



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES DE ACIDEZ  
DEL FÁRMACO ANTIINFLAMATORIO MELOXICAM

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:  
GABRIEL ISRAEL NAVA NABTÉ

ASESOR (A): DRA. MARÍA DEL ROSARIO MOYA  
HERNÁNDEZ

CO-ASESOR: DR. RODOLFO GÓMEZ BALDERAS



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 Dios, por todas las oportunidades que me ha brindado durante mi vida académica, laboral y personal, y por iluminar mi camino día con día.

A la UNAM, por forjar mi carácter, darme formación académica y personal y permitirme el placer y orgullo de ser universitario.

A la FES Cuautitlán, porque en ella aprendí cosas nuevas y maravillosas, por los amigos que allí conocí y por darme la oportunidad de concluir mi carrera.

Al laboratorio L10 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria, por proporcionarme los servicios necesarios para culminar la parte escrita.

A la Sección de Química Analítica, por brindarme los insumos necesarios para la realización de la parte experimental.

Al proyecto PAPIIT IN218408 “Antiinflamatorios no esteroideos y sus complejos con Cu(II) y Zn(II), especiación química y estudios teóricos”, por el apoyo técnico y la oportunidad de realizar este trabajo.

Al proyecto PACIVE CONS111 “Estudios teórico-experimentales de sistemas reaccionantes multicomponentes, por brindarme el trabajo para la última parte de mi trayecto académico.

A la Dra. María del Rosario Moya Hernández, por su apoyo en la realización de este trabajo, pero sobre todo, por los consejos brindados hacia mí como estudiante y persona, por su amistad y comprensión, y su interés en mi futuro. ¡Muchas gracias Rosario!

Al Dr. Rodolfo Gómez Balderas, por su importante asesoría continua durante la realización de la tesis, por exigirme siempre que diera mi mejor esfuerzo, y por facilitarme bastante la comprensión de la Química Computacional. ¡Excelente, Rodolfo!

Al Dr. Alberto Rojas Hernández, por sus sabias observaciones durante el tiempo en que estuve desarrollando este escrito, y porque en el breve tiempo que llevamos trabajando juntos, aprendí nuevas cosas a nivel académico, pero también personal. ¡Gracias Alberto!

Al jurado, por su tiempo y paciencia para revisar este trabajo.

# Dedicatorias

A Laura, por ayudarme a escribir durante la realización de este trabajo, por su amor que me dio la fuerza para terminar algo que veía lejos, por darme la oportunidad de conocerte y porque nos hemos unido para toda la vida... ¡Te amo mucho!

A mi madre, porque siempre tuvo una palabra de aliento para motivarme y no desistir nunca ante las situaciones difíciles. ¡Te quiero mucho!

A mi padre, que me enseñó el valor de las cosas, y que gracias a ello he aprendido lo que significa trabajar por algo y el valor que cada bien contiene. ¡Gracias jefe!

A mi hermano, por hacerme reír cuando creí que lo único que se podía hacer era llorar, y por su presencia en todo momento. Sé que puedo contar contigo y tú puedes contar conmigo. ¡Gracias amigo!

A mis primas, porque siempre que las observo, me motivan para dar lo mejor de mí. ¡Por ustedes, hermanas!

A Adri, porque siempre hemos estado juntos, apoyándonos y riéndonos para no dejarnos abatir por nada. ¡Cuentas siempre conmigo!

A Juanita, que nunca se rinde y porque me ha enseñado que debemos de seguir luchando para vivir, no para sobrevivir. ¡Te quiero Juanita!

A José Luis y Soledad, mis cuñados consentidos, porque se han ganado el amor de la familia y por haberse integrado a ella, por su apoyo incondicional y por los momentos que hemos vivido. ¡Los quiero!

A papá Gutu y tío Alfonso, porque son las dos personas más sabias que he conocido en mi vida, y me hace muy afortunado haber sido parte de esta familia, donde están incluidos. Aunque no los pueda ver, tocar o escuchar, les dedico con mucho amor y respeto este trabajo. ¡Gracias por siempre, nos volveremos a ver algún día más allá del sol... pero no por ahora!

A la Dona Glaseada (Jorge, Paulina, Ulises, Eli, Alejandro, Belem, Miriam, Ernesto y Bichita), por todos los momentos que llevamos disfrutando, por las risas, y porque en ustedes he encontrado la verdadera amistad. ¡Esto es por ustedes amigos!

A Leticia Villafaña, por su amistad y consejos, y por su tiempo invertido durante la aprobación de mi protocolo de tesis. ¡Gracias amiga!

A Hilda y Gaby por los momentos de alegría en todo momento, por apoyarme invirtiendo su valioso tiempo en trámites de mi tesis. ¡Mucho éxito!

A Dios, porque me dio la vida, porque me ha dado salud y una vida maravillosa rodeada de personas excelentes y de alternativas para hacer de esta vida algo digno de vivirse.  
¡Gracias Señor!

Gracias a todos...

# ÍNDICE GENERAL

<b>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO 2. OBJETIVOS</b>	<b>5</b>
<b>CAPÍTULO 3. HIPÓTESIS</b>	<b>7</b>
<b>CAPÍTULO 4. ANTECEDENTES.</b>	<b>9</b>
4.1 LA ARTRITIS REUMATOIDE (AR)	10
4.1.1 Etiología	12
4.2 DISEÑO DE FÁRMACOS	13
4.2.1 Relación estructura química-actividad biológica	13
4.2.2 Química de los oxicams	16
4.3 GENERALIDADES SOBRE LOS EICOSANOIDES	17
4.3.1 Efectos biológicos de los eicosanoides	21
4.3.2 Características de las ciclooxigenasas (COX)	23
4.3.3 Mecanismo de acción de los Antiinflamatorios no Esteroideos (AINES)	24
4.4 IMPORTANCIA DEL PH EN LA ABSORCIÓN DE LOS FÁRMACOS	26
4.5 ESPECTROFOTOMETRÍA	29
4.5.1 Propiedades de la luz	30
4.5.2 Absorción de luz	31
4.5.3 El espectrofotómetro	32
4.5.4 ¿Qué pasa cuando una molécula absorbe luz?	34
4.5.5 ¿Qué le ocurre a la luz absorbida?	35
4.6 MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES DE EQUILIBRIO	36
4.6.1 SQUAD	38
4.6.1.1 <i>Significado del parámetro gamma</i>	40
4.6.2 TRIANG	41
4.6.2.1 <i>Archivo de entrada</i>	42
4.7 QUÍMICA COMPUTACIONAL	43
4.7.1 Concepto de Superficie de Energía Potencial (PES)	45

4.7.2 Optimización de energía	48
4.7.3 Puntos estacionarios y vibraciones de modo normal: ZPE	49
4.7.4 Métodos <i>ab initio</i> : aproximación de Hartree Fock	51
4.7.5 Teoría del Funcional de la Densidad (DFT)	52
<b>CAPÍTULO 5. MATERIALES</b>	<b>54</b>
5.1 MATERIALES	55
5.2 EQUIPO	55
5.3 REACTIVOS	55
5.4 EQUIPO DE CÓMPUTO	55
5.5 PROGRAMAS COMPUTACIONALES	55
<b>CAPÍTULO 6. METODOLOGÍA</b>	<b>56</b>
6.1 PARTE EXPERIMENTAL	57
6.1.1 Espectrofotometría UV	57
6.1.1.1 <i>Valoraciones ácido-base en medio acuoso</i>	57
6.1.1.1.1 Preparación de soluciones en medio acuoso	57
6.1.1.1.2 Calibración de los equipos para su uso con sistemas en medio acuoso	58
6.1.1.1.3 Preparación del sistema en medio acuoso	58
6.1.1.1.4 Almacenamiento de los datos	58
6.1.1.2 Valoraciones ácido-base en mezcla H <sub>2</sub> O:DMSO 9:1	59
6.1.1.2.1 Preparación de soluciones en mezcla H <sub>2</sub> O:DMSO 9:1	59
6.1.1.2.2 Calibración de los equipos para su uso con sistemas en mezcla	59
6.1.1.2.3 Preparación del sistema en mezcla H <sub>2</sub> O:DMSO 9:1	60
6.1.1.3 Tratamiento de los datos	60
6.1.1.3.1 Corrección de los datos por dilución	60
6.1.1.3.2 Construcción de la matriz de absorbancias	61
6.1.1.3.3 Elaboración de los archivos de entrada de SQUAD y TRIANG	63
6.1.1.3.4 Obtención de los valores de pK <sub>a</sub> y del número de especies que absorben radiación electromagnética	63
6.2 PARTE TEÓRICA	64
6.2.1 Forma neutra	64
6.2.2 Formas aniónica, catiónica y zwitteriónica	65
6.2.3 Energía libre de solvatación	65

<b>CAPÍTULO 7. RESULTADOS</b>	<b>66</b>
7.1 PARTE EXPERIMENTAL	67
7.1.1 Valoraciones ácido-base en medio acuoso	67
7.1.2 Valoraciones ácido-base en mezcla H <sub>2</sub> O:DMSO	68
7.2 PARTE TEÓRICA	70
7.2.1 Optimización de la geometría y cálculo de frecuencias	70
<b>CAPÍTULO 8. ANÁLISIS DE RESULTADOS</b>	<b>71</b>
8.1 PARTE EXPERIMENTAL	72
8.2 PARTE TEÓRICA	79
8.2.1 Confórmeros de la forma neutra	79
8.2.2 Confórmeros del anión	80
8.2.3 Confórmeros del catión	82
8.2.4 Confórmeros del zwitterión	84
8.2.5 Cálculo de las energías de solvatación	88
<b>CAPÍTULO 9. CONCLUSIONES</b>	<b>90</b>
<b>CAPÍTULO 10. REFERENCIAS</b>	<b>92</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>96</b>
<b>ANEXO I</b>	<b>97</b>



# ÍNDICE DE FIGURAS

Figura F1.1 Estructura del meloxicam	3
Figura F4.1 Comparación entre una articulación normal y una con artritis reumatoide. Articulaciones en donde se presenta la artritis reumatoide.	11
Figura F4.2 Esquemas para la generación de cabezas de serie y optimización de las mismas.	13
Figura F4.3 Estructura química de los oxicams.	16
Figura F4.4 Síntesis de algunas prostaglandinas a partir del ácido araquidónico.	18
Figura F4.5 Estructura del ácido prostanóico.	19
Figura F4.6 Estructura de la ciclooxigenasa.	20
Figura F4.7 Mecanismos de difusión de fármacos a través de las membranas biológicas en términos del estado de ionización.	28
Figura F4.8 Onda electromagnética.	30
Figura F4.9 Espectro electromagnético.	30
Figura F4.10 Espectrofotómetros A) de simple haz, y B) de doble haz.	33
Figura F4.11 Algoritmo que usa el programa TRIANG.	41
Figura F4.12 Esquema de las partes del archivo de entrada del programa TRIANG.	42
Figura F6.1 Absorbancias y longitudes de onda correspondientes.	62
Figura F6.2 Formato de la matriz de absorbancias y agrupación de las absorbancias para el archivo de entrada de SQUAD.	62
Figura F6.3 Estructura del meloxicam.	64
Figura F7.1 Selección de espectros de absorción de meloxicam en agua, en un intervalo de pH de 0.089 a 1.902, y en un intervalo de longitud de onda de 430 nm a 250 nm.	67
Figura F7.2 Selección de espectros de absorción de meloxicam en agua, en un intervalo de pH de 2.502 a 5.441, y en un intervalo de longitud de onda de 430 nm a 250 nm.	68

Figura F7.3 Selección de espectros de absorción de meloxicam en mezcla DMSO:H <sub>2</sub> O 1:9 en un intervalo de pH de 0.190 a 2.360, y en un intervalo de longitud de onda de 430 nm a 250 nm.	69
Figura F7.4 Selección de espectros de absorción de meloxicam en mezcla DMSO:H <sub>2</sub> O 1:9 en un intervalo de pH de 3.000 a 5.250, y en un intervalo de longitud de onda de 430 nm a 250 nm.	70
Figura F8.1 Curva de valoración A vs pH de meloxicam en medio acuoso para diferentes longitudes de onda.	72
Figura F8.2 Curva de valoración A vs pH de meloxicam en mezcla para diferentes longitudes de onda.	73
Figura F8.3 Coeficientes de absorptividad molar de las diferentes especies de meloxicam en agua.	76
Figura F8.4 Coeficientes de absorptividad molar de las diferentes especies de meloxicam en mezcla.	76
Figura F8.5 Diagrama de distribución de especies de meloxicam en agua.	77
Figura F8.6 Diagrama de distribución de especies de meloxicam en mezcla.	78
Figura F8.7 Estructura de mínima energía, en fase gaseosa, para la forma neutra 1 de meloxicam.	79
Figura F8.8 Estructura de mínima energía, en fase gaseosa, para la forma neutra 2 de meloxicam.	80
Figura F8.9 Estructura de mínima energía del confórmero aniónico 1 de meloxicam, en fase gaseosa.	81
Figura F8.10 Estructura del anión 2 del meloxicam en fase gaseosa.	82
Figura F8.11 Estructura del confórmero del catión 1 de mínima energía, en fase gaseosa.	83
Figura F8.12 Estructura de mínima energía del catión 2 de meloxicam en fase gaseosa.	84
Figura F8.13 Estructura del ión híbrido de meloxicam de mínima energía en fase gaseosa.	85
Figura F8.14 Segunda estructura de mínima energía del ión híbrido de meloxicam, en fase gaseosa.	86
Figura F8.15 Tercera estructura de mínima energía del ión híbrido de meloxicam, en fase gaseosa.	87

# ÍNDICE DE TABLAS

Tabla T4.1 Efectos de los eicosanoides en diversos sistemas corporales.	21
Tabla T4.2 Comparación entre las dos isoformas de la COX.	24
Tabla T4.3 Número de recambio para varias enzimas.	25
Tabla T4.4 Métodos para la determinación del $pK_a$ .	29
Tabla T4.5 Programas computacionales y sus algoritmos para el cálculo de constantes de estabilidad.	37
Tabla T7.1 Energía de los confórmeros del meloxicam.	70
Tabla T8.1 Número de especies de meloxicam que absorben radiación electromagnética en agua.	74
Tabla T8.2 Número de especies de meloxicam que absorben radiación electromagnética en mezcla.	74
Tabla T8.3 Constantes de formación global del meloxicam en los diferentes medios empleados.	75
Tabla T8.4 Constantes de acidez del meloxicam en los diferentes medios.	75

## **CAPÍTULO 1**

# **INTRODUCCIÓN**

# 1. INTRODUCCIÓN

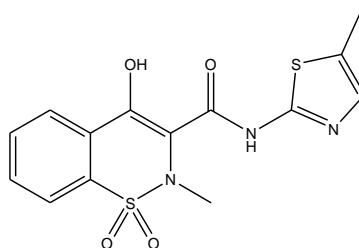
La inflamación es un síntoma corporal en la cual los tejidos son afectados por calor, enrojecimiento, hinchazón y dolor. La inflamación es una respuesta esencial y normal en el cuerpo cuando se presenta un estímulo dañoso y puede variar de una reacción localizada en un tejido afectado o estar vinculada a una reacción en todo el organismo. Mientras que la inflamación es una respuesta normal, la inflamación crónica es resultado de la destrucción de tejido conectivo normal debido a enzimas catalíticas y citoquinas (Weder, 2002).

Los fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (**AINE**) son un conjunto de fármacos analgésicos estructuralmente diversos; es decir, **salicilatos** –ácido acetilsalisílico–, **ácidos fenilalcanóicos** –ketoprofeno, ibuprofeno, naproxeno–, **oxicams** –piroxicam, tenoxicam, meloxicam–, **ácidos antranílicos** –ácido mefenámico–, **sulfonamidas** –celecoxib–, furanonas –rofecoxib–, propanamida –parecoxib– (Florez, 2004), con tres efectos principales: antiinflamatorio, analgésico y antipirético (Florez, 2004; Rang, 2003).

Todos los AINE inhiben a las ciclooxigenasas, enzimas clave que participan en los mecanismos patogénicos de la inflamación, el dolor y la fiebre (Weder, 2002; Florez, 2004; Rang, 2003), como consecuencia se inhibe la formación de prostaglandinas (particularmente PGE2 y PGI2) a partir del ácido araquidónico membranario de distintos tipos celulares (Moreno-Brea, 2005). Se ha descubierto la presencia de, al menos, dos isoformas de la ciclooxigenasa: COX-1 y COX-2. COX-1 se expresa constitucionalmente, pero muy especialmente en el riñón y en el tracto gastrointestinal, y está relacionada con el control homeostático de funciones fisiológicas múltiples, mientras que COX-2 parece expresarse en algunas células bajo el efecto inductor de determinados estímulos como algunos mediadores químicos de la inflamación y cataliza la producción local de prostaglandinas en situaciones fisiológicas y patológicas (Weder, 2002; Florez, 2004; Rang, 2003).

Como resultado de la expresión ubicua de la COX-1, la toxicidad gastrointestinal es la principal limitante clínica de los AINE tradicionales, lo que resulta en mayores efectos adversos gastrointestinales, como perforación, ulceración y sangrado (Hupp, 2004).

Dentro del grupo de los AINE, se halla la familia de los oxamicam, los cuales fueron introducidos por Pfizer en los años 80 para reducir la toxicidad gastrointestinal relacionada con la inhibición de prostaglandinas (Weder, 2002; Kalant, 2004). Meloxicam (Fig. F1.1) es un fármaco distinto de los oxamicam por su potente inhibición preferencial hacia la COX-2 y fue el primero en inhibir más efectivamente la COX-2 que la COX-1 (Luger, 1995). Por esta razón, se asocia con menos síntomas y complicaciones gastrointestinales que el piroxicam, diclofenaco, naproxeno y ácido acetilsalicílico, entre otros. (Katzung, 2005).



**Fig. F1.1.** Estructura del meloxicam

La mayoría de los fármacos cruza las membranas celulares por difusión pasiva a través de los lípidos de éstas. La velocidad de penetración del fármaco a las células depende de diversos factores, entre ellos el pH, que determina el estado de ionización del fármaco y por tanto, su capacidad para cruzar la membrana. La forma ionizada no difunde a través de la membrana, mientras que la forma no ionizada difundirá hasta que se equilibre la concentración a ambos lados de ella [Florez, 2004; Kalant, 2002).

La determinación de las constantes de acidez se ha hecho por diversos métodos, entre los que destacan los gráficos y los auxiliados por programas computacionales. Los primeros no eran muy precisos, lentos y estaban limitados a modelos de equilibrios sencillos. Con el avance de la tecnología, llegaron los métodos auxiliados por programas computacionales, que permiten el manejo de mayores cantidades de información, además de ser más precisos y más universales (es decir, se aplican tanto a sistemas sencillos como complejos).

Sin embargo, además de los métodos anteriores, los estudios teóricos, a través de la química computacional, han ido incursionando en problemas químicos cotidianos y han dado aproximaciones bastante confiables. La química computacional es una rama de la química teórica cuyos principales objetivos son crear aproximaciones matemáticas eficientes y programas computacionales que calculen las propiedades de las moléculas (tales como la energía total, el momento dipolar y cuadripolar, frecuencias

vibracionales, reactividad, constantes de acidez, entre otras) y aplicar estos programas a problemas químicos concretos (<http://quantum.cecalc.ula.ve>; <http://es.wikipedia.org>), como es la determinación de los sitios preferentes de protonación en una molécula. Tiene aplicaciones en diversas áreas como la química inorgánica, química orgánica, cristalografía, espectroscopia molecular, industria química-farmacéutica, entre otras. La modelación molecular es necesaria para el diseño de nuevas moléculas con propiedades determinadas tanto si se refiere a la búsqueda de nuevos medicamentos como a nuevos materiales de interés tecnológico (<http://nereida.deioc.ull.es/>).

Los programas usados en química computacional se basan en diferentes métodos mecanocuánticos que resuelven la ecuación molecular de Schrödinger. Hay un gran número de paquetes informáticos disponibles que son autosuficientes y que implementan muchos métodos mecanocuánticos. Entre los más usados se encuentran deMon2k, GAUSSIAN, GAMESS, Q-Chem, ACES, MOLPRO, DALTON, Spartan, PSI, JAGUAR, MOLCAS, MOPAC, NWChem y PLATO (<http://es.wikipedia.org>).

El conocimiento de los valores de  $pK_a$  de meloxicam permitirá realizar estudios posteriores de las interacciones de este fármaco con iones metálicos; es decir, abrirá la posibilidad de refinar, por métodos espectrofotométricos auxiliados por métodos computacionales, las constantes de estabilidad del meloxicam con diversos iones metálicos. Por otra parte, debido a la importancia que han adquirido los fármacos con mayor selectividad por COX-2, el propósito de este trabajo es determinar las constantes de acidez del antiinflamatorio no esterooidal, Meloxicam, a condiciones pseudofisiológicas ( $T = 37^\circ \text{C}$ ;  $\mu = 0.15 \text{ M}$ ) en solución acuosa, así como en mezclas de dimetilsulfóxido:agua (DMSO:H<sub>2</sub>O), también a  $37^\circ \text{C}$  y  $\mu = 0.15 \text{ M}$ . La razón de emplear DMSO se debe a que la solubilidad del meloxicam es baja en agua, pero alta en dimetilsulfóxido.

## **CAPÍTULO 2**

# **OBJETIVOS**



## 2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar las constantes de acidez del antiinflamatorio Meloxicam a partir de datos espectrofotométricos y realizar estudios teóricos de minimización de energía en diferentes isómeros del meloxicam partiendo de diversas estructuras del fármaco con diferentes grados de protonación, para conocer la fracción del fármaco que puede absorberse a través de barreras biológicas, así como el estado de protonación del mismo.

## 2.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- ◆ Refinar las constantes de acidez de meloxicam en solución acuosa a condiciones pseudofisiológicas (37° C y  $\mu = 0.15$  M) por medio de espectrofotometría UV.
- ◆ Refinar las constantes de acidez de meloxicam en una mezcla de DMSO:H<sub>2</sub>O 1:9 a condiciones de 37° C y  $\mu = 0.15$  M por medio de espectrofotometría UV.
- ◆ Estudiar los diferentes isómeros conformacionales de las formas mencionadas de meloxicam por medio de estudios teóricos *a priori*.

## **CAPÍTULO 3**

# **HIPÓTESIS**

### 3. HIPÓTESIS

- ♦ La obtención de espectros de absorción en un intervalo de longitud de onda preestablecido a diferentes valores de pH, permitirá arrojar resultados sobre las diferentes especies ácido-base del fármaco que existen o predominan. Si se realiza la optimización de la geometría, así como el cálculo de frecuencias de diferentes especies de meloxicam con diversos grados de protonación, podrá darse una explicación a los resultados obtenidos en las valoraciones ácido-base seguidas por espectrofotometría UV. Si se obtienen estructuras de meloxicam con diferentes grados de protonación, podrán plantearse equilibrios ácido-base para este fármaco.

## **CAPÍTULO 4**

# **ANTECEDENTES**

## 4. ANTECEDENTES

### 4.1 LA ARTRITIS REUMATOIDE (AR)

La Artritis Reumatoide (AR) es una enfermedad crónica que origina dolor, rigidez, hinchazón y pérdida de funciones en las articulaciones y puede también acompañarse de inflamación en otros órganos (<http://www.arrakis.es>; Moya Hernández, 2003; Reséndiz González, 2004).

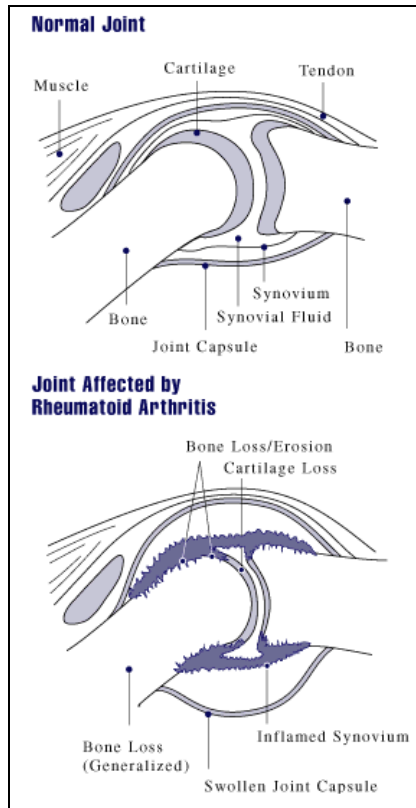
Se trata de una enfermedad crónica y multisistémica autoinmune de etiología desconocida. La alteración característica de la AR es una sinovitis inflamatoria persistente que afecta habitualmente a las articulaciones periféricas con una distribución sistémica. El signo clave de la enfermedad es el potencial de la inflamación sinovial para producir una destrucción del cartílago con erosiones óseas y deformidades articulares en fases posteriores.

Se asocia a diversos factores de riesgo, entre los que cabe destacar: la edad avanzada, la obesidad y los traumatismos y sobrecarga de las articulaciones (por ejercicio físico intenso, determinados trabajos, etc.). Se manifiesta principalmente por la presencia de un dolor en las articulaciones afectadas, que inicialmente puede ser leve e intermitente, llegando a ser muy intenso y persistente, asociándose a inflamación, rigidez y reducción de la movilidad y la funcionalidad de los pacientes (García Vargas, 2004).

En ocasiones, su comportamiento es extra-articular: puede causar daños en cartílagos, huesos, tendones y ligamentos de las articulaciones, pudiendo afectar a diversos órganos y sistemas, como ojos, pulmones, corazón, piel o vasos ([www.wikimedia.es](http://www.wikimedia.es)). Los mediadores de la inflamación pueden trasladar el trastorno a diferentes estructuras orgánicas.

En la figura F4.1, se muestra el aspecto de una articulación normal y una típica de la artritis reumatoide. Puede observarse que, en la articulación normal, el hueso no presenta desgaste, el cartílago se encuentra completo a lo igual que los tendones, y la sinovial tiene un tamaño normal; por otra parte, en la artritis reumatoide, el cartílago ha desaparecido considerablemente, por lo que el hueso presenta desgaste, y la sinovial se

aprecia inflamado, por la generación de una gran cantidad de fluidos. Puede apreciarse también en la figura las articulaciones que son afectadas por la artritis reumatoide.



La artritis reumática por lo general afecta las articulaciones de forma simétrica (en ambos lados por igual), puede iniciar en un par de articulaciones solamente y ataca con mayor frecuencia las muñecas, manos, codos, hombros, rodillas y pantorrillas

Fig. F4.1. Comparación entre una articulación normal y una con artritis reumatoide. Articulaciones en donde se presenta la artritis reumatoide (<http://es.wikipedia.org/>).

A continuación, se muestran los criterios del diagnóstico de AR de la American Rheumatism Association (ARA) y del American College of Rheumatology (ACR):

- Rigidez matutina
- Dolor al moverse o sensibilidad dolorosa a la presión por lo menos en una articulación
- Hinchazón en una segunda articulación
- Afección simultánea de la misma articulación en ambos lados del cuerpo
- Nódulos subcutáneos sobre prominencias óseas, o superficies extensoras, o en regiones yuxtaarticulares
- Signos radiográficos típicos de artritis
- Cambios histológicos característicos en la sinovial

-Cambios histológicos característicos en nódulos subcutáneos (García Vargas, 2004)

### ***4.1.1 ETIOLOGÍA***

La causa de la AR se desconoce. Se ha sugerido que la AR es una manifestación de la respuesta del huésped con susceptibilidad genética a un agente infeccioso. Se ha sugerido que también podrían involucrarse factores ambientales y hormonales, interrelacionados en forma compleja.

Una de las posibilidades es la infección persistente de las estructuras articulares o la retención de los productos microbianos en los tejidos sinoviales, que genera una respuesta inflamatoria crónica. Otra alternativa sería que los microorganismos o la respuesta a ellos produjera una reacción inmunitaria contra los componentes de la articulación, alterando su integridad (García Vargas, 2004).

Se sabe que la destrucción del tejido conectivo normal durante la artritis reumatoide se debe a la activación de la respuesta inmune, la liberación de enzimas hidrolíticas, por ejemplo, colagenasas, proteasas, gelatinasas, matrilisina, y la degradación posterior del colágeno y otros componentes extracelulares que se encuentran en las articulaciones y el tejido conectivo (Weder, 2002).

## 4.2 DISEÑO DE FÁRMACOS

El diseño se aplica típicamente para pequeñas moléculas que se unen a biomoléculas y que inhiben su función, y el proceso de diseño ofrece la construcción tridimensional de los complejos entre las moléculas pequeñas y la “molécula blanco” (receptor). Las principales actividades son el descubrimiento de cabezas de serie iniciales, que presenten cierta actividad en ensayos biológicos, y la posterior optimización para obtener mayor potencia y propiedades farmacológicamente aceptables (Jorgensen, 2004).

En la figura F4.2 se esquematiza el diseño de fármacos.

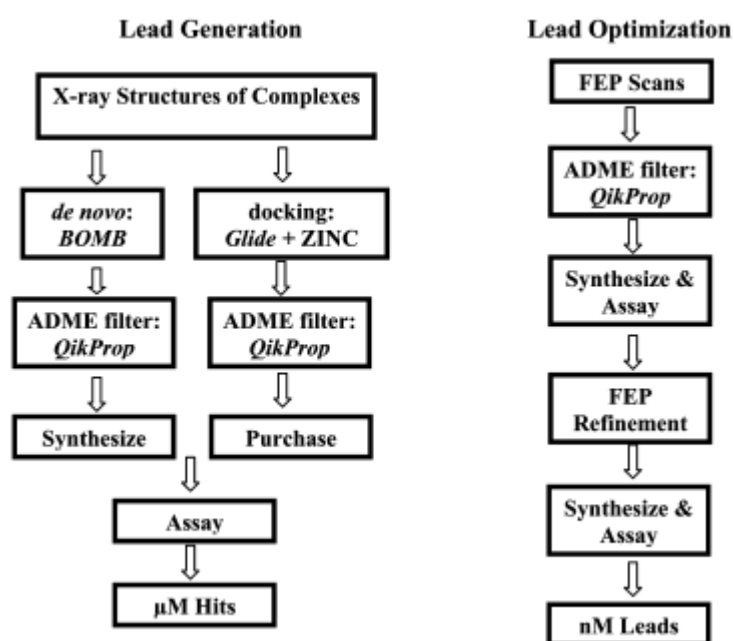


Fig. F4.2. Esquemas para la generación de cabezas de serie y optimización de las mismas (Jorgensen, 2009).

### 4.2.1 RELACIÓN ESTRUCTURA QUÍMICA-ACTIVIDAD BIOLÓGICA

Se sabe que el efecto fisiológico de una molécula está en función de su estructura. Esta relación se denomina **SAR** (Structure-Activity Relationship), si es cualitativa y **QSAR**



(Quantitative Structure-Activity Relationship), si es cuantitativa. La actividad es consecuencia de una interacción entre el fármaco y una macromolécula biológica (su **diana farmacológica** o **receptor**) pudiendo comportarse el fármaco como **agonista** o **antagonista** de dicho receptor. Solo en casos especiales la actividad se debe a otro tipo de fenómeno, hablándose entonces de **fármacos estructuralmente inespecíficos**.

Existen diferentes estrategias para buscar un fármaco prototipo, modelo o “cabeza de serie”, tanto si éste es de origen natural, como si es de síntesis.

La modificación estructural de un prototipo tiene por objeto optimizar su actividad farmacológica principal con el fin de disponer de fármacos más selectivos y menos tóxicos, con mejor farmacocinética o sin problemas de formulación farmacéutica debidos a una solubilidad o estabilidad inadecuadas.

El que una molécula obtenida por modificación de un prototipo activo puede presentar propiedades útiles suele ser más productivo que ensayar sin una base suficientemente sólida nuevos compuestos aislados de la naturaleza o sintetizados en el laboratorio.

Dentro de una molécula, suele identificarse una porción de la misma denominada **grupo farmacóforo**, que se define como la porción de la estructura de un fármaco que interactúa con su diana farmacológica y explica la acción biológica a nivel molecular. En ciertos casos, es posible definir el grupo farmacóforo por la existencia de determinadas características geométricas, y esto puede estimular la preparación de nuevos compuestos que las satisfagan.

Existen diversas modalidades en el procedimiento de modificación molecular, entre las que destacan las siguientes:

- a) Simplificación del prototipo. Conocido tradicionalmente como “variación estructural disyuntiva”, se aplica fundamentalmente a productos naturales de estructura compleja. Aunque en algunos casos la simplificación de la estructura supone la pérdida de la actividad biológica, es frecuente que una porción estructural del prototipo posea su misma actividad. En casos esporádicos, el proceso es el inverso y la estructura del prototipo, en vez de simplificarse, se hace más compleja.
- b) Asociación de dos moléculas. A veces, se asocian dos moléculas o más fármacos, a través de enlaces covalentes, para formar una nueva estructura que potencie la acción de ambos (*fármacos gemelos*, o híbridos).

- c) Replicación moduladora. Consiste en la modificación sistemática de determinados grupos o porciones estructurales de la estructura modelo. Normalmente, la actividad farmacológica del prototipo se mantiene, pero en algunos casos se descubre en un análogo un nuevo perfil farmacológico.
- d) Introducción de enlaces múltiples: vinilología. La sustitución de un enlace sencillo, en la molécula de un fármaco, por uno doble o triple conduce a una alteración de la geometría molecular y, generalmente, a un aumento de la rigidez. Un criterio muy utilizado en el diseño de análogos se basa en el llamado **principio de vinilología**, según el cual dos sustituyentes, X y Y, unidos por una cadena vinilénica o polivinilénica se comportan como si estuvieran unidos directamente.

En términos de la teoría electrónica, los efectos de grupos adyacentes o donadores de electrones se transmiten en virtud de la superposición de orbitales p, que es la causa de los efectos mesómeros o de resonancia, por lo que los grupos X y Y son equivalentes desde el punto de vista de la distribución de cargas.

Si la densidad electrónica de una determinada zona de una molécula es importante para su fijación al receptor, la actividad biológica puede mantenerse en los vinílogos del compuesto de referencia.

La aplicación del principio de vinilología fracasa si la alteración de las distancias entre determinados grupos o los cambios en la geometría molecular que se producen al introducir los grupos fenileno o vinileno afecta a la interacción con la diana farmacológica.

- e) Bioisosterismo. Los bioisómeros tienen diversas definiciones. Friedman propuso definirlos como aquellos compuestos que “cumplan alguna de las definiciones de isosterismo y posean el mismo tipo de actividad biológica” Consideró también que podrían encajar en el grupo de bioisómeros los compuestos que presenten propiedades antagónicas, ya que con frecuencia interactúan con la misma diana. Por otro lado, Thorner definió a los bioisómeros como “grupos o moléculas que tienen propiedades físicas y químicas semejantes, y que producen efectos fisiológicos aproximadamente iguales” (Avendaño, 2001).

## 4.2.2 QUÍMICA DE LOS OXICAMS

La mayoría de los oxicams (Fig. F4.3) son compuestos generados bajo el concepto de reemplazamiento isostérico en el diseño de fármacos; es decir, grupos de fragmentos de las cabezas de serie son sustituidos con grupos de rasgos estereoelectrónicos similares con el fin, por ejemplo, de mejorar sus propiedades farmacocinéticas tales como mayor resistencia a la degradación química o enzimática. El prerequisite de esta sustitución es que los congéneres deben tener similar, o aun mejores, propiedades farmacodinámicas.

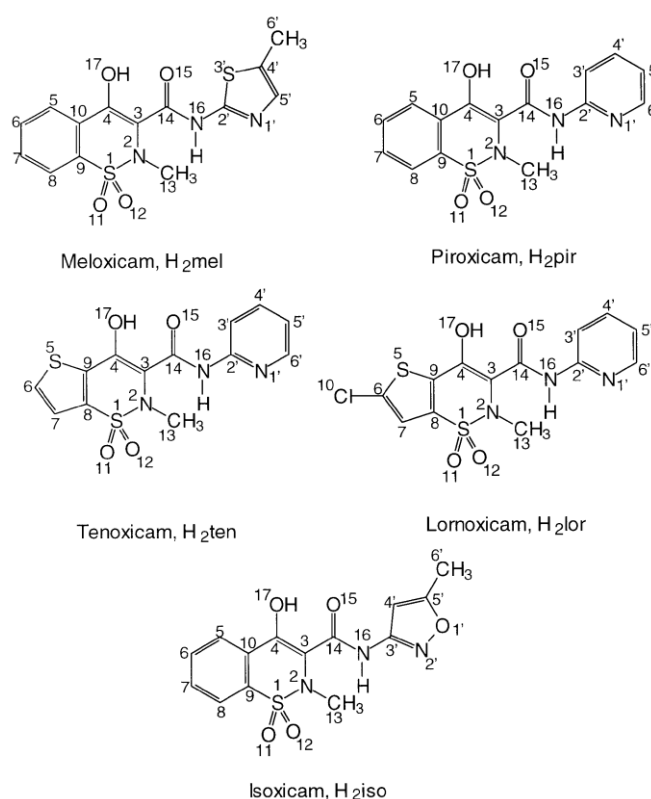


Fig. F4.3. Estructura química de los oxicams (Defazio, 2002).

Así pues, el reemplazamiento del anillo benzo del piroxicam con un anillo tieno para generar al tenoxicam, o con 2-clorotieno para formar lornoxicam no debería, en principio, alterar dramáticamente la lipofilidad (dada por el coeficiente de partición entre octanol/agua,  $\log P_{\text{oct}}$ ), dado que los valores del  $\log P_{\text{oct}}$  del tiofeno (1.81) y del 2-clorotiofeno (2.54) son de similar magnitud al del benceno (2.13). Sin embargo, los efectos de retiro de electrones del átomo de azufre pueden cambiar, en cierto grado, las propiedades electrónicas de los grupos vecinos. El reemplazamiento del anillo piridin-2-

il de piroxicam con un anillo de 5-metilisoxazol-3-il para dar lugar al isoxicam o con un anillo de 3-metiltiazol-2-il para generar el meloxicam parece ser isolipofílico, ya que la lipofilicidad del 5-metilisoxazol ( $\log P_{\text{oct}} = 0.45$ ) o del 5-metiltiazol ( $\log P_{\text{oct}} = 0.71$ ) es similar a la de la piridina ( $\log P_{\text{oct}} = 0.65$ ). Aparentemente, esta sustitución conduce a una disminución dramática en la basicidad del átomo de nitrógeno del heterociclo sustituyente de la carboxamida y, por lo tanto, un cambio en aspectos electrónicos.

Las descripciones cualitativas y las predicciones de las propiedades fisicoquímicas basadas en la contribución aditiva de los grupos podrían no ser válidas, si llegan a existir interacciones intramoleculares sutiles (Tsai, 1993).

### **4.3 GENERALIDADES DE LOS EICOSANOIDES**

Los eicosanoides (del griego *eicos*, veinte) constituyen familias de productos oxigenados derivados de ácidos grasos poliinsaturados que tienen 20 átomos de carbono y enlaces dobles sucesivos separados por grupos metileno. Se forman por tres vías oxidantes que utilizan oxígeno molecular como cosustrato (Kalant, 2002). Dichas sustancias son las siguientes: prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclina, leucotrienos, lipoxinas, entre otros (fig. F4.4). Poseen acciones fisiológicas diversas o incluso contrapuestas (Florez, 2004).

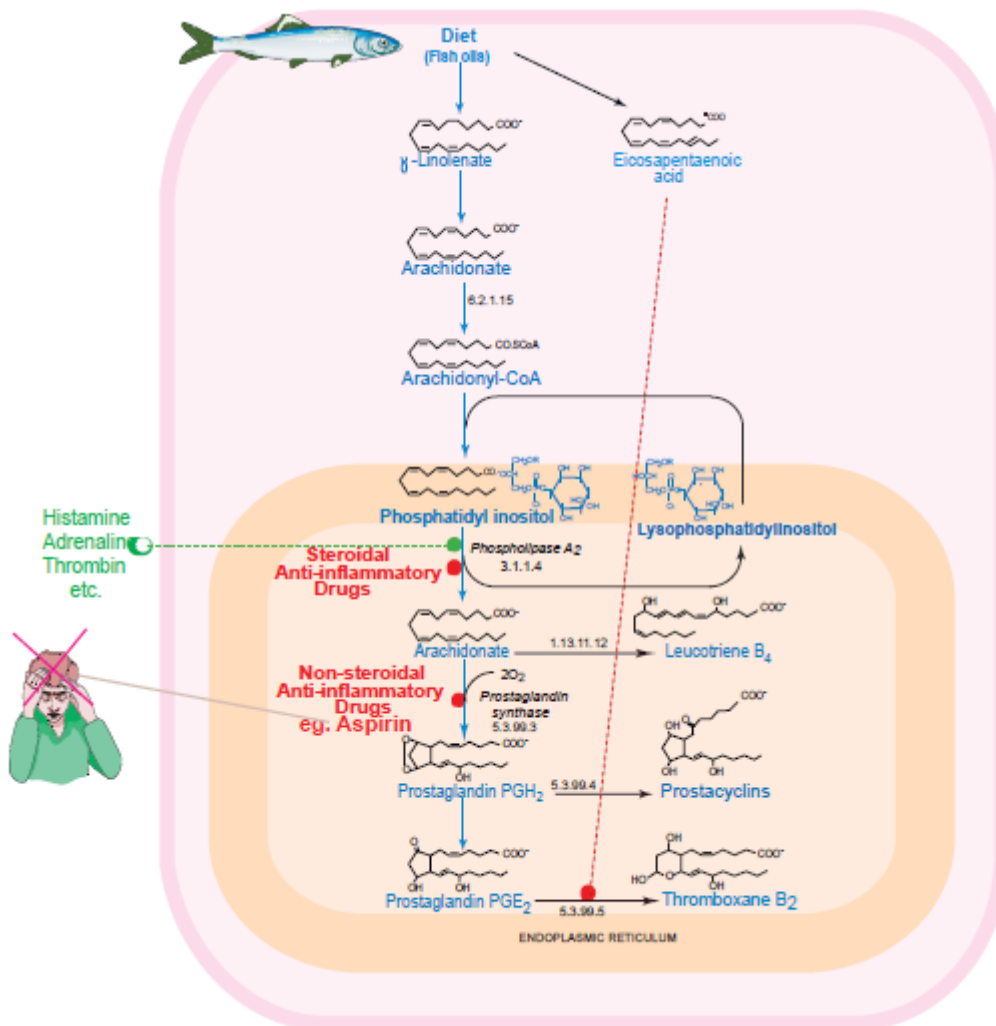


Fig. F4.4. Síntesis de algunas prostaglandinas a partir del ácido araquidónico. Las prostaglandinas están involucradas en procesos inflamatorios como la AR, en el control de la presión sanguínea, coagulación sanguínea, o en la complicación del dolor y la fiebre. El ácido araquidónico se sintetiza a partir del ácido linolénico de la dieta. Es metabolizado para transformarse en un grupo acilo en los fosfolípidos (fosfatidilinositol) que es parte de la membrana del retículo endoplásmico, y de aquí transformarse de nuevo en ácido araquidónico libre por la fosfolipasa A<sub>2</sub> (<http://www.sigmaaldrich.com>).

Los precursores de los eicosanoides son los ácidos araquidónico, linoléico, linolénico, eicosapentaenóico y docosahexaenóico, que se obtienen de fuentes dietéticas (Kalant, 2002).

El ácido araquidónico se ingiere en la dieta, o se deriva del metabolismo del ácido linolénico y se almacena formando parte de los fosfolípidos de la membrana celular. Su metabolización es inmediata mediante la actuación de 3 sistemas enzimáticos principales: a) la *ciclooxigenasa*, de cuya actuación proceden los *prostanoides*, término que engloba las **prostaglandinas**, los **tromboxanos** y la **prostaciclina**; b) las diversas *lipooxigenasas*, que median la producción,

entre otras sustancias, de los **leucotrienos** y las **lipoxinas**, y c) el *citocromo P450*, que origina los denominados productos de la vía de la *epoxigenasa* (Florez, 2004).

Las *prostaglandinas* son una familia de ácidos carboxílicos de cadena recta C-20 con grados variables de insaturación, que además contienen ciclopentano. Todas las prostaglandinas llamadas primarias tienen el mismo esqueleto de carbono, al que se le da el adecuado nombre de *ácido prostanóico* (fig. F4.5), en el cual se basan los sistemas de numeración y nomenclatura de las estructuras derivadas (Kalant, 2002). La estructura del anillo es designada por las letras mayúsculas A, B, C, etc.; la posición del OH en el carbono 9 da origen a dos formas:  $\alpha$  y  $\beta$ . El subíndice 1, 2 y 3 señala el número de enlaces dobles en las cadenas laterales e identifica el ácido graso precursor (Florez).

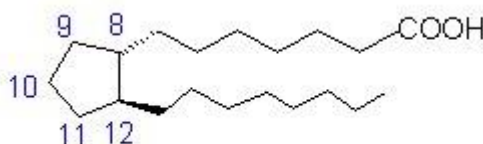


Fig. F4.5. Estructura del ácido prostanóico.

La liberación del ácido araquidónico a partir de los fosfolípidos de la membrana es el paso limitante que condiciona la velocidad de síntesis de los eicosanoides. Su liberación se debe a diversos estímulos físicos, químicos y mecánicos, que pueden ser: impulso nervioso, antígenos, reacciones inmunitarias, daño celular, isquemia, hormonas, neuropéptidos, etc. El primero, catalizado por la fosfolipasa  $A_2$ , escinde la estructura de los glicerofosfolípidos liberando el ácido graso y un lisofosfolípido. En el segundo, mediado por la fosfolipasa C, se rompe el fosfolípidos y se produce 1,2-diacilglicerol, sobre el cual actúan a continuación diversas lipasas que originan ácido araquidónico y glicerol.

Las otras enzimas esenciales en la síntesis de prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos son las *ciclooxigenasas* (COX). La COX-1 (la forma predominante) y la COX-2 son sensibles a la inhibición por esteroides y antiinflamatorios no esteroideos, como el ácido acetilsalicílico (ASA) o la indometacina. Las ciclooxigenasas convierten el ácido araquidónico en *endoperóxidos de prostaglandinas* cíclicos inestables ( $PGG_2$  y  $PGH_2$ ). La enzima *isomerasa de endoperóxido de prostaglandina* convierte a los endoperóxidos en las prostaglandinas  $PGD_2$ ,  $PGE_2$  y  $PGF_{2\alpha}$ . El  $TXA_2$  y  $PGI_2$  están formados por las enzimas del citocromo P450 llamadas *sintasa de tromboxano* y *sintasa de prostaciclina*, respectivamente. Todas estas enzimas juntas son conocidas como *complejo de sintasa de prostaglandina* y están fijadas a la membrana

plasmática, al retículo endoplásmico o a los dos sitios en muchos tipos de células (Fig. F4.6) (Kalant, 2002).

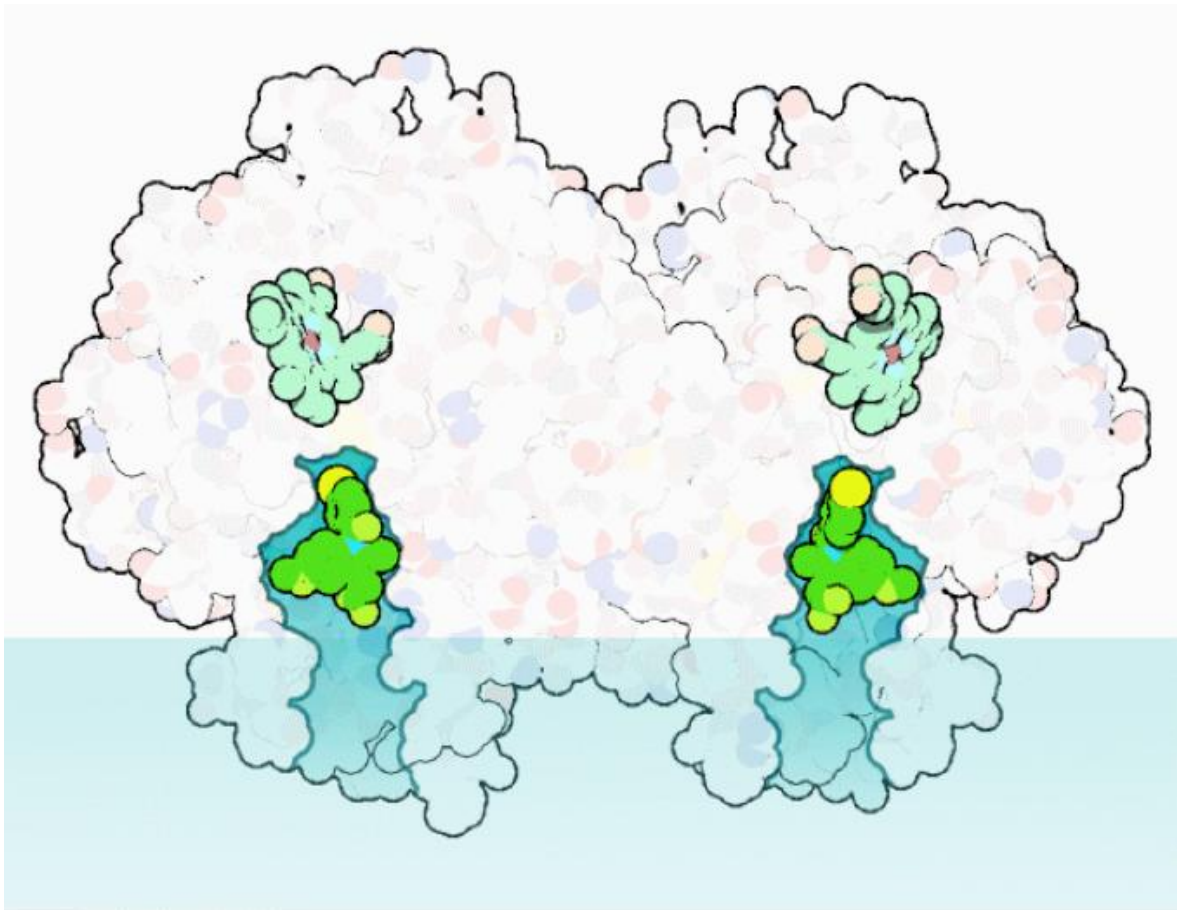


Fig F4.6. Estructura de la ciclooxygenasa. Esta enzima está embebida en retículo endoplásmico. En azul, se muestra representada la membrana del retículo endoplásmico, y en ella, se halla embebida una porción de la ciclooxygenasa. La COX forma un canal que se extiende desde el sitio de unión de la enzima a la membrana hasta el sitio activo, en el cual se observan 2 canales, en azul, y una molécula de ácido araquidónico por canal (<http://www.rcsb.org/>).

La secuencia completa de las prostaglandinas depende de la disponibilidad de ácidos grasos precursores en forma libre, ya que el ácido graso fijo a fosfolípidos, o los derivados de éster, no se convierten en prostaglandinas.

### 4.3.1 EFECTOS BIOLÓGICOS DE LOS EICOSANOIDES

Los eicosanoides se forman cuando la fosfolipasa u otras lipasas se activan en el tejido. Las causas posibles de este efecto son la acción de un estimulante fisiológico (p. ej., angiotensina, bradicinina, noradrenalina) o un estímulo patológico (como lesión o enfermedad tisular). Así, aunque la ciclooxigenasa y las lipooxigenasas generalmente se hallan en todo el organismo, hay considerable especificidad tisular en los tipos de productos que se forman. Las prostaglandinas y los productos de la lipooxigenasa se forman en todos los tejidos y tienen considerable potencia biológica en los sistemas de prueba, pero se desactivan en una o dos etapas en la circulación (<http://www.sigmaaldrich.com>).

En la tabla T4.1, se colocan resumidos algunos sistemas del organismo, el nombre de la prostaglandina y su efecto sobre dicho sitio.

Tabla T4.1. Efectos de los eicosanoides en diversos sistemas corporales (Adaptada de Florez, 2004).

SISTEMA	PROSTAGLANDINA	ACCIONES
Cardiovascular	PGD <sub>2</sub> , PGE <sub>2</sub> , PGI <sub>2</sub>  PGF <sub>2α</sub>  PGI <sub>2</sub>	Dilatación de arteriolas, esfínteres precapilares y vasos postcapilares; aumentan flujo sanguíneo y gasto cardíaco, y disminuye presión arterial.  Vasoconstricción de arterias y venas pulmonares.  Antiagregante plaquetario por aumento de cAMP en la plaqueta.
Músculo liso	PGE <sub>1</sub> , PGE <sub>2</sub> y PGI <sub>2</sub>  PGE <sub>1</sub> , PGE <sub>2</sub> y PGF <sub>2α</sub>  PGI <sub>2</sub>  PGE	Relajación de músculos bronquiales.  Contracción del músculo uterino de la embarazada.  Contracción del útero no grávido.  Relajación del útero no grávido.



Tabla T4.1 (continuación)

SISTEMA	PROSTAGLANDINA	ACCIONES
<b>GASTROINTESTINAL</b>	<b>PGE, PGI<sub>2</sub></b>  <b>PGE</b>	<b>INHIBICIÓN DE SECRECIÓN DE ÁCIDO GÁSTRICO; DISMINUCIÓN DEL VOLUMEN DE SECRECIÓN Y DE PEPSINA; AUMENTO DE LA SECRECIÓN DE BICARBONATO, MOCO Y FLUJO SANGUÍNEO; AUMENTO DE LA SECRECIÓN DE ENZIMAS PANCREÁTICAS. CONTRACCIÓN DEL MÚSCULO LONGITUDINAL INTESTINAL Y RELAJACIÓN DEL CIRCULAR.</b>
Renal	Prostaglandinas  PGD <sub>2</sub> , PGE <sub>2</sub> , PGI <sub>2</sub> PGE's	Aumento de formación de orina, natriuresis y caliuresis. Liberación de renina. Inhibición de la reabsorción de agua.
Nervioso	PGE <sub>2</sub> PGE, PGI <sub>2</sub>	Respuesta hipertérmica Sensibilización de las terminaciones nerviosas al dolor.
Endócrino	PGF <sub>2α</sub>	Regresión del cuerpo amarillo.

### 4.3.2 CARACTERÍSTICAS DE LAS CICLOOXIGENASAS (COX)

Como ya se mencionó anteriormente, se han descrito dos isoformas de ciclooxigenasa, la COX-1 y la COX-2. Ambas isoenzimas presentan una homología del 60%; manifiestan valores similares de  $K_m$ , los mismos sitios de unión para el ácido araquidónico y lo metabolizan mediante mecanismos similares (Kalant, 2002).

Estas enzimas poseen dos sitios activos diferentes, llamados en conjunto *prostaglandin sintetasa*. En un extremo, se halla el sitio activo ciclooxigenasa; en el otro extremo, hay un sitio activo peroxidasa separado por completo, necesario para activar a los grupos hemo que participan en la reacción de ciclooxigenasa. Este complejo enzimático es un dímero de subunidades idénticas, y en total, hay dos sitios activos ciclooxigenasa y dos sitios activos peroxidasa próximos entre sí. Cada subunidad tiene una pequeña protuberancia rica en carbono, que apunta hacia abajo. Estas protuberancias anclan al complejo a la membrana del retículo endoplásmico. El sitio activo de la ciclooxigenasa está profundamente embebido dentro de la proteína, y es alcanzable por medio de un túnel que se abre en medio de la protuberancia. Actúa como un embudo, que guía al ácido araquidónico desde la membrana hacia el interior de la enzima para su procesamiento.

La COX-1 es una enzima constitutiva encargada de la síntesis de prostaglandinas implicadas en la homeostasis general, y está expresada en la mayoría de los tejidos del organismo.

La COX-2 es una isoforma indetectable de forma basal en la mayoría de los tejidos y solo se encarga de producir prostanoides en los lugares inflamados. En respuesta a un estímulo adecuado del tipo de mitógenos, citoquinas y factores tumorales, la COX-2 puede expresarse en la mayoría de tejidos, siendo dicha expresión bloqueada por los corticoides (Florez, 2004).

Es importante saber que COX-1 está ampliamente distribuida a través del tracto gastrointestinal (GI) donde se sabe que lo protege contra el daño gástrico. COX-2 es indetectable o está presente solo a bajas concentraciones en el tracto GI. En contraste, COX-2 es detectable en leucocitos, sinoviocitos y en el sistema nervioso central (SNC) –en dichos sitios parece desempeñar un papel en la inflamación, fiebre y dolor, respectivamente–. COX-2 es responsable de la inflamación e hiperalgesia mientras que COX-1 es crítica para la protección gástrica (Marnette, 2005).

En la tabla T4.2, se comparan a la COX-1 y a la COX-2.

Tabla T4.2. Comparación entre las dos isoformas de la COX (Osiri, 1999).

	COX-1	COX-2
Localización	Tejido sinovial Linfocitos T; CD3+; CD4+ Retículo endoplásmico	Tejido sinovial Monocitos, macrófagos Retículo endoplásmico, A. de Golgi, citoplasma y membrana nuclear
Regulación	Constitutiva (estómago, intestino, riñones, plaquetas)	Inductiva
Gen	Cromosoma 9	Cromosoma 1
Tamaño del gen	22 kb	8 kb
Intervalo de expresión	2-4 ocasiones	10-80 ocasiones
No. de aa.	602	604
Peso molecular	69,054 kD	69,093 kD
Función importante	Homeostasis	Homeostasis
mRNA inducido por:		
*suero	↑	↑↑↑↑
*cAMP	↑	↑↑↑
*IL-1	↑	↑↑↑↑
*LPS	↓	↑↑↑
*Glucocorticoides	---	↓↓↓

### ***4.3.3 MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (AINES)***

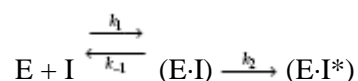
Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) son un grupo de compuestos estructuralmente diversos utilizados para el tratamiento a largo plazo de enfermedades reumáticas crónicas como la artritis reumatoide, osteoartritis y espondilitis anquilosante. Poseen 3 efectos principales, que son: antiinflamatorio, antipirético y analgésico.

La variación en su eficacia y tolerancia dependen de sus propiedades fisicoquímicas (constantes de ionización  $-pK_a$ , solubilidad, coeficiente de partición, etc.) que determinan su distribución

en el organismo. La enzima blanco para la acción de los AINEs es la ciclooxigenasa (Luger, 1996).

Se sabe que los eicosanoides actúan en receptores distintivos ligados a la proteína G, fijados a la membrana celular, que modifican la actividad de la adenililciclase o que activan la fosfolipasa C e incrementan la formación de diacilglicerol y trifosfato de inositol, que eleva la concentración citosólica de calcio. Los eicosanoides PGG<sub>2</sub>, PGH<sub>2</sub> y TXA<sub>2</sub> activan la agregación plaquetaria al aumentar la concentración de calcio; en cambio, PGE<sub>1</sub>, PGD<sub>2</sub> y PGI<sub>2</sub> inhiben la agregación plaquetaria al aumentar la concentración de AMP cíclico.

Se ha demostrado por mucho tiempo que la inhibición de la COX por la mayoría de los AINES implica un mecanismo de al menos 2 pasos:



El primer paso involucra la formación de un complejo rápidamente reversible (E·I), que representa una enzima inhibida competitivamente (para un tratamiento matemático más detallado, consulte el Anexo D). Algunos AINES, como el ibuprofeno y el ácido mefenámico, son inhibidores puramente competitivos de la COX-1 y COX-2. El segundo paso involucra la conversión del complejo (E·I) al complejo (E·I\*), en el cual el inhibidor está unido con más fuerza a la enzima; este paso ocurre en segundos a minutos y podría reflejar la inducción de un cambio conformacional de la proteína. Para la mayor parte de las enzimas, el número de recambio,  $k_2$ , varía entre 1 y  $10^5 \text{ s}^{-1}$  bajo condiciones fisiológicas. La tabla T4.3 muestra algunos valores del número de recambio para algunas enzimas.

Tabla T4.3. Número de recambio para varias enzimas (Chang, 2008).

Enzima	Número de recambio ( $k_2/\text{s}^{-1}$ )
Acetilcolinesterasa	$1.4 \times 10^4$
Catalasa	$1.0 \times 10^7$
Anhidrasa carbónica	$1.0 \times 10^6$
Quimiotripsina	$5.1 \times 10^{-2}$
Fumarasa	$8.0 \times 10^2$
Ureasa	$1.0 \times 10^4$

Se ha encontrado que los AINEs se disocian con mayor rapidez de COX-1 que de COX-2, ya que la unión a ésta última es más fuerte. Esto podría dar una mayor duración de acción contra COX-2 que COX-1

Todos los inhibidores, a pesar de su selectividad, se unen al sitio activo del ácido araquidónico, que se localiza en la mitad superior de un canal que va desde la interfase de la membrana hasta el interior de la proteína. Una constricción formada por los residuos Arg120, Tyr355 y Glu524 marca el fondo del sitio de acción del ácido araquidónico y le restringen el acceso. La apertura y cierre de esta constricción podría contribuir a la dependencia con el tiempo de la inhibición exhibida por algunos AINEs.

El grupo guanidinio de la Arg120 forma pares iónicos con el ácido araquidónico y AINEs con grupos carboxilo, mientras que el residuo Tyr355 resguarda estéricamente la entrada del sitio activo.

La selectividad de los diarilheterociclos por COX-2 se debe a la inserción de grupos sulfonamida o sulfona en un espacio lateral al sitio principal de unión del ácido araquidónico. Este sitio lateral está limitado por el residuo Val523, y la correspondiente región de COX-1 es inaccesible debido a la presencia de un residuo de Ile en lugar de una Val en la posición 523, que impide estéricamente la unión de los inhibidores. Otros cambios entre COX-2 y COX-1 que contribuyen a aumentar la rigidez de este espacio lateral incluyen las sustituciones Arg513His y Val434Ile (Marnette, 2005).

## **4.4 IMPORTANCIA DEL PH EN LA ABSORCIÓN DE LOS FÁRMACOS**

Cuando un fármaco ingresa al organismo a través de una forma farmacéutica oral, éste presenta una serie de procesos farmacocinéticos:

\*Absorción: es el movimiento de un fármaco desde el sitio de administración hasta la circulación sanguínea.

\*Distribución: es el proceso por el cual el fármaco difunde o es transportado desde el espacio intravascular hasta los tejidos y células corporales.

\*Metabolismo: es la conversión química o transformación, de fármacos o sustancias endógenas, en compuestos más fáciles de eliminar.

\*Eliminación: excreción de un compuesto, metabolito o fármaco no cambiado, del cuerpo mediante un proceso renal, biliar o pulmonar.

La absorción del fármaco depende de varios factores, como son el transporte a través de membranas (difusión simple, difusión facilitada, transporte activo), tamaño del fármaco (pero molecular), área del sitio de absorción, liposolubilidad, y estado de ionización (que depende del pH).

En éste último caso, el pH de un fármaco ácido está dado por la ecuación de Henderson-Hasselbalch:

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \left( \frac{[\text{F}^-]}{[\text{HF}]} \right) \text{ ----- (E4.1)}$$

donde:

$\text{pK}_a$ : constant de acidez del fármaco F

$[\text{F}^-]$ : concentración de la especie ionizada del fármaco

$[\text{HF}]$ : concentración de la especie no ionizada del fármaco

Para un fármaco básico, el pH se expresa de la siguiente manera:

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \left( \frac{[\text{F}]}{[\text{HF}^+]} \right) \text{ ----- (E4.2)}$$

Cuando los fármacos se disuelven, suelen estar en forma ionizada, pero las barreras celulares son permeables a las formas no ionizadas. Las fracciones ionizada y no ionizada dependen del  $\text{pK}_a$  y del pH del medio. La figura F4.7 describe mejor lo anterior.

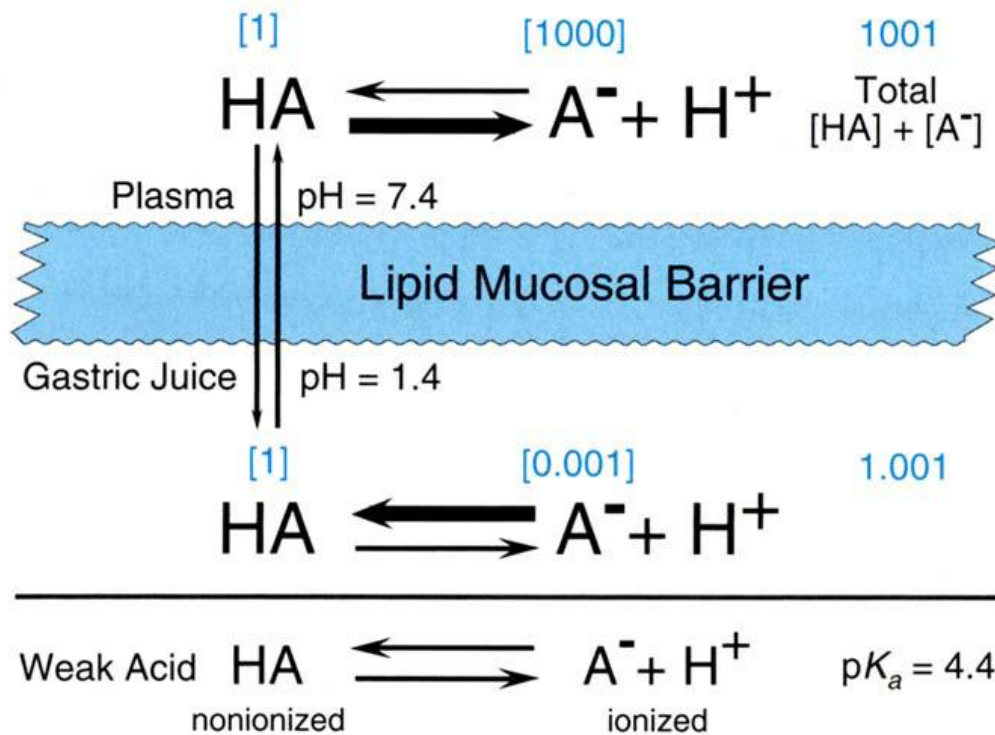


Fig. F4.7 Mecanismos de difusión de fármacos a través de las membranas biológicas en términos del estado de ionización.

De la ecuación anterior, se observa que para valores de  $\text{pH} > \text{p}K_a$ , predomina la especie no ionizada y para valores de  $\text{pH} < \text{p}K_a$ , predomina la especie ionizada.

Para la determinación del  $\text{p}K_a$ , existen diversos métodos, que poseen diferentes ventajas, desventajas y varían en su rango de concentración. En la tabla T4.3, se resumen estos métodos (<http://www.uam.es>).

Tabla T4.4. Métodos para la determinación del pK<sub>a</sub> (Morales, 1993).

MÉTODO	VENTAJAS	DESVENTAJAS	CONCENTRACIÓN	TAMAÑO DE LA MUESTRA
Potenciométrico de Sirius	Rápido, conveniente	Muestras neutras o insolubles no pueden ser medibles	$1 \times 10^{-4}$ M	1-5 mg
Sirius-Yesuda Shedlovsky	Para especies insolubles	Requiere de 3 o más titulaciones	$5 \times 10^{-4}$ M	5 mg
Potenciométrico manual	Simple, rápido	Inútil para pK <sub>a</sub> 's bajos o traslapados	$> 25 \times 10^{-4}$ M	50 mg
Solubilidad	Para compuestos muy insolubles	Lento, poca exactitud	$< 5 \times 10^{-4}$ M	10 mg
Espectrofotometría UV	Para especies muy poco solubles o escasos	Lenta	$25 \times 10^{-6}$ M	6 mg

El método espectrofotométrico ofrece la ventaja de ser empleada para especies de muy baja solubilidad. Se describe a continuación la espectrofotometría.

## 4.5 ESPECTROFOTOMETRÍA

La espectrofotometría es el conjunto de procedimientos que utilizan luz para medir concentraciones químicas. Para comprender mejor a la espectrofotometría, es conveniente explicar la naturaleza de la luz.



### 4.5.1 PROPIEDADES DE LA LUZ

La luz puede describirse en términos de partículas y ondas. Como ondas, las de la luz constan de campos eléctricos y magnéticos, que oscilan en planos perpendiculares entre sí. El campo eléctrico se encuentra en el plano  $xy$ , y el campo magnético en el plano  $xz$  (fig. F4.8). La **longitud de onda**,  $\lambda$ , es la distancia entre las crestas de dos ondas. La **frecuencia**,  $\nu$ , es el número de oscilaciones completas de una onda en un segundo. La unidad de frecuencia es el inverso de los segundos,  $s^{-1}$ , y la oscilación por segundo se denomina **hertzio** (Hz).

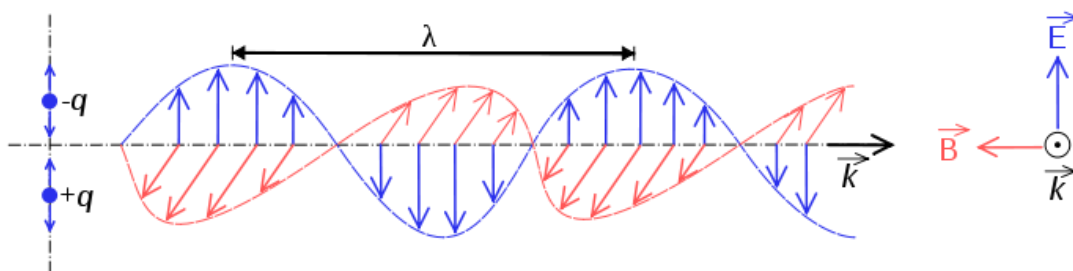


Fig. F4.8. Onda electromagnética. En azul, se muestra el campo eléctrico -plano  $xy$ -, y en rojo, aparece el campo magnético -plano  $xz$ - (Harris, 2007).

Por ser onda, la luz visible es solo una fracción de todo el espectro electromagnético, que se muestra en la figura F4.9.

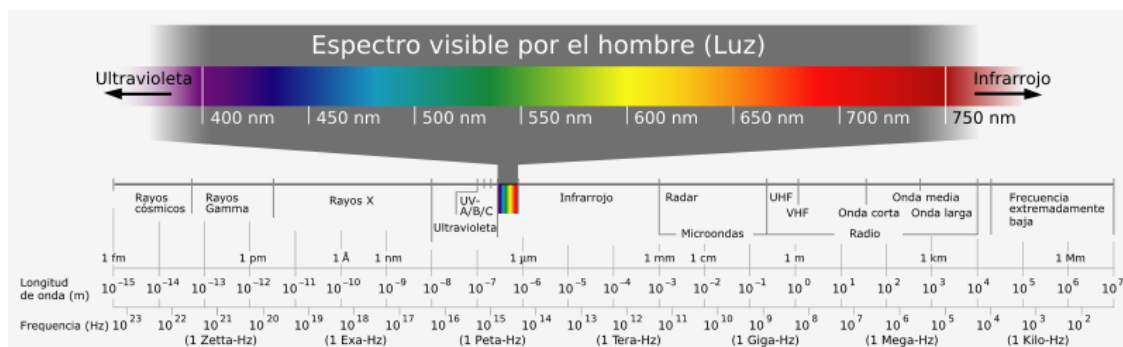


Fig. F4.9. Espectro electromagnético. La región visible abarca desde los 380 nm hasta los 780 nm. La luz UV abarca desde 15 nm hasta los 400 nm (<http://agaudi.files.wordpress.com/>).

La frecuencia y la longitud de onda se relacionan por la siguiente ecuación:

$$\nu\lambda = c \text{ ---- (E4.3)}$$

donde  $c$  es la velocidad de la luz ( $2.998 \times 10^8$  m/s en el vacío). En un medio distinto del vacío, la velocidad de la luz es  $c/n$ , donde  $n$  es el **índice de refracción** de ese medio.

Para longitudes de onda en el visible la mayoría de las sustancias tienen  $n > 1$ , de modo que la luz visible se propaga más lentamente a través de la materia que en el vacío. Cuando la luz atraviesa dos medios con diferentes índices de refracción, la frecuencia permanece constante, pero varía la longitud de onda.

La luz puede ser concebida como partículas, llamadas **fotoes**, que transportan energía  $E$  dada por:

$$E = h\nu \text{ ---- (E4.4)}$$

donde  $h$  es la constante de Planck ( $= 6.62618 \times 10^{-34}$  J s). La ecuación anterior indica que la energía es proporcional a la frecuencia. Combinando las ecuaciones (E4.3) y (E4.4), se tiene:

$$E = hc/\lambda = hc\bar{\nu} \text{ ---- (E4.5)}$$

donde  $\bar{\nu}$  se llama **número de onda**. La unidad SI del número de onda es el inverso del metro,  $\text{m}^{-1}$ . La unidad más corriente del número de onda en la literatura es  $\text{cm}^{-1}$ . La luz visible, que es la forma de radiación electromagnética que vemos, representa sólo una pequeña fracción del espectro electromagnético.

## 4.5.2 ABSORCIÓN DE LUZ

Cuando una molécula absorbe un fotón, su energía aumenta. Se dice que la molécula ha pasado a un **estado excitado**. Si una molécula emite un fotón, su energía disminuye. El estado de mínima energía de una molécula se llama **estado fundamental**.

Cuando una muestra absorbe luz, la **potencia radiante** del haz de luz disminuye. La potencia radiante,  $P$ , es la energía por segundo y por unidad de área del haz de luz. La luz se hace pasar a través de un **monocromador** para seleccionar una longitud de onda. La luz monocromática, con una potencia radiante  $P_0$ , incide en una muestra de longitud  $b$ . La potencia radiante del haz que emerge por el lado opuesto de la muestra es  $P$ .

La **transmitancia**,  $T$ , es la fracción de la luz incidente que pasa a través de la muestra:

$$T = P/P_0 \text{ ---- (E4.6)}$$

Por lo tanto,  $T$  puede valer de 0 a 1. La absorbancia se define como

$$A = -\log (P/P_0) = -\log T \text{ ---- (E4.7)}$$

La absorbancia es importante porque es directamente proporcional a la concentración,  $c$ , de la especie que absorbe la luz en la muestra.

$$A = \epsilon bc \text{ ---- (E4.8)}$$

La ecuación (E4.8) se llama la ley de Lambert-Beer o simplemente **Ley de Beer**. La absorbancia es adimensional. La concentración de la muestra,  $c$ , normalmente viene dada en unidades de mol/L (M). El paso óptico,  $b$ , normalmente se expresa en centímetros. La cantidad  $\epsilon$  se llama **absortividad molar** y tiene unidades de  $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$ , y así el producto  $\epsilon bc$  es adimensional. La absortividad molar es la característica de una sustancia que nos dice cuánta luz absorbe a una longitud de onda determinada. Tanto  $A$  como  $\epsilon$  dependen de la longitud de onda de la luz. Un **espectro de absorción** es una gráfica que muestra cómo varía  $A$  (o  $\epsilon$ ) al variar la longitud de onda.

La parte de una molécula responsable de la absorción de la luz se llama  **cromóforo**. Toda sustancia que absorbe luz visible aparece coloreada cuando transmite o refleja la luz (la luz blanca contiene todos los colores del espectro visible).

La ley de Beer afirma que la absorbancia es proporcional a la concentración de la especie absorbente. Esta ley se aplica a la radiación *monocromática* y es válida exactamente para disoluciones diluidas ( $\leq 0.01 \text{ M}$ ) de la mayoría de las sustancias. En disoluciones concentradas, las moléculas de soluto interactúan entre sí debido a su proximidad. Cuando las moléculas del soluto se acercan unas a otras, sus propiedades cambian algo. A concentraciones muy altas, los solutos se convierten prácticamente en disolventes. Las propiedades de una molécula no son exactamente las mismas en diferentes disolventes. Los solutos de una disolución que no absorben también pueden interactuar con las especies absorbentes y alterar la absortividad.

### **4.5.3 EL ESPECTROFOTÓMETRO**

La luz procedente de una fuente continua pasa a través de un monocromador, que selecciona una banda estrecha de longitudes de onda del haz incidente. Esta luz “monocromática” atraviesa una muestra de paso óptico  $b$ , y mide la potencia radiante de la luz que emerge.

En espectroscopía visible y UV se coloca normalmente una muestra líquida en una celda llamada **cubeta**, que tiene paredes planas de sílice fundida ( $\text{SiO}_2$ ). El vidrio es adecuado para espectroscopía visible pero no para UV, porque absorbe radiación UV.

Existen 2 tipos de espectrofotómetros: los de haz simple y los de doble haz. Un instrumento de haz simple analiza un único haz de luz. En este caso no se mide directamente la potencia radiante incidente  $P_0$ . En realidad, se mide la potencia radiante de la luz que pasa a través de una cubeta de referencia que contiene el disolvente puro, y que se define como  $P_0$ . Luego se retira esta cubeta y se reemplaza por otra idéntica que contiene la muestra. La potencia radiante de la luz que llega al detector después de pasar por la muestra es la cantidad  $P$ . Conociendo  $P$  y  $P_0$  se puede determinar  $T$  o  $A$ . La cubeta de referencia, que contiene el disolvente puro (o el blanco), compensa la reflexión, dispersión y absorción debida a la cubeta y al disolvente.

En un espectrofotómetro de doble haz, la luz pasa alternadamente por la cubeta de la muestra y de la referencia, dirigida por un motor que gira un espejo, que de esta manera entra y sale del paso de la luz. Cuando el *cortador* no desvía el haz, la luz pasa a través de la muestra, y el detector mide la potencia radiante denominada  $P$ . Cuando el cortador desvía el haz a través de la cubeta de referencia, el detector mide  $P_0$ . El haz se corta varias veces por segundo, y el círculo compara automáticamente  $P$  y  $P_0$ , dando así la transmitancia y la absorbancia. En la figura F4.10 se representan los espectrofotómetros de uno y doble haz.

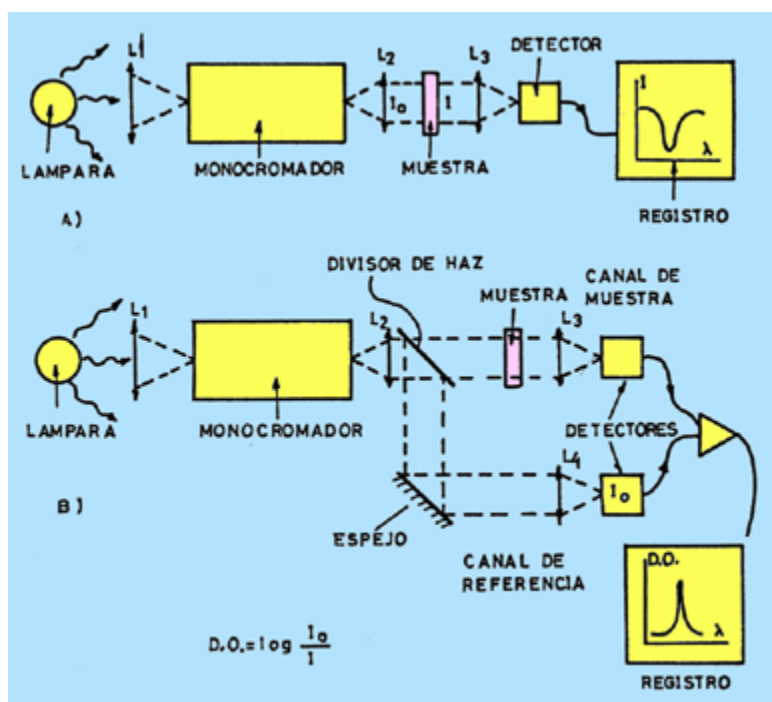


Fig. F4.10. Espectrofotómetros A) de simple haz, y B) de doble haz (<http://www.uned.es/>).

En espectrofotometría, se escoge la longitud de onda de máxima absorbancia por dos razones: (1) la curva es relativamente aplanada alrededor del máximo, de manera que apenas varía la absorbancia si deriva un poco el monocromador, o si varía algo la anchura de banda escogida. La ley de Beer se cumple mejor cuando la absorbancia es casi constante a lo largo de la banda escogida de longitudes de onda. (2) La sensibilidad del análisis es máxima en el máximo de absorbancia (es decir, se consigue la máxima respuesta para una concentración dada de analito). Para determinar un compuesto por espectrofotometría debe absorber luz, y la absorción debe poder distinguirse de la debida a otras sustancias que pueda haber en la muestra. La mayoría de los compuestos absorben radiación ultravioleta, y en análisis se utiliza normalmente el espectro visible. Si no hay especies interferentes, puede utilizarse la absorbancia ultravioleta.

#### ***4.5.4 ¿QUÉ PASA CUANDO UNA MOLÉCULA ABSORBE LUZ?***

Cuando una molécula absorbe un fotón pasa a un *estado excitado* de mayor energía. Y al revés, cuando una molécula emite un fotón, disminuye su energía en un valor igual a la energía del fotón.

Los **orbitales moleculares** describen la distribución de electrones en una molécula, del mismo modo que los *orbitales atómicos* describen la distribución de electrones en un átomo.

En toda **transición electrónica** se produce un salto de un electrón de un orbital a otro, con el consiguiente aumento o disminución de la energía de la molécula. Existen dos posibles transiciones, dependiendo de los números cuánticos de espín del estado excitado. Los estados de espines opuestos se llaman **estados singuletes**. Si los espines son paralelos, los estados excitados se llaman **estados tripletes**. Se llaman estado *singulete* y *triplete* porque un estado triplete se desdobra en tres niveles de energía próximos en un campo magnético, mientras que un estado singulete no se desdobra.

Los estados excitados singulete y triplete de mínima energía se llaman  $S_1$  y  $T_1$ , respectivamente. En general, un estado  $T_1$  tiene menos energía que un estado  $S_1$ .

El espaciado entre niveles energéticos rotacionales de una molécula es menor que el de los niveles vibracionales.

En general, cuando una molécula absorbe luz de suficiente energía para provocar una transición electrónica, ocurren también **transiciones vibracionales** y **rotacionales**, es decir, se producen cambios en los estados vibracionales y rotacionales. Las bandas de absorción electrónica, de ordinario, son muy anchas, porque son posibles muchos niveles vibracionales y rotacionales distintos, próximos en energía. Una molécula puede absorber fotones dentro de una amplia

---

gama de energía, y en todos los casos pasar del estado electrónico fundamental a un determinado estado excitado electrónico.

#### 4.5.5 ¿QUÉ LE OCURRE A LA ENERGÍA ABSORBIDA?

Supongamos que la absorción hace que una molécula pase desde el estado electrónico fundamental,  $S_0$ , a un estado vibracional y rotacional excitado del estado electrónico excitado  $S_1$ . Normalmente, el primer proceso después de esta absorción es una *relajación vibracional* hasta el estado vibracional más bajo del estado  $S_1$ . En esta transición no radiante,  $R_1$ , la energía vibracional se comunica a otras moléculas (por ejemplo, al disolvente) mediante colisiones. El resultado neto es convertir parte de la energía del fotón absorbido en calor, que se transmite por todo el entorno.

En el nivel  $S_1$  pueden ocurrir varias cosas. La molécula podría pasar al estado vibracional más excitado de  $S_0$  de la misma energía que  $S_1$ . Esto se llama *conversión interna* (IC, *internal conversion*). Desde este estado excitado, la molécula podría volver de nuevo a su estado vibracional fundamental, transfiriendo su energía a moléculas vecinas a través de colisiones. Este proceso no radiante se denomina por  $R_2$ . Si una molécula sigue el paso A- $R_1$ -IC- $R_2$ , toda energía del fotón se habrá convertido en calor.

Alternativamente, la molécula podría pasar de  $S_1$  a un estado excitado vibracional de  $T_1$ . Este proceso se llama *cruce dentro del sistema* (ISC, *intersystem crossing*). Después de una relajación vibracional no radiante  $R_3$ , la molécula se encuentra en el nivel vibracional más bajo de  $T_1$ . Desde aquí, la molécula puede experimentar un segundo cruce dentro del sistema a  $S_0$ , seguido por una relajación no radiante  $R_4$ . Todos los procesos mencionados hasta ahora convierten simplemente luz en calor.

En cambio, desde  $S_1$  o  $T_1$ , una molécula podría relajarse a  $S_0$  emitiendo un fotón. La transición radiante  $S_1 \rightarrow S_0$  se llama **fluorescencia**, y la transición radiante  $T_1 \rightarrow S_0$ , **fosforescencia**. Las transiciones de fluorescencia y de fosforescencia pueden terminar en cualquier estado vibracional de  $S_0$ , no necesariamente en el estado fundamental. Las velocidades relativas de la conversión interna, del cruce del sistema, de la fluorescencia y de la fosforescencia dependen de la molécula del disolvente y de las condiciones de temperatura y presión. La energía de fosforescencia es menor que la de fluorescencia, y por lo tanto la fosforescencia se presenta a longitudes de ondas mayores que la fluorescencia.

La fluorescencia y la fosforescencia son relativamente raras. Por lo general, las moléculas decaen del estado excitado por transiciones no radiantes. El *tiempo de vida* de las fluorescencia

siempre es muy corta ( $10^{-8}$  a  $10^{-4}$  s). El tiempo de vida de la fosforescencia es mucho mayor ( $10^{-4}$  a  $10^2$  s). Esto significa que la fosforescencia es aún más rara que la fluorescencia, porque una molécula en el estado  $T_1$  tiene más probabilidades de experimentar cruce dentro del sistema a  $S_0$  antes de que se produzca fosforescencia (Harris, 2007; Skoog, 2005).

## 4.6 MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE CONSTANTES DE EQUILIBRIO

Las constantes de equilibrio termodinámicas indican la cuantitatividad de una reacción química a condiciones estándar. No para todos los equilibrios químicos que se estudian se encuentran reportadas estas constantes

Para poder realizar la determinación experimental de constantes de equilibrio por medio de la espectrofotometría UV/visible, el sistema se debe encontrar en estado de equilibrio (o al menos en estado estacionario) y se debe tener una estimación previa de la cantidad de equilibrios químicos independientes en el mismo. Además, se debe cumplir las leyes ideales de absorción, lo que implica la verificación de la ley de Beer (por cada especie que absorbe radiación electromagnética) y la ley de aditividad de las absorbancias.

Utilizando la información espectrofotométrica y los métodos gráficos, es posible estimar experimentalmente los valores de las constantes de equilibrio a las condiciones de trabajo impuestas en el sistema (condiciones condicionales). Existen varios métodos para la estimación de las constantes de equilibrio:

- a) Relaciones Molares. Este método consiste en determinar valores de absorbancia a una longitud de onda para diferentes sistemas donde la fracción molar de todos los componentes menos uno se mantiene constante mientras que la de éste último se hace variar.
- b) Variaciones Continuas. Este método consiste en determinar valores de absorbancia a una longitud de onda para diferentes sistemas donde la suma de las concentraciones de los componentes se mantiene constante, por lo que sus fracciones molares varían de 0 a 1.0.

c) Métodos de Bjerrum, Leden y Froneaus. En estos métodos se aprovecha la forma matemática polinomial de funciones tales como el coeficiente de complejación y el número promedio de ligantes, con la concentración del metal o el ligante. Se buscan las regiones y representaciones de estas funciones en las que es posible hacer una aproximación lineal. La gráfica de estas rectas por intervalos permite conocer los valores de las constantes de equilibrio y el número de ligantes de las especies predominantes que se encuentran relacionadas con los parámetros de las ecuaciones de las diferentes rectas.

Los métodos gráficos anteriores son importantes, ya que en un tiempo solamente se podían estimar las constantes de equilibrio por medio de ellos; sin embargo presentan una serie de limitaciones, entre las que destacan: que exista un solo equilibrio químico representativo en el sistema, que la estequiometría de la reacción no sea muy complicada y que la reacción sea cuantitativa.

Con el auge de la computación se crearon una serie de programas computacionales para el refinamiento de constantes de equilibrio en sistemas multirreaccionantes y multicomponentes. Estos programas varían de acuerdo al algoritmo matemático que emplean y a la información experimental que se utiliza. La tabla T4.4 muestra algunos programas, el algoritmo que emplean y los datos que requieren para el cálculo.

Tabla T4.5. Programas computacionales y sus algoritmos para el cálculo de constantes de estabilidad.

<b>PROGRAMA</b>	<b>ALGORITMO</b>	<b>DATOS</b>
SQUAD	GAUSS-NEWTON	ABSORBANCIAS
DALSFEK	MARQUARDT	ABSORBANCIAS F.E.M.
SUSPEQUA	GAUSS-NEWTON	ABSORBANCIAS F.E.M.
MIQUV	GAUSS-NEWTON	F.E.M.
MINICUAD	GAUSS-NEWTON	F.E.M.

La ventaja de los métodos computacionales sobre los gráficos, es que permiten el estudio de sistemas complicados (multirreaccionantes y multicomponentes).

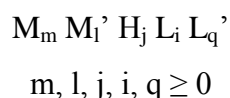


En el caso de SQUAD, para un mejor uso del mismo es necesario conocer el número de especies químicas que absorben radiación electromagnética en un sistema, para así poder proponer -más fácilmente- el número de equilibrios químicos independientes en el mismo. Esta información puede obtenerse a partir del programa TRIANG.

#### 4.6.1 SQUAD

SQUAD es un programa computacional creado por Legget escrito en lenguaje FORTRAN. Está diseñado para refinar constantes de equilibrio de un modelo químico propuesto, a partir de datos de absorbancia obtenidos a diferentes longitudes de onda y a diferente composición química del sistema.

El modelo químico propuesto puede ser dependiente o independiente del pH. El modelo químico propuesto puede tener especies del tipo:



El refinamiento de las constantes de equilibrio se realiza por medio de una minimización de la suma de los residuos de absorbancia cuadráticos -por mínimos cuadrados no lineales- empleando el algoritmo de Gauss-Newton.

$$U = \sum_{i=1}^I \sum_{k=0}^{NW} (A_{i,k}^T - A_{i,k}^E)^2 \text{ ----- (E4.9)}$$

*I*: todas las soluciones

*NW*: todas las longitudes de onda

$A_{i,k}^T$ : absorbancia calculada por SQUAD en la *i*-ésima solución a la *k*-ésima longitud de onda.

$A_{i,k}^E$ : absorbancia experimental en la *i*-ésima solución a la *k*-ésima longitud de onda.

Para conocer los valores de absorbancia se necesita resolver la ecuación de Beer; SQUAD propone los coeficientes de absorptividad molar por especie, y determina la concentración de cada una empleando el algoritmo de Newton-Raphson.

La convergencia se da si la diferencia en la minimización de un ciclo iterativo a otro difiere como máximo 0.001. Que el criterio anterior se cumpla no significa que se tiene el mejor refinamiento de constantes, debido a que se puede caer en el caso de una convergencia en un mínimo relativo.

Los parámetros estadísticos que emplea SQUAD son los siguientes:

- 1.- Parámetro de correlación (matriz)
- 2.- La desviación estándar sobre los datos de absorbancia ( $\sigma_{\text{datos}}$ ), y de las constantes ( $\sigma_{\text{ctes}}$ ).
- 3.- La desviación estándar por espectro ( $\sigma_{\text{espectro}}$ ).
- 4.- La desviación estándar sobre los coeficientes de absorptividad molar ( $\sigma_{\text{coef}}$ ).

El parámetro de correlación indica si existe una distribución conjunta de Y y las  $X_i$ , y puede valer de 0 a +1. Un coeficiente igual a 1, no siempre significa un buen juego de constantes refinadas.

El valor  $\sigma_{\text{datos}}$  es un indicativo de la validez del modelo químico propuesto. Se deben encontrar las desviaciones estándar entre  $\pm 0.0001$  a  $\pm 0.0004$ .

Para  $\sigma_{\text{ctes}}$ , se aceptan valores del orden de 1%. En el caso de  $\sigma_{\text{espectro}}$  y  $\sigma_{\text{coef}}$ , éstos dependen de las desviaciones estándar en los datos de absorbancia y de las constantes.

El análisis estadístico que presenta SQUAD, así como los intervalos que propone, depende en gran medida de la precisión del espectrofotómetro empleado, de la cantidad de datos alimentados y de la complejidad química del sistema bajo estudio.

#### 4.6.1.1 Significado del parámetro gamma

Para una celda la ecuación de Nerst es

$$E = E^0 - E_j - RT \ln \prod_i a_i^{\nu_i} \quad \text{----- (E4.10)}$$

donde:

$E_j$ : potencial de unión líquida

$E^0$ : fuerza electromotriz estándar

$a_i$ : actividad de la  $i$ -ésima especie

$\prod_i$ : signo de producto sobre el contador  $i$

$\nu_i$ : coeficientes estequiométrico de la especie  $i$ -ésima

En soluciones infinitamente diluidas,  $E_j$  vale cero y la actividad es aproximadamente igual a la concentración. Por lo tanto, se puede reescribir la ecuación de Nerst en términos de concentración y eliminar el potencial de unión líquida.

En soluciones que se encuentran lejos de las condiciones ideales en donde la fuerza iónica se impone con un electrolito,  $E_j$  no es despreciable y las actividades no se pueden aproximar por concentraciones.

Las constantes de equilibrio que se determinan para estos sistemas alejados de la idealidad, generalmente están expresadas en términos de concentraciones de todas las especies y de  $a_H$ . A estas constantes de equilibrio se les llama comúnmente **constantes de Brönsted**. Para ello, se ha encontrado una relación empírica que relaciona linealmente el valor de pH medido con  $-\log [H^+]$  cuando la fuerza iónica está impuesta. El parámetro gamma es un factor que permite conocer  $[H^+]$  a partir del pH medido, pero que depende de la naturaleza y concentración del electrolito utilizado para imponer la fuerza iónica y del electrodo de referencia empleado.

## 4.6.2 TRIANG

TRIANG es un programa computacional escrito en lenguaje FORTRAN. Se emplea para estimar el número de especies que absorben radiación electromagnética en el sistema, a partir de los valores de absorbancia a diferentes longitudes de onda para distintas soluciones, y considerando el error en las lecturas de transmitancia ( $\Delta T$ ).

La forma de establecer si una especie química absorbe radiación electromagnética involucra una comparación entre valores de absorbancia y los errores asociados a las mismas, suponiendo el cumplimiento de la ley de Beer y la de aditividades, de acuerdo al algoritmo que se muestra en la figura F4.11.

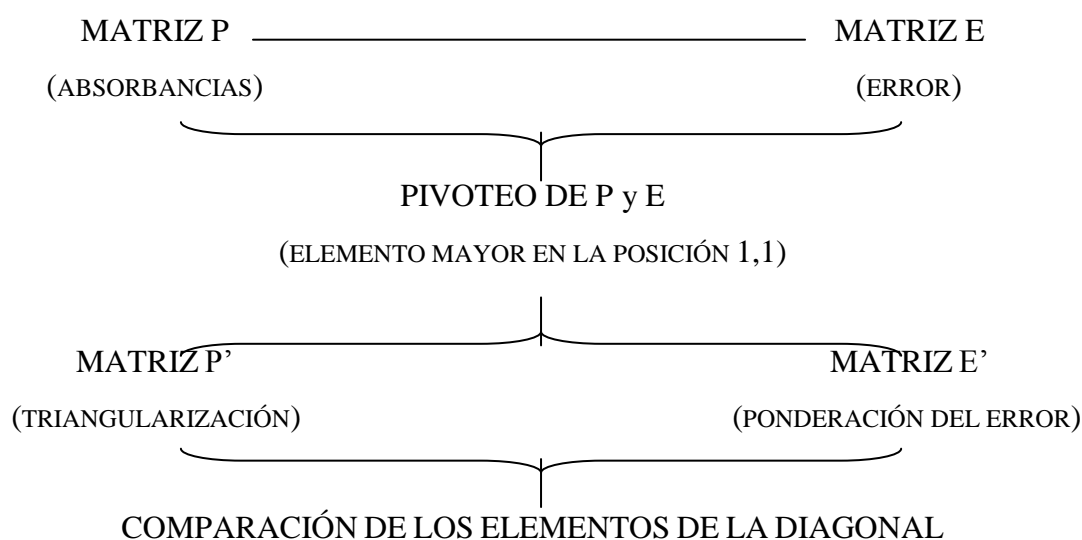


Fig. F4.11. Algoritmo que usa el programa TRIANG.

TRIANG calcula los elementos de una matriz de error, considerando el valor de  $\Delta T$ , la ecuación del error en absorbancia y la teoría de propagación del error.

Al comparar las diagonales, verifica si el elemento  $E'_{j,j}$  de la matriz del error multiplicado por tres es menor que el elemento  $P'_{j,j}$  de la matriz de absorbancias; entonces se concluye que ese elemento diagonal de la matriz de absorbancias es diferente de cero. En caso contrario se concluye que ese elemento es igual a cero.

El número de especies que absorben en el sistema se estima como la suma de los elementos  $P'_{j,j}$  diferentes de cero.

El error en las lecturas de transmitancia ( $\Delta T$ ) es igual a:

$$\Delta T = [(\text{Error}^2)_{\text{instrumental}} + (\text{error}^2)_{\text{volumétrico}}]^{1/2} \text{ ---- (E4.11)}$$

El error instrumental es igual al error que se comete en las lecturas de absorbancia y es función directa del espectrofotómetro empleado.

El error volumétrico está asociado fundamentalmente al material utilizado en el experimento para la manipulación y medición de líquidos.

Por lo tanto es importante estimar el valor de  $\Delta T$  para obtener una mejor información de TRIANG.

Para datos espectrofotométricos obtenidos experimentalmente el valor de  $\Delta T$  debe encontrarse en el intervalo  $0.003 \leq \Delta T \leq 0.010$ . El número de especies que se obtienen a través del programa TRIANG es muy sensible al valor de  $\Delta T$  (Morales, 1993).

#### 4.6.2.1 Archivo de entrada

La figura 1.12 es un esquema de las partes que constituyen el archivo de entrada.

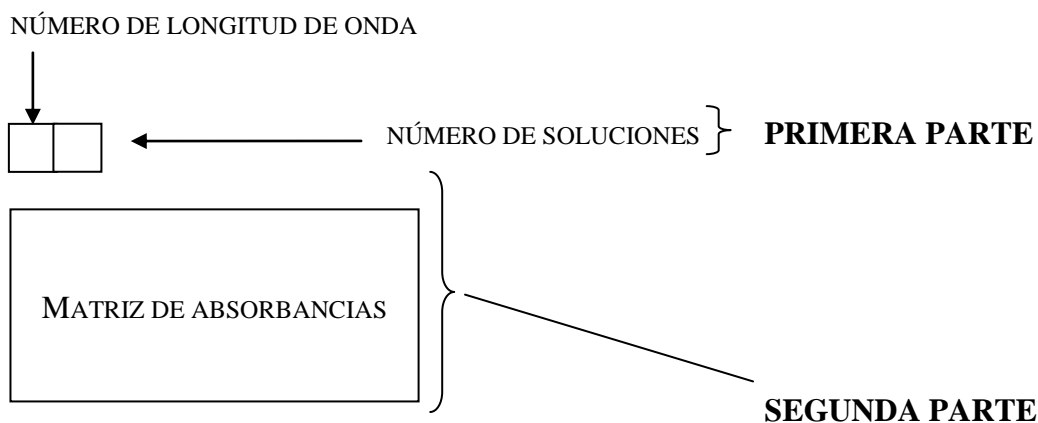


Fig. F4.12. Esquema de las partes del archivo de entrada del programa TRIANG.

## 4.7 QUÍMICA COMPUTACIONAL

La química computacional (también llamada modelaje molecular) es un conjunto de técnicas para investigar problemas en química a través de una computadora. Lo que generalmente se investiga con ella es:

- ◆ *Optimización de geometrías.* Es decir, cálculo de longitudes de enlace, ángulos, y diedros.
- ◆ *Energías de moléculas y estados de transición.* Indica si un isómero está favorecido en el equilibrio, y (a partir de estados de transición y energías de reactivos) cuán rápido sucederá una reacción.
- ◆ *Reactividad química.* Conociendo dónde están concentrados los electrones (sitios nucleofílicos) y a dónde quieren ir (sitios electrofílicos), permite predecir dónde será atacada una molécula por diversos tipos de reactivos.
- ◆ *Espectros IR, UV y RMN.* Pueden calcularse, y si la molécula es desconocida, obtenerlos como se esperaría que fueran.
- ◆ *La interacción de un sustrato con una enzima.* Observando cómo se ajusta una molécula en el sitio activo de una enzima, permite mejorar el diseño de mejores fármacos.
- ◆ *Propiedades físicas de las sustancias.* Dependen de las propiedades individuales de las moléculas y de cómo éstas interactúan en el seno del material. Por ejemplo, la resistencia y el punto de fusión de un polímero (por ejemplo, un plástico) dependen de qué tan bien las moléculas se mantienen juntas y de la magnitud de las fuerzas entre ellas. Esto tiene aplicación en el campo de la ciencia de los materiales.
- ◆ *Frecuencias vibracionales:* Calcular las frecuencias vibracionales de las moléculas resultantes de movimientos interatómicos dentro de la molécula. Las frecuencias dependen de la segunda derivada de la energía con respecto a la estructura atómica, y los cálculos de frecuencia pueden además predecir otras propiedades que dependen de la segunda derivada. Los cálculos de frecuencia no son posibles o prácticos para todos los métodos de química computacional (Lewars, 2003).

Al estudiar los aspectos anteriores, los químicos computacionales tienen una selección de métodos a su disposición. Las principales herramientas disponibles pertenecen a 5 amplias clases, y son:

- ◆ *Mecánica molecular.* Se basa en el modelo de una molécula como una colección de bolas (átomos) mantenidas juntas por resortes (enlaces). Si se conocen las longitudes normales de los resortes y los ángulos entre ellos, y cuánta energía se necesita para estirar y curvar los resortes, podemos calcular la energía de una colección dada de bolas y resortes, esto es, de una molécula dada; cambiando la geometría hasta la energía más baja permite realizar una *optimización de la geometría*, o sea, calcular una geometría de la molécula. Una característica de la mecánica molecular es su rapidez.
- ◆ *Cálculos con métodos ab initio (del latín, y significa “a partir de los primeros principios”).* Están basados en la ecuación de Schrödinger, que describe el comportamiento de los electrones. Los métodos *ab initio* resuelven la ecuación de Schrödinger para una molécula y proporciona la energía de una molécula y su *función de onda*. La función de onda es una función matemática usada para calcular la distribución electrónica, a partir de la cual pueden deducirse características de la molécula, por ejemplo, qué tan polar es la molécula, y qué partes de ella son propensas a ser atacadas por nucleófilos o electrófilos. Este tipo de cálculos son relativamente lentos.
- ◆ *Cálculos semiempíricos.* A lo igual que los métodos *ab initio*, se basan en la ecuación de Schrödinger. Sin embargo, se hacen muchas aproximaciones para resolverla, para no resolver integrales complicadas involucradas en los métodos *ab initio*; en lugar de ello, el programa construye un tipo de biblioteca de integrales que ha sido compilado y halla el mejor ajuste de alguna entidad calculada, como una geometría o energía (calor de formación), a los valores experimentales. El ajuste de los valores experimentales en un procedimiento matemático para obtener los valores mejor calculados se denomina *parametrización*. Es la mezcla de teoría y experimentos que hacen al método “semiempírico”: se basa en la ecuación de Schrödinger, pero parametrizada con valores experimentales. Los cálculos semiempíricos son más lentos que la mecánica molecular pero más rápidos que los métodos *ab initio*.
- ◆ *Cálculos del funcional de la densidad (con frecuencia llamados Teoría del Funcional de la Densidad -DFT-).* Del mismo modo que los métodos *ab initio* y los cálculos semiempíricos, se basan en la ecuación de Schrödinger. Sin embargo, a diferencia de los otros dos métodos, DFT no calcula una función de onda, sino más bien deriva la distribución electrónica (función de densidad electrónica) de forma directa. Un *funcional* es una entidad matemática que toma como argumento una función y produce otra función. Los cálculos DFT son más rápidos que los métodos *ab initio*, pero más lentos que los cálculos semiempíricos.

- ◆ *Cálculos de la dinámica molecular.* Aplican las leyes del movimiento a las moléculas. Así, puede simularse el movimiento de una enzima conforme cambia de forma al unirse a un sustrato, o el movimiento de un enjambre de agua alrededor de una molécula de soluto.

Las moléculas de gran tamaño pueden ser estudiadas solamente con mecánica molecular, porque otros métodos (métodos mecánico cuánticos, basados en la ecuación de Schrödinger: SE, *ab initio* y DFT) serían muy tardados. Las moléculas nuevas, con estructuras inusuales, son mejor investigadas con métodos *ab initio* o posiblemente con cálculos DFT, ya que la parametrización inherente en los métodos MM o SE no los hace confiables para moléculas que son muy diferentes de aquellas usadas en la parametrización. El método elegido depende en gran medida del problema en particular.

### 4.7.1 CONCEPTO DE SUPERFICIE DE ENERGÍA POTENCIAL (PES)

Considere una molécula diatómica AB. En algunos casos una molécula se comporta como bolas (átomos) unidas por resortes (enlaces químicos). Tomando un modelo macroscópico de bolas y resortes de la molécula diatómica en su geometría normal (la geometría de equilibrio), agarrando los “átomos” y modificando el modelo estirando o comprimiendo los “enlaces”, se incrementará la energía potencial del modelo molecular. El resorte estirado o comprimido posee energía, por definición, ya que es aplicada una fuerza a través de una distancia para deformarlo. Ya que el modelo es inmóvil mientras se mantienen en la nueva geometría, esta energía no es cinética sino *potencial* (“dependiente de la posición”). La gráfica de energía potencial contra longitud de enlace es un ejemplo de una PES.

Las moléculas se comportan de manera similar, pero difieren del modelo macroscópico de dos formas:

1. Vibran incesantemente alrededor de la longitud de enlace de equilibrio, de tal forma que siempre posee energía cinética ( $T$ ) y/o energía potencial ( $V$ ): conforme la longitud de enlace pasa a través de la longitud de equilibrio,  $V = 0$ , mientras que en el límite de la amplitud vibracional,  $T = 0$ ; en todas las otras posiciones tanto  $T$  como  $V$  son diferentes de cero. El hecho de que una molécula no está en realidad estacionaria con energía cinética de cero (siempre tiene un *punto de energía cero* (ZPE)), es mostrado en diagramas de energía potencial/longitud de enlace dibujando una serie de líneas arriba del mínimo de la curva, para indicar la posible



cantidad de energía vibracional que la molécula puede tener (los *niveles vibracionales* que puede ocupar). Una molécula nunca está en el mínimo de la curva, sino que más bien ocupa niveles vibracionales, y en un grupo de moléculas los niveles están poblados de acuerdo a su espaciado y la temperatura.

2. Cerca de la longitud de enlace de equilibrio  $q_e$  la curva de energía potencial/longitud de enlace para un modelo macroscópico de bolas y resortes o de una molécula real se describe bastante bien por medio de una ecuación cuadrática, la del oscilador armónico simple ( $E = [(q - q_e)^2 k]/2$ , donde  $k$  es la constante de fuerza del resorte). Sin embargo, la energía potencial se desvía de la curva cuadrática ( $q^2$ ) conforme  $q$  se aleja de  $q_e$ .

Una molécula diatómica AB tiene solo un parámetro de geometría que puede variarse, la longitud de enlace  $q_{AB}$ . En la PES de dicha molécula (que es una línea), la geometría de mínima energía potencial es el punto en el que  $dE/dq = 0$ .

Para una molécula con más de un parámetro de geometría, por ejemplo el agua, la geometría se define por medio de dos longitudes de enlace y un ángulo de enlace. Suponiendo que ambas longitudes de enlace son iguales (simetría  $C_{2v}$ ), entonces la PES para esta molécula triatómica es una gráfica de  $E$  vs dos parámetros geométricos,  $q_1$  = la longitud de enlace O–H, y  $q_2$  = el ángulo de enlace H–O–H. En la PES del agua, la geometría de menor energía está definida por el punto  $P_m$ , que corresponde a los valores de equilibrio de  $q_1$  y  $q_2$ ; en este punto  $dE/dq_1 = dE/dq_2 = 0$ .

Las superficies de energía potencial son importantes porque permiten visualizar y comprender la relación entre energía potencial y geometría molecular, así como a comprender cómo los programas de química computacional localizan y caracterizan estructuras de interés. Entre las principales tareas de la química computacional están la determinación de la estructura y la energía de las moléculas y de los estados de transición involucrados en reacciones químicas.

En una PES, un punto estacionario es aquel donde la superficie es llana, es decir, paralela al eje horizontal correspondiente a un parámetro de geometría (o al plano correspondiente a dos parámetros de geometría). Un mármol colocado en el punto estacionario permanecerá balanceado; es decir, estacionario (en principio; para un estado de transición el balanceo debería estar *exquisito*). En cualquier otro punto de la superficie de potencial el mármol caerá hacia una región de menor energía potencial.

Matemáticamente, un punto estacionario es uno en el cual la primera derivada de la energía potencial respecto a cada parámetro de geometría es cero:

$$\partial E/\partial q_1 = \partial E/\partial q_2 = \dots = 0$$

Los puntos estacionarios que corresponden a moléculas reales con tiempos de vida finitos (en comparación con los estados de transición, que solo existen por un instante), son *mínimos*, o de *energía mínima*: cada uno ocupa el punto de menor energía en su región en la PES y cualquier cambio en la geometría incrementa la energía.

Para una molécula que presenta dos mínimos y un estado de transición que los une, se denomina *coordenada intrínseca de reacción* (ICR, por sus siglas en inglés) a la ruta de menor energía que une ambos mínimos, y es la ruta que debería seguir una molécula para ir de un mínimo a otro para obtener suficiente energía para vencer la barrera energética, pasar a través del estado de transición y alcanzar el otro mínimo.

El estado de transición que une los dos mínimos representa un máximo a lo largo de la dirección de la ICR, pero a lo largo de las otras direcciones es un mínimo. Esto es una característica de una superficie en forma de silla, y el estado de transición se denomina *punto de silla*. El punto de silla permanece en el centro de la región en forma de silla y es, a lo igual que un mínimo, un punto estacionario, ya que la PES en dicho punto es paralela al plano definido por los ejes de los parámetros de geometría. Matemáticamente, los mínimos y los puntos de silla difieren en que, aunque ambos son puntos estacionarios (su primera derivada es cero), un mínimo es un mínimo en todas las direcciones, pero un punto de silla es un máximo a lo largo de la ICR y un mínimo en cualquier otra dirección.

El parámetro geométrico correspondiente a la coordenada de reacción usualmente está compuesto de varios parámetros (longitudes de enlace, ángulos y diedros), aunque para algunas reacciones uno o dos pueden predominar.

Un punto de silla, el punto en un PES donde la segunda derivada de la energía con respecto a una y solo una coordenada geométrica (posiblemente una coordenada compuesta) es negativa, corresponde a un estado de transición. Algunas PES's tienen puntos donde la segunda derivada de la energía con respecto a más de una coordenada es negativa; éstos son los llamados *puntos de silla de orden superior o cumbres*; por ejemplo, un punto de silla de orden superior es un punto en el PES que es un máximo a lo largo de dos rutas que conectan puntos estacionarios.

La química es esencialmente el estudio de puntos estacionarios sobre una PES: al estudiar moléculas más o menos estables hay un enfoque en los mínimos, y al investigar el paso de moléculas de un mínimo pasando por un estado de transición para llegar a otro mínimo.

---

## 4.7.2 OPTIMIZACIÓN DE ENERGÍA

La caracterización (ubicación o localización) de un punto estacionario en una PES, esto es, la demostración de que el punto en cuestión existe y el cálculo de su geometría y energía, es una *optimización de energía*. El punto estacionario de interés podría ser un mínimo, un estado de transición, u ocasionalmente, un punto de silla de orden superior. La localización de un mínimo con frecuencia se denomina *minimización de energía* o simplemente *minimización*, y la localización de un estado de transición es comúnmente referida como una *optimización de un estado de transición*. Las optimizaciones de geometría son realizadas comenzando con una estructura de entrada que se supone parecida (muy cercana a la mejor) al punto estacionario deseado y se introduce esta estructura plausible a un algoritmo computacional que cambia sistemáticamente la geometría hasta hallar un punto estacionario. La curvatura de la PES en el punto estacionario, es decir, la segunda derivada de la energía con respecto a los parámetros de geometría puede determinarse para caracterizar la estructura como un mínimo o como algún tipo de punto de silla. La estructura optimizada que se obtiene es aquella más cercana en geometría sobre una PES a la estructura de entrada.

La creación de estructuras de entrada es realizada actualmente con un programa interactivo manejado por el mouse, tan fácil como construir modelos plásticos o dibujar estructuras en papel. Una alternativa más obsoleta es especificar la geometría por definir las diversas longitudes de enlace, ángulos y diedros, es decir, usando una *matriz Z* (coordenadas internas).

Para moverse a lo largo de la PES desde una estructura de entrada hacia el mínimo más cercano es muy fácil hacerlo en una PES unidimensional de una molécula biatómica: simplemente se cambia la longitud de enlace hasta llegar a la correspondiente a la de más baja energía. En cualquier otra superficie, una optimización eficiente de la geometría requiere un algoritmo sofisticado. Para ello, debería conocerse en qué dirección moverse, y cuán lejos ir en dicha dirección. Los algoritmos más utilizados para una optimización de geometría usan la primera y segunda derivadas de la energía con respecto a los parámetros de geometría.

Considérese el caso sencillo de una PES unidimensional, para una molécula diatómica. La estructura de entrada es en el punto  $p_i$  ( $E_i, q_i$ ) y el mínimo próximo, correspondiente a la estructura optimizada por ser buscada, es en el punto  $p_0$  ( $E_0, q_0$ ). Por supuesto que antes de la optimización los valores de  $E_0$  y  $q_0$  son desconocidos. Asumiendo que cerca de un mínimo la energía potencial es una función cuadrática de  $q$ , la cual es una aproximación bastante buena, entonces:

$$E - E_0 = k (q - q_0)^2 \text{ ---- (E4.12)}$$

En el archivo de entrada:

$$(dE / dq)_i = 2k (q - q_0) \text{ ---- (E4.13)}$$

En todos los puntos:

$$d^2E / dq^2 = 2k (= \text{Constante de fuerza}) \text{ ---- (E4.14)}$$

A partir de las ecuaciones anteriores:

$$(dE / dq)_i = d^2E / dq^2 (q - q_0) \text{ ---- (E4.15)}$$

La ecuación anterior muestra que si se conoce  $(dE/dq)_i$ , la pendiente o gradiente de la PES en el punto de estructura de partida,  $(d^2E/dq^2)$ , la curvatura de la PES (que para una curva cuadrática  $E(q)$  es independiente de  $q$ ), y  $q_i$ , la geometría inicial, puede calcularse  $q_0$ , la geometría optimizada.

Para PES multidimensionales, o sea para casi todos los casos reales, se requieren algoritmos más sofisticados, y se necesitan más pasos porque la curvatura no es exactamente cuadrática. El primer paso resulta en un nuevo punto en la PES que es (probablemente) más cercano al mínimo de lo que fue la estructura inicial. Este nuevo punto sirve como punto inicial para un segundo paso hacia el mínimo, etc. Sin embargo, los métodos de optimización de geometría más modernos dependen del cálculo de la primera y segunda derivadas de energía en el punto sobre la PES correspondiente al punto de partida. Ya que la PES no es estrictamente cuadrática, las segundas derivadas varían de punto a punto y son actualizadas conforme procede la optimización.

### **4.7.3 PUNTOS ESTACIONARIOS Y VIBRACIONES DE MODO NORMAL: ZPE**

Una vez que se ha encontrado un punto estacionario por optimización de geometría, usualmente se desea verificar si se trata de un mínimo, un estado de transición o una cumbre. Esto se realiza calculando las frecuencias vibracionales. Tal cálculo involucra encontrar las frecuencias de

modo normal; estas son las vibraciones más simples de la molécula, las cuales, en combinación, pueden considerarse como las responsables de las vibraciones reales y complejas que una molécula en realidad presenta. En una vibración de modo normal todos los átomos se mueven en fase con la misma frecuencia: todos alcanzan sus desplazamientos máximos y mínimos así como sus posiciones de equilibrio en el mismo instante. Las otras vibraciones de la molécula son combinaciones de estas vibraciones simples. Esencialmente, el cálculo de modos normales es un cálculo del espectro de infrarrojo, aunque el espectro experimental probablemente contiene bandas extras de las interacciones entre las vibraciones de modo normal.

Una molécula no lineal con  $n$  átomos tiene  $3n - 6$  modos normales: el movimiento de cada átomo puede describirse por tres vectores, a lo largo de los ejes cartesianos. Una molécula lineal tiene  $3n - 5$  modos normales. Considere una molécula diatómica A–B; la frecuencia de modo normal (solo hay uno para una molécula diatómica, por supuesto) está dada por:

$$\nu = (1/2\pi c)(k/\mu)^{1/2} \text{ ----- (E4.16)}$$

donde:

$\nu$  = Frecuencia vibracional, en  $\text{cm}^{-1}$

$c$  = Velocidad de la Luz.

$k$  = Constante de fuerza para la vibración

$\mu$  = Masa reducida de la molécula ( $= (m_A m_B)/(m_A + m_B)$ )

$m_A$  y  $m_B$  son las masas de A y B.

La constante de fuerza  $k$  de un modo vibracional es una medida de la rigidez de la molécula hacia dicho modo vibracional –cuanto más difícil es extender o curvar la molécula en la forma de ese modo, mayor es la constante de fuerza–.

Las frecuencias vibracionales son calculadas para obtener los espectros de IR, para caracterizar puntos estacionarios, y para obtener puntos de energía cero. El cálculo de frecuencias significativas es válido solo en un punto estacionario y solo usando el mismo método que el empleado para optimizar hacia el punto estacionario (por ejemplo, un método *ab initio* con un nivel de correlación y un nivel de teoría).

#### 4.7.4 MÉTODOS *AB INITIO*: APROXIMACIÓN DE HARTREE-FOCK

El término *ab initio* proviene del latín y significa “desde el principio”. Este término se les da a los cálculos que se derivan directamente de los principios teóricos sin incluir datos experimentales. Las aproximaciones realizadas son aproximaciones matemáticas, tales como el usar una forma funcional más simple para una función o hallar una solución aproximada a una ecuación diferencial.

El cálculo *ab initio* más común es el llamado cálculo Hartree-Fock (abreviado HF), en el cual la primera aproximación es la aproximación de campo central. Esto significa que la repulsión Coulómbica electrón-electrón es tomada en cuenta integrando el término de repulsión. Esto da el efecto promedio de repulsión, pero no la interacción explícita de repulsión. Se trata de un cálculo variacional, que significa que las energías aproximadas calculadas son todas mayores o iguales que la energía exacta.

Una de las ventajas de este método es que descompone la ecuación de Schrödinger polieletrónica en varias ecuaciones monoeléctricas. Cada ecuación monoeléctrica es resuelta para producir una función de onda monoeléctrica, denominada orbital, y una energía, conocida como energía de orbital. El orbital describe el comportamiento de un electrón en el campo neto de los demás electrones.

La segunda aproximación en los cálculos HF se debe al hecho de que la función de onda debe describirse con alguna función matemática, que se conoce con exactitud para pocos sistemas monoeléctricos. Las funciones usadas con más frecuencia son combinaciones lineales de orbitales de tipo Gaussiano  $\exp(-ar^2)$ , abreviada GTO. La función de onda está formada a partir de combinaciones lineales de orbitales atómicos o, establecidos más correctamente, a partir de combinaciones lineales de funciones base.

Las funciones Gaussianas son multiplicadas por una función angular para dar al orbital la simetría de un s, p, d, etc. Un término angular constante da una simetría s. Términos angulares de x, y, z dan simetría p. Términos angulares de xy, xz, yz,  $x^2 - y^2$ ,  $4z^2 - 2x^2 - 2y^2$  generan simetría d.

Una de las limitaciones de los cálculos HF es que HF toma en cuenta el efecto promedio de la repulsión de electrones, pero no la interacción electrónica explícita. En la teoría HF la probabilidad de encontrar un electrón en algún lugar alrededor de un átomo está determinada por la distancia desde el núcleo pero no por la distancia a otros electrones. Esto no es físicamente cierto, sino que es una consecuencia de la aproximación del campo central, que define el método HF

## 4.7.5 TEORÍA DEL FUNCIONAL DE LA DENSIDAD (DFT)

La teoría del funcional de la densidad (DFT) se basa en la observación pragmática que es computacionalmente menos intensiva que otros métodos con precisión similar. Esta teoría ha sido desarrollada recientemente que los otros métodos *ab initio*.

Los métodos DFT se basan en el hecho de que la energía de una molécula puede determinarse a partir de la densidad electrónica en lugar de partir de una función de onda. El teorema original se aplicó solo para encontrar la energía electrónica del estado fundamental de una molécula.

La densidad electrónica se expresa como una combinación lineal de funciones básicas similares a las formas matemáticas a los orbitales HF. Por tanto se forma un determinante a partir de estas funciones, llamadas orbitales de Kohn-Sham. La densidad electrónica obtenida de este determinante de orbitales se emplea para calcular la energía. Los orbitales Kohn-Sham describen el comportamiento de los electrones en una molécula.

Un funcional de densidad se emplea para obtener la energía de la densidad electrónica. Un funcional es una función de una función, en este caso, la densidad electrónica. Algunos de estos funcionales fueron desarrollados a partir de la mecánica cuántica y algunos fueron desarrollados por funciones de parametrización para reproducir mejor los resultados experimentales.

La ventaja de emplear densidad electrónica es que las integrales para la repulsión Coulómbica necesitan ser hechas solo sobre la densidad electrónica, la cual es una función tridimensional, escalada como  $N^3$ .

Los funcionales de la densidad pueden descomponerse en varias clases. La más simple es el método Xa.

Un conjunto más complejo de funcionales utiliza la densidad electrónica y sus gradientes. Éstos se llaman métodos corregidos por gradiente. Además hay métodos híbridos que combinan funcionales a partir de otros métodos con piezas de un cálculo Hartree-Fock, usualmente las integrales de intercambio. En general, los cálculos corregidos por gradiente o híbridos dan los resultados más precisos.

Generalmente, DFT es más rápida que Hartree-Fock para sistemas con más de 10-15 átomos que no sean hidrógenos, dependiendo de la precisión de la integral numérica y del conjunto básico. Los algoritmos de escalamiento lineal no se hacen ventajosos hasta que el número de átomos pesados excede de 30 o más, dependiendo de la forma general de la molécula. Los métodos de escalamiento lineal DFT pueden ser los métodos *ab initio* más rápidos para moléculas largas.

El primero factor que debe notarse es que la mayoría de los programas diseñados para operaciones eficientes usan atajos de integrales precisos con cálculos *ab initio*. Esto significa que las integrales que involucran átomos distantes no están incluidos en el cálculo si son estimados por tener una contribución despreciable a la energía final, usualmente menos de 0.00001 Hartrees o una centésima de la energía de una interacción de van der Waals. Los métodos de estimación de multipolo son válidos solo para describir interacciones entre regiones distantes de la molécula. Lo mismo es verdad para atajos integrales precisos. Los sistemas lineales pueden modelarse más eficientemente, pero menos eficientemente a los sistemas plegados, globulares o planares.



## **CAPÍTULO 5**

# **MATERIALES**

## 5. MATERIALES

Se muestra a continuación la lista de materiales empleados para las valoraciones ácido-base medidas por espectrofotometría UV de meloxicam en agua y en mezcla H<sub>2</sub>O:DMSO 9:1.

### 5.1 MATERIALES

Soporte Universal	Matraces volumétricos	Pipetas volumétricas
Celda de vidrio	Tanque de nitrógeno	Micropipetas
Pinzas con nuez	Vasos de precipitados	Celdas de cuarzo

### 5.2 EQUIPO

1 Baño Termostataado Polyscience 9105  
1 Agitador Magnético Corning PC-353  
1 pH-metro Metler Toledo MA 235  
1 Electrodo combinado de pH  
Metler Toledo INLAB 413  
1 Espectrofotómetro Perkin  
Elmer UV/Vis Lambda 18.  
1 Balanza Analítica Metler Toledo AB204

### 5.3 REACTIVOS

Meloxicam  
NaCl  
HCl  
Solución de NaOH  
Soluciones Buffer  
Agua desionizada  
Dimetilsulfóxido

### 5.4 EQUIPO DE CÓMPUTO

Computadora Dell Optiplex GX280 Intel(R) Pentium(R) 4 CPU 2.80GHz 2.79GHz, 248 MB de RAM, 74.4 GB Disco Duro; Microsoft Windows Profesional, Versión 2002.

### 5.5 PROGRAMAS COMPUTACIONALES

- |                      |           |
|----------------------|-----------|
| a) Gaussian View 3.0 | c) SQUAD  |
| b) Gaussian 03W      | d) TRIANG |

## CAPÍTULO 6

# METODOLOGÍA

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 PARTE EXPERIMENTAL

#### 6.1.1 Espectrofotometría UV.

##### 6.1.1.1 Valoraciones ácido-base en medio acuoso

###### 6.1.1.1.1 *Preparación de soluciones en medio acuoso*

Para cada repetición, fueron preparadas las siguientes soluciones:

Solución de meloxicam  $5.0 \times 10^{-5}$  M. Se colocan 0.0178g de meloxicam en un matraz aforado de 100 mL, y se adicionan NaOH 12.375 N, se diluyen hasta 100 mL con agua desionizada ( $5.0 \times 10^{-4}$  M). De esta última, se toman 5 mL y se colocan dentro de un matraz aforado de 50 mL, adicionando también 5 mL de la solución comercial de NaOH 0.1 N y 0.4384 g de NaCl, que son aforados hasta 50 mL con agua desionizada, para tener una concentración de meloxicam de  $5.0 \times 10^{-5}$  M y una fuerza iónica de 0.15 M.

Preparación de la solución valorante de HCl 0.01 N. Se toman 10 mL de la solución comercial de HCl, colocado en un matraz de 100 mL y se le adiciona 0.8769 g de NaCl, y diluyéndolos hasta la marca con agua desionizada para tener la concentración de HCl de 0.01 N, y una fuerza iónica de 0.15 M.

#### *6.1.1.1.2 Calibración de los equipos para su uso con sistemas en medio acuoso*

Se calibraron el pH-metro y el espectrofotómetro:

Calibración del pH-metro. Se emplearon tres soluciones buffer de pH 4.0, 6.0 y 10.0 para la calibración de este instrumento, siguiéndose las indicaciones del manual de operación del mismo.

Calibración del espectrofotómetro. Para las valoraciones ácido-base en medio acuoso, se realizó la calibración del espectrofotómetro con agua desionizada (blanco) para marcar la línea base (autocero), recorriendo un intervalo de 200-600 nm a una velocidad de barrido de 240 nm/min.

#### *6.1.1.1.3 Preparación del sistema en medio acuoso*

Se tomaron 25 mL de la solución acuosa de meloxicam  $5.0 \times 10^{-5}$  M, y se colocaron en la celda de vidrio, a una temperatura de  $37^\circ \text{C} \pm 2^\circ \text{C}$  y bajo una atmósfera de nitrógeno para evitar variaciones en el pH debidas al  $\text{CO}_2$  de la atmósfera. Se tomó el primer valor de pH, y se obtuvo su espectro de absorción, en un intervalo de longitud de onda de 600 nm a 200 nm, a una velocidad de barrido de 240 nm/min. Se realizaron variaciones en el pH desde la zona básica hasta la ácida con la solución de HCl 0.01 N cada 0.5 unidades de pH, tomándose el espectro de absorción del sistema en cada valor de pH. Desde pH 6.000 a 0.4000, se varió el pH cada 0.2 unidades y se obtuvo su espectro de absorción correspondiente.

#### *6.1.1.1.4 Almacenamiento de los datos*

Cada espectro de absorción fue guardado en el disco del ordenador del espectrofotómetro en formato ASCII (\*.asc), para poder decodificarlo desde Excel y recuperar los valores de absorción a las diferentes longitudes de onda.

### 6.1.1.2 Valoraciones ácido-base en mezcla H<sub>2</sub>O:DMSO 9:1

#### 6.1.1.2.1 Preparación de soluciones en mezcla H<sub>2</sub>O:DMSO 9:1

Para cada repetición, fueron preparadas las siguientes soluciones:

Mezcla H<sub>2</sub>O DMSO. Se colocaron 9 mL de agua desionizada en un vaso de precipitados, y se adicionó 1 mL de DMSO y ambos líquidos fueron agitados para tener una mezcla H<sub>2</sub>O:DMSO 9:1, que sirvió para la calibración del espectrofotómetro.

Solución de meloxicam  $5.0 \times 10^{-5}$  M. Se colocaron 0.0178g de meloxicam en un matraz aforado de 100 mL, y se aforan hasta la marca con DMSO ( $5.0 \times 10^{-4}$  M). De esta última, se tomaron 5 mL y se colocaron dentro de un matraz aforado de 50 mL, adicionando también 5 mL de la solución comercial de NaOH 0.1 N y 0.4384 g de NaCl, que fueron aforados hasta 100 mL con agua desionizada, para tener una concentración de meloxicam de  $5.0 \times 10^{-5}$  M y una fuerza iónica de 0.15 M en un medio mixto de H<sub>2</sub>O:DMSO en proporción 9:1.

Solución de la solución valorante de HCl 0.01 N. Se tomaron 10 mL de la solución comercial de HCl, que fueron colocados en un matraz de 100 mL y se le adiciona 0.8769 g de NaCl y 10 mL de DMSO, diluyéndolos hasta la marca con agua desionizada para tener la concentración de HCl de 0.01 N, y una fuerza iónica de 0.15 M en un medio mixto de H<sub>2</sub>O:DMSO en proporción 9:1.

#### 6.1.1.2.2 Calibración de los equipos para su uso con sistemas en mezcla

Se calibraron el pH-metro y el espectrofotómetro:

Calibración del pH-metro. Se emplearon tres soluciones buffer de pH 4.0, 6.0 y 10.0 para la calibración de este instrumento, siguiéndose las indicaciones del manual de operación del mismo.

Calibración del espectrofotómetro. Para las valoraciones ácido-base en mezcla H<sub>2</sub>O:DMSO 9:1, se realizó la calibración del espectrofotómetro con la mezcla de disolventes (blanco) para marcar la línea base (autocero), recorriendo un intervalo de 600-200 nm a una velocidad de barrido de 240 nm/min.

#### *6.1.1.2.3 Preparación del sistema en mezcla H<sub>2</sub>O:DMSO 9:1*

Se tomaron 25 mL de la solución de meloxicam  $5.0 \times 10^{-5}$  M en mezcla de solventes, y se colocaron en la celda de vidrio, a una temperatura de  $37^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$  y bajo una atmósfera de nitrógeno para evitar variaciones en el pH debidas al CO<sub>2</sub> de la atmósfera. Se tomó el primer valor de pH, y se obtuvo el espectro de absorción, en un intervalo de longitud de onda de 600 nm a 200 nm, a una velocidad de barrido de 240 nm/min. Se realizaron variaciones en el pH desde la zona básica hasta la ácida con la solución de HCl 0.01 N cada 0.5 unidades de pH, tomándose el espectro de absorción del sistema en cada valor de pH. Desde pH 6.000 a 0.4000, se varió el pH cada 0.2 unidades y se obtuvo el espectro de absorción correspondiente.

#### **6.1.1.3 Tratamiento de los datos**

##### *6.1.1.3.1 Corrección de los datos por dilución*

La presente corrección aplicó a los archivos obtenidos en agua y en mezcla de disolventes.

Los archivos en formato \*.asc fueron abiertos desde Excel de la siguiente manera. Se ejecutó el programa Excel, y en el menú Inicio se eligió la opción abrir. Ubicada la carpeta con los archivos de la forma \*.asc, se seleccionó cada uno y se seleccionó abrir. En el “Asistente para importar texto”, se seleccionó directamente la opción “Delimitados, luego “Siguiendo” y después, la opción “Tabulación, seleccionando la opción “Finalizar”.

El archivo obtenido se guardó en formato xls. Aparecieron, entre otros detalles referentes al método, dos columnas: una perteneciente a las longitudes de onda (con una

diferencia de 1nm entre cada valor) en el intervalo trabajado, y la otra relativa a los valores de absorbancia para cada longitud de onda.

Los valores de absorbancia fueron corregidos por el efecto de dilución del meloxicam durante la valoración. Cada absorbancia fue multiplicada por un factor de corrección, calculado con la siguiente fórmula:

$$A' = [(25 + V)A]/25 \text{ ---- (E6.1)}$$

donde  $A'$  es la absorbancia corregida,  $V$  es el volumen (en mL) de solución valorante adicionada hasta ese instante, y  $A$  es la absorbancia sin corregir.

#### *6.1.1.3.2 Construcción de la matriz de absorbancias*

La matriz de absorbancias fue construida empleando 3 conjuntos de datos: los valores de longitud de onda (columna vertical), valores de pH (columna horizontal) y valores de absorbancia (entre los valores de longitud de onda y pH).

Se realizó una gráfica de Absorbancia vs Longitud de Onda para cada valor de pH. En base a esta gráfica, la matriz de absorbancias fue reducida eliminando filas y columnas, de tal manera que los espectros de absorción se mostraran cada 5 unidades de longitud de onda, reduciendo el intervalo de longitud de onda de 430 nm a 250 nm. Además, se acotó la matriz eliminando los valores de pH más extremos, para tener una matriz de absorbancias enfocada a los puntos isosbéticos. Reducida la matriz, se ordenó de menor a mayor con respecto a las longitudes de onda, de tal manera que en la parte superior quedara el valor de 250 nm, y en la inferior el valor de 430 nm.

Terminada la matriz de absorbancias, se copió cada columna de absorbancias para cada valor de pH, y se pegó en formato especial, eligiendo la opción “valores” y “transpuestas, de tal manera que los valores de absorbancia para un valor de pH determinado, quedaran ordenados en una tabla de 8 columnas por 5 filas, teniendo cada fila 8 datos y la última fila 5 datos, generando un total de 37 datos de absorbancia por valor de pH. Lo mismo se realizó con cada valor de pH, y cada tabla transformada de datos se colocó una debajo de la otra, sin dejar espacios. Finalmente, todos los datos



fueron homogenizados a 4 decimales para la elaboración del archivo de entrada de SQUAD.

En la figura F6.1 se muestra la matriz de absorbancias, y en la Fig. F6.2 se muestra la manera en que quedan ordenados los datos para SQUAD.

			pH1	pH2	pH3
L			A1	A1	A1
o			A2	A2	A2
n	o		A3	A3	A3
g	d	n	.	.	.
i	e	d	.	.	.
t		a	.	.	.
u			An-1	An-1	An-1
d			An	An	An

Fig. F6.1. Absorbancias y longitudes de onda correspondientes.

A1	A2	A3					
				An-1	An		
A1	A2	A3					
				An-1	An		
A1	A2	A3					
				An-1	An		

Fig. F6.2. Formato de la matriz de absorbancias y agrupación de las absorbancias para el archivo de entrada de SQUAD.

Para los datos del archivo de entrada de TRIANG, es necesario destacar que el programa solo admite una matriz del tipo  $M \times N$ , donde  $M$  es el número de filas y  $N$  es el número de columnas.

Se copiaron las columnas de las absorbancias para 25 valores de pH, seleccionando aquellas cuyos valores de pH correspondientes estuvieran alrededor de los valores

teóricos de  $pK_a$  de meloxicam (1.09 y 4.18). A tales valores de absorbancia, se les dio un formato de 3 decimales en general.

#### *6.1.1.3.3 Elaboración de los archivos de entrada de SQUAD y TRIANG*

Los archivos de entrada de SQUAD y TRIANG fueron construidos como se indicó en los antecedentes.

#### *6.1.1.3.4 Obtención de los valores de $pK_a$ y del número de especies que absorben radiación electromagnética*

En el archivo de salida de SQUAD, se buscaron los valores de las constantes de estabilidad global de los complejos propuestos. Dado que cada archivo de entrada tenía varios ciclos iterativos en cada uno de los cuales había diferentes valores de estas constantes, el criterio de selección de los valores óptimos fue la estadística; es decir, se seleccionaron los valores cuya desviación (U) fuese mínima. El valor del primer  $pK_a$  se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$pK_{a1} = -(\log \beta_2 - \log \beta_1) \text{ ---- (E6.2)}$$

donde  $\log \beta_1$  y  $\log \beta_2$  son los valores de la primera y segunda constantes de formación global, respectivamente.

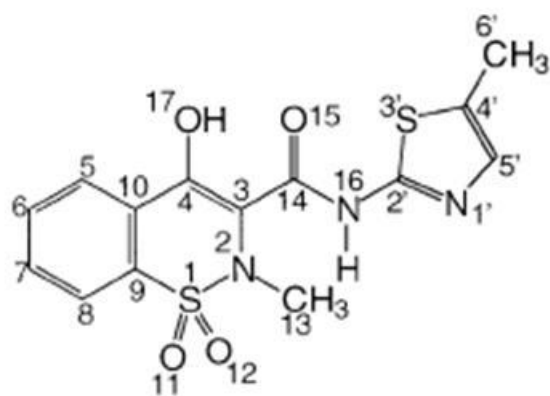
Para  $pK_{a2}$ , se obtuvo como  $pK_{a2} = -\log \beta_1$ .

Para TRIANG, se emplearon errores en la transmitancia entre 0.0001 y 0.01, con los cuales se obtuvo el número de especies que absorbieron en el sistema. Valores muy elevados o muy pequeños en el error en la transmitancia generan valores del número de especies que absorben erróneos.

## 6.2 PARTE TEÓRICA

### 6.2.1 Forma neutra

Para la preparación de archivos de entrada, se dibujó una estructura del meloxicam utilizando el programa GaussView 98 (Gaussian 03, 2004). En el mismo, se identificaron 3 enlaces de libre giro de la molécula: O17-H(O17), C3-C4 y N16-C2' (ver Fig. F6.3), y a partir de ellos, se generaron combinaciones girando 90° para cada enlace, generándose un total de 64 conformeros de la forma neutra.



Meloxicam, H<sub>2</sub>mel

Fig. F6.3. Estructura del meloxicam.

Para cada conformero obtenido, se corrió el cálculo para determinar el mínimo de energía al cual caía la estructura inicial. Se utilizó el programa Gaussian 03 (Gaussian 03, 2004) con el funcional B3LYP y la base 6-31G (d, p). Adicional a esto, se corrieron cálculos de frecuencia para asegurar que en realidad la estructura corresponda a un mínimo en la Superficie de Energía Potencial (SEP).

### 6.2.2 Formas aniónica, catiónica y zwitteriónica

Dado que el meloxicam, además de la forma neutra, puede presentar 3 especies más en función de su estado de protonación (anión, catión, y zwitterión), se partió de la forma neutra de mínima energía, generándose diferentes tautómeros.

Para los aniones, se removió el hidrógeno del oxígeno 17 (posición O17) para generar la primera serie de confórmeros, y el hidrógeno del nitrógeno 16 (posición N16) dando lugar a la segunda serie.

Para la especie catiónica, se adicionó el hidrógeno en las siguientes posiciones: N16 (para la primera serie) y nitrógeno N1' (del anillo de tiazol) para la segunda serie.

En el caso de los zwitteriones, se construyeron 3 series, colocando las cargas positivas y negativas de la siguiente manera. Para la serie 1, se colocó un hidrógeno sobre el nitrógeno N16 y se retiró un hidrógeno del oxígeno O17; en la serie 2, se colocó el hidrógeno en el nitrógeno tiazólico N1' y se retiró el hidrógeno del nitrógeno N16; finalmente, la serie 3 se construyó retirando un hidrógeno del oxígeno O17 y se colocó un hidrógeno en el nitrógeno N1'.

Para las series de aniones, cationes y zwitteriones, se corrieron los cálculos de optimización y frecuencias empleando el mismo nivel de teoría que para la forma neutra.

### 6.2.3 Energía libre de solvatación

Fueron calculadas las energías libres de solvatación de las formas aniónica, catiónica y neutra de meloxicam en agua. El cálculo se realizó a partir de las formas optimizadas, excepto para el zwitterión, debido a que éste presentó mayor energía en estado gaseoso.

La energía libre de solvatación se calculó a 37°C (310.15 K), usando el funcional b3lyp y la base 6-31G (d, p), empleando ZPVE = 1, Hvib = 1 y Svib = 1.

Con estas energías, y empleando el valor de  $\Delta G^\circ = -6.07$  kcal/mol para el protón  $H^+$ , se calculó la energía libre de cada equilibrio de disociación del meloxicam.

## **CAPÍTULO 7**

# **RESULTADOS**

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Parte experimental

#### 7.1.1 Valoraciones ácido-base en medio acuoso

En la figura F7.1, se muestra una selección de espectros de absorción de meloxicam, a una concentración de  $4.9883 \times 10^{-5}$  M en agua, en un intervalo de pH de 0.089 a 1.902, y en un intervalo de longitud de onda de 430 nm a 250 nm.

Se presenta un efecto batocrómico, puesto que a medida que el pH aumenta de 0.089 a 1.902, el máximo de absorción se desplaza desde 340 nm hasta 360 nm. También pueden observarse dos puntos isobásticos cerca de 300 nm y 360 nm., que indican la presencia de al menos un equilibrio ácido-base.

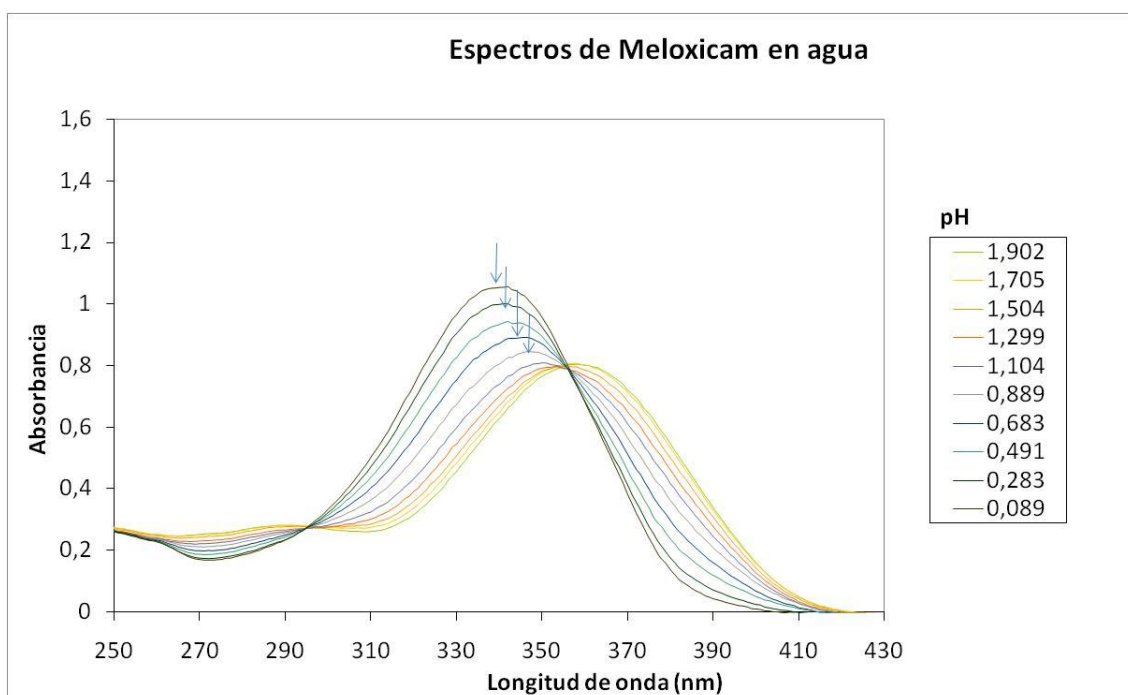


Fig. F7.1. Selección de espectros de absorción de meloxicam en agua, en un intervalo de pH de 0.089 a 1.902, y en un intervalo de longitud de onda de 430 nm a 250 nm.

En la figura F7.2, se muestra una selección de los espectros de absorción de meloxicam, a una concentración de  $4.9883 \times 10^{-5}$  M en agua, en un intervalo de pH de 2.502 a 5.441, y en un intervalo de longitud de onda de 430 nm a 250 nm.

Se observa que, a medida que el pH aumenta de 2.502 a 5.441, el máximo de absorción se mueve desde 360 nm a 270 nm, presentándose un efecto hipsocrómico. Cerca de 280 nm, se observa un punto isosbético que evidencia la presencia de al menos un equilibrio ácido-base.

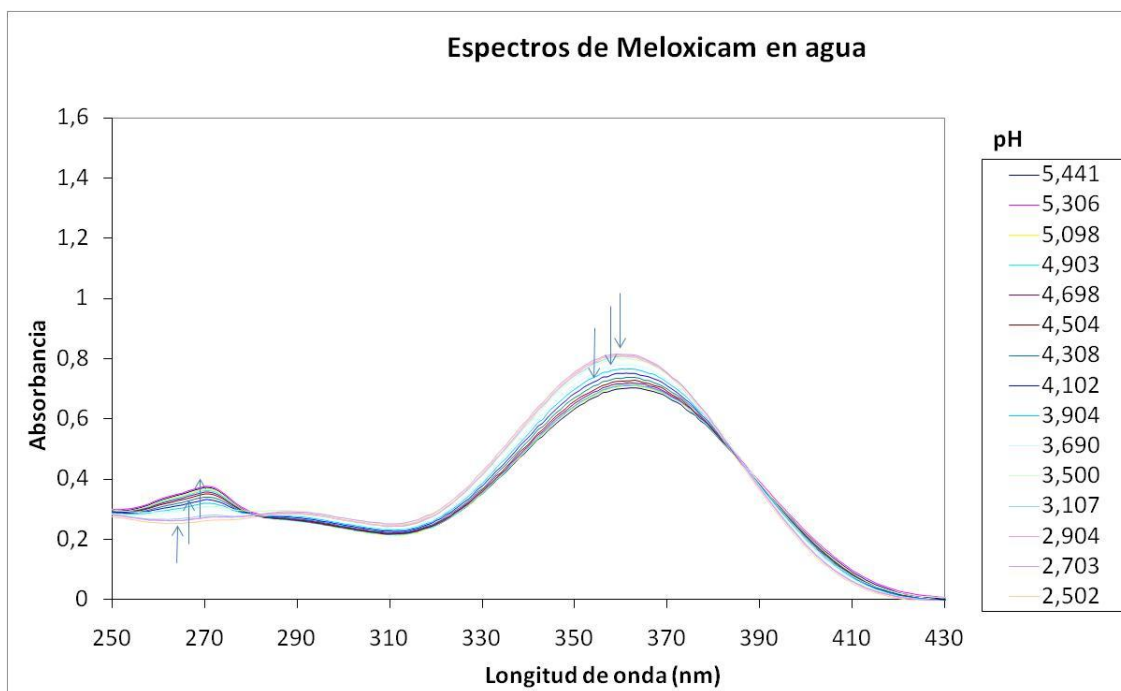


Figura F7.2. Selección de espectros de absorción de meloxicam en agua, en un intervalo de pH de 2.502 a 5.441, y en un intervalo de longitud de onda de 430 nm a 250 nm.

### 7.1.2 Valoraciones ácido-base en mezcla $H_2O:DMSO$

En la figura F7.3, se muestra una selección de los espectros de absorción de meloxicam a una concentración de  $5.4418 \times 10^{-5}$  M en mezcla de DMSO: $H_2O$  1:9, en un intervalo de pH de 0.190 a 2.360, y en un intervalo de longitud de onda de 430 nm a 250 nm.

Se observa un efecto batocrómico, dado que a medida que se incrementa el pH desde 0.190 hasta 2.360, el máximo de absorbancia se desplaza desde 340 nm hasta 360 nm. Hay, además, 2 puntos isosbéticos, uno alrededor de 360 nm y otro cerca de 300 nm, y que indican la presencia de al menos un equilibrio ácido-base.

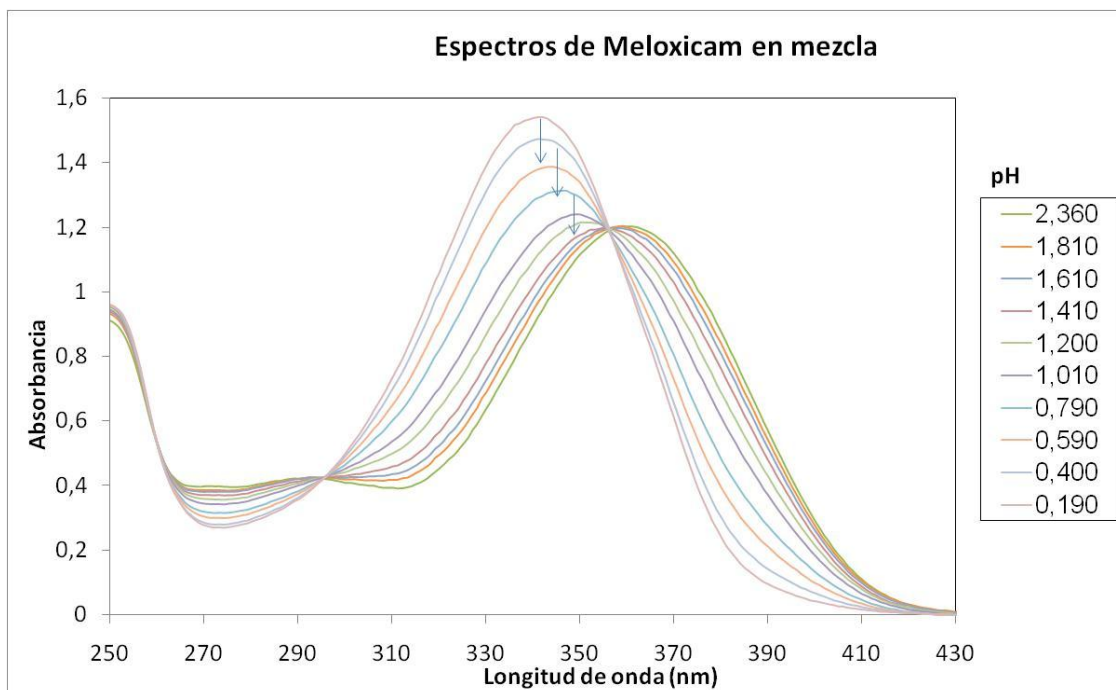


Figura F7.3. Selección de espectros de absorción de meloxicam en mezcla DMSO:H<sub>2</sub>O, en un intervalo de pH de 0.190 a 2.360, y en un intervalo de longitud de onda de 430 nm hasta 250 nm.

En la figura F7.4, se presenta parte de la familia de espectros de absorción de meloxicam, a una concentración de  $5.4418 \times 10^{-5}$  M en mezcla de DMSO:H<sub>2</sub>O 1:9, en un intervalo de pH de 3.000 a 5.250, y en un intervalo de longitud de onda de 430 nm a 250 nm.

Nótese que hay un efecto hipsocrómico, debido a que al aumentar el pH desde 3.000 a 5.250, el máximo ubicado cerca de 360 nm se desplaza hacia 270 nm, pero el máximo de 340 nm ya no es visible en esta figura. Puede observarse también un punto isobéptico en 280 nm, que indica la presencia de al menos un equilibrio ácido-base.



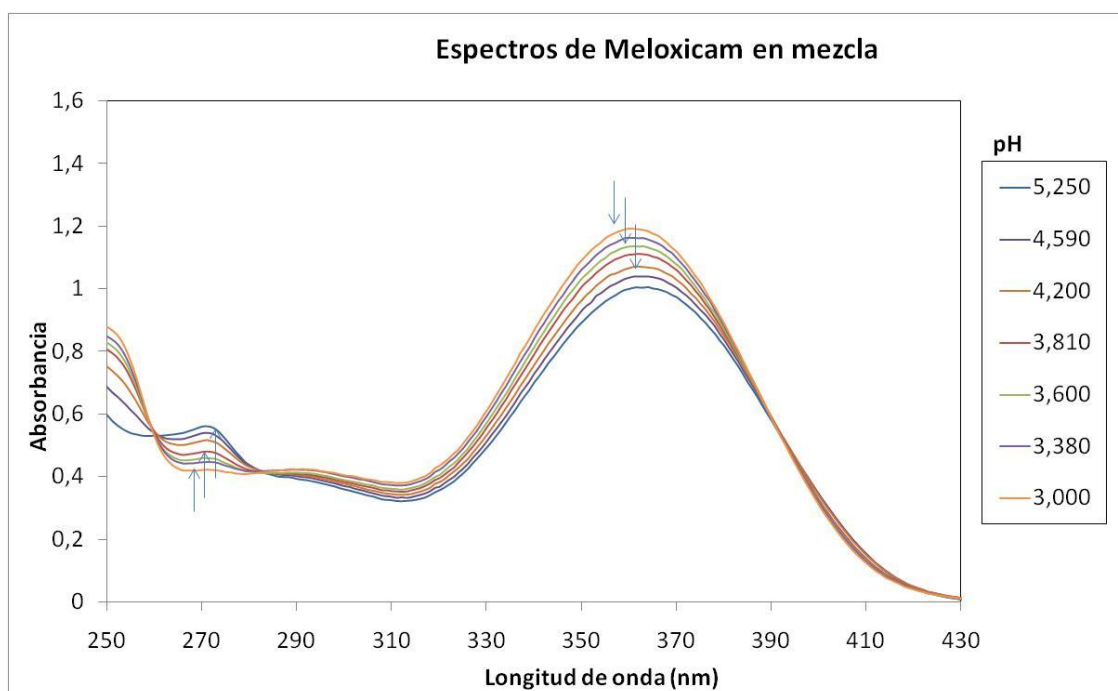


Figura F7.4. Selección de espectros de absorción de meloxicam en mezcla DMSO:H<sub>2</sub>O, en un intervalo de pH de 3.000 a 5.250, y en un intervalo de longitud de onda de 430 nm a 250 nm.

## 7.2 Parte teórica

### 7.2.1 Optimización de la geometría y cálculo de frecuencias

En la tabla T7.1, aparecen las energías, en kcal/mol, de las diferentes especies del meloxicam en estado gaseoso. Se presenta la energía libre de solvatación para las formas aniónica, catiónica y neutra.

Tabla T7.1. Energía de los conformeros del meloxicam.

ESPECIE	ENERGÍA (kcal/mol)	$\Delta G^{\circ}_{\text{solv}}$ (kcal/mol)
Neutra	$-1.2402 \times 10^6$	-6.34
Anión	$-1.1317 \times 10^6$	-46.18
Catión	$-1.1322 \times 10^6$	-42.55
Zwitterión	$-1.1313 \times 10^6$	---

Las especies colocadas en la tabla de arriba fueron las que presentaron menor energía de entre las series corridas para la forma neutra, aniónica, catiónica y zwitteriónica. Sin embargo, solo se muestra cada especie de mínima energía.

## **CAPÍTULO 8**

# **ANÁLISIS DE RESULTADOS**

## 8. ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 8.1 PARTE EXPERIMENTAL

De las figuras F7.1 y F7.2, se buscaron los máximos de absorbancia, encontrándose que éstos fueron a 270 nm, 340 nm y 360 nm. Posteriormente, se realizaron las gráficas de absorbancia vs pH para cada longitud de onda mencionada, con el fin de localizar saltos repentinos en las curvas y poder sospechar de la presencia de equilibrios ácido-base.

En la figura F8.1, se muestra la curva de valoración ácido-base de meloxicam, presentándose la absorbancia vs pH a diferentes longitudes de onda.

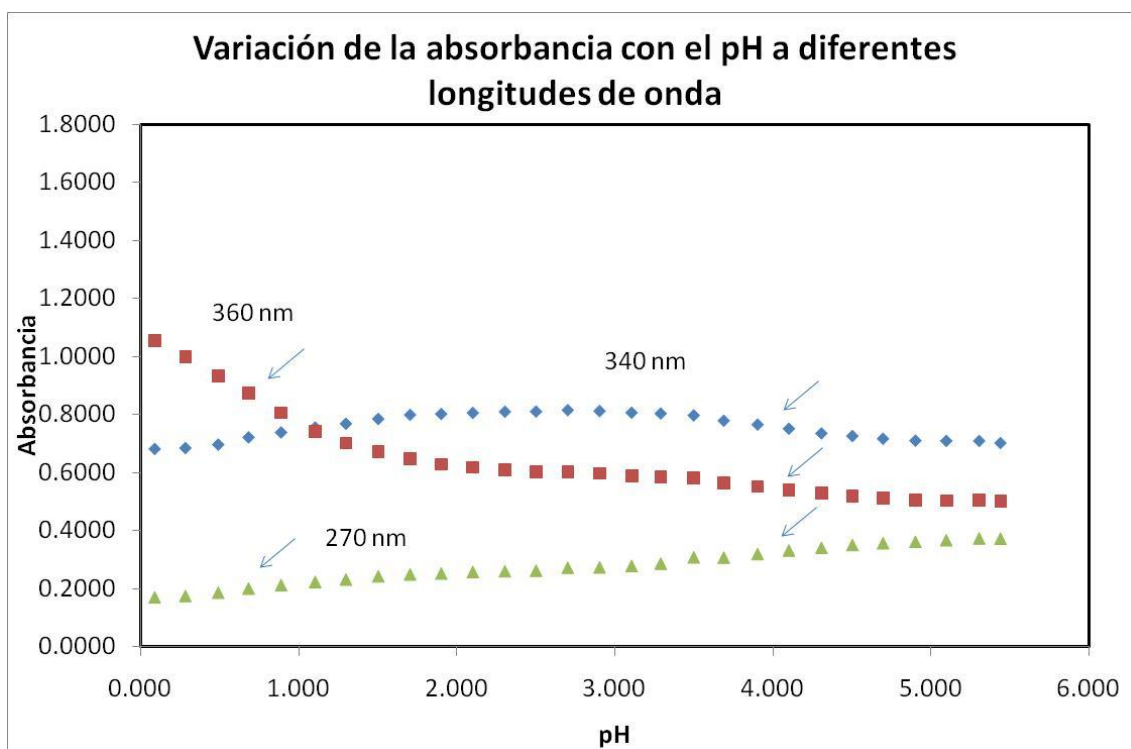


Fig. F8.1 Curva de valoración  $A$  vs pH de meloxicam en medio acuoso para diferentes longitudes de onda. Las flechas indican los saltos en donde se sospecha de valores de  $pK_A$ .

Para cada trayectoria, se observan 2 saltos que coinciden y que pueden dar una idea del posible valor de los valores de  $pK_A$ . En las trayectorias, el primer salto se localiza cerca de  $pH = 1.0$ , y el segundo salto, cerca de  $pH = 4.0$ .

Dado que existen 2 saltos, puede sospecharse de la presencia de 2 equilibrios ácido base.

De las figuras F7.3 y F7.4, se buscaron los máximos de absorbancia, siendo de 270 nm, 340 nm y 360 nm, a lo igual que para la valoración en medio acuoso. A partir de esta información, se contruyeron las curvas de valoración de meloxicam en mezcla para 3 diferentes longitudes de onda.

La figura F8.2 representa la curva de valoración de meloxicam en mezcla DMSO:H<sub>2</sub>O 1:9, a 3 diferentes longitudes de onda.

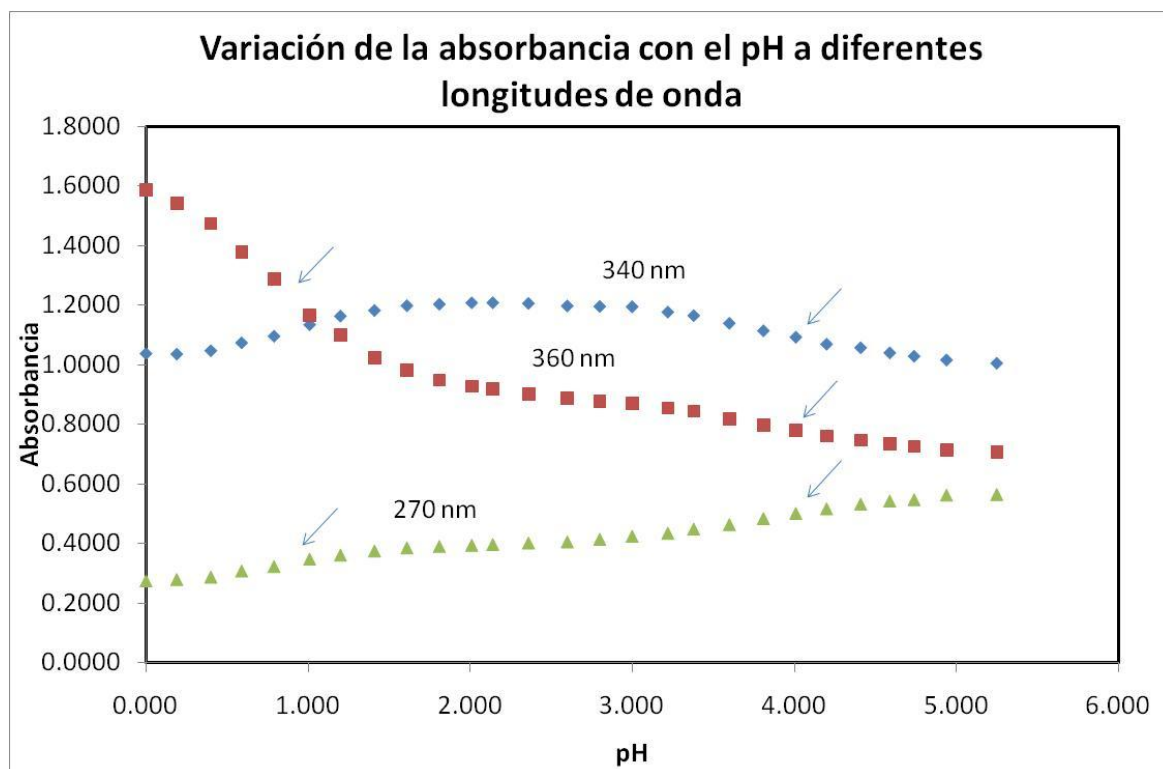


Fig. F8.2. Curva de valoración de meloxicam en mezcla, para diferentes longitudes de onda. Las flechas indican el salto donde se sospecha de la existencia de valores de pK<sub>A</sub>.

Cabe notar que, a lo igual que en la valoración en medio acuoso, en las 3 trayectorias se observan 2 saltos, que indican la existencia de 2 valores de pK<sub>A</sub>, con lo que se deduce que existen 2 equilibrios ácido-base. Estos saltos se hallan, en las tres trayectorias, cerca de pH = 1.0 y pH = 4.0.

En la tabla T8.1, se observa el número de especies de meloxicam que absorben radiación electromagnética para las valoraciones ácido-base en medio acuoso. El intervalo de variación para el error en la transmitancia,  $\Delta T$ , es el recomendado por Morales (0.0030 a 0.0100), y se empleó este intervalo para las especies de meloxicam en mezcla.

Puede notarse que el número de especies que absorben radiación electromagnética concuerda con lo que se presenta en la figura F8.1. A través de la curva de valoración y con los resultados obtenidos por TRIANG, puede deducirse que existen 3 especies que están involucradas en 2 equilibrios ácido-base.

Tabla T8.1. Número de especies de meloxicam que absorben radiación electromagnética en agua.

Error ( $\Delta T$ )	Número de Especies
0.0030	4
0.0040	4
0.0050	4
0.0060	3
0.0070	3
0.0080	3
0.0090	3
0.0100	3

En la tabla T8.2, se muestra el número de especies que absorben radiación electromagnética para las valoraciones ácido-base en mezcla. La información que arroja la figura F8.2 indica, junto con los resultados de TRIANG en mezcla, que existen 3 especies que absorben radiación electromagnética, lo que permite sospechar de 2 equilibrios ácido-base y con ello, 2 valores de  $pK_A$ .

Tabla T8.2. Número de especies de meloxicam que absorben radiación electromagnética en mezcla.

Error ( $\Delta T$ )	Número de Especies
0.0030	3
0.0040	3
0.0050	3
0.0060	3
0.0070	3
0.0080	3
0.0090	3
0.0100	3

Con la información obtenida de las curvas de valoración y de los resultados arrojados por TRIANG, para las valoraciones en agua y en mezcla, fue propuesto un modelo químico de 3 especies para meloxicam, en el que fueron propuestos 2 valores de  $\log \beta$ , donde  $\beta$  es el valor de la constante de formación global, para el refinamiento de las constantes de formación global del meloxicam en medio acuoso y en mezcla.

En la tabla T8.3 se resumen los valores de los logaritmos decimales de las constantes de formación global entre el meloxicam y la partícula (es decir, protones), tanto en medio acuoso como en mezcla DMSO:H<sub>2</sub>O.

Cabe mencionar que, para el refinamiento de las constantes, se realizaron titulaciones ácido-base por triplicado por cada medio; sin embargo, solo se coloca un valor para cada constante, tomando en cuenta que las que aparecen en la tabla fueron las que tuvieron menor desviación.

Tabla T8.3. Constantes de formación global del meloxicam en los diferentes medios empleados.

MODELO	$\log \beta (\sigma)$ [AGUA]	$\log \beta (\sigma)$ [MEZCLA]
HMLX	3.97 (0.0159)	3.83 (0.0081)
H <sub>2</sub> MLX <sup>+</sup>	4.90 (0.0261)	4.62 (0.0124)

En la tabla T8.4 aparecen los valores de los pK<sub>a</sub> del meloxicam en dos medios distintos, obtenidos a partir de las constantes de formación global, así como los valores de pK<sub>a</sub> reportados en la literatura.

Tabla T8.4. Constantes de acidez del meloxicam en los diferentes medios.

MODELO	pK <sub>a</sub> (AGUA)	pK <sub>a</sub> (MEZCLA)	REFERENCIA (LUGER, 1996)
HMLX	3.97 (0.0159)	3.83 (0.0081)	4.18
H <sub>2</sub> MLX <sup>+</sup>	0.93 (0.0261)	0.79 (0.0124)	1.09

De la tabla anterior, puede observarse que no hay mucha diferencia entre los valores encontrados y los reportados.

En la figura F8.3, se muestran los coeficientes de absorptividad molar para las diferentes especies de meloxicam en agua, y la figura F8.4 muestra los coeficientes de absorptividad molar en mezcla.

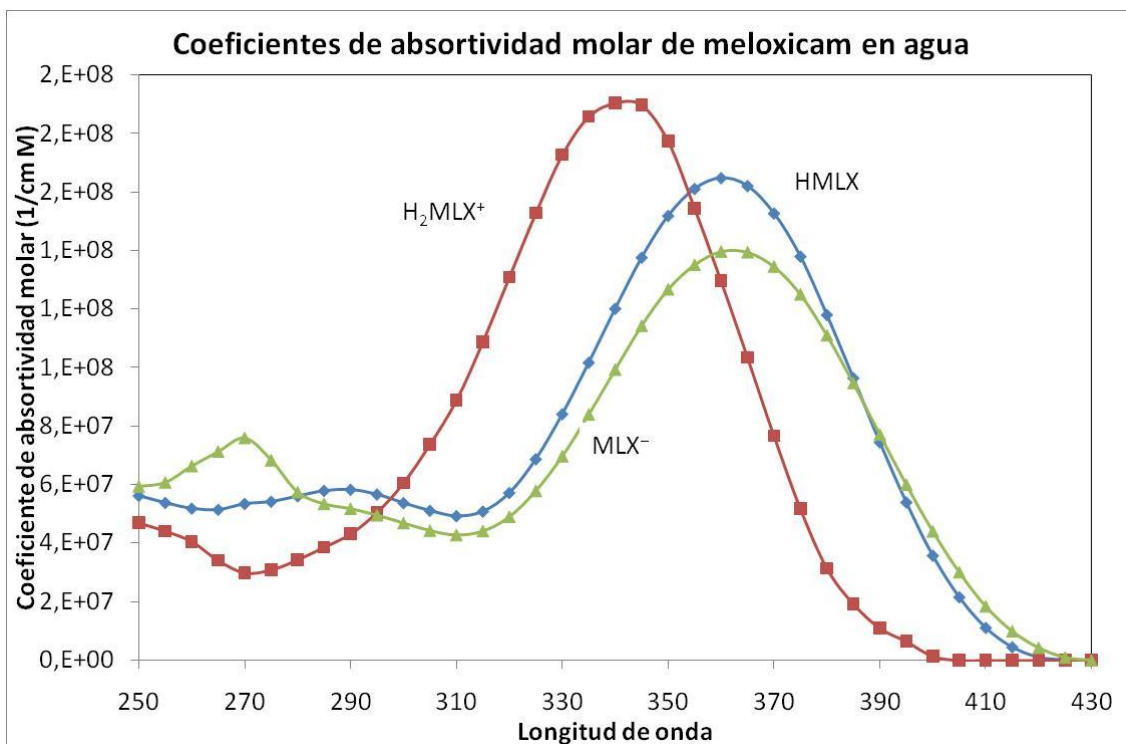


Fig. F8.3. Coeficientes de absorptividad molar de las diferentes especies de meloxicam en agua.

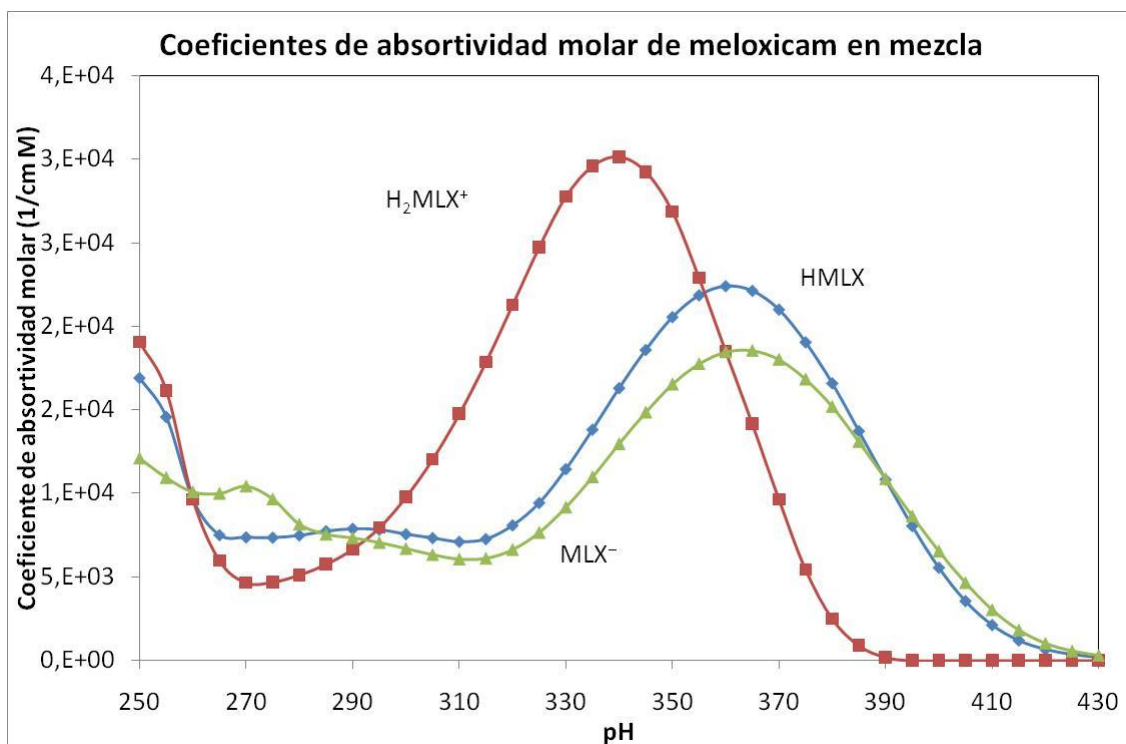


Fig. F8.4. Coeficientes de absorptividad molar de las diferentes especies de meloxicam en mezcla.

En las figuras F8.3 y F8.4, es posible observar 3 trayectorias, lo cual indica que existen 3 especies diferentes en el sistema que absorben. Esto puede correlacionarse con los

resultados de las tablas T8.1 y T8.2, que indican que en general, son 3 especies químicas de meloxicam las que absorben, y lo que las distingue es el número de protones y sus cargas formales.

De las figuras F8.3 y F8.4, puede observarse que las bandas de absorción de la especie catiónica ( $H_2MLX^+$ ) son diferentes a las bandas de absorción de las especies neutra (MLX) y aniónica ( $HMLX^-$ ).

A partir de los valores de  $pK_A$  de meloxicam en agua y en mezcla obtenidos en este trabajo, se obtuvieron los diagramas de distribución de especies de meloxicam. Para ello, se graficaron las fracciones molares de cada especie vs pH, el cual se varió en 0.2 unidades. Para la obtención de las fracciones, se emplearon las siguientes fórmulas:

$$f_{H_2Mel^+} = \frac{[H^+]^2}{([H^+]^2 + K_{A1}[H^+] + K_{A1}K_{A2})}$$

$$f_{HMel} = \frac{K_{A1}[H^+]}{([H^+]^2 + K_{A1}[H^+] + K_{A1}K_{A2})}$$

$$f_{Mel^-} = \frac{K_{A1}K_{A2}}{([H^+]^2 + K_{A1}[H^+] + K_{A1}K_{A2})}$$

donde  $f_i$  es la fracción mol de cada especie de meloxicam.

Las figuras F8.5 y F8.6 son los diagramas de distribución de especies de meloxicam en agua y en mezcla, respectivamente.

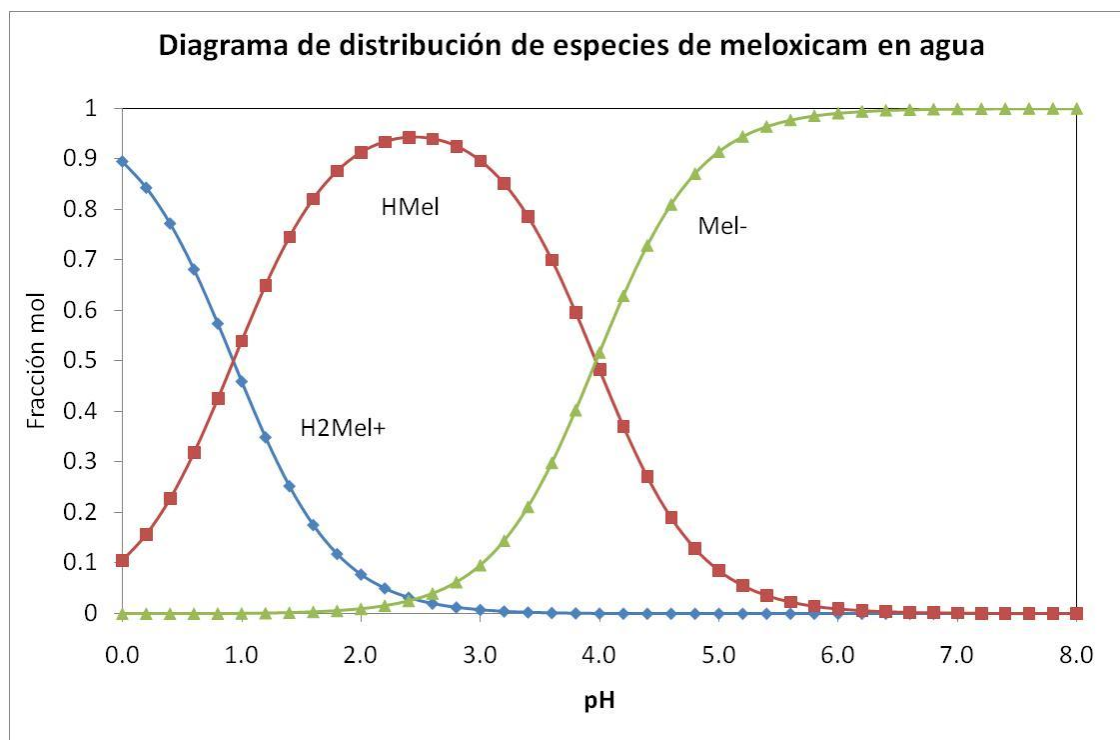


Fig. F8.5. Diagrama de distribución de las especies de meloxicam en agua.



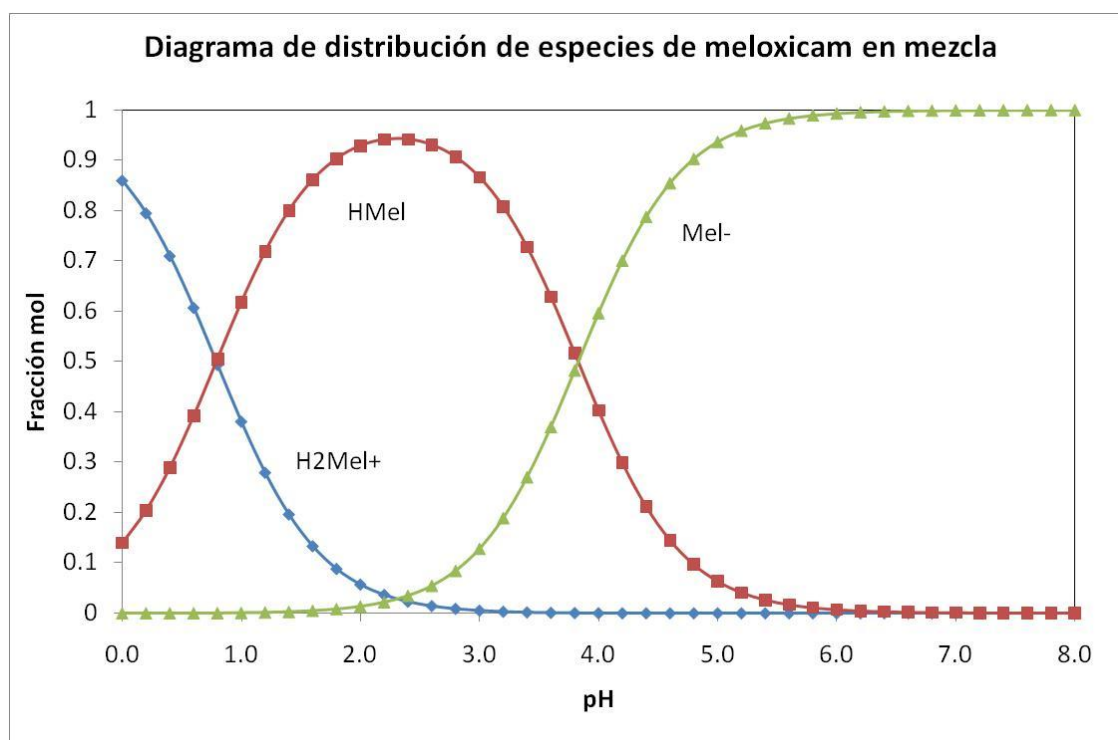


Fig. F8.6. Diagrama de distribución de las especies de meloxicam en mezcla.

De la Fig. F8.5, se observa que las trayectorias azul ( $\text{H}_2\text{Mel}^+$ ) y roja ( $\text{HMel}$ ) se cruzan cuando  $\text{pH} = 0.93$ . Esto sucede cuando  $[\text{H}_2\text{Mel}^+] = [\text{HMel}]$ , lo cual se verifica cuando  $\text{pH} = \text{pK}_{\text{A}1}$ , que es la primera constante de acidez de meloxicam y que corresponde a la desprotonación del catión para generar la forma neutra. Por otra parte, las trayectorias roja ( $\text{HMel}$ ) y verde ( $\text{Mel}^-$ ) se intersectan cuando  $\text{pH} = 3.97$ . Esto sucede cuando  $[\text{HMel}] = [\text{Mel}^-]$ , lo cual se verifica cuando  $\text{pH} = \text{pK}_{\text{A}2}$ , que corresponde a la segunda constante de acidez de meloxicam, e involucra la desprotonación de la forma neutra para generar la aniónica.

En la Fig. F8.6, la distribución de las especies es muy similar que en agua. Las trayectorias azul ( $\text{H}_2\text{Mel}^+$ ) y roja ( $\text{HMel}$ ) se cruzan cuando  $\text{pH} = 0.78$ . Esto sucede cuando  $[\text{H}_2\text{Mel}^+] = [\text{HMel}]$ , lo cual se verifica cuando  $\text{pH} = \text{pK}_{\text{A}1}$ , que es la primera constante de acidez de meloxicam y que corresponde a la desprotonación del catión para generar la forma neutra. Por otra parte, las trayectorias roja ( $\text{HMel}$ ) y verde ( $\text{Mel}^-$ ) se intersectan cuando  $\text{pH} = 3.83$ . Esto sucede cuando  $[\text{HMel}] = [\text{Mel}^-]$ , lo cual se verifica cuando  $\text{pH} = \text{pK}_{\text{A}2}$ , que corresponde a la segunda constante de acidez de meloxicam, e involucra la desprotonación de la forma neutra para generar la aniónica.

## 8.2 PARTE TEÓRICA

### 8.2.1 Confórmeros de la forma neutra

Para encontrar el confórmero neutro de más baja energía, se corrieron cálculos para 48 estructuras moleculares. Dichas estructuras se construyeron variando los ángulos diedros C12-C9-O17-H18, C9-C12-C19-C22 y C19-N20-C23-S24, cada 90°. Se encontró que dos de ellos evolucionaron a la estructura de mínima energía.

La primera estructura de mínima energía del meloxicam en su forma neutra y en fase gaseosa se muestra en la figura F8.7, y se la denominó con el nombre de MeIN1. Se observa un plano molecular donde se localizan el anillo bencénico y el tiazólico. El anillo carboxamida presenta la conformación de media silla, con el grupo metilo orientado en posición axial. El grupo hidroxilo O17-H18 forma un puente de hidrógeno con el oxígeno O22. Dicho puente de hidrógeno está caracterizado por una distancia  $r(\text{O17-H18}) = 1.0034 \text{ \AA}$ , y una distancia con el O22  $r(\text{H18-O22}) = 1.6370 \text{ \AA}$ . El ángulo de enlace  $\angle\text{O17-H18-O22}$  es de  $148.04^\circ$ .

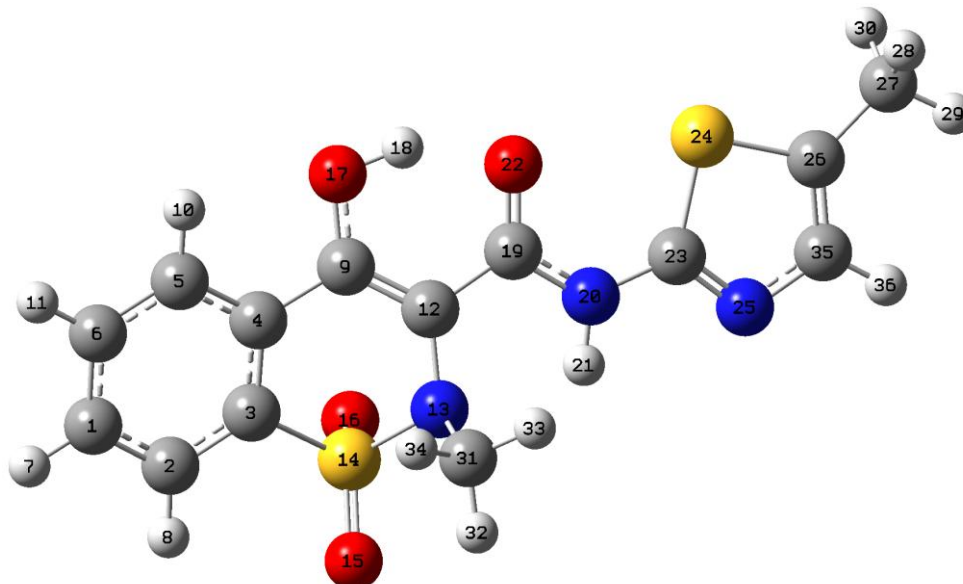


Fig. F8.7. Estructura de mínima energía, en fase gaseosa, para la forma neutra 1 de meloxicam.

El nitrógeno N20 tiene una geometría piramidal, con ángulos de  $\angle\text{C19-N20-C23} = 126.61^\circ$ ,  $\angle\text{C19-N20-H21} = 117.57^\circ$ , y  $\angle\text{C23-N20-H21} = 115.49^\circ$ . El anillo tiazol tiene al azufre S24 orientado en la misma dirección del O22.

El segundo conformero más próximo en energía fue denominado como MelN2, y es el conformero formado al rotar el anillo de tiazol 180° respecto al conformero MelN1, hallándose en una energía de 2.47 kCal/mol sobre la energía del 1, mostrado en la figura F8.8.

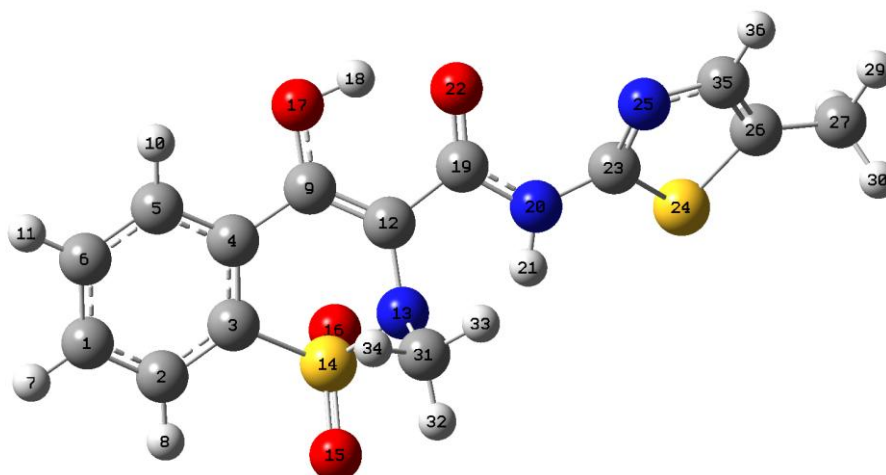


Fig. F8.8. Estructura de baja energía en fase gaseosa, del conformero 2 de meloxicam. Nótese que, a diferencia del conformero 1, el conformero 2 tiene orientado el anillo de azufre hacia abajo, en la misma dirección que el nitrógeno N20.

### 8.2.2 Conformeros del anión

Respecto al anión del meloxicam, se estudiaron 80 estructuras que provienen de las variaciones de los ángulos diedros C12-C9-O17-H18, C9-C12-C19-C22 y C19-N20-C23-S2. De éstas, 8 convergieron a la estructura de mínima energía. Dichos conformeros fueron comparados para buscar alguna diferencia estructural, y en dos de ellos se encontraron.

En la figura F8.9, se muestra la estructura del conformero MelA1, en fase gaseosa, que fue la que presentó menor energía.

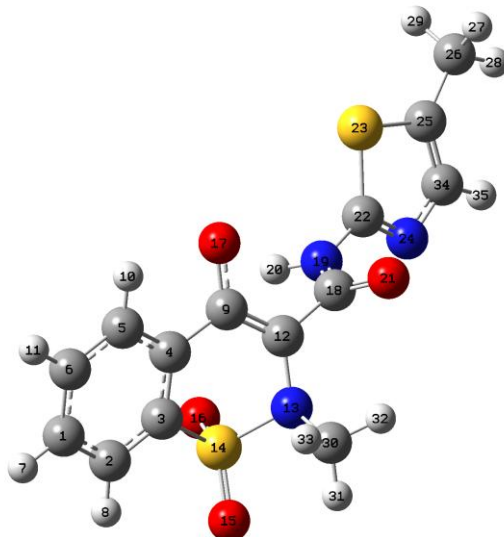


Fig. F8.9. Estructura de mínima energía del conformero aniónico 1 de meloxicam, en fase gaseosa.

Se observa que el anillo tiazólico se halla fuera del plano del anillo bencénico, formando un ángulo diedro  $C5-C4-C3-C25 = 164.11^\circ$ .

El anillo carboxamida presenta conformación de media silla, con el grupo metilo orientado en posición axial. El nitrógeno N19 posee una geometría piramidal, con ángulos de  $\angle C18-N19-H20 = 117.57^\circ$ ,  $\angle C18-N19-C22 = 126.61^\circ$  y  $\angle H20-N19-C22 = 115.49^\circ$ .

El azufre S23 del anillo de tiazol se halla orientado en la misma dirección que el oxígeno O17. El metilo del C25 del anillo de tiazol se encuentra en el mismo plano que el anillo tiazólico.

El otro conformero de mínima energía del anión, MelA2, se muestra en la figura F8.10.

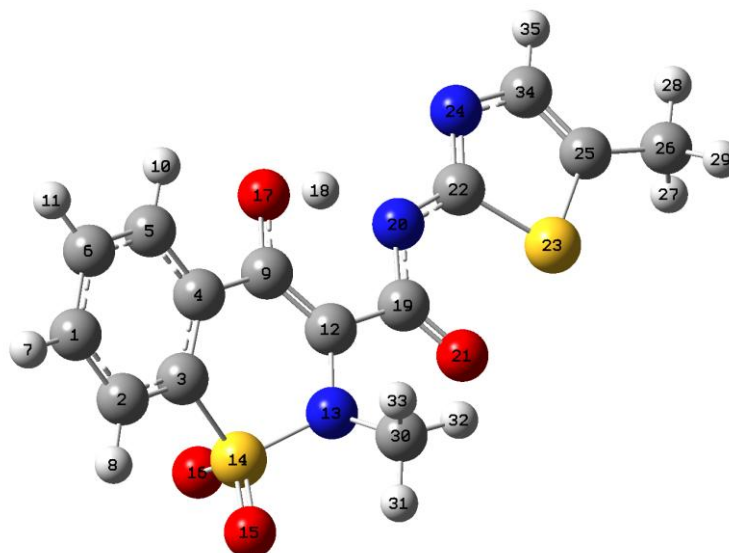


Fig. F8.10. Estructura del anión 2 del meloxicam en fase gaseosa.

Puede observarse que el anillo de tiazol y el anillo de benceno se encuentran en diferentes planos, formando un ángulo diedro  $S23-C3-C4-N24 = 6.77^\circ$ . Debido a la geometría, se forma un puente de hidrógeno entre el H18 y el N20. Las distancias de este puente son  $r(O17-H18) = 1.0783 \text{ \AA}$  y  $r(H18-N20) = 1.4484 \text{ \AA}$ , y el ángulo  $\angle H17-O18-N20 = 158.85^\circ$ . El anillo de carboxamida tiene una conformación de media silla, hallándose el grupo metilo en posición axial.

Al parecer, el nitrógeno N20 posee hibridación  $sp^2$ , por lo que el ángulo  $\angle C19-N20-C22 = 121.68^\circ$ . El azufre S23 se encuentra orientado en la misma dirección que el oxígeno O21.

Este conformero presenta una energía relativa de 5.43 kCal/mol, respecto al anión MelA1.

### 8.2.3 Conformeros del catión

Para los cationes (estructura protonada), se corrieron varias estructuras construidas modificando los ángulos diedros  $C12-C9-O17-H18$ ,  $C12-C19-N20-O22$  y  $C19-N20-C23-N25$  cada  $90^\circ$ , además de colocar en 2 posiciones distintas el protón: en N20 y en N25, generando así 128 conformeros.

Se muestra en la figura F8.11 la estructura en fase gaseosa del catión 1 del meloxicam. El anillo bencénico y el tiazólico se hallan en diferentes planos, pero el ángulo diedro entre ellos es muy pequeño, siendo de  $N20-C3-C4-N25 = 6.18^\circ$ . El anillo carboxamida

tiene una configuración de media silla y el grupo metilo unido a este anillo se halla en posición axial.

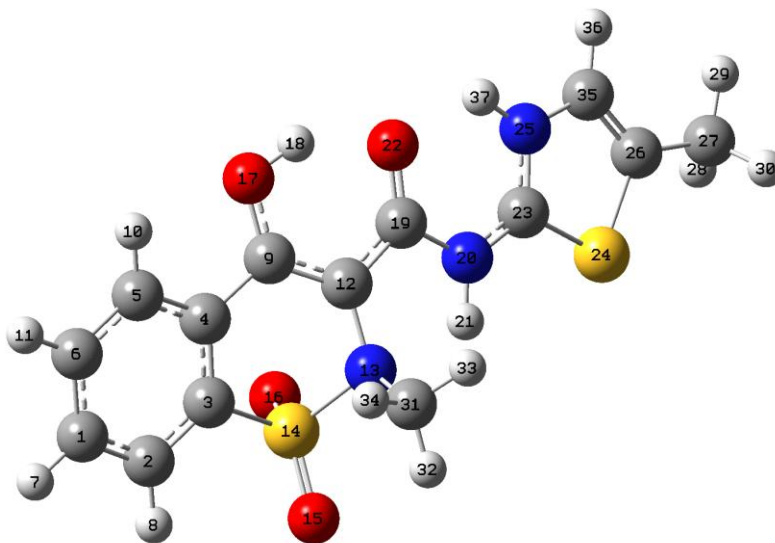


Fig. F8.11. Estructura del conformero del catión 1 de mínima energía, en fase gaseosa.

Pueden observarse 2 puentes de hidrógeno: uno entre el grupo hidroxilo O17-H18 con el oxígeno O22, y el otro entre el oxígeno O22 y el grupo H37-N25.

El puente H18-O22 tiene distancias de  $r(\text{O17-H18}) = 0.9888 \text{ \AA}$  y  $r(\text{H18-O22}) = 1.7619 \text{ \AA}$ , y un ángulo  $\angle \text{O17-H18-O22} = 144.17^\circ$ .

Por otro lado, el puente entre O22-H37 tiene distancias de  $r(\text{O22-H37}) = 1.9006 \text{ \AA}$  y  $r(\text{H37-N25}) = 1.0252 \text{ \AA}$ , y un ángulo  $\angle \text{O22-H37-N25} = 126.67^\circ$ .

El N20 tiene hibridación  $sp^2$ , con ángulos de  $\angle \text{C19-N20-C23} = 124.41^\circ$ ,  $\angle \text{C19-N20-H21} = 114.08^\circ$  y  $\angle \text{H21-N20-C23} = 120.99^\circ$ .

En N25 hay un hidrógeno que puede ser ácido, así como también uno en el nitrógeno N20, pues podría haber deslocalización electrónica entre N20, C23 y N25. La conjugación electrónica entre N20, C23 y N25 hace posible la existencia de al menos 2 estructuras de resonancia. Con esto, H21 y H37 pueden ser ácidos.

El azufre S24 está orientado en la misma dirección del H21, aproximadamente  $180^\circ$  con respecto al oxígeno O22.

En la figura F8.12, se muestra la estructura, en fase gaseosa, del conformero MelC2.

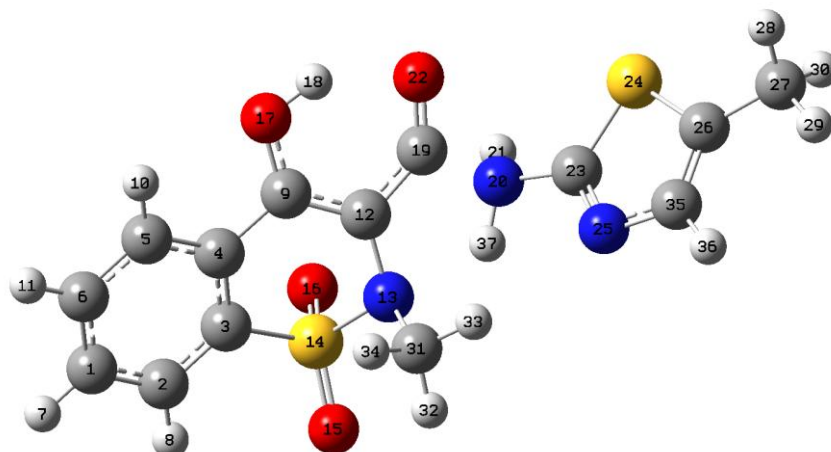


Fig. F8.12. Estructura de mínima energía del catión 2 de meloxicam en fase gaseosa.

Puede observarse que el anillo tiazólico está fuera del plano que contiene al anillo bencénico, formando ambos un ángulo  $N25-C3-C4-N20 = 20.28^\circ$ . El anillo carboxamida muestra una conformación de media silla, con el grupo metilo en posición axial. Hay un puente de hidrógeno entre el hidrógeno H18 y el oxígeno O22. Las distancias de dicho enlace son:  $r(O17-H18) = 0.9850 \text{ \AA}$  y  $r(H18-O22) = 1.8484 \text{ \AA}$ , y el ángulo  $O17-H18-O22 = 141.14^\circ$ . La distancia entre los átomos N20 y C19 es  $r(C19-N20) = 1.5661 \text{ \AA}$ .

El nitrógeno N20 está unido a 2 hidrógenos y 2 carbonos, y presenta una hibridación  $sp^3$ . Sus ángulos son:  $C19-N20-C23 = 114.38^\circ$  y  $H21-N20-H37 = 108.10^\circ$ . El azufre S24 se halla orientado en la misma dirección que O16. Se nota que hay deslocalización electrónica en el sistema O17-C9-C12-C18.

La energía relativa de este conformero es de 34.03 kCal/mol.

### 8.2.4 Conformeros del Zwitterión

Para el ión híbrido, se corrieron 96 estructuras, distribuidas en 3 series de conformeros, cuya estructura fue obtenida de girar  $90^\circ$  los siguientes ángulos diedros: C12-C9-O17-H36, C12-C9-C18-N19 y C18-N19-C22-N24. Para la colocación de las cargas, a la primera serie de conformeros, se colocó la carga positiva en el nitrógeno amídico y la negativa en el oxígeno O17; para la segunda serie, la carga positiva en el nitrógeno

tiazólico y la negativa en el nitrógeno amídico; y para la tercera serie, la carga negativa se posicionó en el oxígeno O17 y la positiva en el nitrógeno tiazólico.

En la figura F8.13, puede observarse la estructura del conformero MelZ1 de mínima energía en fase gaseosa del ión híbrido del meloxicam.

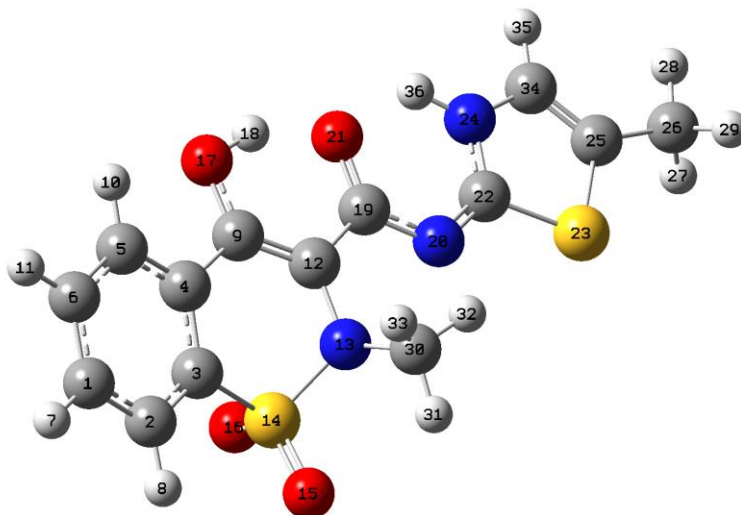


Fig. F8.13. Estructura del ión híbrido de meloxicam de mínima energía en fase gaseosa.

Puede observarse que el anillo bencénico y el anillo tiazólico no están en un mismo plano, formando un ángulo diedro  $C3-C4-O21-S23 = 16.03^\circ$ . Probablemente, existan 2 puentes de hidrógeno: uno entre H18 y O21 y el otro entre O21 y H36.

Para el primero, las distancias son  $r(O17-H18) = 1.0075 \text{ \AA}$  y  $r(H18-O21) = 1.5764 \text{ \AA}$ , y un ángulo de  $\angle O17-H18-O21$  cuyo valor es de  $150.64^\circ$ . Por otro lado, para el puente de hidrógeno en O21-H36, el ángulo  $\angle O21-H36-N24 = 125.85^\circ$ , y las distancias son  $r(O21-H36) = 1.8689 \text{ \AA}$  y  $r(H36-N24) = 1.0221 \text{ \AA}$ .

El nitrógeno N20 tiene una carga de  $-1$  y un doble enlace con C22, generándose un ángulo  $\angle C19-N20-C22 = 118.99^\circ$ . El nitrógeno N24 tiene unido un hidrógeno H36 y presenta posible resonancia con C22, pues hay un par de dobles enlaces entre  $O21=C19$  y  $N20=C22$ , conjugados, entre los que puede haber estabilización por efecto de resonancia.



El azufre tiazólico S23 se orienta en la misma dirección que N20. El anillo carboxamida presenta una configuración de media silla, con el grupo metilo orientado en posición axial.

En la figura F8.14, se muestra la segunda estructura de mínima energía para el ión híbrido de meloxicam, en fase gaseosa.

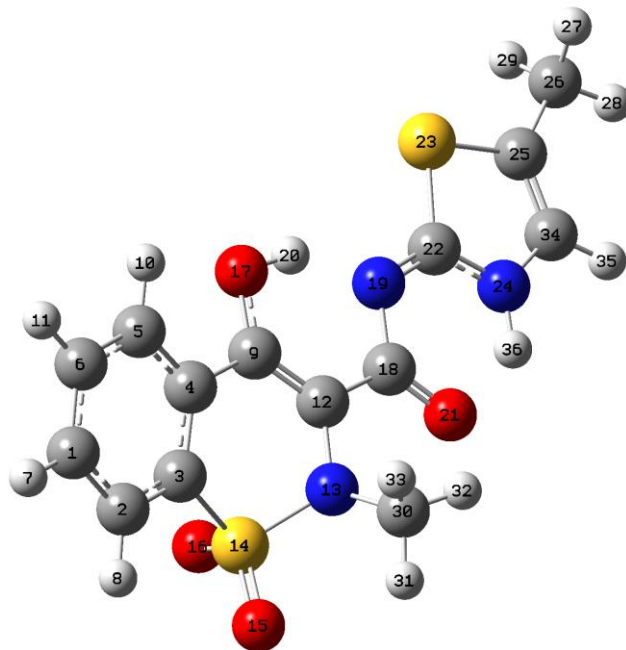


Fig. F8.14. Segunda estructura de mínima energía del ión híbrido de meloxicam, en fase gaseosa.

El anillo bencénico y el anillo tiazólico no se encuentran en el mismo plano, formando un ángulo diedro  $C3-C4-O17-N24 = 32.54^\circ$ .

Se puede observar un puente de hidrógeno entre H20 y N19, que se caracteriza por tener distancias de  $r(O17-H20) = 1.0069 \text{ \AA}$  y  $r(H20-N19) = 1.6424 \text{ \AA}$ , así como un ángulo  $\angle O17-H20-N19 = 148.04^\circ$ .

El anillo carboxamida tiene una conformación de media silla y el grupo metilo se encuentra en posición axial.

Cabe destacar que, en la estructura optimizada, el hidrógeno H20 “salta” desde N19 (en la estructura de entrada) hacia O17, y el anillo de tiazol queda estabilizado por un doble enlace entre  $N19=C22$ , que evita que gire libremente alrededor de dicho enlace.

El nitrógeno N19 presenta un doble enlace, y se forma un ángulo  $\angle$ C18-N19-C22 = 118.79°. El azufre S23 se orienta en la misma dirección que O17.

Se puede observar otro puente de hidrógeno entre H36 y O21, cuyas distancias son  $r(\text{O21-H36}) = 1.8057 \text{ \AA}$  y  $r(\text{H36-N24}) = 1.0284 \text{ \AA}$ , con un ángulo de  $\angle$ O21-H36-N24 = 128.87°.

Tanto el doble enlace N19=C22 como el puente de hidrógeno O21-H36-N24, estabilizan al anillo de tiazol, evitando que gire libremente alrededor del enlace N19-C22. Este conformero tiene una energía relativa de 0.15 kCal/mol.

En la figura F8.15, se aprecia la estructura en fase gaseosa del conformero 3, MelZ3, de mínima energía del ión híbrido de meloxicam en fase gaseosa.

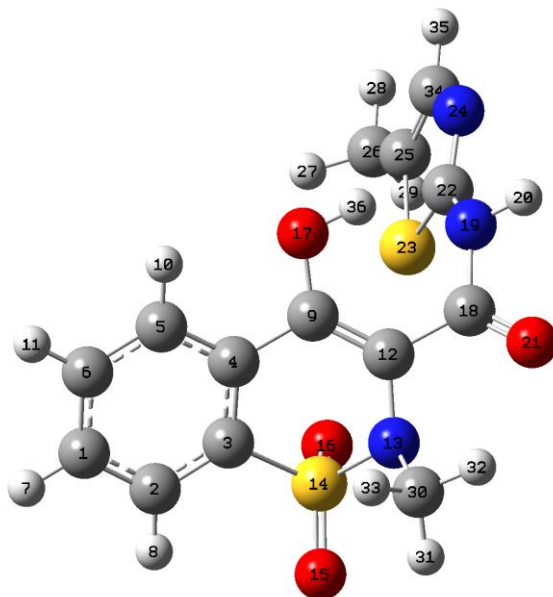


Fig. 8.15. Tercera estructura de mínima energía del ión híbrido de meloxicam, en fase gaseosa.

Se observa que el anillo tiazólico y el bencénico son casi perpendiculares, con un ángulo diedro  $\angle$ C3-C4-C18-S23 = 88.83°. El anillo carboxamida tiene una conformación de media silla y su grupo metilo se halla en posición axial.

Existe un puente de hidrógeno entre H36 y N19, cuyas distancias son  $r(\text{O17-H36}) = 0.9773 \text{ \AA}$  y  $r(\text{H36-N19}) = 1.9670 \text{ \AA}$ , comprendiendo un ángulo  $\angle$ O17-H36-N19 = 137.83°.

En la estructura de entrada, los hidrógenos H20 y H36 fueron colocados sobre N19, teniendo una carga de +1 y dejando una carga de -1 sobre O17. Sin embargo, en la estructura optimizada para MelZ1-003, el hidrógeno H36 se separa de N19 y se une a O17, estabilizando las cargas formales en cada uno de dichos heteroátomos

El nitrógeno N19 presenta una hibridación  $sp^3$ , con ángulos de  $C18-N19-H20 = 1210.16^\circ$ ,  $C18-N19-C22 = 126.28^\circ$  y  $H20-N19-C22 = 110.69^\circ$ .

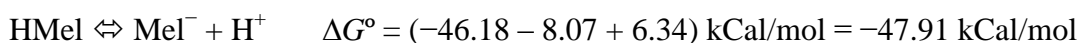
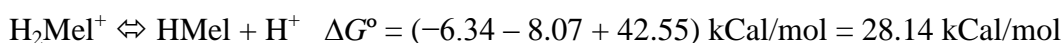
El azufre S23 del anillo tiazólico está orientado hacia O16.

En el anillo tiazólico, hay un par de dobles enlaces conjugados, entre los que parece haber deslocalización electrónica. Dichos insaturaciones están ubicados como  $C22=N24$  y  $C34=C25$ .

La energía relativa de este conformero es de 15.62 kCal/mol.

### 8.2.5 Cálculo de las energías de solvatación

Las energías de solvatación de las especies aniónica, catiónica se emplearon para el cálculo de la energía libre de los equilibrios ácido-base de meloxicam, planteados a continuación:



De acuerdo a las energías anteriores, puede observarse que el primer equilibrio no sería espontáneo, debido a que  $\Delta G^\circ > 0$ . Por otra parte, para el segundo equilibrio, se observa que hay espontaneidad, dado que  $\Delta G^\circ < 0$ .

De la expresión de la constante de equilibrio en términos de la energía libre y la temperatura, puede calcularse la constante de acidez. Es decir:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_A \quad \Rightarrow \quad K_A = e^{-RT/\Delta G^\circ}$$

donde  $R$  es la constante universal de los gases ( $= 0.001987 \text{ kCal/mol}$ ) y  $T$  es la temperatura en K ( $= 310.15 \text{ K}$ , en este trabajo).

Así pues:

$$K_{A1} = e^{[-28.14/(0.001987*310.15)]} = e^{-45.66} = 10^{-18.87}$$

$$pK_{A1} = 18.87$$

$$K_{A2} = e^{[47.91/(0.001987*310.15)]} = e^{5.79E33} = 10^{33.76}$$

$$pK_{A2} = 33.76$$

Como puede observarse, los valores de las constantes de acidez estimados por energía libre difieren de los calculados por espectrofotometría, debido a que los conformeros anión, catión y neutro fueron optimizados en fase gaseosa.

## **CAPÍTULO 9**

# **CONCLUSIONES**

## 9. CONCLUSIONES

- ♦ De acuerdo a los resultados arrojados por TRIANG, se encontraron 3 especies de meloxicam que absorben radiación electromagnética y que estuvieron involucradas en los equilibrios ácido-base.
- ♦ En medio acuoso, los valores de  $pK_A$  para meloxicam fueron  $0.93 \pm 0.0261$  y  $3.97 \pm 0.0159$ .
- ♦ Por otro lado, en la mezcla DMSO:H<sub>2</sub>O 1:9 los valores de las constantes de acidez fueron  $0.79 \pm 0.0124$  y  $3.83 \pm 0.0081$ .
- ♦ Las constantes de acidez para los medios empleados no difirieron significativamente.
- ♦ Durante el modelaje, se optimizó la geometría para las diferentes especies de meloxicam (anión, catión, neutro y zwitterión), hallándose que la forma neutra tuvo la menor energía.
- ♦ Las energías de solvatación no permitieron predecir las observaciones experimentales, ya que en el caso del primer equilibrio ácido-base del meloxicam la energía  $\Delta G > 0$  indicó un proceso no espontáneo, lo que significa que la primera disociación no podría haber sido posible y el primer valor de  $pK_A$  no podría haberse calculado. Por otro lado, la energía libre del segundo equilibrio ácido-base del fármaco fue menor a cero.
- ♦ El cálculo de los valores de  $pK_A$  estimados a partir de la energía libre de confórmers en estado gaseoso fue una razón importante por la que difirieron significativamente de los encontrados por espectrofotometría.
- ♦ Se encontró que la información arrojada por las energías de solvatación no predijo de algún modo lo observado experimentalmente, ya que la energía libre del primer equilibrio indicó un proceso no espontáneo, mientras que la del segundo implicó un proceso espontáneo.

## **CAPÍTULO 10**

# **REFERENCIAS**

---

## 10. REFERENCIAS

Avendaño, C. (2001). Introducción a la Química Farmacéutica, 2ª, McGraw-Hill, España, p. 63-84.

Chang, Raymond (2008). Fisicoquímica para las ciencias químicas y biológicas, 3ª, McGraw Hill, México, p. 517-521.

Defazio, Sandra; Cini, Renzo, “*Synthesis, X-ray structure and molecular modelling analysis of cobalt(II), nickel(II), zinc(II) and cadmium(II) complexes of the widely used anti-inflammatory drug meloxicam*”. J. Chem. Soc., Dalton Trans. (2002), p. 1888-1897.

Florez, Jesús (2004). Farmacología Humana, 4ª, Masson, España, p. 26-30.

García Vargas, Marianela (2004). Artritis reumatoide. Fisiopatología y tratamiento, CIMED, Costa Rica, 73 p.

Harris, Daniel C. (2007). Quantitative Chemical Analysis, 7<sup>th</sup>, Freeman and Company, USA, 663 p.

Hupp James R., “*Cox-2 Selective Inhibitors: A literature review of analgesic efficacy and safety in oral-maxillofacial surgery*”. Oral and Maxillofacial Surgery. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology. Vol 97 (2004), No. 2, p. 139-146.

Jorgensen, William L. “Efficient Drug Lead Discovery and Optimization”: *Accounts of chemical research*, Vol. 42 (2009), p. 724-733.

Katzung, Bertram G. (2005). Farmacología Básica y Clínica, 9ª, El Manual Moderno, México, 582 p.



---

Luger, Peter; Daneck, Klaus; Engel, Wolfhard; Trummlitz, Günter; Wagner, Klaus, "Structure and physicochemical properties of meloxicam, a new NSAID": *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Elsevier, Vol 4 (1995), No. 3, 175-187 p.

Morales Pérez Adriana. "Estudios de sistemas químicos multirreaccionantes en soluciones acuosas por métodos espectrofotométricos con el programa SQUAD y otros métodos computacionales". Tesis de Maestría. UNAM. FES Cuautitlán. México. 1993.

Moya-Hernández, M. R.; Mederos, A.; Domínguez, S.; Orlandini, A.; Ghilardi, C. A.; Cecconi, F.; González-Vergara, E.; Rojas-Hernández, A. "Speciation study of the anti-inflammatory drug tenoxicam (Htenox) with Cu(II): X-ray cristal structure of [Cu(tenox)<sub>2</sub>(py)<sub>2</sub>]·EtOH": *Journal of Inorganic Chemistry*, Vol. 95 (2003), p. 131-140.

Osiri, Manathip; Moreland, Larry W. "Specific Cyclooxygenase 2 Inhibitors: A New Choice of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug Therapy": *Review: COX-2 Inhibitors*, Vol. 12 (1999), p. 351-362.

Rang, H. P. (2003). *Pharmacology*, 5th, Churchill Livingstone, UK, p. 244-249.

Skoog, Douglas A. (2005). *Fundamentos de Química Analítica*, 8ª, Thomson, México, 1065 p.

Tsai, Rucy-Shiuan; Carrupt, Pierre-Alain; Tayar, Nahir El; Giroud, Yvan; Andrade, Pedro; Testa, Bernard. "Physicochemical and Structural Properties of Non-steroidal Anti-inflammatory Oxicams": *Helvetica Chimica Acta*, Vol. 76 (1993), p. 842-854.

Weder, Jane E. ; Dillon, Carolyn T.; Hambley, Trevor W.; Kennedy, Brendan J.; Lay, Peter A.; Biffin, J. Ray; Regtop, Hubert L.; Davies, Neal M., "Copper complexes of non-steroidal anti-inflammatory drugs: an opportunity yet to be realized": *Coordination Chemistry Reviews*, Elsevier, Vol. 232 (2002), No. 1-2, p. 95-126.

<http://www.sigmaaldrich.com>

<http://quantum.cecalc.ula.ve/espanol/index.html>

[http://es.wikipedia.org/wiki/Qu%C3%ADmica\\_computacional](http://es.wikipedia.org/wiki/Qu%C3%ADmica_computacional)

<http://nereida.deioc.uill.es/>

<http://www.rcsb.org/>

<http://agaudi.files.wordpress.com/>

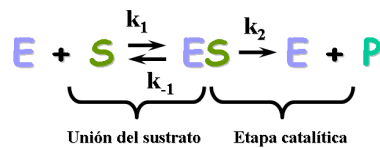
<http://www.uned.es/cristamine/mineral/metodos/imagenes/espectrofotom.gif>

# **ANEXOS**

# ANEXO I

Para comprender el mecanismo de acción de la ciclooxigenasa, es necesario recordar algunos aspectos de cinética enzimática.

Sea E, S, ES y P la enzima, el sustrato, el complejo enzima-sustrato y el producto, respectivamente. Esto puede representarse mediante el siguiente esquema:



La rapidez inicial,  $v_0$ , de formación de producto, es:

$$v_0 = (dP/dt)_0 = k_2[ES] \quad \text{----- (A1.1)}$$

Suponiendo que  $k_{-1} \gg k_2$  de modo que el primer paso (unión del sustrato S a E) se pueda considerar como un proceso de equilibrio rápido, la constante de disociación,  $K_S$ , es

$$K_S = (k_{-1}/k_1) = ([E][S])/[ES] \quad \text{----- (A1.2)}$$

La concentración total de la enzima en un momento poco después de iniciada la reacción es

$$[E_0] = [E] + [ES] \quad \text{----- (A1.3)}$$

de modo que

$$K_0 = ([E] - [ES])([S]/[E]) \quad \text{----- (A1.4)}$$

Al despejar [ES] se llega a

$$[ES] = ([E]_0[S])/(K_S + [S]) \quad \text{----- (A1.5)}$$

La ecuación A1.5 se sustituye en la ecuación A1.1, y se obtiene

$$v_0 = (dP/dt)_0 = (k_2[E]_0[S])/(K_S + [S]) \quad \text{----- (A1.6)}$$

Ello indica que la rapidez siempre es proporcional a la concentración total de la enzima. Cuando todas las moléculas de enzima están acopladas con el sustrato en forma de ES, la rapidez inicial medida debe tener su valor máximo ( $V_{\text{máx}}$ ), y entonces

$$V_{\text{máx}} = k_2[E]_0 \quad \text{----- (A1.7)}$$

y a  $V_{\text{máx}}$  se le llama *rapidez media*. Cuando  $[S] = K_S$ ,  $v_0 = V_{\text{máx}}/2$ , por lo que  $K_S$  es igual a la concentración de S cuando la rapidez inicial es la mitad de su valor máximo.

Ahora bien, poco después de haber mezclado la enzima y el sustrato, la concentración del complejo enzima-sustrato alcanza un valor constante, momento en el cual se puede aplicar la aproximación de estado estable como sigue:

$$\begin{aligned} d[ES]/dt = 0 &= k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] \\ &= k_1([E]_0 - [ES])[S] - (k_{-1} + k_2)[ES] \quad \text{----- (A1.8)} \end{aligned}$$

Al despejar [ES] se obtiene

$$[ES] = (k_1[E]_0[S])/(k_1[S] + k_{-1} + k_2) \quad \text{----- (A1.9)}$$

Al sustituir la ecuación A1.9 en la ecuación A1.1, se llega a

$$\begin{aligned} v_0 = (dP/dt)_0 &= k_2[ES] = (k_1k_2[E]_0[S])/(k_1[S] + k_{-1} + k_2) \\ &= (k_2[E]_0[S])/\{(k_{-1} + k_2)/k_1 + [S]\} \\ &= (k_2[E]_0[S])/(K_M + [S]) \quad \text{----- (A1.10)} \end{aligned}$$

donde  $K_M$ , la *constante de Michaelis*, se define como

$$K_M = (k_{-1} + k_2)/k_2 \quad \text{----- (A1.11)}$$

Como  $E_0 = V_{\text{máx}}/k_2$ , se tiene que

$$v_0 = (V_{\text{máx}}[S])/(K_M + [S]) \quad \text{----- (A1.12)}$$

y cuando  $v_0 = V_{\text{máx}}/2$ ,  $K_M = [S]$ .

La constante de Michaelis,  $K_M$ , varía mucho de una enzima a otra, y también con distintos sustratos de la misma enzima, y dicho parámetro representa la concentración del sustrato a la cual la mitad de los sitios activos de la enzima están llenos con moléculas de sustrato. Cuanto mayor es  $K_M$ , la unión es más débil.

El valor de  $K_M$  suele indicarse junto con otros parámetros cinéticos de reacciones catalizadas por enzimas, ya que depende de la temperatura, de la naturaleza del sustrato, del pH, de la fuerza iónica, presencia de activador o inhibidor y de otras condiciones de reacción. Para la mayor parte de las enzimas,  $K_M$  está entre  $10^{-1}$  M y  $10^{-7}$  M.

El valor  $V_{\text{máx}}$  representa la rapidez máxima alcanzable, esto es, aquella a la cual la concentración total de la enzima está presente como complejo de enzima sustrato. A partir de  $V_{\text{máx}}$  y de  $[E]_0$  puede calcularse el valor de  $k_2$  (también denominada como  $k_{\text{cat}}$ ), que es el número de recambio o constante catalítica, y es el número de moléculas (o moles) de sustrato que se convierten en producto por unidad de tiempo, cuando la enzima está totalmente saturada con el sustrato.