

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a knight on a white horse, holding a lance and a shield, set against a landscape with green hills. Above the knight is a golden crown with a cross on top. To the left is a golden castle tower, and to the right is a golden lion rampant. The entire scene is enclosed within a circular border containing Latin text: "ACADEMIA CAROLINA CONSPICUA COACTEMALENSIS INTER CETERAS".

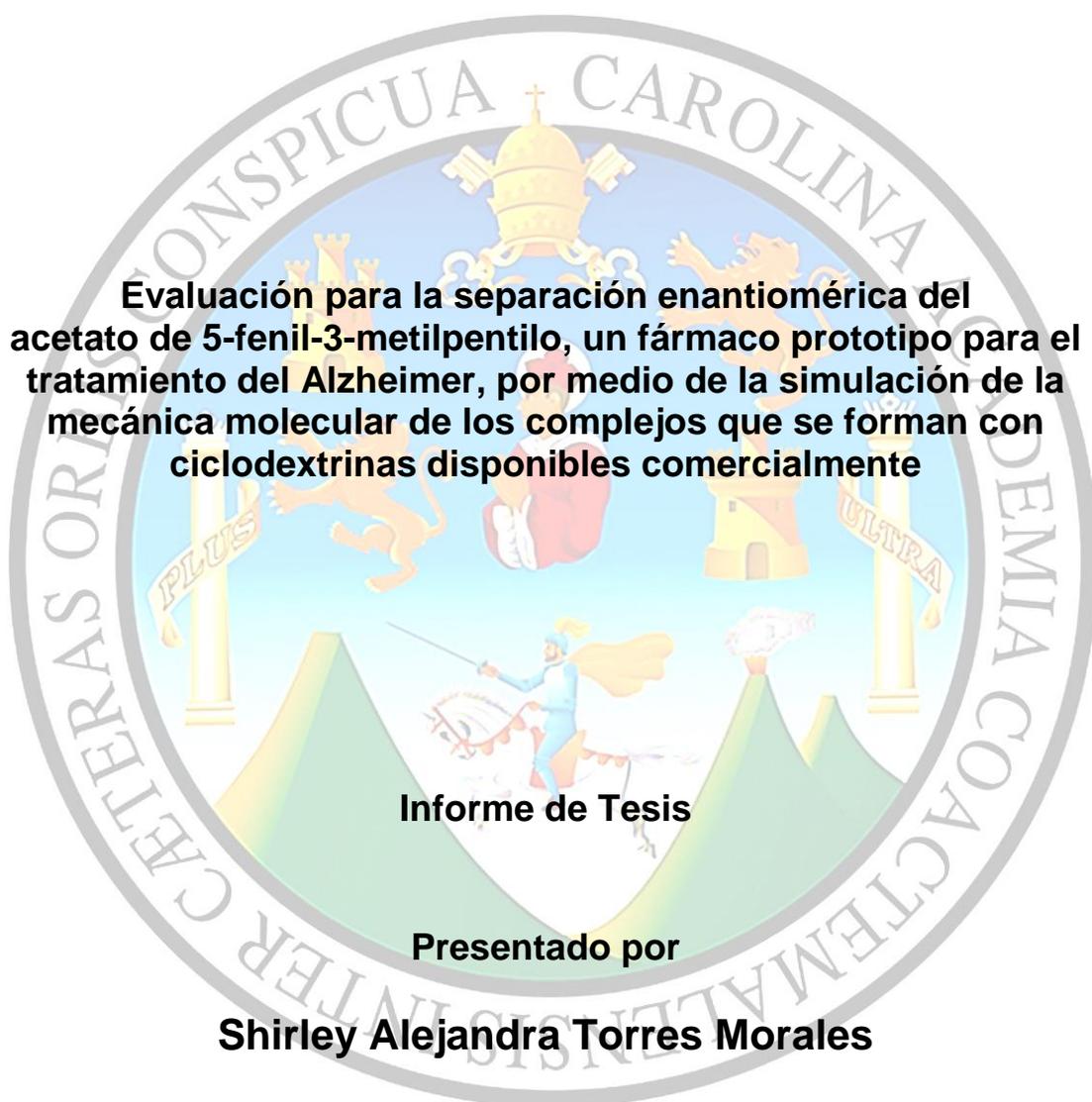
Evaluación para la separación enantiomérica del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo, un fármaco prototipo para el tratamiento del Alzheimer, por medio de la simulación de la mecánica molecular de los complejos que se forman con ciclodextrinas disponibles comercialmente

Shirley Alejandra Torres Morales

Químico

Guatemala, marzo de 2014

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a knight on a white horse, holding a lance and a shield. The knight is surrounded by two golden lions rampant, one on each side. Above the knight is a golden crown with a cross on top. The entire scene is set against a blue background with a white border. The Latin motto "ACADEMIA COACTEMALTEPEMALTENSI INTER CETERAS ORIBUS PRAECONSPICUA CAROLINA" is inscribed around the perimeter of the seal.

Evaluación para la separación enantiomérica del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo, un fármaco prototipo para el tratamiento del Alzheimer, por medio de la simulación de la mecánica molecular de los complejos que se forman con ciclodextrinas disponibles comercialmente

Informe de Tesis

Presentado por

Shirley Alejandra Torres Morales

Para optar al título de

Químico

Guatemala, marzo de 2014

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Rodrigo José Vargas Rosales	Vocal III
Br. Lourdes Virginia Nuñez Portales	Vocal IV
Br. Julio Alberto Ramos Paz	Vocal V

Dedicatoria

Este acto de graduación lo dedico: a mi mamá, sé que este ciclo que termina es importante para las dos de igual forma pero, este logro es más tuyo que mío. A mi abuelita, mi soporte principal y las palabras de aliento seguras en mi vida; a mi familia, principalmente a mis tíos Víctor, Mario, Patty, Cristy y Carlitos. A mis amigos: Willy, Carlos, Sofía, Gerson, Javier y Jonatán, que su compañía y cariño me han rodeado de mucha alegría y paz, gracias por los innumerables favores y por toda la motivación que me han brindado.

Al Maestrísimo Lic. Eduardo Robles, que ha compartido conmigo no solo de su calidez como persona sino también de su conocimiento, agradezco sus palabras de apoyo y el brindarme una visión del Químico que quiero ser y al Lic. Jhoni Álvarez, su compañía como jefe, catedrático, compañero y amigo, me llenó de alegría en muchas ocasiones, este logro fue algo que compartimos y su apoyo fue crucial para mí. Mil gracias a todos.

Esta ruta para transformarme en Química, ha sido lo más difícil, retador, apasionante y satisfactorio que he vivido. Amo la Química, le agradezco a Dios este momento y el haberme regalado esta vocación en donde he encontrado tanta plenitud.

Agradecimientos

A la Universidad de San Carlos de Guatemala

Mi alma máter, por la formación y el trabajo que me ha brindado.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

A la Escuela de Química

Espero que evolucione y crezca, para que trascienda a más estudiantes que encuentren lo que muchos otros hemos encontrado aquí.

Al Lic. Omar Velásquez

Por su asesoría durante la elaboración de esta tesis.

A Rony J. Letona

Por su asesoría durante toda la parte experimental de esta tesis.

A la Licda. Bárbara Cano, Lic. Luis Velásquez e Ing. Roberto Díaz

Por el gran apoyo que recibí de ustedes para poder completar este trabajo. Sin ese tiempo que ustedes me brindaron, este trabajo no hubiera sido posible.

Índice

I. Resumen	3
II. Introducción	4
III. Antecedentes	5
III.1 La enfermedad de Alzheimer	5
III.1.1 Inhibidores pseudo-irreversibles	5
III.1.2 Inhibidores Irreversibles	5
III.1.3 Inhibidores tipo análogos de estados de transición	6
III.1.4 Inhibidores Reversibles	6
III.2 Acetato de 5-fenil-3-metilpentilo: un fármaco prototipo para el tratamiento del Alzheimer	6
III.3 Evaluación de estereoisómeros como fármacos	8
III.4 Reconocimiento Quiral	9
III.5 Ciclodextrinas	10
III.6 Complejos anfitrión-huésped	11
III.7 Química Supramolecular: Anfitrión-Huésped	12
III.8 Reconocimiento Enantioselectivo	13
III.9 Formación de Complejos de Inclusión con Ciclodextrinas	14
III.10 Aplicación de ciclodextrinas en enantioseparación	15
III.11 Métodos de simulación para sistemas moleculares	17
IV. Justificación	20
V. Objetivos	21
A. General	21
B. Específicos	21
VI. Hipótesis	22
VII. Materiales y Métodos	23
A. Universo	23
B. Muestra	23
C. Materiales y Equipo	23
D. Métodos	23
1. Procedimiento	23
2. Diseño de Investigación	24
VIII. Resultados	25
IX. Discusión de Resultados	48
X. Conclusiones	52
XI. Recomendaciones	53
XII. Referencias Bibliográficas	54
XIII. Anexos	57

I. Resumen

El presente informe final trata sobre la definición de una propuesta para la separación enantiomérica del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo, un fármaco prototipo para el tratamiento del Alzheimer, a través de su interacción con diferentes ciclodextrinas, modelando los complejos de inclusión posibles y calculando sus energías a través de la mecánica molecular.

Las ciclodextrinas evaluadas fueron la: α -ciclodextrina, β -ciclodextrina, metil- β -ciclodextrina, propil- β -ciclodextrina, 2-hidroxietil- β -ciclodextrina, 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina y la γ -ciclodextrina.

Los cálculos fueron realizados con el programa para química computacional Sybyl® 8, usando el campo de fuerzas Tripos. Este campo de fuerza, aproxima la energía conformacional de una molécula como la suma de los términos de las interacciones de extensión de enlace, doblamiento de ángulos, de torsión, de van der Waals, electrostáticas, y fuera del plano.

Se obtuvieron más de 30,000 datos que correspondían a la energía total calculada de cada uno de los complejos de inclusión en las conformaciones modeladas para su evaluación. A partir de estos se extrajeron los datos de energía menores a 0 kJ/mol, que ascendían a alrededor de 10,000 valores, los cuales se definieron como los que representan a los complejos que podrían formarse en condiciones experimentales.

Se calculó que el enantiómero (S)-5-fenil-3-metilpentilo, posee una mayor energía que su contraparte, por lo cual la minimización energética de este ligando favorece la formación de complejo de inclusión. De las ciclodextrinas evaluadas se logró determinar la posibilidad de reconocimiento enantiomérico para los isómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo, utilizando como molécula anfitrión a la 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina y la γ -ciclodextrina.

Al realizar un análisis de precios y su desempeño teórico, la 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina es la propuesta principal de este estudio para su uso, como aditivo quiral o fase estacionaria, para la separación de los enantiómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo.

II. Introducción

La enfermedad de Alzheimer es la sexta causa principal de muerte natural y la causa más frecuente de demencia irreversible hoy en día (Gil et.al., 2008). Se puede intentar que el enfermo mejore con fármacos llamados anticolinesterásicos por su acción inhibidora de la colinesterasa, que es la enzima encargada de catabolizar la acetilcolina, el neurotransmisor que falta en el Alzheimer y que tiene tanta importancia para tener memoria y comportamiento normales. Los fármacos de mayor demanda son el donepezilo y la rivastigmina, con probada eficacia para mejorar la memoria y otras funciones cognitivas de manera clara pero sus efectos secundarios pueden producir náuseas, vómitos, diarreas y hepatotoxicidad (Gil et al., 2008).

En Guatemala, se realizó el diseño de un fármaco derivado de calyxaminas A y B potencialmente activo contra el Alzheimer, a través de un método computacional (Carrascoza, 2010). A partir de este trabajo, el fármaco elucidado como el mejor candidato, el acetato de 5-fenil-3-metilpentilo, es el sustrato que se evaluó para determinar una posible ruta para su separación quiral y por consiguiente su purificación enantiomérica.

La evaluación de la pureza enantiomérica es muy importante, debido a que dichas impurezas pueden tener efectos no deseados toxicológicos, farmacológicos o de algún otro tipo. Estas impurezas pueden ser acarreadas durante la síntesis y reaccionan preferencialmente en uno o más pasos, y poder producir un nivel indeseable de algún subproducto. Frecuentemente, un enantiómero de una serie produce un efecto deseado, mientras otro es inactivo o incluso dañino en alguna forma. Existen grandes diferencias en la actividad entre estereoisómeros, lo que indica la necesidad de determinar de forma adecuada la pureza enantiomérica de los fármacos. A menudo estas diferencias existen entre enantiómeros, los estereoisómeros más difíciles de separar (Ahuja, 2000).

Para realizar una propuesta de cómo separar eficazmente los enantiómeros R y S del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo, y así poder examinarlos separadamente, se hizo uso de la herramienta Sybyl[®], que es el programa encargado de realizar los cálculos de mecánica molecular, que indica una descripción teórica basada en mecánica molecular y campos de fuerzas. Estos cálculos permiten determinar las estabilidades relativas de los complejos formados entre la ciclodextrina-sustrato, que serán los responsables para la resolución de estos compuestos.

Las estructuras de las ciclodextrinas tienen una forma toroidal, y son estereoespecíficas. La cavidad interior es relativamente hidrofóbica, y una variedad de compuestos solubles e insolubles en agua pueden caber dentro de ellas, formando complejos de inclusión. Si estos compuestos son quirales, se forman complejos de inclusión diastereoméricos (Ahuja, 2000).

III. Antecedentes

III.1. La enfermedad de Alzheimer

En la décima revisión de la Clasificación Internacional de las Enfermedades (CIE-10) publicada por la Organización Mundial de la Salud, en 1992, se definió que: “La enfermedad de Alzheimer es una enfermedad degenerativa cerebral primaria, de etiología desconocida que presenta rasgos neuropatológicos y neuroquímicos característicos. El trastorno se inicia, por lo general, de manera insidiosa y lenta, y evoluciona progresivamente durante un período de años. El período evolutivo puede ser corto, 2 ó 3 años, pero en ocasiones es bastante más largo” (Dtchamp, 2005).

Dentro de los factores biológicos, las neuronas que controlan la memoria y el pensamiento están deterioradas, interrumpiendo el paso de mensajes entre ellas. Estas células desarrollan cambios distintivos: placas seniles y haces neurofibrilares (degeneraciones del tejido cerebral).

La destrucción de las células nerviosas (neuronas) lleva a una disminución de los neurotransmisores (sustancias secretadas por una neurona para enviar los mensajes a otra neurona), cuyo equilibrio correcto es crítico para el cerebro. Los tres neurotransmisores comúnmente afectados por la enfermedad de Alzheimer son acetilcolina, serotonina y norepinefrina; la acetilcolina es la más afectada (Dtchamp, 2005).

III.1.1. Medicamentos contra el Alzheimer:

Los inhibidores de acetilcolinesterasa (IAChE) se clasifican en cuatro categorías:

III.1.1.1. Inhibidores pseudo-irreversibles:

Esta clase de inhibidores de la acetilcolinesterasa incluye un grupo de carbamatos que forman un complejo carbamoilado con el residuo de Ser200 de la tríada catalítica de la acetilcolinesterasa que se hidroliza más lentamente que la forma acilada resultante de la interacción con acetilcolina (Marco, 2005).

III.1.1.2. Inhibidores Irreversibles:

Esta familia de inhibidores de la acetilcolinesterasa incluye una serie de organofosfatos que forman complejos estables fosforilados con el residuo de serina en el centro activo de acetilcolinesterasa, y cuya desfosforilación es aún más lenta que la descarbamoilación. El único representante de este grupo que ha experimentado un amplio estudio clínico es metrifonato. Este compuesto es un pro-fármaco, de por sí no activo, que se transforma no enzimáticamente en 2,2-diclorovinil-dimetilfosfonato (DDVP), el verdadero

inhibidor de la acetilcolinesterasa in vivo (y también de butirilcolinesterasa) en pequeñas dosis y por largo tiempo (varias semanas) (Marco, 2005).

III.1.1.3. Inhibidores tipo análogos de estados de transición:

El yoduro de m-(N,N,N-trimetilamonio)trifluorocetofenona es un poderoso inhibidor de la acetilcolinesterasa, cuya potencia procede de la interacción covalente y reversible con el residuo de serina del centro activo de la enzima, formando un aducto hemiacetálico, tetraédrico, que recuerda el estado de transición en el mecanismo mismo de la enzima. No obstante, el carácter iónico de este compuesto impide su paso por la barrera hematoencefálica (Marco, 2005).

III.1.1.4. Inhibidores Reversibles:

A diferencia de los anteriores, estos inhibidores interaccionan con la enzima cerca del sitio catalítico, sin producir complejos covalentes. Existen tres grandes familias en este grupo: tacrinas (análogos de aminoacridinas), las N-bencilpiperidinas y algunos alcaloides (Marco, 2005).

III.2. Acetato de 5-fenil-3-metilpentilo: un fármaco prototipo para el tratamiento del Alzheimer

Las Calyxaminas fueron aisladas de *Calyx Podatypa*, una esponja marina del Caribe mesoamericano, por Rodríguez y Cóbar en 1997 (Rodríguez et al., 1997) y sintetizadas por primera vez por Vásquez y Cóbar en 2005, reportándose su inhibición contra la enzima Acetilcolinesterasa (Cóbar et al., 2005).

Debido a que las Calyxaminas A y B son compuestos novedosos con potencial actividad contra la Enfermedad de Alzheimer y su reciente síntesis orgánica, se buscó determinar cuál es el sitio activo en acetilcolinesterasa por el cual ambos compuestos inhiben esta enzima y al estudiar sus interacciones, se mejoraría la eficiencia del enlace Calyxamina-Enzima, modificando los grupos químicos funcionales de Calyxaminas A y B.

La molécula del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo se seleccionó como el mejor candidato de los evaluados, esta selección se basó en varios parámetros de los cuales los más importantes son ClogP y la energía libre de enlace enzima-ligando.

De esta manera, el “docking” realizado con el programa Autodock 4.01 muestra en su gráfica que los sitios activos del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo en la acetilcolinesterasa no

están dispersos, sino bien localizados. Estos centros reactivos están relacionados directamente con los sitios de enlace encontrados para la acetilcolina y la acetilcolinesterasa.

En base a las propiedades determinadas para la acetilcolinesterasa fue posible encontrar una serie de sitios activos presentes en la enzima, cuya función es hidrolizar la acetilcolina y los cuales están de acuerdo con lo previamente reportado en la literatura (Carrascoza et al., 2010).

Los sitios activos presentes en la acetilcolinesterasa para calyxamina A, calyxamina B y acetilcolina, son prácticamente los mismos, existen pequeñas diferencias entre los aminoácidos que poseen preferencia en la interacción entre las moléculas, pero básicamente se puede decir que estos aminoácidos generalmente son fenilalanina, triptófano y tirosina. Existe un sitio activo principal en la acetilcolinesterasa, determinado por el hallazgo recurrente de muy bajas energías de enlace liberadas para la interacción de todas las moléculas afines sustrato-acetilcolinesterasa que fueron evaluadas (Carrascoza et al., 2010). Dicho sitio activo se ubica esencialmente alrededor de la TYR337, con importantes interacciones aportadas por PHE298 y PHE337. Se han obtenido varios derivados que mejoraron la energía desplegada de las calyxaminas A y B y acetilcolina, dentro de ellos se ha seleccionado al acetato de 5-fenil-3-metilpentilo, como el mejor candidato líder encontrado en esta serie de compuestos diseñada, basándose en la excelente calidad de sus propiedades farmacofóricas. Es más afin a la acetilcolinesterasa que la acetilcolina, pero menos que las calyxaminas, su ClogP es 2.98, siendo el ClogP ideal cercano a 5.00 se considera el valor como bueno. Un análisis global de los resultados la ubican como la primera opción para su desarrollo como fármaco anti-Alzheimer (ver figura 1), posee excelentes cualidades hidrófobas, el análisis de hidrógenos dadores y aceptores lo ubica en 1.98 siendo uno de los mejores compuestos obtenidos y se considera que químicamente el acetato de 5-fenil-3-metilpentilo posee una estructura fácil de sintetizar (Carrascoza et al., 2010).

No existe información previa acerca de cuál de los enantiómeros es el que posee mayor actividad farmacológica.

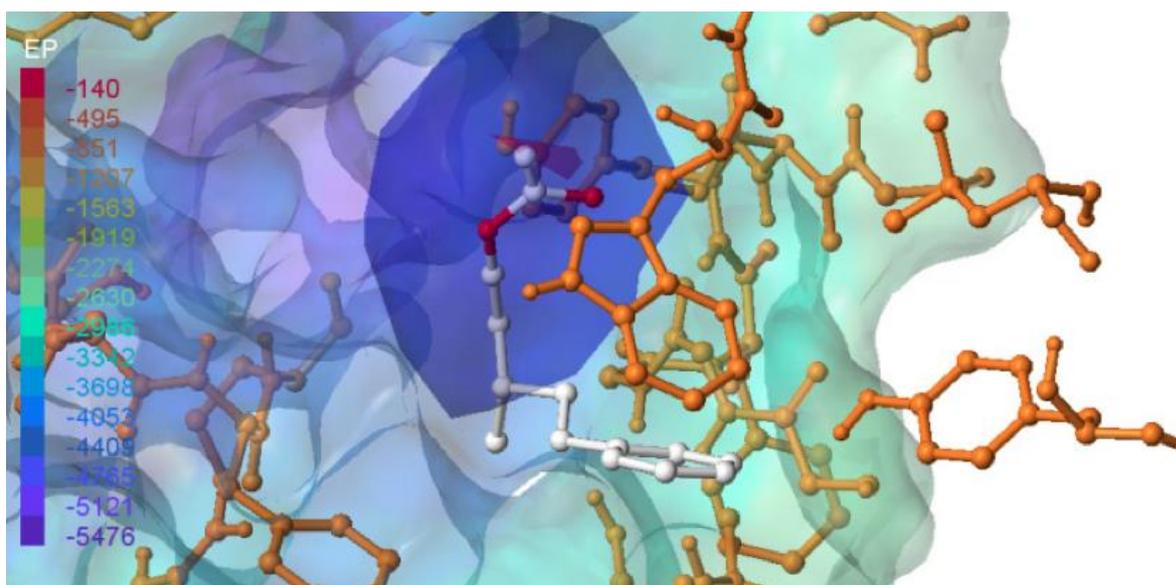


Figura 1. Interacciones electrostáticas para la acetilcolinesterasa y el acetato de 5-fenil-3-metilpentilo. Esta representación está en un campo de Van der Waals ploteado en toda su superficie. La escala del nivel electrostático se aprecia en el lado izquierdo de la gráfica. (Carrascosa et al., 2010).

III.3. Evaluación de estereoisómeros como fármacos

Las diferencias en las propiedades biológicas entre los enantiómeros de las drogas racémicas en muchos casos aún no han sido determinadas, probablemente debido a las dificultades de obtener ambos enantiómeros en una forma ópticamente pura (Ahuja, 2000).

La resolución de compuestos enantioméricos en HPLC, ha sido lograda a través de la formación de complejos diastereoméricos de una molécula quiral añadida a la fase móvil. La resolución quiral se debe a las diferencias en las estabilidades de los complejos diastereoméricos, la solvatación de la fase móvil o la unión de los complejos a un soporte sólido.

En la resolución de compuestos quirales, los métodos computarizados se basan en la evaluación del potencial energético de los contornos obtenidos en los procesos de simulación molecular. A los enantiómeros unidos con la misma entidad quiral en la simulación, se les asocia una diferencia de energía entre los dos complejos y su potencial energético puede ser calculado; esto ofrece un medio de predecir el orden de elución en un sistema cromatográfico (Ahuja, 2000).

III.4. Principio de Reconocimiento Quiral:

El reconocimiento quiral está basado en la habilidad de un receptor molecular para formar un complejo preferencialmente con uno de los enantiómeros de una molécula quiral. Entre más grande sea la diferencia de afinidad del receptor por los enantiómeros, mejor será la eficiencia en la discriminación quiral. Sin embargo en contraste a los experimentos de separación quiral, donde los analitos son sometidos a miles de eventos cumulativos de adsorción y desorción, llamados platos teóricos; el reconocimiento quiral está basado en un solo plato teórico.

Exceptuando el enfoque basado en los polímeros de impresión molecular, la mayoría de receptores usados en reconocimiento quiral están basados en estructuras macrocíclicas (Shahgladian et al., 2006).

En una publicación sobre el reconocimiento enantiomérico de aminas quirales (Zhang et al., 1997, p. 3313-3361) propuso reglas generales para el reconocimiento quiral usando receptores macrocíclicos:

- Un requerimiento esencial es que los macrociclos quirales formen complejos razonablemente estables con sus huéspedes enantiómeros hasta que las interacciones repulsivas puedan disminuir efectivamente la estabilidad de los complejos de uno de los enantiómeros.
- Una gran barrera (o barreras) quirales resulta en un alto grado de reconocimiento enantiomérico.
- Una baja flexibilidad conformacional de los complejos distereoméricos juega un rol importante en el reconocimiento enantiomérico. Dos factores, macrociclos rígidos e interacciones en múltiples puntos, aseguran una conformación arreglada de los complejos.
- La complementariedad estructural entre los macrociclos quirales y enantiómeros asegura que las barreras quirales de los macrociclos hacen un uso total de la repulsión estérica para reconocimiento enantiomérico.

Estas reglas, incluso siendo establecidas como sistemas supramoleculares en solución, puede también ser aplicada para el diseño de receptores quirales macrocíclicos para detección interfacial (Shahgladian et.al., 2006).

III.5. Ciclodextrinas

Las ciclodextrinas se obtienen durante la degradación enzimática del almidón y consisten en una serie de oligosacáridos cíclicos formados por 6 (α), 7 (β) u 8 (γ) unidades de α -D-[1,4] glucosa, que dan lugar a una estructura molecular toroidal, rígida y con una cavidad interior de volumen específico. Los grupos hidroxilo primarios en posición 6 están localizados en el lado más estrecho del toroide, mientras que los grupos hidroxilo secundarios se ubican en el lado más ancho del mismo (Figura 2).

Las ciclodextrinas como materiales polihidroxilados han sido objeto de una amplia variedad de reacciones, siendo el ataque electrofílico al grupo OH el tipo de reacción más estudiado. Evidentemente, en dichas reacciones los grupos hidroxilo primarios OH en la posición 6 son los que reaccionan preferentemente, mientras que los hidroxilos secundarios OH en la posición 2 tienen la mayor acidez ($pK_a = 12,2$).

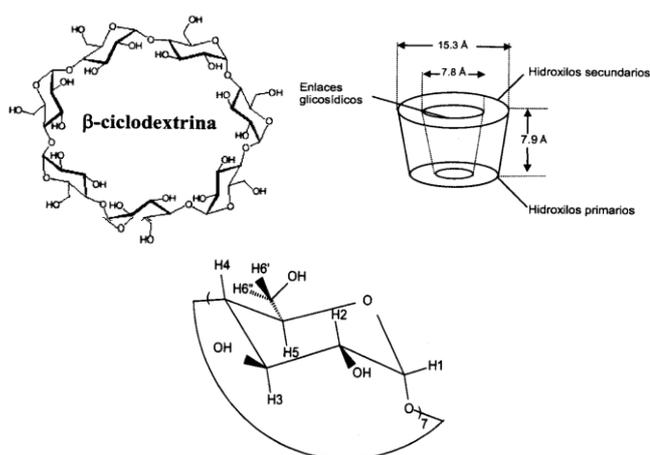


Figura 2. Estructura química y dimensiones aproximadas de β -ciclodextrina.

Los hidroxilos secundarios OH (3) son los menos reactivos, pudiendo reaccionar selectivamente cuando los OH (2) y OH (6) han sido bloqueados previamente. El estudio de estas distintas reacciones de ciclodextrinas, para la obtención de diferentes derivados, ha sido objeto de numerosas investigaciones.

Como consecuencia de que los grupos hidroxilo libres están situados en el exterior de la superficie de los anillos, las ciclodextrinas son hidrófilas y solubles en agua y su solubilidad es el resultado de la capacidad de interacción de dichos grupos hidroxilo con el medio acuoso, siendo mayor para la γ -ciclodextrina y la α -ciclodextrina. Las ciclodextrinas son igualmente solubles en disolventes apróticos fuertemente polares, como el dimetilsulfóxido y

la dimetilformamida. Las ciclodextrinas son estables en disoluciones neutras y básicas, pero se degradan lentamente en pH ácido. En estado sólido se descomponen por encima de 200°C (Martínez et al., 2007).

III.6. Complejos anfitrión-huésped

La cavidad interior de las ciclodextrinas es hidrófoba, por lo que estos compuestos son capaces de albergar moléculas hidrófobas más pequeñas para formar complejos “anfitrión-huésped”, en los que la molécula huésped queda encapsulada por la ciclodextrina. De esta forma, las ciclodextrinas pueden formar compuestos cristalinos a partir de moléculas orgánicas huésped en estado sólido, líquido e incluso gaseoso. En consecuencia, moléculas insolubles en agua pueden llegar a ser completamente solubles mediante un tratamiento con disoluciones acuosas de ciclodextrina, sin que se produzca modificación química alguna en la molécula huésped, ya que no se origina ningún enlace covalente durante la interacción entre la ciclodextrina y la molécula insoluble en agua.

La actualidad de estos compuestos queda patente si tenemos en cuenta la relevancia que, durante los últimos años y dentro del campo de la química supramolecular, se viene prestando a los fenómenos de reconocimiento molecular. Ejemplos de compuestos que tienen la capacidad de retener o interaccionar con otras sustancias y que, por tanto, pueden denominarse “anfitriones”, son los éteres corona, criptatos, ciclofanos y calixarenos, aunque, en general, todos ellos limitados a la acción sobre moléculas pequeñas. Igualmente, las ciclodextrinas son bien conocidas en química supramolecular por su capacidad como moléculas-anfitrión, para incluir selectivamente moléculas-huésped. Asimismo, las ciclodextrinas interaccionan con compuestos órgano-metálicos como los ferrocenos, areno-complejos, complejos alílicos y complejos metálicos. Sin embargo, no es hasta los años noventa cuando se inician las investigaciones sobre el empleo de las ciclodextrinas como molécula anfitrión de cadenas poliméricas. En resumen, la característica más interesante de las ciclodextrinas es su capacidad de formar complejos de inclusión estables con una amplia variedad de compuestos de distinto peso molecular, tanto de naturaleza no polar (hidrocarburos), como de naturaleza polar (ácidos carboxílicos y aminas) y con grandes posibilidades de dar lugar a fenómenos de reconocimiento de macromoléculas en sistemas biológicos (Martínez et al., 2007).

III.7. Química Supramolecular: Anfitrión-huésped

Al hacer un acercamiento a algún tipo de unión molecular (no covalente) o de acomplejamiento desde la perspectiva de la química supramolecular, se debe inmediatamente definir qué es lo que está provocando el enlace. En este contexto generalmente se considera una molécula (anfitrión) uniéndose a otra molécula (huésped) que produce un complejo anfitrión-huésped o supermolécula. Comúnmente el anfitrión es una molécula grande, como lo es una enzima o un compuesto cíclico sintético que posee un agujero central o cavidad de tamaño considerable. El huésped puede ser un catión monoatómico, un simple anión inorgánico, un par iónico o incluso una molécula más sofisticada como una hormona, feromona o neurotransmisor. Más formalmente, el anfitrión está definido como la entidad molecular que posee sitios de enlace convergentes (e.g. átomos donadores de Lewis, enlaces donadores de hidrógeno, etc.). El huésped posee sitios de unión divergentes (e.g. uno esférico, metal catiónico ácido de Lewis o un anión haluro aceptor de enlace de hidrógeno). En cambio un sitio de unión es definido como la región del huésped o anfitrión capaz de formar parte un una interacción no covalente (Steed, 2009).

La relación anfitrión-huésped ha sido definida como:

“Los complejos están compuestos de dos o más moléculas o iones mantenidos juntos en relaciones estructurales únicas por otras fuerzas electrostáticas que aquellas de enlaces covalentes completos ... los complejos moleculares son usualmente mantenidos juntos por enlaces de hidrógeno, por el apareamiento de iones, por interacciones π -ácido a π -base, por enlaces metal-ligando, por las fuerzas atractivas de van der Waals, por reorganización de solventes, y por enlaces covalentes parcialmente hechos y rotos (estados de transición) ... La alta organización estructural está usualmente producida solo a través de sitios de enlace múltiples... Un complejo molecular altamente estructurado está compuesto de al menos un componente anfitrión y un huésped... Una relación anfitrión- huésped incluye un arreglo estereoelectrónico complementario de sitios de enlace en el anfitrión y el huésped.. El componente anfitrión está definido como una molécula orgánica o ión en el cual sus sitios de enlace convergen en el complejo... Los componentes en el huésped como cualquier molécula o ión el cual los sitios de enlace divergen en el complejo...” (Kyba, 1977, 2564-2571).

Esta descripción puede también ser generalizada al remover la palabra orgánica desde que trabajo más reciente ha revelado otros anfitriones inorgánicos, como las zeolitas y polioxometalatos, o compuestos de coordinación mezclados metal-orgánicos, los cuales trabajan de forma similar a las funciones y puede pensarse incluirlos bajo el mismo grupo. La unión anfitrión-huésped es similar a atrapar una pelota en la mano. La mano, actuando como

el anfitrión, encapsula la bola proveyendo de una barrera física (estérica) y puede soltarla (disociación). Esta analogía se incluye a nivel electrónico, sin embargo, desde que no existe una fuerza atractiva real entre la mano y la bola. Las moléculas y iones anfitrión - huésped usualmente sufren una fuerza atractiva entre ellas y poseen una energía libre de estabilización de la unión. La analogía sirve para introducir el término “química de inclusión”, sin embargo se trata de la inclusión de una molécula en otra. (Steed, 2009)

III.8. Reconocimiento Enantioselectivo:

El reconocimiento enantioselectivo es una preocupación considerable en la química supramolecular. Por una parte, el fenómeno es de gran interés teórico, siendo crítico en el funcionamiento de la biología. Por otra parte, tiene importancia práctica derivada de la necesidad de compuestos enantioméricamente puros en la industria química. La separación de enantiómeros puede representar la aplicación económica más importante de la química supramolecular (Atwood, 2004).

Un concepto prevalente es la “regla de los tres puntos” (Pirkle, 1989) como “El reconocimiento quiral requiere un mínimo de tres interacciones simultáneas entre el receptor y al menos uno de los enantiómeros, con una de esas interacciones siendo estereoquímicamente dependiente”. Esquemáticamente; el receptor 1 (ver figura 3) tiene una coincidencia con 2 pero no con 3. Sin embargo aunque esto sea verdad, puede entenderse de una forma equivocada, porque cuando 1 y 3 interactúan estos deben ser capaces de dos interacciones como en 4, y es la tercera interacción C-C' la que determina el grado de enantioselectividad. Esta tercera interacción puede ser la más débil de los tres enlaces no covalentes, en la mayoría de los casos, no es probable que represente a una gran diferencia energética.

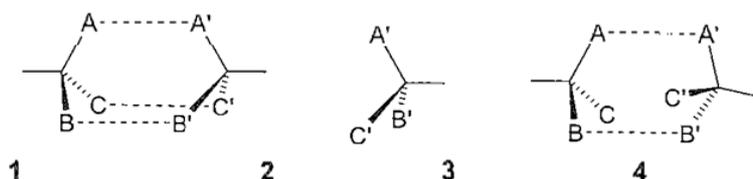


Figura 3. Reconocimiento Quiral.

En la práctica, los receptores más exitosos enantioselectivamente parecen ser los que presentan un arreglo complejo de grupos funcionales y barreras estéricas, tanto que uno de los enantiómeros puede hacer buenos contactos de enlace pero los otros tienen

oportunidades mínimas de interacción. Más allá de esto, puede ser difícil el generalizar, pero existe el caso de decir que la rigidez de los sustituyentes grandes sean a menudo de ayuda para alcanzar buena selectividad, además de que las interacciones fuertes son necesarias (Atwood, 2004).

III.9. Formación de complejos de inclusión con ciclodextrinas:

La cavidad lipofílica de las moléculas de ciclodextrina provee un microambiente dentro del cual, las moléculas de tamaño apropiado y sin interacciones no polares pueden entrar y formar los complejos de inclusión. Los enlaces no covalentes se rompen o se forman durante la formación de los complejos de inclusión. La fuerza principal para la formación del complejo es el aumento en la entalpía que se produce cuando las moléculas de agua son desplazadas de la cavidad.

Las moléculas de agua al ser desplazadas por el huésped hidrofóbico presentan una asociación apolar-apolar y decrece el anillo de ciclodextrina resultando en un estado energético más estable (Martin del Valle, 2003).

El enlace entre las moléculas huésped dentro de la ciclodextrina anfitrión no está rígido o permanente sino que está en un equilibrio dinámico. La fuerza de enlace depende en que tan bien el complejo anfitrión-huésped encaje junto y en las interacciones locales específicas entre los átomos de la superficie.

La arquitectura de la ciclodextrina confiere sobre estas moléculas un amplio rango de propiedades químicas diferentes a aquellas exhibidas por carbohidratos no cíclicos en el mismo rango de peso molecular (Martin del Valle, 2003).

La inclusión en ciclodextrinas provee un efecto profundo en las propiedades fisicoquímicas de las moléculas anfitrión conforme ellas están temporalmente encapsuladas dentro de la cavidad del anfitrión aumentando las modificaciones beneficiosas, las cuáles no pueden alcanzarse de otra forma. Estas propiedades son: aumento en la solubilidad de los huéspedes altamente insolubles, estabilización de huéspedes lábiles en contra de los efectos degradativos de la oxidación, de la luz visible o UV, calor, control de volatilización y sublimación, aislamiento físico de compuestos incompatibles, separaciones cromatográficas, modificación del sabor al enmascarar sabores (Martin del Valle, 2003).

La habilidad de la ciclodextrina para formar un complejo de inclusión con una molécula huésped es una función de dos factores claves. El primero es estérico y depende del tamaño relativo de la ciclodextrina con respecto al tamaño de la molécula huésped o algunos grupos funcionales clave dentro del anfitrión. Si el invitado es de un tamaño inadecuado no encajará apropiadamente dentro de la cavidad de la ciclodextrina. El segundo factor crítico son las interacciones termodinámicas entre los diferentes componentes del sistema (ciclodextrina, huésped, solvente). Cuando un complejo se forma, debe haber una fuerza energética neta que empuja al huésped en la ciclodextrina (Martin del Valle, 2003).

Mientras la altura de la ciclodextrina es la misma para los tres tipos, el número de unidades de glucosa, determinan el diámetro interno de la cavidad y su volumen. En base a las dimensiones, la α -ciclodextrina puede típicamente acomplejar moléculas de bajo peso molecular o compuestos con cadenas alifáticas, la β -ciclodextrina puede acomplejar compuestos aromáticos y heterociclos, y la γ -ciclodextrina puede acomodar moléculas más grandes como macrociclos y esteroides (Martin del Valle, 2003).

III.10. La aplicación de ciclodextrinas en enantioseparaciones:

Las ciclodextrinas están entre las moléculas macrocíclicas de mayor importancia, con impactos significativos en química, tanto teóricos y prácticos. Un importante campo de aplicación de las ciclodextrinas es la ciencia de la separación. En el día de hoy, las ciclodextrinas son usadas como selectores quirales en cromatografía gaseosa, cromatografía líquida de alta resolución, electroforesis capilar, electrocromatografía y más recientemente en enantioseparaciones lab-on-chip. Debe hacerse notar que entre los selectores quirales que se aplican actualmente solo las ciclodextrinas son efectivamente usadas en todas las enantioseparaciones técnicas. El descubrimiento de las ciclodextrinas es probablemente el más universal de los selectores quirales que a contribuido enormemente al desarrollo de las técnicas de enantioseparaciones instrumentales. Además el desarrollo de las técnicas de enantioseparación en los últimos años, han permitido el avance en el conocimiento de la química de la ciclodextrina, especialmente en electroforesis capilar, que permite el entender una mejor formación de complejo de inclusión y los mecanismos de reconocimiento quiral de las ciclodextrinas (Dodziuk, 2006).

Schardinger hizo una suposición con respecto a las estructura cíclica de los dos tipos de dextrinas producidas por la digestión de almidón por bacterias "termofílicas" en 1907, 35 años luego de su publicación, Freudenberg y Mayer-Delius confirmaron la suposición hecha por Schardinger y notaron que las estructuras de las dextrinas de Schardinger son

oligosacáridos cíclicos compuestos de residuos D-glucosil enlazados por enlaces α -(1,4)-glucosídicos. Las estructuras de los macrociclos de las ciclodextrinas están entre los mayores contribuidores en la capacidad de formar complejos intermoleculares. Esta propiedad de las ciclodextrinas ya había sido descubierta por Schardinger; Freudenberg et.al. fueron los primeros en asumir que estos complejos son los del tipo de inclusión. La primera evidencia directa de inclusión molecular por las ciclodextrinas en estado sólido fue provista por Hybl et.al. usando cristalografía de rayos X. Demarco y Thakkar, demostraron la formación de complejos de inclusión de las ciclodextrinas en solución usando espectroscopía de ^1H NMR. Otra característica importante de las ciclodextrinas, es su capacidad de reconocimiento quiral por la formación de complejos, que fue descubierta en 1950 por Cramer (Dodziuk, 2006).

La mayoría de las aplicaciones de las ciclodextrinas están basadas principalmente en dos de las propiedades ya mencionadas: formación de complejos y capacidad de reconocimiento quiral. Junto con estas dos, algunas otras propiedades de estas moléculas deben ser mencionadas, los cuales son la clave de la importancia para poder seleccionar las técnicas de separación. Por ejemplo, la presencia de grupos hidroxilo libres en la superficie exterior de los ciclodextrinas permite una variedad de derivados que pueden ser sintetizados (iónicos, no iónicos, hidrofílicos o lipofílicos, etc), también por estos mismos enlaces pueden adherirse a varias superficies. Esta propiedad es de mayor importancia para aplicaciones en cualquier tipo de técnica de enantioseparación (Dodziuk, 2006).

En adición, los grupos hidroxilo son responsables de la solubilidad de las ciclodextrinas en medio acuoso que es de importancia clave para su aplicación como selectores quirales en electroforesis capilar. La transparencia de las ciclodextrinas en el rango del UV-Vis es también una ventaja en su aplicación en electroforesis capilar. Su disponibilidad con dimensiones variables en su cavidad y el bajo costo de las ciclodextrinas también son significativos. El carácter no tóxico de las ciclodextrinas junto con su aplicabilidad en ciencias farmacéuticas, alimenticia, y cosmética es también importante para las aplicaciones analíticas amigables con el ambiente (Dodziuk, 2006).

III.11. Métodos de Simulación para sistemas moleculares.

Entre los métodos teóricos utilizados hoy día para el refinamiento de modelos moleculares y para el estudio de las interacciones fármaco-receptor se incluyen las minimizaciones de energía (ME), las simulaciones de dinámica molecular (DM), las simulaciones de Monte Carlo (MC), y las perturbaciones de la energía libre (PEL). Todas estas técnicas ofrecen en última instancia la posibilidad de comprender el comportamiento de péptidos, proteínas, y ácidos nucleicos, y el de sus complejos entre sí o con moléculas orgánicas, en términos de fuerzas moleculares fundamentales. Para ello dependen de la fiabilidad de la representación analítica de la hipersuperficie energética de las moléculas, que viene dada por la suma de una serie de funciones simples que expresan tanto la energía requerida para distorsionar las coordenadas internas más allá de unos valores de equilibrio, como las interacciones entre átomos no enlazados.

La función energética que describe la energía potencial del sistema en función de las posiciones de los átomos recibe el nombre de campo de fuerzas, y presenta una forma semejante a la ecuación,

$$\begin{aligned}
 V(R) = & V_b + V_\theta + V_\phi + V_{VDW} + V_{ELE} + V_{EH} = \\
 & \sum_{n=1}^{N_b} K_{b,n} (b_n - b_{eq,n})^2 + \sum_{n=1}^{N_\theta} K_{\theta,n} (\theta_n - \theta_{eq,n})^2 + \\
 & \sum_{n=1}^{N_\phi} \sum_{m=1}^{N_\eta} \frac{V_{m,n}}{2} [1 + \cos(\eta_{mn} \cdot \phi_{mn} - \gamma_{m,n})] + \\
 & \sum_{j=1}^{N_{tomos}} \sum_{i>j}^{N_{tomos}} \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) + \\
 & \sum_{j=1}^{N_{enlaces\ H}} \sum_{i>j}^{N_{enlaces\ H}} \left(\frac{C_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{r_{ij}^{10}} \right) + \sum_{j=1}^{N_{tomos}} \sum_{i>j}^{N_{tomos}} \frac{q_i \cdot q_j}{\epsilon \cdot r_{ij}}
 \end{aligned}$$

donde: $r_{ij}^* = r_i^* + r_j^*$

La suma de términos incluye interacciones enlazadas (distancias, b , y ángulos, q y f) y no enlazadas (van der Waals, electrostáticas, y enlaces de hidrógeno). La energía es función del conjunto de coordenadas cartesianas, R , que especifican las posiciones de todos los átomos implicados, de una serie de parámetros energéticos (A , B , C , D , y las constantes de fuerza K), de las cargas atómicas (q), de la constante dieléctrica del medio (ϵ), y de los valores geométricos de equilibrio. La exactitud de los resultados de las simulaciones dependerá de la precisión del método de derivación de los parámetros utilizados y de la forma analítica de representar la energía. Las limitaciones y deficiencias de los campos de fuerza utilizados se ponen de manifiesto cuando se comparan los resultados de la simulación con datos experimentales, como en este caso (Gago, 2007).

La expresión de la energía de la ecuación anterior es tratable computacionalmente sólo para sistemas con un número de átomos relativamente pequeño. El número de coordenadas internas crece linealmente con el tamaño del sistema molecular, de modo que el tiempo de cálculo invertido en evaluar las tres primeras sumas también crece de forma linear. Sin embargo, la inspección de los tres sumatorios siguientes, que representan las interacciones no enlazadas, revela una dependencia cuadrática del número de átomos del sistema. Por esta razón es común introducir una distancia límite (cut-off) para que el algoritmo no considere las interacciones no enlazadas entre aquellos átomos separados entre sí por distancias mayores de un valor predeterminado. De este modo se acortan sustancialmente los tiempos de cálculo, aunque se corre el riesgo de que las discontinuidades creadas en la energía y sus derivadas conduzcan a artefactos en las minimizaciones y a la no conservación de la energía en las trayectorias de dinámica molecular. En la práctica, los programas crean una lista de aquellos pares de átomos cuya distancia entre sí es menor que la distancia límite especificada por el usuario, y la actualizan cada cierto número de pasos de minimización o de dinámica. Otra consideración importante a la hora de definir esta selección de átomos concierne a las interacciones electrostáticas. La utilización de distancias límite para el potencial de interacción de van der Waals es bastante razonable, puesto que es un potencial de corto alcance y se extingue en función de $1/r$. Aproximadamente a 8^{-10} Å de distancia, que son algunos de los límites corrientes, la energía y las fuerzas son bastante pequeñas, de modo que igualar a cero este potencial a una distancia de 10 Å es una aproximación razonable (Gago, 2007).

Por el contrario, las interacciones de Coulomb se extinguen en función de $1/r$, lo que significa que incluso a distancias considerables este término no es despreciable. Sin embargo, si exceptuamos unos pocos grupos con carga formal, la mayoría de las

moléculas están compuestas de fragmentos neutros con dipolos y cuadripolos, por lo que en realidad el término de mayor importancia en las interacciones electrostáticas entre moléculas o entre partes de una misma molécula es la interacción dipolo-dipolo, que decrece en función de $1/r$. Un ejemplo sencillo puede servir para comprender las implicaciones de este razonamiento: la interacción entre dos monopolos, cada uno con una unidad electrónica de carga, es de unas 33 kcal/mola 10 \AA , mientras que la energía de interacción entre dos dipolos formados a partir de monopolos unidad no es mayor de 0.3 kcal mol. De aquí se desprende que ignorar la interacción monopolo-monopolo conduciría a un error considerable, en tanto que ignorar la interacción dipolo-dipolo se puede considerar una aproximación modesta. Por todo lo anterior queda claro que la aplicación de un “cut-off” sobre la base de átomos individuales puede fácilmente conllevar la separación artificial de dipolos (dejando a un átomo dentro de la distancia límite y a otro fuera), lo que supone introducir una interacción monopolo-monopolo considerable, en lugar de ignorar una interacción dipolo-dipolo relativamente pequeña. Por ello es preferible definir el “cut-off” sobre la base de residuos o grupos de átomos cuya carga neta sea cero o casi cero (Gago, 2007).

IV. Justificación

La salud es un factor decisivo para el bienestar de la población guatemalteca, siendo un requisito para el desarrollo del país. Es importante contribuir mediante la investigación y la adopción de nuevas tecnologías y metodologías a la síntesis, fabricación y producción de fármacos que contribuyan a mejorar la salud de los guatemaltecos. En Guatemala uno de los primeros pasos es ampliar el acceso a medicamentos para la población con limitantes económicas, pero para esto, debe de cumplirse con ciertos estándares en su purificación y los estudios toxicológicos pertinentes antes de su distribución; en este caso en particular como el medicamento posee un centro estereocentro, deben analizarse sus enantiómeros (Ahuja, 2000).

Uno de los dos enantiómeros pueden exhibir potencialmente diferentes actividades farmacológicas, y el paciente al ingerir una mezcla racémica del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo, puede estar tomando un enantiómero sin efecto o incluso con efectos no deseados. Para asegurar la seguridad y el efecto farmacológico de los medicamentos usados y de las que están en vías de desarrollo, es importante aislar y examinar cada enantiómero en forma separada.

Aislar los isómeros ópticos de un fármaco no es tarea fácil, de hecho en muchos medicamentos no han sido determinadas las diferencias en las propiedades biológicas entre los enantiómeros en un fármaco racémico, lo cual se debe en la mayoría de casos a las dificultades de obtener ambos enantiómeros en una forma ópticamente pura.

Es por esto que para poder realizar una propuesta de cómo separar eficazmente el fármaco prototipo anti-Alzheimer, el acetato de 5-fenil-3-metilpentilo, en sus enantiómeros R y S, y así para poder examinarlos separadamente, se hizo uso de la herramienta Sybyl® que es un programa que realiza cálculos de mecánica molecular, que indica una descripción teórica basada en mecánica molecular y campos de fuerzas. Se propone realizar la simulación con ciclodextrinas, debido a que poseen versatilidad, no son difíciles de obtener y existen a precios asequibles para su aplicación en el laboratorio; además la principal característica que interesa de las ciclodextrinas es su capacidad de formar complejos de inclusión con varios compuestos, esto se debe a que estas poseen un exterior hidrofílico, y una cavidad apolar que provee una matriz hidrofóbica, descrita como un “ambiente micro-heterogéneo” (Martin, 2003). Esta matriz hidrofóbica resulta útil al considerar las características apolares del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo, por lo que se espera poder obtener resultados satisfactorios. Debido a que este compuesto es quiral, se formarán complejos de inclusión diastereoméricos, las estabilidades relativas de estos complejos son los responsables de la resolución de estos compuestos.

V. Objetivos

A. General:

Realizar la comparación a través de la energía de estabilización de los complejos de inclusión formados a partir de los dos enantiómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con ciclodextrinas (alfa, beta y derivados) que se encuentran disponibles comercialmente.

B. Específicos:

1. Determinar la conformación estérica adecuada de los complejos de los enantiómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con ciclodextrinas disponibles comercialmente.
2. Realizar la simulación de la energía molecular de los complejos de los enantiómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con ciclodextrinas (alfa, beta y derivados) disponibles comercialmente.
3. Realizar la simulación de la mecánica molecular de los complejos de los enantiómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con ciclodextrinas (alfa, beta y derivados) disponibles comercialmente.
4. Encontrar la energía de estabilización de los complejos de los enantiómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con ciclodextrinas (alfa, beta y derivados) disponibles comercialmente.
5. Definir cuál de las ciclodextrinas evaluadas es la que posee las mejores características para la separación de los enantiómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo.

VI. Hipótesis

Una ciclodextrina del tipo beta, posee una energía de estabilización más baja durante la formación del complejo de inclusión, en comparación con ciclodextrinas del tipo alfa y gamma.

VI.1 Variable dependiente:

Energía de estabilización del complejo de inclusión para cada ciclodextrina.

VI.2 Variable independiente:

Variación de la estructura de los diferentes tipos de ciclodextrina.

VII. Materiales y Métodos

A. Universo

Los complejos de inclusión entre los enantiómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con ciclodextrinas.

B. Muestra

Los complejos de inclusión entre los enantiómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con las ciclodextrinas que tengan una mayor interacción supramolecular y que estén disponibles comercialmente.

C. Materiales y Equipo

- 4 computadoras con procesador AMD Phenom II con 4 núcleos de un 1Ghz de procesamiento por núcleo.
- Paquete de software Sybyl 8 Tripos.
- Paquete de software Avogadro 1.0.3

D. Métodos

1. Procedimiento

a. Se dibujaron las moléculas a trabajar en la simulación en Avogadro[®].

b. En Avogadro[®], se evaluaron los traslapes de radios de van der Waals entre el sustrato y las ciclodextrinas, y en base a estos resultados se decidió con cuáles se haría la simulación de los complejos de inclusión que estos formen.

c. Los cálculos fueron realizados con Sybyl[®] 8 usando el campo de fuerzas Tripos. Este campo de fuerza, aproxima la energía conformacional de una molécula como la suma de los términos de las interacciones de extensión de enlace, doblamiento de ángulos, de torsión, de van der Waals, electrostáticas, y fuera del plano.

d. Se usó una permitividad relativa de 3.5 para las interacciones electrostáticas. El uso de un valor tan bajo como uno para la permitividad tiene poco efecto en los resultados porque las interacciones electrostáticas no son una importante fuente de estabilización en el complejo. La geometría y las cargas del "host", la ciclodextrina, y el "guest", el acetato de 5-fenil-3-metilpentilo, fueron obtenidas por AM1 de MOPAC. Para calcular la energía potencial total se usaron distancias sin enlaces de 8 Å para las interacciones electrostáticas y de van der Waals (Madrid, 113).

e. Las estructuras iniciales de las ciclodextrinas fueron construidas en una forma no distorsionada, el huésped fue ubicado en una de las conformaciones equivalentes al mínimo de energía luego de haber realizado una búsqueda, seguido de una minimización (0.2 kcal/mol Å) sobre los ángulos de torsión del espacio entre los grupos del huésped.

Para describir el proceso de inclusión, el centro de masa de los átomos del huésped fue localizado en el origen de un sistema coordinado. Tres parámetros definen la localización relativa huésped/anfitrión: la distancia oo' entre el coordinado y, el ángulo del plano y el ángulo ϵ . Cada una de las estructuras generadas se guardaron para su análisis posterior (Serna et al., 2005).

2. Diseño de Investigación

Se trató de una investigación de tipo descriptiva.

Se modelaron los complejos entre las ciclodextrinas elegidas y el fármaco, de forma que de cada una de esas estructuras obtuvo una energía asociada, la cual entre más baja sea, mayor fue la estabilidad de dicho complejo y mejores las posibilidades de que se formara. Luego, después de evaluar la ciclodextrina con ambos isómeros, la diferencia en la energía de los complejos debe de ser lo suficientemente amplia para poder concluir que existe selectividad por parte de la ciclodextrina, lo cual permitió determinar si esta es viable para su aplicación en la purificación del fármaco.

VIII. Resultados

En la tabla 1 se muestra un resumen de las energías de las moléculas que formaron parte de este estudio, conformadas por los enantiómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo y todas las ciclodextrinas con que se modelaron los complejos de inclusión.

Tabla No. 1: Resumen de Energías.

Molécula	Energía total (kJ/mol)
(R) acetato de 5-fenil-3-metilpentilo	55.00286
(S) acetato de 5-fenil-3-metilpentilo	122.86734
α-ciclodextrina	612.73843
β-ciclodextrina	729.85278
metil-β-ciclodextrina	717.06647
metil-β-ciclodextrina (asimétrica)	736.13296
propil-β-ciclodextrina	893.28818
2-hidroxietil-β-ciclodextrina	1375.55690
2-hidroxipropil-β-ciclodextrina	1156.98480
γ-ciclodextrina	858.78274

Fuente: Datos experimentales.

En las tablas siguientes se muestran las energías calculadas de los complejos conformacionales que corresponden a una posición determinada, las cuales se pueden identificar por los valores de distancia, ángulo y torsión respecto al ligando dentro de la molécula anfitrión. A continuación se muestran las energías del (R)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo (en la tabla 2) y del (S)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo (en la tabla 3) con la β -ciclodextrina. Estas tablas corresponden a las energías menores o iguales a -60 kJ/mol, por considerarse las más representativas para definir la enantioselectividad para esta ciclodextrina.

Tabla No. 2:

Energía de los complejos conformacionales del (R)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la β -ciclodextrina.

Distancia	Ángulo	Torsión	DifEnergética
-0.951	75	135	-62.43365
-0.951	72	135	-63.67211
-0.951	69	135	-63.283
-0.951	66	135	-61.50062
-0.951	66	180	-60.72658
-0.951	63	180	-60.05714
0.049	72	135	-61.62195
0.049	69	135	-60.70147
0.049	69	180	-61.47551
0.049	66	180	-64.36247
0.049	63	180	-64.84363
0.049	60	180	-60.76423
1.049	75	135	-61.96922
1.049	72	135	-63.95662
1.049	69	135	-64.29553
1.049	66	135	-63.34158
1.049	63	135	-60.37512

Fuente: Datos experimentales

Tabla No. 3:

Energía de los complejos conformacionales del (S)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la β -ciclodextrina

Distancia	Ángulo	Torsión	DifEnergética
-1.951	84	180	-60.88557
-1.951	84	225	-62.46294
-1.951	81	180	-65.35826
-1.951	81	225	-65.44194
-1.951	78	135	-60.29144
-1.951	78	180	-68.6971
-1.951	78	225	-64.19093
-1.951	75	135	-64.48799
-1.951	75	180	-68.16154
-1.951	72	135	-65.7683
-0.951	69	135	-61.35418
-0.951	66	135	-62.11985
0.049	72	135	-60.57177
0.049	69	135	-61.26213
0.049	66	135	-61.60103
0.049	63	135	-61.18682
1.049	69	135	-61.05293
1.049	66	135	-62.237
1.049	63	135	-60.33746

Fuente: Datos experimentales.

A continuación se encuentran las energías menores o iguales a -70 kJ/mol que corresponden a los complejos del (R)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo (en la tabla 4) y el (S)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo (en la tabla 5) con la metil- β -ciclodextrina.

Tabla No. 4:
Energía de los complejos
conformacionales del
(R)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la
metil- β -ciclodextrina.

Distancia	Ángulo	Torsión	DifEnergética
-5.951	72	135	-72.37902
-5.951	69	135	-73.08611
-3.951	84	225	-71.88949
-3.951	81	180	-72.91457
-0.951	66	180	-70.74307
-0.951	63	180	-70.19078
0.049	81	135	-74.23671
0.049	81	180	-70.5004
0.049	78	135	-77.85587
0.049	78	180	-72.83089
0.049	75	135	-78.09854
0.049	75	180	-74.14466
0.049	72	135	-73.06519
0.049	72	180	-75.14046
0.049	69	180	-76.01491
0.049	66	180	-76.31198
0.049	63	180	-74.23671

Fuente: Datos experimentales.

Tabla No. 5:
Energía de los complejos
conformacionales del
(S)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la
metil- β -ciclodextrina.

Distancia	Ángulo	Torsión	DifEnergética
-5.951	69	225	-71.50874
-3.951	87	225	-70.23681
-3.951	84	180	-70.96482
-3.951	84	225	-73.50451
-3.951	81	180	-72.35391
-3.951	81	225	-75.57141
-3.951	78	180	-72.70118
-3.951	78	225	-74.49612
-3.951	75	180	-70.41672
-1.951	81	180	-74.44173
-1.951	78	180	-78.0567
0.049	87	135	-71.94806
0.049	84	90	-74.85594
0.049	84	135	-73.62585
0.049	81	90	-74.90615
0.049	81	135	-74.13211
0.049	78	90	-72.18655
0.049	78	135	-74.30366
0.049	75	135	-74.54633
0.049	72	135	-75.04841
0.049	69	135	-75.88102
0.049	66	135	-76.93539
0.049	63	135	-77.70525

Fuente: Datos experimentales.

Las siguientes tablas corresponden a las energías menores o iguales a -65 kJ/mol que corresponden a los complejos del (R)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo (en la tabla 6) y el (S)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo (en la tabla 7) con la metil- β -ciclodextrina (asimétrica).

Tabla No.6:
Energía de los complejos
conformacionales del
(R)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la
metil- β -ciclodextrina (asimétrica).

Distancia	Ángulo	Torsión	DifEnergética
-0.951	78	135	-68.83935
-0.951	75	135	-72.00664
-0.951	75	180	-68.01092
-0.951	72	135	-72.2535
-0.951	72	180	-70.62592
-0.951	69	135	-68.70546
-0.951	69	180	-72.73047
-0.951	66	180	-74.02333
-0.951	63	180	-67.20341
0.049	72	180	-67.4921
0.049	66	180	-72.28278
0.049	63	180	-69.85606
1.049	78	135	-69.78075
1.049	75	135	-72.93967
1.049	75	180	-67.19922
1.049	72	135	-73.57146
1.049	72	180	-69.98995
1.049	69	135	-70.86859
1.049	69	180	-72.3037
1.049	66	180	-73.87689
1.049	63	180	-67.58415
2.049	75	135	-66.32058
2.049	72	135	-72.86436
2.049	69	135	-75.95634
2.049	66	135	-76.72201
2.049	66	180	-66.47958
2.049	63	135	-70.30375
2.049	63	180	-69.1406

Fuente: Datos experimentales.

Tabla No.7:
Energía de los complejos
conformacionales del
(S)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la
metil- β -ciclodextrina (asimétrica).

Distancia	Ángulo	Torsión	DifEnergética
-1.951	78	180	-65.59675
-1.951	78	225	-67.06115
-1.951	75	180	-70.01087
-1.951	75	225	-70.54224
-1.951	72	180	-72.21166
-1.951	72	225	-67.30801
-1.951	69	135	-66.63438
-1.951	69	180	-65.94402
-1.951	66	135	-65.07794
-0.951	69	135	-66.37916
-0.951	66	135	-67.52976
1.049	72	135	-66.45866
1.049	69	135	-68.25778
1.049	66	135	-69.41256
2.049	69	135	-72.88528
2.049	66	135	-78.50021
2.049	63	135	-81.09429

Fuente: Datos experimentales.

En las siguientes tablas se muestran las energías calculadas menores o iguales a -70 kJ/mol de los complejos conformacionales del (R)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo (en la tabla 8) y del (S)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo (en la tabla 9) con la propil- β -ciclodextrina.

Tabla No. 8:
Energía de los complejos conformacionales del (R)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la propil- β -ciclodextrina.

Distancia	Ángulo	Torsión	DifEnergética
-5.951	90	45	-71.09034
-5.951	90	225	-70.28702
-5.951	87	45	-70.42927
-5.951	87	90	-72.26186
-5.951	87	225	-70.76399
-5.951	84	90	-74.81829
-5.951	81	90	-77.80148
-5.951	81	135	-71.45854
-5.951	78	90	-80.11942
-5.951	75	90	-76.06094
-0.951	75	135	-75.37058
-0.951	72	135	-76.94376
-0.951	69	135	-73.68861
-0.951	66	180	-71.18658
-0.951	63	180	-73.20326
0.049	81	135	-76.63414
0.049	78	135	-81.1445
0.049	75	135	-83.35783
0.049	72	135	-83.68
0.049	72	180	-72.27023
0.049	69	135	-80.93948
0.049	69	180	-76.87682
0.049	66	135	-71.2577
0.049	66	180	-79.51692
0.049	63	180	-80.39556
0.049	60	180	-77.96047
1.049	75	135	-72.13634
1.049	72	135	-75.46262
1.049	69	135	-73.57982
1.049	63	180	-71.4167

Fuente: Datos experimentales.

Tabla No. 9:
Energía de los complejos conformacionales del (S)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la propil- β -ciclodextrina.

Distancia	Ángulo	Torsión	DifEnergética
-5.951	90	45	-71.68029
-5.951	90	180	-70.69705
-5.951	87	45	-73.8727
-5.951	87	90	-71.82673
-5.951	87	180	-70.13639
-5.951	84	45	-75.9396
-5.951	84	90	-74.26182
-5.951	84	180	-70.86441
-5.951	81	45	-73.98149
-5.951	81	90	-77.19898
-5.951	81	135	-72.52546
-5.951	81	180	-72.91038
-5.951	78	90	-78.80564
-5.951	78	135	-76.5923
-5.951	78	180	-73.35807
-5.951	75	135	-78.95626
-3.951	87	135	-73.82668
-3.951	87	180	-74.83921
-3.951	84	135	-77.31614
-0.951	66	135	-72.77231
-0.951	63	135	-72.85181
0.049	69	135	-70.27446
0.049	66	135	-74.86431
0.049	63	135	-75.6258
0.049	60	135	-73.21163
1.049	66	135	-72.6175
1.049	63	135	-73.03172

Fuente: Datos experimentales.

En las siguientes tablas se muestran las energías calculadas menores o iguales a -80 kJ/mol de los complejos conformacionales del (R)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo (en la tabla 10) y del (S)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo (en la tabla 11) con la 2-hidroxietil β -ciclodextrina, seguido de la tabla 12 en donde se muestran las energías menores o iguales a -80kJ/mol para el (R)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la 2-hidroxipropil β -ciclodextrina.

Tabla No. 10:
Energía de los complejos conformacionales del (R)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la 2-hidroxietil β -ciclodextrina.

Distancia	Ángulo	Torsión	DifEnergética
-3.951	81	180	-84.25321
-0.951	75	180	-81.5085
-0.951	72	180	-82.69676
-0.951	69	180	-82.37878
-0.951	66	180	-80.15289
1.049	75	180	-80.9604
1.049	72	180	-82.13192
1.049	69	180	-82.07753
1.049	66	180	-80.6215

Fuente: Datos Experimentales.

Tabla No. 11: Energía de los complejos conformacionales del (S)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la 2-hidroxietil β -ciclodextrina.

Distancia	Ángulo	Torsión	DifEnergética
-0.951	84	45	-84.39128
-0.951	75	135	-80.11523
-0.951	72	135	-80.86417
-0.951	69	135	-80.95203
1.049	84	45	-84.59211
1.049	81	45	-80.96877
1.049	75	135	-80.54618
1.049	72	135	-81.39554
1.049	69	135	-81.76373
1.049	66	135	-80.97714
2.049	63	135	-81.09429
2.049	60	135	-83.64653

Fuente: Datos Experimentales.

Tabla No. 12:
Energía de los complejos conformacionales del (R)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la 2-hidroxipropil β -ciclodextrina.

Distancia	Ángulo	Torsión	DifEnergética
-0.951	84	135	-81.91017
-0.951	81	135	-85.91844
-0.951	78	90	-84.26158
-0.951	78	135	-87.0021
-0.951	75	90	-83.82226
-0.951	75	135	-85.8515
-0.951	72	135	-82.49593
0.049	84	90	-81.78465
0.049	81	90	-89.14012
0.049	81	135	-86.73432
0.049	78	90	-93.26554
0.049	78	135	-90.93506
0.049	75	90	-91.65889
0.049	75	135	-92.39946
0.049	72	135	-91.61286
0.049	69	135	-86.35776
0.049	66	180	-82.37459
0.049	63	180	-85.12348
1.049	84	135	-81.11102
1.049	81	135	-84.99378
1.049	78	90	-80.21983
1.049	78	135	-86.16111
1.049	75	90	-80.69681
1.049	75	135	-85.29084
1.049	72	135	-82.5294
2.049	75	135	-80.57547
2.049	72	135	-82.57124
2.049	69	135	-83.74694
2.049	66	135	-82.64655

Fuente: Datos Experimentales.

Las tablas siguientes muestran las energías calculadas menores a -80kJ/mol de los complejos conformacionales del (S)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la 2-hidroxiopropil β -ciclodextrina (en la tabla 13), luego en la tabla 14 corresponde al (S)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo y en la tabla 15 al (R)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la γ -ciclodextrina, ambas con valores de energía menores o iguales a -50kJ/mol.

Tabla No. 13:

Energía de los complejos conformacionales del (S)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la 2-hidroxiopropil β -ciclodextrina.

Distancia	Ángulo	Torsión	DifEnergética
-5.951	81	315	-80.88509
-0.951	87	90	-81.14868
-0.951	84	90	-81.62566
0.049	90	0	-91.52918
0.049	87	0	-92.87225
0.049	84	0	-89.97692
0.049	66	135	-84.54609
0.049	63	135	-89.79282
0.049	60	135	-91.67562
1.049	84	90	-81.42901

Fuente: Datos Experimentales.

Tabla No. 14:

Energía de los complejos conformacionales del (S)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la γ -ciclodextrina.

Distancia	Ángulo	Torsión	DifEnergética
-1.951	72	225	-54.09912
-1.951	72	270	-53.91084
-1.951	69	225	-58.06555
-1.951	66	225	-57.71828
-1.951	60	135	-54.37526
0.049	60	90	-52.9527

Fuente: Datos Experimentales.

Tabla No. 15:

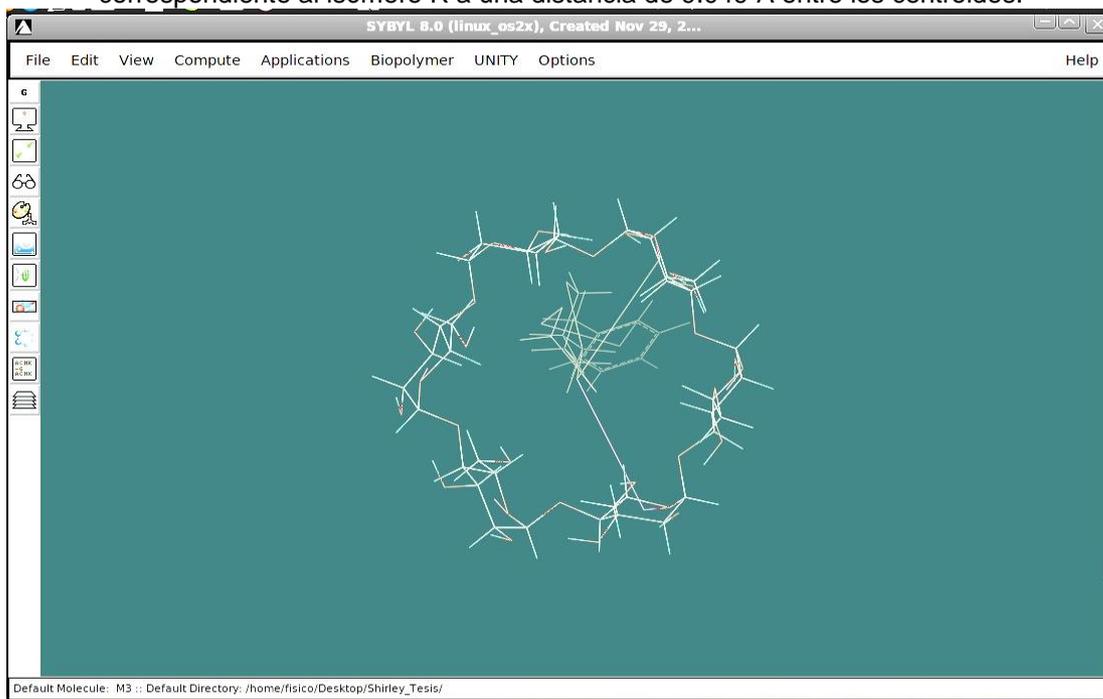
Energía de los complejos conformacionales del (R)-acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la γ -ciclodextrina.

Distancia	Ángulo	Torsión	DifEnergética
-2.951	69	90	-56.5886
-2.951	66	90	-61.32907
-2.951	63	90	-65.68462
-2.951	60	90	-67.41261
-1.951	72	180	-53.47989
-1.951	69	135	-53.18282
-1.951	69	180	-56.45053
-1.951	66	90	-52.51338
-1.951	66	135	-52.33347
-1.951	66	180	-52.58451
-1.951	63	90	-56.34174
-1.951	60	90	-59.37514
-0.951	69	90	-55.21625
-0.951	66	90	-58.59692
-0.951	63	90	-60.88557
-0.951	60	90	-59.40443
0.049	69	90	-53.24977
0.049	66	90	-55.42545
0.049	63	90	-55.28738
1.049	72	90	-52.24561
1.049	69	90	-55.52586
1.049	66	90	-59.01114
1.049	63	90	-61.62195
1.049	60	90	-60.89812
2.049	75	90	-53.38366
2.049	72	90	-56.0656
2.049	69	90	-59.14084
2.049	66	90	-62.69724
2.049	63	90	-66.47121
2.049	60	90	-69.15734
3.049	69	90	-55.64302
3.049	66	90	-60.64708
3.049	63	90	-65.17417
3.049	60	90	-66.79756

Fuente: Datos Experimentales

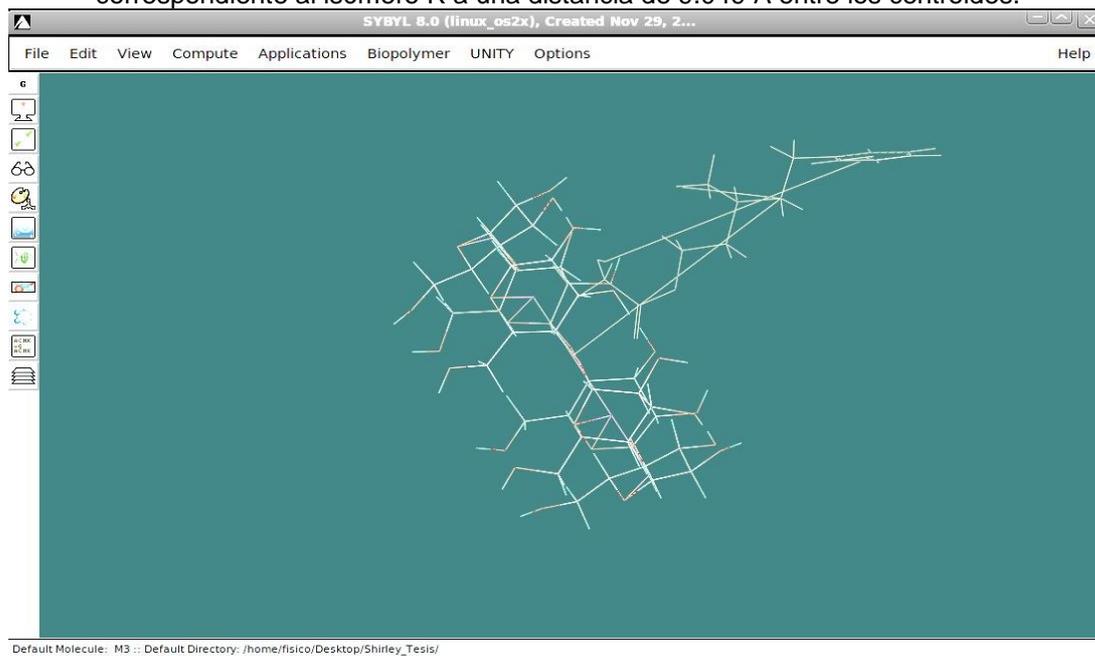
En las figuras 4 y 5 con la α -ciclodextrina, se observa que existen muchas posibilidades de impedimento estérico debido al tamaño de la ciclodextrina con sólo seis unidades de glucosa, por esto se alcanzan energías favorables (menores a 0kJ/mol) hasta ya una distancia mayor a 9Å, en donde la interacción entre las dos moléculas es mínima (ver gráfica no. 1).

Figura No. 4: Vista frontal del complejo de conformación de baja energía con la α -ciclodextrina, correspondiente al isómero R a una distancia de 9.049 Å entre los centroides.



Fuente: Datos experimentales

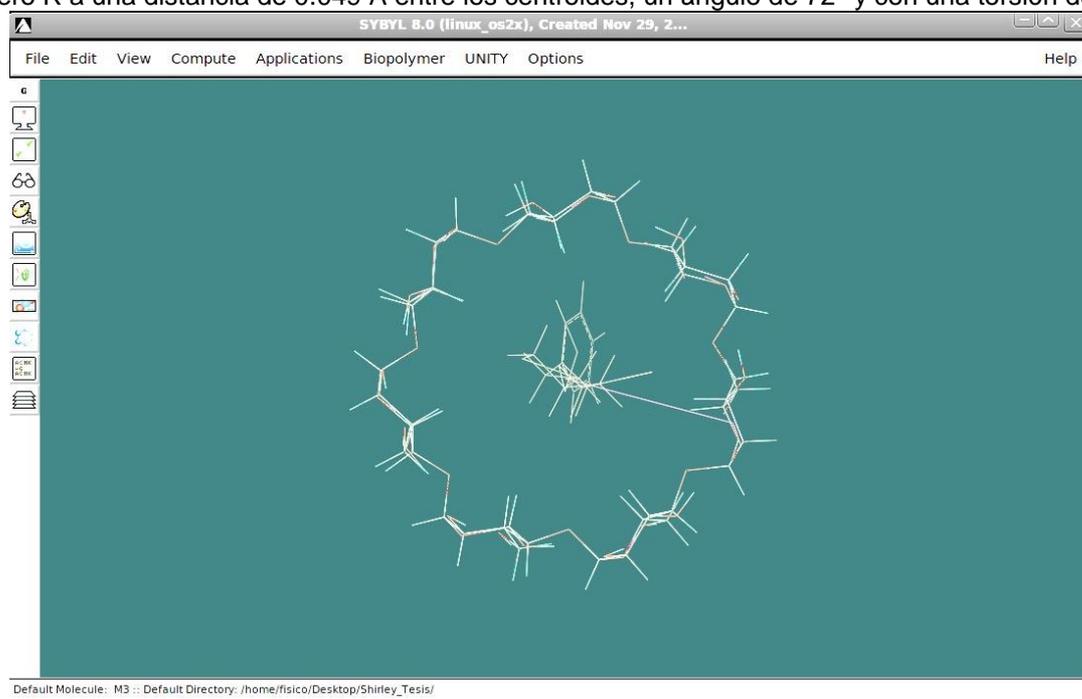
Figura No. 5: Vista axial del complejo de conformación de baja energía con la α -ciclodextrina, correspondiente al isómero R a una distancia de 9.049 Å entre los centroides.



Fuente: Datos experimentales

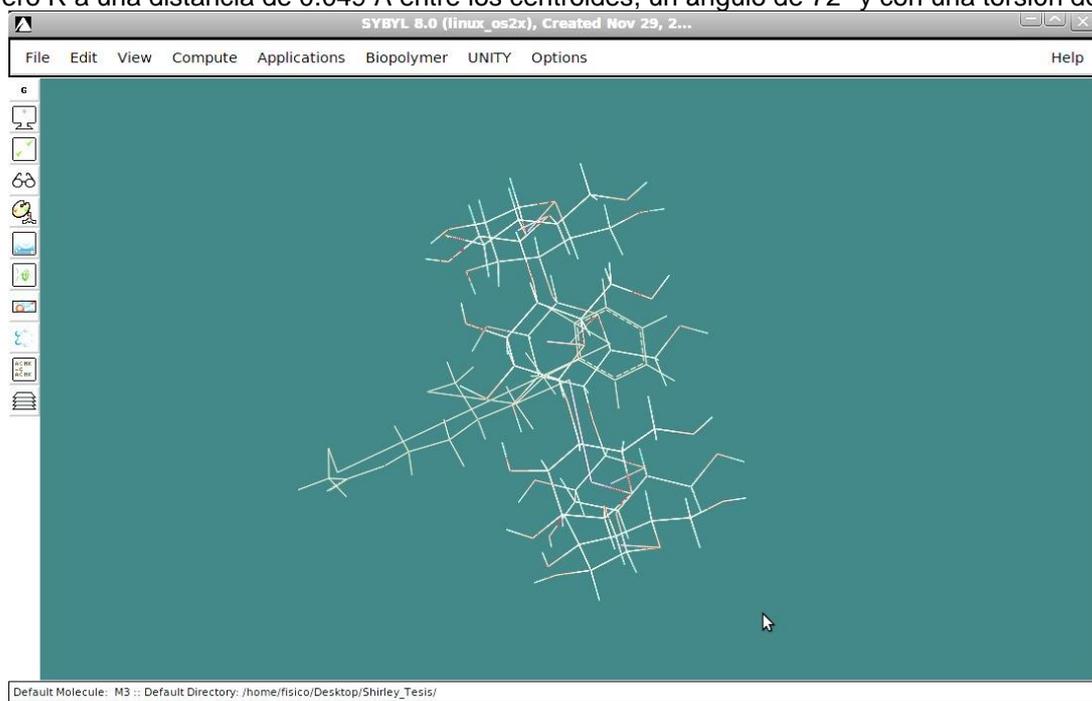
En las figuras 6 y 7 se observa a la β -ciclodextrina, que tiene una mayor capacidad de albergar a alguno de los enantiómeros disminuyendo el impedimento estérico, pero como puede verse en la tabla 2 y 3, existe poca selectividad entre los enantiómeros (ver gráfica no. 2).

Figura No. 6: Vista frontal del complejo de conformación de baja energía de la β -ciclodextrina con el isómero R a una distancia de 0.049 Å entre los centroides, un ángulo de 72° y con una torsión de 135°.



Fuente: Datos experimentales

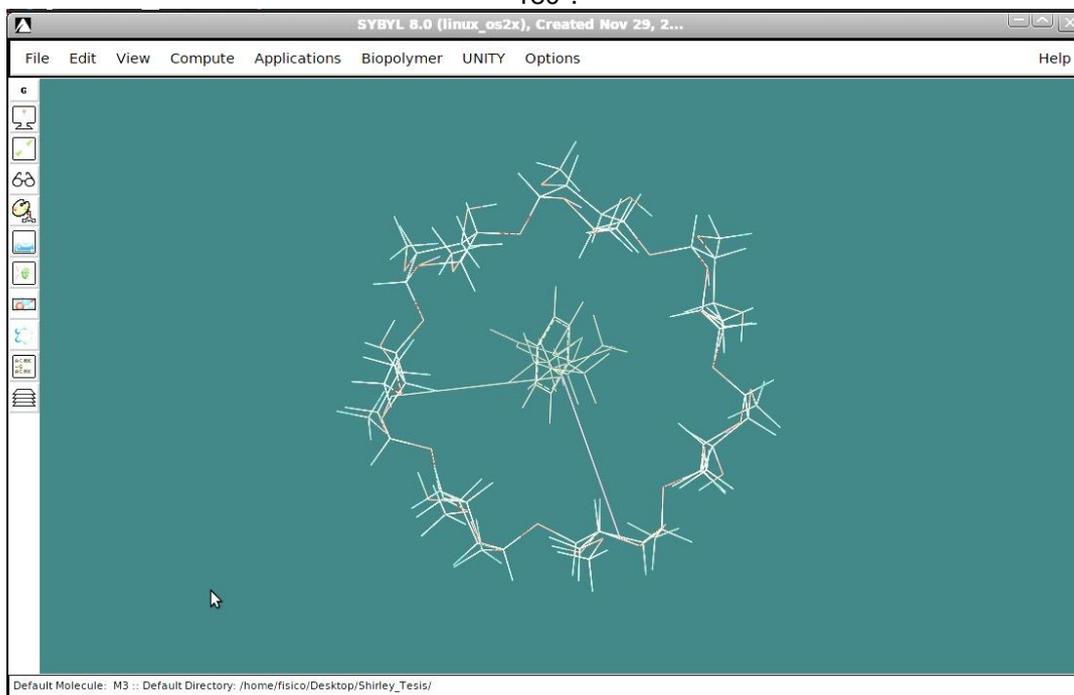
Figura No. 7: Vista axial del complejo de conformación de baja energía de la β -ciclodextrina con el isómero R a una distancia de 0.049 Å entre los centroides, un ángulo de 72° y con una torsión de 135°.



Fuente: Datos experimentales

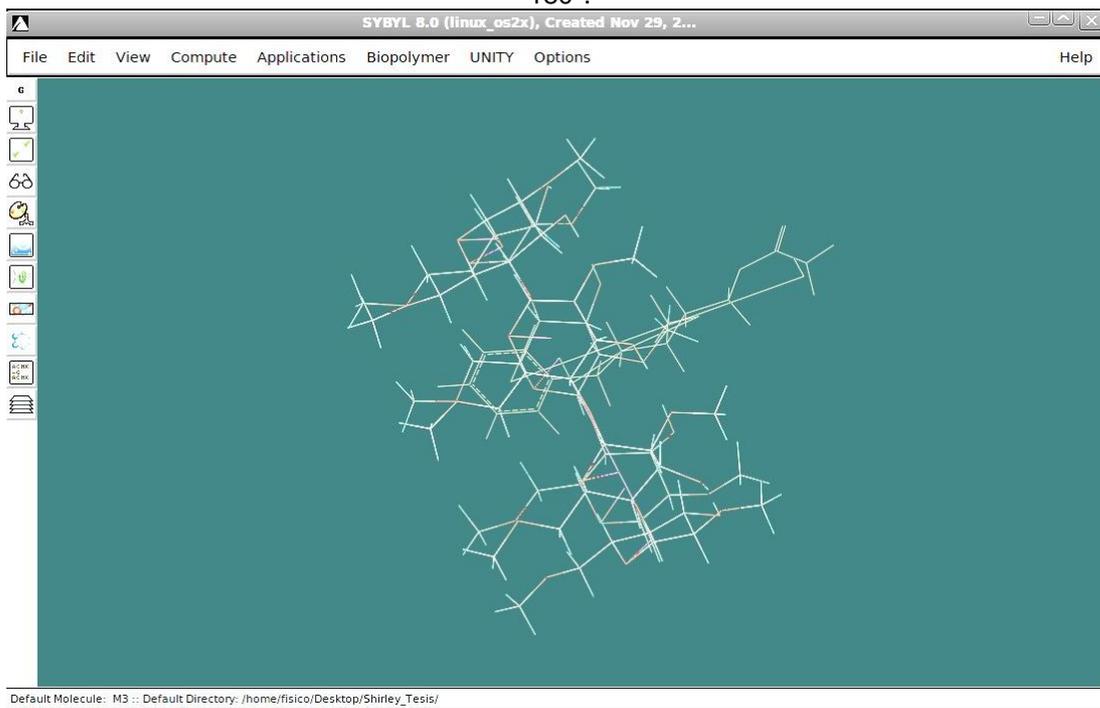
En las figuras 8 y 9 se muestra la capacidad de la metil- β -ciclodextrina para formar complejos con los isómeros, y la mayor asimetría que muestra la molécula al sustituirse (ver gráfica no. 3).

Figura No. 8: Vista frontal del complejo de conformación de baja energía de la metil- β -ciclodextrina con el isómero S a una distancia de -1.951 \AA entre los centroides, un ángulo de 78° y con una torsión de 180° .



Fuente: Datos experimentales

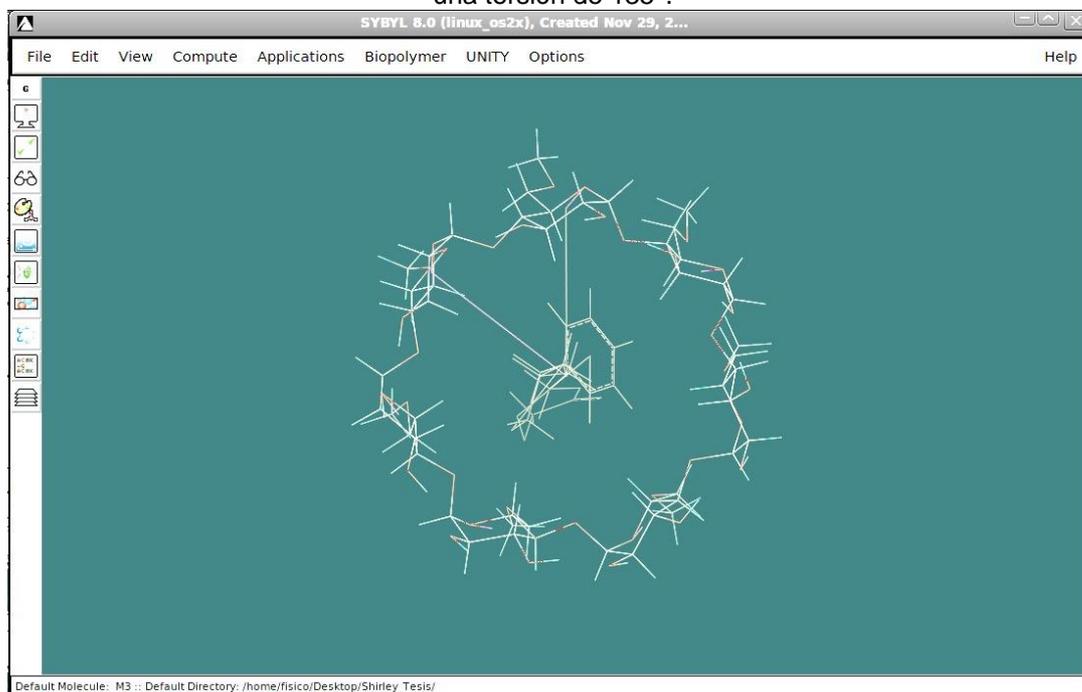
Figura No. 9: Vista axial del complejo de conformación de baja energía de la metil- β -ciclodextrina con el isómero S a una distancia de -1.951 \AA entre los centroides, un ángulo de 78° y con una torsión de 180° .



Fuente: Datos experimentales

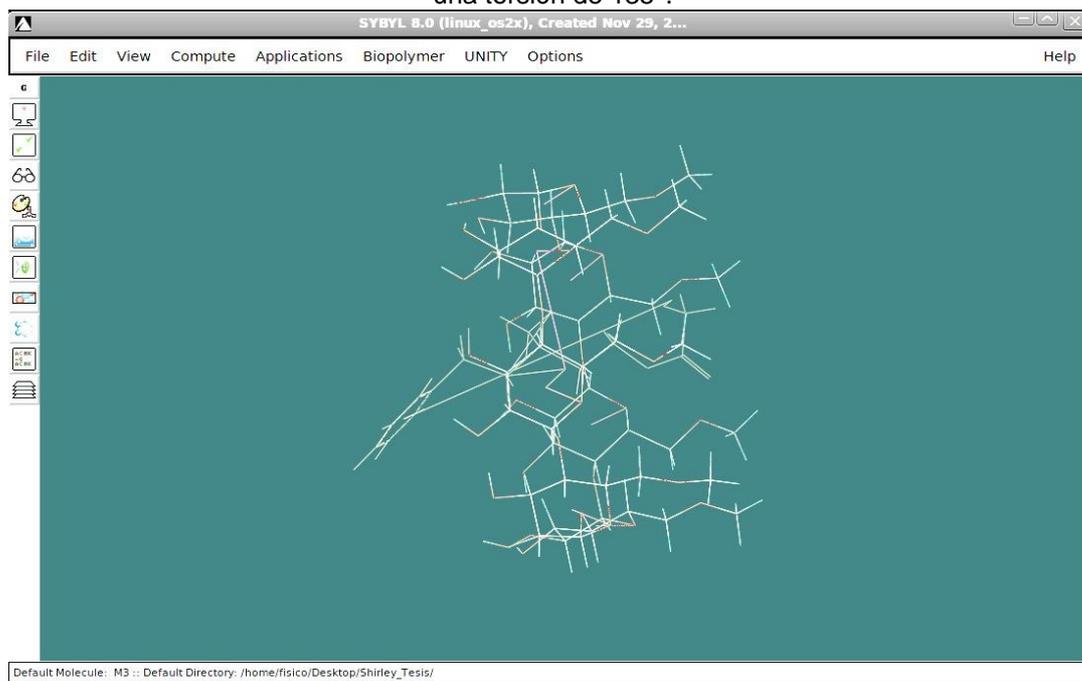
En las figuras 10 y principalmente en la 11 se muestra la metil- β -ciclodextrina sustituida selectivamente para aumentar la asimetría de la molécula, como puede verse en las tablas 6 y 7, esto resulta favorable para la selectividad entre los isómeros (ver gráfica no. 4).

Figura No. 10: Vista frontal del complejo de conformación de baja energía de la metil- β -ciclodextrina (asimétrica) con el isómero S a una distancia de 2.049 Å entre los centroides, un ángulo de 63° y con una torsión de 135°.



Fuente: Datos experimentales

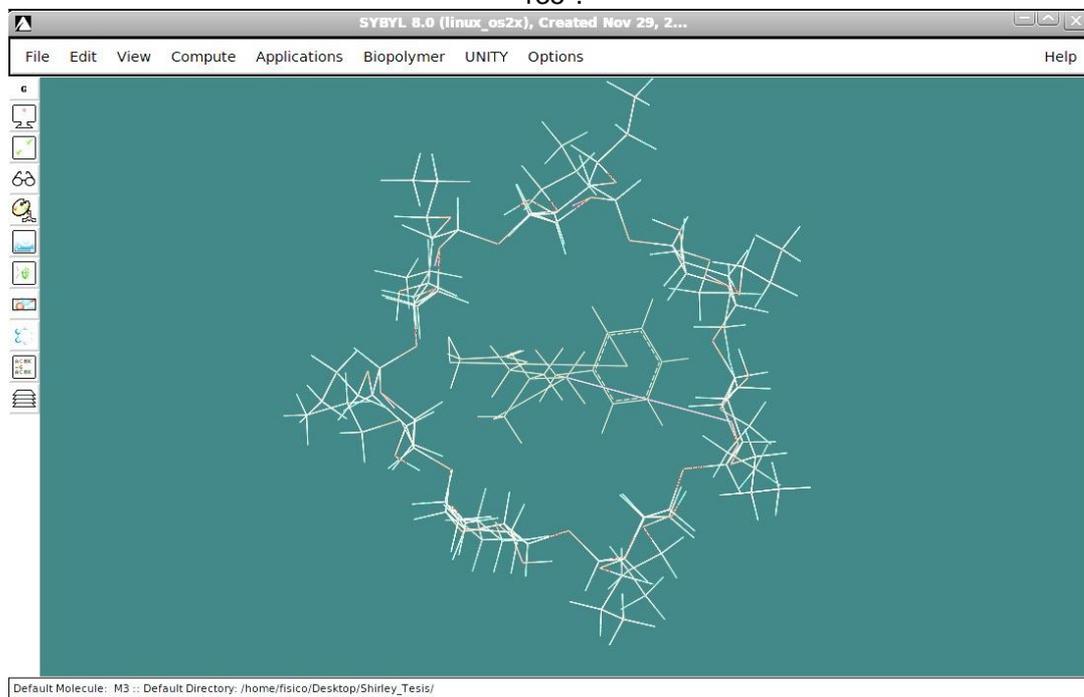
Figura No. 11: Vista axial del complejo de conformación de baja energía de la metil- β -ciclodextrina (asimétrica) con el isómero S a una distancia de 2.049 Å entre los centroides, un ángulo de 63° y con una torsión de 135°.



Fuente: Datos experimentales

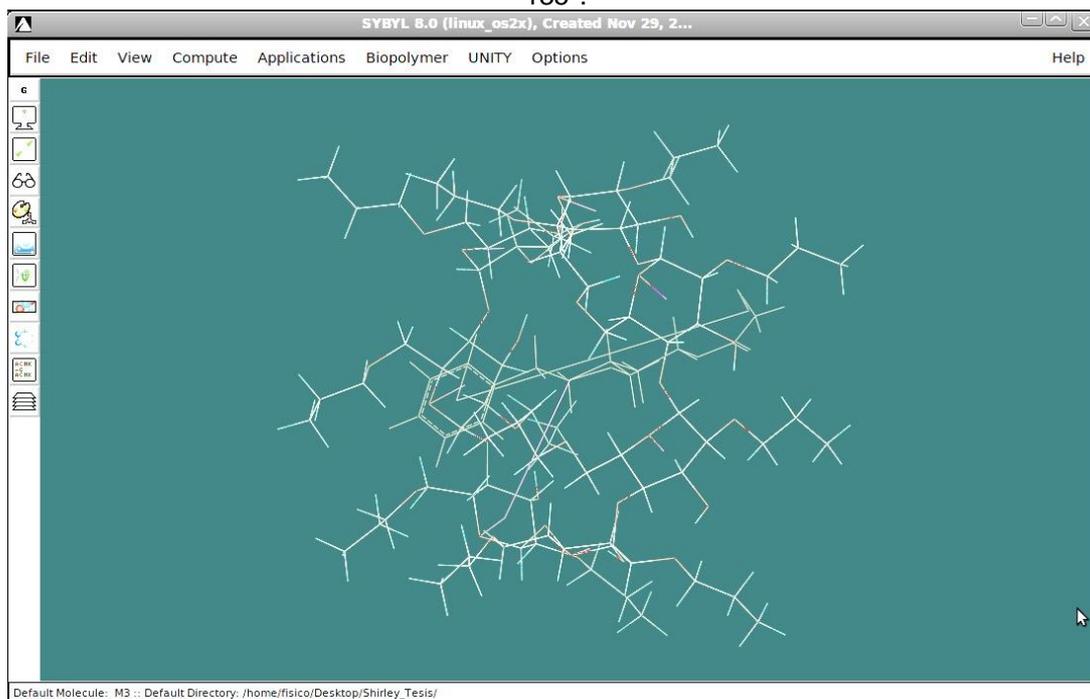
En las figuras 12 y 13 se observa la disposición espacial que obtiene la β -ciclodextrina al sustituirse con un grupo propilo, esta molécula no mostró capacidad en la selectividad para la separación de los isómeros (ver gráfica no. 5).

Figura No. 12: Vista frontal del complejo de conformación de baja energía de la propil- β -ciclodextrina con el isómero R a una distancia de 0.049 Å entre los centroides, un ángulo de 72° y con una torsión de 135°.



Fuente: Datos experimentales

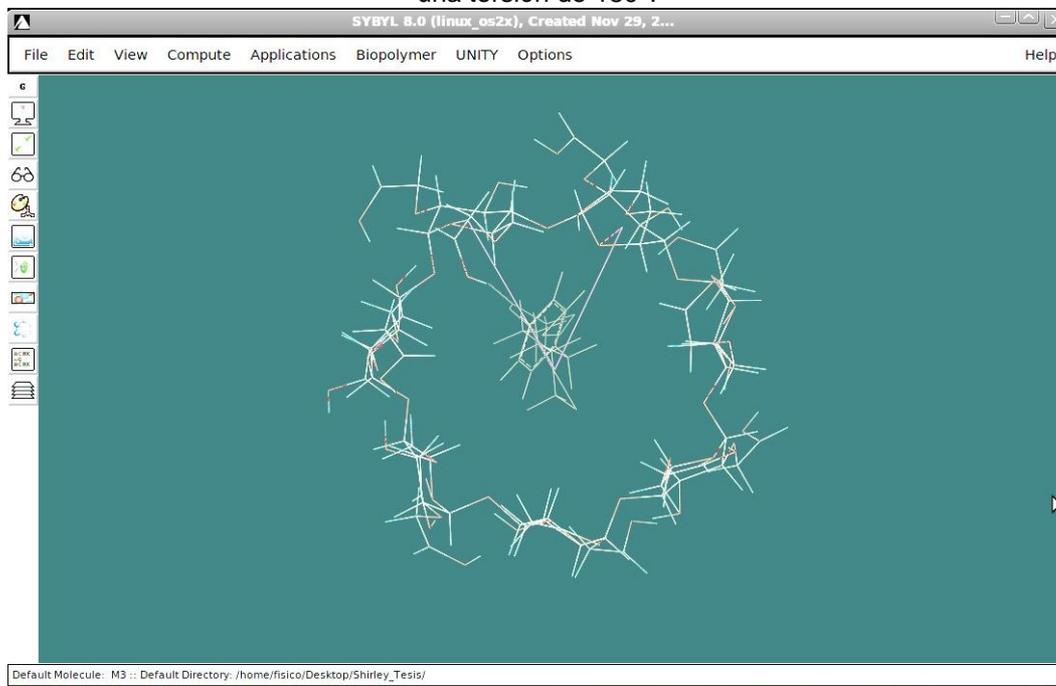
Figura No. 13: Vista axial del complejo de conformación de baja energía de la propil- β -ciclodextrina con el isómero R a una distancia de 0.049 Å entre los centroides, un ángulo de 72° y con una torsión de 135°.



Fuente: Datos experimentales

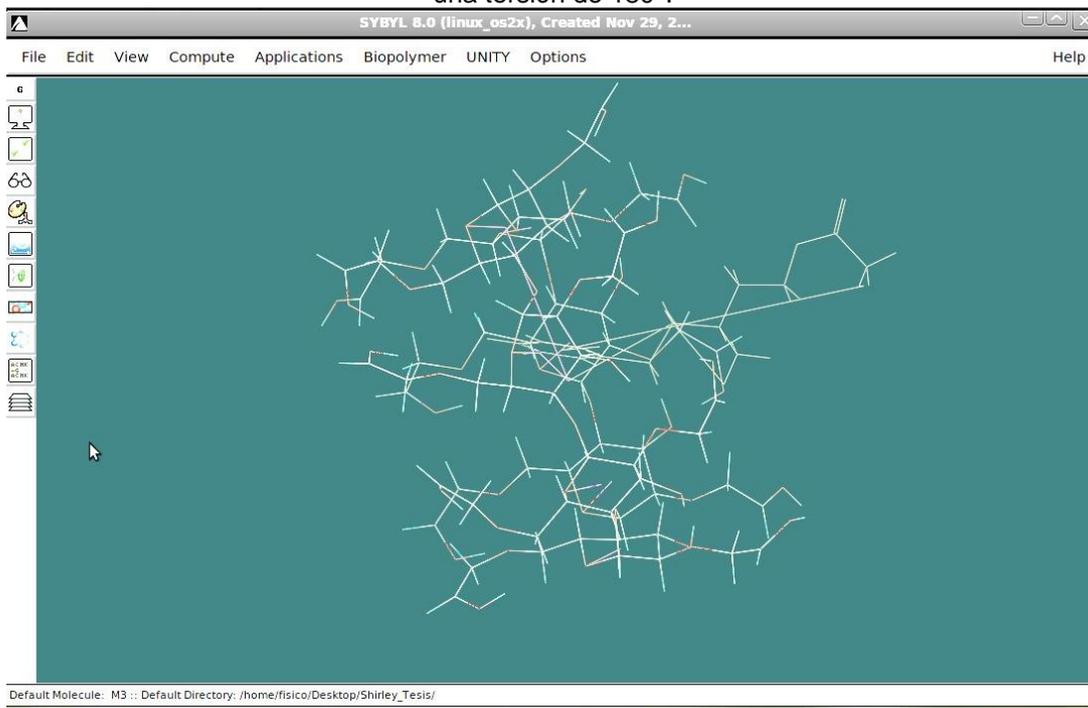
En las figuras 14 y 15 se observa a dos de los complejos de la 2-hidroxiethyl- β -ciclodextrina, que no mostró capacidad de separación de los enantiómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo (ver gráfica no. 6).

Figura No. 14: Vista frontal del complejo de conformación de baja energía de la 2-hidroxiethyl- β -ciclodextrina con el isómero R a una distancia de -3.951 \AA entre los centroides, un ángulo de 81° y con una torsión de 180° .



Fuente: Datos experimentales

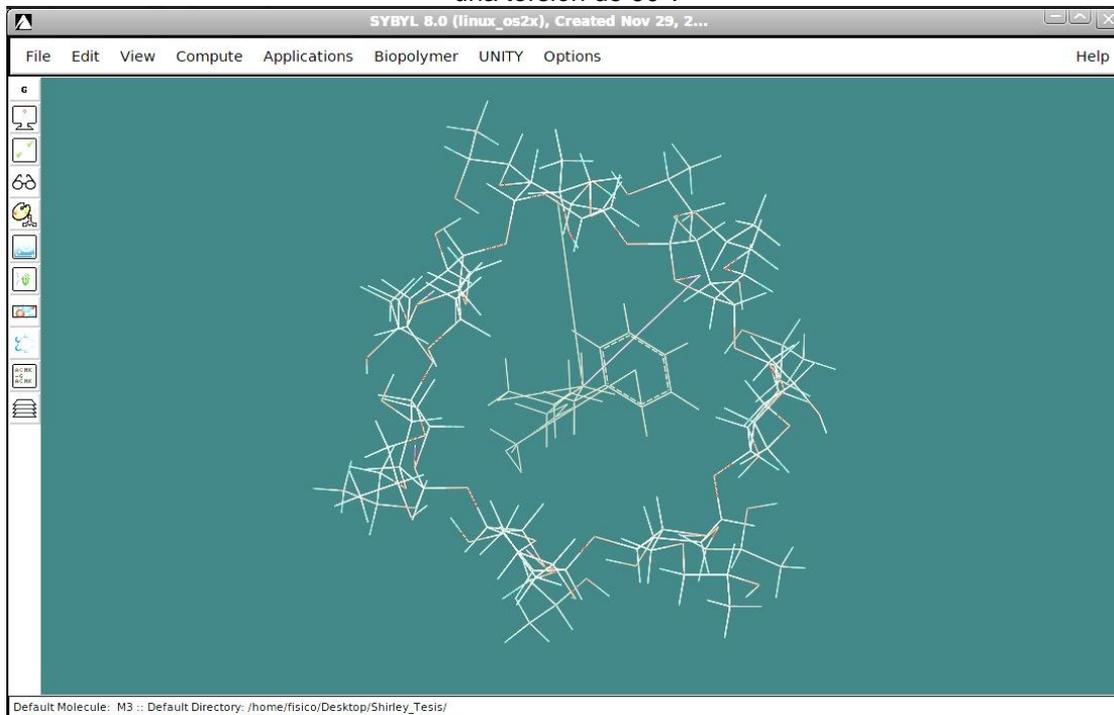
Figura No. 15: Vista axial del complejo de conformación de baja energía de la 2-hidroxiethyl- β -ciclodextrina con el isómero R a una distancia de -3.951 \AA entre los centroides, un ángulo de 81° y con una torsión de 180° .



Fuente: Datos experimentales

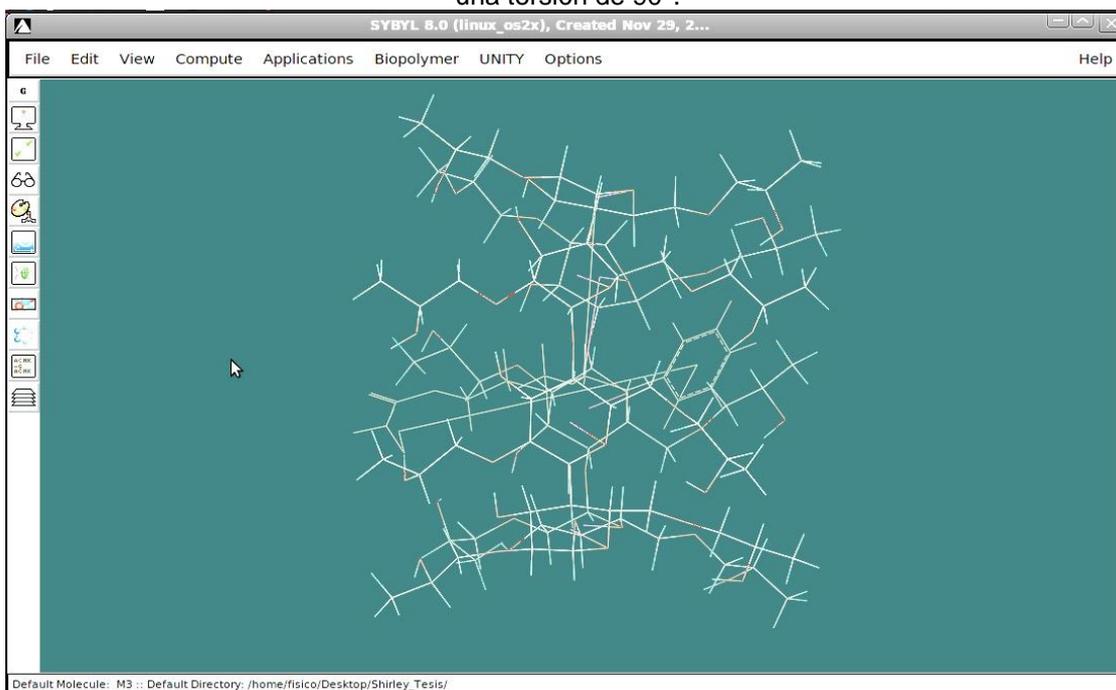
En las figuras 16 y 17 se observa a la 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina, que demostró ser de las moléculas anfitrionas más prometedoras para la separación quiral (ver gráfica no. 7).

Figura No. 16: Vista frontal del complejo de conformación de baja energía de la 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina con el isómero R a una distancia de 0.049 Å entre los centroides, un ángulo de 78° y con una torsión de 90°.



Fuente: Datos experimentales

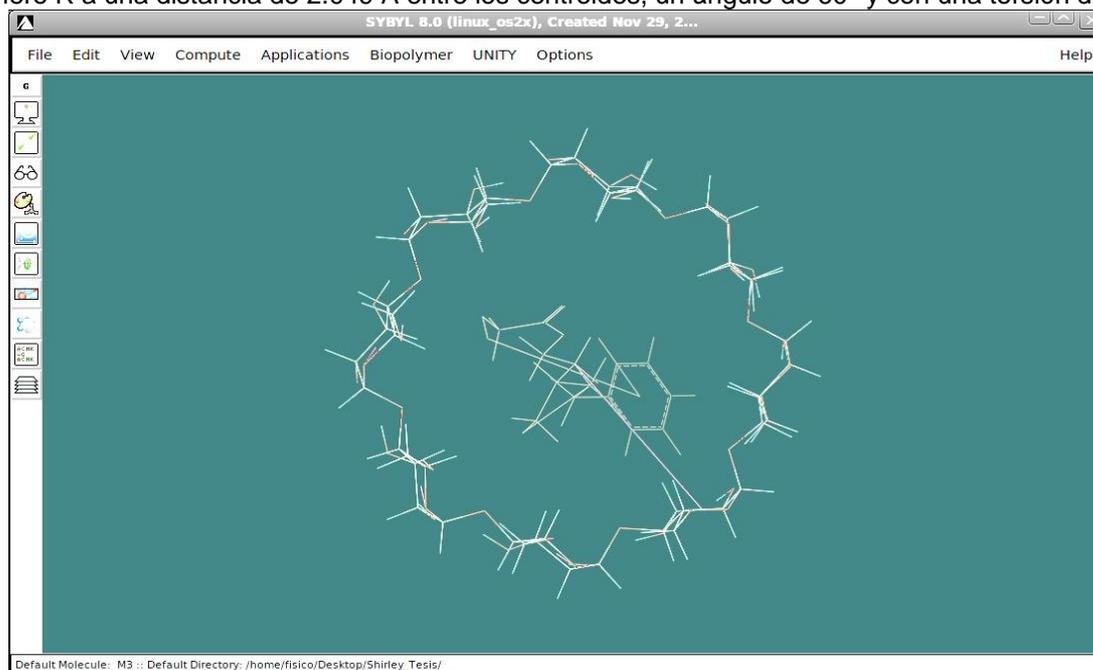
Figura No. 17: Vista axial del complejo de conformación de baja energía de la 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina con el isómero R a una distancia de 0.049 Å entre los centroides, un ángulo de 78° y con una torsión de 90°.



Fuente: Datos experimentales

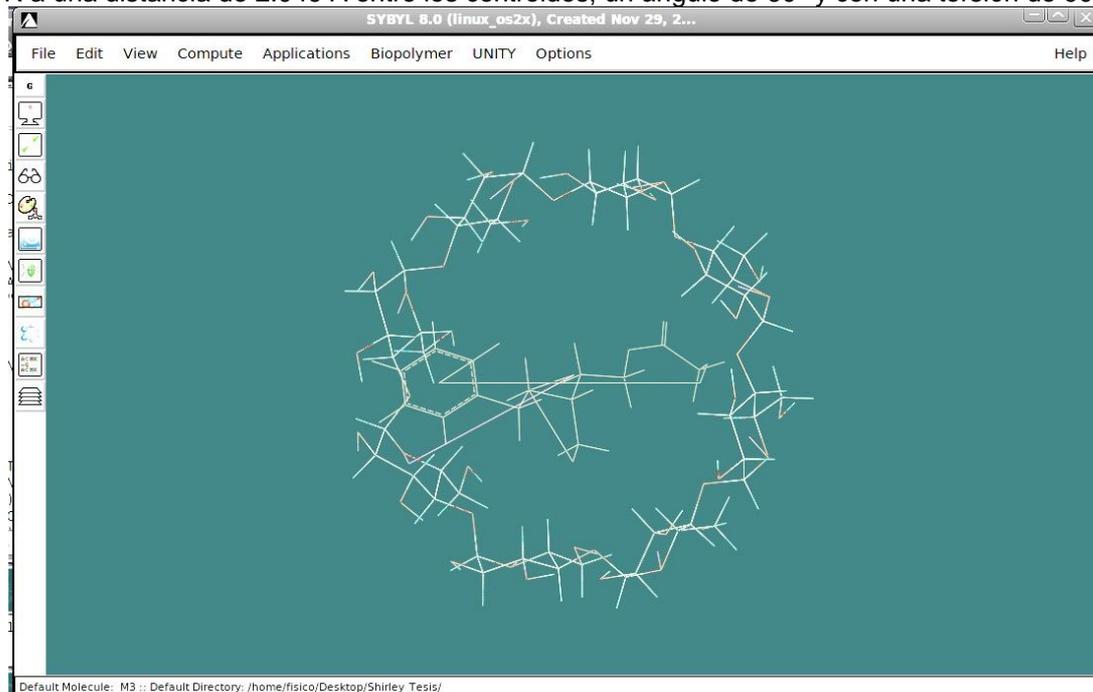
En las figuras 18 y 19 se observa la γ -ciclodextrina, se hace visible el aumento en el tamaño de la ciclodextrina (con ocho unidades de glucosa) y que el ligando dentro de ella adopta una disposición diferente a las obtenidas en los complejos anteriores, esta ciclodextrina también demostró capacidad para la separación quiral de los isómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo (ver gráfica no. 8).

Figura No. 18: Vista frontal del complejo de conformación de baja energía de la γ -ciclodextrina con el isómero R a una distancia de 2.049 Å entre los centroides, un ángulo de 60° y con una torsión de 90°.



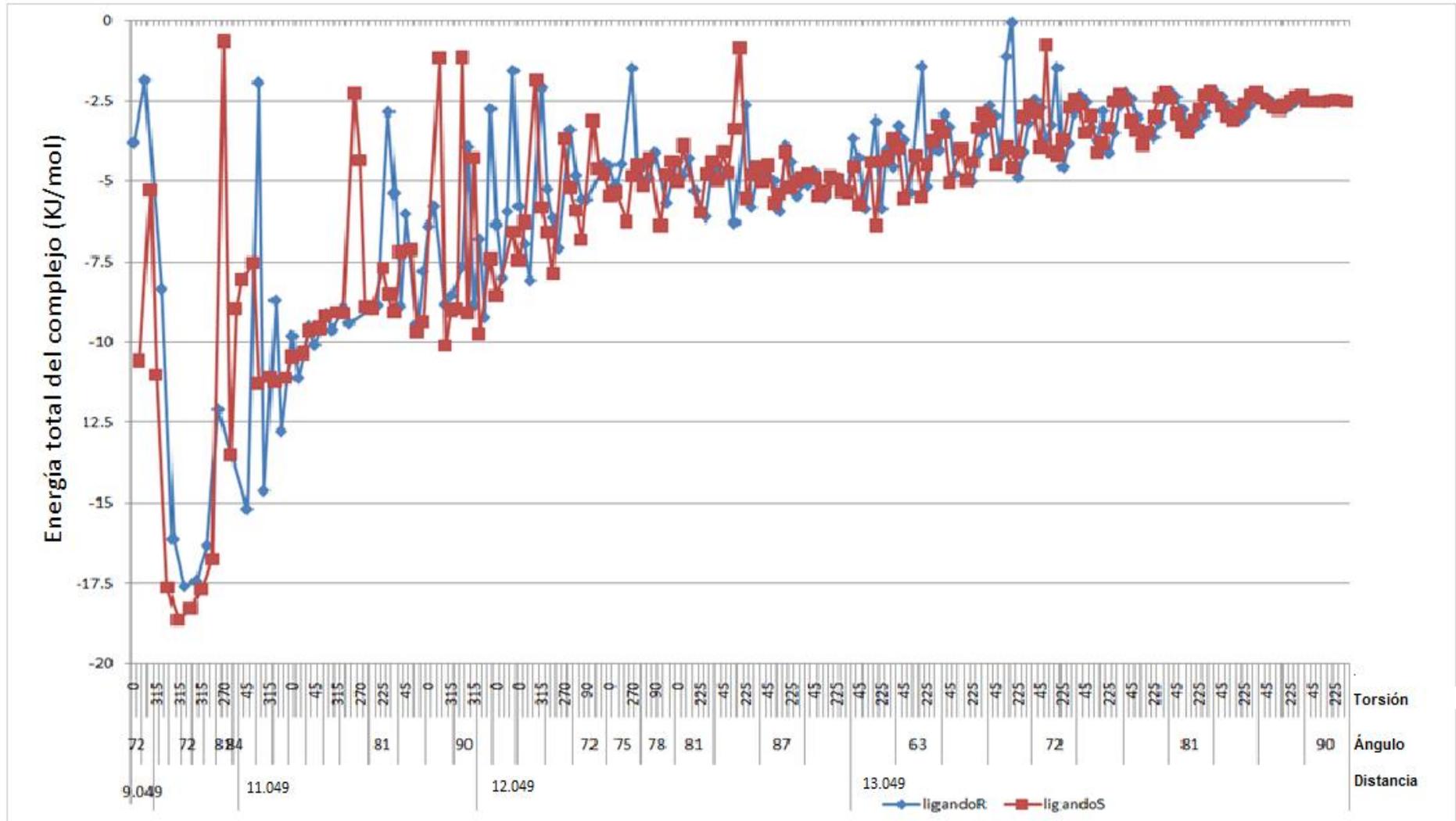
Fuente: Datos experimentales

Figura No. 19: Vista del complejo de conformación de baja energía de la γ -ciclodextrina con el isómero R a una distancia de 2.049 Å entre los centroides, un ángulo de 60° y con una torsión de 90°.



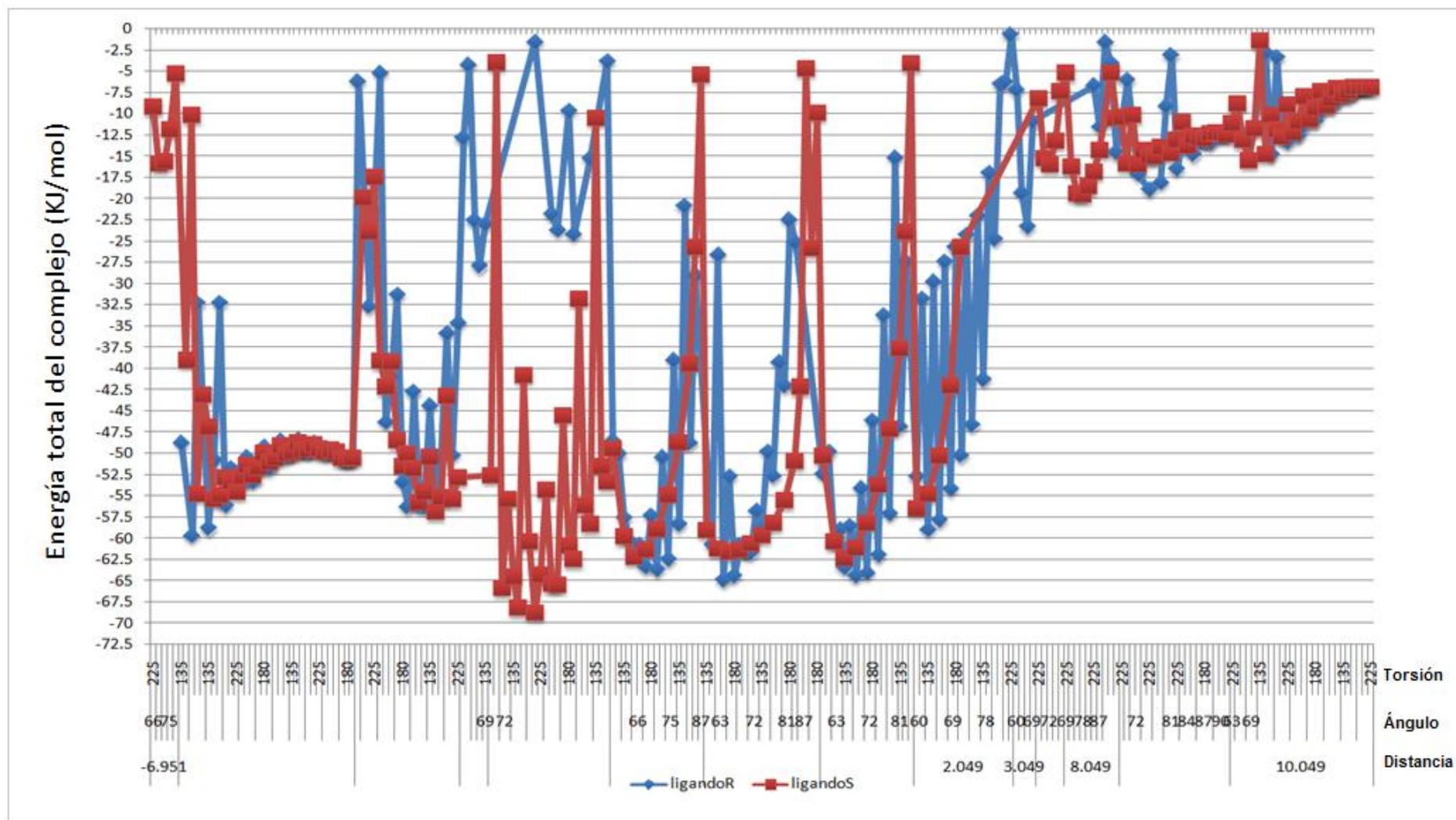
Fuente: Datos experimentales

Gráfica No. 1: Energía de estabilización de la α -ciclodextrina. Valores de energía menores a 0 kJ/mol.

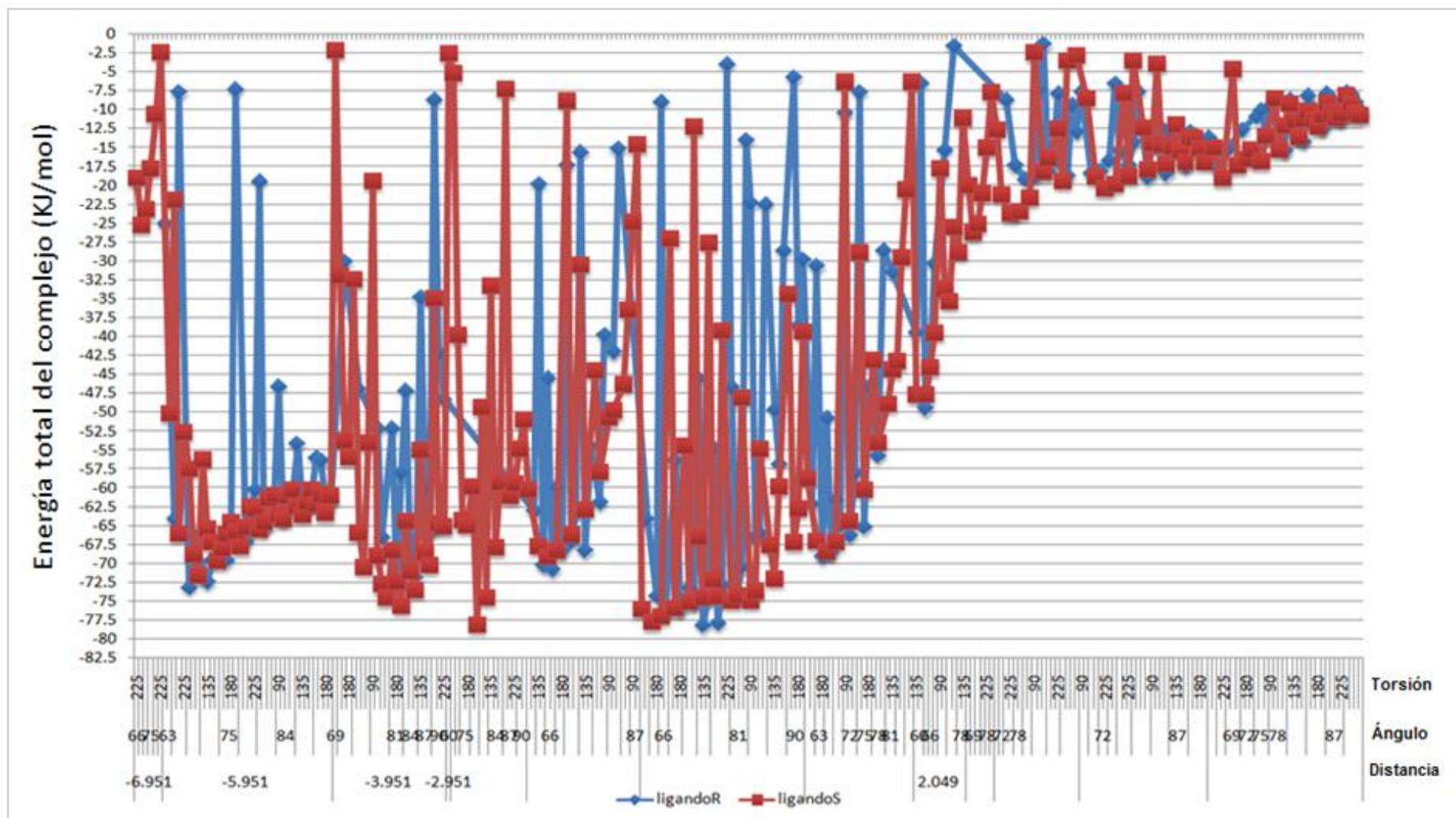


Fuente: Datos experimentales.

Gráfica No. 2: Energía de los complejos conformacionales con la β -ciclodextrina. Valores de energía menores a 0 kJ/mol.

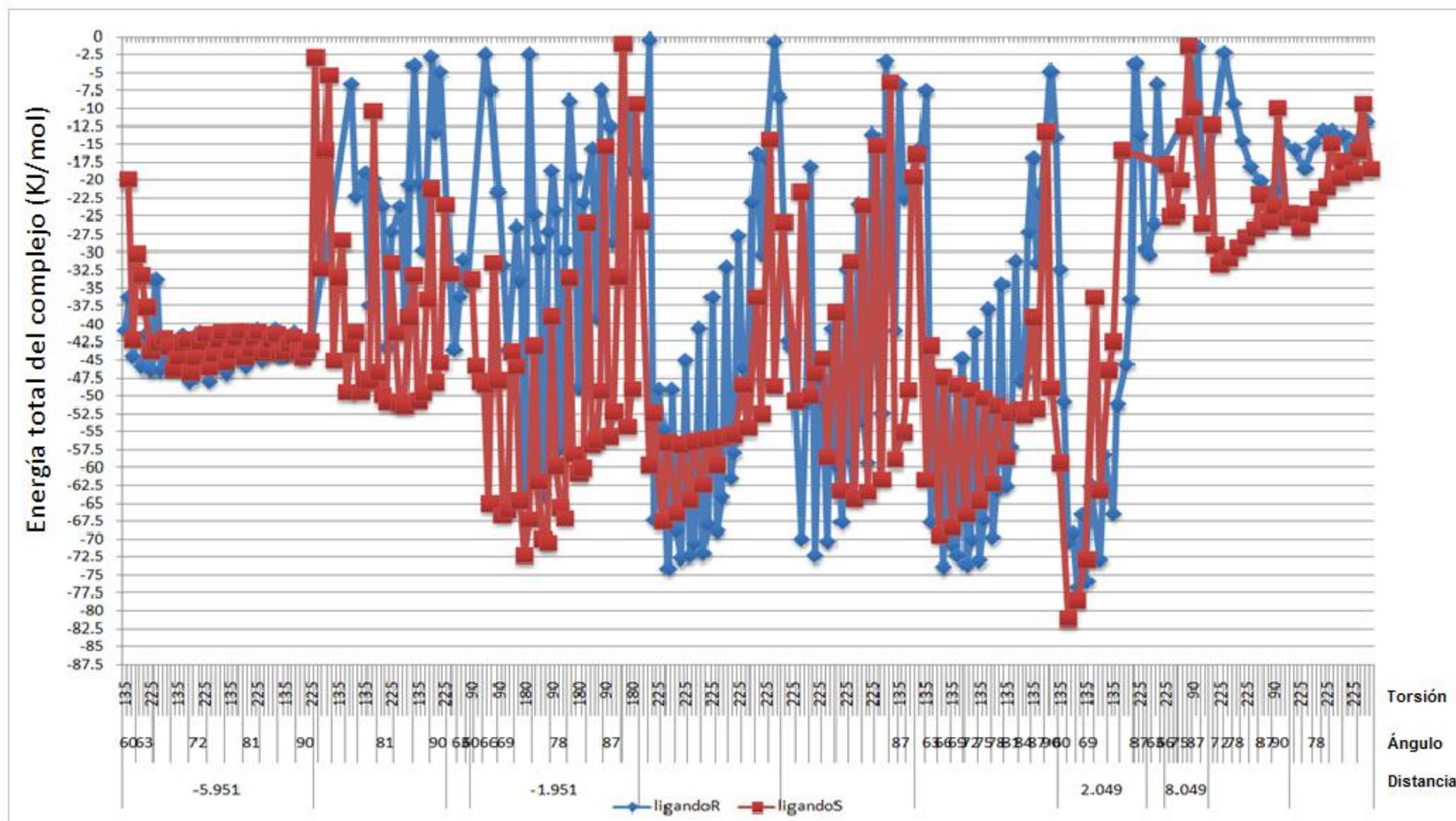


Gráfica No. 3: Energía de los complejos conformacionales con la metil- β -ciclodextrina. Valores de energía menores a 0 kJ/mol.



Fuente: Datos experimentales.

Gráfica No. 4: Energía de los complejos conformacionales con la metil- β -ciclodextrina (asimétrica). Valores de energía menores a 0 kJ/mol.



Fuente: Datos experimentales.

IX. Discusión

En la tabla 1 se muestran las energías calculadas para los isómeros R y S. Para los compuestos evaluados se observa que el (S)-5-fenil-3-metilpentilo posee una mayor energía; esto es una cuestión puramente energética, que se debe probablemente a la diferentes formas de interacción entre los grupos, pero que sólo podría explicarse de mejor manera a través de un estudio a nivel electrónico. Además se muestran las energías para cada una de las ciclodextrinas evaluadas, y se observa que a medida que aumenta el tamaño por el número de unidades de glucosa y la sustitución de estas, aumenta su energía. La única excepción se da entre la 2-hidroxietil- β -ciclodextrina y la 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina, lo que se debe a las fuerzas electrostáticas producidas entre los enlaces de hidrógeno en posiciones terminales en los sustituyentes etil de la β -ciclodextrina, que pueden disminuir en el caso de la 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina, debido a que se encuentra en un carbono secundario con menor disponibilidad.

Los resultados que se muestran corresponden a las energías de estabilización de los complejos que pueden formarse. El parámetro que se definió para determinar su factibilidad fue la energía total obtenida del complejo de inclusión con un valor menor a 0 kJ/mol, lo que indica su posible formación en condiciones experimentales. Por otra parte, las energías correspondientes a las demás conformaciones no se presentan, ya que se consideran no relevantes para el estudio.

La primera de las ciclodextrinas evaluadas fue la α -ciclodextrina, (ver figuras 4 y 5) con la cual en ninguna de las variables determinadas: distancia, ángulo y torsión, se encontró un complejo de inclusión con una energía que indicara el favorecimiento de su formación. De hecho, los datos representados en la gráfica 1, corresponden a una distancia en donde ya no existe interacción entre el ligando y la α -ciclodextrina. Esto se debe a que en la α -ciclodextrina al solo contar con seis unidades de glucosa, el interior es pequeño para poder albergar al ligando, y las interacciones electrostáticas y los impedimentos estéricos entre las moléculas, no permiten la estabilización de los complejos.

La β -ciclodextrina, al tener una mayor abertura debido a que cuenta con siete unidades de glucosa, parecía tener mejores posibilidades ya que podía acomodar de mejor manera al ligando (ver figuras 6 y 7). Con la β -ciclodextrina las menores energías se obtuvieron con el ligando de conformación S, pero se diferencia de su isómero R solamente en 4 kJ/mol, pero al realizar una comparación global, existe prácticamente el

doble de conformaciones de complejos de baja energía con el isómero R que con el S (ver tabla 2 y 3). Sin embargo, se observa en la gráfica 2 existen muchos traslapes en las distancias de -3.951 a 0.049, ya que las energías son similares en las distancias evaluadas, sobre todo al examinar los complejos de menor energía por lo que es difícil concluir que estos puedan separarse con la β -ciclodextrina.

Con la primera ciclodextrina sustituida evaluada, la metil- β -ciclodextrina, se trató de la forma siguiente: una ciclodextrina sustituida en todas las posiciones por un grupo metilo (ver figuras 8 y 9), y una ciclodextrina preparada de forma que los grupos metilo se encuentren en el lado más estrecho de la abertura, esto con el fin de aumentar la asimetría de la ciclodextrina (ver figuras 10 y 11) y evaluar su influencia en la selectividad de la formación de los complejos de inclusión. Con la metil- β -ciclodextrina, se obtuvieron datos no muy alentadores, debido a que la molécula estaba completamente sustituida, los complejos se formaron de formas similares, en distancias y posiciones comparables, lo que se observó en muchos traslapes de energía a una distancia de -5.951 a 0.049 (ver gráfica 3). En la metil- β -ciclodextrina, sustituida en el lado más estrecho, indica que existe una mayor evidencia en que los isómeros adoptaron comportamientos diferentes, en donde existe una marcada preferencia a formar complejos con el isómero R en lugar que el S, forman complejos de menor energía en mayor cantidad (ver gráfica 4), de forma que al comparar los conformeros de baja energía, en distancias de -1.0 a 1.0 entre sus centroides moleculares, se observa que la formación de complejos con el isómero R con respecto al S es de 5 a 1 (ver tabla 4 y 5). Así por lo que se pudo constatar que al aumentar la asimetría en las ciclodextrinas, permite una mayor selectividad isomérica para la formación de complejos de inclusión (ver tabla 6 y 7).

Con la propil- β -ciclodextrina se pudo observar que al aumentar el tamaño de la cadena del sustituyente (ver figuras 12 y 13), aumentaron las diferencias energéticas entre los complejos de ambos isómeros (ver gráfica 5). En la distancia entre los centroides de las moléculas cercana a 0, se observó una mayor diferencia de energía, favoreciendo la formación de los complejos del isómero R, pero este comportamiento sólo se pudo observar a esta distancia, por lo que con los datos obtenidos no se puede asegurar si la selectividad por el isómero R sea tan evidente que permita la separación con la pureza adecuada en la práctica (ver tabla 8 y 9).

En la evaluación de la 2-hidroxietil- β -ciclodextrina (ver figuras 14 y 15), como se presenta en la gráfica 6, en las distancias de -1.0 a 1.0 el ligando R forma complejos en una proporción 4:5 con respecto al ligando S, por lo que no puede determinarse una

diferencia entre el comportamiento del isómero R y el S (ver tabla 10 y 11), razón por la que esta ciclodextrina no es viable para la separación enantiomérica del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo. Al comparar esta ciclodextrina con la 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina, se observa que en las distancias con valores energéticos favorables, el enantiómero en esta aunque sí se acomoda dentro de la molécula anfitrión, no está encapsulado completamente. Por el contrario, con la 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina se observa que el enantiómero se encuentra completamente dentro del anfitrión, lo que aumenta las interacciones y por lo tanto un posible reconocimiento enantiomérico.

Para la 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (ver gráfica 7), al evaluar las distancias de -1.0 a 1.0, para el isómero R forma conformeros más estables, en proporción 3:1 que el isómero S (ver figuras 16 y 17). La mayor estabilidad se da debido a que el isómero R, presenta una estabilidad de alrededor de -15.0 kJ/mol al compararlos en la mayoría de los complejos a varias distancias, por lo que la selectividad por el isómero R se hace evidente (ver tablas 12 y 13). Además estos valores de baja energía son alcanzados en distancias en donde los centroides de las moléculas son cercanos a 0 Å, lo que indica complejos de inclusión estables.

Existen reportadas separaciones enantioméricas en HPLC, en las cuales es utilizada la 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina para separaciones del ácido (\pm)-2-fenilpropiónico (Shengquiang, 2013), utilizando a la 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina como un aditivo quiral disuelto en la fase móvil. Al utilizar una columna hidrofóbica se reporta un rendimiento del 88-95% y una recuperación que va de 66-85% para los isómeros del ácido (\pm)-2-fenilpropiónico; y al utilizar la técnica de cromatografía en contracorriente a alta velocidad, se obtienen rendimientos del 95-98% con porcentajes de recuperación del 85-93%, por lo que se propone viable para la separación de los isómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo.

Con la γ -ciclodextrina, (ver gráfica 8) es notorio que los complejos del isómero R son bastante más estables que los del isómero S, por lo que también la γ -ciclodextrina es una buena propuesta para la separación de los isómeros del acetato de 5-metil-3-fenilpentilo (ver figuras 18 y 19). Los complejos del isómero R se forman en proporciones 4:1 respecto al S y alrededor de 10 KJ/mol menos energéticos a las mismas distancias (ver tablas 14 y 15).

Al comparar los precios de estas ciclodextrinas (ver anexo 1), es importante mencionar que entre los derivados de la β -ciclodextrina y la γ -ciclodextrina hay una amplia diferencia en el precio de alrededor de diez veces, siendo la γ -ciclodextrina más costosa. En base a los hallazgos de este estudio luego de hacer una comparación de precios, la ciclodextrina con mayor aplicabilidad es la 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina, tomando en cuenta, tanto su desempeño como el precio.

X. Conclusiones

- A. La γ -ciclodextrina es una propuesta viable para la separación de los isómeros del acetato de 5-metil-3-fenilpentilo, con una selectividad del isómero R respecto al S de (4:1).
- B. La 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina es la propuesta principal de este estudio para su uso tanto como aditivo quiral o fase estacionaria para la separación de los isómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo, en base al costo de esta como reactivo químico.
- C. Se logró una propuesta para la separación quiral, no solamente con derivados de la β -ciclodextrina, sino también con derivados de la γ -ciclodextrina.
- D. Se determinó que el (S)-5-fenil-3-metilpentilo posee una mayor energía que el isómero R, por lo cual la minimización energética de este ligando favorece la formación de complejo de inclusión.
- E. No es posible formar complejos de inclusión estables de los isómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo con la α -ciclodextrina.
- F. Se determinó que la β -ciclodextrina, metil- β -ciclodextrina, propil- β -ciclodextrina y 2-hidroxietil- β -ciclodextrina, no son lo suficientemente selectivas en la formación de los complejos de inclusión de los isómeros del acetato de 5-fenil-3-metilpentilo para que pueden ser factibles en su uso para la separación.
- G. Al aumentar la asimetría en las ciclodextrinas, se favorece la selectividad isomérica en la formación de complejos de inclusión.
- H. La 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina, tiene carácter selectivo para la formación del complejo de inclusión para el isómero R, respecto al isómero S (3:1), lo que la hace viable para la separación enantiomérica.

XI. Recomendaciones

- A. Realizar las mediciones para el cálculo de la mecánica molecular incluyendo agua como solvente en el sistema.

- B. Realizar los cálculos para la determinación de la dinámica molecular de los complejos de inclusión de las ciclodextrinas con mejor desempeño, para afinar los resultados obtenidos y concluir con la mejor vía para la separación enantiomérica.

XII. Referencias

1. Carrascoza, F. et al. 2010. Elucidación del sitio de reacción de calyxaminas A y B en la acetilcolinesterasa y diseño de un fármaco derivado de calyxaminas A y B potencialmente activo contra Alzheimer, por medio de nanotecnología computacional. Revista Científica, no. 2.21, p. 7-14
2. Ahuja, S. 2000. Chiral Separations by Chromatography. EE.UU:American Chemical Society. Oxford University Press. p. 244
3. Song, A. et al. 2009. Recent advances in computer-aided drug design. Advance Access, Oxford Journals, Brief Bioinform.p. 21-27
4. Martin, E. et al. 2003. Cyclodextrins and their uses: a review. Process Biochemistry. Elsevier. p. 1-27
5. Madrid, J. et al. 1997. Molecular Mechanics Study of the Inclusion Complexes of 2-Methyl Naphtoate with alfa and beta cyclodextrins. Journal of Colloid and Interface Science, 193, p. 112-120.
6. Cobar Pinto, O. M.; Vásquez Mencos, A. A.; Torres Flores, J. A. 2005. Síntesis de análogos del medicamento anti-alzheimer ampakina cx 516 a partir de los productos naturales safrol y piperonal. FODECYT No. 20-2006.
7. Gil-Néciga E., Gobartt. AI. 2008. Treatment pattern of Alzheimer's disease with cholinesterase inhibitors. Rev Neurol. 46, 8, p. 46-58.
8. Kubis AM, Janusz M. 2008. Alzheimer's disease: new prospects in therapy and applied experimental models. Postepy Hig Med Dosw.62, p. 92.
9. Landmark K, Reikvam A. 2008. Inhibidores de la colinesterasa en el tratamiento de la demencia, ¿son útiles en la práctica clínica? Revista de Neurología.,128, 3, p. 97
10. Pepeu G, Giovannini MG. 2009. Cholinesterase inhibitors and beyond. Current Alzheimer Research. 2. p. 86-96.

11. Pettegrew, J. W.; William E. 1995. Clinical and neurochemical effects of acetyl-L-carnitine in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 16, 1, p. 1-4.
12. Gago, F. 2007. Métodos Computacionales de modelado molecular y diseño de fármaco. Departamento de Fisiología y farmacología. Universidad de Alcalá de Henares, Madrid. p. 56.
13. Serna L. et al. 2005. Inclusion complexes of a bichromophoric diester containing anthracene and naphthalene groups with α - and β -cyclodextrins: thermodynamics and molecular mechanics. *Spectrochimica Acta Part A* 61. p. 1945-1956.
14. Shahgladian, P. et al. 2006. Cyclodextrin Derivatives as chiral supramolecular receptors for enantioselective sensing. *Sensors*. 6, p.593-615.
15. Steed, J., Atwood J. 2009. "Supramolecular Chemistry". John Wiley & Sons. Ltd. p. 23-39.
16. Pirkle, W.H.; Pochapsky, T.C. 1989. "Considerations of chiral recognition relevant to the liquid-chromatographic separation of enantiomers". *Chem.Rev.* 89(2). p. 347-362.
17. Martin del Valle, E.M. 2009. "Review Cyclodextrins and their uses: a review". *Process Biochemisry*. In Print. Department of Chemical Engineering, University of Salamanca. Elsevier. p. 36.
18. Dodziuk, H. 2006. "Cyclodextrins and their complexes". WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. p. 119-144.
19. Atwood, J. 2004. "Encyclopedia of Supramolecular Chemistry Vol. 1." Taylor and Francis Group. p. 452-476.
20. Kyba, E. P., Helgeson, R. C., Madan, K., Gokel, G. W., Tarnowski, T. L., Moore, S. S. and Cram, D. J., 1977, Host-guest complexation .1. Concept and illustration, *Journal of the American Chemical Society*, 99, p.2564–2571.

21. Shengqiang T., Ye Z., Jizhong Y. 2013. "Application and comparison of high performance liquid chromatography and high speed counter-current chromatography in enantioseparation of (\pm)-2-phenylpropionic acid". Journal of Chromatography A. College of Pharmaceutical Science, Zhengjiang University of Technology, p. 79-86.

XIII. Anexos

Anexo I: Precios de ciclodextrinas.

Molécula	Precio (USD)	Cantidad (g)
α-ciclodextrina	38.50	1.0
β-ciclodextrina	103.50	25.0
metil-β-ciclodextrina	67.10	1.0
2-hidroxietil-β-ciclodextrina	152.00	10.0
2-hidroxipropil-β-ciclodextrina	313.50	5.0
γ-ciclodextrina	413.00	1.0

Fuente: Sigma Aldrich, enero 2014.



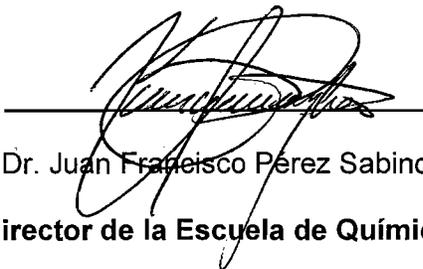
Shirley Alejandra Torres Morales

Tesista



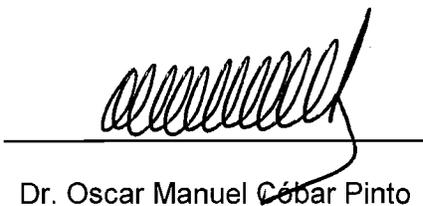
Lic. Omar Ernesto Velásquez González

Asesor de Tesis



Dr. Juan Francisco Pérez Sabino

Director de la Escuela de Química



Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto

Decano de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia