

00524
45

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



"BUSQUEDA DE LA RELACION CUANTITATIVA
ENTRE LA ACTIVIDAD CITOTOXICA DE BIS
(ACRIDIN-4-CARBOXAMIDAS) SUSTITUIDAS Y
SUS ORBITALES MOLECULARES HOMO Y LUMO"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A
NORMA ESPERON HERNANDEZ



MEXICO, D. F.



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

2003

A



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PAGINACIÓN DISCONTINUA

Jurado Asignado:

Presidente enviado a la Dirección General de Bibliotecas de UNAM a difundir en formato electrónico el contenido de mi trabajo **Prof. Carlos Rius Alonso**
NOMBRE: Flores Hernández Norma


Vocal FECHA: 06 - 05 - 2003 **Prof. Blas Flores Perez**
FIRMA: [Signature]

Secretario **Prof. Roberto Martínez**

1er. Suplente **Prof. Lino Joel Reyes Trejo**

2o. Suplente **Prof. Erick Cuevas Yañez**

El presente trabajo se desarrolló en le laboratorio 2-11
del Instituto de Química , UNAM.



Norma Esperón Hernández
Sustentante



Dr. Roberto Martínez
Asesor



Dr. José Gustavo Ávila Zárraga
Supervisor Técnico

B

**Este trabajo fue realizado en el Laboratorio 2-11 del Instituto
de Química bajo la dirección del Dr. Roberto Martínez y del
Dr. Jose Gustavo Ávila Zárraga**

**Con el apoyo económico de
DGAPA UNAM IN-211601**

C

A g r a d e z c o a :

Mi mamá

Gloria Hernández Quiroz

Mi papá

Celerino Esperón Arias

Mis hermanos

Airis Idalia, José Alejandro, Juan Manuel

A mis abuelos, tíos y familiares

A mis tutores

Dr. Roberto Martínez y Dr. José Gustavo Ávila Zárraga

A los sinodales

Prof. Blas Flores Pérez y Prof. Carlos Rius Alonso

A mis compañeros del Laboratorio:

*María Esther Durán, Martha Menes, Angeles Martínez,
Griselda Alvarado, Lucía Flores, Irma Díaz, Víctor Pérez,
Miguel Ángel Olivares, Luis Chacón, Fabián López, Hugo
Hernández, Marco Peña, Amílcar Hernández, Marco
González, Araceli Pérez, Carlos Cañas, Araceli Salazar*

A mis profesores y compañeros en la licenciatura

A

Norma García, Tania Ramírez, Joel Vargas, Viridiana Galván, Sandra García, Ericka Ramírez, Margarita Vértiz, Gerardo García, Guillermo Huitrón, Lizbeth Guzmán, Marco Peña, José Cuaxospa, Yaneth Palacios, Reyna García, Donajiv Velasco, Rosario Alvarado, José Luis Ortiz, Citlalli Gama, Juan José Lorenzo, Pavel Oropeza, Esteban Olvera, Javier Contreras, Ana Lilia, Víctor Mixe, Rogelio, Carlos Enrique, Ricardo Hernández, Josué Sansón, Pablo Mayen, Pablo Mestas, Carmen Chagoya, Alejandro Marín, Gustavo Lozano, Mauricio Arteaga, Cristián Guzmán, Fernando Ramírez, Erick Acatlán, Anel Verónica, Jaime Negro, Rafita, Manuel Pérez-Setten, Gema, Margarita, Yuvicela, Ángel Crew, Carlos Cosío, César, Ariel, Jorge, Valter, Mayra, Sandra Vidal, Elvin, Sergio Liconá, Saskia, Omarcito, Claudia Patricia, Abraham, Rita, Juan José, Miguel, Juan Carlos, Adriana, Joaquín, Omarprí, Sergio, Araceli, Martha y Jesús.

Y muy especialmente a: Prof. Ignacio Molina Carvajal, Sra. Adriana Esquivel, Mariela García, Antonio Jiménez.

Ya los que me faltaron

"Hay hombres que luchan un día y son buenos.
Hay otros que luchan un año y son mejores.
Hay quienes luchan muchos años y son muy buenos.
Pero hay quienes luchan toda la vida:
Estos son los imprescindibles"

Bertolt Brecht

¿Llegaré a ser imprescindible?

E

INDICE

1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	2
2.1. Cancer.....	2
2.2. Formas para obtener fármacos nuevos.....	3
2.2.1 Serendipia.....	3
2.2.2 Cermimiento.....	4
2.2.3 De fuentes naturales.....	5
2.2.4 Modificación molecular de fármacos conocidos.....	5
2.2.4.1 Procesos generales de modificación molecular.....	6
2.2.4.1.1 Simplificación molecular o disyunción.....	6
2.2.4.1.2 Asociación molecular o conjunción.....	7
2.2.4.1.2.1 Adición molecular.....	7
2.2.4.1.2.2 Replicación molecular.....	7
2.2.4.1.2.3 Hibridización molecular.....	8
2.2.4.2 Procesos especiales de modificación molecular.....	8
2.2.4.2.1 Formación de homólogos.....	8
2.2.4.2.2 Introducción de dobles enlaces.....	9
2.2.4.2.3 Introducción, eliminación o reemplazo de grupos voluminosos.....	9
2.2.4.2.4 Sustitución isostérica.....	10
2.3. QSAR.....	11
2.4. Modelado molecular.....	15
2.5. Acridinas.....	18
3. Objetivo.....	22
4. Metodología.....	22
5. Resultados y discusión.....	24
6. Conclusiones.....	59
7. Referencias.....	60

f

1. INTRODUCCION

El cáncer en México se encuentra entre las principales causas de mortalidad general con un porcentaje del 5.5% y es la tercera causa de mortalidad en mujeres con un 8.3%.⁽¹⁾ Este problema de salud pública ha sido atacado de diversas maneras, una de ellas es la quimioterapia, donde la búsqueda de nuevos fármacos con mejor actividad anticancerígena es indispensable. Es aquí donde el diseño de fármacos tiene un papel muy importante. Una de las herramientas más ampliamente utilizada es el uso del Análisis de la Relación Cuantitativa Estructura - Actividad Biológica (ACUARESA), QSAR por sus siglas en inglés (Quantitative Structure-Activity Relationships). En el análisis QSAR se busca correlacionar las características fisicoquímicas de una molécula y su actividad biológica de manera cuantitativa. Los compuestos de tipo acridina, han sido objeto de amplios estudios teóricos ⁽²⁾ y experimentales en búsqueda de fármacos citotóxicos. Recientemente realizamos un estudio ACUARESA de bis(acridin - 4 - carboxamidas) ⁽³⁾ sustituidas utilizando el programa Sci QSAR de ALCHEMY cuyos resultados mostraron una relación cuantitativa entre la actividad citotóxica y los parámetros fisicoquímicos que involucran la densidad electrónica.

El presente trabajo expone los resultados obtenidos cuando se trató de correlacionar los valores de los orbitales moleculares HOMO y LUMO de las bis (acridin - 4 - carboxamidas) sustituidas y la actividad citotóxica que presentan.

2.. ANTECEDENTES

2.1.CANCER

El cáncer es una enfermedad que se caracteriza por un cambio en los mecanismos de control que regulan la proliferación y diferenciación de células. El cáncer no es una enfermedad única, sino un grupo de al menos 100 enfermedades distintas, aunque relacionadas, con causas diferentes. Su incidencia, distribución geográfica y comportamiento de los tipos específicos de cáncer se relacionan con múltiples factores que incluyen el sexo, edad, raza, predisposición genética y exposición a compuestos químicos⁽⁴⁾.

La carcinogénesis o aparición de un cáncer es el resultado de dos procesos sucesivos: el aumento descontrolado de la proliferación de un grupo de células, lo que da lugar a un tumor o neoplasia, y la posterior adquisición por estas células de capacidad invasiva, que les permite diseminarse desde su sitio natural en el organismo para colonizar y proliferar en otros tejidos u órganos, proceso conocido como metástasis. Si sólo tiene lugar un aumento del crecimiento de un grupo de células en el lugar donde normalmente se ubican, se habla de un tumor benigno, que generalmente es eliminable completamente por cirugía. Cuando las células de un tumor son capaces de invadir los tejidos circundantes o distantes, y formar metástasis se habla de un tumor maligno o cáncer. Las metástasis son las responsables de la gran mayoría de fallos en los tratamientos y, por tanto, de las muertes por cáncer^(5,6).

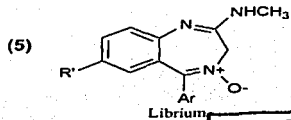
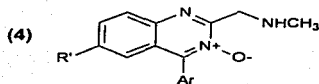
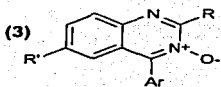
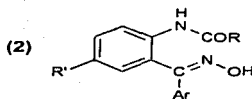
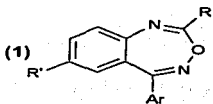
En la actualidad los principales tipos de tratamiento contra el cancer son: cirugía, radioterapia, inmunoterapia y quimioterapia^(7,8). La cirugía es la forma más antigua de tratamiento del cáncer y tiene una participación importante en el diagnóstico de la mayor parte de los procesos malignos. El desarrollo de modalidades terapéuticas más modernas ha llevado a reducir la indicación de procedimientos quirúrgicos radicales, pero aún sigue siendo el único tratamiento potencialmente curativo para muchos de ellos. La radioterapia en la actualidad participa en casi todos los tipos de tratamiento de cáncer, con la radiación se generan moléculas radicales libres muy reactivas que alteran

de manera irreparable la estructura del DNA celular. La radioterapia se realiza con los máximos beneficios terapéuticos, minimizando la toxicidad y el daño a tejidos sanos. La inmunoterapia consiste en utilizar el sistema inmune para combatir el cáncer y se basa en el supuesto de que las células tumorales poseen antígenos de superficie inmunológicamente reactivos, los cuales no existen en las células normales. La quimioterapia consiste en la utilización de medicamentos como tratamiento para el cáncer. Los fármacos anticancerosos están agrupados en varias categorías: agentes alquilantes, antimetabolitos, alcaloides naturales, antibióticos, enzimas, hormonas y modificadores de la respuesta biológica. A menudo se utilizan dos o más en combinación, esto tiene por objeto actuar sobre diferentes partes del proceso metabólico de las células, incrementando así la probabilidad de destruirlas. Además, los efectos secundarios tóxicos de la quimioterapia se pueden reducir cuando se combinan medicamentos con diferentes toxicidades, cada uno con una dosis más baja de la que se hubiera necesitado si se usara solo.^(9, 10)

2.2.FORMAS PARA OBTENER FÁRMACOS NUEVOS^(11,12,13)

2.1 Serendipia

Algunos fármacos fueron descubiertos por accidente en el laboratorio. Uno de los ejemplos más interesantes es el trabajo de Sternbach, que llevó al descubrimiento de las benzodiazepinas. Sternbach pretendía en un inicio la síntesis de un sistema 3,1,4-benzoxadiazepínico (1) para su estudio en animales. La síntesis consistía en la deshidratación de las oximas de 2-acilaminobenzofenonas (2) pero los productos fueron derivados del N-óxido de quinolinas.(3) Posteriormente al tratar estos compuestos con aminas para obtener derivados quinazolinas metilaminometilados (4) se obtuvo al clorodiazepóxido (5) (Librium) el cual abrió el camino para el posterior desarrollo de los ansiolíticos y relajantes musculares de la serie de benzodiazepinas.

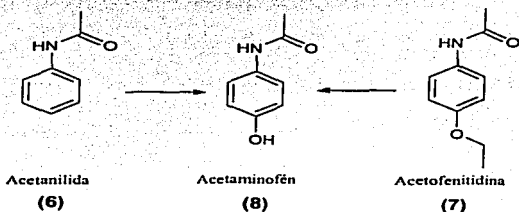


Librium

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

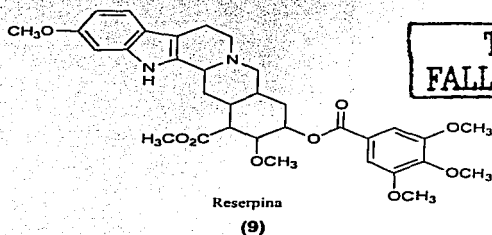
2.2.2 Cernimiento

En este método todas las sustancias químicas disponibles son sometidas a una serie de evaluaciones biológicas esperando que alguna tenga actividad útil. Una variante es el cernimiento dirigido racionalmente. Como ejemplo tenemos el aislamiento e identificación de productos del metabolismo de fármacos, ya que varios fármacos son inactivos por sí mismos y ejercen su acción biológica a través de sus metabolitos. Tal es el caso de la acetanilida (6) y acetofenitidina (7) cuyo metabolito, el acetaminofén (8), es el que efectúa la acción analgésica.



2.2.3 De fuentes naturales

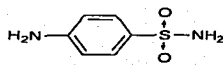
Durante siglos la raza humana ha usado los extractos de plantas o de animales para el tratamiento de enfermedades, y basados en este conocimiento ancestral se ha llegado al descubrimiento y desarrollo de diversos agentes terapéuticos. Por ejemplo los extractos de *Rauwolfia serpentina* demostraron tener propiedades antihipertensoras y sedantes, que llevaron más tarde al aislamiento de su alcaloide, la reserpina (9), el cual fue modelo para la preparación de un gran número de análogos antihipertensores.



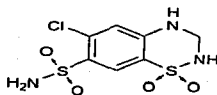
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.2.4 Modificación molecular de fármacos conocidos

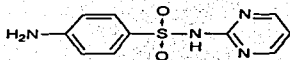
El método consiste en elegir a una sustancia química con actividad biológica destacada como un "líder" o "cabeza de serie". Una vez hecho esto, se comienza a sintetizar y evaluar la actividad de isómeros estructurales, homólogos o análogos, con el fin de optimizar la actividad farmacológica mostrada, disminuir su toxicidad y mejorar las propiedades farmacocinéticas y de formulación. El ejemplo clásico es el de las sulfonamidas, las cuales además de poseer actividad antibacteriana como la sulfanilamida (10), generaron varios agentes medicinales nuevos con diferentes actividades biológicas como antimaláricos (sulfadiazina) (11), antileproticos (sulfonas) (12), diuréticos (hidroclorotiazida) (13), antidiabéticos (acetohexamida) (14), y uricosúricos (probenecid) (15).



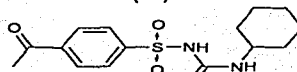
Sulfanilamida
(10)



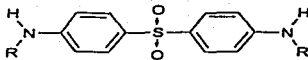
Hidroclorotiazida
(13)



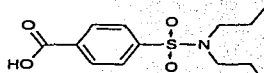
Sulfadiazina
(11)



Acetohexamida
(14)



Sulfonas
(12)

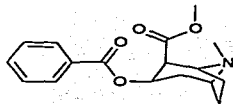


Probencid
(15)

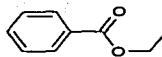
2.2.4.1 Procesos generales de modificación molecular

2.2.4.1.1 Simplificación molecular o disyunción

Es la síntesis sistemática y evaluación de análogos más simples del compuesto líder. Estos análogos son réplicas parciales o virtuales del prototipo que por lo regular es un producto natural de estructura compleja. Como ejemplo tenemos la simplificación de la molécula de cocaína que dio lugar al anestésico local benzocaína.



Cocaína
(16)



Benzocaína
(17)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

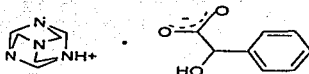
2.2.4.1.2 Asociación molecular o conjunción

Es la síntesis y evaluación de análogos más complejos de la molécula líder. Estos análogos incorporan parte o todas las características del compuesto líder.

Los tipos principales de asociación son:

2.2.4.1.2.1 Adición molecular

Se asocian diferentes moléculas a través de fuerzas débiles tales como, atracción electrostática y puentes de hidrógeno. Tal es el caso del antiséptico Mandelato de metenamina (18) el cual es un polímero del formaldehído.

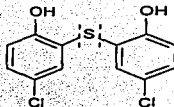


Mandelato de Metenamina
(Metenamina + ácido mandélico)
(18)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.2.4.1.2.2 Replicación molecular

Asociación de moléculas idénticas a través de la formación de un enlace covalente, cuando son dos moléculas unidas se le llama duplicación, en el caso de tres es triplicación, etc... Como ejemplo tenemos la duplicación del antiséptico paraclorofenol.(19)

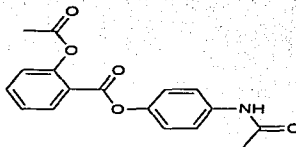


Fenticlor (duplicación del paraclorofenol)
(19)

2.2.4.1.2.3 Hibridización molecular

Se lleva a cabo la asociación de diferentes moléculas a través de la formación de enlaces covalentes.

Como en el caso de los analgésicos aspirina y acetaminofen (8) que dieron lugar al Benorilato.(20)



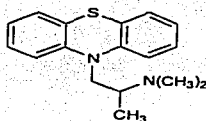
Benorilato (aspirina + acetaminofen)
(20)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

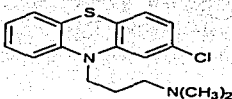
2.2.4.2 Procesos especiales de modificación molecular

2.2.4.2.1 Formación de homólogos

Un homólogo de un determinado compuesto es el análogo a éste y resulta de la adición de un carbono a una cadena o anillo. Esto puede provocar cambios en la actividad biológica presentada. Como ejemplo presentamos el caso del antihistamínico prometazina (23) y su análogo el neuroléptico clorpromazina (24).



Prometazina
(23)



Clorpromazina
(24)

2.2.4.2.2 Introducción de dobles enlaces

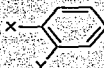
Un criterio utilizado para el diseño de análogos de una molécula activa es el principio de vinilología según el cual dos sustituyentes X y Y (25) unidos por una cadena vinílica o polivinílica (26), (incluyendo un anillo bencénico)(27), se comportan como si estuvieran unidos directamente, desde el punto de vista de distribución electrónica. Y si una acción farmacológica está ligada a un efecto electrónico esta puede mantenerse en los vinílogos del compuesto de referencia.



(25)



(26)

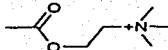


(27)

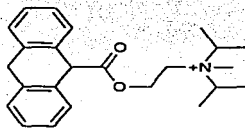


2.2.4.2.3 Introducción, eliminación o reemplazo de grupos voluminosos

Este proceso es usado especialmente para convertir agonistas en antagonistas y viceversa. Puede verse como ejemplo; que la diferencia entre el neurotransmisor químico acetilcolina (28) y su antagonista la propantelina (29), es la presencia de un grupo voluminoso no polar en el antagonista. Esto puede atribuirse a que estos grupos voluminosos que normalmente son muy lipofílicos proporcionan a la molécula la posibilidad de unirse a zonas lipofílicas vecinas al receptor, con lo que el complejo fármaco-receptor es más estable y queda inactivado.



Acetilcolina
(28)



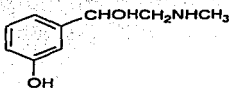
Propantelina
(29)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

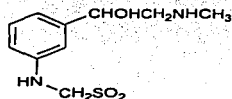
2.2.4.2.4 Sustitución isotérica

El término isosterismo, en la definición original de Langmuir, se utilizaba para describir la semejanza en las propiedades físicas y químicas que presentan una serie de iones y moléculas que contienen el mismo número de átomos y electrones de valencia, como el caso del nitrógeno y el monóxido de carbono que son dos moléculas diatómicas con diez electrones totales de valencia. Erlenmeyer hizo una extensión introduciendo la idea de "isoelectronicidad periférica" según la cual deben considerarse isómeros a aquellos átomos o grupos de átomos que son idénticos en su capa electrónica externa. Todo lo anterior pertenece al isosterismo clásico. En el isosterismo no clásico se aplican más criterios a la distribución electrónica como geometría (hibridación, ángulos de enlace), solubilidad, acidez, capacidad de enlace por puente de hidrógeno y reactividad química (incluyendo reacciones metabólicas). Además existe el concepto de bioisosterismo, que fue definido por Friedman como el fenómeno por el que dos compuestos de estructuras relacionadas presentan propiedades biológicas semejantes.

El grupo hidroxilo fenólico de ciertas catecolaminas puede sustituirse por un grupo alquilsulfonamido sin presentar un cambio apreciable en su actividad. En el caso de la Fenilefrina (30) y su isómero la Alquilsulfonamidofenctanolamina (31) ambos provocan respuesta en el receptor adrenérgico y la misma actividad.



Fenilefrina
(30)



Alquilsulfonamidofenctanolamina
(31)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.3 ACUARESA o QSAR^(11,12,13,14,15,16,17)

El concepto de QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationships) o ACUARESA (Análisis cuantitativo de la Relación E-A) viene desde desde el siglo XIX, cuando Crum-Brown y Fraser publicaron la ecuación (I) donde la actividad fisiológica Φ fue expresada como función de la estructura química C y que considera la primera formulación de una relación estructura actividad cuantitativa,

$$\Phi = f(C) \quad (I)$$

Décadas después Richet, Meyer y Overton de manera independiente encontraron relaciones entre el carácter lipofílico y las actividades tóxica y narcótica.

Ferguson observó una desviación de la actividad biológica más allá de un cierto intervalo de lipofilidad y dio una interpretación termodinámica para tales relaciones. Bruice, Kharasch y Winzler formularon un grupo de contribuciones a los valores de actividad en una serie de análogos a la hormona tiroidea, que pueden ser considerados como un primer análisis de tipo Free-Wilson.

Por su parte Zahradnik describió la reactividad de compuestos orgánicos aromáticos a datos biológicos de una manera cuantitativa similar a Hammett.

En los sesentas dos diferentes aproximaciones fueron desarrolladas: el análisis Hansch y el análisis Free-Wilson.

Hansch y Fujita relacionaron el logaritmo inverso de la actividad biológica con diferentes parámetros fisicoquímicos de una manera aditiva y lineal. (cc. II)

$$\text{Log } 1/C = a \log P + b\sigma + \dots + \text{constante} \quad (II)$$

El modelo de Free Wilson en su versión actual puede ser expresado en la ecuación III.

$$\text{Log } 1/C = \sum a_{ij} + \mu \quad (III)$$

Donde a_{ij} es la contribución de un sustituyente x_i en la posición j y μ es el valor de la actividad biológica de un compuesto de referencia.

También los métodos de modelo de reconocimiento han sido aplicados en los estudios QSAR lo mismo que las nuevas técnicas estadísticas como el método de mínimos cuadrados con el cual ahora se tienen más opciones para correlacionar un amplio número de variables con la actividad biológica.

En un QSAR se hace una caracterización completa de los compuestos, obteniéndose los valores de sus propiedades electrónicas, estéricas e hidrofóbicas (descriptores) dependientes de su estructura tridimensional y aplicando una regresión lineal simple o múltiple a los descriptores moleculares, de los que la actividad biológica es función, para generar una función matemática que nos ayude a predecir la actividad hipotética de una nueva serie de moléculas con estructura relacionada.

Es decir QSAR sirve para identificar y cuantificar las propiedades fisicoquímicas de un fármaco y ver si alguna de estas propiedades tiene un efecto sobre la actividad biológica del fármaco. Si existe una relación verdadera ésta se puede modelar mediante una ecuación para cuantificar la relación, lo cual faculta al investigador a decir, con cierta pertinencia, que propiedad o propiedades fisicoquímicas cumplen un cierto rol en la actividad del fármaco. Lo que también incluye tener un cierto nivel de predicción, ya que si se tienen las propiedades fisicoquímicas de un compuesto análogo nuevo, puede inferirse su posible actividad biológica. Esto tiene las ventajas de reducir el número de análogos a ser sintetizados, y además, si un análogo con actividad no es contemplado en la ecuación implica que alguna otra característica es importante y también debe ser estudiada.

Las características fisicoquímicas a ser consideradas como posibles descriptores son principalmente de tres tipos: electrónicas, estéricas e hidrofóbicas.

El carácter hidrofóbico de un fármaco es crucial para que el fármaco atraviese las membranas y puede también ser importante para las interacciones con el receptor. Uno de los más importantes descriptores del carácter lipofílico fue descrito por Hansch y Fujita al descubrir que la contribución de un sustituyente determinado al logaritmo del coeficiente de partición aceite agua ($\log P$), es un valor constante (π) para un sustituyente (ν). (cc. IV)

$$\pi_x = \log P_x - \log P_H$$

(IV)

Los efectos electrónicos de los sustituyentes influyen sobre la ionización o la polaridad y por lo tanto de como un fármaco puede atravesar las membranas o que tan fuertemente puede enlazarse con su receptor.

El carácter electrónico fue primeramente descrito por Hammett en base a la constante de disociación para derivados benzoicos sustituidos, donde se observaba una relación lineal entre los logaritmos de las constantes de velocidad o de equilibrio en dos reacciones análogas. (Ec. V)

$$\log K_X/K_H = \rho \sigma \quad (V)$$

Donde K_X y K_H son las constantes de disociación del derivado aromático sustituido y sin sustituir respectivamente, ρ es la pendiente de la ecuación que describe la correlación entre derivados benzoicos análogamente sustituidos y σ es la constante de Hammett para un sustituyente.

En el caso de los efectos estéricos estos tienen influencia en el momento que el fármaco tiene que interactuar con el receptor y formar el enlace.

Los efectos estéricos fueron descritos por Taft en base a un ajuste a la ecuación de Hammett quedando

$$\log k/k_0 = \delta E_s \quad (VI)$$

Donde k y k_0 se refieren a las constantes de reacción de hidrólisis para el compuesto sustituido y sin sustituir. E_s es fundamentalmente un descriptor químico de efecto estérico primario, es decir, de la interacción directa entre el grupo voluminoso y la función estudiada, δ describe la sensibilidad de la reacción a los efectos estéricos de los sustituyentes.

En la aplicación de QSAR otro de los descriptores estéricos más usados es la refractividad molar (RM) que además de describir el tamaño del sustituyente, es una medida de la tendencia de una molécula a participar en interacciones de dispersión (que consiste en el cambio de cualquier distribución desigual de electrones que una molécula induce a otra molécula cercana). RM es en esencia un volumen molar que contiene una contribución electrónica.

$$RM = n^2 - 1 / n^2 + 2 * M/d \text{ (cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \text{)} \quad (VII)$$

Donde n es el índice de refracción de un líquido medido normalmente a 20°C, M es el peso molecular y d es la densidad a 20° C.

A causa de los avances con respecto a la potencia de las computadoras se pueden obtener más datos que la química cuántica proporciona y en consecuencia se han aumentado los descriptores de tipo electrónico utilizados en QSAR, como son los descriptores cuánticos tales como los orbitales moleculares HOMO y LUMO que son una medida de la reactividad química.

El HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital u Orbital Molecular ocupado más alto) es el último orbital que se encuentra doblemente ocupado e indica donde se encuentra el par de electrones que se transfieren más fácilmente en una molécula.

El LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital u Orbital Molecular desocupado más bajo) es el primer orbital que se encuentra vacío e indica el lugar donde más fácilmente la molécula podría aceptar un par de electrones.

El uso de los orbitales moleculares frontera en la búsqueda de nuevos fármacos con mejor actividad es de uso más frecuente, como ejemplo tenemos el caso del androstano donde se evalúa el impacto en sus características electrónicas (HOMO y LUMO) y como consecuencia también en su actividad biológica a causa de la adición de grupos funcionales. Otro ejemplo está dado por el caso de las fenilalquilaminas donde se encontró correlación de sus orbitales moleculares con su actividad alucinógena. En el caso de los compuestos anticancerígenos, y en específico de compuestos tipo acridina, la importancia de los orbitales moleculares frontera en la presencia de actividad anticancerígena ya ha sido descrita.

2.4 MODELADO MOLECULAR^(18,19,20,21,22,23)

El modelado molecular es una técnica relativamente nueva de estudio de la relación entre la estructura molecular y las propiedades químicas macroscópicas de la materia. La base del modelado molecular es el uso de métodos computacionales para simular, explicar o predecir la estructura tridimensional y las propiedades fisicoquímicas de las moléculas, con la ayuda esencial de métodos gráficos. Estas técnicas se inscriben dentro de la que recibe el nombre de Química Computacional la cual estudia el uso de métodos numéricos aplicados a la química.

La Química Computacional está compuesta de dos grandes áreas basadas en principios físicos distintos. Por una parte, tenemos la mecánica molecular que se basa en la mecánica clásica, considerando a los átomos como partículas puntuales (dotadas de masa y carga) interaccionando unos con otros mediante enlaces que se asimilan a resortes. Por otra parte, tenemos la Química Cuántica que emplea a la mecánica cuántica, en lugar de la mecánica clásica, para estudiar el comportamiento de núcleos y electrones considerándolos como partículas puntuales con carga y masa fijas e invariables, interaccionando según la ley de Coulomb. Los métodos de la Química Cuántica se basan en el planteo y solución aproximada de la ecuación de Schrödinger la cual solamente puede ser resuelta para el átomo de hidrógeno.

Los métodos que usa la Química Cuántica se dividen en tres grupos principales: ab initio, funcionales de la densidad y semicempíricos en función de que no usen más que las constantes atómicas fundamentales o empleen datos experimentales para parametrizar parte de los cálculos.

En general los métodos ab initio permiten reproducir medidas de laboratorio para propiedades tales como el calor de formación, potencial de ionización, espectro UV/Visible y geometría molecular.

Como los métodos cuánticos utilizan los principios físicos de partículas para examinar estructuras como función de la distribución electrónica, su uso puede extenderse al análisis de moléculas todavía no sintetizadas y especies químicas que es difícil o imposible aislar. Geometrías y propiedades para estados de transición y estados excitados pueden solamente ser calculados por métodos cuánticos.

Los métodos ab initio calculan un número de soluciones a un amplio número de ecuaciones. Estos métodos están limitados por el número de átomos que debe tener la molécula a analizar, siendo estas relativamente pequeñas (10 a 20 átomos), debido a la cantidad de tiempo computacional requerido para cada cálculo y a la cantidad de memoria utilizada para guardar los archivos de los datos que se generan.

La Química física teórica ha desarrollado aproximaciones alternativas para calcular estructuras y propiedades simplificando porciones del cálculo omitiendo estas limitaciones.

Los métodos semiempíricos son similares a los métodos ab initio, pero aquí más que llevar a cabo un análisis completo de todos los electrones dentro de la molécula, algunas interacciones electrónicas son ignoradas. En estos métodos las porciones más complejas de los cálculos ab initio son ignoradas. Otras aproximaciones semiempíricas reemplazan la porción compleja del cálculo con parámetros que son derivados de datos experimentales. Los métodos semiempíricos requieren pocos recursos computacionales en cuanto a tiempo y memoria disponible en comparación con los ab initio y se pueden realizar cálculos para moléculas más grandes (mas o menos de 100 átomos) siendo así una atractiva fuente de nuevos descriptores moleculares. La principal desventaja de estos métodos es que su aplicación se limita a sistemas para los cuales los parámetros apropiados ya han sido desarrollados.

Cabe recalcar que el avance de la tecnología con lo que respecta a algoritmos más eficientes, potencia de ordenadores para soportar los programas, manejo y almacenamiento de bases de datos, además de las nuevas herramientas computacionales, permitirá mayores avances en esta área. Así los métodos semiempíricos pueden ofrecer una gran exactitud a un nivel similar a los métodos ab initio.

Una descripción breve de la utilidad de algunos métodos semiempíricos es dada a continuación:

Teoría de Huckel extendida. No es recomendada debido a que no es tan exacta como otras metodologías semiempíricas más sofisticadas.

CNDO/2(Complete Neglect of Differential Overlap). Es el más simple y menos exacto de los métodos "post Huckel" Zero Differential Overlap. Esta metodología no puede ser usada si el espín del electrón es críticamente importante además de que no describe bien los enlaces de hidrógeno.

INDO (Intermediate Neglect of Differential Overlap). Originalmente usado para sistemas orgánicos, ahora ha sido rebasado por métodos más exactos, a veces es usado como una conjetura inicial para métodos ab initio. Difiere del CNDO/2 en los casos donde las interacciones del espín del electrón (llamado electron exchange) son particularmente importantes. Tampoco describe bien el enlace de hidrógeno.

ZINDO/1. Esta basado en el método INDO, y es usado para calcular geometrías y energías de los elementos de el primer y segundo periodos de los metales de transición, pero da malos resultados para moléculas orgánicas.

ZINDO/S. Este modelo esta parametrizado para reproducir transiciones espectroscopicas electrónicas y no puede ser usado para optimización geométrica .

MINDO/3 (Modified Intermediate Neglect of Differential Overlap). Es una modificación de INDO, este método es muy bueno para estudios en una amplia variedad de hidrocarburos, pero presenta problemas con moléculas que contengan heteroátomos.

MNDO (Modified Neglect of Diatomic Overlap). Este método es ampliamente usado para calcular calores de formación, geometrías moleculares, momentos dipolo, energías de ionización y afinidades electrónicas. Se presentan errores con moléculas congestionadas estéricamente, anillos de cuatro miembros, enlaces de hidrógeno y compuestos hipervalentes, da barreras de activación muy altas. Los sustituyentes con oxígeno sobre anillos aromáticos resultan fuera del plano. Los enlaces en el peróxido son más cortos, los angulos de enlace en el éter dan mas grandes .

AMI Austin Model 1 .- Es una modificación de MNDO y generalmente es el más exacto de los métodos semiempíricos para la mayoría de los problemas, este método trata con los enlaces de hidrógeno correctamente, da predicciones exactas de las barreras de activación para muchas reacciones

y predice calores de formación mejor que MNDO. Una de las más severas limitaciones es con los enlaces de fósforo. Los grupos alquilo tienen un error sistemático debido al calor de formación del fragmento CH_2 , siendo muy negativo por 2 kcal/mol. Los nitrocompuestos aunque son más exactos que en MNDO son aun sistemáticamente muy positivos en energía. Además el enlace de peróxido es más corto por 0.17 Å. Por otro lado el enlace de hidrogeno lo trata mejor que MNDO pero aún tienen muchas fallas.

PM3 - Es una reparametrización de AM1. Este método es usado para moléculas orgánicas pero también para muchos grupos principales de elementos. Los compuestos hipervalentes son predichos con buena exactitud. Y el enlace de hidrógeno es dado correctamente para la molécula de agua y para moléculas más grandes, es un poco mejor que AM1. En promedio PM3 predice energías, longitudes de enlace y geometrías mejor que MNDO y AM1.

2.5. ACRIDINAS

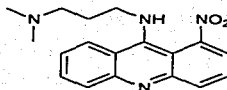
La intercalación es un tipo de interacción no covalente entre la doble hélice del ADN y los cromóforos de ciertos colorantes y fármacos. La intercalación es la introducción de una molécula plana entre dos pares de bases adyacentes en la doble hélice del ADN⁽²⁴⁾. El efecto es un alargamiento y un desenrollamiento parcial de la hélice, inhibiendo con esto la replicación y la transcripción. Los mejores agentes intercalantes tienen un cromóforo aromático plano aproximadamente del mismo tamaño que un par de bases de la doble hélice del ADN y sustituidos con un grupo polar⁽²⁵⁾.

Los compuestos de tipo acridino tienen una larga historia como agentes quimioterapéuticos y aún son estudiados debido a que el núcleo de acridina es un agente intercalante clásico que se enlaza al ADN rápida y reversiblemente de una manera predecible⁽²⁶⁾. Un factor importante es la estabilidad y accesibilidad del núcleo de acridina, lo que permite sintetizar varios análogos para su estudio. Otros agentes intercalantes son los que tienen el grupo aminoacridino, los mejores agentes son los que se ionizan completamente a $\text{pH}=7$ para interactuar con el ADN. El anillo tricíclico plano se une con los

pares de bases del ADN e interactúa por fuerzas de Van der Waals, mientras los cationes amino forman enlaces iónicos con los grupos fosfatos que se encuentran negativamente cargados.

Aunque también se dice que las principales fuerzas son las de apilamiento y las interacciones de transferencia de carga entre los sistemas aromáticos del ligando y de las bases del ADN, más que las fuerzas polares (electrostáticas y enlaces de hidrógeno) que ejecutan un papel menor⁽²⁷⁾.

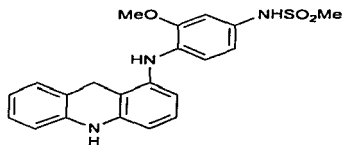
Las primeras clases de derivados de acridina desarrollados específicamente como fármacos antitumorales fueron las 9-[(alquilamino)alquil]-1-nitroacridinas producto de una larga búsqueda de derivados de acridina contra el modelo tumoral de sarcoma de ratón, en específico la 9-[(dimetilaminopropil)amino]-1-nitroacridina (c-283, Ledacrin, nitracrina) (32) fue la que mostró mayor actividad.



Nitracrina
(32)

Como ejemplo de compuestos de tipo acridino que son usados como anticancerígenos tenemos a la amsacrina (m-AMSA NSC 249992 : 4'-[9-acridinilamino]-metasulfo-m-anisodida) (33), la cual está en fase experimental para el tratamiento de la leucemia mieloblástica aguda⁽²⁸⁾, aunque es el primer derivado de acridina de uso amplio.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

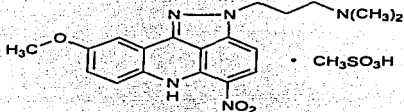


Anisacrina (NSC 249992)

(33)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

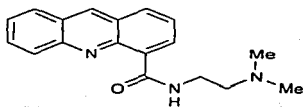
Otro ejemplo es la pirazoloacridina PZA (34) desarrollada en el Instituto Nacional de Cancer de los Estados Unidos que tiene actividad contra tumores sólidos ⁽²⁹⁾.



Pirazoloacridina

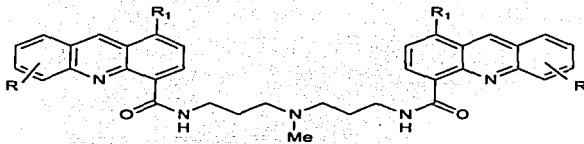
(34)

Los fármacos antitumorales del tipo 9-aminoacridin-4-carboxamida, en especial el inhibidor de las topoisomerasa I y II N-[2-(dimetilamino)etil] acridina-4-carboxamida (DACA) (35), han sido estudiados ampliamente como agentes intercalantes, además de que se ha demostrado que sus análogos diméricos tienen potencia superior. Tal es el caso de las bis (acridin-4-carboxamidas) (36) que han mostrado tener buena actividad contra la leucemia humana tipo Jurkat ⁽³⁰⁾.



N-[2-(dimetilamino)etil]acridina-4-carboxamida (DACA)

(35)



bis(acridin-4-carboxamidas)

(36)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3. OBJETIVO

Realizar un estudio QSAR a una serie de bis (acridin-4-carboxiamidas) para observar la posible correlación de los orbitales moleculares HOMO y LUMO con su actividad citotóxica, lo cual servirá para poder predecir la actividad de moléculas hipotéticas.

4. METODOLOGÍA

- Parte I

A. Construcción y optimización geométrica de las moléculas de interés en el programa ALCHEMY 2000⁽³¹⁾, llevando a cabo la optimización geométrica de las moléculas, primero por el método de mecánica molecular MM₃⁽³²⁾ y subsecuentemente con el método semiempírico PM3⁽³³⁾.

B. Obtención de las características electrónicas de interés, los orbitales moleculares HOMO Y LUMO mediante el mismo programa.

C. Cálculo de correlaciones estadísticas entre la actividad biológica y orbitales moleculares HOMO Y LUMO con las diferentes líneas celulares: Leucemia Murina P388 (P-388), Carcinoma de pulmón Murino de Lewis (LL), Leucemia Jurat humana tipo salvaje (JL) en la paquetería Excell 2000⁽³⁴⁾.

D. Eliminación de datos para tratar de mejorar la correlación.

- Parte II

A. Construcción y optimización geométrica de las moléculas de interés, con los métodos MM3 y PM3 en el programa SPARTAN⁽³⁴⁾ en la estación de trabajo Indigo Silicon Graphics.

B. Obtención del valor total de los orbitales moleculares HOMO, LUMO, HOMO-1 y LUMO+1 en este programa.

C. Cálculo de las contribuciones al HOMO, LUMO, HOMO-1 y LUMO+1 de cada uno de los átomos de las 15 moléculas en el programa SPARTAN.

D. Elección de los átomos que presentan una mayor contribución a los orbitales moleculares HOMO, LUMO, HOMO-1 y LUMO+1 de aquellos que presentan menor contribución.

E. Análisis de la ubicación de los átomos que presentan una mayor contribución a los orbitales moleculares de las moléculas por regiones y de manera puntual.

F. Evaluación de la posible relación existente entre la actividad y la ubicación de las contribuciones mayores a los orbitales moleculares HOMO , LUMO, HOMO-1 y LUMO+1.

G. Realización de una regresión lineal simple entre los átomos que presentan una mayor contribución a los orbitales moleculares y la actividad citotóxica de las moléculas.

Parte III

A. Evaluación de la posible relación existente entre la actividad y la contribución de los sustituyentes a los orbitales moleculares HOMO , LUMO, HOMO-1 y LUMO+1.

B. Realización de una regresión lineal simple entre el valor de la contribución a los orbitales moleculares de los átomos que están directamente unidos al sustituyente y la actividad citotóxica de las moléculas.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Parte I

Los estudios QSAR son muy útiles para tratar de describir los requerimientos moleculares que deben tener diversos compuestos para ser contemplados como posibles agentes terapéuticos. En el caso de anticancerígenos, y en específico de las acridinas, ya se ha descrito la importancia de los requerimientos de tipo estérico y electrónico⁽²⁾⁽³⁾. Es por lo anterior que se llevó a cabo un estudio QSAR buscando correlacionar nuevos descriptores de tipo electrónico con la actividad citotóxica. Estos descriptores son los orbitales moleculares frontera HOMO y LUMO.

Las acridinas utilizadas son los dimeros del compuesto DACA de las cuales su estructura, los valores de su actividad biológica (CI_{50}) y los valores de los orbitales moleculares obtenidos en ALCHEMY son mostrados en la tabla 1.

Para evaluar la relación existente entre los orbitales moleculares y la actividad citotóxica se hizo una regresión lineal simple entre el valor del logaritmo de la inversa de la actividad [$\text{Log}(1/CI_{50})$] y el valor de los orbitales moleculares frontera de las moléculas. Donde la forma de nuestra ecuación sería:

Actividad Biológica = m (valor del orbital molecular) + b

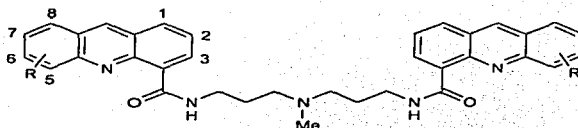
m = pendiente, b= ordenada al origen y la actividad biológica estaría dada por el logaritmo de la inversa de la actividad [$\text{Log}(1/CI_{50})$]

Se utilizó [$\text{Log}(1/CI_{50})$] a manera de que los valores más positivos de la actividad sean los que representen a las moléculas más activas. Además es importante señalar que los indicadores utilizados para observar el grado de correlación, son los coeficientes de correlación y de determinación, R y R². Al llevar a cabo las regresiones lineales entre los valores de los orbitales moleculares y la actividad citotóxica se obtuvieron las gráficas 1-6 con sus respectivos coeficientes de determinación.

Los valores de los coeficientes de determinación obtenidos son resumidos en la tabla 2, donde se observa una muy baja correlación entre los valores de los orbitales moleculares con cada una de las

líneas celulares. Debido a que en todas las gráficas obtenidas los coeficientes de correlación eran muy bajos se procedió a eliminar datos para tratar de mejorar la correlación, obteniéndose los resultados indicados en la Tabla 3. Es notorio que al eliminar la mitad de las moléculas se mejoran mucho los valores de los coeficientes de determinación. Por lo cual fue pertinente ver que moléculas eran las que al ser eliminadas mejoraban el coeficiente de determinación en la Tabla 4. Donde la influencia de la molécula 16 (sustituida con el grupo CF_3) en el valor del coeficiente de determinación es continua en todas las gráficas. Además se observa que en la eliminación de hasta 5 datos en todas las líneas celulares se eliminaron las moléculas: 16 (con halógeno), 8, 38 y 39 (con grupos alquílicos). Esto puede deberse a que la importancia del carácter electrónico para este tipo de moléculas en la correlación disminuye e influyen más otras características de la molécula.

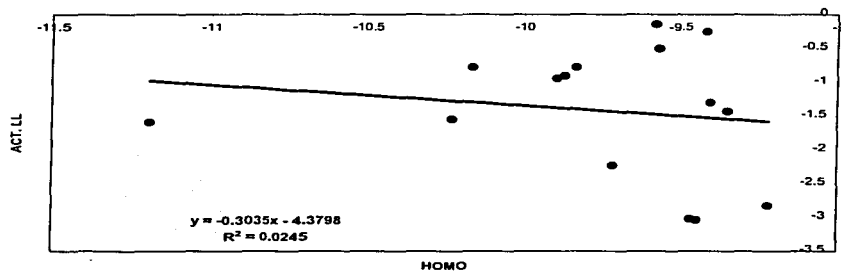
Tabla 1 Valores de citotoxicidad y de los orbitales moleculares para las Bis(acridin-4-carboxamidas)



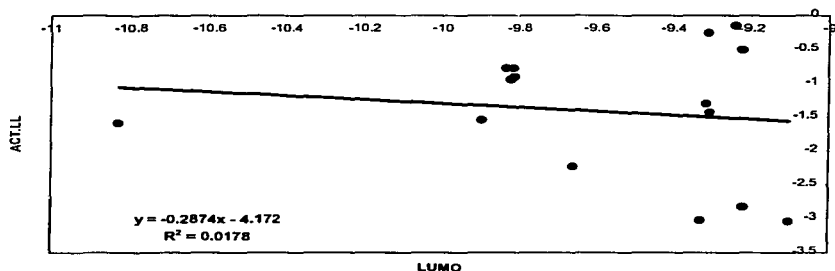
Sustituyente			IC ₅₀ (nM)			[Log (1/CI ₅₀)]			Valor total del HOMO (eV)	Valor total del LUMO (eV)
	R	No.	No	P388	LL	JL	P-388	LL		
S-Me	8	1	23	1.8	11	-1.3617	-0.2553	-1.0414	-9.411	-9.308
S-Et	9	2	170	27	113	-2.2305	-1.4314	-2.0531	-9.342	-9.303
S-Ipr	10	3	2760	1050	2080	-3.4409	-3.0212	-3.3181	-9.463	-9.328
S-C ₆ H ₅	11	4	1230	1085	2540	-3.0899	-3.0354	-3.4048	-9.442	-9.103
S-Ome	12	5	430	170	345	-2.6335	-2.2305	-2.5378	-9.715	-9.657
S-F	13	6	16	35	49	-1.2041	-1.5441	-1.6902	-10.232	-9.896
S-Cl	14	7	46	8	33	-1.6628	-0.9031	-1.5185	-9.866	-9.811
S-Br	15	8	15	6	24	-1.1761	-0.7782	-1.3802	-10.167	-9.833
S-CF ₃	16	9	240	39	115	-2.3802	-1.5911	-2.0607	-11.194	-10.832
S-NMe ₂	17	10	2130	670	180	-0.3328	-2.8261	-2.2553	-9.22	-9.216
S,7 diMe	37	11	210	20	105	-2.3222	-1.301	-2.0212	-9.386	-9.306
S,8 diMe	38	12	24	3.2	11	-1.3802	-0.5052	-1.0414	-9.566	-9.219
1,5 diMe	39	13	21	1.4	3.9	-1.3222	-0.1461	-0.5911	-9.578	-9.237
S-Me, 8-Cl	40	14	41	8.8	20	-1.6128	-0.9445	-1.301	-9.892	-9.82
1-Cl, 5-Me	41	15	48	6	12	-1.6812	-0.7782	-1.0792	-9.829	-9.814

TESIS CCN
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA 3
ACTIVIDAD CITOTOXICA EN LL VS. HOMO

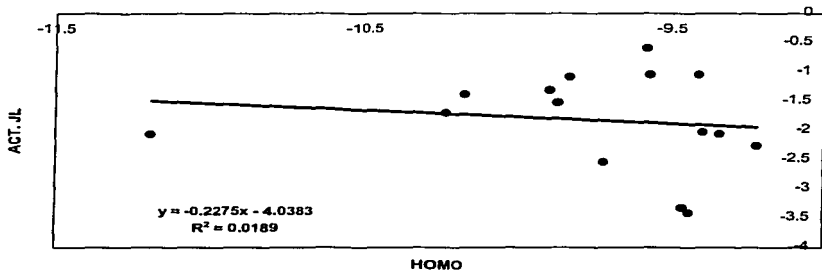


GRAFICA 4
ACTIVIDAD CITOTOXICA EN LL VS. LUMO

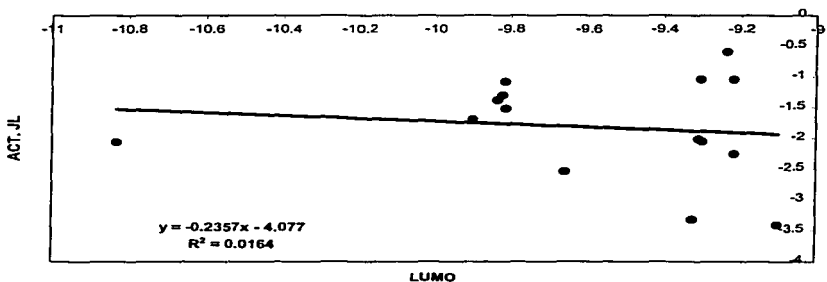


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA 5
ACTIVIDAD CITOTOXICA JL VS. HOMO



GRAFICA 6
ACTIVIDAD CITOTOXICA EN JL VS. LUMO



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Tabla 2. Valores de los coeficientes de determinación obtenidos para cada correlación.

Grafica	HOMO/P388	LUMO/P388	HOMO/LL	LUMO/LL	HOMO/JL	LUMO/JL
R ²	0.0001	2*E-5	0.0245	0.0178	0.0189	0.0164

Tabla 3. Valores de los coeficientes de determinación (R²) obtenidos.

No. de datos usados para la correlación	HOMO/P388	LUMO/P388	HOMO/LL	LUMO/LL	HOMO/JL	LUMO/JL
15	0.0001	2*E-5	0.0245	0.0178	0.0189	0.0164
14	0.0496	0.0461	0.1076	0.0739	0.1154	0.0922
13	0.0718	0.1814	0.1916	0.1611	0.1782	0.2107
12	0.4248	0.2826	0.2803	0.2944	0.268	0.3727
11	0.5235	0.457	0.3669	0.5501	0.3621	0.5973
10	0.6652	0.691	0.4679	0.6721	0.4083	0.6714
9	0.7726	0.774	0.5927	0.8287	0.4885	0.7156
8	0.8921	0.8944	0.7908	0.8889	0.6289	0.7799

Tabla 4. Claves de las moléculas que al ser eliminadas mejoran las correlaciones.

No. de datos en la ecuación	HOMO/P388	LUMO/P388	HOMO/LL	LUMO/LL	HOMO/JL	LUMO/JL
14	9	9	9	9	9	9
13	9 1	9 10	9 1	9 13	9 1	9 13
12	9 1 10	9 10 13	9 1 6	9 13 12	9 1 13	9 13 12
11	9 10 1 13	9 10 13 12	9 1 6 13	9 13 12 1	9 1 13 12	9 13 12 1
10	9 10 1 13 12	9 10 13 12 1	9 1 6 13 12	9 13 12 1 11	9 1 13 12 2	9 13 12 1 5
9	9 10 1 13 12 2	9 10 13 12 1 5	9 1 6 13 12 2	9 13 12 1 11 2	9 1 13 12 2	9 13 12 1 5 11
8	9 10 1 13 12 2 11	9 10 13 12 1 5 3	9 1 6 13 12 11	9 13 12 1 11 2 6	9 1 13 12 2 10 11	9 13 12 1 5 11 10

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

PARTE II

Se realizó el cálculo de los orbitales moleculares en otra paquetería de modelado (SPARTAN) donde se obtuvieron los valores de los orbitales moleculares HOMO, LUMO, HOMO-1 y LUMO+1.

(Tabla 5).

Con estos valores se realizaron regresiones lineales simples para observar la posible correlación entre la actividad citotóxica y los orbitales moleculares de los compuestos, los coeficientes de determinación obtenidos son mostrados en la Tabla 6.

Una vez que los resultados obtenidos para las correlaciones con los valores de los orbitales moleculares HOMO, LUMO, HOMO-1 y LUMO+1 en este programa muestran poca correlación con la actividad biológica, se procedió a un análisis más específico de las contribuciones a los orbitales moleculares HOMO, LUMO, HOMO-1 y LUMO+1 de cada uno de los átomos de las 15 moléculas. Ésto se llevó a cabo, primero, seleccionando aquellas contribuciones a los orbitales moleculares que presentaban un mayor valor numérico. Una vez seleccionados se procedió al cálculo de la contribución a los orbitales moleculares de cada átomo seleccionado para cada molécula con la fórmula siguiente:

$$V.C.E. = \sum_{i=1}^4 C_i^2$$

$$V.C.N. = \sum_{i=1}^4 C_i^2$$

Donde V.C.E. es el valor de la contribución al carácter electrófilo en el LUMO y V.C.N. es el valor de la contribución al carácter nucleófilo en el HOMO, C_i representa las contribuciones de cada orbital atómico a la molécula.

A partir de estos valores se eligieron a los átomos de las moléculas que presentan una mayor contribución a los orbitales moleculares HOMO, LUMO, HOMO-1 y LUMO+1 para observar la posible relación con su actividad citotóxica. Y se hizo un análisis de la ubicación de estos átomos en las moléculas por regiones y de manera puntual, átomo por átomo (Tabla 7 y 8).

En la tabla 7 se observa que la mayor contribución a los orbitales moleculares LUMO y LUMO+1 se encuentra en el anillo central del grupo acridino, al cual nosotros denotamos como B o B'. En el caso de los orbitales moleculares HOMO y HOMO-1 se observa de manera general la misma tendencia aunque existen algunas excepciones. Además en base a este análisis y comparando con las actividades biológicas de las moléculas (Tabla 8), se observa que las moléculas que presentan mayor contribución al LUMO en el anillo B' son las que muestran más actividad que aquellas que tienen mayor contribución en el anillo B. En el caso del LUMO+1 las moléculas que presentan una mayor actividad son las que tienen la mayor contribución a este orbital molecular en el anillo B. En el caso del HOMO y HOMO-1 no es tan clara esta tendencia. Utilizando estos resultados, se eligieron a los átomos que se utilizarían para observar la posible correlación con la actividad citotóxica en las diferentes líneas celulares. Para los orbitales moleculares HOMO y LUMO+1 se optó por correlacionarlo con sus contribuciones del C71 y N62. En el caso de los orbitales moleculares LUMO y HOMO-1 se correlacionaron con sus contribuciones del N5 y el C18.

Aquí nuestras ecuaciones tienen la forma:

$$\text{Actividad Biológica} = m (\text{contribución al orbital molecular}) + b$$

m = pendiente, b = ordenada al origen y la actividad biológica estaría dada por el logaritmo de la inversa de la actividad $[\text{Log}(1/CI_{50})]$.

Esto se hizo con regresiones lineales simples de las que se obtuvieron los coeficientes de correlación mostrados en la Tabla 9. Se puede observar que existe una mejor correlación de los orbitales moleculares LUMO y LUMO+1 con la actividad citotóxica que los orbitales moleculares HOMO y HOMO-1.

PARTE III

También se evaluó la posible relación existente entre la actividad y la contribución de los sustituyentes a los orbitales moleculares HOMO, LUMO, HOMO-1 y LUMO+1. Por lo que se realizó una regresión lineal simple entre el valor de la contribución a los orbitales moleculares de los átomos que están

directamente unidos al sustituyente y la actividad citotóxica de las moléculas. Estos átomos en ambas partes de la molécula ocupan la posición 16 y 73 de los cuales se obtuvieron los resultados mostrados en las Tablas 11 y 12. Se observa que los valores más altos del coeficiente de determinación se presentan en la línea celular P-388 con los valores de las contribución a los orbitales HOMO y LUMO. Pero aún así son valores muy bajos que solo indican una ligera tendencia.

Tabla 5 Valores totales de los orbitales moleculares obtenidos en el programa SPARTAN

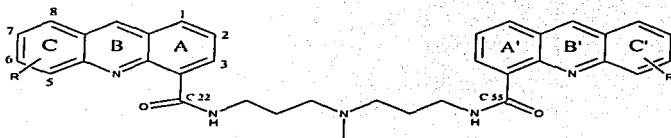
No.	Clave	Valores totales de los orbitales moleculares			
		HOMO	LUMO	HOMO-1	LUMO+1
8	1	-8.6723	-1.5101	-8.7574	-1.378
9	2	-8.672	-1.5057	-8.7637	-1.3679
10	3	-8.6658	-1.4192	-8.7182	-1.3497
11	4	-8.6567	-1.4533	-8.6791	-1.3956
12	5	-8.5805	-1.4606	-8.7398	-1.4424
13	6	-8.7604	-1.7021	-8.9125	-1.6207
14	7	-8.6326	-1.6998	-8.8681	-1.4501
15	8	-8.8241	-1.7268	-8.9981	-1.5032
16	9	-8.8931	-1.9321	-9.0547	-1.5544
17	10	-8.6352	-1.4692	-8.7039	-1.3917
37	11	-8.7215	-1.4977	-8.7461	-1.4732
38	12	-8.5705	-1.4991	-8.6888	-1.3454
39	13	-8.6242	-1.4874	-8.6885	-1.3675
40	14	-8.6997	-1.6426	-8.7757	-1.5239
41	15	-0.721	-1.6545	-8.7939	-1.526

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 6. Valores de los coeficientes de determinación.

	Valores de los coeficientes de determinación		
	[Log (1/Cl ₅₀)]	LL	JL
P-388			
HOMO	0.003498	0.032993	0.061887
LUMO	0.039661	0.094231	0.091977
HOMO-1	0.015774	0.037505	0.024213
LUMO+1	0.026443	0.013896	0.026262

Tabla 7. Ubicación de las contribuciones mayores a los orbitales moleculares.



Sustituyente	Clave general	Átomos con mayor contribución al HOMO	Anillo donde está (HOMO)	Átomos con mayor contribución al LUMO	Anillo donde está (LUMO)	Átomos con mayor contribución al HOMO-1	Anillo donde está (HOMO-1)	Átomos con mayor contribución al LUMO+1	Anillo donde está (LUMO+1)
5-Me	8	C71	B	C18	B'	N5	B'	C71	B
5-Et	9	C71	B	C18	B'	N5	B'	C71	B
5-Ipr	10	N5	B'	C71	B	N62	B	C18	B'
5-C6H5	11	N5	B'	C71	B	N62	B	C18	B'
5-Ome	12	C21	C'	C71	B	N62	B	C18	B'
5-F	13	N36	Cadena	C18	B'	C71	B	C71	B
5-Cl	14	C67	C	C18	B'	N5	B'	C71	B
5-Br	15	N62	B	C18	B'	N5	B'	C71	B
5-CF3	16	N5	B'	C71	B	O54	Cadena	C18	B'
			Sustituyente	C71				C18	
5-NMe2	17	N73			B	N5	B'		B'
5,7 diMe	37	C21	C'	C18	B'	C67	C	C71	B
5,8 diMe	38	C68	C	C18	B'	C9	C'	C71	B
1,5 diMe	39	N62	B	C18	B'	N5	B'	C71	B
5-Me, 8-Cl	40	C68	C'	C18		C9	C'	C71	
1-Cl, 5-Me	41	N62	B	C18	B'	N5	B'	C71	B

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 8. Ubicación de las contribuciones mayores a los orbitales moleculares.

Sustitución	Clave general	ANILLOS DONDE ESTA (HOMO)	ANILLOS DONDE ESTA (LUMO)	ANILLOS DONDE ESTA (HOMO-1)	ANILLOS DONDE ESTA (LUMO+1)	ACTIVIDAD EN LINEA EN CELULAR P388	ACTIVIDAD EN LINEA EN CELULAR LL	ACTIVIDAD EN LINEA EN CELULAR JL
5-Me	8	B	B'	B'	B	23	1.8	11
5-Et	9	B	B'	B'	B	170	27	113
5-Ipr	10	B	B	B	B	260	109	209
5-C6H5	11	B	B	B	B	310	109	239
5-Ome	12	C	B	B	B	310	170	33
		CADEN A						
5-F	13	A	B'	B	B	16	35	49
5-Cl	14	C	B'	B'	B	46	8	33
5-Br	15	B	B'	B'	B	15	6	24
5-CF3	16	B'	B	CADEN A	B'	3	39	3
		SUSTITUYENT E						
5-NMe2	17	E	B	B'	B			
5,7 diMe	37	C'	B'	C	B	210	20	105
5,8 diMe	38	C	B'	C'	B	24	3.2	11
1,5 diMe	39	B	B'	B'	B	21	1.4	3.9
5-Me, 8-Cl	40	C'	B'	C'	B	41	8.8	20
1-Cl, 5-Me	41	B	B'	B'	B	48	6	12

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

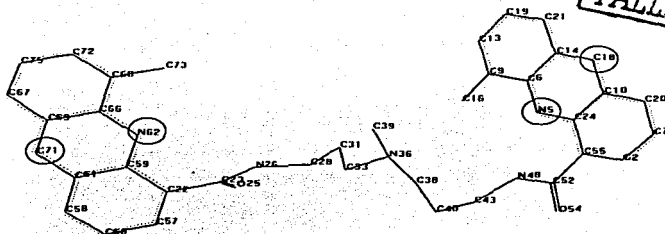


Tabla 9. Coeficientes de correlación obtenidos entre la actividad citotóxica y las contribuciones a los orbitales moleculares

Coeficientes de correlación obtenidos R				
		Actividad citotóxica [Log (1/CI50)]		
		P-388	LL	JL
HOMO	n62	0.596509	0.692201	0.742183
	c71	0.606733	0.676219	0.729204
LUMO	n5	0.443962	0.843209	0.789175
	c18	0.443267	0.848166	0.791749
HOMO-1	n5	0.632732	0.594416	0.691578
	c18	0.642055	0.584074	0.681993
LUMO+1	n62	0.442839	0.844205	0.788855
	c71	0.440604	0.843202	0.786791

Tabla 10. Coeficientes de determinación entre la actividad citotóxica y las contribuciones a los orbitales moleculares

Coeficientes de determinación obtenidos R ²				
		Actividad citotóxica [Log (1/CI50)]		
		P-388	LL	JL
HOMO	n62	0.355823	0.479142	0.550836
	c71	0.368125	0.457272	0.531738
LUMO	n5	0.197102	0.711001	0.622798
	c18	0.196486	0.719386	0.626867
HOMO-1	n5	0.40035	0.35333	0.47828
	c18	0.412235	0.341143	0.465115
LUMO+1	n62	0.196106	0.712682	0.622292
	c71	0.194132	0.710989	0.61904

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

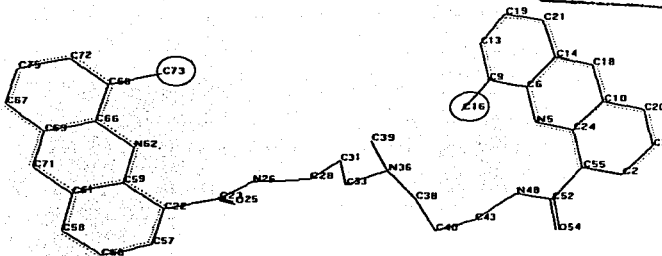


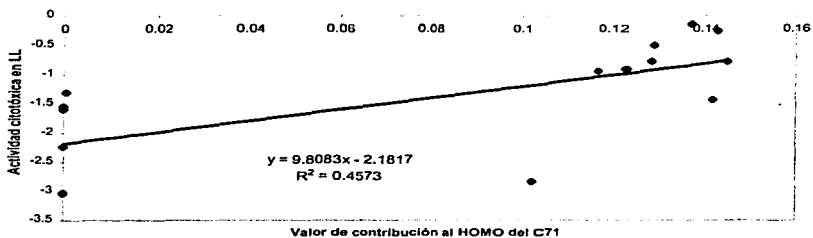
Tabla 11 Coeficientes de determinación de la actividad citotóxica y las contribuciones a los orbitales moleculares

Valores de los coeficientes de correlación obtenidos				
		[Log (1/C ₅₀)]		
Posición	Orb. Molecular	P-388	LL	JL
16	HOMO	-0.30629	-0.25504	-0.27606
16	LUMO	0.2024950	0.1069380	0.091125
16	HOMO-1	0.1427430	0.049473	0.02656
16	LUMO+1	-0.2882	-0.24388	-0.25606
73	HOMO	0.502657	-0.25959	-0.07263
73	LUMO	0.351886	-0.4799	-0.24775
73	HOMO-1	-0.10838	-0.23339	-0.20848
73	LUMO+1	0.2250210	0.1440650	0.129561

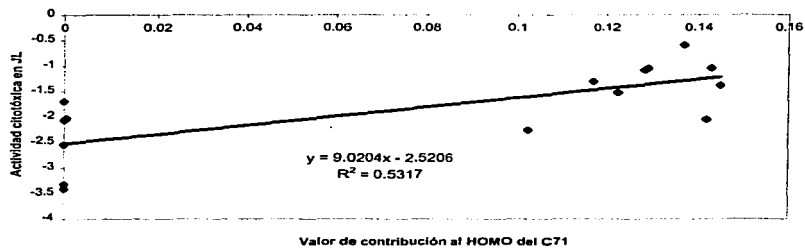
Tabla 12. Coeficientes de determinación de la actividad citotóxica y las contribuciones a los orbitales moleculares

Valores de los coeficientes de determinación obtenidos				
		[Log (1/C ₅₀)]		
Posición	Orb. Molecular	P-388	LL	JL
16	HOMO	0.0938120	0.0650440	0.076212
16	LUMO	0.0410040	0.0114360	0.008304
16	HOMO-1	0.0203760	0.0024480	0.000705
16	LUMO+1	0.0830610	0.0594780	0.065564
73	HOMO	0.2526640	0.0673870	0.005276
73	LUMO	0.1238240	0.2303040	0.061379
73	HOMO-1	0.0117460	0.0544730	0.043463
73	LUMO+1	0.0506330	0.0207550	0.016786

GRAFICA 11
Actividad citotóxica en LL vs. Valor de contribución al HOMO del C71

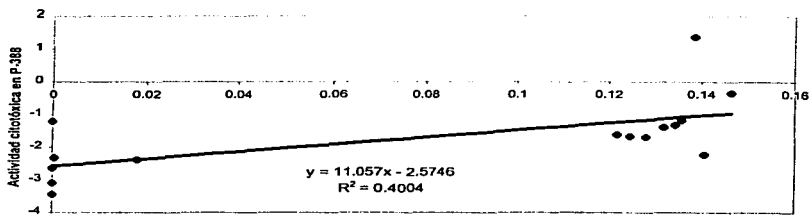


GRAFICA 12
Actividad citotóxica en JL vs. Valor de contribución al HOMO del C71

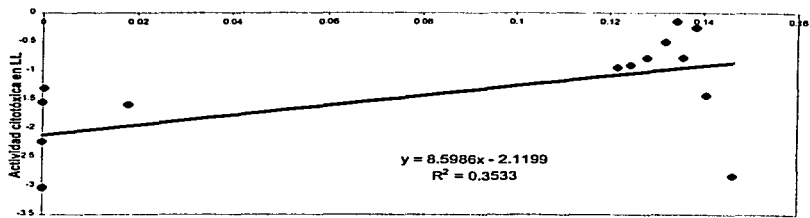


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA 13
Actividad citotóxica en P-388 vs. Valor de contribución
al HOMO-1 del N5

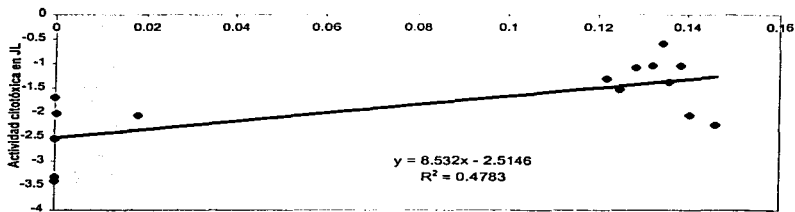


GRAFICA 14
Actividad citotóxica en LL vs. Valor de contribución
al HOMO-1 del N5



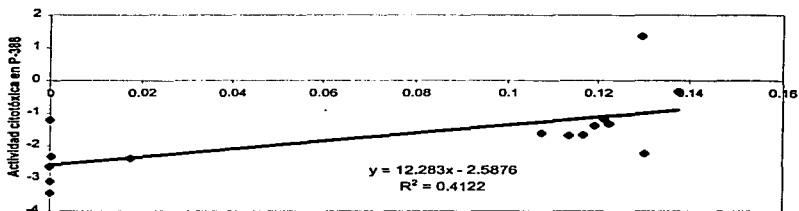
**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

GRAFICA 15
Actividad citotóxica en JL vs. Valor de contribución
al HOMO-1 del N5



Valor de contribución al HOMO-1 del N5

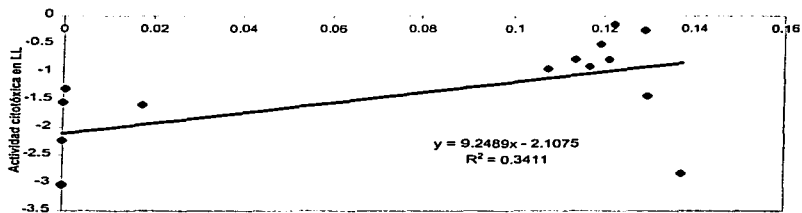
GRAFICA 16
Actividad citotóxica en P-388 vs. Valor de contribución
al HOMO-1 del C18



Valor de contribución al HOMO-1 del C18

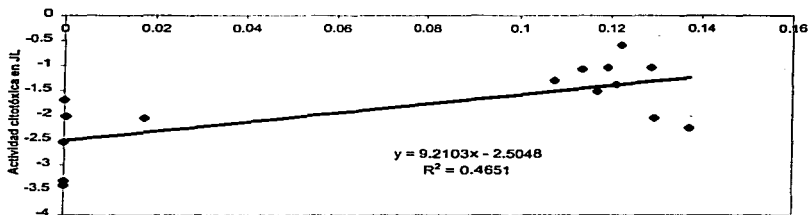
**TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN**

GRAFICA 17
Actividad citotóxica en LL vs. Valor de contribución
al HOMO-1 del C18



Valor de contribución al HOMO-1 del C18

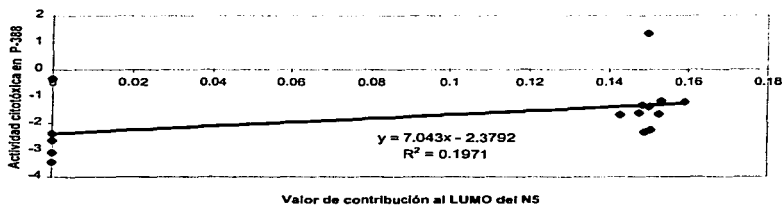
GRAFICA 18
Actividad citotóxica en JL vs. Valor de contribución
al HOMO-1 del C18



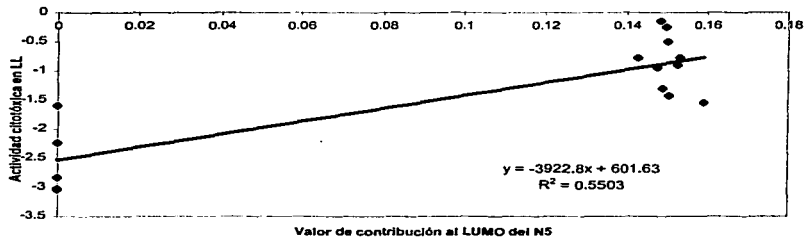
Valor de contribución al HOMO-1 del C18

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA 19
Actividad citotóxica en P-388 vs. Valor de contribución al LUMO del N5

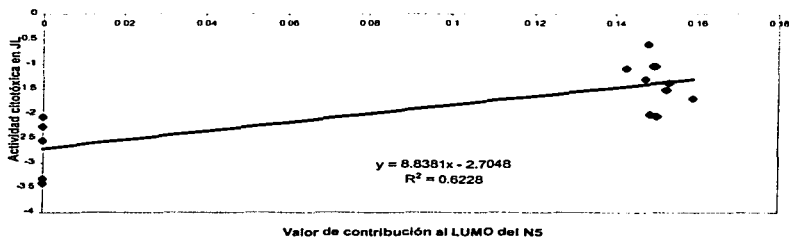


GRAFICA 20
Actividad citotóxica en LL vs. Valor de contribución al LUMO del N5

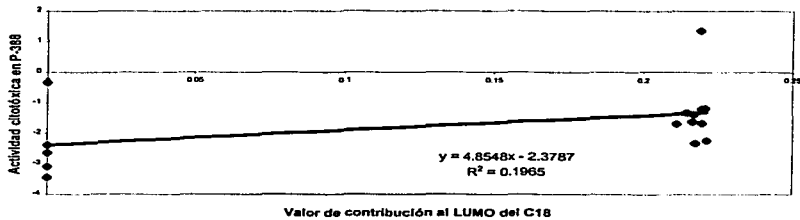


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

GRAFICA 21
Actividad citotóxica en JL vs. Valor de contribución al LUMO del N5

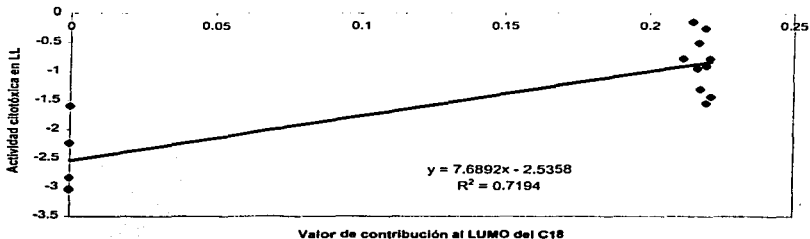


GRAFICA 22
Actividad citotóxica en P-388 vs. Valor de contribución al LUMO del C18

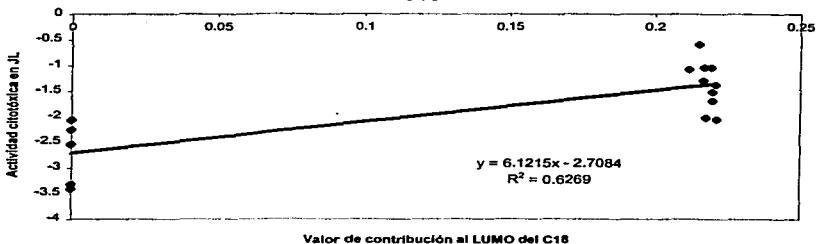


**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

GRAFICA 23
Actividad citotóxica en LL vs. Valor de contribución al LUMO del C18

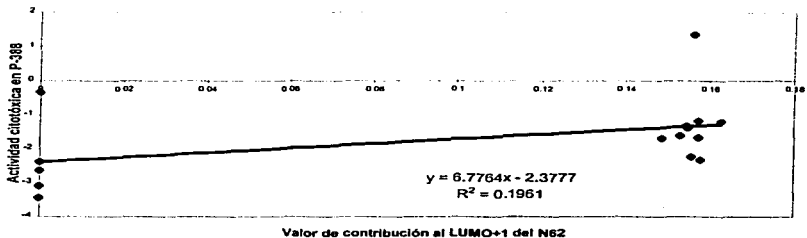


GRAFICA 24
Actividad citotóxica en JL vs. Valor de contribución al LUMO del C18

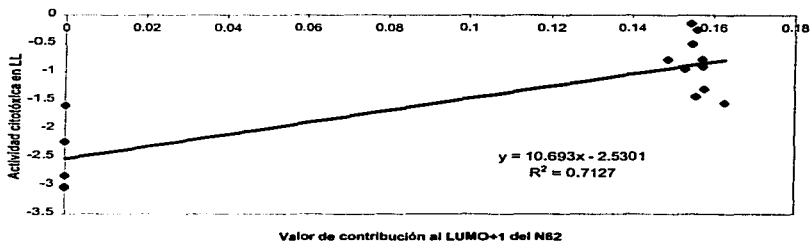


**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

GRAFICA 25
Actividad citotóxica en P-388 vs. Valor de contribución al LUMO+1 del N62

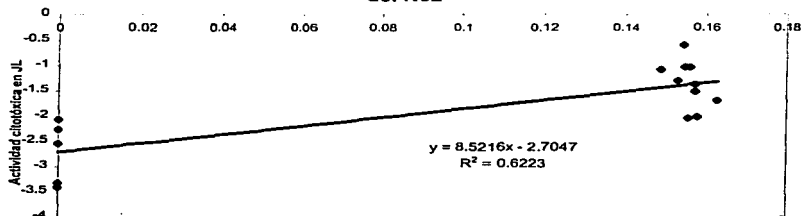


GRAFICA 26
Actividad citotóxica en LL vs. Valor de contribución al LUMO+1 del N62



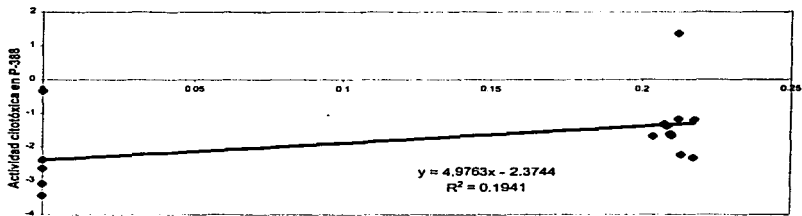
**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

GRAFICA 27
Actividad citotóxica en JL vs. Valor de contribución al LUMO+1 del N62



Valor de contribución al LUMO+1 del N62

GRAFICA 28
Actividad citotóxica en P-388 vs. Valor de contribución al LUMO+1 del C71

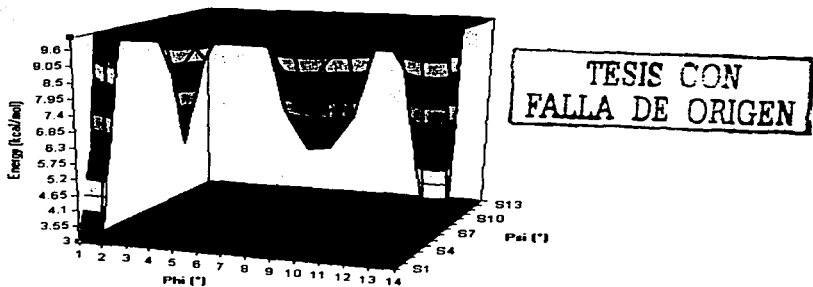


Valor de contribución al LUMO+1 del C71

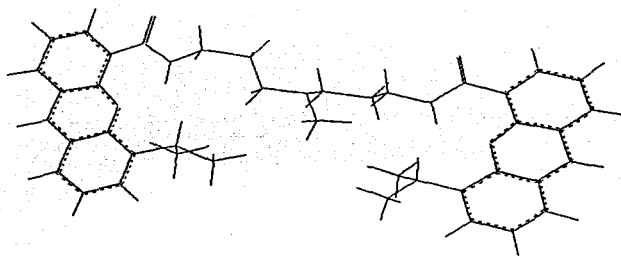
**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Uno de los problemas que hay en los cálculos moleculares es la obtención de mínimos relativos dependiendo que estructura se parta, este ha sido un problema muy complejo y se han tratado de dar varias soluciones, una de ellas es tomar en cuenta ciertos ángulos de torsión y rotarlos en forma sistemática minimizando cada una de las estructuras obtenidas, en el presente caso el número de uniones que se pueden rotar son 12, por lo cual si las rotáramos 30 grados, cada una daría 8×10^{12} estructuras posibles, lo cual es totalmente imposible de analizar, en nuestro caso para iniciar otro acercamiento a la solución del problema, se optó por tomar sólo dos ángulos de torsión, los que están unidos a los anillos de la acridina, de esta forma se calcularon 144 estructuras diferentes. Este análisis conformacional usando mecánica molecular se realizó con el programa HYPERCHEM, ya que permite interaccionar con hojas de cálculo como Excell y mediante una macro, se puede dar órdenes a HYPERCHEM de que rote las uniones predeterminadas y calcule los mínimos de cada conformación, y el resultado lo pone en la hoja de cálculo, de esta forma no hay que estar introduciendo manualmente cada uno de las conformaciones requeridas.

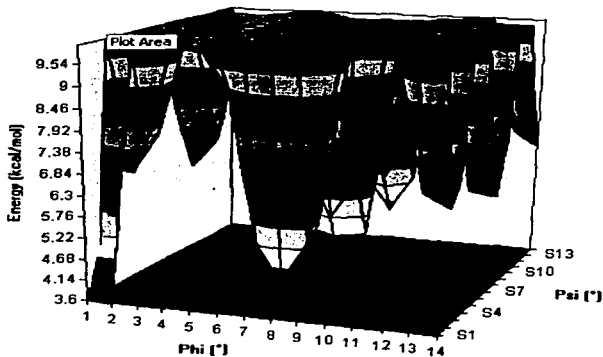
De este estudio preliminar se pudo observar que la conformación más estable es una conformación extendida para la mayoría de las moléculas.



Mapa energético del análisis conformacional realizado para la molécula con sustituyente isopropilo

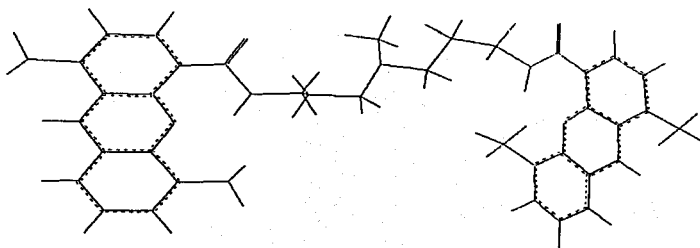


Conformación obtenida para la molécula con sustituyente isopropilo

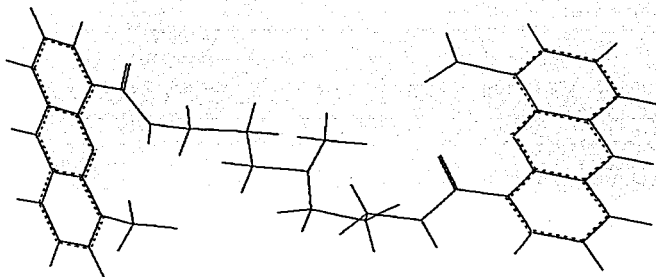


Mapa energético del análisis conformacional realizado para la molécula con sustituyentes metílicos en posición 1 y 5

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

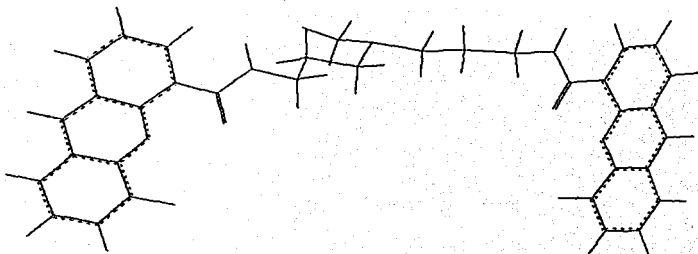


Conformación obtenida para la molécula con sustituyentes metilo en las posiciones 1 y 5



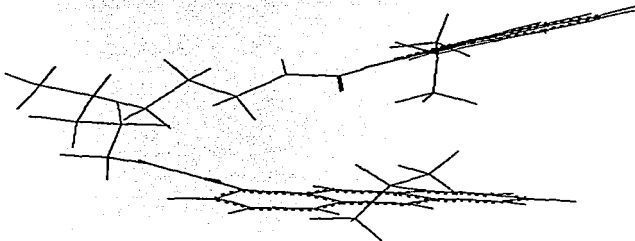
Conformación obtenida para la molécula con sustituyentes metilo en posición 5

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



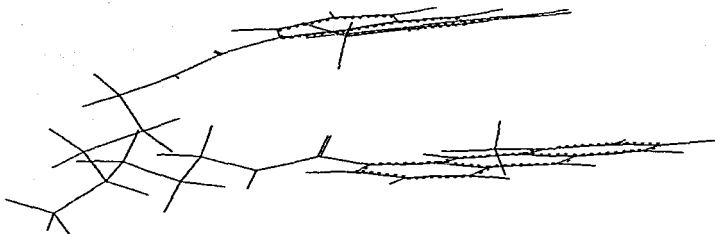
Conformación obtenida para la molécula con sustituyentes bromo en la posición 5

Por otro lado se realizó el mismo análisis conformacional pero ahora con el nitrógeno del grupo acridino cargado positivamente. Esto implicó un cambio importante en la conformación. De esto se observó que las moléculas más estables son aquellas con la conformación de bis intercalante y que esto corresponde también con las moléculas más activas.

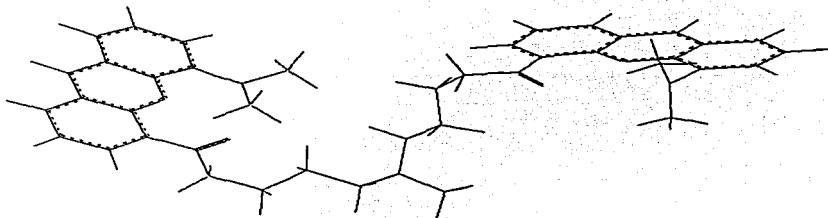


TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Conformación obtenida para la molécula con sustituyentes isopropilo (poco activa)



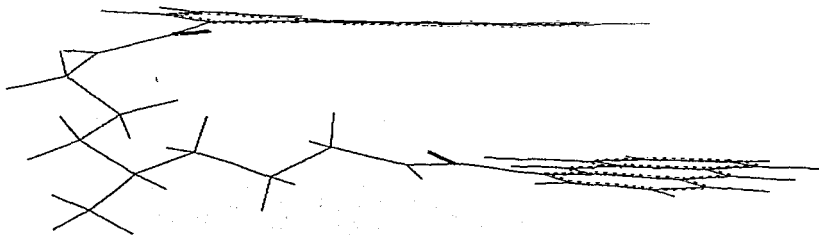
Conformación obtenida para la molécula con sustituyente metilo (muy activa)



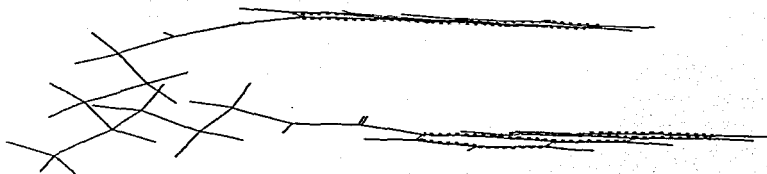
Conformación obtenida para la molécula con sustituyente dimetilamino (poco activa)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

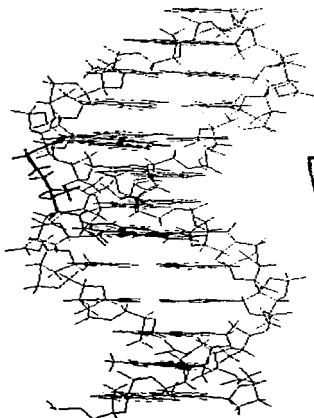


Conformación obtenida para la molécula con sustituyentes bromo (muy activa)



Conformación obtenida para la molécula con sustituyentes cloro (muy activa)

También se realizó un estudio conformacional con una de las moléculas para intercalarlo con un ADN y los resultados indican que se puede lograr una separación de 8.5 Å entre los dos anillos de la acridina y de esta forma ambos anillos se intercalan perfectamente en la molécula del ADN.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

ADN con molécula de bis (acridin-4-carboxamida) intercalada

Se realizaron estudios preliminares con dinámica molecular, los cuales nos pueden dar indicaciones de que tan estable puede ser molecular con un gran número de uniones flexibles y dieron como resultado que las estructuras en las cuales los anillos de las acridinas están coplanares entre sí y con la cadena lateral extendida es de las más estables, lo cual corrobora los resultados experimentales obtenidos en cuanto a la actividad de este tipo de moléculas.

6. CONCLUSIONES

- No se obtuvo una ecuación validada estadísticamente que nos correlacione, orbitales moleculares HOMO y LUMO, con la actividad citotóxica de las bis (acridin - 4 - carboxamidas) en su forma neutra, por lo cual no se llega a una predicción de la actividad citotóxica con los descriptores utilizados.
- Aunque no se obtiene la ecuación, lo que se logra observar es corroborar la importancia de las características electrónicas en este caso los orbitales moleculares HOMO, LUMO, HOMO-1, LUMO+1 ya que aunque no hay estrictamente una correlación si se observa una tendencia.
- Se sugiere un estudio semiempírico conformacional con las estructuras las bis (acridin - 4 - carboxamidas) en su forma cargada, ya que los datos encontrados con mecánica molecular no toman en cuenta las características electrónicas como un estudio semiempírico pero habrá que estructurarlo muy bien porque el tiempo de computo puede ser extraordinariamente alto.

7. REFERENCIAS

1. Página de la Secretaría de Salud. Estadísticas y evaluación. Mortalidad 2000
<http://www.salud.gob.mx>
2. Peña Montiel M. A. Estudio Cuantitativo de la relación estructura-actividad citotóxica (QSAR) de bis(acridín-4-carboxamidas) Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, México, D.F. 2001
3. Hernández-Gallegos Z. ; Pérez-Álvarez V. Revista de la Sociedad Química de México **2002**, *46*, 223-226
4. Katzung B. G., *Farmacología básica y clínica*; 6ª edición, El Manual Moderno: México 1996
5. *Diccionario terminológico de ciencias médicas*; 13ª edición, Salvat: España, 1993
6. *The new enciclopedia Britannia*; Enciclopedia Britannia Inc.: E.U.A., 1995
7. Litter, Manuel *Compendio de farmacología*; 4ª edición, Ateneo: México, 1988
8. Página de Cancerstop.net. <http://www.cancerstop.net/tratamientos3.htm>
9. Cameron R. B. *Oncología práctica*; Panamericana: Argentina, 1995
10. Muñoz A. *Cáncer. Genes y nuevas terapias*; Hélice: España, 1997
11. Korolkovas A. *Essentials of medicinal chemistry*; 2ª edición, J. Wiley: E.U.A., 1988
12. Avendaño L. M. *Introducción a la Química Farmacéutica*; Mc Graw-Hill Interamericana: España, 1993
13. Burger, A. *Burger's Medicinal Chemistry and drug discovery*; 5ª edición, Wiley & Sons: New York, 1995; Vol. 1
14. Ariens E.J. *Drug Design*; Academic Press, Series monográficas: E.U.A., 1971 Vol. 1
15. Kubli-Garfias C. *Tetrahedron J. Mol. Struct.* **1996**, *388*, 35-41.
16. Clare W. B. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 3845-3856.
17. Molnar, J.; Petofi, S.; Kurihara, T.; Sakagami, H.; Motohashi, N. *Anticancer Res.* **1993**, *13*, 263-266

18. Rius Alonso Carlos, Curso de Modelación Molecular (UNAM)
<http://organica1.pquim.unaqm.mx/modelacion>
19. Allen, B. R. *Mathematica* 1994, 1, 83
20. Karelson, M.; Lobanov, V. S.; Katritzki, A. R. *Chem. Rev.* 1996, 96, 1027-1043
21. Hehre W. J.; Huang W. W. *Chemistry with computation, An introduction to Spartan; Wavefunction Inc.; E.U.A., 1995*
22. Alcamí Pertejo Manuel, Informática aplicada a la química (UAM).
<http://www.uam.es/departamentos/ciencias/quimica/alcami>
23. Young, David C. *Computational Chemistry*; J. Wiley: E.U.A., 2001.
24. W.I.P. Mainwaring; J. H. Parish; J.D. Pickering; Mann N.H. *Nucleic Acid Biochemistry and Molecular Biology*; Blackwell Scientific Publications: England, 1982
25. Graham L. P. *An Introduction to Medicinal Chemistry*; Oxford University Press: E.U.A., 1995
26. Todd, A. K.; Adams, A.; Thorpe, J. H.; Denny, W. A.; Wakelin, L. P.; Cardin C. J. *J. Med. Chem.* 1999, 42, 536-540
27. Wilman, E.D.; Denny, W.A.; *The chemistry of antitumour agents*; Blackie & Son Ltd.: Gran Bretaña, 1990
28. Casciato, D. A. *Manual de oncología clínica*; 2ª edición; Salvat Editores: España, 1990
29. *Cancer Chemotherapy. Challenges for the future*; Elsevier Science: Japan, 1995; Vol. 10
30. Gamage, S. A.; Spicer, J.A.; Atwell, G. J.; Finlay, G. J.; Baguley, B.C.; Denny, W.A. *J. Med. Chem.* 1999, 42, 2383.
31. Alchemy 2000, version 2.05, Tripos Inc. 1998
32. MM3, Dr. N.L. Allinger y cols. Universidad de Georgia. Derechos Reservados © 1996-1997 por Tripos Company
33. James, J.P. Stewart. "Mopac Manual" 6a. edición Frank J. Seilat Research Laboratory, United States Air Force Academy 1990. Copyright© 1996-1997 by Tripos Company.

34. Excel 2000, version 9.0.2720, Microsoft Corp. 1985-1999

35. Spartan Wavefunction, Irvine CA USA: <http://www.wavefunction.com>