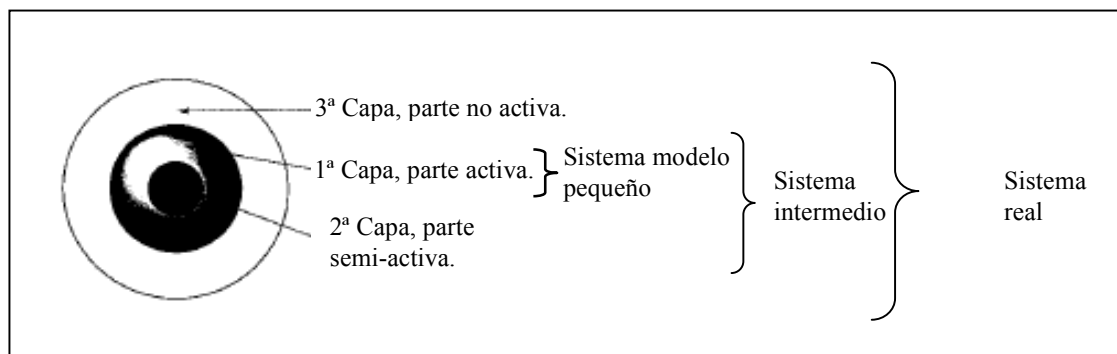


Figura 17. Esquema de partición en tres capas (ONIOM3).

Diversas adaptaciones de esta idea han sido implementadas en algunos programas y varían principalmente en dos aspectos. El primero, en como tratar a los átomos frontera entre las capas. El segundo, en la definición de la energía de interacción entre las diferentes capas. Cabe mencionar que las capas no tienen que ser inclusivas, pueden ser cualquier parte del sistema, incluso, no tienen que ser contiguas y pueden consistir en diferentes regiones separadas del sistema.

Las estrategias más empleadas para tratar los átomos frontera son dos y se describen a continuación.

1. Introducir átomos de hidrógeno en la frontera, para conservar la valencia de los átomos y tener un modelo más realista⁴⁵. Al emplear esta estrategia se debe tener en cuenta el enlace de división, ya que para obtener resultados más congruentes se debe escalar la distancia y ángulos de enlace originales, por ejemplo, si la división se hace entre un enlace C-C éste será sustituido por un enlace C-H, por lo que será necesario introducir un factor de escalamiento (g) razonable. Un valor razonable de g sería el cociente de la longitud de enlace C-H (1.084 Å) y la longitud de enlace C-C (1.528 Å), es decir, $g = 0.704$ ⁴⁵, es preciso notar que el valor de escalamiento óptimo es función de los niveles de teoría empleados. En programas como Gaussian, g puede ser determinado automáticamente.

- Usar orbitales moleculares “congelados”⁴⁶, es decir, las longitudes de enlace que conectan las capas se mantienen constantes y se asume que los ángulos de enlace y diedros son los mismos en todo el sistema. Esta estrategia requiere de una extensa parametrización previa para modelar de forma correcta las interacciones entre los grupos funcionales presentes, como en el caso de paquete IMPACT⁴⁹.

En cuanto a la interacción entre las diferentes capas del sistema en general es una extrapolación de energías. En la versión de tres capas la expresión de energía total como aproximación para la energía 9, está dada por la ecuación 36 (ver figura 18).

$$E(\text{ONIOM3}) \cong E_9 = E_6 - E_3 + E_5 - E_2 + E_4 \quad \text{Ec. 36}$$

Donde la aproximación para la energía del sistema real calculada a un nivel de teoría alto (E_9) implica el cálculo de: la energía del sistema real con un nivel bajo (E_6), la del sistema intermedio con un nivel medio (E_5) y con un nivel bajo (E_3) y la del sistema modelo con un nivel alto (E_4) y con un nivel intermedio (E_2). De forma análoga, se puede definir una aproximación para E_4 en un sistema dividido en dos capas de acuerdo a la ecuación 37.

$$E(\text{ONIOM2}) \cong E_4 = E_3 - E_1 + E_2 \quad \text{Ec. 37}$$

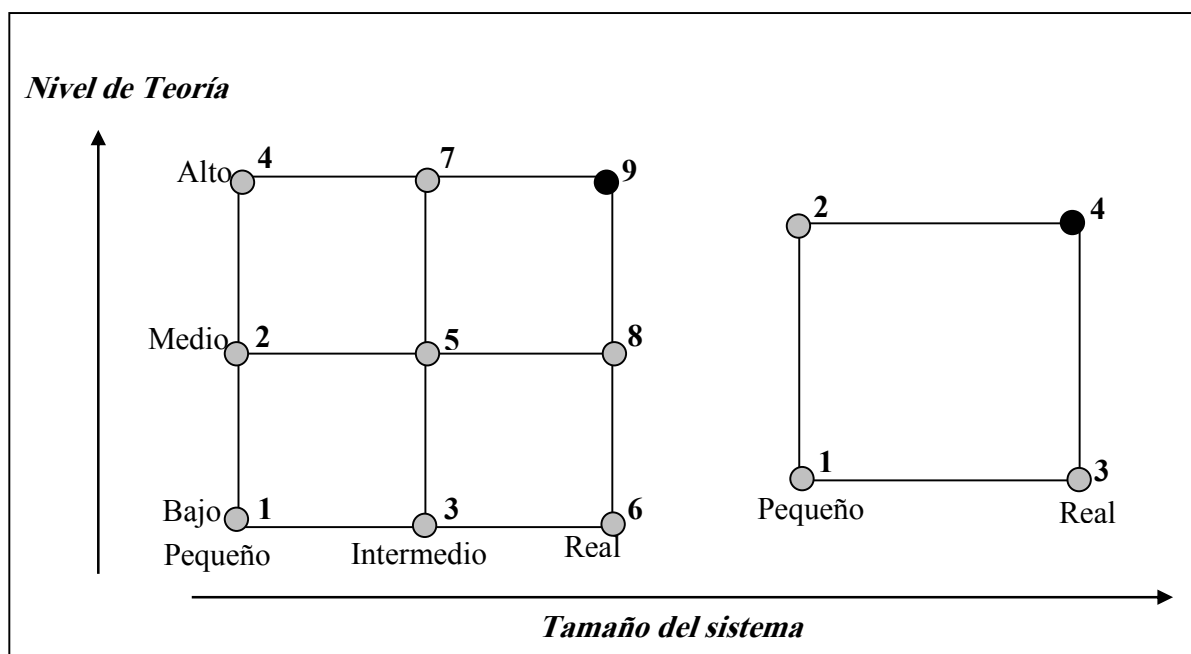


Figura 18. Esquema de extrapolarción ONIOM para un sistema dividido en tres y dos capas.

En ninguna de las expresiones anteriores esta incluida la corrección por superposición de base, la forma más sencilla de introducirla es mediante la corrección de counterpoise de Boys y Bernardi, como se describe en el apartado correspondiente.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Después de los primeros reportes de Tomalia y Newkome, el área de los dendrímeros ha sido de gran interés. Diversos estudios ponen de manifiesto que los dendrímeros son macromoléculas que pueden ser hechos a la medida con microambientes específicos y de tamaño nanométrico debido al alto control en la síntesis. Además, se ha visto que éstos poseen gran potencialidad para llevar a cabo procesos de tipo huésped-anfitrión, debido a los numerosos puntos de interacción y cavidades que presentan. Un caso muy específico de aplicación de dichas macromoléculas como acarreadores/liberadores se presenta en la medicina veterinaria, donde existen fármacos cuya efectividad se ve disminuida por la incapacidad de llegar a su destino debido a su baja solubilidad. En particular, el uso de los *salicilanilidos* como agentes antihelmínticos ven disminuida su eficacia ya que son prácticamente incapaces de absorberse en los intestinos y poseen baja solubilidad. Con la finalidad de que estos fármacos alcancen el sitio adecuado y de ser posible se ingieran en menores dosis, se plantea, haciendo uso de la química computacional, diseñar sistemas dendriméricos específicos considerando la variación de los grupos funcionales presentes en los patrones fractales así como la longitud de éstos y la generación dendrimérica.

OBJETIVOS

1. Diseñar patrones fractales con grupos funcionales idóneos para interaccionar mediante interacciones no covalentes con la familia de los **salicilanilidos**, empleando Simulación Molecular y determinar cuales son las características que los optimizan.
2. Calcular las energías de interacción entre los patrones fractales y los fármacos para discriminar los patrones fractales más eficientes con base en la estabilidad de los complejos formados.
3. Evaluar el efecto de la base en la descripción de los complejos.
4. Realizar la formación de estructuras dendriméricas y evaluar el espacio disponible que éstas poseen para albergar los diferentes fármacos mediante el método de Volumen de Disolvente Excluido (SEV) basado en el Algoritmo de Connolly.
5. Llevar a cabo el estudio de la estabilidad de los sistemas huésped-anfitrión (dendrímeros y fármacos) empleando métodos de cálculo híbridos (ONIOM).
6. Proponer una posible ruta sintética para la obtención de los dendrímeros funcionalizados adecuadamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 METODOLOGÍA

El presente trabajo, cuya finalidad es diseñar dendrímeros capaces de encapsular fármacos de la familia de los salicilanilidos, está dividido en tres partes. En la primera se formaron complejos modelo entre patrones fractales (dendrón), que tienen como característica contener por un lado grupos funcionales como amida, amina, alcohol, ácido, oxima, entre otros, capaces de formar puentes de hidrógeno o bien interactuar electrostáticamente con moléculas huésped y por otro lado, cadenas alifáticas como parte del patrón fractal, mismas que confieren flexibilidad al sistema. Todas las estructuras fueron generadas y equilibradas mediante un análisis conformacional en presencia de cada uno de los fármacos empleando el método aleatorio de MonteCarlo (mínimos múltiples), ya que se sabe que estas simulaciones generan buenas geometrías moleculares, incluso mejores que aquellas obtenidas con HF⁵⁴. El campo de fuerza que se usó fue el OPLS2001⁵⁸ en el programa MacroModel³³.

Considerando como criterio de selección la capacidad de formar puentes de hidrógeno con una distancia máxima de 2.5 Å, se analizó la linealidad y ocurrencia de los puentes de hidrógeno en cada complejo formado entre patrones fractales y fármacos. Las geometrías de los complejos con los patrones fractales que mostraron mayor afinidad con los fármacos fueron optimizadas en los paquetes computacionales Jaguar 5.5³³ y Gaussian 03⁵⁹ empleando funcionales híbridos dentro de la teoría de DFT con tratamientos diferentes para las energías de intercambio y de correlación electrónica (*B3LYP* y *BHandHLYP*) y variando el tamaño de la base mediante funciones de polarización y difusas. Como punto de comparación se tomó el sistema formado por PAMAM-2-6-dibromonitrofenol (dendrímero-fármaco) reportado en la literatura^{51,52}, el cual se estudió con el mismo nivel de teoría.

Las energías de interacción se calcularon según el método diferencial⁵³ (Ec.38):

$$E_{\text{interacción}} = E_{\text{complejo huésped-anfitrión}} - (E_{\text{huésped}} + E_{\text{anfitrión}}) \quad \text{Ec. 38}$$

En la segunda parte del proyecto, mediante el algoritmo de Connolly^{36,37}, que considera a los átomos como esferas rígidas, se realizó un análisis geométrico en términos de volúmenes de cavidades y el grado de ovalidad, tanto de los dendrímeros formados con los patrones fractales mas eficientes partiendo de un núcleo de etilendiamina, como de los salicilanilidos, con la finalidad de obtener información acerca de las capacidades encapsulantes de los dendrímeros y el tamaño y forma de los fármacos. Para realizar el estudio con el algoritmo de Connolly fue necesario partir del *conformero* con la geometría más estable o de menor energía relativa y para ello se utilizó el método de Dinámica Molecular; **MD** (contenido en el paquete Chem3D 8.0). Estos cálculos se llevaron a cabo a una velocidad de calentamiento de 1 Kcal. / Átomo / fs¹ y una temperatura final de 300 K. Posteriormente, mediante Mecánica Molecular se realizó la optimización de cada *conformero* (estructura con una energía de estabilización característica) obtenido previamente utilizando el campo de fuerza MM2 que tiene parámetros de interacciones electrostáticas y de van der Waals, de tal forma que las energías de interacción entre dos cargas separadas por una distancia *r* es proporcional a 1/*r* y algunas interacciones como carga-dipolo ,dipolo-dipolo y energías de van der Waals tienen términos como 1/*r*³ y 1/*r*⁶.

En la tercera parte, para evaluar la capacidad encapsulante de los dendrímeros, se llevó a cabo la formación de los complejos mediante un análisis conformacional en presencia del número de fármacos sugeridos según el estudio de Connolly y empleando el método aleatorio de MonteCarlo (mínimos múltiples) escogiendo el campo de fuerza OPLS2001 en medio acuoso. La conformación más estable de uno de los complejos fue optimizada con métodos de cálculo híbridos (MC/MM) cuyos algoritmos permiten dividir sistemas moleculares grandes en capas, para aplicar en cada capa diferentes niveles de teoría. Así, la capa de interés, en donde se lleva a cabo la interacción huésped-anfitrión, se trató con DFT mientras que el resto de la molécula fue tratado con niveles de Mecánica Molecular (UFF). El efecto del disolvente en este caso se considera mínimo debido a que los complejos no sufren cambios conformacionales apreciables al realizar el análisis en presencia de disolvente, aunque en cálculos posteriores tendrá que probarse rigurosamente.

¹ 1 Femtosegundo (fs) = 1x10⁻¹⁵ seg.

4.2 ESTUDIO EN SISTEMAS MODELO

4.2.1 SELECCIÓN DE PATRONES FRACTALES IDÓNEOS

Con el objetivo de proponer dendrímeros capaces de encapsular fármacos (salicilanilidos, Fig. 19), se hizo uso de la química computacional y se diseñaron un conjunto de 20 patrones fractales (figura 20) en los cuales variaba la longitud de cadena, ya que, como mostró un estudio previo, este factor incide de manera drástica en el desempeño de los dendrímeros como acarreadores de fármacos⁵⁵, el número de ramificaciones (2 ó 3) y los grupos funcionales presentes (amida, amina, alcohol, ácido, oxima etc), que de acuerdo a la estructura química de los fármacos podrían formar puentes de hidrógeno entre fármaco y patrón fractal⁵⁶.

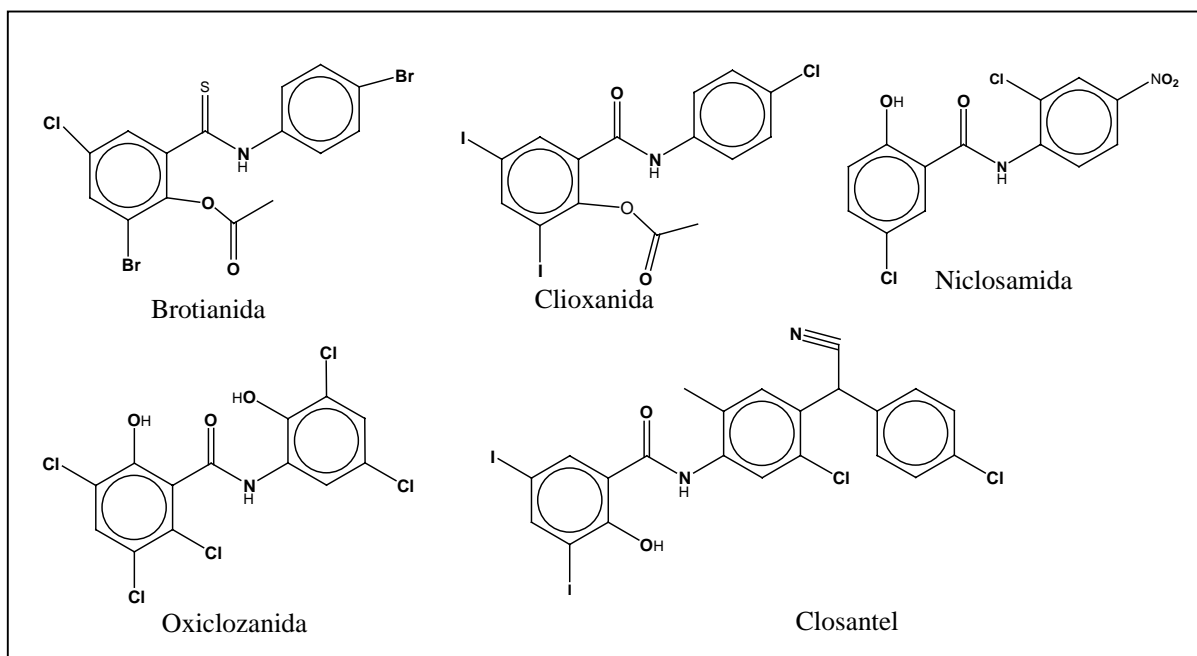
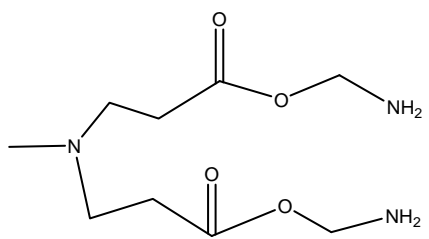
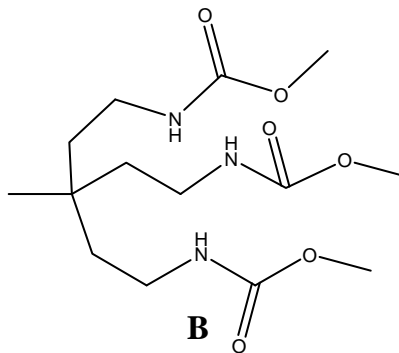


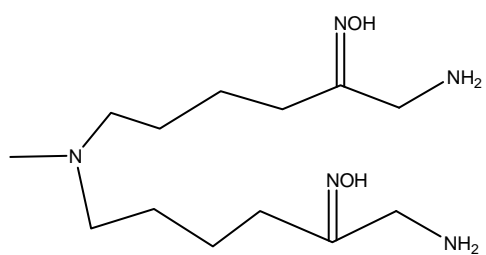
Figura 19. Familia de salicilanilidos.



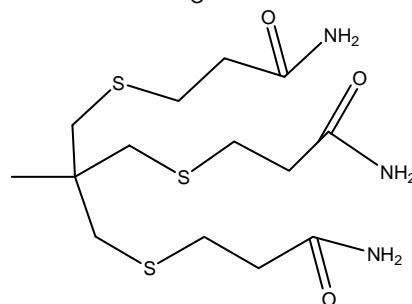
A



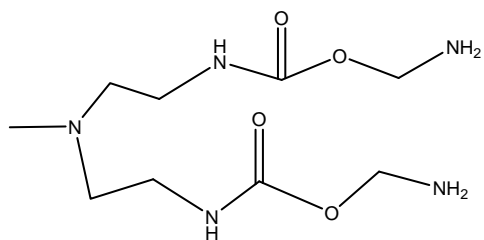
B



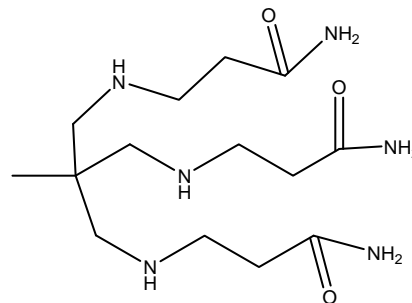
C



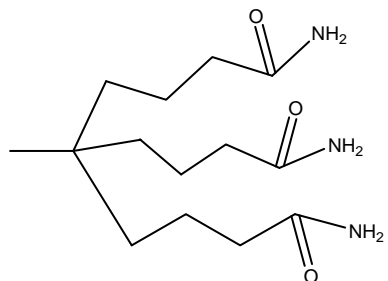
D



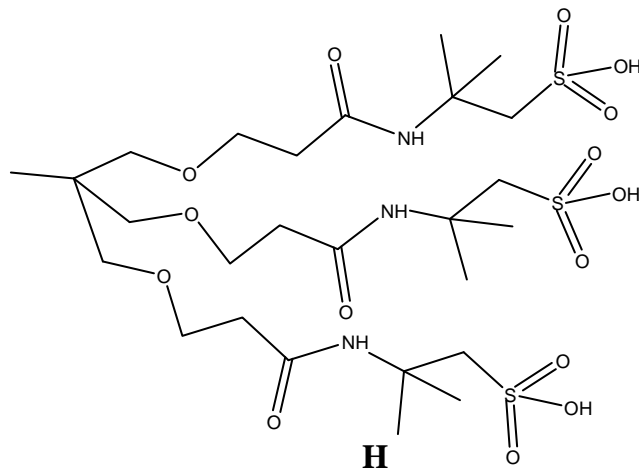
E



F



G



H

Figura 20. Patrones fractales

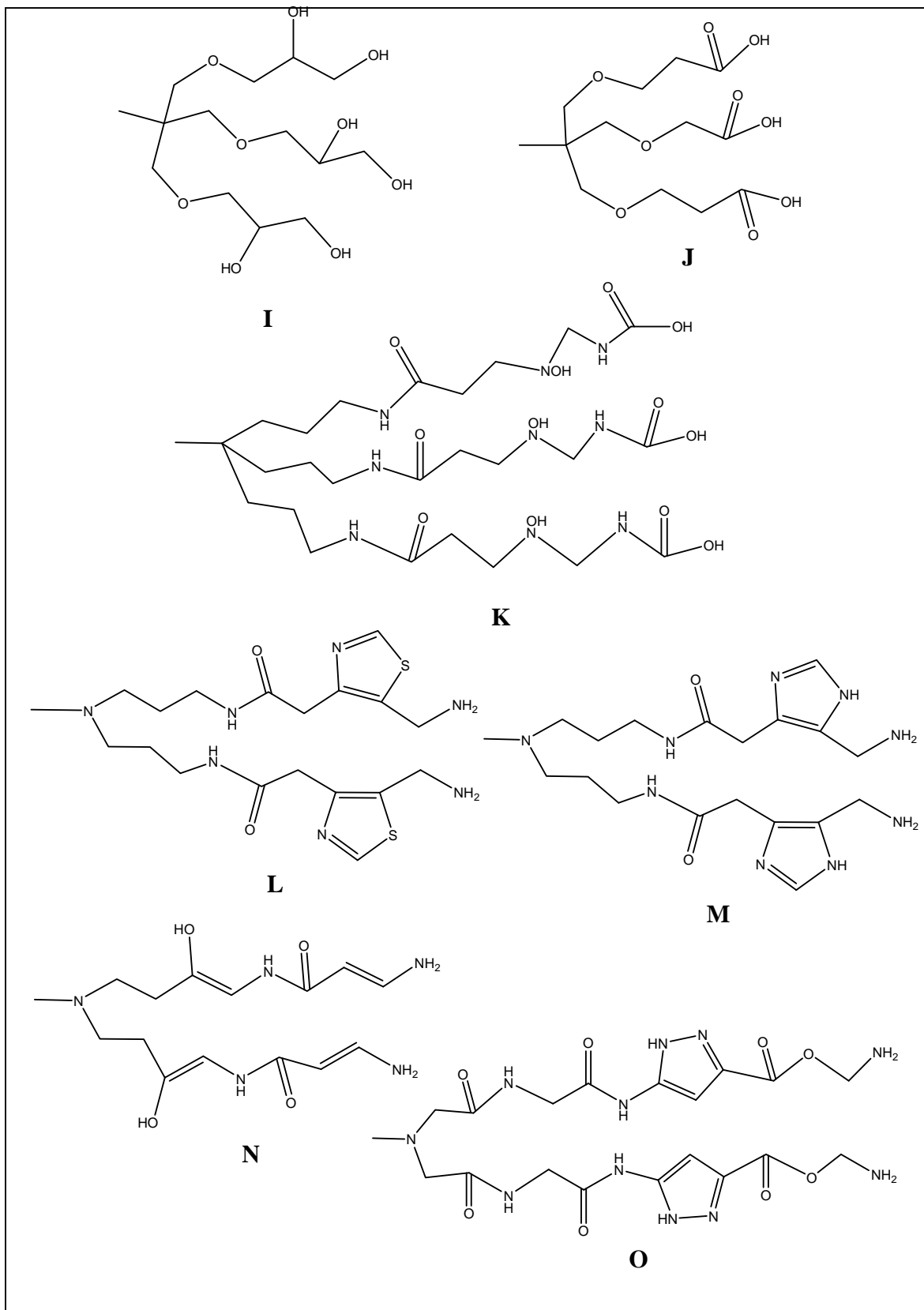


Figura 20. Patrones fractales (cont)

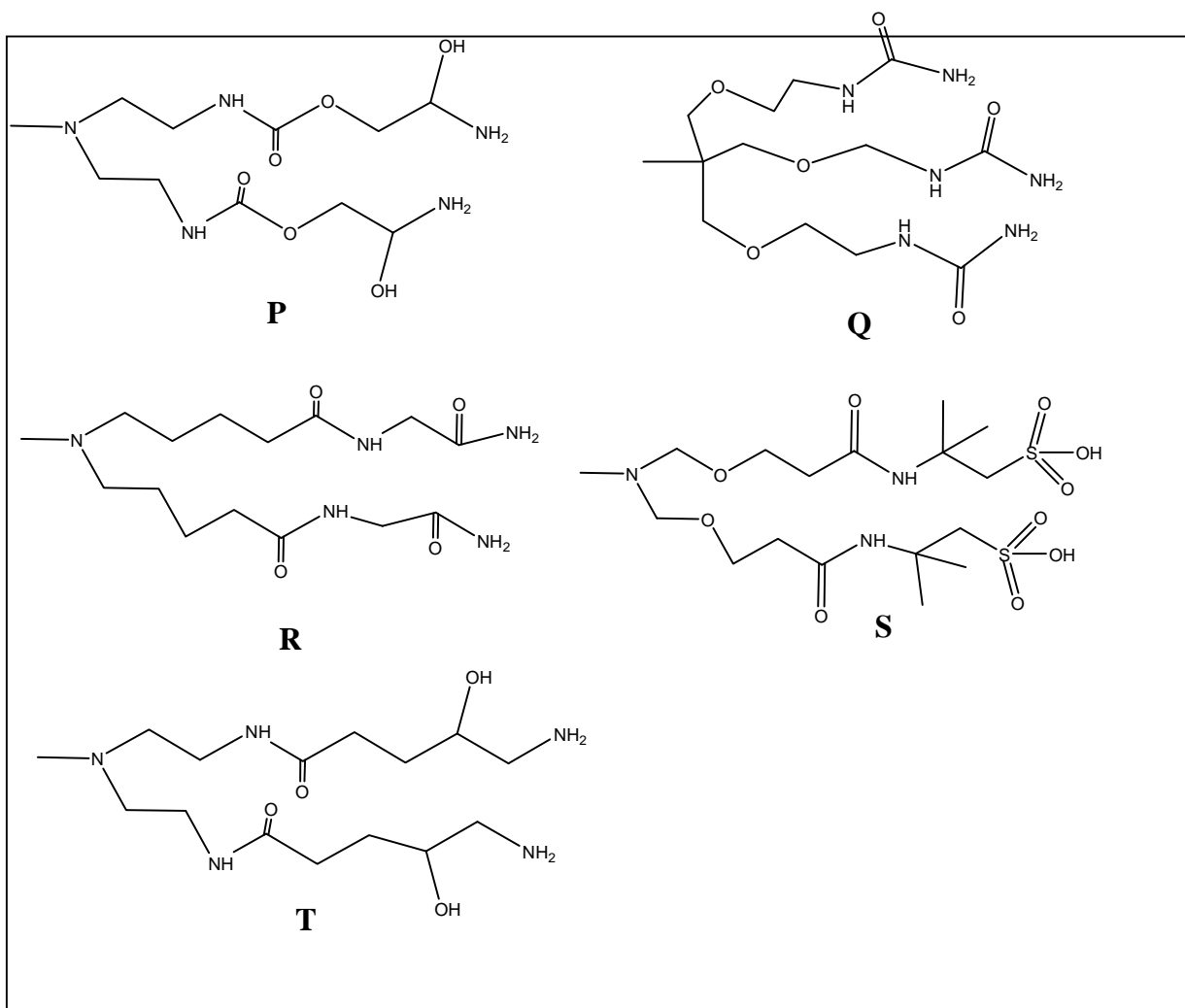


Figura 20. Patrones fractales (cont.)

Cada uno de los patrones fractales, en presencia de cada fármaco, fueron equilibrados mediante un análisis conformacional con el método aleatorio de MonteCarlo (Mínimos Múltiples) bajo el campo de fuerza OPLS2001. De los 100 complejos formados se analizó la linealidad y ocurrencia de los puentes de hidrógeno en cada complejo; en la tabla 3 se encuentra el número de puentes de hidrógeno formados en cada uno de los complejos con una distancia menor a 2.5 Å. Considerando como criterio de selección la capacidad de formar puentes de hidrógeno con una distancia máxima de 2.5 Å y el número de puentes formados, se determinó, por un lado, que a mayor flexibilidad de la cadena alifática, existe una mayor oportunidad de formación de puentes de H, y por otro lado, que la presencia de los grupos

funcionales amida, alcohol y ácido sulfónico propician de manera más eficiente las interacciones no covalentes (puentes de hidrógeno) con los fármacos. Así, los patrones fractales que mostraron mayor afinidad a los fármacos se muestran nuevamente en la figura 21.

En general, pudo observarse que los patrones fractales de tres ramas presentan mayor tendencia a interactuar entre si y no con el fármaco. Además, otro factor importante en la selección de los patrones fractales idóneos fue la conformación final, ya que en algunos casos aun cuando se formaran dos e incluso tres puentes de hidrógeno, existía una clara separación entre el fármaco y el patrón fractal, lo que indica que esos patrones fractales exhiben una auto-estabilización y en segunda instancia interaccionan con los fármacos. Los 4 patrones fractales seleccionados tienen como característica que “abrazan al fármaco”, lo que da origen a un mayor número de interacciones favorables y a distancias de interacción más cortas. Lo que se espera es que estas observaciones en compuestos modelo puedan ser extrapoladas a los compuestos dendriméricos. En la figura 22² puede observarse la comparación entre dos complejos, en (a) los puentes de hidrógeno en el patrón fractal (líneas verdes), tienen distancias de 1.77 y 1.59 Å, mientras que las distancia de los puentes de hidrógeno (líneas rosas) formados con el fármaco son de 1.80 y 2.49 Å. En contraparte, en (b) el patrón fractal P sólo forma puentes de hidrógeno con el fármaco, con distancias de 1.84, 1.78 y 1.88 Å, lo que presumiblemente dará lugar a que el proceso de reconocimiento molecular entre el dendrímero y los fármacos sea más eficiente.

² De aquí en adelante, independientemente del modelo para representar los átomos, tubos ó esferas y tubos ó líneas, en todos los casos cada color representa un átomo en particular, de acuerdo al siguiente código:



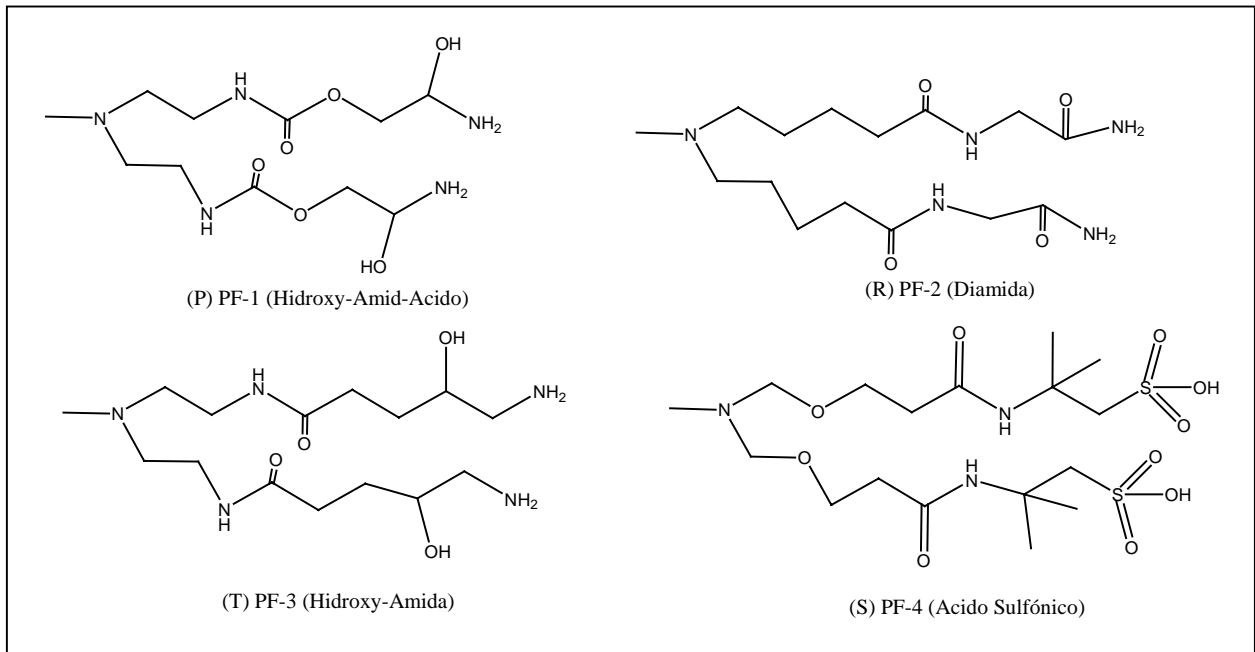


Figura 21. Patrones fractales con mayor afinidad por los salicilanilidos.

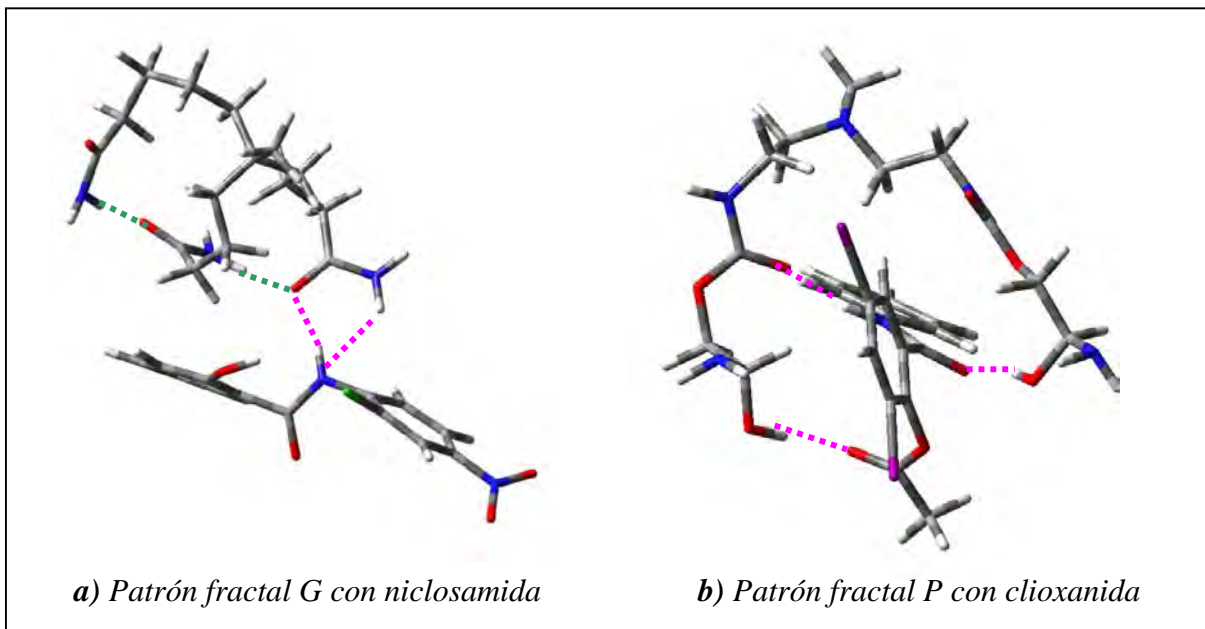


Figura 22. Comparación gráfica entre dos patrones fractales

Tabla 3. Número de puentes de hidrógeno en los complejos formados entre los diferentes patrones fractales y los fármacos.

PF	Fármacos				
	Brotianida	Clioanida	Closantel	Niclosamida	Oxiclosanida
A	2	3	1	2	3
B	1	1	1	2	2
C	2	1	1	2	3
D	1	2	1	1	2
E	1	2	2	2	2
F	3	2	3	1	2
G	2	2	2	2	2
H	1	3	2	1	1
I	1	2	2	1	0
J	1	1	2	2	1
K	2	3	3	2	0
L	1	2	2	1	3
M	1	2	2	2	2
N	2	3	3	3	0
O	3	2	3	3	1
P	2	3	3	3	4
Q	2	2	2	2	2
R	3	3	3	2	3
S	2	3	2	2	2
T	3	2	2	2	3

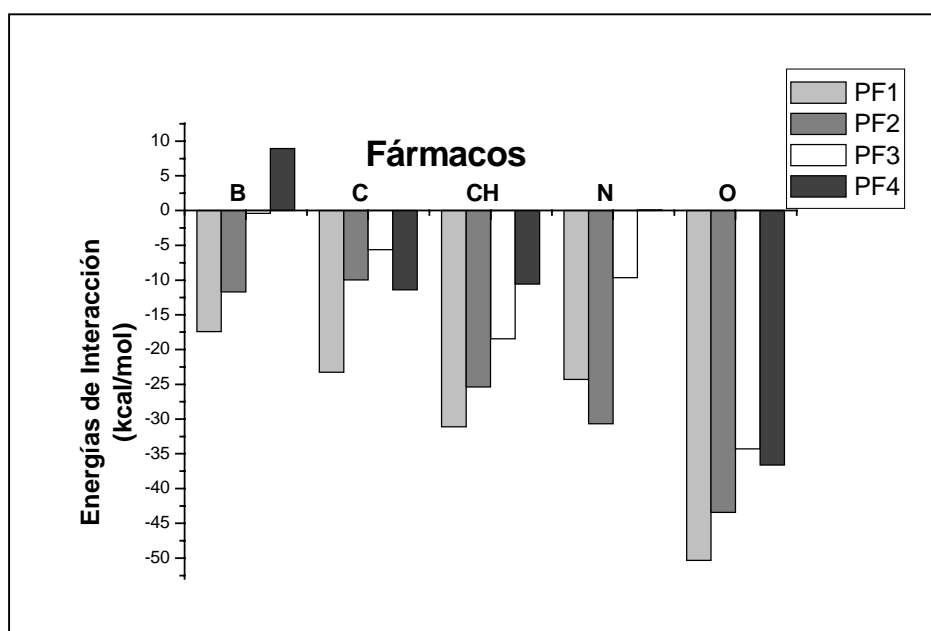
4.2.2 OPTIMIZACIÓN DE GEOMETRÍAS CON B3LYP/LAV3P*

Con base en los resultados anteriores, a los patrones fractales que mostraron mayor afinidad por los fármacos se les realizó un estudio energético calculado con B3LYP/LAV3P*, a partir del cual se realizaron los cálculos de energías de interacción entre patrón fractal y fármaco empleando el método de variación, el cual indirectamente estima tales energías a partir de las partes aisladas⁵³, matemáticamente:

$$\Delta E = E_{\text{complejo}} - (E_{\text{patrón fractal}} + E_{\text{fármaco}}).$$

De acuerdo con la ecuación anterior las energías de los complejos formados se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Energías de Interacción (kcal/mol) B3LYP/LAV3P*					
PF	1	2	3	4	PAMAM
Brotianida	-17,431	-11,721	-0,383	8.130	-----
Clioxianida	-23,255	-9,973	-5,626	-11.424	-6.106
Closantel	-31,121	-25,364	-18,465	-10.450	-----
Niclosamida	-24,304	-30,668	-9,627	0.090	-9.846
Oxiclosanida	-50,362	-43,438	-34,276	-36.501	-34.712
DBrNF	-18.210	-----	-----	-----	-1.488



Gráfica 1. Energías de interacción entre patrones fractales y fármacos.

En la gráfica 1, se encuentran tabuladas las energías de interacción para cada uno de los complejos formados (Patrón fractal-fármaco), en donde se observa que las energías de interacción entre patrones fractales y fármacos son favorables, excepto en dos casos (PF4-Niclosamida y PF4-Brotianida). En este sentido el PF1 muestra la mayor estabilidad (energías más negativas) al formar los complejos con los diferentes fármacos excepto para la Niclosamida, mientras que el PF3 y PF4 son los que tiene las energías de interacción menos favorables. Analizando la estructura de los fármacos y de los patrones fractales se nota que una característica común a todos los fármacos es que son aceptores de puentes de hidrógeno, es decir que tienen átomos electronegativos que pueden aceptar hidrógenos para formar el puente. Aparentemente dicha característica es lo que determina que todos los fármacos muestren una mayor afinidad por el PF1 y aunque el PF3 tiene el mismo número de átomos donadores de puentes de hidrógeno, el PF1 se ve favorecido por los efectos inductivos de la amina sobre el grupo alcohol o viceversa. Estos efectos inductivos se ven reflejados en las cargas de los átomos antes y después de la complejación como puede verse en la figura 23, donde los valores corresponden a las cargas NBO de los átomos⁶⁰ que forman el puente de hidrógeno.

En la figura 24 se muestran las estructuras de los complejos formados entre el PF1 y cada uno de los fármacos, así como las distancias de los puentes de hidrógeno formados en cada caso. Los valores promedio de las distancias se graficaron contra la energía de interacción y aunque la tendencia no es lineal sí puede apreciarse que el orden descendente en distancias corresponde muy bien con el orden ascendente en estabilidad, lo cual pone de manifiesto la confiabilidad en el método empleado.

Se sabe, de estudios experimentales, que el dendrímero poliamidoamina (PAMAM) funciona como un buen encapsulante para diferentes compuestos hidrofóbicos como lo son el ácido benzoico, el 2,6-dibromo-4-nitrofenol (DBrNF) y el ácido o-hidroxibenzoico^{51,52} Con fines comparativos y dado que el PAMAM es uno de los dendrímeros comerciales más utilizado con fines de encapsulamiento⁶, se analizó el sistema PAMAM-DBrNF (fig. 24) bajo el mismo tratamiento teórico que los sistemas aquí propuestos, además se calcularon energías de interacción utilizando el patrón fractal del PAMAM para encapsular oxyclosanida, clioxanida y

niclosamida. Los resultados obtenidos, mostrados en la tabla 4, ponen de manifiesto que aunque el grupo amida, presente en el PAMAM, es un buen formador de puentes de hidrógeno, el grupo carbamato en cooperación con el alcohol, presentes en PF1, dan lugar a un sistema más adecuado para interactuar con los fármacos de la familia de los salicilanilidos, e incluso el PF2, en comparación con el PAMAM, muestra energías de interacción más favorables.

Por otro lado, aunque la energía de interacción en el sistema de referencia es muy pequeña, sin embargo favorable, se puede decir que el método de cálculo empleado es adecuado ya que reproduce los resultados experimentales en términos de estabilidad. Cabe mencionar que aun cuando no se reporta un valor de energía de interacción, el experimento revela la eficiente complejación entre el PAMAM y el DBrNF, ya que se observó una solubilidad infinita de la molécula hidrofóbica después del encapsulamiento.

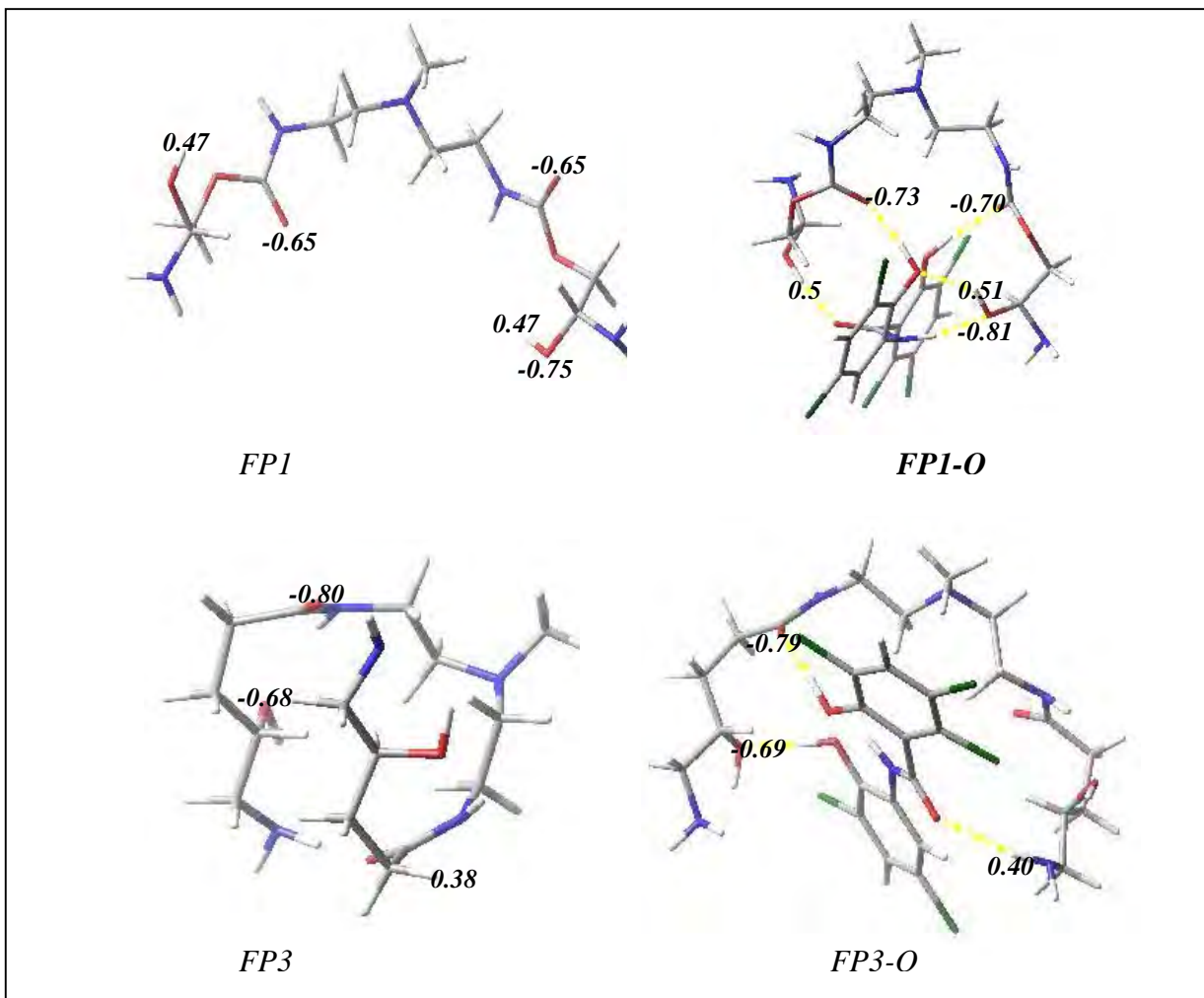


Figura 23. Efectos inductivos de los grupos funcionales en la formación de los puentes de Hidrógeno.

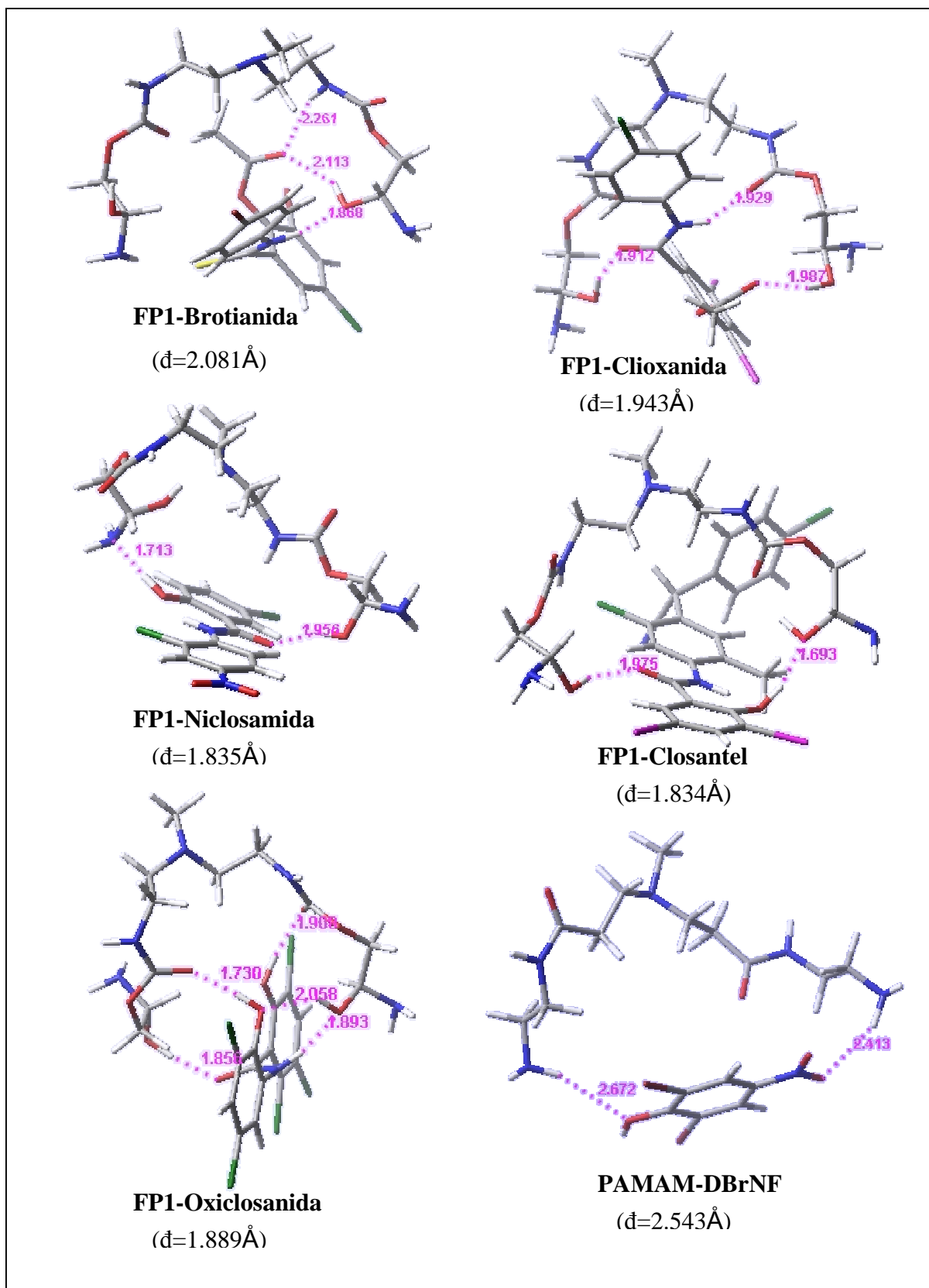


Figura 24. Geometrías de los complejos entre PF1-fármacos.

4.2.3 FUNCIONALES Y BASES

Recientemente (marzo 2005) se reportó que los cálculos con el funcional BHandHLYP y MPWB1K reproducen mejor las interacciones no covalentes en términos de distancias y ángulos en comparación con B3LYP²⁸. Con la finalidad de realizar un estudio comparativo y evaluar la confiabilidad de los funcionales para reproducir interacciones intermoleculares en moléculas del tipo que aquí se estudian, los complejos formados entre el PF1 (por ser el que formó los complejos más estables) y cada uno de los salicilanilidos fueron optimizados con diferentes funcionales.

En general los funcionales dentro de la teoría de DFT pueden representarse como la suma de los términos de diferentes operadores⁵⁷ de acuerdo a la ecuación 39:

$$F(DFT) = F^F + xF^{HFE} + (1-x)(F^{SE} + F^{GCE}) + F^C \quad \text{Ec. 39}$$

Donde F^F es el operador de Hartree, F^{HFE} es el operador de intercambio de Hartree-Fock, F^{SE} es el funcional de intercambio de densidad local de Slater, F^{GCE} es la corrección de gradiente para el funcional de intercambio, F^C es el funcional de correlación que incluye local y de gradiente corregido y x es la fracción del operador de intercambio de Hartree-Fock. Básicamente existen dos diferencias entre los funcionales empleados (mismas que se ven reflejadas en las energías de interacción), la primera es la fracción del operador de HF que utilizan (x) y la segunda es la definición de los términos de intercambio y correlación, en la tabla 5 se muestran los valores y los funcionales empleados en cada caso.

Tabla 5. Fracción de los operadores de intercambio				
Funcional	xF^{HFE}	$(1-x)$ $(F^{SE} + F^{GCE})$	F^{GCE}	F^C
B3LYP (Jaguar, G03)	0.2	0.8	0.72*Becke 88	0.8*LYP + 0.2*VWN
BHandHLYP (Jaguar)	0.5	0.5	-----	LYP
BHandHLYP (G 03)	0.5	0.5	0.5*Becke 88	LYP + 0.5*VWN

Nuevamente las geometrías de los complejos (PF1-fármacos) se optimizaron con BHandHLYP/LAV3P*³ (Jaguar 5.5³³), con BHandHLYP/6-31G* y LanL2DZ⁴ para los átomos de Br y I y, para cuatro complejos, con B3LYP/6-31G* y LanL2DZ, los dos últimos en Gaussian 03⁵.

Las energías de interacción entre patrón fractal y fármaco fueron calculadas empleando el método de variación, los resultados se muestran en la tabla 6 donde también se muestran las energías de interacción calculadas con B3LYP/LAV3P*, todas ellas corregidas por el error de superposición de base (BSSE, tabla 7), el cual, aunque grande, es comparable en valor en los cálculos con ambos funcionales en Jaguar y por lo tanto no afecta la tendencia de estabilidad de los complejos y las energías de interacción favorables se mantienen.

³ **LAV3P***, utilizada para los cálculos realizados en Jaguar con los funcionales B3LYP y BHandHLYP. Esta base pertenece al grupo de bases pseudopotenciales, las cuales toman en consideración explícitamente los electrones de valencia dentro de los cálculos, mientras que los electrones internos se reemplazan por un potencial. Para los modelos estudiados esta base está conformada de la siguiente forma: para los átomos de C, N, O e H se aplica una base 6-31G* y para los átomos de Cl, S, Br y I aplica un potencial efectivo (ECP, effective Core Potential) para los electrones internos y para los electrones de la capa de valencia la base 6-31G*

⁴ **6-31G*** y **LanL2DZ**, utilizada para los cálculos realizados en Gaussian 03 con el funcional BHandHLYP y B3LYP, donde los átomos C, N, O, Cl, S e H se trataron con la 6-31G* y para el I y Br se empleó la LanL2DZ, que también pertenece a las pseudopotenciales.

⁵ El uso del funcional MPWB1K, que emplea una base 6-31+G**, no se logró probar en este estudio debido a que presenta problemas de convergencia en las optimizaciones de los complejos, al parecer debido a que la base es demasiado grande. Cabe mencionar, que exceptuando la optimización del sistema de referencia, los cálculos para los 5 complejos en estudio después de semanas de cálculo no alcanzaron un punto de equilibrio con este funcional.

Tabla 6. Energías de Interacción (kcal/mol) entre PF1 y salicilanilidos

	B3LYP (Jaguar)/ LAV3P*	BHHLYP (Jaguar)/ LAV3P*	BHHLYP (G03)/ 6-31G* LanL2DZ	B3LYP (G03)/ 6-31G* LanL2DZ
Brotianida	-7.258	-19.053	-5.148	-5.542
Clioxanida	-12.936	-24.459	-9.097	-8.035
Niclosamida	-17.656	-28.864	-18.036	-17.191
Closantel	-21.594	-33.750	-17.739	-----
Oxiclosanida	-38.355	-23.534	-----	-----
PAMAM-DBrNF	3.571	-7.459	-1.338	2.948

Tabla 7. Error de superposición de base (BSSE, kcal/mol) para cada complejo

	B3LYP (Jaguar)/ LAV3P*	BHHLYP (Jaguar)/ LAV3P*	BHHLYP (G03)/ 6-31G* LanL2DZ	B3LYP (G03)/ 6-31G* LanL2DZ
Brotianide	-10.17	-9.46	-7.87	-9.20
Clioxanide	-10.32	-11.97	-8.78	-9.75
Niclosamide	-6.65	-9.37	-6.75	-6.87
Closantel	-9.53	-12.10	-7.86	-----
Oxiclosanide	-12.01	-12.01	-----	-----
PAMAM-DBrNF	-5.06	-7.90	-6.38	-6.36

4.2.3.1 Efecto del Funcional

En la tabla 6 se puede ver que B3LYP, tanto en Jaguar como en Gaussian, y BHandHLYP G03 predicen energías de interacción similares, con diferencias de ~3 kcal/mol, mientras que BHandHLYP en Jaguar predice energías de interacción marcadamente diferentes respecto a los otros dos funcionales (~11 kcal/mol). Estudiando las definiciones de cada uno de los funcionales se puede notar que B3LYP y BHandHLYP G03 están definidos con los mismos términos, siendo la diferencia más notable la fracción de intercambio de HF, por tal similitud es que las energías de interacción predichas son tan parecidas. Por otro lado, el funcional BHandHLYP Jaguar, aun cuando lleva el mismo nombre que en el paquete Gaussian 03, sólo se asemeja a éste en la fracción de HF y Slater, ya que no cuenta con el gradiente de corrección para el funcional de intercambio (Becke88) y el término de correlación está modelado únicamente por el funcional LYP local y no local, mientras que en su análogo en G03 existe el término de VWN. Así, con base en las energías de interacción obtenidas y las

definiciones de los funcionales empleados, se puede decir que la diferencia de energía predicha por los tres funcionales esta presumiblemente dominada por la corrección al término de intercambio (B88) y al uso del funcional de correlación VWN más que a la diferencia en la fracción de intercambio de HF.

Las tendencias de estabilidad que presentan los complejos en función del funcional empleado son, de menor a mayor estabilidad y excluyendo a la oxiclosanida: *Referencia(PAMAM-DBrNF)*, *Brotianida*, *Clioxanida*, *Niclosamida* y *Closantel* con B3LYP y BHHLYP en Jaguar. Y *Referencia*, *Brotianida*, *Clioxanida*, *Closantel* y *Niclosamida* con BHHLYP G03. Como puede verse en general la tendencia se mantiene.

En cuanto al complejo de la oxiclosanida, cuya discrepancia en la energía de interacción entre B3LYP y BHandHLYP(Jaguar) es la mayor y no encaja con el orden de estabilidad predicho, es bien sabido que las interacciones electrostáticas son inversamente proporcionales a la distancia de separación entre las partes interactuantes, aunque estas fuerzas contribuyen de manera favorable a la estabilidad de los sistemas existe una distancia crítica a la cual comienzan a tener peso las fuerzas repulsivas (repulsión entre núcleos) y por lo tanto la estabilidad del sistema disminuye, en principio es lo que sucede en el caso del complejo de la oxiclosanida, donde las distancias obtenidas con el funcional BHandHLYP son tan cortas que en lugar de favorecer las interacciones atractivas favorecen las interacciones repulsivas y en consecuencia la energía de interacción es menos favorable.

Dado que las energías de interacción calculadas con BHandHLYP son menores, es decir predice que los complejos son más estables, las distancias de los puentes de hidrógeno en consecuencia son menores. En la tabla 8 se encuentran tabulados los valores promedio de los parámetros geométricos que definen un puente de hidrógeno, distancias (δ) y ángulos (θ y Ψ) y el número de puentes de hidrógeno en cada caso. Como se mencionó anteriormente, los valores de δ correlacionan muy bien con la estabilidad del sistema (a menor energía menor δ y viceversa), sin embargo, los ángulos θ y Ψ en general no muestran ninguna correlación clara

debido a que se trata de sistemas en los que la linealidad de los puentes de hidrógeno es poco posible por el número de átomos presentes.

En la tabla 8 se puede apreciar que también en los términos geométricos existe mayor similitud entre los valores obtenidos con B3LYP/LAV3P* (Jaguar) y BHandHLYP/6-31G* - LanL2DZ (G03), lo cual, como se mencionó anteriormente, se debe a la semejanza que existe en las definiciones de estos funcionales, aunque se debe tener en consideración que existen parámetros inherentes a los programas que influye en el modelado de los sistemas y generan variaciones en los valores numéricos, por ejemplo el número de puntos de integración, mismo que difiere entre ambos y que podría estar mejorando la definición en algún funcional.

Debido a la falta de un sistema experimental bien caracterizado no es posible decir si un funcional es mejor que otro, sin embargo, con ambos funcionales se corroboran cualitativamente los resultados obtenidos con B3LYP y se reafirma la conclusión de que los complejos formados entre el PF1 y los salicilanilidos serán sistemas muy estables.

Tabla 8. Parámetros geométricos de los puentes de hidrógeno formados en los complejos entre PF1 y salicilanilidos			
B3LYP (Jaguar)	Ψ	θ	δ (Å)
Brotianida	133,7	151,9	(3) 2,091
Clioxanida	146,4	157,8	(3) 1,943
Niclosamida	124,1	160,1	(2) 1,835
Closantel	140,9	152,4	(2) 1,834
Oxiclosanida	127,3	156,2	(5) 1,889
PAMAM-DBrNF	114.6	154.2	(2) 2.543

Tabla 8. Parámetros geométricos (continuación)			
BHLLYP (Jaguar)	Ψ	θ	δ (Å)
Brotianida	129,5	154,9	(3) 1,933
Clioxanida	150,5	153,2	(3) 1,836
Niclosamida	122,9	161,4	(2) 1,779
Closantel	138,2	154,8	(2) 1,744
Oxiclosanida	128,9	152,4	(5) 1,824
PAMAM-DBrNF	156,2	108,7	(2) 1,947
BHLLYP (G 03)	Ψ	θ	δ (Å)
Brotianida	130,0	154,5	(3) 2,046
Clioxanida	141,9	169,9	(3) 1,894
Niclosamida	124,3	161,6	(2) 1,844
Closantel	139,9	156,5	(2) 1,798
Oxiclosanida	-----	-----	- -----
PAMAM-DBrNF	113,1	155,4	(2) 2,067

**El número de puentes de hidrógeno es el valor entre paréntesis en cada caso.

4.2.3.2 Efecto de la base

Con el objetivo de evaluar la mejora en la descripción de los sistemas debido al incremento de la base y a la par seleccionar una base adecuada para futuros cálculos híbridos, se realizaron las optimizaciones del complejo formado entre en PF1 y la clioxanida con el funcional BHandHLYP G03⁶ y ampliando la base con funciones polarizables, en un caso y con funciones difusas en otro, es decir, se emplearon las bases 6-31G**-LanL2DZ y 6-31+G*-LanL2DZ. Los resultados (tabla 9) ponen de manifiesto que el aumento de funciones polarizables no producen una mejora considerable en la descripción del sistema, ni en términos energéticos ni en términos geométricos; en cambio, el número de funciones base, y en consecuencia el tiempo de computo, se incrementan de forma considerable. De igual forma,

⁶ Se empleará este funcional ya que de los programas computacionales de los que se dispone, es en Gaussian donde se pueden realizar los cálculos ONIOM y aún no es certero el funcionamiento de ONIOM con funcionales no definidos explícitamente en el programa tales como MPWB1K.

la adición de funciones difusas no produce cambios considerables. Por lo tanto, para los cálculos con métodos híbridos se empleará la base 6-31G*-Lanl2DZ ya que en términos de tiempo de cálculo no es justificable emplear una base mayor.

Tabla 9. Efecto de la base en la descripción de los complejos				
	E_{int} (kcal/mol)	δ (Å)	BSSE (kcal/mol)	# Funciones base
6-31G*-Lanl2DZ	-17.877	1,894	-8.78	678
6-31G**-Lanl2DZ	-17.457	1,893	-8.55	783
6-31+G*-Lanl2DZ	-16.723	1.912	-5.27	846
Δ (funciones polarizables)*	0.420	0.0008	-0.23	105
Δ (funciones difusas) +	0.733	-0.0188	-3.51	168

Adicionalmente se obtuvo la energía de interacción en el complejo formado entre la clioxanida y el PF1 con el funcional PBE1PBE/ SDD⁷, que es otro de los funcionales que se reporta que reproduce adecuadamente las interacciones de tipo puente de hidrógeno²⁸. La energía de interacción corregida con el BSSE fue de -12.068 kcal/mol, comparado con el valor obtenido con el funcionales B3LYP, -12.936 kcal/mol, tiene una diferencia menor a 1kcal/mol y en términos geométricos el funcional PBE1PBE predice una distancia promedio 0.14 Å menor que la predicha con B3LYP, sin embargo, la mayor diferencia se presenta en el tiempo de cálculo, bajo las mismas especificaciones técnicas, con el funcional PBE1PBE fueron necesarias mas de 700 h, mientras que con B3LYP se emplearon menos de 30h. Por tal diferencia, no se justifica su uso para realizar el presente estudio, aun cuando el funcional fuese el que mejor reproduce los puentes de hidrógeno.

⁷ Aunque también es una base pseudopotencial es diferente a la empleada con B3LYP, la finalidad de la comparación es poner de manifiesto el tiempo de cálculo requerido con uno y otro funcional aun cuando la diferencia entre las bases no es impactante.

Recordando que el objetivo del trabajo es diseñar sistemas dendriméricos capaces de encapsular adecuadamente a los fármacos de la familia de los salicilanilidos, hasta ahora y dado que todos los funcionales predicen que los complejos PF1-salicilanilidos pueden formar sistemas estables, se espera garantizar la complementariedad química que debe existir en todo proceso de formación de complejos huésped-anfitrión. La evaluación de qué tan transferibles son los resultados de los cálculos en sistemas modelo a sistemas macromoleculares se evaluará en función de los resultados de los cálculos con métodos híbridos.

4.3. ANÁLISIS GEOMÉTRICO

4.3.1 DENDRÍMEROS

De acuerdo a los resultados del estudio en los sistemas modelo, los dos patrones fractales que interaccionan de mejor manera con los salicilanilidos son el PF1 y el PF2, produciendo en todos los casos energías de interacción favorables, por ello, y con la finalidad de evaluar las capacidades encapsulantes de los dendrímeros derivados a partir de dichos patrones, se realizó un análisis geométrico en términos de volúmenes de cavidades mediante el algoritmo de Connolly partiendo de los confórmeros de menor energía.

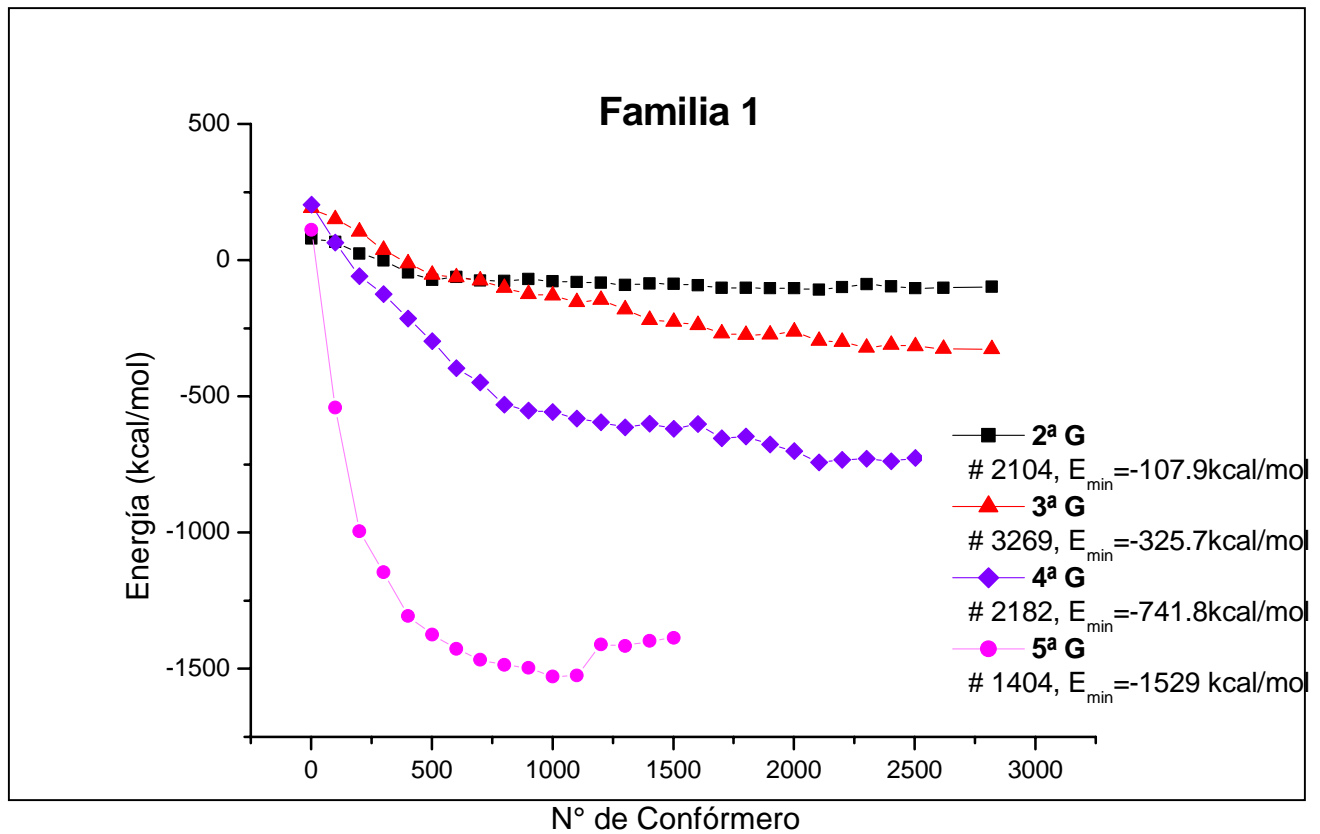
Los dendrímeros se formaron partiendo de un núcleo de etilendiamina, como se explica en los antecedentes es una de las variables que determina la forma final del dendrímero, con la finalidad de generar estructuras lo más esféricas posible, ya que de acuerdo a la literatura, la forma de las moléculas impacta fuertemente en sus propiedades citotóxicas⁸⁵⁰, teniendo menor posibilidad de serlo aquellas con geometrías esféricas

En la gráfica 2 se muestra el comportamiento energético de los dendrímeros formados a partir del PF1 de la 2ª a la 5ª generación, de ahora en adelante **familia 1**, como resultado de las simulaciones de dinámica molecular y la gráfica 3 muestra el comportamiento de los dendrímeros formados a partir del PF2 (**familia 2**). Los mínimos en cada una de las gráficas corresponden a los confórmeros más estables cuyas estructuras se muestran en las figuras 25 y 26.

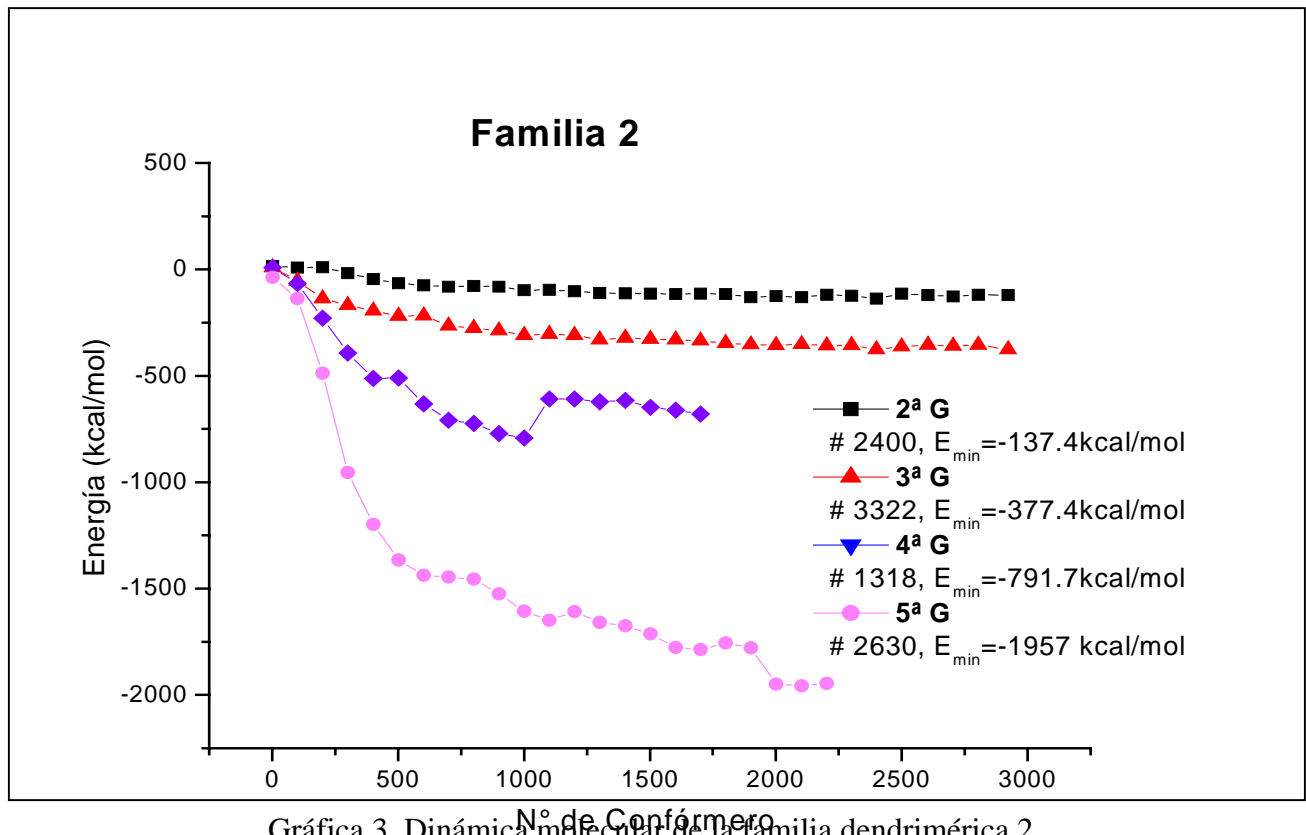
En la figura 25, que corresponde a la familia 1, puede verse que, excepto la 1ª generación, todas las estructuras poseen una geometría muy abierta, a diferencia de los dendrímeros de la familia 2 (figura 26), en los que la forma es más compacta y tiende a ser esférica más rápido que en la familia 1 conforme crece la generación. Un valor cuantificado del grado de esfericidad de una molécula esta dado por el radio de los principales momentos de inercia (I_z/I_x) y en la gráfica 4 se observa la tendencia que presenta cada familia con respecto a la

⁸ Citotóxico: tóxico par las células.

generación.



Gráfica 2. Dinámica molecular de la familia dendrímica 1



Gráfica 3. Dinámica molecular de la familia dendrímica 2

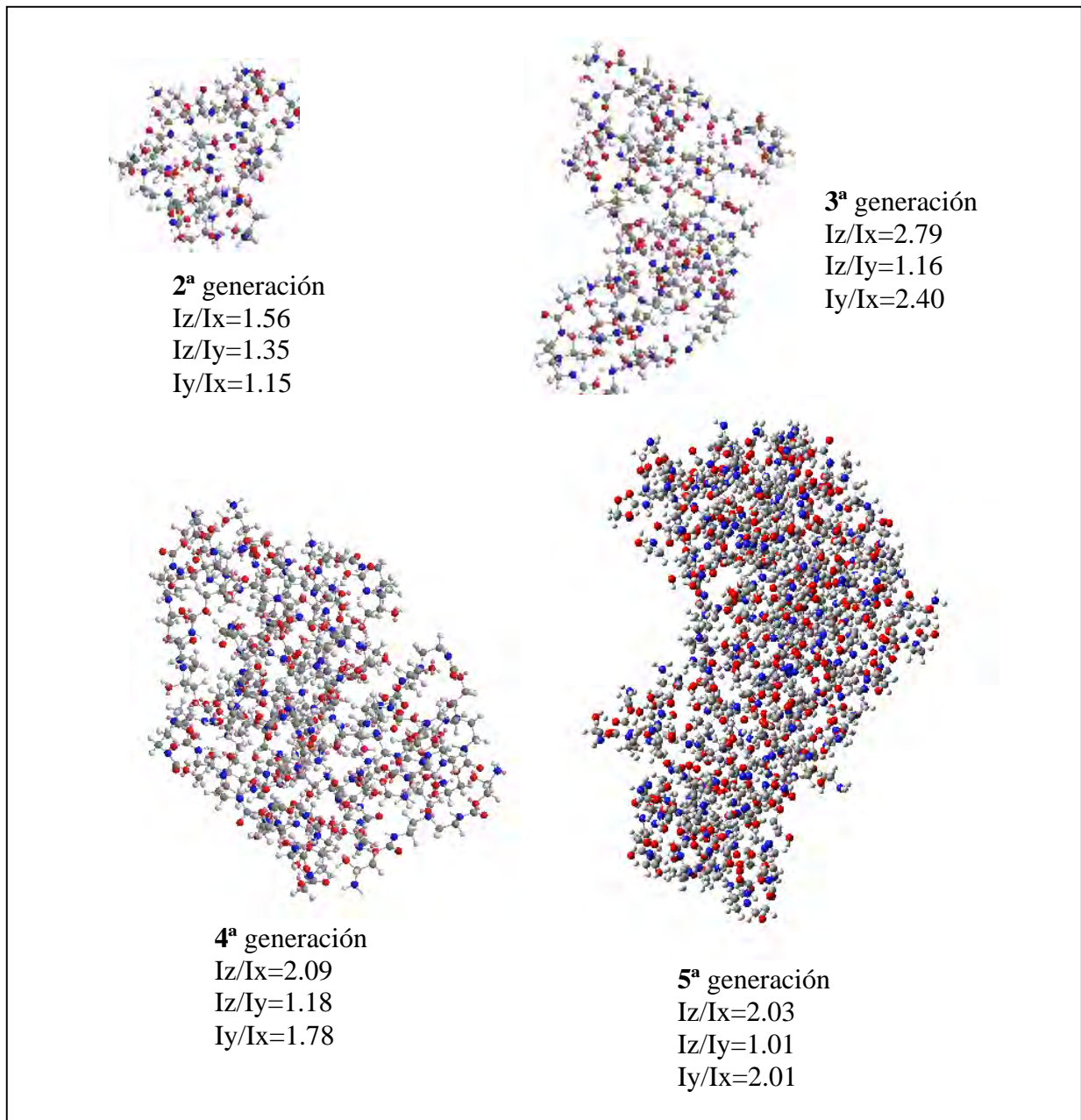


Figura 25. Estructuras de la familia dendrímica 1.

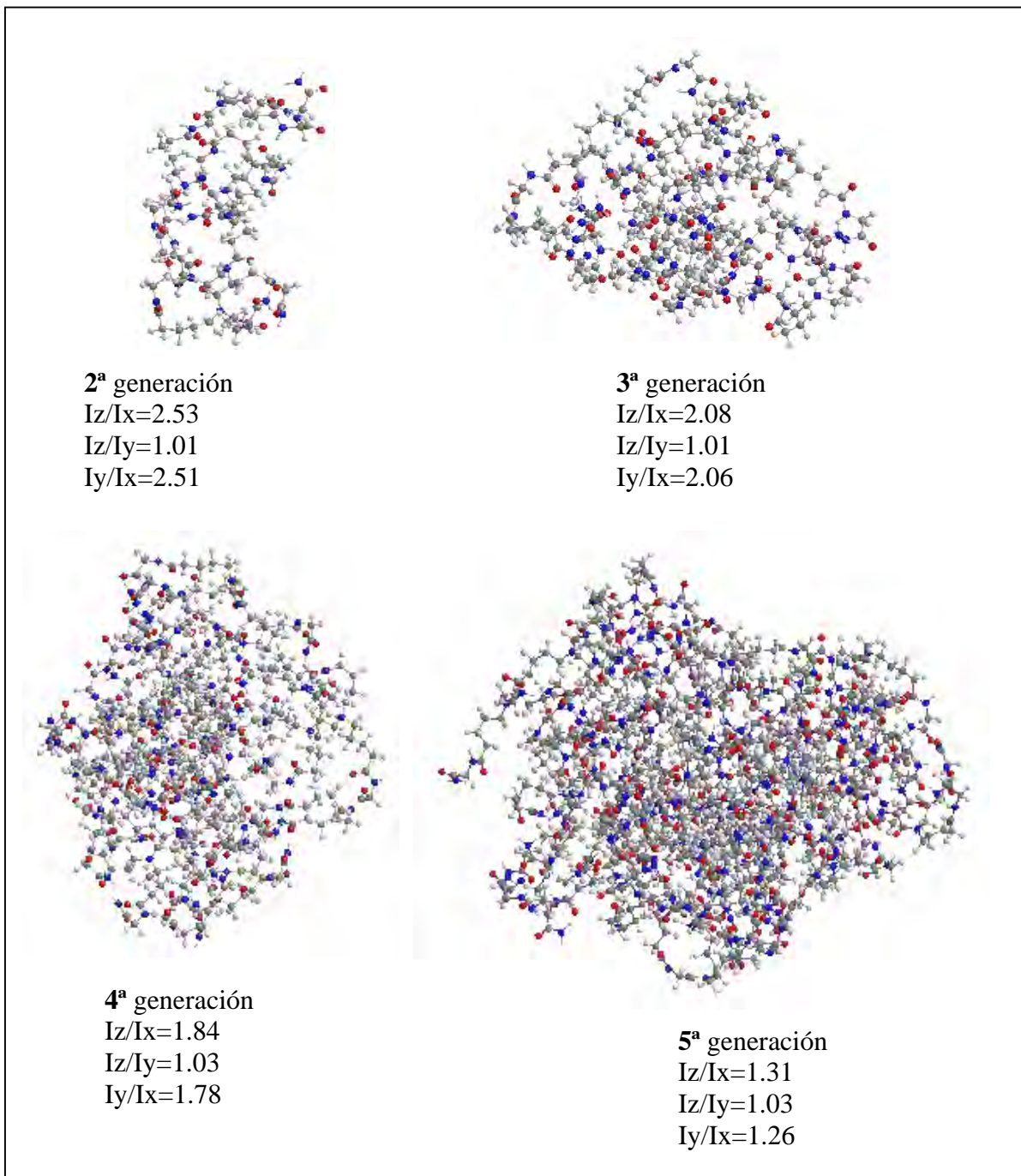
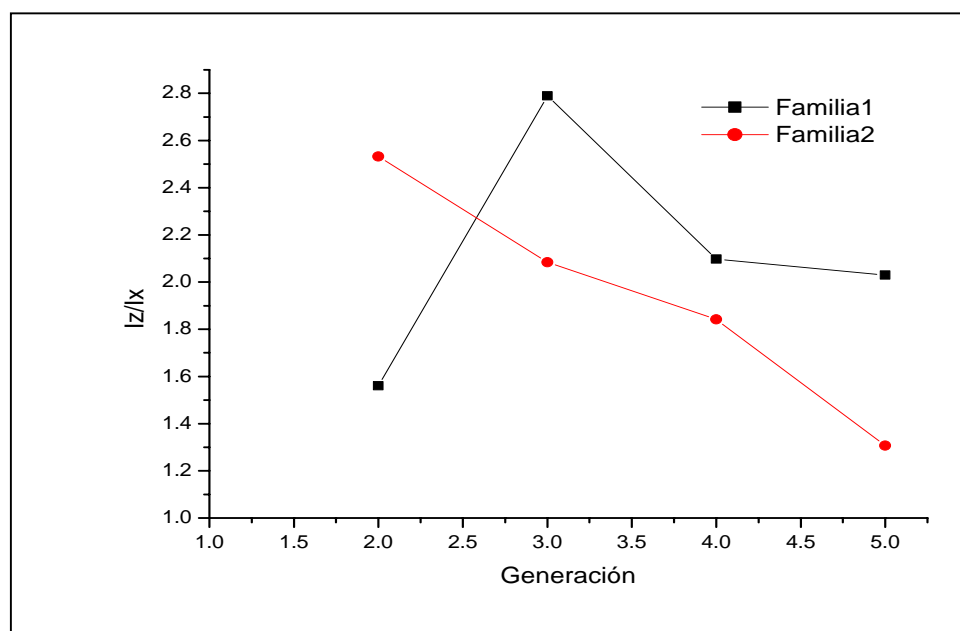


Figura 26. Estructura de la familia dendrímica 2.

En general, se habla de una generación de transición en la cual los dendrímeros pasan de una forma amorfa y abierta a una estructura compacta y esférica, esa generación de transición

depende de varios factores, siendo los de mayor impacto las multiplicidades del núcleo (N_c) y de las ramas (N_b) así como la longitud y grupos funcionales presentes en el patrón fractal.

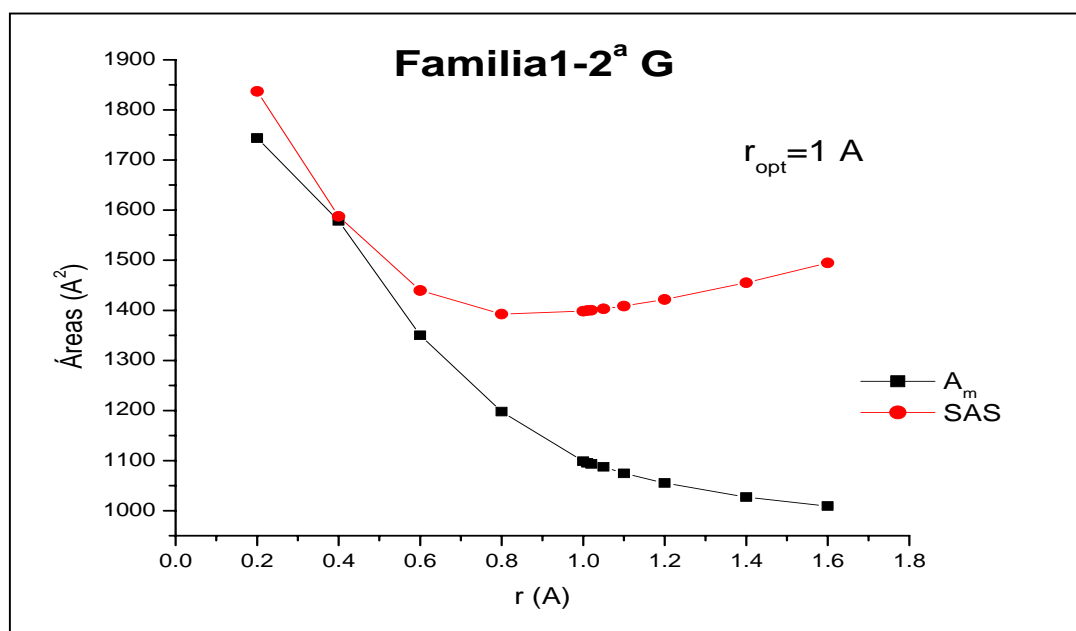


Gráfica 4. Radio de los principales momentos de inercia en función de la generación.

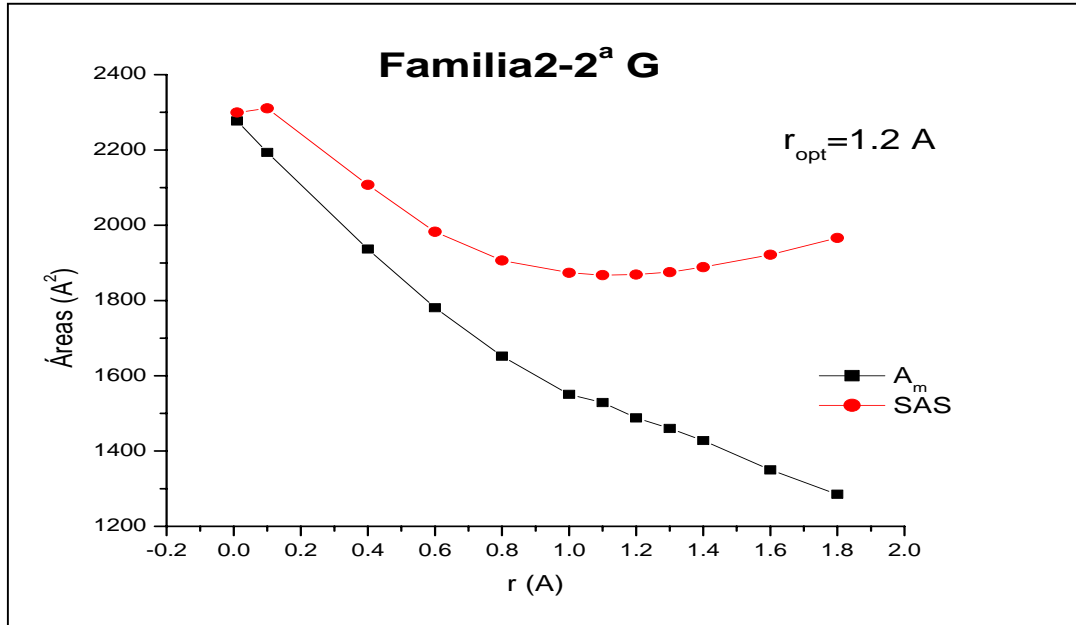
Debido a que ambas familias dendriméricas tienen las mismas multiplicidades ($N_c=4$ y $N_b=2$) y por la forma de las estructuras obtenidas, puede decirse que la forma esférica para estas familias está determinada por los grupos funcionales presentes, siendo la amida la que propicia un arreglo más esférico. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que la conformación y por lo tanto el radio de momentos cambiarán al formarse los complejos huésped-anfitrión. Además como puede verse en la gráfica 4, aún en la 5ª G en ninguna de las dos familias se alcanza la generación de transición.

Una vez obtenidas las estructuras de mínima energía se llevó a cabo un análisis geométrico de las dos familias de dendrímeros mediante el algoritmo de Connolly, en el cual uno de los parámetros más importantes es el volumen de cavidades, mismo que se obtuvo a partir del Volumen de Disolvente Excluido (SEV) y el Volumen de Van der Waals de acuerdo a lo descrito en los antecedentes.

En el algoritmo de Connolly se obtiene de manera directa el SEV ajustando únicamente el radio de prueba (r), para lo cual es necesario encontrar un valor óptimo con la finalidad de no sobreestimar o subestimar el valor del SEV, ya que el volumen de cavidades es directamente proporcional al mismo. En este sentido fue necesario realizar cálculos del área molecular (A_m) y de la superficie accesible al disolvente (SAS) en función del radio de prueba para cada dendrímero, de forma tal que al graficar ambas áreas en función de r , se obtiene un comportamiento divergente como puede apreciarse en las gráficas 5 y 6 para los dendrímeros de 2ª generación de ambas familias. Así, mientras el A_m disminuye conforme el radio de prueba aumenta la SAS presenta un mínimo que corresponde al valor óptimo del radio de prueba [referencia]. El comportamiento que presentan el A_m y la SAS se puede apreciar en las figuras 27 y 28.



Gráfica 5. Radio de disolvente óptimo para el dendrímero de 2ª G de la familia 1



Gráfica 6. Radio de disolvente óptimo para el dendrímero de 2^a G de la familia 2

En la figura 27 se muestra el área de disolvente excluido (SAS) en función del radio de prueba, donde claramente se ve que a mayor radio de prueba menor área accesible al disolvente. Este comportamiento se debe a que las esferas con radios de prueba pequeños tienen la posibilidad de alcanzar sitios internos de la molécula, describiendo así una superficie mayor, mientras que esferas con radios de prueba muy grandes sólo pueden tener acceso a zonas externas; a partir del valor óptimo el comportamiento se invierte y la SAS se incrementa con el aumento de r. Ese nuevo comportamiento se explica, recordando la definición de la SAS (superficie definida por el trazado que parte del centro de la molécula de disolvente cuando ésta es rodada sobre la superficie de van der Waals de la molécula de interés) y partiendo de la hipótesis de que se está describiendo la SAS de una esfera cuya superficie está dada por la ecuación $A=4\pi(R+r)^2$, se puede entender por qué al aumentar el radio de prueba (r) aumenta el radio de la esfera (R+r) y en consecuencia la superficie. Así mismo en la figura 28 se pueden observar las superficies moleculares (A_m) del mismo dendrímero, en las cuales se ve la pérdida de detalle en la descripción de la superficie conforme crece el radio de prueba. A diferencia de la SAS, el A_m continúa disminuyendo incluso después del valor óptimo, teniendo como límite el área de una esfera perfecta.

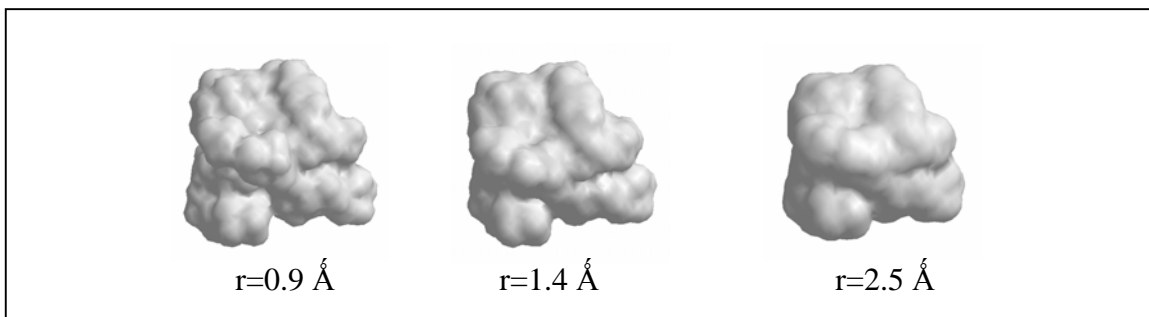


Figura 27. Área de disolvente excluido (SAS) para un dendrímero (PF1) de 2^a generación

Cabe mencionar que la importancia de la SAS radica en que nos genera una idea de la superficie que podrá interactuar con otras moléculas, por ejemplo con otros dendrímeros o con los fármacos sin llegar a formar compuestos de inclusión.

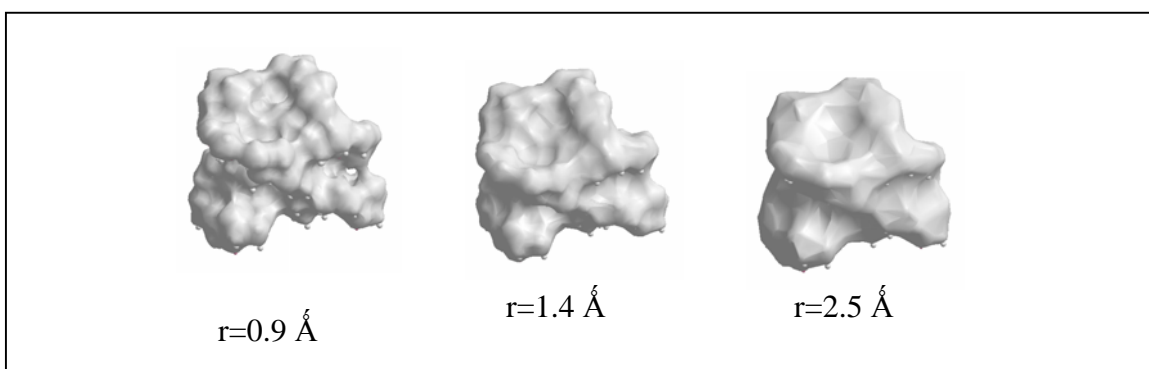


Figura 28. Área molecular (A_m) para un dendrímero (PF1) de 2^a generación.

Una vez determinado el radio de prueba óptimo se obtuvieron los parámetros necesarios para determinar la disponibilidad de espacio en los dendrímeros para encapsular a los fármacos de acuerdo a la ecuación: $V_{Cavidades} = [SEV - V_{vanderWaals}]$, los parámetros más importantes se muestran en las tablas 10 y 11 para cada familia de dendrímeros, de acuerdo a la definición el volumen de van der Waals se obtuvo al extrapolar el radio de prueba a cero.

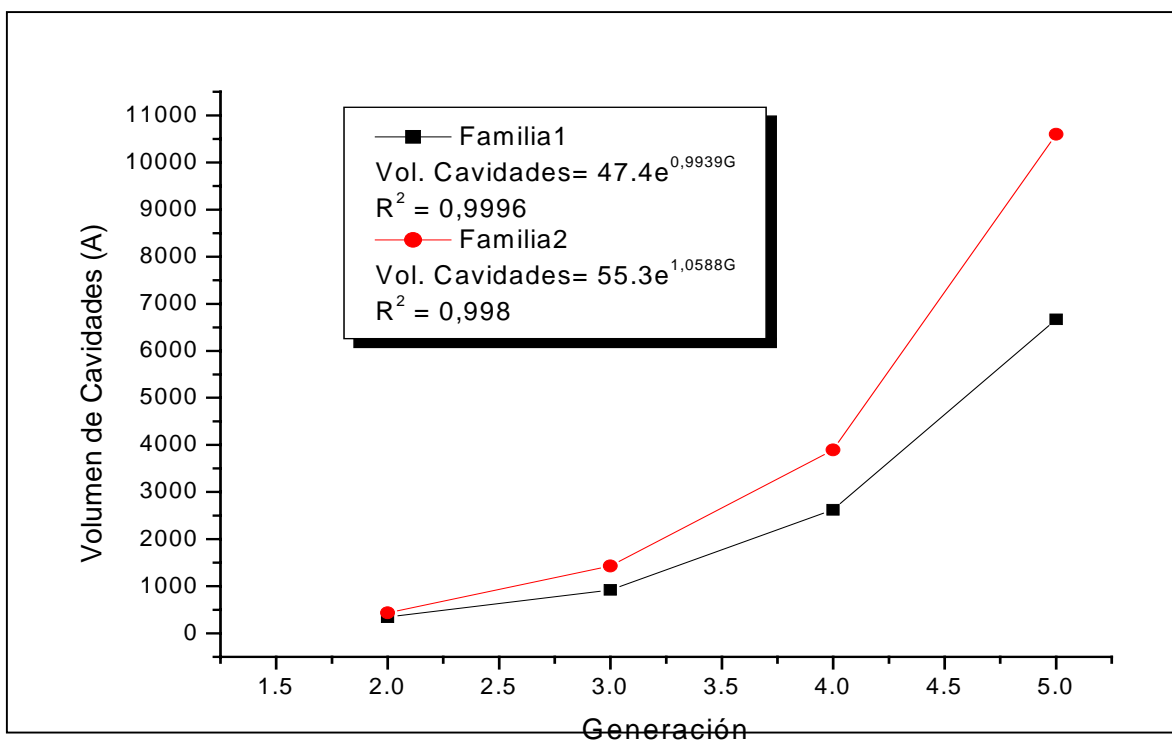
Tabla 10. Parámetros geométricos de la familia dendrímica 1				
Generación	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a
r _{opt} (Å)	1.0	1.1	1.4	1.7
A _m (Å ²)	1093.2	2139.1	3428.6	6079.9
SAS (Å ²)	1400.1	2567.2	4098.6	7312.8
SEV (Å ³)	1585.4	3767.4	8689.3	19052.6
Masa Molar (g/mol)	1813.9	4152.3	8829.0	18182.5
Vol.VW (Å ³)	1241.4	2843.2	6066.6	12381.6
Vol. Cavidades	343.9	924.2	2622.6	6671.0
% Cavidades	21.7	24,5	30.2	35.0
Densidad (g/ mol Å ³)	1.14	1.1	1.01	0.95
Iz/Ix	1.56	2.76	2.09	2.03

Tabla 11. Parámetros geométricos de la familia dendrímica 2				
Generación	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a
r _{opt} (Å)	1.2	1.3	1.8	2.5
A _m (Å ²)	1488.0	2422.6	4259.9	6889.5
SAS (Å ²)	1868.8	2939.6	5317.4	8875.4
SEV (Å ³)	1900.1	4777.8	10996.8	25228.2
Masa Molar (g/mol)	1934.4	4433.4	9431.4	19427.5
Vol.VW (Å ³)	1466.1	3344.9	7102.2	14625.5
Vol. Cavidades	433.9	1432.9	3894.6	10602.7
% Cavidades	22.8	30.0	35.4	42.0
Densidad (g/ molÅ ³)	1.0	0.9	0.85	0.8
Iz/Ix	2.53	2.08	1.84	1.31

- *Familia 1 vs. Familia2*

Como se ha mencionado anteriormente el factor mas importante de este análisis es el volumen de cavidades, ya que geoméricamente es lo que determina las capacidades de

encapsulamiento del dendrímico, así, comparando entre ambas familias se puede apreciar en la gráfica 7 que el volumen de cavidades crece exponencialmente con la generación para ambas familias, sin embargo, la familia dendrímica 2 tiene mayor disponibilidad de volumen para encapsular moléculas huésped que la familia 1, y la diferencia entre ambas se amplía de manera proporcional con la generación. En promedio la familia 2 presenta un 30% más de volumen de cavidades, sin embargo, se debe tener en cuenta que los valores del volumen de cavidades son función del radio de prueba y que éstos son diferentes para cada familia y cada generación. Ante esta diferencia y con el fin de predecir, a groso modo, el número de fármacos que podría encapsular cada dendrímico surgen las siguientes preguntas: ¿es válido comparar volúmenes obtenidos con diferentes radios de prueba? ¿también para los fármacos se deben obtener los radios óptimos? ¿qué efecto tiene el hacer las predicciones con un mismo radio de prueba? Para dar respuesta a dichas cuestiones se realizaron las estimaciones empleando los parámetros obtenidos con el radio de prueba óptimo y los obtenidos con un radio de prueba de 1.4 Å, que corresponde al radio de prueba de una molécula de agua³⁵, al respecto se discutirá posteriormente.



Gráfica 7. Comparación volumétrica entre las dos familias dendrímicas.

4.3.2 SALICILANILIDOS

A partir de un radio de prueba óptimo, se caracterizó a los salicilanilidos y los parámetros de interés se encuentran en la tabla 12.

Tabla 12. Propiedades de los fármacos								
Fármaco	r_{opt} (Å)	Vol. VW (A ³)	SEV (A ³)	Masa (g/mol)	Densidad (g/ molA ³)	Iz/Ix	Iz/Iy	Ix/Iy
Brotianida	2.5	240.56	279.12	463.6	1.66	5.76	1.18	0.21
Clixanida	2.2	241.025	275.45	541.5	1.96	3.27	1.39	0.43
Closantel	2.4	318.24	365.03	663.0	1.82	5.94	1.14	0.19
Niclosamida	2.6	197.49	227.87	327.1	1.43	5.41	1.11	0.21
Oxiclosanida	2.5	222.10	25323	401.5	1.58	3.77	1.19	0.31

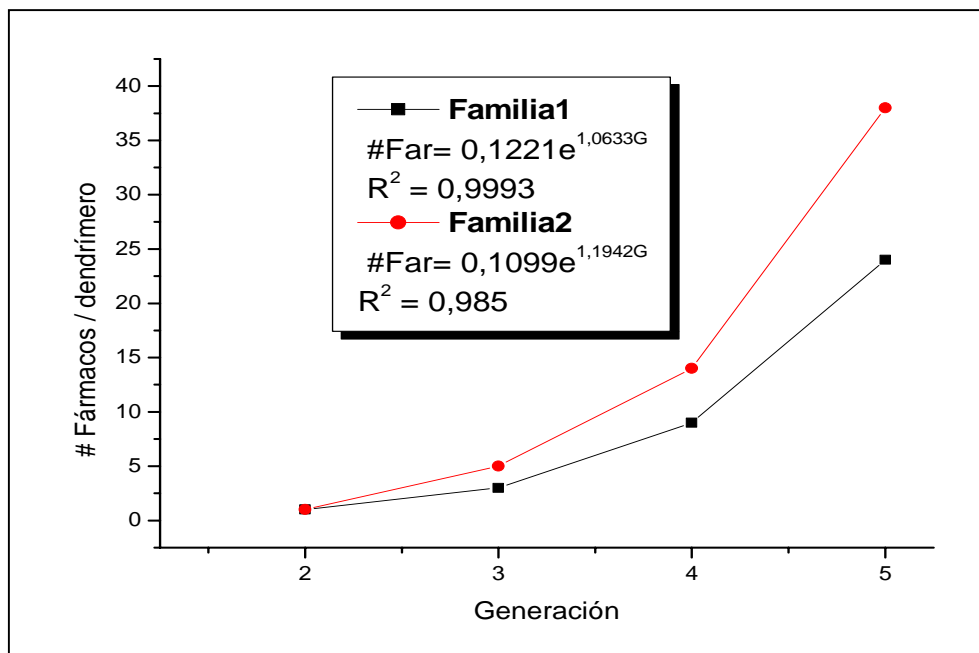
4.3.3 CAPACIDADES DE ENCAPSULAMIENTO

Tomado como partida la diferencia de tamaños entre los dendrímeros y los fármacos, es posible establecer una relación entre el volumen disponible en el interior de los dendrímeros, es decir el volumen de cavidades y el volumen de las moléculas huésped (SEV). La relación de los volúmenes disponibles de los dendrímeros de la familia 1 y los SEV de cada fármaco se presentan en la tabla 13, que muestra una estimación del número de moléculas de fármacos que podrían ser albergadas en los diferentes dendrímeros, suponiendo que tanto los dendrímeros como los fármacos son estructuras rígidas que no interactúan entre si. Las estimaciones correspondientes a la familia2 se presentan en la tabla 14.

Tabla 13. Estimación del número de moléculas de fármaco por dendrímero. Familia 1				
Generación	2^a	3^a	4^a	5^a
Brotianida	1.2	3.3	9.4	23.9
Clioxanida	1.2	3.4	9.5	24.2
Closantel	0.9	2.5	7.2	18.3
Niclosamida	1.5	4.1	11.5	29.3
Oxiclosanida	1.4	3.6	10.4	26.3
<i>PROMEDIO</i>	~1	~3	~9	~24

Tabla 14. Estimación del número de moléculas de fármaco por dendrímero. Familia 2				
Generación	2^a	3^a	4^a	5^a
Brotianida	1.6	5.1	14.0	38.0
Clioxanida	1.6	5.2	14.1	38.5
Closantel	1.2	3.9	10.7	29.0
Niclosamida	1.9	6.3	17.1	46.5
Oxiclosanida	1.7	5.7	15.4	41.9
PROMEDIO	~1	~5	~14	~38

La diferencia entre ambas familias es notable a partir de la tercera generación, ya que como se menciona anteriormente la familia 2 tiene un volumen de cavidades mayor, que al igual que el número de fármacos potencialmente encapsulables se incrementa exponencialmente con la generación como se observa en la gráfica 8.



Gráfica 8. Número promedio de fármacos a encapsular en función de la generación a partir del radio de prueba óptimo.

Por otro lado, con los resultados del análisis con el radio de prueba de 1.4 \AA (tabla 15 y 16 para la familia 1 y 2 respectivamente) se aprecia la diferencia debido a la variación del radio de prueba y el efecto del mismo en la determinación del volumen de cavidades. Cuando el radio de prueba es menor al óptimo el volumen de cavidades incrementa, mientras que si el radio es mayor al óptimo el volumen de cavidades disminuye, esto como consecuencia directa del cambio (aumento o disminución) en el SEV, ya que el volumen de van der Waals es independiente del radio de prueba.

De igual forma se caracterizó a los fármacos con un radio de prueba de 1.4 \AA y los datos se muestran en la tabla 17. Las estimaciones promedio correspondientes al número de fármacos que podría encapsular cada dendrímico se presentan en la tabla 18 y en la gráfica 9.

Generación	2^a	3^a	4^a	5^a
$A_m (A^2)$	1027.3	1988.4	4098.6	6529.8
SAS (A^2)	1454.7	2601.0	3428.6	7367.6
SEV (A^3)	1664.3	3923.9	8689.3	18512.7
Vol.VW (A^3)	1241.4	2843.2	6066.6	12381.6
Vol. Cavidades	422.9	1080.8	2622.6	6131.1
% Cavidades	25.4	27.5	30.2	33.1
Densidad (g/ A^3)	1.09	1.05	1.02	0.98

Generación	2^a	3^a	4^a	5^a
$A_m (A^2)$	1427.8	2349.9	4776.9	9014.6
SAS (A^2)	1888.7	2944.7	5369.4	9219.5
SEV (A^3)	1974.6	4848.6	10385.1	22435.4
Vol.VW (A^3)	1466.1	3344.9	7102.2	14625.5
Vol. Cavidades	508.5	1503.7	3282.9	7809.9
% Cavidades	25.8	31.0	31.6	34.8
Densidad (g/ A^3)	0.98	0.92	0.91	0.87

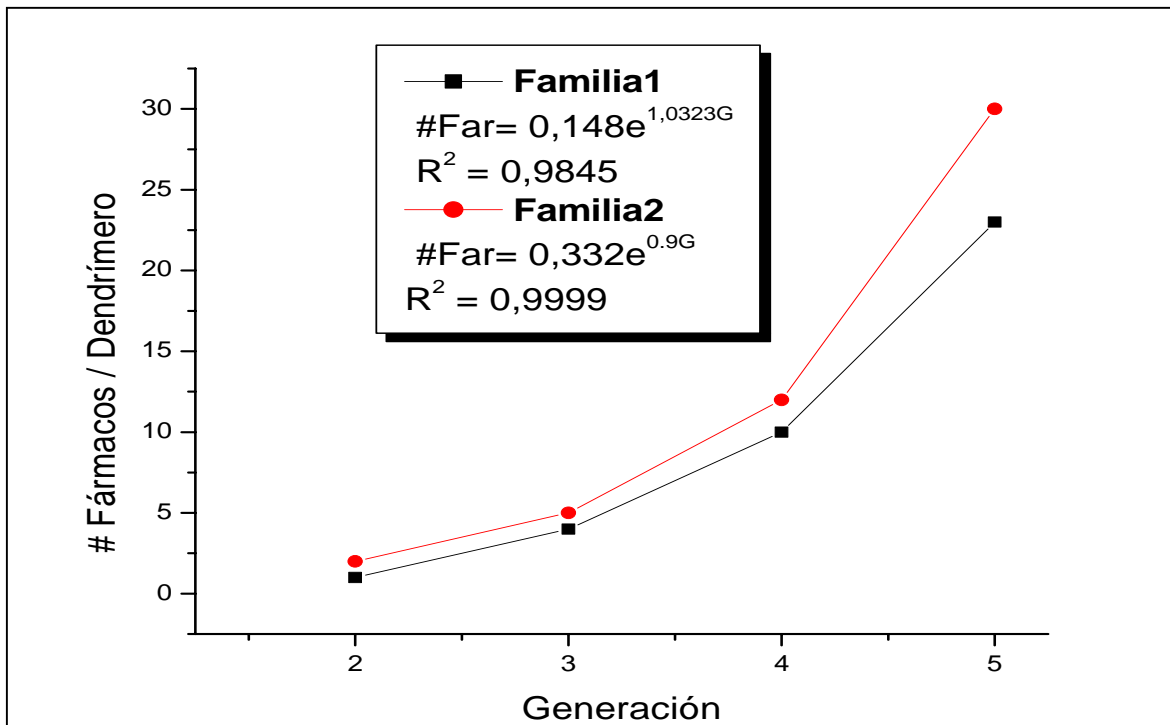
Comparando los promedios de moléculas a encapsular, usando en un caso los radios óptimos y en otro el de una molécula de agua, se puede observar que la diferencia entre ambas estimaciones no es significativa en las primeras generaciones, lo que sugiere que para sistemas del tipo que aquí se tratan, la estimación, que claramente tienen un gran margen de error al considerar a las moléculas como esferas rígidas sin propiedades físicas ni químicas, es válido realizarla con el radio de prueba del agua, es decir 1.4 \AA , al menos para las primeras generaciones.

Siguiendo la misma metodología se caracterizó al sistema de referencia, es decir, al PAMAM de 2^a generación. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que este dendrímero posee un

25% de volumen de cavidades y tiene la capacidad de encapsular ~3 moléculas de DBrNF y en promedio ~1 de los fármacos de la familia de los salicilanilidos (con un radio de prueba de 1.4 Å). Comparando con las aproximaciones obtenidas para las familias dendriméricas 1 y 2 puede verse que presenta igual capacidad que la familia 1 pero menor que la 2.

FÁRMACO	Vol. VW (A^3)	SEV (A^3)	Densidad (g/ A^3)
Brotianida	240.562	262.303	1.757
Clioxanida	241.025	264.545	2.044
Closantel	318.24	346.772	1.908
Niclosamida	197.495	213.956	1.524
Oxiclosanida	222.105	240.526	1.658

Generación	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5
Familia 1	~1	~4	~10	~23
Familia 2	~2	~5	~12	~30



Gráfica

9. Número promedio de fármacos a encapsular en función de la generación a partir de un radio de prueba de 1.4 Å

En resumen, la familia dendrímica 2 posee, de acuerdo al algoritmo de Connolly, mayor capacidad (~30%) para encapsular a los fármacos de la familia de los salicilanilidos que la familia 1, dicha capacidad se incrementa exponencialmente con la generación para ambas familias como se observa en las graficas 8 y 9.

Con los resultados obtenidos hasta el momento se tiene, por un lado, de los cálculos de energías de interacción, que el PF1 forma complejos (excluyendo el complejo con la niclosamida) ~30% más estables que el PF2. Por otro lado, de acuerdo al análisis geométrico, la familia dendrímica 2 (formada a partir del PF2) posee mayor capacidad (~30%) para encapsular a los salicilanilidos. ¿Cuál es la mejor familia para encapsular a los fármacos de la familia de los salicilanilidos? Para tratar de dar una respuesta es necesario realizar análisis conformacionales y cálculos con métodos híbridos, lo cual se discute en la siguiente sección.

4.4. COMPLEJOS DENDRÍMERO-FÁRMACO (huésped-anfitrión)

Emplear métodos de cálculo híbridos (mejor conocidos como ONIOM) brinda la posibilidad de tratar sistemas de cientos de átomos con diferentes niveles de teoría en función del efecto y la importancia que las diferentes partes de las moléculas tienen, en este caso la parte de interés es el sitio donde se da la interacción(encapsulamiento) entre el fármaco y el dendrímero, de tal forma que los átomos que interaccionan para dar lugar a la formación de puentes de hidrógeno fueron tratados con nivel DFT mientras que el resto de la molécula fue tratado con mecánica molecular. Así, con estos métodos fue posible determinar que tan transferibles son los cálculos de sistemas modelo a sistemas completos. Con la finalidad de obtener estructuras confiables (cercanas al mínimo) para realizar los cálculos ONIOM se realizó una búsqueda conformacional, en vacío y en medio acuoso, con el método de MonteCarlo Mínimos Múltiples de los complejos formados entre los dendrímeros de ambas familias de 2^aG y una molécula de fármaco (de acuerdo a los resultados obtenidos del estudio geométrico realizado mediante el algoritmo de Connolly, cabe mencionar que en el estudio de Connolly las estimaciones realizadas fueron en los dendrímeros sin la presencia de grupos superficiales y en vacío).

En la figura 29, se muestra el comportamiento energético en la formación del complejo formado entre el dendrímero de la familia 1 de 2^aG y una molécula de clioxanida (las estructuras que la rodean corresponden a diferentes conformaciones) como puede verse la estabilización del sistema (disminución de energía) se da en los primeros cambios, mismos en los que el fármaco es rodeado por las ramas dendríméricas; posteriormente, los cambios conformacionales que sufre el complejo modifican principalmente la distancia de interacción entre ambas entidades. Finalmente la estructura obtenida fue minimizada con el mismo campo de fuerza y optimizada con métodos híbridos.

Como se menciona en los antecedentes con la finalidad de que los dendrímeros no sean citotóxicos se funcionalizaron en la periferia con el grupo (tris(hidroximetil) metil (-C(CH₂OH)₃), que además ayuda a la solubilidad de los sistemas en medios acuosos. Para ambas familias dendríméricas se pudo observar el efecto que produce en la conformación tanto el disolvente como los grupos funcionales de la periferia.

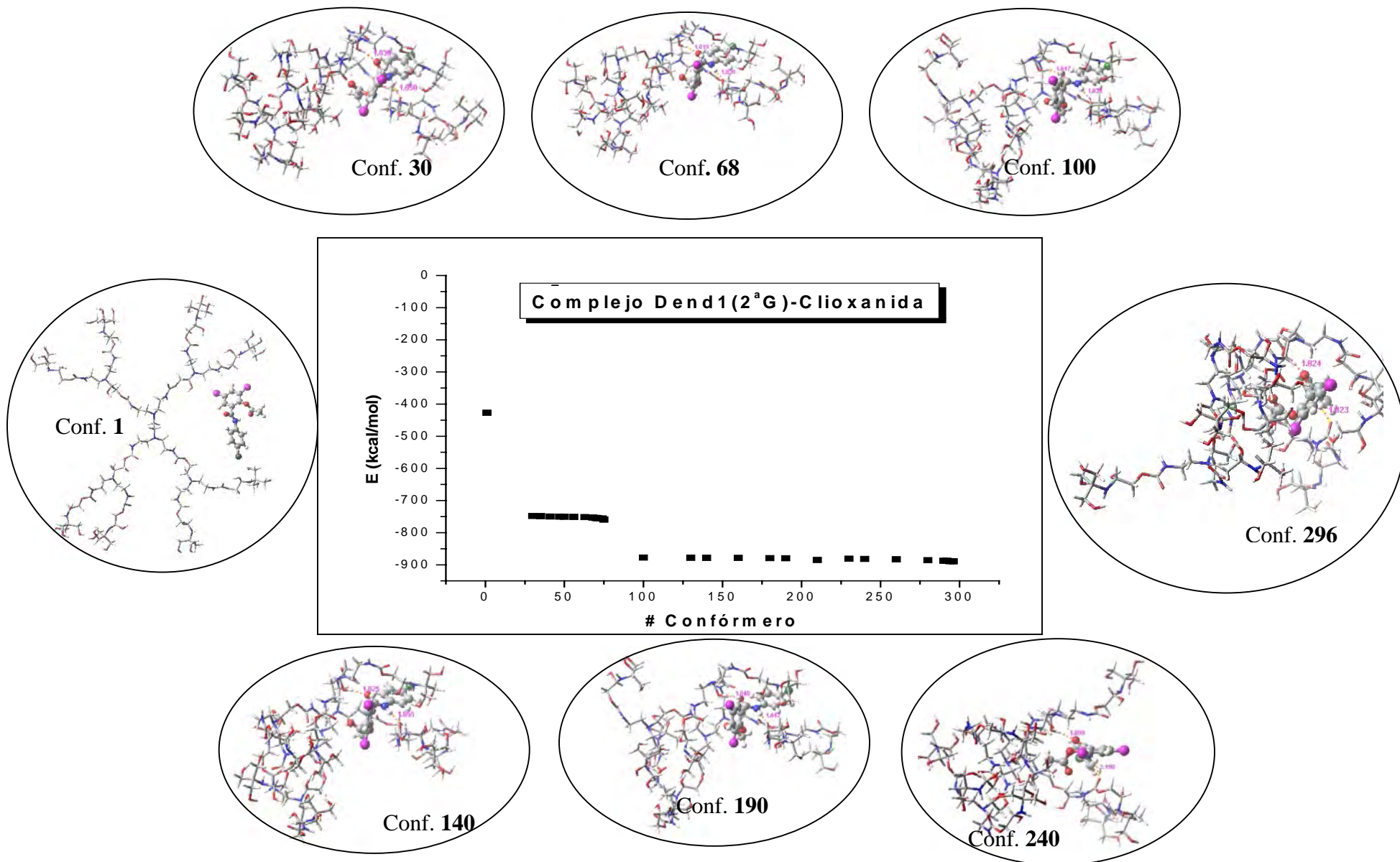


Figura 29. Proceso de encapsulamiento monitoreado mediante análisis conformacional (MCMM/OPLS2001)

Efecto del disolvente

Para ambas familias dendriméricas, como puede observarse en la figura 30, la presencia de disolvente (agua) prácticamente no afecta la conformación del complejo. El efecto más marcado se hace notar en las distancia de los puentes de hidrógeno formados, siendo en promedio ligeramente menores (0.005 \AA en la familia 1 y 0.045 \AA en la familia 2) en presencia del disolvente que en vacío, lo cual se debe a la tendencia hidrofóbica de los fármacos.

Grupos superficiales

La presencia de los grupos superficiales (tris(hidroximetil) metil ($-\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$) propicia la formación de una estructura más globular, como puede observarse en la figura 31. En el caso de la familia 1 además favorece la interacción entre el fármaco y el dendrímero, lo cual se observa como una disminución (0.151 \AA) en la distancia promedio de los puentes de hidrógeno formados. En cuanto a la familia 2, aun cuando promueve una geometría más globular, no produce una mejora en la interacción con el fármaco y en ambos casos, con y sin grupos terminales, el fármaco queda en la superficie interaccionando mediante puentes de hidrógeno sin llegar a encapsularse.

Comparando las geometrías obtenidas para los dendrímeros funcionalizados con el grupo ($-\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$) de 2ª generación en presencia de una molécula de fármaco y en medio acuoso, puede observarse claramente que aunque el fármaco interacciona mediante dos puentes de hidrógeno con ambos dendrímeros, en el caso del dendrímero de la familia 1 se logra un encapsulamiento, más no así con la familia 2.

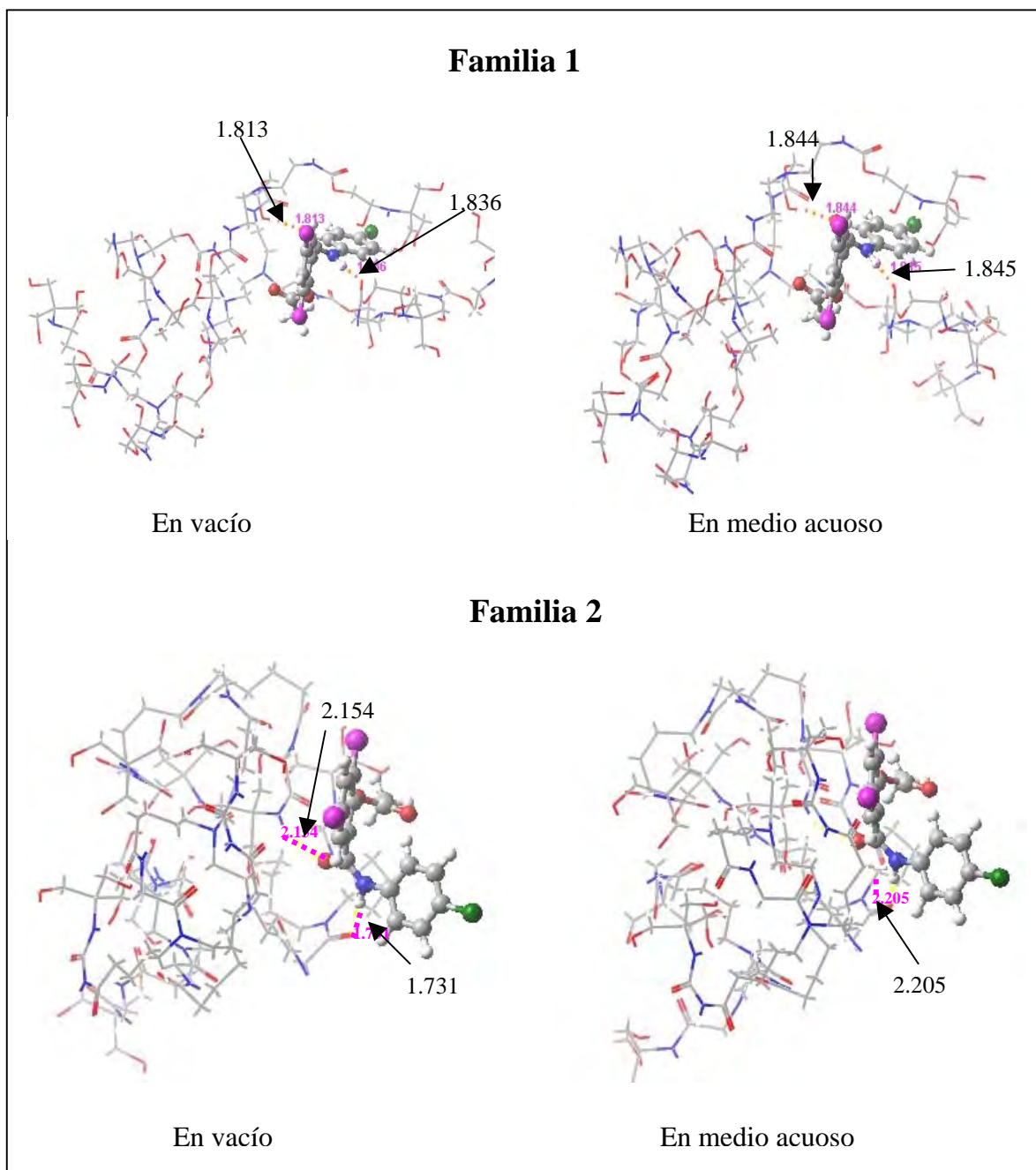


Figura 30. Efecto del disolvente en la conformación de los complejos.

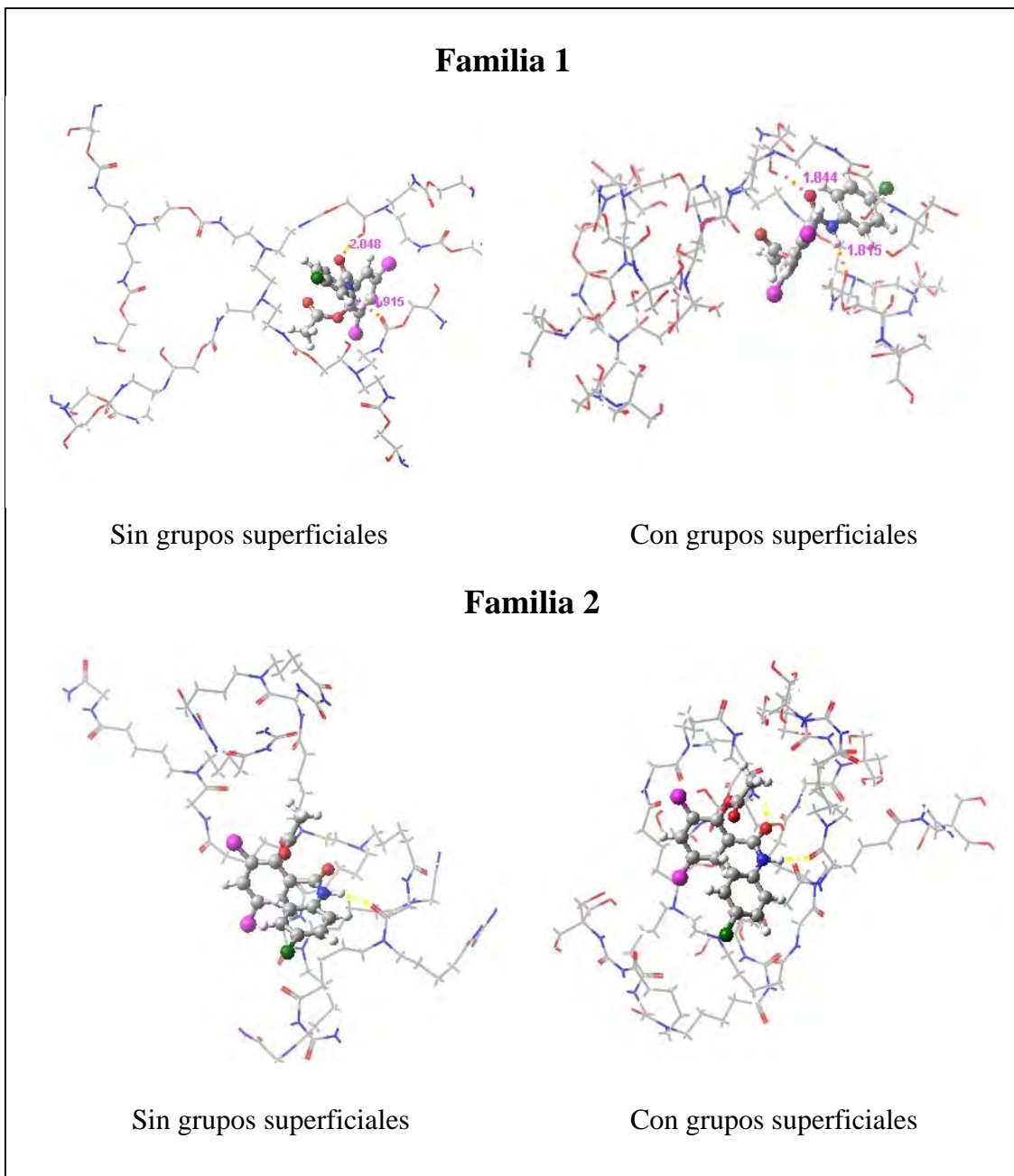


Figura 31. Efecto del grupo $(-\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3)$ como grupo superficial.

Retomando los resultados de los apartados anteriores, de energías de interacción en sistemas modelo y el análisis geométrico de Connolly, aunados a las geometrías de los complejos obtenidas del análisis conformacional con MC, puede decirse que en sistemas dendriméricos tiene mayor peso la complementariedad química que la geométrica, de tal forma que aun

cuando el dendrímero posea espacio para encapsular a los fármacos, si la afinidad química entre ambos no es suficientemente favorable no se podrá realizar el proceso de encapsulamiento. Además, debido a que los dendrímeros son sistemas muy flexibles hablar de complementariedad geométrica no es totalmente correcto, ya que la conformación del dendrímero puede verse seriamente modificada en función de factores tales como el medio o ante la presencia de posibles moléculas huésped.

Por otro lado, al observar las conformaciones de los dendrímeros con grupos superficiales una vez formado el complejo puede verse que, aun cuando con el algoritmo de Connolly se estimó que los dendrímeros de 2^a G tenían la capacidad de albergar sólo un fármaco, debido a la alta flexibilidad de los sistemas dendriméricos junto con la presencia de los grupos superficiales que promueven una geometría más globular la capacidad de encapsulamiento se incrementa.

Con la finalidad de corroborar la hipótesis anterior se caracterizaron, desde el punto de vista geométrico (Connolly), los dendrímeros de 2^a G de ambas familias. De acuerdo a dicho análisis efectivamente la capacidad de encapsulamiento para ambos dendrímeros se incrementa. Ambos, que sin grupos superficiales y en vacío, tienen la capacidad de encapsular sólo un fármaco, con los grupos superficiales y después de un análisis conformacional en medio acuoso tienen capacidad de encapsular en promedio 3 moléculas de fármacos.

Debido a que el volumen disponible para el encapsulamiento aumentó significativamente por la presencia de los grupos periféricos se decidió realizar un estudio exploratorio llevando a cabo un análisis conformacional, seguido de una minimización bajo el campo de fuerza OPLS2001, de los dendrímeros de ambas familias en presencia de 1, 2 y 3 fármacos, con la finalidad de generar una idea del grado de confiabilidad de las estimaciones de encapsulamiento mediante un análisis geométrico con el algoritmo de Connolly. Las geometrías obtenidas para los diferentes complejos estudiados (figura 32) sugieren, por un lado, que las estimaciones de capacidad de encapsulamiento mediante el algoritmo de Connolly sólo pueden ser tomadas como el límite máximo de encapsulamiento, y por otro, que para complejos huésped-anfitrión unidos mediante fuerzas intermoleculares el número de fármacos a encapsular está determinado principalmente por el balance de interacciones

atractivas y repulsivas entre las moléculas participantes. Ya que como se observa en la figura 33 la flexibilidad de los dendrímeros les confiere la facilidad de cambiar su arreglo conformacional en función de las moléculas huésped y por lo tanto las estimaciones realizadas mediante un algoritmo geométrico pierden validez.

En la figura 32 puede observarse lo siguiente. En el caso del dendrímero de la familia 1 puede verse que encapsula más eficientemente una sola molécula de fármaco e incluso puede “abrazar” a dos moléculas a la vez, pero una tercera molécula no favorece las interacciones atractivas y es alejada del complejo formado entre el dendrímero y sólo dos de las moléculas de fármaco. Mientras que para el dendrímero de la familia 2 la formación de los complejos es más eficiente con dos moléculas de fármaco, ya que en el caso de una sola molécula, ésta queda en la superficie y ante la presencia de tres, aunque interaccionan con el dendrímero no se encapsulan.

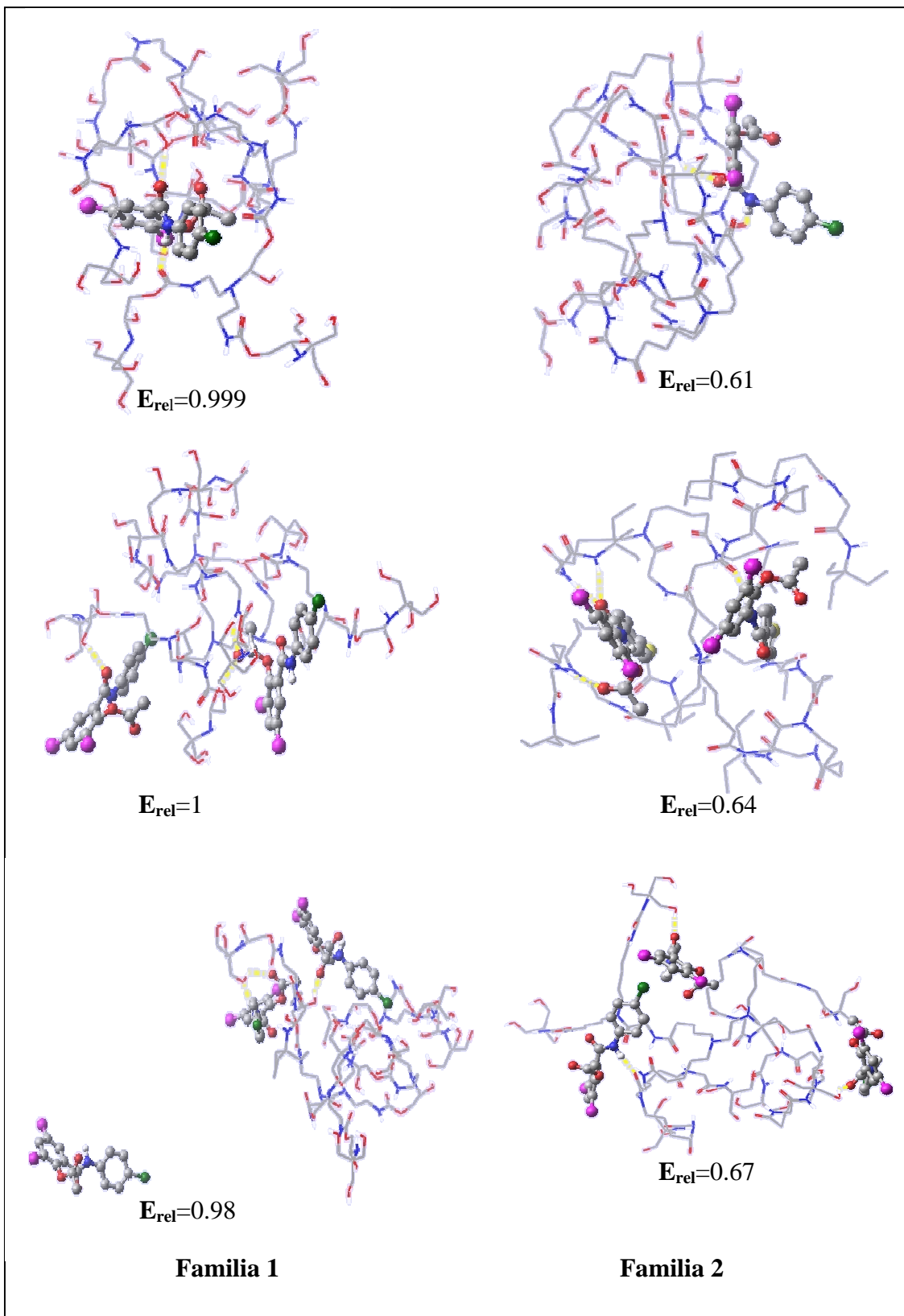


Figura 32. Cambios conformacionales de los dendrímeros con 1, 2 y 3 moléculas de fármaco.

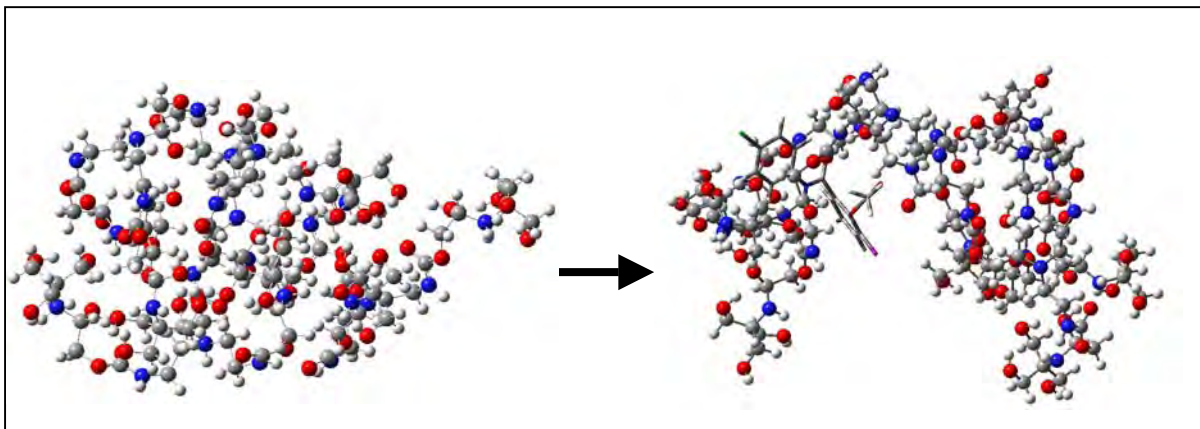


Figura 33. Cambios conformacionales debido al proceso de encapsulamiento, reflejo de la flexibilidad del patrón fractal.

4.4.1 ONIOM

Debido al alto costo computacional que implica un cálculo ONIOM para sistemas de decenas de átomos únicamente se realizó para el complejo formado entre el dendrímero de la familia I de 2^a G encapsulando una molécula de clioxanida. El esquema de extrapolación utilizado fue de dos capas, como se muestra en la figura 34. Dicho complejo fue preoptimizado con ONIOM (B3LYP/6-31G*-LanL2DZ:UFF) y posteriormente se realizó un cálculo puntual de energía con (BHandHLYP/6-31G*-LanL2DZ:UFF).

Los valores de las energías (E_1 , E_2 , E_3 y E_4) se muestran en la tabla 19, tanto para el complejo como para el dendrímero; el valor de la energía de la clioxanida obtenido con DFT fue de -1340.41105 kcal/mol. La energía de interacción para el sistema fue calculada empleando el método de variación, siendo ésta de **-2.285 kcal/mol**, cabe mencionar que este valor no debe tomarse en términos cuantitativos, ya que el complejo no alcanzó el mínimo energético debido a la excesiva lentitud en la convergencia y por lo tanto es sólo una aproximación subestimada.

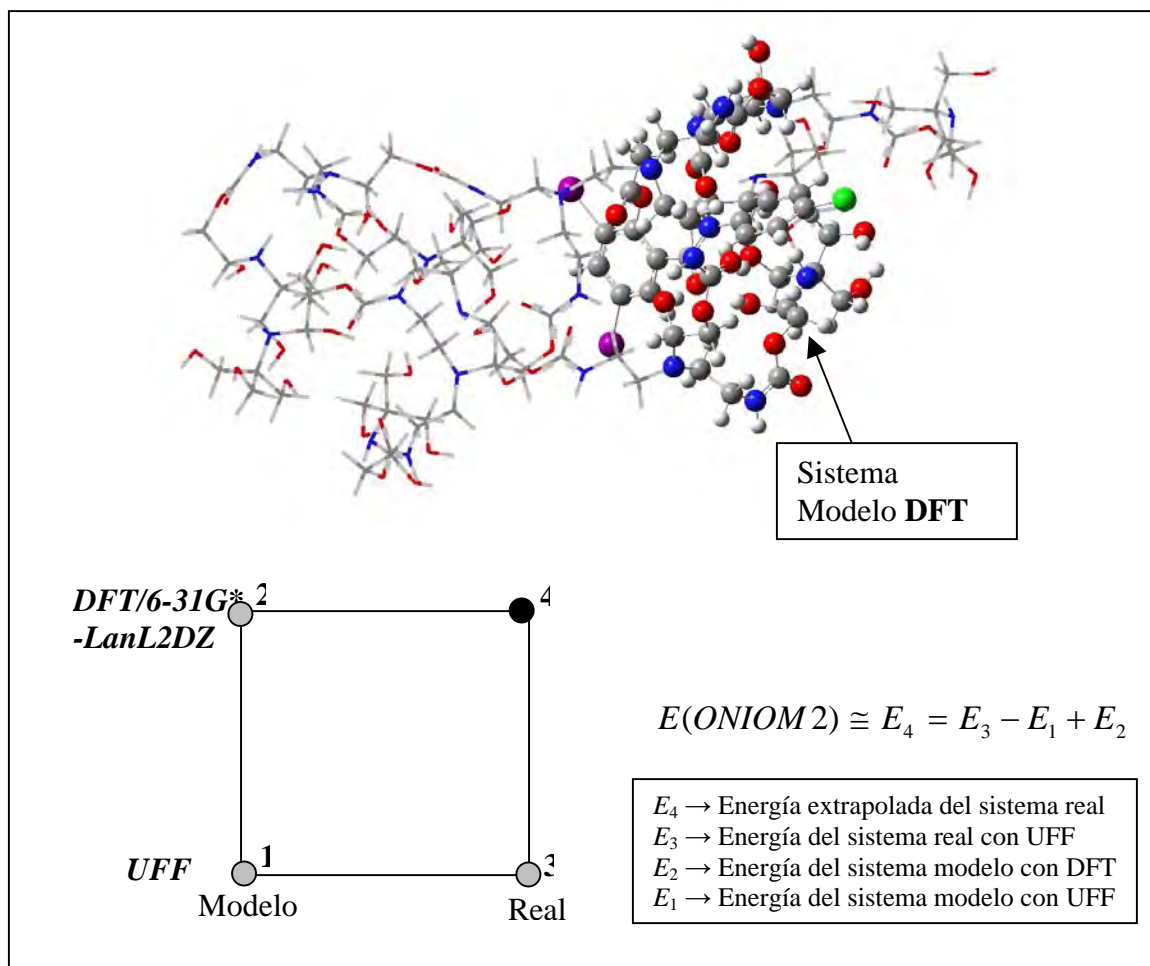


Figura 34. Esquema de extrapolación ONIOM

Tabla 19 . Energías para el complejo Dend-Clixanida (kcal/mol)		
	Complejo	Dendrímero
E_1	0.6324	0.3831
E_2	-3850.0572	-2509.6096
E_3	1.0728	0.8106
E_4	-3849.5968	-2509.1821

El complejo formado interacciona mediante dos puentes de hidrógeno con una distancia promedio de 1.94 Å, a diferencia de los sistemas modelo que interaccionan mediante tres puentes de hidrógeno con una distancia promedio de 1.837 Å. Tal diferencia, que es reflejo del efecto de los impedimentos estéricos, de la presencia de los grupos terminales y de las interacciones entre ramas dendriméricas, propicia que la energía de interacción disminuya.

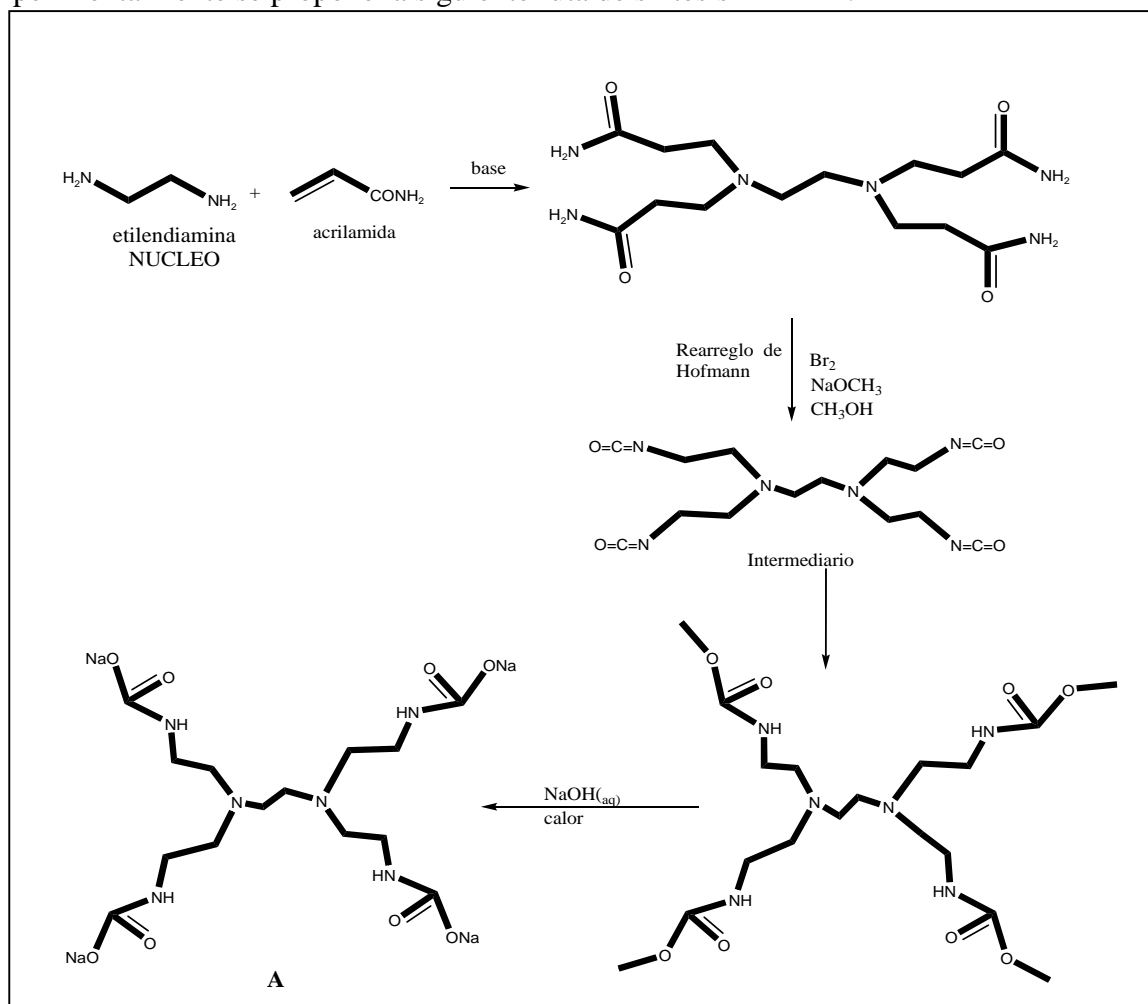
Aunque no se tienen los valores suficientes para decir que tan transferibles son los resultados de los cálculos en sistemas modelo a sistemas completos, de forma cualitativa se puede ver (por los complejos formados con los dendrímeros de las familias 1 y 2, estudiados mediante análisis conformacional (fig.32), y el complejo optimizado con ONIOM (fig. 34)) que los resultados de los sistemas modelo si son transferibles en el sentido en que se pueden formar dendrímeros capaces de encapsular fármacos favorablemente. Además, la superioridad que mostró el PF1 sobre el PF2 en términos de energía de interacción en los sistemas modelo se conserva en los complejos dendriméricos, lo cual puede verse al comparar las energías relativas de los complejos formados entre los dendrímeros de cada una de las familias y 1, 2 y 3 moléculas de fármaco.

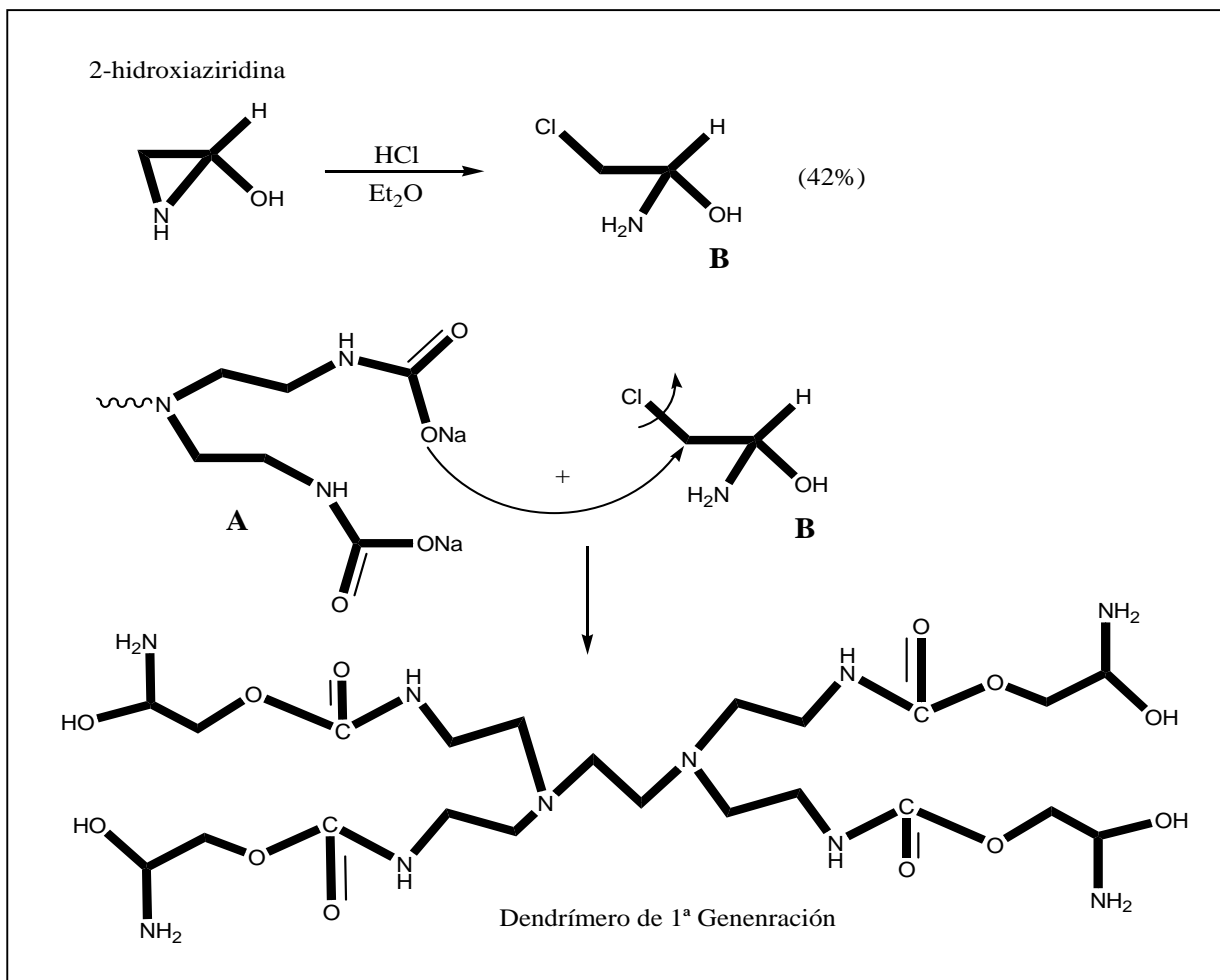
Por los resultados obtenidos es posible proponer a la familia dendrimérica 1 (formada a partir del PF1) como un agente encapsulante adecuado para la familia de los salicilanilidos.

4.5. RUTA DE SÍNTESIS PROPUESTA

El diseño de nuevos sistemas dendriméricos capaces de encapsular favorablemente a los fármacos de la familia de los salicilanilidos, mediante puentes de hidrógeno fuertes y débiles, es un reto en el que interfieren un gran número de variables prácticamente imposibles de manipular experimentalmente. Sin embargo, el uso de la química computacional permite estudiar una amplia gama de sistemas y tratar de predecir a grosso modo el efecto que algunas de las variables ejerce en la formación de complejos de inclusión.

Después del estudio realizado con diferentes patrones fractales se concluyó que el PF1 es el que dará lugar a los dendrímeros más aptos para fines de encapsulamiento de los salicilanilidos. Con la finalidad de tratar de que el trabajo realizado pueda ser validado experimentalmente se propone la siguiente ruta de síntesis^{63,64,65,66}.

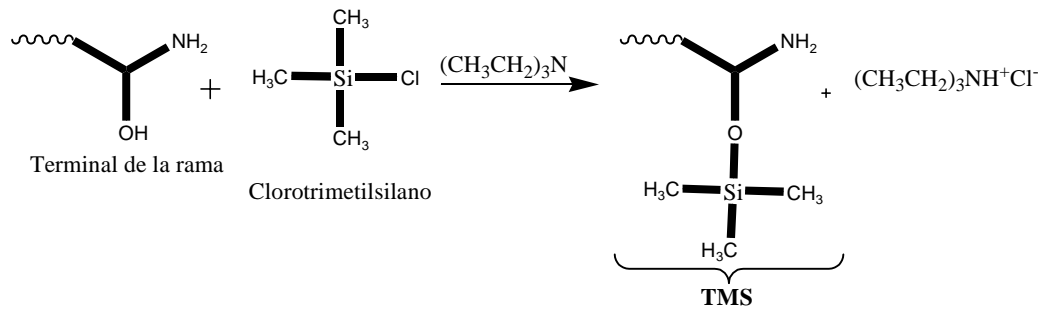




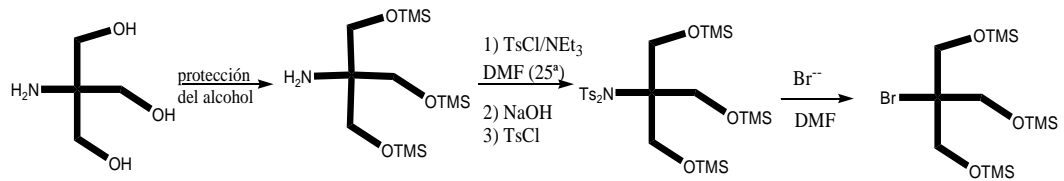
Para la formación del dendrímtero de 2ª generación se repiten las reacciones anteriores y finalmente se funcionaliza con los grupos terminales como se muestra a continuación.

Grupos terminales

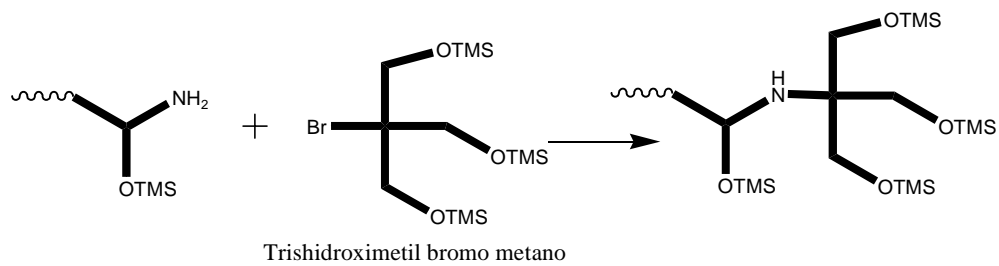
Protección del grupo Alcohol



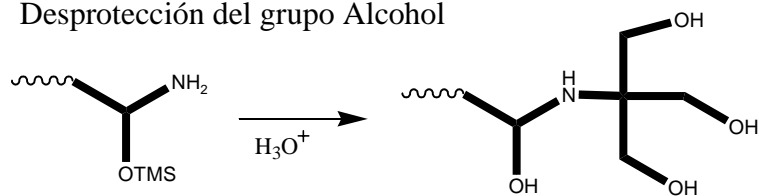
Obtención del grupo trishidroximetil bromo metano



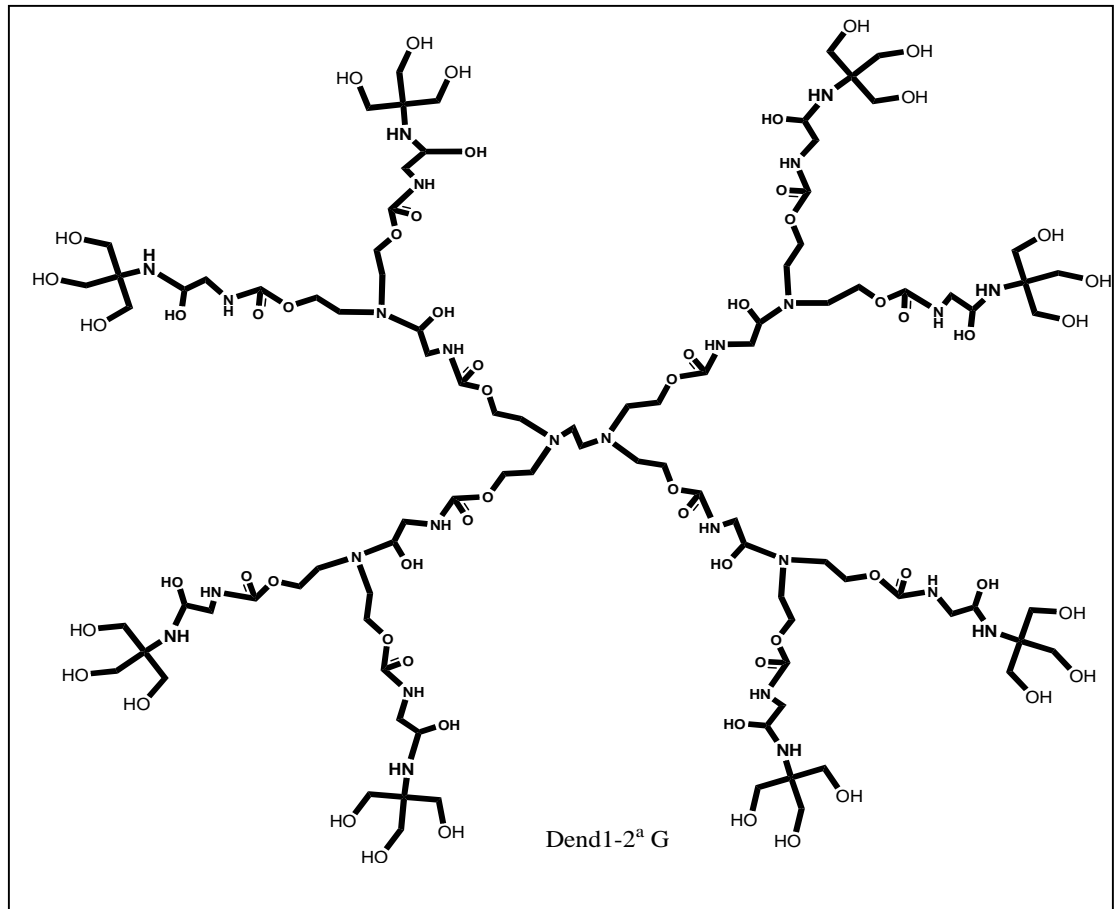
Adición del grupo terminal



Desprotección del grupo Alcohol



- Dendrímtero de 2ª G funcionalizado en la periferia.



Para los dendrímteros propuestos el nombre general, de acuerdo a la nomenclatura establecida para este tipo de moléculas⁶¹, sería:

Z-Cascada: Etilendiamina[4]:(1,4-diazo-2-hidroxi-6-oxa-5-oxooctilideno)^{G-1}(2,5-diazo-3-hidroxi-7-oxa-6-oxononilideno):metanol

Donde:

$$Z = Nc \prod_{i=1}^G Nb_i$$

Z: # grupos terminales

G: generación

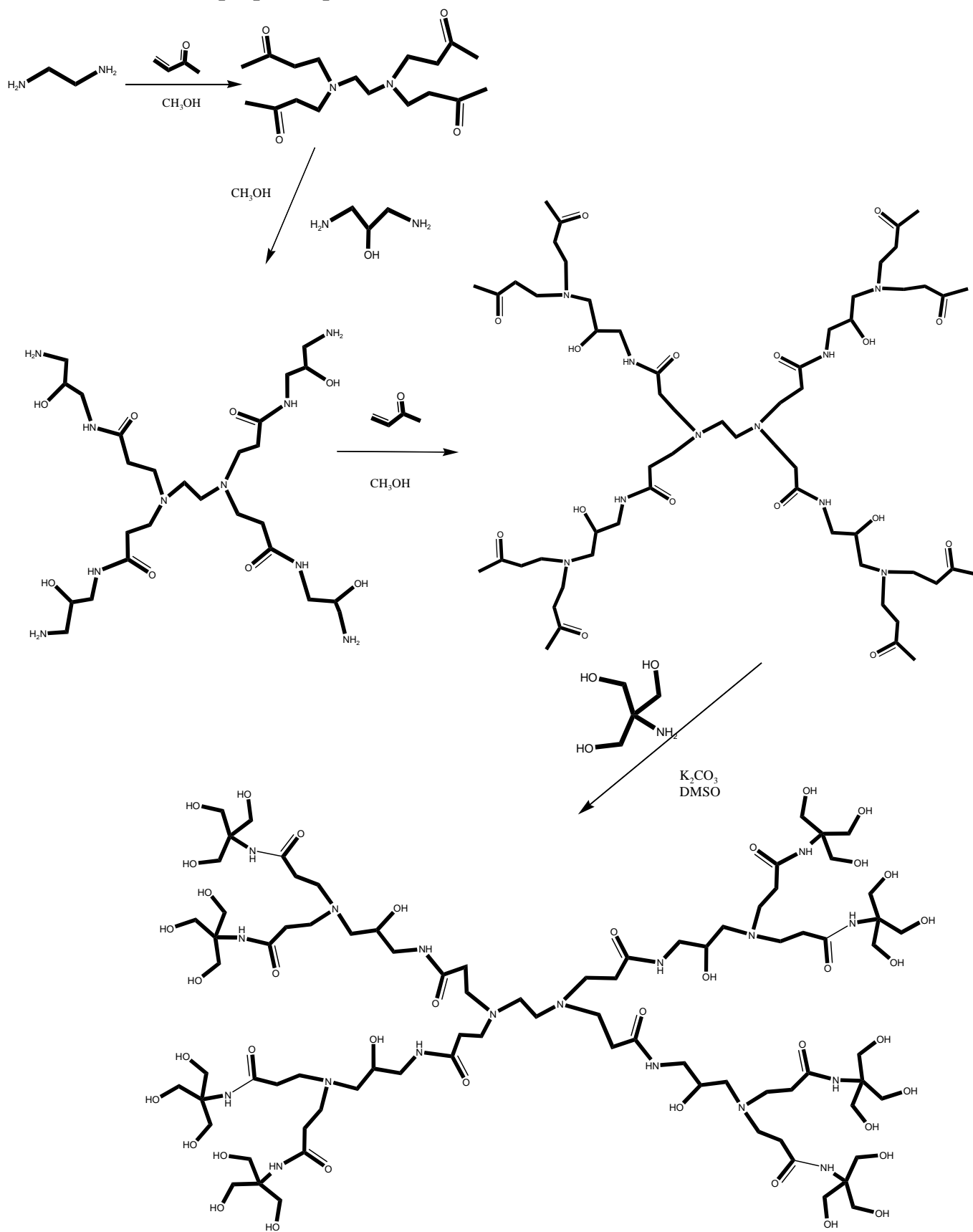
Nc: multiplicidad del núcleo

Nb: multiplicidad de la rama i-esima

Hasta hoy todos los esfuerzos realizados con la finalidad de mejorar la solubilidad de diferentes fármacos mediante el uso de dendrímeros se ha basado principalmente en el uso de derivados del PAMAM, variando el núcleo, la generación y/o los grupos terminales⁶². En la mayoría de los casos la formación del complejo es presumiblemente mediada por interacciones electrostáticas debido a la polarización de las aminas primarias y terciarias existentes en la estructura del dendrímero, por ello éste no es capaz de formar complejos con compuestos tales como el tioconazol, que no tiene la facilidad de polarizarse para formar los complejos⁵² y esta misma situación se presenta en los salicilanilidos, excepto en el caso de la niclosamida.

Debido a que la síntesis del PAMAM es ya bien conocida se plantea, aunque no es el objetivo del trabajo, la posible ruta de síntesis de un derivado del PAMAM que podría actuar como agente encapsulante para los salicilanilidos formando complejos mediados principalmente por puentes de hidrógeno.

Ruta de síntesis propuesta para un derivado del PAMAM



24-Cascada:etilendiamina[4]:(1,5-diazo-3-hidroxi-6-oxooctilideno)¹(2-azo-3-pentilideno):metanol

Ya que los resultados en los sistemas modelo si son transferibles a sistemas completos, en el sentido en que a mayor energía de interacción en el complejo mayor posibilidad de generar sistemas dendrímicos con capacidades encapsulantes, se realizo el estudio del complejo formado entre el patrón fractal del PAMAM modificado y la clioxanida para tener una idea de la estabilidad de dichos complejos. Los resultados se muestran en la tabla 20, misma en la que se encuentran las energías de interacción de los complejos formados entre el PF1-clioxanida, PF2-clioxanida y PAMAM-clioxanida. Además se encuentran tabuladas las distancias promedio y número de puentes de hidrógeno formados en cada caso.

Tabla 20 . Complejos de diferentes patrones fractales con la clioxanida				
Complejo	E_{int} (kcal/mol)	BSSE	E_{Corr} (kcal/mol)	δ(Å) [#PH]
PF1-Cliox	-36.426	-11.97	-24.459	1.837 [3]
PF2-Cliox	-9.517	-0.60	-8.914	1.877 [3]
PAMAM-Cliox	-13.130	-2.44	-10.755	1.928 [2]
PAMAM(mod)-Cliox	-23.807	-11.18	-12.628	1.776 [2]

De acuerdo a los resultados anteriores puede verse que la modificación del patrón fractal del PAMAM muestra cierta superioridad al complejar a la clioxanida comparado con el PF2 y el patrón fractal del PAMAM; más no así comprado con el PF1 cuya energía de interacción es prácticamente el doble. Por lo tanto, cabe esperar que los dendrímeros obtenidos a partir de este nuevo patrón fractal den lugar a un encapsulamiento más efectivo que los dendrímeros de la familia 2, pero no tan efectivo como los dendrímeros de la familia 1.

Finalmente, para una elección entre ambos patrones tendrá que hacerse un balance entre la estabilidad de los complejos a formar y la facilidad de síntesis.

CONCLUSIONES

Haciendo uso de diferentes herramientas computacionales fue posible proponer un conjunto de patrones fractales, incorporando diferentes grupos funcionales y variando su longitud, y evaluar su capacidad para interactuar con los fármacos de la familia de los salicilanilidos mediante puentes de hidrógeno. Lo anterior con la finalidad de incorporar al patrón fractal óptimo en sistemas dendriméricos capaces de formar complejos huésped-anfitrión que puedan realizar funciones de acarreamiento de fármacos en medios acuosos.

El estudio realizado en sistemas modelo pone de manifiesto que para el diseño de sistemas dendriméricos con fines de encapsulamiento se deben tomar en cuenta las siguientes consideraciones:

- Para moléculas huésped como las aquí estudiadas es aconsejable que el patrón dendrimérico posea flexibilidad, lo cual favorece la formación de puentes de hidrógeno, ello se logra introduciendo cadenas alifáticas.
- Es preferible que el patrón fractal este formado sólo por dos ramas, ya que la presencia de tres ramas favorece la autointeracción y evita la interacción con la molécula huésped, además la presencia de tres ramas propiciará que el volumen disponible para el encapsulamiento una vez formado el dendrímero sea menor, comparado con los de dos ramas; así mismo el encapsulamiento puede no llevarse a cabo debido a la congestión estérica.
- En términos de grupos funcionales los que interactúan de manera más eficiente con los fármacos de la familia de los salicilanilidos son el grupo carbamato, alcohol y amina.

Dentro de la Teoría de Funcionales de la Densidad los funcionales híbridos B3LYP y BHLYP, éste último en Jaguar y en G03, fueron usados para la determinar las energías de interacción en los complejos formados y aunque ambos funcionales describen

prácticamente la misma tendencia de estabilidad no es posible inclinarse sobre uno u otro debido a la falta de un sistema experimental bien caracterizado, en términos de energías de interacción o estructura, que permita afirmar la superioridad de alguno.

También para sistemas modelo se realizaron estudios de optimización de geometrías usando diferentes bases, con ello fue posible determinar que para sistemas de decenas de átomos la adición de funciones difusas o doblemente polarizadas no generan una mejora considerable en la descripción del sistema, siendo suficiente con una base 6-31G*.

Una vez seleccionado el patrón fractal adecuado se llevo a cabo la formación de dendrímeros. Del estudio geométrico, realizado mediante el algoritmo de Connolly, se puede concluir que en la formación de complejos huésped-anfitrión donde el anfitrión es un sistema altamente flexible, como es el caso de los dendrímeros propuestos, no tiene relevancia realizar un análisis geométrico a detalle del anfitrión aislado, ya que la conformación de éste tiene la facilidad de cambiar en función del medio en que se encuentre y/o ante la presencia de moléculas huésped y las estimaciones realizadas de las capacidades de encapsulamiento, que dependen fuertemente de la conformación, pierden validez al cambiar el conformero. En última instancia las estimaciones pueden considerarse únicamente como límite superior del número de fármacos que el dendrímero podría encapsular y debido al gran margen de error de dichas estimaciones, éstas pueden realizarse con una radio de prueba de 1.4Å, que corresponde al radio de una molécula de agua.

Aunque se requiere mayor trabajo en el diseño y selección de un anfitrión (dendrímero) para huéspedes específicos (salicilanilidos) que puedan formar complejos de inclusión capaces de realizar las funciones de acarreo y liberación de fármacos, con el estudio realizado, análisis conformacional y cálculos ONIOM, es factible proponer a los dendrímeros de la familia 1 (formados por un núcleo de etilendiamina, con el PF1 y al grupo $(-C(CH_2OH)_3)$ como grupos superficiales) como anfitriones adecuados para la familia de los salicilanilidos. Ante lo cual un punto importante será la síntesis del patrón fractal diseñado, seguida de la formación de la estructura dendrímica y los complejos, para corroborar los resultados obtenidos con las herramientas computacionales.

ABREVIATURAS

a_i : aceleración

A_m : Área molecular o superficie de Connolly

BC: puntos de ramificación por generación

B_{ij}, A_{ij} : constantes

$C_{\mu i}$: coeficientes de las funciones base

DFT: Teoría de Funcionales de la Densidad (Density Functional Theory)

e : carga del electrón

E : Energía

E_A^* : Energía del monómero A en la geometría del complejo y con la base completa

E_A^+ : Energía del monómero A en la geometría del complejo y con la base regular

E_A : Energía del monómero A

E_{AB} : energía del complejo formado entre A y B

$E_C(\rho(r))$: Energía de correlación

$E_X(\rho(r))$: Energía de intercambio

F_i : fuerza

F_{XC} : Función de corrección en la aproximación generalizada de gradiente

$F_{\mu\nu}$: Matriz de Fock, (equivalente al operador Hamiltoniano)

g : factor de escalamiento

G: Generación dendrímica

GGA: Aproximación de Gradiente Generalizado (Generalized Gradient Approximation)

GTO: Orbitales Tipo Gaussianos (Gaussian Type Orbitals)

H: Operador Hamiltoniano

HF: Hartree-Fock

k : constante de proporcionalidad

K: número de orbitales moleculares

LCAO: Combinación Lineal de Orbitales Atómicos (Linear Combination Atomic Orbitals)

LDA: Aproximación de Densidad Local (Local Density Approximation)

M: masa molecular

MCMM: MonteCarlo Mínimos Múltiples

MM: Mecánica Molecular

MP n : métodos Møller-Plesset de perturbación n

M_{RU}: masa molecular de la rama unitaria

M_t: masa molecular de la rama terminal

N: número de cadenas

N_b: multiplicidad del núcleo

N_c: multiplicidad del centro

ONIOM: **O**ur ow**N** n-layered **I**ntegrated molecular **O**rbital, molecular **M**echanics

PES: Superficie de Energía Potencial (Potential Energy Surface)

QC: Química Computacional

q_i, q_j : cargas de las partículas i y j

r : distancia de separación o radio

r_{Aa} : distancia entre el núcleo A y el electrón a

r_{ab} : distancia entre electrones

R_{AB} : distancia entre núcleos

r_0 : distancia de equilibrio

SAS: superficie Accesible al disolvente (Solvent Accessible Surface)

SCF: Campo autoconsistente (Self Consistent Field)

SEV: Volumen de disolvente excluido (Solvent Excluded Volume)

STO: Orbitales Tipo Slater (Slater Type Orbitals)

$S_{\mu\nu}$: Matriz de traslape

V: Volumen

VDW: Van der Waals

v_i : velocidad

w : ángulo de torsión

w_0 : ángulo de torsión de equilibrio

Z: número de grupos superficiales en función de la generación

Z_A : Carga del núcleo A

α y β : arreglo espacial del espín

α : ángulo de enlace

α_0 : ángulo de enlace de equilibrio

δ_{HA} : distancia entre átomos formadores de un puente de hidrógeno

ϵ_i : energía orbital

$\epsilon_{XC}(\rho(r))$: energía de intercambio y correlación para un electrón en un gas homogéneo de electrones

θ, Ψ, χ : ángulos característicos de un puente de hidrógeno

λ : parámetro adimensional de perturbación en las ecuaciones de Møller-Plesset

$\rho(r)$: Densidad electrónica en función de la posición

ϕ_μ : funciones base

Ψ : Función de onda del sistema

ψ : Orbitales moleculares atómicos

$\Psi_\lambda, E_\lambda, H_\lambda$: función de onda, energía y hamiltoniano perturbados

REFERENCIAS

- 1.- Newkome, et al., *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 1689-1746.
- 2.- Bosman, et al., *Chem. Rev.*, **1999**, 99, 1665-1688.
- 3.- Newkome; Moorefield; F.Vögtle; *Dendritic Molecules.*, Germany, **1996**.
- 4.- Oosterom, Reek, and M. van Leeuwen et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, 40, 1828-1849.
- 5.- F. Vögtle and M. Fischer., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1999**, 38, 884-905.
- 6.- Esfand and Tomalia, *DDT*, **2001**, 6, 427-436
- 7.- J. M. J. Fréchet and Donald. A. Tomalia, *Dendrimers and Other Dendritic Polymers.*, John Wiley & Sons, Ltd. USA **2001**.
- 8.- B. Klajnert and M. Bryszewska, *Acta Biochimica Polonica*, **2001**, 48, 199-208.
- 9.- J. M. J. Fréchet and S. Hecht., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2001**, 40, 74-91.
- 10.- Fréchet, *PNAS*, **2002**, 99, 4782-4787
- 11.- Witvrouw, et.al., *Molecular Pharmacology*, **2000**, 58, 1100-1108.
- 12.- Bourne, Stanberry, Kern, Holan Matthews y Bernstein, *AAC*, **2000**, 44, 2471-2474
- 13.- Janssen y Meijer, *JACS*, **1995**, 117, 4417-4418
- 14.- Janssen, Brabander y Meijer, *Science*, **1994**, 266, 1226-1229
- 15.- Morgan, et.al, *JACS*, **2003**, 125, 15485-15489
- 16.- Toamliia, Taylor y Goddard III, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1990**, 29, 138-175
- 17.- Watkins, Sabed-Sweet, Klimash, Turro y Tomalia, *Langmuir*, **1997**, 13, 3136-3141
- 18.- Tomalia, *Materials today*, **2005**, 34-46
- 19.- Liu y Fréchet, *PSTT*, **1999**, 2, 393-401
- 20.- Twaites, Alarcón y Alexander, *J. Mater. Chem.*, **2005**, 15, 441-455
- 21.- J. Hlasta, et. Al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1998**, 8, 1923-1928
- 22.- I. Fairweather and J. C. Buray, *The Veterinary Journal*, **1999**, 158, 81-112.
- 23.- El Refaie Kenawy and El Sayed Rizk, *Macromol. Biosci.*, **2004**, 4, 119.128.
- 24.- Luigi R Nassimbeni, *Acc. Chem. Res.*, **2003**, 36, 631-637.
- 25.- Alonso, et al, *JACS*., **2004**, 126, 3244-3249
- 26.- Morozov, Kortemme, Tsemekhman and Baker, *PNAS*, **2004**, 101, 6946-6951
- 27.- Tuma, Boese and Handy, *Phys. Chem. Chem. Phys(PCCP)*., **1999**, 1, 3939-3947.

- 28.- Zhao and Truhlar, J. Chem. Theory Comp(JCTC)., **2005**, 1, 415-432.
- 29.- Maron and Pruton; Fundamentos de Fisicoquímica., Limusa; México **1979**
- 30.- Müller-Dethlefs and Hobza, Chem Rev., **2000**, 100, 143-167.
- 31.- James B. Foresman and Aleen Frisch, Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods., 2ND Edition, Gaussian, Inc. **1996**.
- 32.- Hehre, Yu, Kluzinger and Lou, A Brief Guide to Molecular Mechanics and Quantum Chemical Calculations, Wavefuncion Inc., **1998**.
- 33.- Jaguar, 5.5 User manual, Schrödinger L.L.C., **2005**
- 34.- Torrens, Sánchez y Nebot-Gil, J. Comp. Chem., **2001**, 22, 477-487.
- 35.- Francisco Torrens, Int. J. Mol. Sci., **2001**, 2, 72-88.
- 36.- Michael L. Connolly, J. Am. Chem. Soc., **1985**, 107, 1118-1124.
- 37.- Michael L. Connolly, Science, **1983**, 221, 709-713.
- 38.- Frank Jensen, Introduction to Computational Chemistry., John Wiley & Sons, USA **1999**.
- 39.- Andrew R. Leach, Molecular Modeling. Principles and Applications., 2nd Edition., Prentice Hall, **2001**.
- 40.- Donald.A. McQuarrie, Physical Chemistry: A Molecular Approach, University Science Books, **1997**.
- 41.- Electronic Structure Methods www.york.ac.uk/res/ycls/theory/
- 42.- Titan. Tutorial and User's Guide, Schrödinger , Inc. **1999**.
- 43.- S. F. Boys, F. Bernardi, Mol. Phys., **1970**, 19, 553
- 44.- Hopkins and Tschumper, In. I J. Quantum. Chem., **2003**, 96, 294-302.
- 45.- Dapprich, Komáromi, Byun, Morokuma and Frisch, J. Molecular Structure (Theochem), **1999**, 461-461, 1-21.
- 46.- Stevansson, Humbel, Froese, Matsubara, Sieber and Morokuma, J. Phys. Chem., **1996**, 100, 19357-19363.
- 47.- Bakowies and Thiel, J. Phys. Chem., **1996**, 100, 10580-10594.
- 48.- Remko, Walsh and Graham Richards, J. Phys. Chem. A, **2001**, 105, 6926-6931.
- 49.- Murphy, Philipp and Friesner, J. Comp. Chem., **2000**, 21, 1442-1457.
- 50.- Metullio et al, Biomacromolecules, **2004**, 5, 1371-1378.
- 51.- Lance J. Twyman, Beezer, Esfand, Hardy and Mitchell, Tetrahedron Letters, **1999**, 40, 1743-1746

- 52.- Beezer, et al, Tetrahedron, **2003**, 59, 3873-3880
- 53.- a) P. Rzepecki, N. Geib, Katarina Cernovska, J. Org Chem, **2004**, 69, 5168-5178. b) E. N. Baker and R. E. Hubbard, Prog. Biophys. Molec. Biol., **1984**, 44, 97-197
- 54.- Becke, J. Chem. Phys., **1993**, 98, 1372
- 55.- Evangelista-Lara, Guadarrama, Patricia, Int. J. Quantum. Chem., **2005**, 103, 460-470
- 56.- Hay, P. J.; Wadt, W. R., J Chem Phys, **1985**, 82, 299
- 57.- Lynch, Fast, Harris y Truhlar, J. Phys. Chem. A., **2000**, 104, 411-415
- 58.- William L. Jorgensen, David S. Maxwell, Julian Tirado-Rives, J. Am. Chem. Soc. **1996**, 118, 11225-11236
- 59.- Gaussian 03. User's Rreference. (<http://www.gaussian.com>)
- 60.- J. P. Foster, F. Weinhold, J. Am. Chem. Soc. **1980**, 102, 7211-7218
- 61.- Newkome, baker, Young and traynham, J. Pol. Sci. Part A: Poly. Chem, **1993**, 31, 641-651
- 62.- Gupta, Agashe, Asthana, and N. K. Jain, Biomacromolecules, **2006**, 7, 649-658
- 63.-March, Organic Chemistry,
- 64.-Curtis, J. Knutson and R.J. Baumgarten, Tetrehedron Lett, **1981**, 22, 199-202
- 65.- Müller, Helv. Chim. Acta, **1980**, 63, 2168-2172
- 66.- Solomons, Organic Chemistry, 5^a Ed, John Wiley & Sons Inc, **1992**, 850