



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**ESTUDIO DE LA INTERACCIÓN ENTRE ALENTRONATO
Y CICLODEXTRINAS NATURALES MEDIANTE
SIMULACIONES DE DINÁMICA MOLECULAR.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N O D E N T I S T A

P R E S E N T A:

ÁNGEL JOSÉ HERNÁNDEZ

TUTOR: Dr. EDUARDO VILLARREAL RAMÍREZ



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.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, ustedes que han sido todo, mi pilar, mi motor, motivación e inspiración, por dejarme soñar con este momento y permitirme cumplirlo. **María Esther**, por jamás rendirte conmigo, aún en los momentos más oscuros y difíciles, lo has dado todo por nosotros, que no importa de dónde venimos, sino a donde queremos llegar, **Norberto**, eres mi ejemplo de constancia, me demostraste que la suerte se acaba, pero la recompensa por el trabajo duro y el esfuerzo no, siempre podemos ir por más, todos juntos, los amo.

A mis hermanas, **Diana y Jimena**, ustedes me han soportado desde su primer día, gracias, porque pese a todo, nunca me han abandonado, y jamás las abandonaré, este camino, es por y para ustedes también, que son mi inspiración por intentar ser mejor cada día, anhelo verlas cumplir cada meta que se propongan.

A mis amigos, **Gerardo, Alfredo, Rafael, Jaqueline, David**, por el apoyo, la confianza, la lealtad, por estar ahí en los buenos y malos momentos; **Metzli**, un millón de gracias por los consejos, la confianza, los regaños, tu amistad y cariño, siempre lo atesoraré; a **Fer, Cris, Jorge, Mariana, Karen, Pau, Sas**, por tantas experiencias, por hacer emocionante esta etapa de la vida y porque "lo que hagan en esta vida, no es legendario, a menos que tus amigos estén ahí".

A toda mi familia, mis abuelos, mis tíos, mis primos, de cada uno he aprendido algo, por los ánimos durante la carrera y durante la vida, **Juan, Pablo, Miguel, Cleo, Tere**, a mis abuelos **Chelo y Abraham, Fidelia y Tereso** por ser la piedra angular de todo esto. A **Naty**, aún eres pequeña, pero me has enseñado tanto, llegaste a iluminar esta familia, anhelo estar ahí para ver tus metas y sueños cumplirse.

A mi tutor, **Dr. Eduardo Villarreal Ramírez**, le agradezco profundamente por la confianza, su dedicación y paciencia, sin sus palabras y apoyo, no hubiese podido lograr llegar a este momento tan anhelado.

Al **Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos** del DEPeI abrimme las puertas y permitirme ser parte de este proyecto, sin su apoyo y los recursos brindados, nada de esto habría sido posible.

Al **Dr. Luis Fernando Lozano Aguirre Beltrán**, por la escritura de los códigos de lenguaje PELR para las simulaciones de dinámica molecular.

Se agradece el apoyo para la realización de este trabajo al proyecto PAPIIT/UNAM **IN230220**, *Caracterización estructural y energética de la asociación entre las ciclodextrinas y los bifosfonatos. Desarrollo de nuevos tratamientos farmacológicos para la osteoporosis y sus aplicaciones en la odontología*, y a la DGAPA por la beca **IN209123** *“Diseño de nanovehículos para el transporte de medicamentos con descanso farmacológico obligado. El caso de los bifosfonatos”* por el financiamiento para realizar el presente trabajo.

Se agradece al programa de supercómputo de la UNAM por el tiempo de cómputo bajo el proyecto **LANCAD-UNAM-DGTIC-324**.

A toda la **Facultad de Odontología** y a la **Universidad Nacional Autónoma de México**, mi alma máter, por brindarme educación de calidad y darme la oportunidad de crecimiento académico y personal.

ÍNDICE GENERAL

ABREVIATURAS	1
1.1 RESUMEN	2
1.2 INTRODUCCIÓN.....	3
1.3 ANTECEDENTES	6
1.3.1 Generalidades del tejido óseo	6
1.3.1.1 Osteoporosis	6
1.3.2 Bifosfonatos (BFs).....	7
1.3.2.1 Aplicaciones	10
1.3.2.2 Efectos adversos a largo plazo.	10
1.3.2.3 Osteonecrosis Maxilar por Bifosfonatos (OMB)	10
1.3.3 Ciclodextrinas naturales (CD)	12
1.3.3.1 Complejo de Inclusión	13
1.3.3.2 Aplicaciones	15
1.3.3.3 Propiedades de α -ciclodextrina	17
1.3.3.4 Propiedades de β -ciclodextrina	18
1.3.3.5 Propiedades de γ -ciclodextrina.....	19
1.3.3.6 Toxicología	20
1.3.4 Simulaciones por Dinámica Molecular (SDM)	21
1.3.4.1 Aplicaciones de las SDM	23
1.3.4.2 Creación de una SDM	24
1.3.4.3 GROMACS	24
1.3.4.4 PyMOL.....	25
2.1 Diseño experimental.....	26
2.1.1 Planteamiento del problema.....	26
2.1.2 Justificación.....	27
2.1.3 Hipótesis	28
2.1.4 Objetivo	28
2.1.4.1 Objetivo general.....	28
2.1.4.2 Objetivos específicos	28
3.1 Material y método	29
3.1.1 Tipo de estudio.....	29
3.1.2 Material.....	29
3.1.3 Método	29
4.1 Resultados y discusión	31

4.1.1 Análisis termodinámico	31
4.1.1.1 Complejo α -CD-ALN.....	31
4.1.1.2 Complejo β -CD-ALN.....	34
4.1.1.3 Complejo γ -CD-BF	37
5.1 Discusión	40
REFERENCIAS.....	45

ABREVIATURAS

<i>3D</i>	Tercera dimensión
<i>ATB</i>	Generador de Topología Automatizado
<i>BFs</i>	Bifosfonatos
<i>CDs</i>	Ciclodextrinas
<i>SDM</i>	Simulaciones de Dinámica Molecular
<i>GRO</i>	Mapa de bits de Objetos Gráficos
<i>GROMACS</i>	Máquina de Groningen para Simulación Química
<i>ns</i>	Nanosegundo
<i>OHB</i>	Oxigenación Hiperbárica
<i>OMB</i>	Osteonecrosis Maxilar/Mandibular por Bifosfonatos
<i>PDB</i>	Banco de Datos de Proteínas
<i>VI</i>	Vía Intravenosa
<i>VO</i>	Vía Oral
<i>VIM</i>	Vía Intramuscular
<i>nm</i>	Nanómetro
<i>ALN</i>	Alendronato
<i>ASBMR</i>	Sociedad Americana de Investigación Ósea y Mineral
<i>NVT</i>	Simulación del sistema basando en número constante, volumen y temperatura.
<i>NPT</i>	Simulación del sistema basando en número constante, presión, volumen y temperatura.

1.1 RESUMEN

Las ciclodextrinas naturales (α -CD/ β -CD/ γ -CD) son moléculas biocompatibles, no tóxicas, capaces de transportar fármacos en su interior e incrementar su biodisponibilidad. Estas características las vuelven moléculas de interés para transportar y liberar bifosfonatos. Los bifosfonatos son fármacos anti-resortivos capaces de fijarse al hueso e inhiben la función osteoclástica, con el objetivo de reducir la reabsorción ósea excesiva e incrementar la densidad mineral ósea. Sin embargo, presentan múltiples efectos adversos como úlceras, fracturas atípicas y osteonecrosis mandibular a largo plazo. Por ello, se debe discontinuar su uso después de 3 a 5 años. Ante esta problemática se propone el uso de las ciclodextrinas como transportadores para mejorar la biodisponibilidad, reducir efectos adversos, ampliar el tiempo de uso y mejorar los beneficios terapéuticos del fármaco. Se propone el uso de simulaciones por dinámica molecular (SDM) como estrategia para determinar la asociación estructural y energética más estable entre las ciclodextrinas con el alendronato (ALN) a través de experimentación *in silico*. Se utilizaron distintas herramientas computacionales para generar modelos atómicos de las ciclodextrinas y el ALN; y se generaron las topologías a estudiar mediante SMD. Las SDM de los tres sistemas (α -CD-ALN/ β -CD-ALN/ γ -CD-ALN) nos permitió comparar su proceso de acomplejamiento. Para cada sistema se estudió la distancia entre las moléculas, formación de puentes de hidrógeno y se cuantificó la energía de interacción molecular. De estos estudios se concluyó que el sistema β -CD-ALN presenta una asociación estructural más estable y mejor energía de asociación, en comparación con los otros dos sistemas, para su posterior experimentación *in vitro*.

1.2 INTRODUCCIÓN

La osteoporosis es una enfermedad sistémica del tejido esquelético con la característica de la pérdida de masa ósea, el deterioro de la microestructura de los tejidos mineralizados y por consiguiente la fortaleza de estos tejidos se ve comprometida al incrementar el riesgo de fractura (1).

Esta patología es una de las enfermedades metabólicas más comunes que contribuyen a la morbilidad y mortalidad de las personas de la tercera edad (2).

Wang et al. (2022) menciona que la evidencia actual sugiere una correlación entre la osteoporosis y el desarrollo de la periodontitis. Se ha observado en pacientes con osteoporosis, la pérdida de la densidad mineral del hueso alveolar maxilar y mandibular e incluso un aumento en la pérdida de los tejidos periodontales (3).

Los bifosfonatos (BFs) son medicamentos frecuentemente prescritos para la osteoporosis, así como también para las enfermedades como: de Paget, mieloma múltiple, neoplasias asociadas al tejido óseo y otras patologías metabólicas ligadas a los tejidos mineralizados (5); y en los últimos 15 años su uso se ha incrementado en distintos trastornos esqueléticos (6).

Khanarian et al. (2014) a través de distintos estudios ha establecido que los BFs ofrecen un beneficio clínico sustancial en condiciones de un desequilibrio entre la formación del tejido óseo, mediado por las células osteoblásticas y se favorece la destrucción del tejido óseo o resorción ósea mediada por las células osteoclasticas (6, 8). El proceso mediante el cual se controla la formación y resorción del tejido óseo, en condiciones fisiológicas, es llamado remodelado óseo (8).

Los principales bifosfonatos usados en la práctica clínica son el alendronato, ibandronato, risendronato y el ácido zolendróico (10). Ellos constituyen la primera línea de agentes terapéuticos en enfermedades como la osteoporosis en mujeres, como ha sido bien documentado (11), tienen una alta eficacia en evitar fracturas óseas hasta en un 65% comparado con los grupos placebo. Sin embargo, los BFs no son retenidos en el hueso y presentan una baja biodisponibilidad y se estima que solo el 1% de la dosis administrada

oralmente tiene efecto sobre las funciones biológicas. Esto debido principalmente a que es excretado rápidamente por vía renal, su reducida absorción intestinal y que su absorción depende de un alto contenido de calcio en la dieta (9-11). Lo anterior se debe a su naturaleza química electronegativa, a ser fuertemente hidrofílico y a su baja permeabilidad en la membrana (16).

Los BFs presentan otros efectos adversos, desde malestares gastrointestinales moderados, lesiones en cavidad oral, úlceras esofágicas o esofagitis por fármacos. Además, pueden desarrollar problemas complejos como fibrilación atrial, osteonecrosis mandibular y fracturas atípicas asociadas a los tratamientos a largo término y las altas dosis efectivas de uso (5).

Debido a lo anterior, Mignot et. al (2017) (17) ha propuesto la discontinuación del tratamiento después de un periodo de tiempo no mayor de 5 años, para tratar de evitar los problemas relacionados al uso de los BFs. Sin embargo, es innegable que el uso de los BFs incrementa la densidad mineral ósea en pacientes con osteoporosis. Por ello, se han tratado de desarrollar métodos inteligentes para transportar a los BFs para obtener una liberación controlada, aumentar su biodisponibilidad, reducir los efectos colaterales, toxicidad, y reducir la dosis efectiva de uso para conseguir sus efectos benéficos (12, 18, 24).

Distintos transportadores han sido utilizados como liposomas, micelas o nanopartículas (12). Para cumplir todas las condiciones anteriores se propone el uso de oligosacáridos macrocíclicos, conocidos como ciclodextrinas [CDs] (28).

Las ciclodextrinas pertenecen a la familia de los oligosacáridos y contienen al menos 6 unidades D-glucopiranosas unidas por enlaces α (1-4) de glucósido (17). Las tres CDs más representativas son las α , β , y γ , constituidas de 6, 7 y 8 unidades de glucosa respectivamente (12, 27).

Las CDs son biocompatibles, no son tóxicas, tienen una gran habilidad para formar complejos, proceso que consiste en introducir y mantener elementos o partículas dentro de su estructura cónica, este proceso es efectivo en la liberación de medicamentos y mejora la solubilidad, estabilidad química y biodisponibilidad de ciertos compuestos (28).

Las CDs también son sustancias versátiles con propiedades de organización supramolecular con aplicaciones en distintas industrias como: alimenticia, cosmética, textil, agroquímica y farmacéutica (31, 32).

Recientemente se han utilizado las CDs en la ingeniería de tejidos, pues se ha demostrado que altas concentraciones de CDs y aplicándolas mediante la técnica de electrohilado se pueden formar nanofibras de CDs estables, así como también se han utilizado las CDs para desarrollar geles e hidrogeles (33).

La siguiente propuesta de investigación se basa en caracterizar la asociación estructural entre el alendronato de sodio con las CDs naturales como son la β -CD, la α -CD y la γ -CD.

Debido a que el mecanismo de inclusión de los BFs a la cavidad estructural de las CDs no sigue ningún patrón común dadas las diferentes contribuciones de las interacciones no covalentes y que se pueden presentar distintos perfiles energéticos, se propone investigar mediante simulaciones de dinámica molecular (SDM) las energías de interacción entre el alendronato con la β -CD, la α -CD y la γ -CD.

Se considera que al encontrar los perfiles energéticos adecuados para la formación de los complejos BFs-CDs se desarrollarán las condiciones para las síntesis eficientes de complejos, lo cual posiblemente incremente la biodisponibilidad de los BFs y disminuya sus efectos adversos.

1.3 ANTECEDENTES

1.3.1 Generalidades del tejido óseo

El cuerpo humano se compone de múltiples tejidos, con características particulares y funciones específicas. Los tejidos mineralizados están compuestos por una fase inorgánica y una fase orgánica, las cuales de manera conjunta otorgan propiedades mecánicas específicas de dureza y resistencia. La fase inorgánica del tejido óseo y los órganos dentarios están compuestos principalmente por cristales de hidroxiapatita, mientras la fase orgánica está compuesta principalmente de fibras de colágena y otras proteínas, otorgando un nivel de resistencia comparable al del hierro fundido (1).

Los tejidos mineralizados cumplen múltiples funciones como; protección, soporte, movimiento, carga, masticación, regulación de iones de calcio o fosfatos y reservorio de las células hematopoyéticas (2, 3).

Las células óseas más abundantes son los osteoblastos, osteocitos y osteoclastos. Estas células se encargan de la regulación del remodelado, es la degradación del hueso viejo siendo reemplazado por hueso nuevo. Este proceso es conocido como remodelación ósea, es un estado de reestructuración permanente del tejido óseo afectado por factores ambientales, mecánicos, genéticos y cronológicos; y determina la densidad ósea de los pacientes (3).

1.3.1.1 Osteoporosis

La homeostasis es el conjunto de fenómenos de autorregulación, que conducen al mantenimiento de la constancia en la composición y propiedades del medio interno de un organismo. Cuando se pierde la homeostasis, surgen las enfermedades crónico-degenerativas, que son padecimientos de larga duración con progresión lenta (4). Una de las principales afecciones del sistema óseo es la osteoporosis, enfermedad esquelética, crónica y progresiva, caracterizada por el deterioro y pérdida de la estructura del tejido óseo, disminuyendo la densidad ósea, generando un estado de fragilidad y un riesgo de fracturas (5, 6).

Los factores coadyuvantes de la enfermedad son el envejecimiento, antecedentes hereditarios, fracturas previas, bajos consumos de calcio o de vitamina D, tabaquismo, bajo peso o menopausia, son predisponentes importantes ante esta enfermedad, además de comorbilidades como diabetes

mellitus, depresión y enfermedad cardiovascular o cerebrovascular (7). La osteoporosis es considerada una enfermedad silenciosa, sin manifestación clínica, al menos hasta que se ha perdido más del 30% de la masa ósea (6).

Se considera un problema de salud pública, se estima que en México 1 de cada 3 mujeres y 1 de cada 5 hombres mayores de 50 años, presenta osteoporosis y riesgos de fracturas de columna lumbar o cadera (4, 6). Esto genera efectos negativos a largo plazo, deteriorando la calidad de vida del paciente, disminuyendo la independencia del paciente y aumentando la mortalidad (7).

1.3.2 Bifosfonatos (BFs)

Los bifosfonatos, son fármacos compuestos, análogos del pirofosfato, resistentes a la hidrólisis, con una estructura P-O-P que es modificada por P-C-P, esto para permitir que las 2 valencias libres del átomo C puedan unirse a los radicales R1, que presenta una molécula de -OH que incrementa la unión del fármaco a la hidroxiapatita y una cadena R2 -H₂N que se encarga de determinar la potencia del fármaco. [Figura 1] (8).

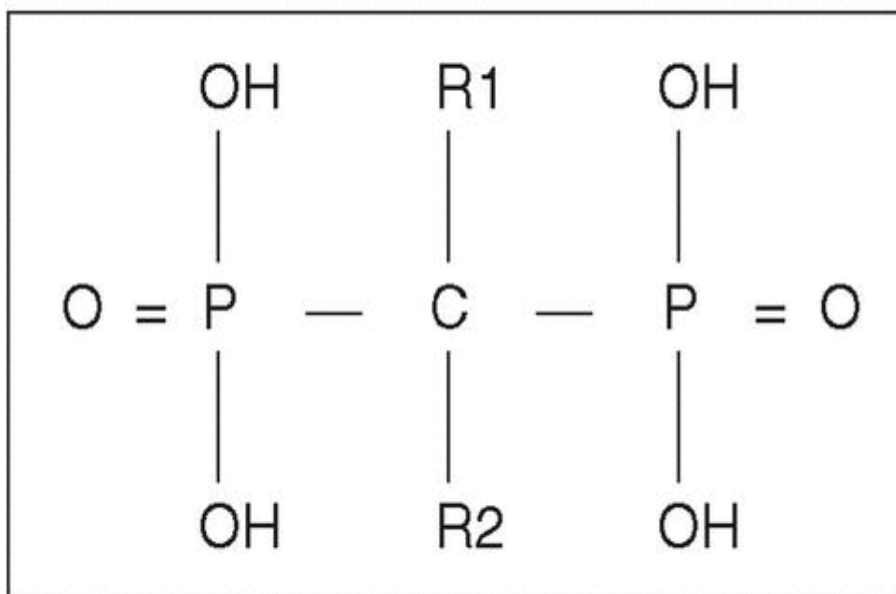


Figura 1. Estructura química de los bifosfonatos. La estructura muestra un arreglo central P-C-P con uniones a los grupos o cadenas radicales R1 y R2.

La estructura P-C-P tiene una alta afinidad por la hidroxiapatita, convirtiendo a los bifosfonatos en moléculas altamente selectiva en su captación y retención a nivel esquelético (9).

El R1 junto con los átomos P forman un “tridente” que permite la unión de los bifosfonatos a los cristales de hidroxiapatita, mientras el R2 se encarga de determinar la potencia farmacológica [Figura 2] (8).

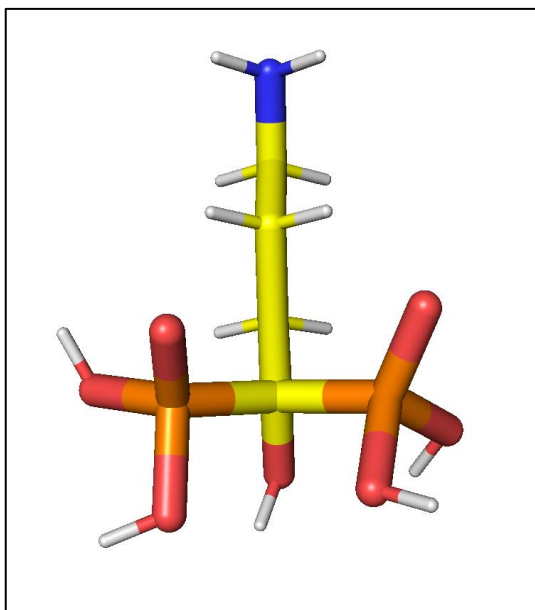


Figura 2 Representación 3D de alendronato. Muestra las moléculas P en color naranja, el O en color rojo, H en color blanco, C en color amarillo, N en color azul.

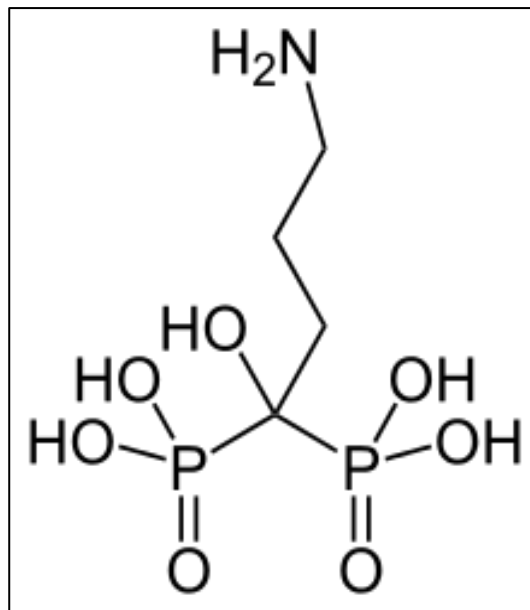


Figura 3 Representación 2D del alendronato. La cadena R1 es manifestada por el -HO mientras la cadena R2 presenta una cadena -H₂N.

Las distintas formulaciones en las cadenas R1 y R2 de la estructura principal generan diferentes características para cada molécula, siendo la cadena R1 determinante para la potencia en la prevención del crecimiento y disolución de cristales de hidroxiapatita, mientras la cadena R2 es capaz de determinar la potencia de resorción ósea que poseerá el BF [Figura 3] (9).

Los BFs son potentes inhibidores de la actividad osteoclástica, que se unen a los minerales del hueso como la hidroxiapatita, especialmente en zonas de resorción ósea, concentrándose y acumulándose con el tiempo, pudiendo mantenerse por años en el organismo (8, 10).

Al iniciar el proceso de resorción ósea, los osteoclastos absorben la molécula y se deposita en la mitocondria, donde es inhibida su función celular y se induce el proceso de apoptosis, generando un efecto anti-resortivos (8, 11).

Además, presenta efectos antitumorales, induciendo la apoptosis de células cancerígenas e inhibiendo la adhesión de células tumorales a la matriz extracelular, así como propiedades anti-angiogénicas (11).

Estas características permiten clasificar a los BFs en dos categorías por su estructura química, el grupo 1 son BFs sin N (nitrógeno) en su secuencia, como el clodronato o el etidronato, con las características de ser metabolizados en el interior del osteoclasto, generando y acumulando metabolitos que se encargan de frenar la función osteoclástica y ocasionar apoptosis. Mientras el grupo 2 contiene BFs con N en su cadena R2, los cuales no son metabolizados e interfieren con vías metabólicas, inhibiendo la actividad osteoclástica y la resorción ósea (9).

Los BFs también pueden ser clasificados por su vía de administración, oral o intravenosa, con propiedades distintivas; medicamentos como el alendronato (Fosamax) se administra por VO bajo ciertas especificaciones; en ayuno, 30-60 minutos antes de cualquier alimento, ya que esto puede disminuir su absorción, la cual es de aproximadamente 0.7% a 2.5%, mientras que por VI, podemos encontrar pamidronato o clodronato, regularmente prescritos para pacientes oncológicos, ante padecimientos como hipercalcemias tumorales, se une entre un 60-70% a proteínas plasmáticas (8, 12). El 50% es eliminado por vía renal sin modificaciones, mientras el remanente se deposita el hueso, cumpliendo con las propiedades anti-resortivas (8, 9, 10, 12).

Uno de los BFs más administrados es el alendronato, siendo prescrito a 3.5 millones de pacientes en el mundo. La principal propiedad del alendronato es disminuir la función osteoclástica en zonas de alta actividad, inactivando los osteoclastos, además puede disminuir el ciclo de vida y la formación de células osteoclásticas (13).

1.3.2.1 Aplicaciones

Por sus propiedades, este medicamento es usado en el campo de algunas enfermedades metabólicas óseas, como tratamiento para trastornos esqueléticos como la osteoporosis, enfermedad de Paget, mieloma múltiple, carcinoma metastásico de hueso, hipercalcemia maligna y osteogénesis imperfecta en pacientes pediátricos (8, 9, 10, 12).

1.3.2.2 Efectos adversos a largo plazo.

Los BFs se presentan como la mejor opción clínica en la pérdida de la densidad ósea dentro de un periodo no mayor a 5 años, ya que a largo plazo los BFs presentan efectos no deseados en el paciente, como dolor abdominal, náuseas, regurgitación ácida, riesgo de esofagitis o úlceras gástricas, osteonecrosis maxilar o mandíbula, retardo en la formación de callos óseos, estado de hueso hipodinámico, con disminución de actividad mecánica o una posible condición de "hueso congelado", en la que la resorción ósea esté inhibida totalmente, haciendo imposible cualquier renovación del tejido óseo, acumulando de lesiones óseas por fatiga, conllevando a posibles fracturas; incluso se reportan casos de osteopetrosis en pacientes pediátricos tratados con BFs por osteogénesis imperfecta, con estructuras óseas más gruesas y densas de lo normal además de mayor fragilidad (8, 11, 12, 13).

1.3.2.3 Osteonecrosis Maxilar por Bifosfonatos (OMB)

En la odontología, la anamnesis y la exploración clínica permiten detectar posibles contraindicaciones sistémicas que descarten opciones terapéuticas por las condiciones de salud general en cada paciente, como es el caso de los pacientes que reciben tratamiento farmacológico con corticoesteroides sistémicos, inmunosupresores, quimioterápicos o bifosfonatos (10).

La Osteonecrosis Maxilar/Mandibular por Bifosfonatos (OMB), es una de las complicaciones orales más comunes en este tipo de pacientes a nivel odontológico. La Sociedad Americana de Investigación Ósea y Mineral (ASBMR) define la OMB como: "El área de hueso expuesta, persistente durante más de 2 meses, en un paciente tratado con bifosfonatos, en ausencia de radiación previa y/o metástasis en la mandíbula" (14). Esta exposición ósea necrótica puede ser espontánea por tratamientos farmacológicos prolongados o posterior a un

procedimiento dental invasivo, como suelen ser tratamientos periodontales, extracciones dentales o por lesiones ocasionadas por prótesis dentales mal ajustadas; es de inicio asintomático, con alto riesgo de infección, provocando dolor, dificultad al hablar o comer y presencia de halitosis (11,14).

Clínicamente se aprecia como ulceraciones persistentes de la mucosa oral con exposición de hueso, con presencia de olores fétidos por la presencia de tejido necrótico en el ambiente bucal, el hueso expuesto se puede apreciar de un color desde grisáceo hasta marrón; este tipo de lesiones suele tratarse con desbridamientos, antibioticoterapia o tratamientos con oxigenación hiperbárica (OHB), sin embargo, el pronóstico es reservado (10, 12).

La ASBMR estableció una clasificación de 4 estadios (Tabla 1) basado en las características clínicas, determinando el estadio 0 como inicial y el estadio 4 como el más avanzado o de mayores complicaciones (14).

Estadio	Características
0	No hay hueso expuesto Aparición de síntomas sin explicación aparente (dolor, inflamación). Cambios radiográficos (esclerosis)
1	Asintomático Exposición de hueso necrótico Sin evidencia clínica de infección
2	Exposición de hueso necrótico Dolor Signos de infección (Rubor, calor, inflamación)
3	Exposición de hueso necrótico Dolor Signos de infección (Rubor, calor, inflamación) Riesgo de fractura patológica Posible presencia de fístula o exudado purulento.

La prevalencia registrada es 60% de los casos reportados se manifiestan en mandíbula, un 30% en la maxila y el 10% restante se presenta en ambas arcadas óseas. Estos casos pueden presentarse en los primeros 4 meses de iniciado el tratamiento, aumentando la posibilidad de presentar OMB a lo largo de la terapia con BFs (11, 14).

1.3.3 Ciclodextrinas naturales (CD)

Las ciclodextrinas naturales (CDs), también conocidas como cicloamilosas o ciclomaltosas, son producto de la degradación enzimática del almidón, uno de los carbohidratos más consumidos, el cual podemos encontrar en algunos alimentos como arroz, maíz o papas (15, 16). Químicamente las CD son oligosacáridos cíclicos, resistentes a la degradación enzimática y la hidrólisis no enzimática, bastante flexibles. Son sustancias homogéneas y cristalinas [Figura 4] (15, 17).

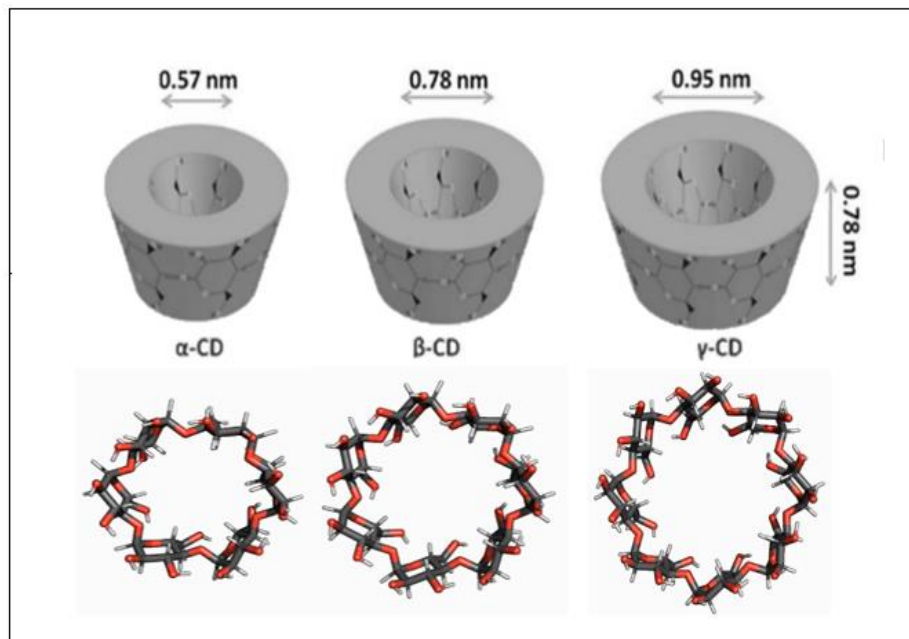


Figura 4. Tamaño de alfa ciclodextrina, beta ciclodextrina y gamma ciclodextrina.

Se consideran cápsulas cilíndricas vacías, con moléculas en conformación de silla, con forma de cono truncado, abierta por ambos lados, conformadas por unidades de D-glucopiranososa, unida por enlaces glicosídicos de tipo α -1,4 y α -1,6 (16, 18).

Las CDs están constituidas por unidades de glucopiranososa, que son una forma cíclica hexagonal de glucosa (19). Las CDs se pueden nombrar con base al número de unidades que la conforman; α -CD se compone de 6 unidades, β -CD contiene 7 unidades y γ -CD presenta 8 unidades de glucopiranososa, siendo estas 3 las principales CDs naturales (15- 17). Existen CDs más grandes, hasta de 13 unidades de forma natural, sin embargo, se ha demostrado que CDs con más de 8 unidades presentan propiedades pobres durante el proceso de acomplejamiento como cavidades más pequeñas, colapso interno, además de ser más costosas desde el punto de vista farmacéutico (15).

Estructuralmente, las CD tienen una forma de cono truncado que presenta dos caras, una externa, de carácter hidrófilo con grupos hidroxilo primarios en el lado más estrecho y grupos hidroxilo secundarios en el lado más ancho, la cara interna es apolar, permitiendo la inclusión de moléculas apolares o fragmentos moleculares en su interior, otorgando características fisicoquímicas que incrementen las propiedades de la molécula, tales como su solubilidad o biodisponibilidad (17, 18).

1.3.3.1 Complejo de Inclusión

Las CDs tienen la capacidad de formar mezclas o complejos de gran estabilidad química y física con mayor solubilidad en medios acuosos, que, por su morfología, la cavidad de la CD tiene la propiedad de poder ser llenada u ocupada con la molécula de otra sustancia, esto se denomina complejo de inclusión, que es un proceso entre dos o más moléculas en las que una molécula “huésped” se incluye total o parcialmente, que por fuerza física covalente a una molécula “hospedera”. Se ha identificado a las CDs como transportadores moleculares y pueden crear complejos de inclusión con una gran variedad molecular de huéspedes (16, 17).

Existen factores que están involucrados para determinar la correcta formación de un complejo de inclusión; las fuerzas de Van der Waals, los enlaces de hidrógeno, las interacciones hidrofóbicas y la constante de asociación como resultado ante este tipo de interacciones moleculares, sin embargo, el factor decisivo es que la molécula pueda ser apta para alojarse en la cavidad interna de la CD (20).

El encapsulamiento molecular de las CDs se puede dar al contener una molécula de sustrato dentro de su cavidad, formando un complejo 1:1, aunque en ciertos casos, estas moléculas pueden contener hasta dos moléculas del sustrato, formando un complejo 2:1 (20).

Existen dos tipos principales de Complejo de Inclusión que se pueden observar,

A: Corresponde a la formación de un complejo soluble

B: Corresponde a la formación de un complejo con solubilidad limitada en agua.

La cavidad central de las CDs, dada su composición de residuos de glucosa, tiene un comportamiento lipofílico en soluciones acuosas, permitiendo resguardar de manera reversible moléculas apolares o fragmentos moleculares, generando un complejo de inclusión (15).

El complejo de inclusión es el resultado de la reacción de equilibrio entre moléculas libres y supramoléculas de inclusión, se puede definir como la encapsulación molecular de un compuesto, con la posibilidad de otorgar nuevas propiedades a esta como mayor solubilidad, biodisponibilidad, estabilidad (16, 17).

La capacidad de acomplejamiento de las CD depende de dos factores principales:

- 1) El tamaño de la cavidad de la CD y de la molécula huésped, además de algunos grupos funcionales que puedan encontrarse en la periferia con el fin de que la molécula pueda ajustarse adecuadamente en la cavidad de la CD, ya que algunas moléculas de bajo peso molecular pueden insertarse varias en una misma cavidad, mientras que las de alto peso molecular solo podría insertarse una o incluso no introducirse.

2) Formación de interacciones no covalentes entre los componentes del sistema, para que el complejo puede generarse deben existir fuerzas energéticamente favorables que permita mantener la molécula dentro de la cavidad de la CD (21).

En términos generales, hay cuatro aspectos que ayudan a dirigir el equilibrio en la formación de complejos de inclusión.

a) El desplazamiento de las moléculas de agua desde la cavidad de la CD.

b) El aumento de puentes de hidrógeno formados respecto al agua desplazada hacia afuera de la cavidad de la CD.

c) Una reducción de las interacciones repulsivas entre la molécula hidrófoba y el entorno acuoso.

d) Un aumento de las interacciones hidrofóbicas entre la molécula huésped y la cavidad de la CD (22).

Además, el tipo de solvente en el que estarán inmersas las moléculas durante el acomplejamiento es otro factor, ya que la solubilidad de las CDs puede aumentar o disminuir la disponibilidad para el proceso de acomplejamiento. Los compuestos que se incluyen regularmente en las CDs tienen baja solubilidad en disolventes acuosos, lo cual implica que la formación del complejo pudiera llevarse a cabo lentamente o inclusive no formarse (21, 22).

1.3.3.2 Aplicaciones

Las CDs han sido utilizadas como agentes encapsulantes, con el fin de transportar principios activos para mejorar la solubilidad de moléculas generalmente insolubles, mejorando las propiedades de protección contra la oxidación, la luz visible o ultravioleta y al calor, control de la volatilidad y separaciones cromatográficas. Los CDs se han usado en la industria alimentaria en el enmascaramiento de sabores o en la eliminación de olores desagradables (20, 23).

Hay muchas aplicaciones nuevas de las CDs en diferentes campos como son el alimenticio, cosmético, en protección ambiental, biotecnología, biología celular, biosensores o farmacéutico (18, 35).

En medicina, sus usos son diversos, como vehículo para la formación y mejora de fármacos, las CDs como excipientes mejora las propiedades como

aumento de la biodisponibilidad, aumento de la solubilidad y velocidad de disolución en medios acuosos de algunos compuestos, hasta usos terapéuticos directos como son diálisis intraperitoneal, tratamiento de choque hipovolémico, o de diagnóstico (15, 16).

En la farmacología, el “diseño de medicamentos de alto rendimiento” se busca mediante la investigación de posibles portadores compatibles de los principios activos con la propiedad de enmascarar efectos no deseables del fármaco, buscando desarrollar biomateriales y vehículos de alta eficacia que se logren mezclar con el fármaco, buscando así menores dosificaciones con mayor eficacia y liberación selectiva en el sitio de acción de forma controlada (20).

1.3.3.3 Propiedades de α -ciclodextrina

La cavidad de la α -CD es más la pequeña de las tres CDs naturales, al contar con 6 unidades en su estructura [Figura 5]. El diámetro de la cavidad se muestra más estrecho, presenta mayor resistencia a la hidrolisis enzimática, siendo altamente útil en la industria alimenticia, presenta la propiedad para formar puentes de hidrógeno, sin embargo, estos son insuficientes al menos para otorgar un estado de alta rigidez a la molécula (20, 24).

La α -CD es relativamente irritante al administrarse por vía intramuscular (VIM), y por vía oral (VO). Tiene una absorción del 2-3% por VO en ratas, sin metabolismo en el tracto intestinal superior, fragmentación por la flora intestinal en el ciego y el colon. Estudios en ratas han mostrado que el fármaco se excreta hasta 60% como CO_2 , 26-33% se incorpora como metabolitos y 7-14% como metabolitos por heces y orina, excretados sin cambios por orina principalmente (23).

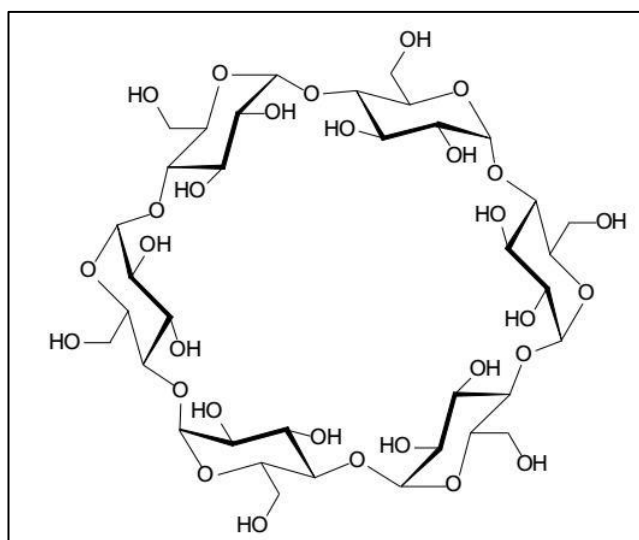


Figura 5 La α -CD presenta 6 unidades de glucopiranososa, mostrando un diámetro de cavidad estrecho.

1.3.3.4 Propiedades de β -ciclodextrina

La cavidad de la β -CD es más estrecha en comparación a la cavidad de la γ -CD, aunque es más resistente a la hidrólisis por saliva y amilasas pancreáticas, es térmicamente estable, además de ser estable en medios altamente alcalinos (menor a pH 14) así como en medios ácidos (mayor a pH 3) puede llegar a formar enlaces por puentes de hidrógeno, otorgando una mayor rigidez a la molécula (20, 24).

La cavidad de la β -CD se considera apta para formar complejos con moléculas aromáticas o heterocíclicas, por su capacidad interna, al presentar 7 unidades en su estructura, [Figura 6] el diámetro de la cavidad es de aproximadamente 44% mayor en comparación a la cavidad de α -CD (20).

Presenta menor irritabilidad en comparación con α -CD, por VIM, se une a moléculas de colesterol, tiene una absorción de 1-2% por el tracto gastrointestinal por VO, sin metabolismo en el tracto intestinal superior, metabolizado por bacterias en el ciego y el colon. Su administración en altas dosis puede tener efectos perjudiciales, la degradación bacteriana y fermentación en el colon pueden provocar malestares estomacales (23).

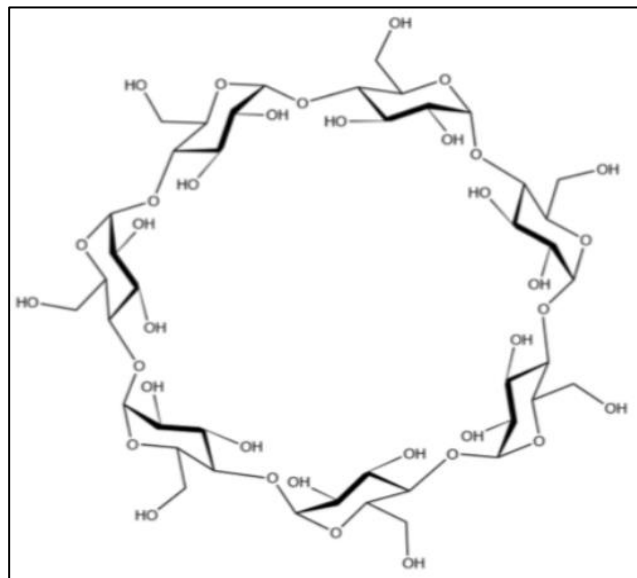


Figura 6 La B-CD es una estructura con 7 unidades de glucopiranosas, aumentando el tamaño de la cavidad.

1.3.3.5 Propiedades de γ -ciclodextrina

La cavidad de la γ -CD es la que se muestra más amplia, al contar con 8 unidades en su composición, cuenta con una estructura no coplanar, otorgando mayor flexibilidad a la molécula en comparación a otras CDs, siendo más soluble (24).

La irritación por VIM se considera nula, con rápida degradación y completa en el tracto intestinal superior por enzimas intestinales aún en dosis elevadas. Absorción aproximada del 0.1% por VO, metabolismo nulo después de la administración por VI, considerándose con menores propiedades tóxicas en comparación con α -CD y β -CD (23).

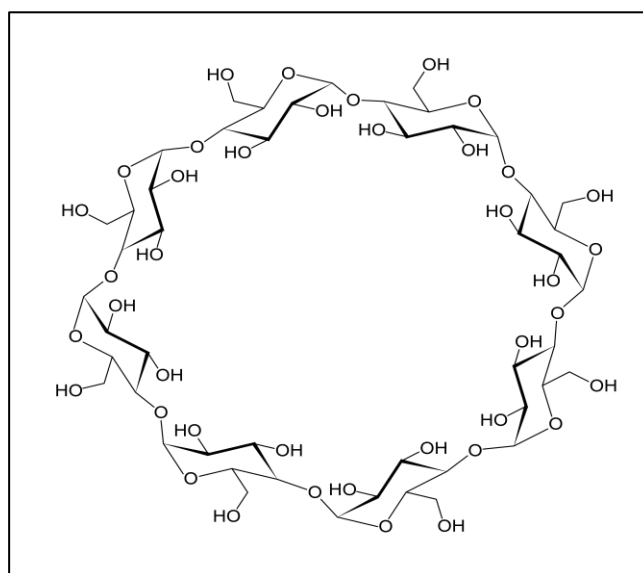


Figura 7 La γ -CD es una estructura con 8 unidades de glucopiranosas, siendo más flexible en comparación a las 2 CD anteriores.

Tabla 2. Características fisicoquímicas de las ciclodextrinas (23).				
Características		αCD	βCD	γCD
Unidades de glucopiranososa		6	7	8
Peso molecular (g/mol)		972	1135	1297
Solubilidad en agua (g/L)	20 °C	90	16.4	185
	25 °C	127	18.8	256
	35 °C	204	28.3	390
Diámetro exterior (Å)		14.6	15.4	17.5
Diámetro de la cavidad (Å)		4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3
Altura del cono (Å)		7.9	7.9	7.9
Volumen de la cavidad (Å ³)		174	262	427
ΔH° solución (kJ/mol)		32.1	34.7	32.2
ΔS° solución (J/kmol)		57.7	48.9	61.4
Agua (porcentaje en peso)		10.2	13.2-14.5	8.13-17.7
pKa (25 °C, por potenciómetro)		12.33	12.20	12.08

1.3.3.6 Toxicología

Las CD administradas por VO muestran un comportamiento similar al almidón (15, 17).

Mientras por VIM, la β -CD ha demostrado mayor actividad hemolítica en comparación con la α -CD o la γ -CD. La β -CD a altas concentraciones y debido a su baja solubilidad podría generar formación de cristales en los riñones (17).

Las CDs administradas por VO han demostrado baja toxicidad, estudios demuestran que un porcentaje del 2-4% se adsorbe en el intestino delgado, mientras el resto se degrada por los microorganismos de la flora del colon, degradando y absorbiendo como glucosa. Sin embargo, se han considerado no adecuadas para la administración parenteral (23).

1.3.4 Simulaciones por Dinámica Molecular (SDM)

En 1956 se celebró en Bruselas el congreso "The International Symposium on Transport Processes in Statistical Mechanics". Entre los trabajos presentados se destacó uno en particular llamado "Dinámica molecular por computadoras electrónicas", escrito por Livermore Berni Alder y Tom Wainwright. Este trabajo contenía nuevos conocimientos con lo que con el tiempo sentaría las bases para que hoy se conoce como Dinámica Molecular (DM) y por primera vez se demostró que se podían estudiar la evolución temporal de los sistemas a nivel atómico por computación (25).

Este método tiene como objetivo resolver las ecuaciones de movimiento de Newton para un conjunto de moléculas en un sistema virtual.

La simulación DM es un método para estudiar la evolución temporal de un conjunto de moléculas o átomos dentro de una caja virtual. Las simulaciones DM se utilizan para evaluar distintas propiedades de las moléculas en sistemas *in silico*. Con las simulaciones de dinámica molecular, es posible evaluar las geometrías moleculares y las energías del sistema a temperaturas finitas, investigar la naturaleza de los estados estructurales y de transición de energía en el espacio, obtener un paisaje atómico dinámico que por métodos experimentales no es posible obtener y muchas otras propiedades. El éxito de este método se debe a dos puntos principales: primero, los sistemas virtuales pueden probarse y compararse en sus propiedades con resultados experimentales. En segundo lugar, las simulaciones dan una visión general de los mecanismos o procesos en un sistema dado que no son accesibles para el experimento (25).

El principio básico detrás de las simulaciones de MD es la resolución numérica de las ecuaciones de movimiento de Newton para un sistema de átomos que interactúan. Las cuales se representan por la ecuación 1 o por el sistema de ecuaciones 2.

$$\frac{d^2 r_i}{dt^2} = \frac{F_i}{m_i} \quad (1)$$

$$\frac{dr_i}{dt} = v_i$$

$$\frac{dv_i}{dt} = \frac{F_i}{m_i}$$
(2)

Recordando que la fuerza puede ser expresada en función de la energía potencial como:

$$F_i = -\nabla U_i$$
(3)

La resolución del sistema de ecuaciones implica el uso de métodos de integración numérica, ecuación 3. El software de elección para realizar las simulaciones de MD es GROMACS (26).

Una expresión (conjunto de ecuaciones) típica de un campo de fuerza biomolecular se muestra a continuación en la ecuación 4 y 5 (26).

$$U(r) = U_{enlaces} + U_{torsión} + U_{diedro} + U_{Lennard-Jones} + U_{Coulomb}$$
(4)

$$U(r) = U_{enlace} + U_{interaccionesnoenlazantes}$$
(5)

Existen algunos métodos para simular sistemas, cada uno con ventajas y desventajas, con características y requisitos específicos; la caracterización estructural son técnicas aplicables a la determinación de una estructura molecular para el estudio de su composición interna y externa (27).

La caracterización estructural tiene por objetivo el estudio y el análisis de uno o más compuestos con el fin de encontrar los vínculos que presentan entre

las propiedades físicas y químicas a distintas escalas, desde macroscópicas hasta atómicas, esto permite su uso ante un enfoque tecnológico (28).

Una de las técnicas de caracterización estructural, son las SDM que destacan por considerarse altamente eficaz por la capacidad de reproducción más cercana a la experimentación en laboratorio, esto en relación a los requisitos computacionales requeridos (27).

La SDM es un método sistematizado que permite generar trayectorias atómicas de sistemas por computadora, para predecir y analizar el comportamiento de los sistemas de manera fisicoquímica por un lapso determinado de tiempo (29, 30). Las SDM son modelos computacionales deterministas, en los cuales se conocen las condiciones de energía y posiciones iniciales, las cuales son determinantes en la evolución completa del sistema y dan como resultado la trayectoria de cada átomo durante la dinámica (30).

1.3.4.1 Aplicaciones de las SDM

La aplicación que se tiene de la SDM es amplia para describir, estudiar y predecir patrones o comportamientos de los sistemas a nivel atómico.

Nos ayuda a comprender sistemas complejos y proporciona evaluaciones preliminares sobre el comportamiento molecular del sistema en un mejor tiempo en comparación a las metodologías experimentales.

La SDM se utiliza especialmente, en situaciones donde la experimentación a nivel atómico requiere de equipos sofisticados (31, 32).

Por ello, la SDM ha permitido la obtención de múltiples cálculos y análisis, como energía cinética, energía libre, entropía, solubilidad, viscosidad, presión, temperatura, fuerza de interacción entre ligandos y receptores, cambios conformacionales o estructurales de las moléculas bajo ciertas condiciones fisicoquímicas. Todo esto permite una considerable disminución en los costos experimentales, al requerir menor capital humano y reactivos (28, 32).

1.3.4.2 Creación de una SDM

El desarrollo de una SDM se da mediante una serie de pasos ordenados y sistematizados que inicia con la obtención de archivos de los componentes que serán analizados (fármacos, portadores, membranas, disolventes), las cuales se pueden obtener o construir a través de bancos de datos en línea [Protein Data Bank (PDB), The Cambridge Structural Database (CSD)] (32).

Cada archivo debe llevar una preparación específica de acuerdo a la dinámica a realizar, se crean recipientes virtuales para las muestras, definiendo las dimensiones y forma, donde se llevará a cabo el proceso de experimentación en una caja virtual.

Los archivos llevan las estructuras iniciales en forma de lista de los átomos y su localización espacial 3D; además contiene el solvente y los iones en un ambiente controlado real.

Las estructuras iniciales pueden generar repulsión entre los átomos y por ende inestabilidad en el proceso, por lo que se deben realizar procesos de minimización de energía que limiten la interacción molecular. Posteriormente, se realiza un equilibrio en el sistema mediante el uso de un termostato y un baróstato para mantener la temperatura y la presión en las condiciones de estudio. Al terminar de minimizar y equilibrar, se puede proceder a realizar la SDM propiamente y permitirá observar el comportamiento del sistema diseñado (27, 32, 37).

1.3.4.3 GROMACS

Las simulaciones de dinámica molecular han ampliado el alcance de la química por su capacidad de resolución espacial y temporal que no es posible disponer con otros experimentos. Las SDM requieren paquetes de software de uso específico como GROMACS, AMBER, NAMD, CHARMM, LAMMPS o Desmond (9, 13, 38).

GROMACS (Máquina Groningen para simulaciones químicas) es una paquetería de programas para realizar y analizar dinámicas moleculares. El código de GROMACS es un código abierto escrito en lenguaje de programación C++ y de uso libre (14, 20, 25).

Esta paquetería es una de las más utilizados para SDM debido a su velocidad de resolución de los cálculos. Esto es útil ante la limitación de recursos informáticos, buscando maximizar el rendimiento los equipos de cómputo en las simulaciones (39).

GROMACS puede establecer múltiples patrones como plegado de proteínas, unión de proteínas y transporte de membranas celulares, identificando el comportamiento de estas biomoléculas cuando están expuestas a cambios de temperatura, presión y otras condiciones que se encuentran en un entorno real, siendo útil para la investigación y optimización de fármacos (20).

1.3.4.4 PyMOL

Es un programa de visualización escrito en lenguaje de Python para generar gráficos moleculares e imágenes 3D de alta calidad de moléculas y sistemas, así como la generación de animaciones de alta calidad de los sistemas de estudio. La interfaz dispone al usuario diferentes representaciones visuales para las estructuras moleculares, a partir de archivos PDB (Protein Data Bank) o GRO (GROMACS). Además, permite cargar las trayectorias obtenidas de las SMD para su visualización y estudio mediante una secuencia de imágenes de sistema (33).

2.1 Diseño experimental

2.1.1 Planteamiento del problema

El alendronato es un fármaco anti-resortivos que aumenta la densidad mineral ósea en pacientes con osteoporosis. Sin embargo, presentan múltiples efectos adversos como úlceras, fracturas atípicas y osteonecrosis mandibular. Por ello, se debe discontinuar su uso después de 3 a 5 años (34).

El alendronato presenta una baja biodisponibilidad y se estima que solo el 1% de la dosis administrada por VO tiene efecto sobre las funciones biológicas, mientras el remanente es rápidamente excretado por vía renal. Por ello, la dosificación de ALN es alta y se presentan efectos adversos. Actualmente, existen grandes proyectos de investigación para desarrollar nuevos fármacos que permitan reemplazar a los BFs y evitar los efectos secundarios. Sin embargo, los BFs tiene un bajo costo y son de fácil acceso para la mayor parte de la población.

Las ciclodextrinas tienen la capacidad de formar complejos de inclusión, es decir actúan como un vehículo para incrementar la solubilidad y biodisponibilidad de algunas moléculas.

Por lo tanto, nosotros proponemos el uso de las CDs como transportadores del ALN con el fin último de ampliar los tiempos de uso de los BFs, reducir los efectos secundarios, y mejor biodisponibilidad del fármaco. En esta tesis desarrollaremos los experimentos de SDM para determinar a la CD con mejores propiedades para servir como transportador del ALN.

2.1.2 Justificación

Las herramientas computacionales actualmente, nos permiten crear nuevos métodos de experimentación y generar resultados previos al trabajo de laboratorio. Las simulaciones nos permiten obtener una perspectiva del sistema a investigar y nos ofrece también una mayor probabilidad de generar líneas de investigación exitosas.

Nuestro trabajo pretende aportar una nueva línea de investigación para el desarrollo de transportadores para los BFs y otorgar mayores beneficios clínicos a los pacientes.

El desarrollo de nuevos fármacos no es un proceso de bajo costo ni breve, por ello, las simulaciones nos permiten disminuir la cantidad de tiempo invertido, el capital humano, capital económico y reactivos de laboratorio, beneficiando en un principio a los laboratorios, al obtener una primera experimentación *in silico* que permita manejar escenarios experimentales y obtener algunas de las posibilidades más adecuadas para su posterior experimentación *in vitro* que en caso de ser exitosa, pueda ser un factor para desarrollar nuevos procesos de elaboración en bifosfonatos, beneficiando posteriormente al sector poblacional al que se administran este tipo de medicamentos, pudiendo disminuir los efectos adversos al ser ministrados, así como mejorar los procesos de farmacodinámica.

Por todo esto, una de las posibles soluciones, es el manejo e investigación de nuevos vehículos para los BFs, los cuales puedan aumentar la biodisponibilidad de estos medicamentos en el organismo, ayudando a aumentar la formación de tejido óseo en pacientes con afecciones óseas, a la vez que se evitan algunos de los efectos adversos que se presentan actualmente no estos medicamentos, mejorando la calidad de vida de los pecientes; también la posibilidad de encontrar una aplicación futura a este tipo de herramientas en áreas de especialización odontológica como la cirugía oral y maxilofacial, periodoncia, implantología, prótesis bucal y maxilofacial.

2.1.3 Hipótesis

El uso de las simulaciones de dinámica molecular nos ayudará a identificar las condiciones termodinámicas adecuadas para la formación de complejos estables de bifosfonatos con ciclodextrinas naturales y se podrá predecir cual es la ciclodextrina con mayor afinidad con el alendronato.

2.1.4 Objetivo

2.1.4.1 Objetivo general

Determinar la asociación estructural y energética más estable entre la α -CD, β -CD y la γ -CD y una molécula de alendronato a través de experimentación *in silico*.

2.1.4.2 Objetivos específicos

- 1.- Construir modelos atómicos de las ciclodextrinas y el alendronato.
- 2.- Configurar los sistemas a ser estudiados mediante simulación de Dinámica Molecular.
- 3.- Estabilizar las variables de estados de los sistemas.
- 4.- Determinar la asociación estructural entre las ciclodextrinas y el alendronato.
- 5.- Calcular las interacciones energéticas entre las ciclodextrinas y el alendronato.
- 6.- Proponer condiciones de disolución entre las ciclodextrinas y el alendronato para la formación de complejos experimentalmente.

3.1 Material y método

3.1.1 Tipo de estudio

Se desarrolló un estudio experimental, con un universo de estudio finito, en el que se realizaron 3 pruebas *in silico* por medio de SDM para determinar las interacciones energéticas que se presentan en cada sistema.

El tipo de muestreo fue sistemático, con 3 sistemas diseñados con una molécula de alendronato y una molécula de CD diferente en cada sistema (alfa, beta, gamma).

3.1.2 Material

Equipo de cómputo que se encuentre con un sistema operativo Linux-Ubuntu, paquete de datos GROMACS 5.2.19, programa de visualización molecular tridimensional Pymol, programa para graficar XMGRACE.

Bases de datos en línea [Protein Data Bank (PDB), The Cambridge Structural Database (CSD)], archivos de coordenadas tridimensionales (alendronato, alfa-CD, beta-CD, gamma-CD), modelo de agua SPC216.

3.1.3 Método

El trabajo se realizó en el Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos ubicado en el Departamento de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología. Se realizó la búsqueda de los archivos con coordenadas tridimensionales de los átomos de la α -CD, β -CD, γ -CD y del alendronato a través de una base de datos en línea (Protein Data Bank).

Se inició el modelado de los sistemas de estudio, a través de una terminal que permita ejecutar y leer comandos se ejecutó la manipulación y desarrollo de los distintos archivos.

Se conjuntó las coordenadas de los átomos de cada CD con ALN en un archivo .gro para su manipulación. Se desarrollaron tres sistemas, el sistema α -CD-ALN, el sistema β -CD-ALN y el sistema γ -CD-ALN.

Se utilizó el paquete de programas GROMACS versión 5.2.19 para realizar SDM y el campo de fuerza modificado por GROMOS54a7 obtenido del directorio de trabajo en GROMACS (opción 15).

El modelo de agua utilizado fue el SPC216, generando un archivo .gro nuevo para su manipulación en la interfaz de la terminal, se utilizaron condiciones periódicas en las cajas de simulación de una geometría cúbica con una dimensión de 2.5.

La caja de simulación se solvató con el modelo de agua elegido (SPC216), para poder ensamblar el sistema con una molécula de CD, una molécula de ALN y un solvente en cada modelo.

Se realizaron minimizaciones de energía para asegurar que el sistema tenga una estructura de inicio adecuada en relación con el solvente.

Se realizó el ensamblaje de conjunto NVT (Número constante de partículas, Volumen y Temperatura), un archivo para estabilizar la temperatura del sistema.

Posteriormente, se debe equilibrar la presión del sistema, por lo que se generó el ensamblaje de conjunto NPT (Número constante de partículas, Presión y Temperatura) para estabilizar la presión a la que se desarrolle el sistema, este es similar en parámetros al archivo utilizado para el equilibrio NVT.

Después de equilibrar la temperatura y presión del sistema, se realizó la SDM propiamente por un tiempo de 25 ns o al poder observar la primera interacción concreta de acomplejamiento entre ambas moléculas.

Los datos fueron analizados con las herramientas de GROMACS y se graficaron con el programa XMGRACE que permitiera obtener esquemas de los momentos de acercamiento y repulsión entre ambas moléculas así como los puentes de hidrógeno formados durante las dinámicas moleculares.

4.1 Resultados y discusión

4.1.1 Análisis termodinámico

4.1.1.1 Complejo α -CD-ALN

La α -CD es un oligosacárido cíclico conformado de seis unidades de glucosa. Las ciclodextrinas presentan una forma de cono truncado, presentando un extremo más ancho que otro, además cuenta con una superficie externa hidrofílica y una cavidad hidrofóbica, debido a las 6 unidades de glucosa, presenta una cavidad pequeña, que le permite acomplejar moléculas de bajo peso molecular (40).

Durante las simulaciones de dinámica molecular la α -CD y el alendronato presentaron un acomplejamiento inestable, mostrando acercamientos y alejamientos de manera aleatoria entre el alendronato y la α -CD, sin embargo, el alendronato no ingresa completamente en la cavidad de la α -CD (Figura 8).

En las figuras 8 y 9, se observa el momento en que se intentó completar el proceso de acomplejamiento entre la α -CD y el alendronato, donde la cadena de nitrógeno (bastón azul) se adentra en el cono, mientras los fosfatos se quedan en la parte externa.

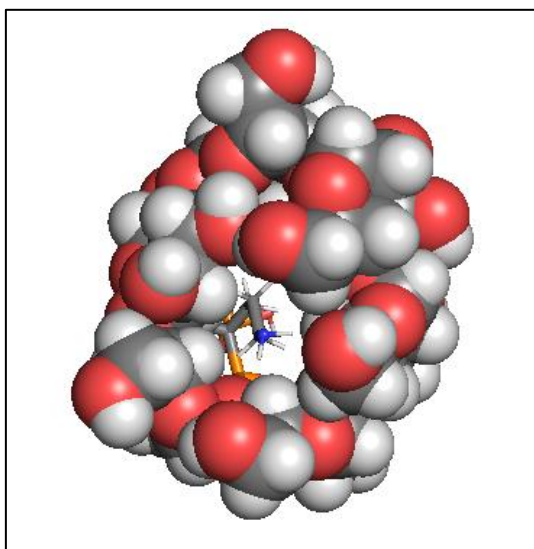


Figura 8 Proceso de inclusión del complejo α -CD-ALN, se aprecia la deformación de la α -CD impidiendo el acomplejamiento completo del ALN.

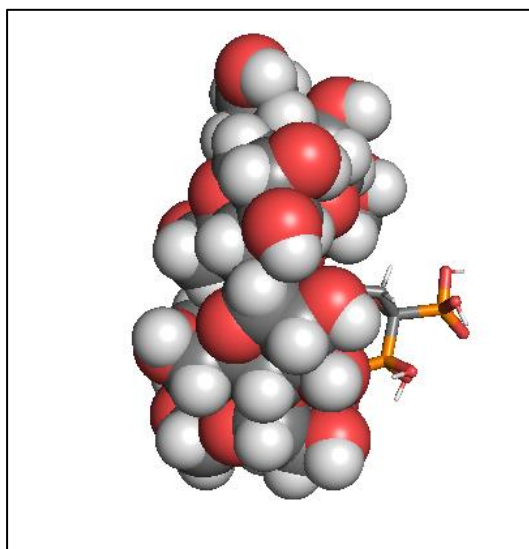


Figura 9 Vista lateral del proceso de inclusión del complejo α -CD-ALN, se aprecia que la parte nitrogenada del ALN ingresa a la cavidad, sin embargo, los fosfatos permanecen fuera.

Distancia entre Alendronato y A-CD

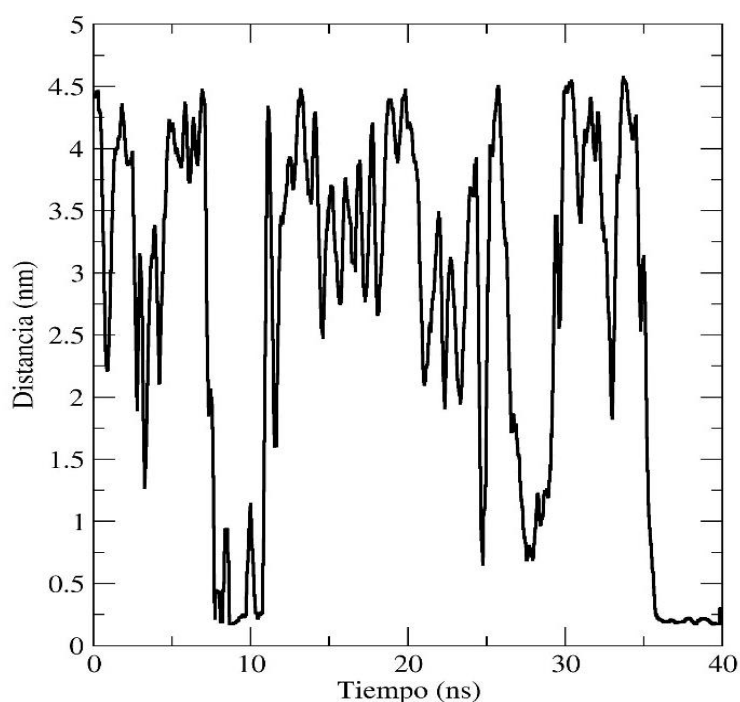


Figura 10 Distancia entre la α -CD y alendronato durante 40 ns.

En la figura 10 puede observarse como la α -CD se deforma durante la SDM y probablemente esa sea la causa de la cual el ALN no entra en la cavidad. El proceso de acomplejamiento se completó en un tiempo de 35 ns. (Figura 9).

Además, estos datos nos arrojan la distancia entre el centro de masa del alendronato con respecto a la α -CD durante la SDM en un medio acuoso durante un tiempo de 40 ns (Figura 10). La interacción inició a una distancia aproximada de 4.5 nm, acercándose en los primeros nanosegundos a una distancia de 2.25 nm, posteriormente, presentó un acercamiento hasta los 0.25 nm en los primeros 10 ns sin que el alendronato lograra introducirse por completo en la cavidad de la α -CD, mostrando nuevamente un alejamiento entre los compuestos, con acercamientos irregulares hasta los 35 ns, donde tuvo una mayor estabilidad. Sin embargo, no logró introducirse por completo en la cavidad, mostrando un comportamiento de acomplejamiento inestable por la morfología de la α -CD, impidiendo completar el proceso.

Estos datos también permitieron realizar la cuantificación de la energía de interacción de la α -CD y el alendronato mediante la descomposición de las energías de corto alcance, es decir, las energías no enlazantes del campo de fuerza, entre los compuestos. Los valores obtenidos no son idénticos a la energía libre del proceso del acomplejamiento, sin embargo, es una medición útil para evaluar la energía de interacción. La energía de interacción tuvo un valor de $-1.0979\text{E-}06$ (kJ/mol).

Puentes de Hidrogeno

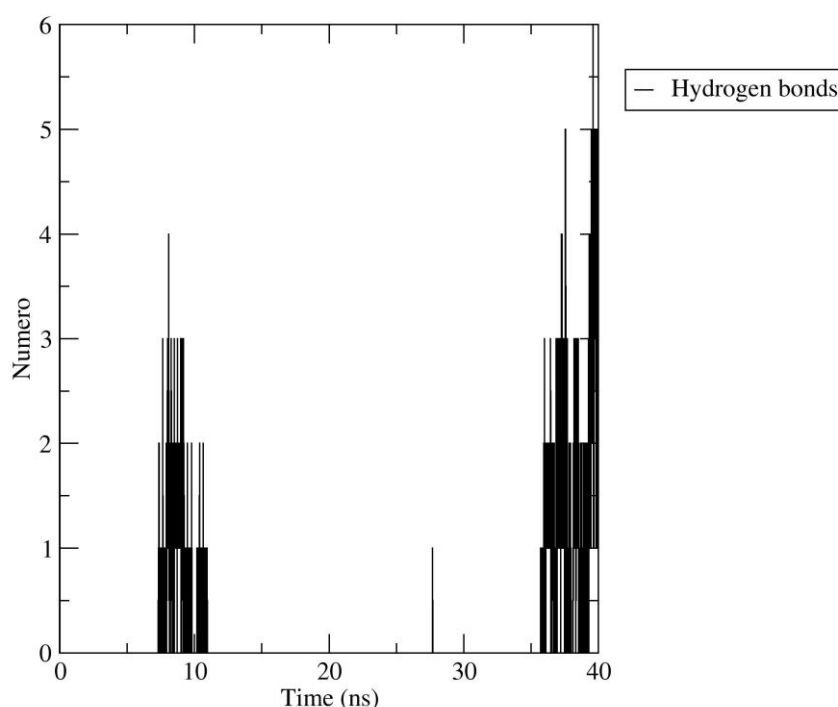


Figura 11 Se aprecia la formación de puentes de hidrógeno en el complejo Alendronato-Alfa CD durante un tiempo de 40 ns.

La figura 11 muestra la formación de hasta 3 puentes de hidrógeno, la duración de estos puentes es de pocos nanosegundos, los lapsos donde se forman una mayor cantidad de puentes de hidrógeno son al llegar a los 10 ns y en el final de la dinámica, donde tienen lugar los intervalos de mayor aproximación entre ambas moléculas durante su proceso de acomplejamiento.

4.1.1.2 Complejo β -CD-ALN

La β -CD es un oligosacárido cíclico conformado de siete unidades de glucosa. Su morfología en forma de cono truncado, presenta un extremo más ancho que otro, además cuenta con una superficie externa hidrofílica y una cavidad hidrofóbica, debido a las 7 unidades de glucosa, presenta un aumento en el tamaño de su cavidad interna en comparación a la α -CD, que le permite acomplejar moléculas mayor tamaño y peso, incluso algunos compuestos aromáticos (40).

La β -CD y el alendronato tuvieron un mecanismo de acomplejamiento similar al de la α -CD, donde la cadena con el nitrógeno se inserta en el cono de la β -CD. Sin embargo, se aprecia la cavidad de la CD sin deformar, permitiendo el adecuado ingreso del ALN, este proceso de acomplejamiento tiene lugar en los primeros 2 ns, de las SDM y se mantiene la interacción durante todo el tiempo restante de la SDM. Es decir, el acomplejamiento es rápido y estable durante toda la SDM, con un acercamiento progresivo e ingresando totalmente en la cavidad de la β -CD en poco tiempo (Figura 12 y 13).

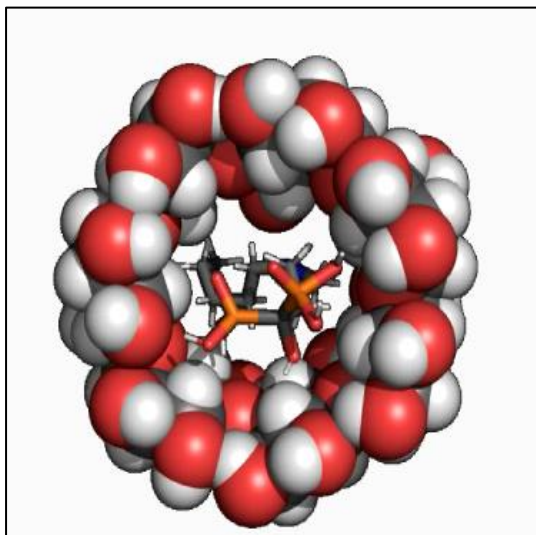


Figura 12 Proceso de inclusión del complejo β -CD-ALN, se aprecia la introducción completa de la molécula de ALN, mientras la β -CD mantiene su estructura sin deformación.

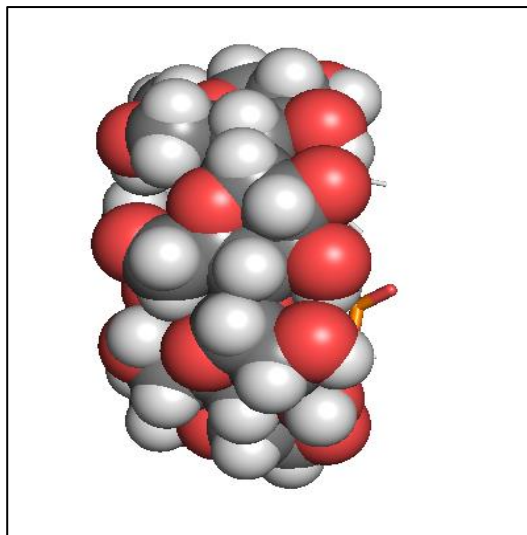


Figura 13 Vista lateral del proceso de inclusión del complejo β -CD-ALN, se aprecia el grupo fosfato ingresando por la zona más ancha de la CD.

La figura 14 muestra la distancia entre el centro de masa entre la β -CD y el ALN, además del comportamiento de la SDM entre ambas moléculas en un medio acuoso durante un lapso de 10 ns. Al inicio de la SDM la distancia entre los compuestos es de 2.25 nm, hasta el acomplejamiento durante los primeros 2 ns, y después del acomplejamiento se mantiene la interacción constante entre los compuestos, mostrando una mayor estabilidad durante la SDM y completar un tiempo de 10 ns.

Este sistema es el más estable, requiere menor tiempo para completar el proceso de acomplejamiento. La energía de interacción entre la β -CD y el alendronato tuvo un valor de -41.0165 (kJ/mol).

Distancia entre Alendronato y B-CD

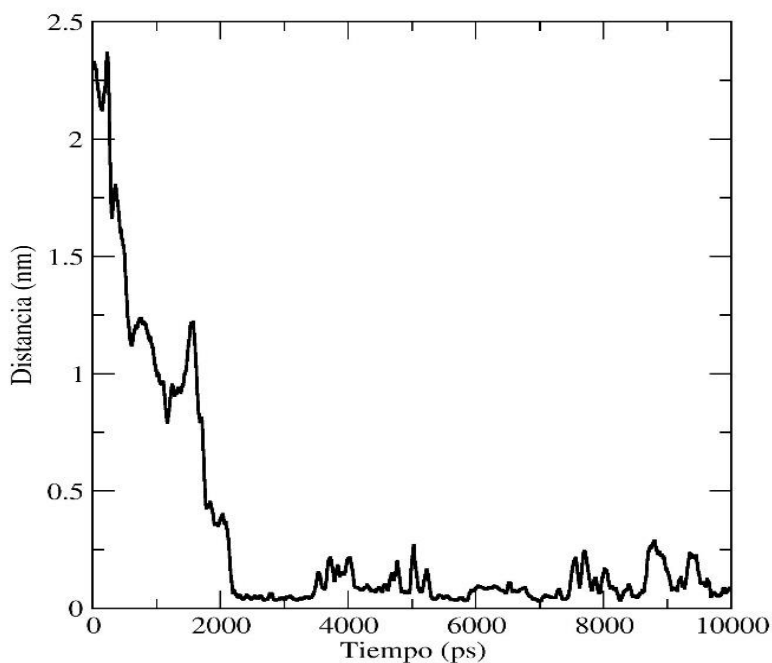


Figura 14 Distancia entre β -CD y alendronato durante 10 ns.

La figura 14 nos indica la relación entre distancia y tiempo durante un lapso de 10 ns de dinámica molecular, mientras la figura 15 nos permite observar la cantidad de puentes de hidrógeno formados en el sistema β -CD-ALN durante el tiempo de la SDM.

Puentes de Hidrogeno

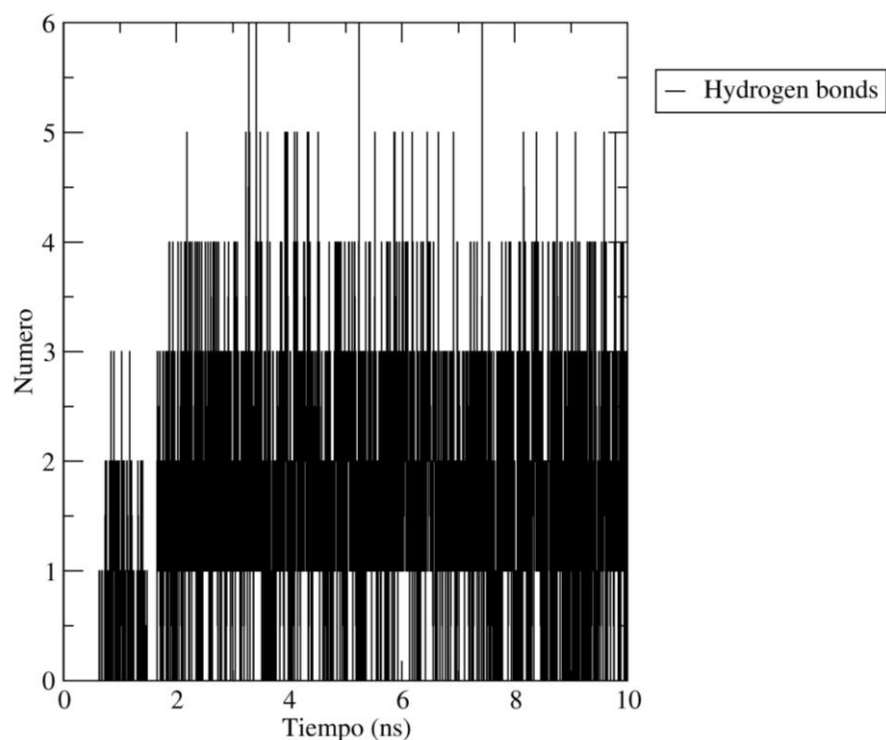


Figura 15 Se aprecia la formación de puentes de hidrógeno en el complejo Alendronato-Beta CD durante un tiempo de 10 ns.

La figura 15 presenta una gráfica, donde muestra la cantidad de puentes de hidrógeno formados durante la simulación del sistema, mostrando la formación de hasta 6 puentes de hidrógeno en el complejo del alendronato con la β -CD durante la SDM. Sin embargo, los 6 puentes no se presentan de forma constante, solo 4 puentes de hidrógeno se presentan regularmente durante toda la simulación, esto indica una constante en la interacción de ambas moléculas durante el tiempo de dinámica molecular, al no presentar una menor cantidad de puentes durante el tiempo de la dinámica.

4.1.1.3 Complejo γ -CD-BF

La γ -CD es un oligosacárido cíclico conformado de ocho unidades de glucosa, estas unidades se encuentran conectadas por enlaces α -(1-4) glucosídicos. La γ -CD presenta una forma de cono truncado con una superficie externa hidrofílica y una cavidad con un carácter hidrofóbico de una medida de 7.5 a 8.3 Å, con una profundidad de 7.9 Å, esta morfología le permite a la ciclodextrina generar un complejo de inclusión para algunas moléculas de mayor tamaño en relación con la α -CD y a β -CD, como son moléculas macrocíclicas o esteroides (40).

En el complejo γ -CD-BF se observó que el alendronato logró introducirse completamente en la cavidad de la ciclodextrina por acomplejamiento (Figura 16). Lateralmente se observa que la molécula ingresa por completo en la cavidad, con la zona nitrogenada en la zona más estrecha del cono (Figura 17). Sin embargo, la inclusión completa a la cavidad tuvo lugar a 27 ns, presentando momentos de acercamiento e inestabilidad de la dinámica durante su inclusión.

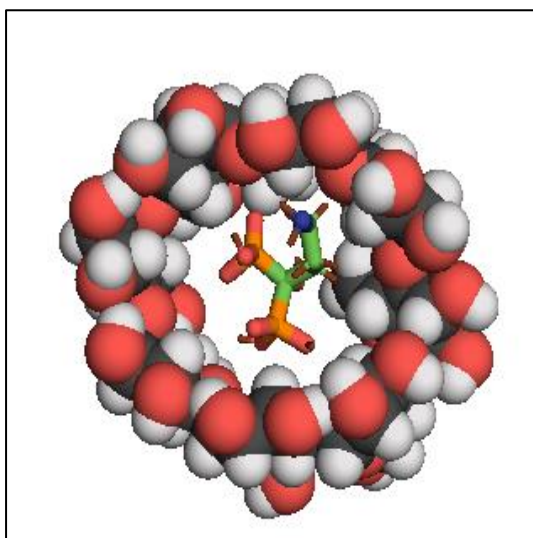


Figura 16 Proceso de inclusión del complejo γ -CD-ALN, se aprecia la introducción de la molécula de ALN.

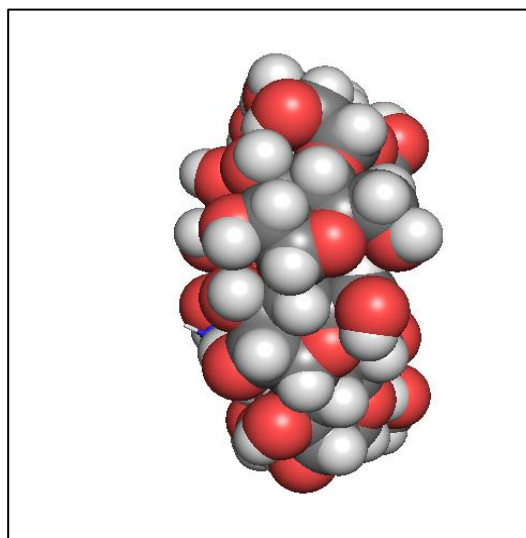


Figura 17 Vista lateral del complejo de inclusión γ -CD-ALN, se aprecia la introducción total de la molécula de ALN dentro de la γ -CD.

La figura 18 muestra el comportamiento de la distancia entre la γ -CD y el alendronato por un lapso de 30 ns, iniciando a una distancia aproximada de 3.25 nm, con un acercamiento a la γ -CD en un tiempo aproximado de 2 ns. También mostró un distanciamiento en el mismo lapso de tiempo, manteniendo ciclos de acercamiento y alejamiento durante los primeros 25 ns, y se estabilizó en los últimos ns, mostrando un proceso de acomplejamiento después de 27 ns, y hasta el final de la dinámica.

Distancia entre Alendronato y G-CD

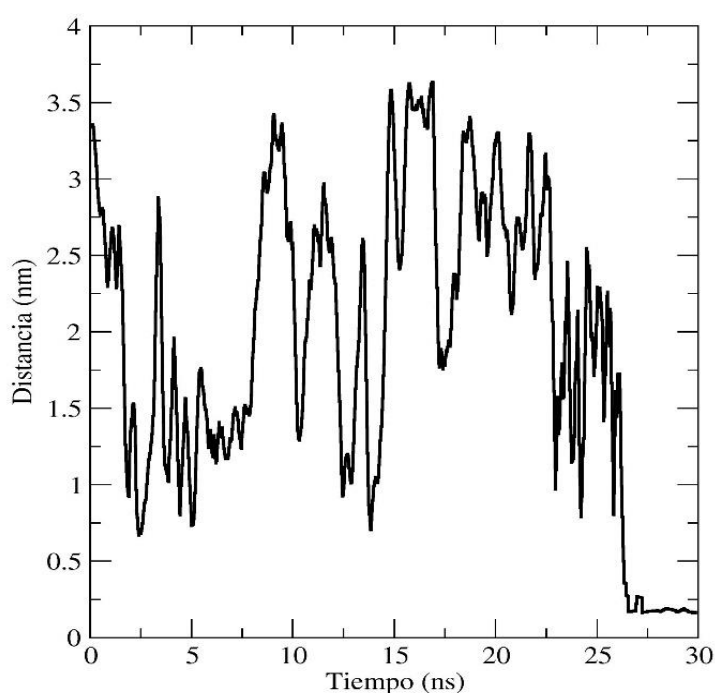


Figura 18 Distancia entre γ -CD y alendronato durante 30 ns.

Se cuantificó la energía de interacción del complejo γ -CD y el alendronato mediante la descomposición de las energías de corto alcance, es decir, las energía no enlazantes del campo de fuerza, entre los compuestos. La energía de interacción tuvo un valor de -0.000534837 (Kj/mol).

Puentes de Hidrogenos

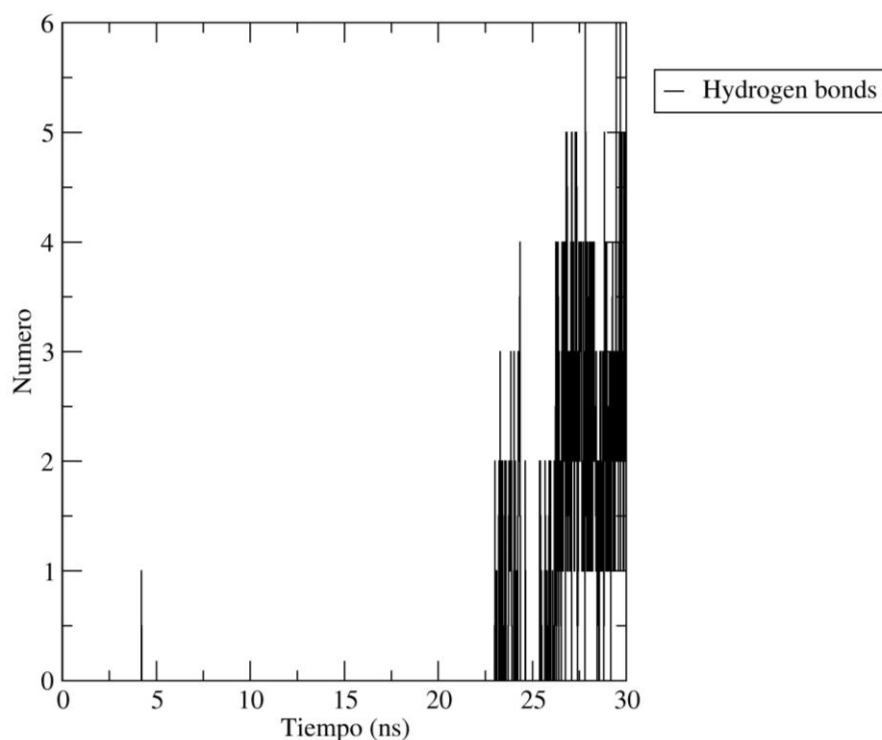


Figura 19 Se aprecia la formación de puentes de hidrógeno en el complejo Alendronato-Gamma CD durante un tiempo de 30 ns.

La figura 19 muestra la cantidad de puentes de hidrógeno que se forman en el complejo del alendronato con la γ -CD durante la SDM, en un tiempo de 30 ns, en los primeros 5 ns se aprecia la formación de un puente de hidrógeno, debido a la interacción distante que presentaron los compuestos inicialmente, posteriormente, esa unión se presenta nuevamente hasta los 25 ns, donde se presentan de 2 a 4 puentes de hidrógenos de forma constante durante el resto de la dinámica. La dinámica del sistema γ -CD-ALN presentó un acomplejamiento completo en comparación a la α -CD-ALN, sin embargo, con relación al sistema β -CD-ALN, el tiempo de interacción hasta que completó el proceso de acomplejamiento fue mayor además que formó menos puentes de hidrógeno.

5.1 Discusión

Las ciclodextrinas naturales son transportadores ampliamente usados en diversas industrias como la farmacéutica, ya que, por sus características estructurales y químicas, existe la posibilidad de formar compuestos de alta eficacia, principalmente por su capacidad para formar complejos de inclusión, proceso que permite incorporar moléculas huésped en su interior preservando las propiedades del huésped (20).

Las CDs aumentan la biodisponibilidad de fármacos y a la vez disminuyen los efectos adversos para el paciente, mejorando la calidad del tratamiento farmacológico (8, 11).

Uno de los BFs más usados en la terapia anti-resortivas es el alendronato de sodio, fármaco que ha demostrado su eficiencia dentro de un rango de 3 a 5 años, con la principal propiedad de disminuir la función osteoclástica inactivando osteoclastos, disminuyendo el ciclo de vida y la formación de estas células y por consecuencia, preservando y aumentando la densidad ósea (13). Sin embargo, se ha observado que este medicamento presenta efectos secundarios múltiples, como dolor abdominal, vómito, úlceras esofágicas hasta osteonecrosis (12).

Por lo anterior, nosotros deseamos desarrollar un excipiente de transporte que aumente la biodisponibilidad del fármaco en el paciente a la vez que disminuya los efectos adversos durante el tratamiento.

Para caracterizar el acomplejamiento entre las ciclodextrinas y el alendronato de sodio determinamos realizar experimentos *in silico* de SDM por permitir un panorama atómico del proceso y poder determinar varias condiciones antes de realizar la etapa experimental *in vitro*.

La asociación entre las CDs y el ALN es un proceso con semejanzas estructurales, en la que la principal diferencia es el número de unidades en cada ciclodextrina, la α -CD con 6, la β -CD con 7 y la γ -CD con 8, lo cual influye en el tamaño de la circunferencia y por ende en el tamaño de la cavidad de las CDs para la integración de una molécula huésped (23).

La estructura de las CDs como conos permite la entrada del ALN por ambos lados, sin embargo, se observó que la entrada del ALN se realizó por el lado más amplio de las CDs. Aunque, la α -CD presenta una deformación de la estructura e impide el adecuado acomplejamiento del alendronato al interior de

la CD. La β -CD no presenta deformación en su estructura durante las simulaciones permitiendo la entrada del ALN. En el caso de la γ -CD, tampoco se observaron deformaciones en su estructura y permitió la entrada de la molécula huésped en su interior. Este acomplejamiento requirió mayor tiempo, en relación a los otros sistemas.

El acomplejamiento entre el ALN y la α -CD, inicia con la entrada del grupo amino por la zona amplia del cono de la CD. Debido a la deformación de la CD y al tamaño de la cavidad, los grupos fosfatos no pueden ingresar al interior de la CD.

En el sistema con la β -CD, el ALN ingresa por la zona más ancha de la estructura cónica de la CD e inicia con la entrada del grupo amino seguido de la cadena alifática, permitiendo a los grupos fosfatos acoplarse en la zona más ancha del cono sin presentar deformación.

El sistema de la γ -CD, la molécula ingresa por la zona más amplia del cono de la CD, con la zona de "tridente" o fosfatos en primer lugar, e ingresando posteriormente la cadena alifática y el grupo amino del ALN, esto muestra una diferencia en relación con los sistemas anteriores, donde el ALN ingresó con el grupo amino a la cavidad de la CD.

El centro de masa media de las moléculas es importante para determinar la velocidad de unión y la distancia total de las moléculas. La velocidad de interacción durante el proceso de inclusión en el sistema la α -CD-ALN, se mostró con un comportamiento inestable, se observaron acercamientos de 0.3 nm en los primeros 10 ns, posteriormente tuvieron ciclos de acercamiento y alejamiento de hasta 4 nm durante 20 ns, hasta el final de la simulación a los 35 ns se observó un acomplejamiento estable.

El sistema β -CD-ALN mostró la mayor velocidad de acomplejamiento entre los sistemas, con un acercamiento súbito en los primeros 2 ns, mostrando posteriormente ligeros acercamientos y alejamientos en el rango de 3 Å.

La velocidad de acomplejamiento en el sistema γ -CD-ALN mostró acercamientos y alejamientos de hasta 2.5 nm, donde los compuestos no se acercaron a más de 0.7 nm en los primeros 25 ns. Posteriormente el ALN se

integra en la cavidad de la CD, aunque este acomplejamiento requirió mayor tiempo, en comparación al sistema β -CD-ALN.

Los puentes de hidrógeno son enlaces de baja fuerza formados por un átomo de hidrógeno junto a dos átomos electronegativos, como el nitrógeno o el oxígeno. Estas uniones indican el nivel de interacción entre un solvente y un soluto.

El complejo α -CD-ALN no formó puentes de hidrógeno durante los primeros ns, hasta los 10 ns se forman los primeros puentes de hidrógeno, con un máximo de 4, pero 3 puentes de forma frecuente. Sin embargo, los puentes se separan durante 26 ns aproximadamente por el distanciamiento de los compuestos. Después, de los 36 ns se vuelven a formar puentes de hidrógeno en el final de la dinámica, con un máximo de 6 puentes de hidrógeno, pero solo 3 puentes de manera estables.

El complejo β -CD-ALN formó puentes de hidrógeno desde el primer ns, generando hasta 3 en los primeros 2 ns, formando más puentes durante los siguientes 8 ns de la SDM, formando mayor cantidad de uniones durante el resto de la simulación, llegando a un punto máximo de 6 puentes de hidrógeno, 4 puentes se forman de manera regular, existiendo una mejor interacción entre los compuestos.

El sistema γ -CD-ALN no mostró formación de puentes de hidrógeno durante los primeros 22 ns de la simulación, a partir de los 23 ns se forman 4 puentes de hidrógeno de manera regular.

Las SDM demuestran que los complejos α -CD-ALN y γ -CD-ALN tienen menor probabilidad de formar complejos, en comparación al complejo β -CD-ALN.

Las fuerzas que mantienen a la molécula de ALN dentro de la cavidad de la CD son los puentes de hidrógeno, formados por la relación entre el medio acuoso, la cavidad hidrofóbica de la CD y el ALN. Aunque existe la interacción de formar enlaces por la presencia del solvente, la deformación de la estructura (E_{total}) de la α -CD y la cavidad de mayor tamaño de la γ -CD-ALN no permiten mantener los puentes de hidrógeno, impidiendo el proceso de acomplejamiento completo.

En el caso del compuesto β -CD-ALN, el tamaño adecuado de la cavidad de la CD en relación al tamaño del ALN, permite un sistema más estable por la cantidad de enlaces formados.

La interacción de energía es un cálculo que permite la comparación entre las fuerzas de interacción que existe entre los complejos moleculares.

Para cuantificar la energía de interacción total (E_{total}) entre un receptor y un ligando, se calcula a partir de la suma de las energías de interacción electrostáticas (E_{elec}) y la suma de las energías de interacción de Lennard-Jones (E_{LJ}) (37).

$$E_{total} = E_{elec} + E_{LJ} \quad (6)$$

Para cuantificar la E_{total} entre el ALN y las CDs se utilizó la herramienta “*gmx energy*” la cual tiene la capacidad de descomponer energías no enlazantes de corto alcance en grupos definidos (39).

Los valores obtenidos del complejo α -CD-ALN, que presenta energía de interacción de $8.87913E^{-05}$ y un valor de $-1.0979E^{-06}$, un valor alto en comparación al sistema β -CD-ALN. Las energías de interacción entre el ALN y la α -CD son el resultado de la deformación en la estructura de la CD durante la SDM, la imposibilidad de la formación de puentes de hidrógeno y la falta de un buen acomplejamiento estructural.

El complejo β -CD-ALN presentó energía de interacción de 18.5624 y un valor E_{total} de -41.0165, un valor bajo en comparación al sistema α -CD-ALN, debido a la posibilidad de la formación de puentes de hidrógeno, la estabilidad que presentan ambas estructuras durante la SDM.

El complejo γ -CD-ALN presenta un valor interacción de energía de 0.00620962 y un valor E_{total} de -0.000534837. Lo cual es debido a la imposibilidad de formar puentes de hidrógeno en los primeros ns de la SDM y a la falta de un buen acomplejamiento estructural entre la CD y el ALN.

6. Conclusiones

El presente trabajo utilizó la SDM obteniendo datos importantes entre las ciclodextrinas y su interacción con el alendronato.

La SDM nos permitió construir modelos atómicos entre las ciclodextrinas y el alendronato.

Se logró determinar la asociación estructural y energética entre las ciclodextrinas y el alendronato, dando como más favorable la asociación β -CD-ALN.

El complejo β -CD-ALN presentó los mejores valores en las energías de interacción, capacidad de formar puentes de hidrógeno durante el tiempo de simulación, donde el tiempo de acomplejamiento entre ambas moléculas es mayor en comparación con los otros sistemas estudiados.

Por ello, el presente trabajo sugiere que, la opción más viable para continuar con la investigación y experimentación con las ciclodextrinas y el alendronato en etapa *in vitro* es la asociación β -CD-ALN.

REFERENCIAS

- [1] Mendoza G. Estudio de las propiedades mecánicas del sistema óseo. Ingeniería e Investigación. 1991; 23: 14-19.
- [2] Grabowski, P. Physiology of Bone. Endocrine Development. 2009; 16: 32-48.
- [3] Boskey A. Mineralization of Bones and Teeth. Elements. 2007; 3: 385-391.
- [4] Real Academia Española. Diccionario de la lengua española. 23ª ed., [Versión 23.5 en línea] <<https://dle.rae.es/homeostasis?m=form>> [Consultado el 17 de enero del 2022]. Definición 1.
- [5] Reza-Albarrán, A. Osteoporosis. Gaceta médica de México, 2016: 84-89.
- [6] Gaceta del Senado. Ficha Técnica. Gaceta LXIII/ 3PPO-33/ 76262. 2017 [Consultado el 3 de febrero del 2022].
- [7] Barrios-Moyano A. De la Peña-García C. Prevalencia de osteoporosis y osteopenia en pacientes laboralmente activos. Acta Ortopédica Mexicana. 2018; 32: 131-133.
- [8] Flórez, J. Farmacología Humana. Editorial Masson-Salvat Medicina 4º edición. 2001; 1100-1107.
- [9] Hawkins Carranza F. Jódar Glmeno E. Martínez Díaz-Guerra G. Bases moleculares del mecanismo de acción de los bifosfonatos. REEMO. 2000; 9: 169-171.
- [10] James R. Edward E. Myron T. Cirugía Oral y Maxilofacial Contemporánea. Elsevier. 2014; 6: 376-379.
- [11] Woo S-B. Hellstein J. Kalmar J. Systematic Review: Bisphosphonates and Osteonecrosis of the Jaws. Annals of Internal Medicine 2006;144: 753-761
- [12] Cremers S. Papapoulos S. Pharmacology of bisphosphonates. Bone, 2011; 49: 42-49.
- [13] Carretero M. Alendronato Sódico. Medicamentos de Vanguardia. OFFARM. 2002; 21: 138-141.
- [14] Sartori P. Rajcovich G. Taborda N. Saleme Daza M.C, Nally C. Caso Clínico: Osteonecrosis del maxilar inferior por bifosfonatos. Presentación de caso. Revista Argentina de Radiología. 2015; 7: 40-46.

- [15] Lachowicz M. Stanczak A. Kolodziejczyk M. Characteristic of Cyclodextrins, Their Role and Use in the Pharmaceutical Technology. Medical University of Lodz, Muszynskiego. 2020; 21: 90-151.
- [16] Szejtli J. Medicinal Applications of Cyclodextrines. CYCLOLAB Cyclodextrin Research and Development Laboratory Ltd. 1994; 14: 353-86.
- [17] Duchêne D, Bochot A. Thirty years with cyclodextrins. International Journal of Pharmaceutics. 2016; 514: 58-72.
- [18] Pereva S. Sarafska T. Bogdanova S. Spassov T. Efficiency of “cyclodextrin-ibuprofen” inclusion complex formation. Journal of Drug Delivery Science and Technology 2016; 35: 34-39.
- [19] Clínica Universidad de Navarra. Diccionario Médico. <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/glucopiranosas>. 2020 [Consultado el 25 de enero del 2022].
- [20] Zhaofeng L. Sheng C. Zhengbiao G. Chen J. Wu J. Alpha-cyclodextrin: Enzymatic production and food applications. Trends in Foods Science & Technology. 2014; 35: 151-160.
- [21] Castronuovo G. and Nicolli. Thermodynamics of inclusion complex of natural and modified cyclodextrins with propranolol in aqueous solution. Bioorganic and Medicinal Chemistry. 2006; 14: 3883-3887.
- [22] Ollila F. Pentikäinen O. Forss S. Johnson M. Slotte J. Cyclodextrin and Bile Salt Interactions Using Isothermal Titration Calorimetry. Langmuir. 2001; 17: 7107-7111.
- [23] Del Valle, E. M. M. Cyclodextrins and their uses: a review. Process Biochemistry. 2004; 39: 1033–1046.
- [24] Steed W. J. y Atwood J. L. Supramolecular Chemistry. Ed. Wiley. 2009; 2: 327-335.
- [25] Battimelli, G., Ciccotti, G. Berni Alder and the pioneering times of molecular simulation. The European Physical Journal H. 2018; 43: 303-305.
- [26] Berendsen H.J.C. Van der Spoel D. Van Drunen R. GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics implementation. Computer Physics Communications. 1995; 91: 43-56.
- [27] Cárdenas L. Dinámica Molecular como técnica de simulación. Revista Habitus: Semilleros de investigación. 2009; 1: 29-32.

- [28] Lozano J. Scior T. ¿Qué sabe Ud. Acerca de Dinámica Molecular? Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. 2014; 1: 86-88.
- [29] Fernández R. Fármacos más eficaces saldrán de Concepción al mundo. Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico. Gobierno de Chile. 2004.
- [30] Villafuerte L. Los Excipientes y su funcionalidad en productos farmacéuticos sólidos. Revisión Bibliográfica. Revista mexicana de ciencias farmacéuticas. 2011; 42: 18-36.
- [31] Martínez R. Identificación de dominios de unión a calcio y el efecto de las fosforilaciones en la sialoproteína ósea, mediante análisis bioinformáticos y simulaciones de dinámica molecular. Tesis. UNAM, Facultad de Química, 2019; 48-110.
- [32] Singh, D. Mahajan, S. Singh, G. Razdan, K. Applications of Molecular Dynamic Simulations in Lipid-Based Drug Delivery System. Assay Drug Development Technologies, 2020; 18: 269-273.
- [33] Delano W. The PyMOL Molecular Graphics System. 2002.
- [34] Amaury L. Noda A. Vidal A. Farmacocinética y farmacodinámica, implicación en el uso más racional de los antimicrobianos. Revista Cubana de Farmacia. 2010; 44: 533-546.
- [35] Longhi M. Biodisponibilidad de medicamentos. Aspectos físico-químicos y tecnológicos. Departamento de Farmacia. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Córdoba. 2014.
- [36] Mackerell A.. Empirical force fields for biological macromolecules: overview and issues. Journal of Computational Chemistry. 2004, 25; 1584-1604.
- [37] Xu D. Zhong P. Peng L. Bing X. Yan K. Gao J. Zhao P. Zhang L. Wang Y. Multiscale evaluation of the efficiently separation of phenols using a designed cationic functionalized ionic liquid based on Brønsted/Lewis coordination. Journal of Molecular Liquids. 2022; 7: 34485-34494.
- [38] Mulpuru, V. Mishra, N. Computational Identification of SARS-CoV-2 Inhibitor in *Tinospora cordifolia*, *Cinnamomum zeylanicum* and *Myristica fragrans*. VirusDis. 2021; 32: 511–517.
- [39] Mark A. Van der Spoel D. Lindahl E. Hess B. GROMACS user manual version 2019. 2019.

[40] Vyas, A., Saraf, S., & Saraf, S. Cyclodextrin based novel drug delivery systems. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 2018; 62: 23–42.