

# ESTUDIOS CONFORMACIONALES DE LA BENCIDRILAMINA

B.E.Rivero\*, G.Punte\*\*, G.Rigotti<sup>o</sup>, A.E.Goeta\*\*\*, M.F.Quinteros Rivero\*\*\*

Laboratorio de Cristalografía, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata,  
C.C.67, 1900 La Plata.

D.Vega

División de Física del Sólido, Departamento de Física, Comisión Nacional de Energía Atómica,  
Av.Libertador 8250, 1429, Buenos Aires.

L.Bruno Blanch

Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, C.C. 67, 1900 La Plata.

E.I.Howard\*\*\* y J.R.Griger\*\*

Instituto de Física de Líquidos y Sistemas Biológicos, Facultad de Ciencias Exactas,  
Universidad Nacional de La Plata y CONICET, C.C. 567, 1900 LaPlata.

La bencidrilamina (BB2) y sus derivados obtenidos por sustitución arílica y/o amínica presentan actividad inhibitoria de los espasmos de la musculatura lisa. Como punto de partida de una investigación cuya finalidad es el diseño de nuevos derivados con mayor actividad y especificidad se estudió, mediante difracción de rayos X de monocristal, la geometría de la bencidrilamina en su forma de clorhidrato, encontrándose que presenta una conformación helicoidal, con los anillos aproximadamente perpendiculares entre sí. Cálculos de mecánica molecular para la molécula libre de bencidrilamina y de su forma protonada (bencidrilamonio), utilizando distintos potenciales, muestran que la conformación de energía mínima depende de la inclusión o no de las interacciones coulombianas. Puesto que el estado relevante para la función biológica es en solución acuosa, se efectuaron cálculos de energía mínima en presencia de agua y se comenzó el análisis mediante dinámica molecular. La simulación se lleva a cabo a presión y temperatura constante en una caja cúbica en presencia de 216 moléculas de agua (SPC/E). Se discute la relación entre la geometría en el estado sólido y las geometrías predichas para la molécula libre y solvatada.

## INTRODUCCION

Este trabajo constituye parte de una investigación sistemática sobre derivados de bencidrilamina (BB2)<sup>1,4</sup>, que presentan actividad inhibitoria de los espasmos de la musculatura lisa, cuya finalidad es el reconocimiento de los parámetros que gobiernan la relación estructura-actividad y su utilización en el diseño de nuevos derivados con mayor actividad y especificidad. Los compuestos objetos de estudio, Fig.1, se han obtenido por sustituciones arílicas y/o amínicas del compuesto original. Los métodos de síntesis y la evaluación de la actividad biológica han sido descritos anteriormente<sup>1,3</sup>. Cálculos de orbitales moleculares mediante el método de Hückel Extendido (EHMO) mostraron una correlación aceptable entre la densidad local de carga en el carbono del puente y la actividad antiespasmódica<sup>2</sup>.

Esta correlación parece indicar que las sustituciones arílicas y amínicas simultáneas favorecerían una mayor actividad pero no da cuenta del aumento de actividad observado por disustitución amínica.

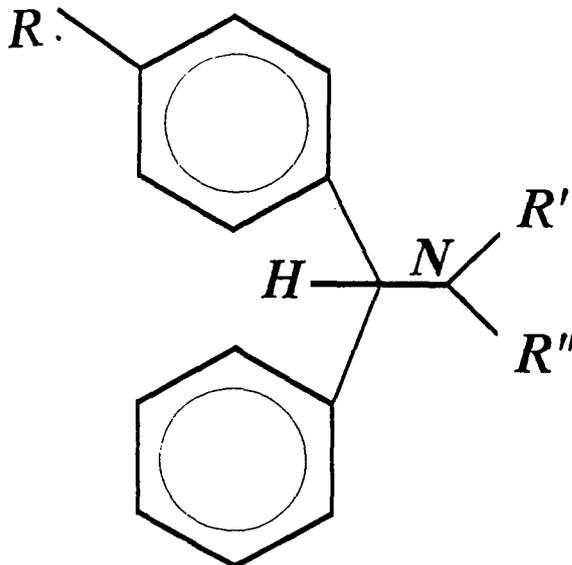


Figura 1: Fórmula estructural general de los compuestos en estudio.

\*\* Investigador CONICET

\* Investigador CIC

\*\*\* Becario CONICET

<sup>o</sup> Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de La Plata.

Como punto de partida del estudio teórico-experimental de la relación conformación-actividad en el presente trabajo se analiza la conformación adoptada por **BB2** en estado sólido, estado libre y solución. A tal efecto se determinó la estructura cristalina del clorhidrato de bencidrilamina, sal utilizada para las determinaciones de actividad por su mayor solubilidad, se efectuaron cálculos de mecánica molecular de la molécula libre utilizando distintos modelos de potencial y se realizaron cálculos de dinámica molecular de la molécula solvatada.

## DISCUSION DE LOS RESULTADOS

### Conformación en estado sólido

La determinación de la estructura molecular del clorhidrato de bencidrilamina, a partir de datos de difracción de rayos X por monocristal<sup>4</sup>, muestra que las distancias y ángulos intramoleculares no presentan apartamientos notables de los valores esperados. Los anillos aromáticos son planos dentro del error experimental. La molécula presenta una conformación helicoidal, de acuerdo con la clasificación de Barnes et al.<sup>5</sup> presentada en la Fig.2. El ángulo entre los anillos es de  $96.8(4)^\circ$  y los ángulos entre los anillos y el plano del puente,  $\phi_1$  y  $\phi_2$ , son  $57.0(6)$  y  $68.8(5)^\circ$  respectivamente.

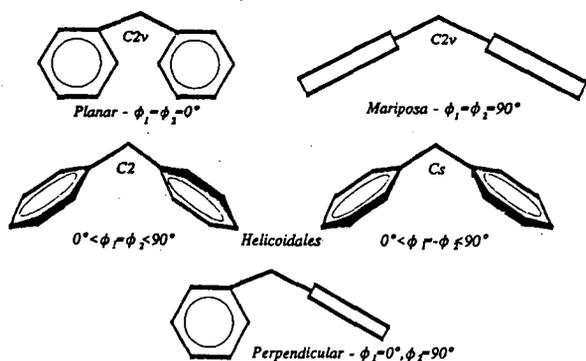


Figura 2: Conformaciones básicas del difenilmetano a partir de EEF.

Esta geometría es similar a la observada en el difenilmetano (DPM). El ángulo del puente  $112.9(7)^\circ$  también está de acuerdo con el observado en DPM. Esto se cumple a pesar de que el grupo puente en **BB2** participa en tres puentes de hidrógeno, donde el grupo  $\text{NH}^{3+}$  actúa como donador

y tres iones  $\text{Cl}^-$  actúan como aceptores. La conformación molecular en estado sólido puede apreciarse en la Fig.3; la Fig.4 muestra el empaquetamiento que las moléculas presentan en la celda unidad. Pares de moléculas unidas por un doble puente de hidrógeno se conectan [mediante la operación de simetría  $0.5-x, 0.5-y, 2-z$ ] a través del tercer puente formando cadenas infinitas a lo largo del eje b.

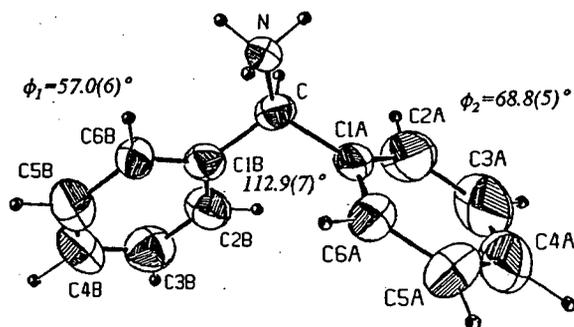


Figura 3: Geometría de la molécula **BB2** en estado sólido.

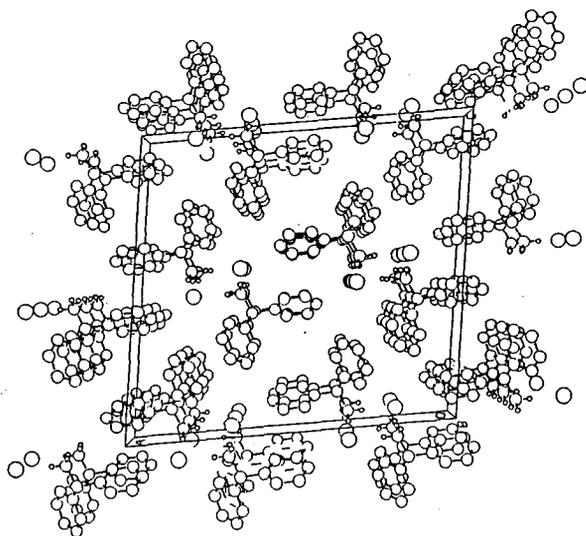


Figura 4: Empaquetamiento de la molécula en el clorhidrato de bencidrilamina.

### Cálculos de mecánica molecular de la molécula aislada

Un modelado molecular consistente en la optimización de la geometría, sin restricciones y

utilizando una aproximación para la energía que incluye las siguientes contribuciones: Van der Waals + deformaciones + elongaciones + torsiones (I) dió como resultado una conformación mariposa, Fig.2, apenas distorsionada (uno de los anillos se desvía aproximadamente  $2^\circ$  de la perpendicularidad con el puente) tanto para la bencidrilamina como para el bencidrilamonio, Fig.5. El ángulo entre los anillos es de  $108$  y  $106,3^\circ$  respectivamente. El mismo modelado molecular utilizando la aproximación (I) pero utilizando la geometría cristalográfica como punto de partida mostró la existencia de una importante tensión torsional, que se interpretó como debida a las interacciones intermoleculares que fuerzan la conformación helicoidal.

esos efectos de conjugación. Por lo tanto se estimó conveniente utilizar un modelado que tuviese en cuenta las interacciones coulombianas y la presencia del par aislado en el N del puente. A tal efecto se realizó la optimización de la geometría de la molécula libre de BB2 utilizando campo de fuerzas de tipo MM2<sup>6</sup>. El análisis de la conformación optimizada muestra que ésta es helicoidal, similar a la observada en estado sólido, Fig.6, el ángulo del puente,  $110,2^\circ$ , es un poco menor que el observado en sólido, mientras que las diferencias en los valores de los ángulos entre el plano del puente y los anillos,  $73,8^\circ$  y  $56,8^\circ$ , para la molécula libre y el sólido están dentro de las  $3\sigma$ .

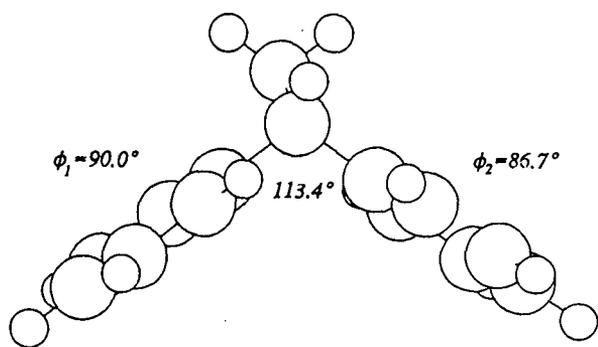


Figura 5: Optimización de la geometría de la molécula de BB2 mediante el potencial I.

Los resultados para la molécula libre son comparables a los obtenidos para DPM donde cálculos de EEF y MO<sup>5</sup> indicaron que la conformación mariposa corresponde al estado fundamental de la molécula. Sin embargo debe tenerse en cuenta que en DPM existe poco solapamiento entre los orbitales de los anillos y los del carbono puente. El grupo metileno puede presentar sólo una pequeña carga y no hay electrones no compartidos. Por lo tanto, las interacciones coulombianas no son un factor preponderante en la determinación de la conformación molecular. En BB2, en cambio, el par aislado del nitrógeno puede dar lugar a efectos de conjugación con los anillos. Además la inclusión en el puente de sustituyentes con gran capacidad donora de electrones o substituyentes aceptores de electrones en los anillos podrían aumentar

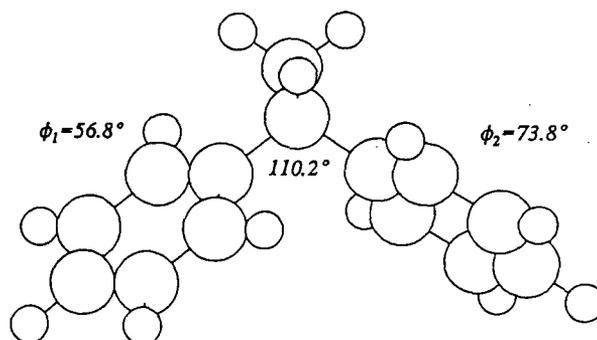


Figura 6: Optimización de la geometría de la molécula de BB2 mediante campo de fuerzas MM2.

Optimizaciones realizadas con distintas geometrías iniciales dan resultados diferentes pero las diferencias energéticas entre las distintas conformaciones son poco importantes, del orden de  $0,8$  kcal/mol, indicando que la molécula puede fácilmente adoptar una u otra conformación de acuerdo con el entorno.

#### Cálculos de mecánica molecular de la molécula solvatada

En base a los resultados anteriores y dado que el estado relevante para la función biológica es el de la molécula en solución acuosa, se comenzó con el estudio de la estructura y dinámica de BB2 en solución. En una primera etapa, y a efectos de

comparación, se consideró una molécula de **BB2** en 216 moléculas de agua. Si bien la simulación de la molécula neutra no representa exactamente la realidad, el resultado de este estudio resulta de interés para cotejarlo con los resultados anteriores y establecer la posibilidad de predecir conformaciones. Para la realización de estos cálculos se utilizó el modelo de agua SPC/E<sup>7</sup>. Los cálculos se efectuaron utilizando el paquete GROMOS<sup>8</sup> del que se tomaron los parámetros de van der Waals y constantes de fuerza angulares. No se consideraron potenciales de torsión, los que deberían surgir naturalmente de las interacciones átomo-átomo.

Las distancias de enlace se consideraron rígidas y la geometría del anillo y la coordinación tetraédrica del nitrógeno se obtuvieron mediante la inclusión de diedros impropios adecuados. Las cargas parciales para cada átomo se obtuvieron mediante CNDO<sup>9</sup>. En primer término se minimizó la energía del sistema mediante el método de gradiente máximo y luego se desarrolló la dinámica molecular hasta equilibrio. Los resultados que se muestran en la Fig.7 se refieren a una configuración y no al promedio de las mismas. En esta configuración los anillos son prácticamente perpendiculares entre sí, 93,2°, y forman ángulos de 60,9° y 60,1° con el plano del puente, presentando por lo tanto una geometría similar a la obtenida en sólido a partir de los potenciales del **MM2** y alejándose menos de la conformación helicoidal básica obtenida para **DPM**. El ángulo del puente, 125,6°, es mucho mayor que el correspondiente al enlace sp<sup>3</sup> y que el obtenido a partir de cualquiera de los métodos descriptos anteriormente. Dado que el número de configuraciones en equilibrio disponibles hasta el momento es reducido, es imposible en el estado actual de avance de la investigación establecer las características dinámicas del sistema.

La similitud de los resultados conformacionales obtenidos para la molécula en sólido, estado libre (**MM2**) y solvatada parecen indicar la validez de la generalización de los resultados cristalográficos a soluciones.

Actualmente se está trabajando en la simulación dinámica para determinar la conformación media en solución y en la resolución de derivados de mayor actividad biológica a los efectos de establecer la importancia de la conformación en la definición de la actividad y la posibilidad de diseñar nuevas estructuras químicas con la actividad farmacológica deseada.

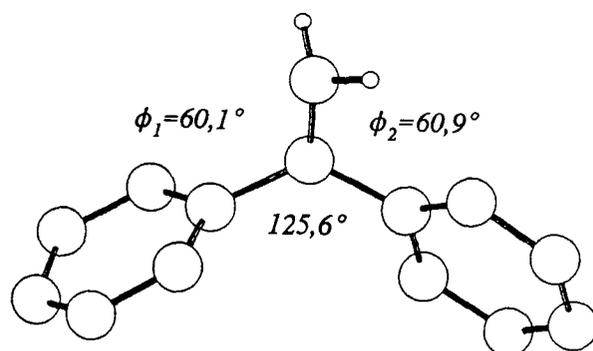


Figura 7: Configuración de la molécula de **BB2** a partir de dinámica molecular. Geometría inicial: cristalografica.

## REFERENCIAS

1. C.A.Grand, L.E.Bruno Blanch, A.G.de Vazquez, P.Lufrano y O.A.N.Baldini,. Acta Far.Bonaerense 3, 39 (1984).
2. G.L.Stiu, R.E.Cachau, E.A.Castro y L.E.Bruno Blanch. Il Farmaco 45, 889 (1990) y referencias a partir de ésta.
3. L.E.Bruno Blanch. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. (1989).
4. B.E.Rivero, G.Punte, G.Rigotti, A.E.Goeta, M.-F.Quinteros Rivero, D.Vega, L.Bruno Blanch. Am.Cryst.Assoc. Meeting. Abstract,23 (1991).
5. J.C.Barnes, J.D.Paton, R.Damewood, Jr., y K.Mislow. J.Org.Chem. 46, 4976 (1981) y referencias a partir de ésta.
6. N.L.Allinger y J.T.Sranque. J.Am.Chem.Soc. 95, 3893 (1973) y referencias a partir de ésta.
7. H.J.C.Berendsen, J.R.Griggera y T.P.Straatmsa. J.Phys.Chem. 91, 6269 (1987).
8. W.F.van Gunsteren, H.J.C.Berendsen. GROMOS. "Sistema de Programas para Simulación Molecular". Obtenible de BIOMOS, Bv. Nijenborg 16, 9747 AG Groningen. Holanda.
9. Versión adaptada de CNINDO/2RF. O.H.Villar, E.A.Castro y F.M.Fernández. Chem. Scripta 22, 49 (1982).