



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**"MODELAJE MOLECULAR Y SÍNTESIS DE COMPUESTOS
CON POSIBLE ACTIVIDAD INMUNOESTIMULANTE"**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :

GERARDO EMANUEL ORDOÑEZ ESCOBAR

**ASESORES: DR. ENRIQUE ANGELES ANGUIANO
DR. ANDRES ROMERO ROJAS**



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.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Gerardo Emmanuel

Ordoñez Escobar

FECHA: 20 SEP 2005

FIRMA: 



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES**

UNIVERSIDAD NACIONAL
AVANZANDO
MÉXICO

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

"Modelaje molecular y síntesis de compuestos con posible actividad inmuoestimulante".

que presenta el pasante: Gerardo Emanuel Ordoñez Escobar
con número de cuenta: 8907003-5 para obtener el título de :
Químico Farmacéutico Biólogo

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 17 de enero de 2005.

- | | | |
|------------------|---------------------------------|--|
| PRESIDENTE | MC. Ana María Velázquez Sánchez | |
| VOCAL | QFB. Idalia Avila Miyazawa | |
| SECRETARIO | Dr. Enrique Angeles Anguiano | |
| PRIMER SUPLENTE | MC. Víctor Zendejas Buitrón | |
| SEGUNDO SUPLENTE | MC. Alberto Ramírez Murcia | |

REFLEXIONES

En una tierra en guerra, había un rey que causaba espanto. Cuando hacía prisioneros no los mataba: los llevaba a una sala donde había un grupo de arqueros de un lado y una inmensa puerta de hierro del otro, en la cual se veían grabadas figuras escalofriantes. El simple hecho de ver la puerta dejaba helado al más osado de los prisioneros. En esta sala él les hacía formar un círculo y les decía, entonces:

"Ustedes pueden elegir entre morir flechados por mis arqueros o pasar por aquella puerta".

Todos elegían ser muertos por los arqueros.

Al terminar la guerra, un soldado que por mucho tiempo sirvió al rey se dirigió al soberano:

-Señor,

-Dime, soldado.

-¿Qué había detrás de la puerta?

- ¿Por qué no miras tú mismo?

El soldado, entonces, abre temerosamente la puerta y, a medida en que lo hace, rayos de sol entran y aclaran el ambiente... Y, finalmente, él descubre, sorprendido, que la puerta se abría sobre un camino que conducía a la ¡LIBERTAD!!!

El soldado, admirado, solo mira a su rey, quien le dice:

- Yo les daba la elección, pero preferían morir a arriesgarse a abrir esta puerta.

(Anónimo)

...¿Acaso no había sepulturas en Egipto para que nos hayas traído a morir en el desierto? ¿Qué has hecho con nosotros sacándonos de Egipto? ¿No te dijimos: Déjanos en Paz, serviremos a los egipcios, pues más nos vale ser esclavos que morir en el desierto?..
(Reclamos del pueblo Judío a Moisés cuando se sintieron atrapados entre el Mar y el ejército del Faraón)

Ex 14,11-13

El error más grande se comete cuando, por temor a equivocarnos, nos equivocamos dejando de arriesgarnos en el camino.

No se equivoca el hombre que ensaya distintos caminos para alcanzar sus metas.

Se equivoca el que, por temor a equivocarse, no camina.

No se equivoca el hombre que busca la verdad y no la encuentra; se equivoca el que, por temor a errar, deja de buscarla.

René Trossero.

¿Cuántas puertas dejamos de abrir por el miedo de arriesgar?

¿Cuántas veces perdemos la libertad y morimos por dentro, solamente por sentir miedo de abrir la puerta de nuestros sueños? Miedo a caminar por el inmenso desierto de la vida para encontrar el oasis de la plenitud.

A todos mis seres queridos les pido perdón por atrasar este sueño, por no abrir esta puerta, por dejarme atrapar por el miedo. Le pido a Dios sabiduría para afrontar con entereza la paradójica y maravillosa vida.

Gerardo Emanuel Ordóñez Escobar

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

Gracias a mi esposa, Sandra Palacios García

A ti Sandy, por ser mi fuerza, mi refugio, mi compañera, el complemento de mi alma, mi todo. Porque junto a ti el silencio no es silencio, sino un espacio lleno de magia, de emociones que aún están por descubrirse. La mañana no es simplemente una mañana sino un nuevo comienzo para todos los sueños, todas las esperanzas, todas las fantasías.

Los problemas dejan de ser problemas y se convierten en retos que se desmoronan al vernos unidos. Porque junto ti, ya no soy simplemente yo, soy parte de algo más grande que te incluye y que me hace crecer. Por que las cosas comenzaron a tener sentido, a tener color, a hacerme escuchar su música desde que mi corazón esta junto a ti. Porque eres mi tesoro de carne y hueso. Por alentarme.

Mi amada es para mí y yo soy para mi amada...

...Me has robado el corazón, hermana y novia mía, me has robado el corazón con una sola mirada, con una vuelta de tu collar.

...¡Las fragancias de tus perfumes superan a todos los aromas! Tus labios destilan miel virgen, novia mía. Debajo de tu lengua escondes miel y leche; la fragancia de tus vestidos parece fragancia del Líbano...

...paraiso de granados, lleno de frutos exquisitos: nardo y azafrán, aromas de canela, árboles de incienso, mirra y áloe, con los mejores bálsamos. ¡Fuente de los jardines, pozo de aguas vivas!....

...Eres bella amiga mía, como Tirsá, encantadora como Jerusalén...

...Aparta de mí tus ojos que me subyugan...

...Tus mejillas, dos cortes de granada, se adivinan tras el velo...

Hermosa como la luna, refugiente como el sol, imponente como ejército...

...Ponme como sello en tu corazón...

... Que es fuerte el amor como la muerte, implacable como el Seol la pasión...

Cantar de los Cantares (Fragmentos).

Gracias a Dios, por darme la oportunidad de disfrutar su creación, por no dejarme, por acompañarme siempre.

Gracias a mis Padres Sara Escobar y Roberto Ordóñez; por ser un ejemplo de amor entrega, entereza, sabiduría y Fe. Por todos sus sacrificios, por todos sus desvelos. Por su silencio, por sus consejos. Por guiar mi vocación. Por los paseos, por los cuentos, por hacer de mi infancia algo maravilloso y lleno de magia. Por soportar mi adolescencia. Por ustedes he llegado hasta aquí, para ustedes es este logro. Perdón por posponer tanto tiempo este gozo.

Gracias a mi abuelita, Esperanza Fuentes; por cuidarme tantos años, por sus consejos, por su amor, por su fuerza, su paciencia, su fortaleza. Por ser ejemplo vivo de amor oblativo, incansable, imparabile, incomparable.

Gracias a mis Hermanos;

Jorge por ser un gran ejemplo de superación. Por protegernos, por guiarnos. Por defender tus valores y puntos de vista y llevartos a las últimas consecuencias. Por tu integridad. Gracias por todo lo que hiciste y sacrificaste por darnos ejemplo,

Nacho por tu compañía, por tu empatía, por compartir, por tu confianza por hacerme coparticipante de la difícil tarea de ser ejemplo de vida de tus maravillosos hijos.

Miguel por tu alegría y tu silencio, por dar tanto sin esperar nada a cambio.

Carlos por ser un estímulo para mi superación, por soportar mis neurosis, por tu cariño.

Por todo lo que significan en mi vida, por todo el apoyo.

Gracias a mi abuelitos M^a De Jesús Arzate (q.e.p.d), Jorge Ordóñez (q.e.p.d) y Antonio Escobar (q.e.p.d); a mis primos y tíos Escobar-López, Escobar-Arzate, Chávez-Ordóñez por ser parte importante en los cimientos de mi vida.

Gracias a mis cuñadas Jenny y Mary por traer a la vida a esos seres tan maravillosos y que tanta alegría han dejado y siguen dejando en mi vida.

Gracias a mis sobrinos Sarahí, Isaias, Jorgito, Rebeca, Gerardo, por que son muestra viva de la esperanza en un mundo mejor. A **Fátima (q.e.p.d)** por que con tu corta existencia le diste un nuevo sentido a nuestras vidas.

Gracias a Elsy Palacios; por ser la hermana que siempre quise tener, por toda tu confianza, por apoyarme. Por tus consejos, por aceptarme y soportar mis celos de hermano mayor.

Gracias a Irma García y Antonio Palacios; por aceptarme como un hijo, por su confianza, por todo el apoyo. Por su ejemplo, por su dedicación y empeño en cada cosa que se proponen.

Gracias a Martha y Gilberto Olvera, por todo su apoyo incondicional. Por ser parte fundamental de este logro.

A mis hermanos de Yizreel: Faby y Cuco, Vane, Vero, Jany y Angel, Angie y Huicho, Marilu y Hugo, Luz Zavala, Jesydec, Duyek, Arturo y América Casas, Angie Rivapalacio, Mauricio, Flor, Horacio, Ivette y Araceli Aguilar, Lupita y Alicia Lombera, Jesús Hdz; y a mis amigos Gris Romero, Lety Rdz, Adrianita Lara, Janet Hdz, Caro, Minerva, Angie Avila, Paty Hdz, Miriam Jaramillo, Isa Olvera, Chelita, Marce, Ricardo Arroyo, Raúl y Santa Arroyo, Hildberto y Rosa, Isa Molina (q. e. p. d.) a todos ustedes y a los que he omitido; a todos gracias por ser parte importante de mi vida ayer, hoy y siempre; por ser y estar.

A los Sacerdotes y Religiosos: Gerardo Herrera, Carlos Ceballos, Sergio Osorio, Martín Mejía, Isidor Dalmacen. Gracias a todos por su ejemplo de vida, por su apoyo y consejo,

Gracias al Dr. Enrique Angeles Angulano, por todo su apoyo incondicional. Por ser parte fundamental de este logro. Por ser un excelente académico. Por infundir en mí el amor a esta disciplina de la ciencia y a la ciencia en general. Por confiar en mí y aceptarme como parte de su importante equipo de trabajo en el Laboratorio de Química Medicinal de la FESC Cuautitlán.

A todos los excelentes profesores que me han dejado huella; Arcelia, Lupita Herrera, Mary Mondragón, Joaquín Gtz, Felipe Barajas, Margarita Gómez Moliné, Ma. E. Posada, Ricardo Oropeza, Idalia Ávila, Ángel G. Mtz, Ana Laura Vázquez,

Finalmente y parafraseando al Dr. Enrique Angeles "también dedico este trabajo a todos aquellos que han colocado piedras en mi camino y que solo sirvieron para fortalecer mis convicciones, también a ustedes les brindo éste logro"

INDICE

| | |
|--|----|
| OBJETIVOS..... | 1 |
| GENERALIDADES..... | 3 |
| 1. QUÍMICA MEDICINAL..... | 3 |
| 1.1. INTRODUCCIÓN..... | 3 |
| 1.2. HISTORIA..... | 4 |
| 1.2.1. DESCUBRIMIENTO: MEDICINA TRADICIONAL | 6 |
| 1.2.2. DISEÑO: TOXICIDAD SELECTIVA | 7 |
| 1.2.3. DESCUBRIMIENTO: OBSERVACIONES CLÍNICAS | 8 |
| 1.2.4. DISEÑO: OPTIMIZACIÓN MOLECULAR | 10 |
| 1.2.5. DESCUBRIMIENTO: FARMACOLOGIA MOLECULAR | 11 |
| 1.2.6. DISEÑO: ESTRUCTURA BIOMOLECULAR | 12 |
| 1.2.7. DESCUBRIMIENTO: TAMIZADO BIOQUÍMICO O "SCREENING" | 13 |
| 1.2.8. DISEÑO: LIBRERIAS QUÍMICAS | 13 |
| 1.2.9. GENÓMICA, TERAPIA GÉNICA, PROTEÓMICA | 14 |
| 1.3. DEFINICIÓN Y OBJETIVOS DE LA QUÍMICA MEDICINAL..... | 18 |
| 1.4. DISEÑO DE FÁRMACOS ASISTIDO POR COMPUTADORA (DFAC)..... | 20 |
| 1.5. MODELAJE MOLECULAR..... | 24 |
| 2. INMUNOFARMACOLOGIA | 28 |
| 2.1. INTRODUCCIÓN..... | 28 |
| 2.2. INMUNOLOGIA: ¿CÓMO OPERA LA INMUNIDAD? | 30 |
| 2.3. INMUNOFARMACOLOGÍA..... | 41 |
| 2.4. INMUNOMODULACIÓN | 42 |
| 2.5. INMUNOESTIMULANTES..... | 43 |
| 3. PROPIEDADES BIOLÓGICAS DE COMPUESTOS QUE CONTIENEN EN SU MOLÉCULA GRUPOS TIOL O DISULFURO (SH/S-S)..... | 51 |
| 3.1. REGULACIÓN ENZIMÁTICA | 51 |
| 3.2. REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN | 52 |

| | |
|--|----|
| 3.3. INMUNOREGULACIÓN. | 52 |
| 4. DESARROLLO TEÓRICO- EXPERIMENTAL | 53 |
| 4.1. DISEÑO Y MODELAJE MOLECULAR | 53 |
| 4.2. MÉTODO ESTADÍSTICO | 54 |
| 4.3. SÍNTESIS QUÍMICA | 57 |
| 4.4. CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA..... | 55 |
| 5. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS | 56 |
| 5.1. ESTUDIO TEÓRICO DE COMPUESTOS COMERCIALES Y EN INVESTIGACIÓN ... | 56 |
| 5.2. ESTUDIO TEÓRICO DE COMPUESTOS DERIVADOS DE CISTAMINA..... | 61 |
| 5.3. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS REGRESIÓN MULTIPLE | 62 |
| 5.3.1. ANALISIS DE CLUSTER REGION 2 | 63 |
| 5.3.2. ANALISIS DE CLUSTER REGION 1 | 66 |
| 5.4. OBTENCIÓN DE N-(1,2,5,7-DITIAZANONAN-6-ILIDEN) CIANAMIDA..... | 67 |
| 5.5. ESPECTROSCOPIA..... | 68 |
| 5.5.1. ESPECTROSCOCPIA DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE ¹ H..... | 68 |
| 5.5.2. ESPECTROSCOCPIA DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE ¹³ C..... | 68 |
| 6. CONCLUSIONES..... | 69 |
| 7. BIBLIOGRAFÍA..... | 70 |
| 8. ANEXOS..... | 83 |

Objetivos

OBJETIVOS

- I. Estudio teórico comparativo de una serie de compuestos con actividad inmunoestimulante y/o anticancerígena de uso comercial y en fase de investigación, empleando el método semiempírico AM1.
- II. Diseño, modelaje molecular y cálculo de propiedades electrónicas (tales como energía de orbitales HOMO, LUMO, densidad electrónica, entre otros) de una serie de compuestos análogos a cistamina.
- III. Estudio de Regresión múltiple con las variables obtenidas del estudio Teórico
- IV. Determinar la posible relación entre los compuestos y su actividad inmunoestimulante y/o inmunoestimulante.
- V. Síntesis y caracterización de uno de los compuestos análogo a cistamina.

Generalidades

*La terapéutica se auxilia de los fármacos,
de los cuales no conoce nada, y los utiliza
en pacientes de los cuales conoce menos.*

Voltaire (1694-1778) ¹

QUÍMICA MEDICINAL

1.1. INTRODUCCIÓN

La medicina y las ciencias farmacéuticas han trabajado intensamente para dejar atrás esta definición histórica establecida por Voltaire y que sea solo eso, una definición que pertenece a la historia. Los avances logrados, de manera particular, durante y después de la Segunda Guerra Mundial han sido decisivos, pero no definitivos.

El desarrollo de nuevos fármacos se basa en dos estrategias complementarias. Una involucra el diseño y síntesis de nuevos compuestos que imiten o bloqueen la acción de sus moléculas relacionadas o receptores, que han sido identificados por medio de estudios en biología molecular y medicina. Esta estrategia, se auxilia de la más moderna tecnología computacional, la cual detalla de manera tridimensional las entidades químicas así como los receptores o blancos biomoleculares; esta estrategia es comúnmente llamada o conocida como **Diseño Racional de Fármacos**. Esta fue adoptada entusiastamente por la mayoría de las grandes compañías farmacéuticas internacionales desde que apareció por primera vez a mediados de 1970.²

La otra estrategia involucra el tamizado o "screening" de compuestos de origen natural (plantas, microorganismos y animales) con probable actividad farmacológica. Una vez obtenido el compuesto puro se realizó la optimización de su actividad biológica mediante la modificación estructural de la molécula. En la actualidad cerca del 25% de los fármacos consumidos en el mundo occidental provienen o son principios activos que fueron obtenidos de fuentes naturales.^{2,3,6} El enfoque del tamizado ha sido rejuvenecido y mejorado por la introducción de técnicas automatizadas de síntesis orgánica, permitiendo un rápido desarrollo de un gran número de compuestos para una amplia variedad de enfermedades.^{2,7} Aunque, como se describe adelante una a la otra se complementan.

Vivimos en una era de fármacos. Tenemos fármacos para el dolor, para las enfermedades, para las alergias, para el placer y para la salud mental. Fármacos que han sido diseñados de manera racional, fármacos que han sido sintetizados en las fábricas y purificados de fuentes naturales. Fármacos que han sido evaluados clínicamente. Hoy tenemos fármacos que en su gran mayoría son seguros y efectivos. Pero esto no quiere decir que siempre fue así.

1.2. HISTORIA

En la ya milenaria batalla entre el ser humano y las enfermedades se pueden distinguir tres periodos. En el primero, la terapia antigua estaba fundamentada en las prácticas mágico-religiosas y en el empleo empírico de remedios - propios de cada región- usando animales, plantas y/o minerales. Se creía que las enfermedades eran un recurso que los dioses utilizaban para castigar a la humanidad. El único remedio, en esas circunstancias era aplacar a la deidad con ayuda del chamán o brujo, cuyo poder se acrecentaba al ejercer su acción mediadora.^{9,10}

Durante siglos esta práctica fue común en muchas regiones del mundo. Un ejemplo claro de esta forma de entender la vida, es lo que se conocía como piedra de Bezoar, una especie de concreción calcúlosa formada en el estómago de los rumiantes. Se creía que esta pulverizada en vino servía como antídoto contra todos los males, además, al utilizarla como amuleto también proporcionaba protección contra cualquier enfermedad. La palabra Bezoar es de origen Persa que significa protección contra el veneno.⁸



Fig. 1 Piedra de Bezoar

Aunque la humanidad no siempre caminó en la oscuridad en lo relativo a tratamientos contra enfermedades, como podemos apreciar en el segundo periodo, en el cual ha primado el conocimiento científico de los mecanismos que causan las enfermedades. Son claro ejemplo de este conocimiento, las terapias utilizadas por las

grandes civilizaciones antiguas como la Egipcia, Griega, China, Arabe y en nuestro continente: por las civilizaciones Azteca, Inca y Maya.^{9, 10, 12}

El origen de lo que hoy conocemos como medicamentos se remonta a la medicina tradicional, en la que nuestros antepasados utilizaban de manera artesanal plantas para el tratamiento de padecimientos comunes en la población. En los tratados de medicina se tienen reportes de hacia 5100 años antes de Cristo, durante el período de la dinastía Shen Nung, se tiene conocimiento del uso de la *Dichroa febrifuga* para el tratamiento de la fiebre con excelentes resultados.¹¹ En el mismo siglo V a.c. Hipócrates realizó aportes importantes a la medicina de forma rudimentaria, por lo cual es considerado el padre de la medicina. Este período alcanzó pleno desarrollo durante los siglos XIX y XX, hasta culminar con el refinamiento de la medicina actual.^{9, 12}

Pese a los grandes avances científicos y técnicos de la medicina, parece ser inevitable el que el ser humano se enferme para que la técnica pueda ser aplicada. Existe una gran cantidad de fármacos para tratar casi cualquier enfermedad infecciosa, metabólica o neoplásica. Sin embargo, y a pesar de que se cuenta con vacunas para ciertas infecciones virales y bacterianas, son muy pocos los medicamentos con que se cuenta para prevenirlas.

El tercer período, el de la medicina del futuro, debe basarse también en la prevención.

Mencioné anteriormente que el descubrimiento, el diseño y desarrollo de nuevos fármacos sigue dos estrategias alternativas y complementarias. El desarrollo histórico de estas dos estrategias es relatado muy bien por Peter R. Andrews en el capítulo "Drug Design and Discovery: Where Next?", en el libro *NMR in Drug Design*,².

En la práctica, la división entre una estrategia y la otra no está claramente definida, como se hace evidente en el resumen mostrado en la figura 1.²

| CRONOLÓGICAMENTE | DESCUBRIMIENTO | DISEÑO |
|------------------|---|-------------------------|
| 1700-1999 | Medicina Tradicional | |
| | | Toxicidad selectiva |
| | Observación Clínica | |
| | | Optimización Molecular |
| | Farmacología Molecular | |
| | | Estructura Biomolecular |
| | Tamizado Bioquímico | |
| | | Librerías Químicas |
| 2000 | Genómica, Proteómica, Terapia Génica | |

Fig. 1 Cronología del desarrollo de la Química Médica. Modificado de NMR in drug design. ²

1.2.1. DESCUBRIMIENTO: MEDICINA TRADICIONAL

Muchos de los medicamentos que se utilizan en la actualidad provienen de fuentes naturales. Estos se obtuvieron gracias a los conocimientos que tenían las culturas antiguas acerca de las plantas, minerales y animales para tratar enfermedades.



FIG. 2. *Cinchona*
fuente de la quinina

Muchos fueron descubiertos y empleados por nuestros ancestros. El uso del digitalis, obtenido de las ramas de la *Digitalis purpurea*, utilizado como cardiotónico (1799, Ferriar) y para tratar la hidropesía (1875, Withering); la atropina obtenida de las ramas y las raíces de la planta conocida como Huele de Noche o Plena de Noche (*Atropa belladonna*) usado para la dilatación de las pupilas en oftalmología. La quinina obtenida de la corteza de la *Cinchona officinalis* (Fig. 2) para el tratamiento de la malaria (1580-1600, Juan De la Vega). El uso de la corteza del sauce (1763, Edward Stone) para tratar la fiebre y el reumatismo, lo que posteriormente llevaría al aislamiento del principio activo, la salicina (1829, H. Leroux) y a la posterior síntesis química de la aspirina en 1893 por Felix Hoffman. ¹³⁻¹⁵

1.2.2. DISEÑO: TOXICIDAD SELECTIVA

A pesar de que la frase *diseño de fármacos* es relativamente reciente, los principios



Fig. 3 Paul Ehrlich (1854-1915)

básicos en los cuales o por los cuales fue creada, se pueden encontrar en el concepto de quimioterapia acuñado por Paul Ehrlich (Fig.3) a principios del siglo XX, mientras estudiaba la toxicidad que exhibían algunos compuestos contra ciertos agentes infecciosos, en particular al observar que las bacterias podían ser teñidas selectivamente por algunos colorantes: *“la quimioterapia es el uso de drogas para dañar a un organismo invasor, sin causar daño al hospedero”*.

Tales observaciones le sirvieron para elaborar la siguiente hipótesis: *“Los tóxicos derivados de colorantes se pueden unir selectivamente a la pared celular de las bacterias; por lo que pueden ser unos poderosos agentes antibacterianos.”*

De sus observaciones con colorantes arsenicales y las modificaciones de la estructura logró en 1909 la síntesis del **salvarsan** o **arsfenamina** (FIG. 4)

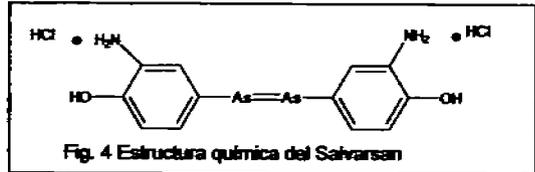


Fig. 4 Estructura química del Salvarsan

apartir del Atoxil. Ehrlich observó que el Salvarsan presentaba efectos extraordinarios para tratar la sífilis. El Atoxil, fue un compuesto desarrollado por investigadores Británicos que era efectivo contra los tripanosomas pero presentaba un gran inconveniente; el daño severo al nervio óptico.¹⁶⁻¹⁹

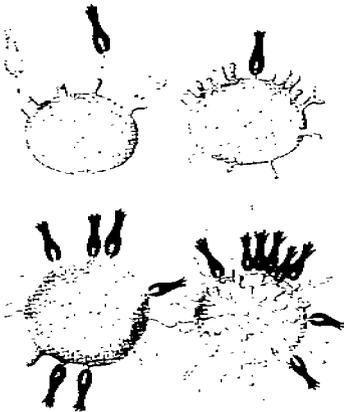
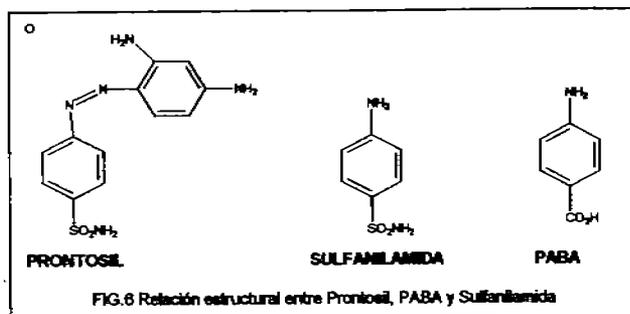


Fig. 5 Dibujos de Ehrlich sobre las interacciones entre receptores celulares y sus ligandos (1900)

Ehrlich acuñó el término **“Balas Mágicas”** para referirse a la forma selectiva de actuar de los azocompuestos. El término **“Balas Mágicas”** también ha sido adoptado con entusiasmo por la Biología molecular y la inmunología, ya que sentó las bases para entender el mecanismo de acción de los anticuerpos. En la figura 5 podemos apreciar los dibujos que realizó para representar sus ideas.

Ehrlich continuó con sus estudios; en particular con los azo compuestos y sus propiedades. Cientos de estos compuestos fueron sintetizados y evaluada su actividad, hasta llegar a la comprobación antibacteriana *in vivo*.¹⁶⁻¹⁹



A finales de la década de los años 20's, el alemán Gerhard Domagk, realizó pruebas con un colorante de color rojo-anaranjado utilizado para teñir fibras de origen animal, mejor conocido

como Prontosil. Domagk realizó experimentos con ratones y observó que este compuesto mataba las bacterias pero no a los ratones. Se utilizó por primera ocasión para curar a un infante de una septicemia severa. Lo curioso fue que el prontosil *in vitro* no presentaba poder antibacteriano. Más adelante se dieron cuenta que este compuesto era rápidamente metabolizado en sulfanilamida, el cual no contiene el grupo cromóforo azo. Ahora sabemos que la sulfanilamida es un análogo estructural del ácido para amino benzoico (PABA), el cual es esencial para la biosíntesis del tetrahidrolato en las bacterias, pero no en los humanos (Fig. 6)¹⁶⁻¹⁹

Los estudios de Ehrlich sobre el uso de los colorantes contra las bacterias y la formulación de la hipótesis, pudiera parecer irrelevante, pero el concepto de toxicidad selectiva sentó las bases para los posteriores estudios en quimioterapia.¹⁵

1.2.3. DESCUBRIMIENTO: OBSERVACIONES CLÍNICAS

Desde la mitad del siglo pasado la manera de descubrir medicamentos ha ido cambiando con el aprovechamiento de los efectos terapéuticos ya conocidos de una gran cantidad de drogas ya existentes, pasando de las observaciones subjetivas y cualitativas de la medicina tradicional a observaciones clínicas de manera cuantitativa.

Los efectos farmacológicos de las sulfonamidas, en particular, han sido moléculas líderes para la creación de otras con similares efectos pero con menor efecto tóxico, muchas de los cuales fueron sintetizadas partiendo de las observaciones clínicas.

Por ejemplo:

- En el tratamiento de la fiebre tifoidea y en otras enfermedades infecciosas se utilizaba la sulfonamida IPTD, pero se observó que esta mostraba la propiedad de disminuir los niveles sanguíneos de glucosa, por un mecanismo de acción desconocido. La optimización de la actividad de esta estructura, llevó al descubrimiento de una nueva molécula, la tolbutamida, que actúa estimulando la

secreción de insulina de los islotes de Langerhans del páncreas.

- La actividad antibacteriana de algunas sulfonamidas está acompañada de un incremento del volumen urinario.

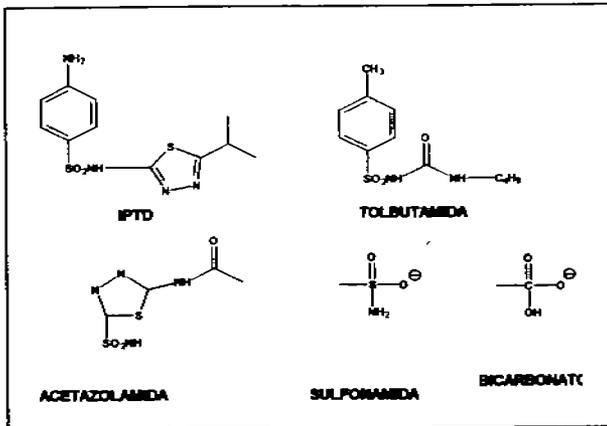


Fig. 7 Comparación entre sulfonamidas con diferente actividad farmacológica.

La optimización de esta actividad trajo consigo la obtención de antidiuréticos y de hipotensivos tales como la acetazolamida, la cual inhibe la anhidrasa carbónica en virtud de contar en su estructura con el grupo sulfonamida el cual presenta una similitud estructural con el ion bicarbonato (Fig 7).

Otros ejemplos de fármacos que han cambiado de uso a partir de las observaciones clínicas y o de sus efectos secundarios son las mostazas azufradas y nitrogenadas, que fueron utilizadas tanto en la primera como en la segunda guerra mundial como armas de

avanzada. Por los efectos que provocó en los sobrevivientes (destrucción de las células blancas) son ahora utilizadas para tratar la leucemia. También la nitroglicerina que fuera utilizada como explosivo, es ahora utilizada en el tratamiento de la angina de pecho. Como el uso de dosis de 100mg de aspirina para reducir la agregación plaquetaria y prevenir el riesgo de enfermedades cardíacas, tanto en pacientes con cardiopatías declaradas como de manera preventiva en personas con riesgo de sufrir este tipo de afecciones. Otras drogas tienen un nuevo uso al que tenían en la antigüedad: la reserpina encontrada en las raíces de una planta india la *Rauwolfia serpentina* y usada históricamente en la India para tratar la ansiedad, se introdujo su uso en el mundo occidental en 1950 como un antihipertensivo. La morfina utilizada por los egipcios para inducir el sueño, es ahora usada para mitigar los dolores intensos. La cocaína utilizada por los Incas para calmar el hambre y la fatiga, es actualmente utilizada como un anestésico local. ^{1,2,6.}

En la actualidad esta forma de obtener nuevos fármacos está siendo regulada por las autoridades, aunque los casos son relativamente comunes. ^{1,2,6.}

1.2.4. DISEÑO: OPTIMIZACIÓN MOLECULAR

El descubrimiento del prontosil en 1935 tuvo como consecuencia la síntesis y evaluación de cientos de sulfonamidas relacionadas, y de manera similar estos principios fueron aplicados a otros compuestos para obtener compuestos líderes. Aunque hoy en día esta "ruleta molecular" ha caído en desusó, estos estudios fueron de enorme utilidad en el establecimiento de una clara división entre las relaciones cualitativas de estructura química y las relaciones cualitativas de actividad biológica.

En el caso de las sulfonamidas, se estableció la siguiente generalización:

- *La presencia del grupo p-aminobenzenosulfonil es necesaria para que presente actividad biológica.*
- *La sustitución del grupo amino es aceptable, pero solo si la sustitución ocurre realmente in vivo.*

- La monosustitución del nitrógeno del grupo sulfonamido lleva consigo a una significativa variación en la actividad.

Este tipo de estudios y posteriores (Bell y Roblin, 1942) sentaron las bases de los estudios Relación Estructura Actividad (SAR) y posteriormente, Hansch y colaboradores (1993) sentó las bases de lo que hoy se conoce como **Relaciones Cuantitativas Estructura-Actividad** (o estudios QSAR) los cuales correlacionan la actividad biológica con parámetros fisicoquímicos como el coeficiente de partición, parámetros electrónicos y las propiedades de los grupos funcionales presentes en la molécula.

Este tipo de estudios no consideran de manera explícita la estructura tridimensional de los compuestos; sino que realizan los análisis tradicionales QSAR usando parámetros del sustituyente y variables indicadoras (descriptores) para describir las variaciones estructurales.^{2, 20}

1.2.5. DESCUBRIMIENTO: FARMACOLOGIA MOLECULAR

La optimización de moléculas de naturaleza endógena para obtener fármacos más selectivos hacia determinado receptor se logró gracias a la aparición de la farmacología molecular durante los años 60's. Un ejemplo claro de estas aproximaciones es como se fue dando la optimización de la **histamina** para obtener antihistamínicos (fig.8) Posteriores ensayos con cambios en la polaridad y la extensión de la cadena alquímica, así como de la introducción de diferentes anillos, dieron lugar primero a la síntesis de la **burimamida**, a la **cimetidina** y más

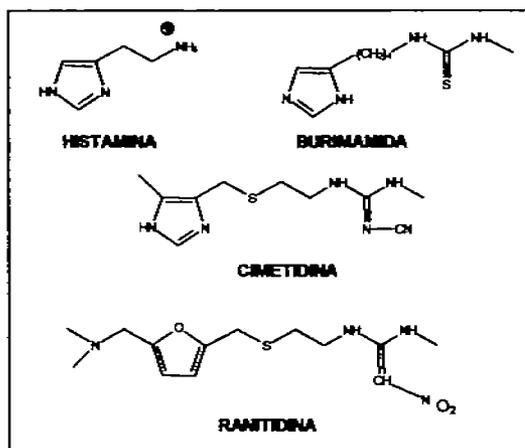


Fig. 8 Optimización molecular de la histamina hasta obtener la Ranitidina

recientemente a la ranitidina. Estos compuestos son capaces de impedir la unión de la histamina a sus receptores.²

1.2.6. DISEÑO: ESTRUCTURA BIOMOLECULAR

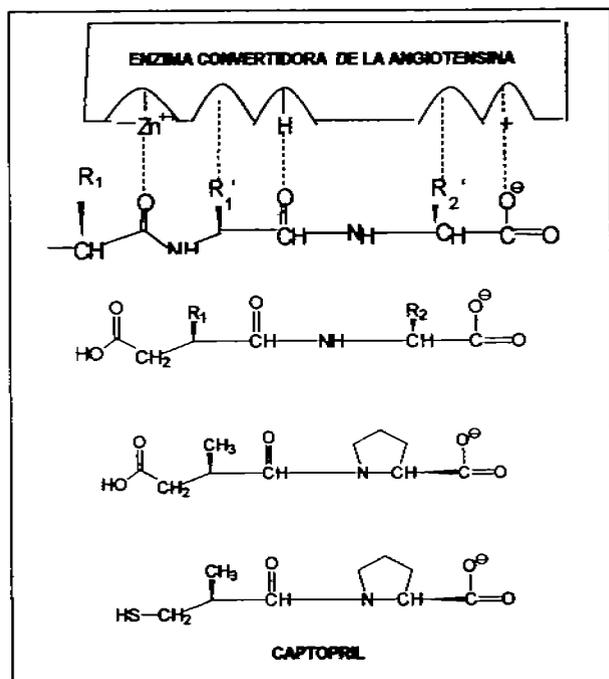


FIG. 9 Etapas sucesivas de la obtención del Captopril, inhibidor de ACE

El diseño es el proceso, en el cual lo que se busca es encontrar moléculas capaces de interaccionar o unirse a determinados blancos macromoleculares, ya sea que se encuentren unidos a la membrana celular (receptores), que se encuentran de manera libre en el torrente sanguíneo o en el citoplasma celular (enzimas). Son un ejemplo claro de esta estrategia es el desarrollo de fármacos inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), que se desarrollaron basados en su enzima correlacionada inhibidora la

carboxipeptidasa A, hasta llegar al antihipertensivo captopril (Figura 9)

Otro ejemplo es el desarrollo de los compuestos inhibidores de la enzima sialidasa del virus de la influenza; que se desarrollaron apartir de un inhibidor no selectivo, el ácido 2-desoxi-2,3-didehidro-D-N-acetil neuramínico (ADNAN) hasta llegar al compuesto que inhibe a la enzima de manera más efectiva (ADNAN II), al sustituir el grupo hidroxilo del inhibidor no selectivo por el grupo guanidino, disminuyendo la constante de afinidad (K_i) en cerca de cuatro magnitudes. (FIGURA 10)^{1,20}

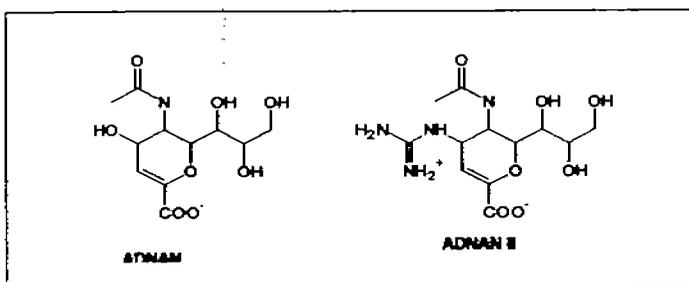


FIG. 10 Moléculas inhibidoras de la sialidasa del virus de la influenza. El cambio de un un grupo hidroxilo por un grupo guanidino le da mayor afinidad por el receptor

1.2.7. DESCUBRIMIENTO: TAMIZADO BIOQUÍMICO O “SCREENING”

Este procedimiento para el diseño de fármacos esta caracterizada por las observaciones hechas de las interacciones entre las plantas, animales, insectos, microorganismos y animales, así como de la medicina tradicional de las culturas indígenas. Es así como para llegar al compuesto captopril se partió de péptidos antihipertensivos encontrados en el veneno de serpientes.^{2,20}

Los mejores ejemplos son los antibióticos, muchos de los cuales fueron obtenidos a partir de los cultivos bacteriano por este proceso, el cual se basa en la observación de las relaciones de competición entre bacterias por los nutrientes del medio de cultivo o por el lugar que quieren colonizar, de tal manera que cualquiera de estas secreta sustancias que van impedir el desarrollo de la otra, dentro de estas sustancias se secretan los antibióticos.^{1,20}

1.2.8. DISEÑO: LIBRERIAS QUÍMICAS.

De una gran cantidad de compuestos existentes (1-10 billones de compuestos), que se encuentran en bases de datos y de los miles de compuestos que cada mes son sintetizados se pueden crear una gran variedad de compuestos químicos. Mediante la introducción de grupos funcionales a una molécula con la ayuda de computadoras se puede apoyar a los estudios SAR para obtener compuestos que pudieran mejorar en sus propiedades farmacológicas a los ya existentes. Además se pueden realizar la

síntesis en masa de una gran cantidad de compuestos y evaluarse su actividad biológica con ayuda de los métodos de síntesis de la conocida como Química Combinatoria, que es la síntesis química de compuestos en soporte por métodos automatizados.^{2, 20-22}

1.2.9. GENÓMICA, TERAPIA GÉNICA, PROTEÓMICA.

A lo largo del siglo XX se han logrado grandes avances en la comprensión de las bases genéticas de los fenómenos biológicos. La biología molecular de los ácidos nucleicos (ADN y ARN) tuvo un desarrollo vertiginoso, y en alrededor de 50 años pasamos de la comprensión básica de su naturaleza química (la doble hélice) a la secuencia completa de los cromosomas humanos. Sin embargo, el Proyecto Genoma Humano representa sólo "el fin del principio". La secuencia del genoma es un conjunto de datos muy valiosos, pero absolutamente estático. Pensemos por ejemplo en dos células de un mismo individuo, una hepática y una nerviosa, ambas poseen el mismo genoma, sin embargo, es obvio que presentan grandes diferencias funcionales y estructurales. Estas diferencias no pueden ser explicadas por su genoma.

Con el uso de algoritmos computacionales el proyecto internacional Genoma Humano (HUGO) y la compañía Celera Genomics anunciaron que habían secuenciado del 97-99% de los genes que comprenden el genoma humano.

Se logró dar un gran paso en el conocimiento de la vida. Teóricamente tenemos toda la información para "crear" un hombre a la carta: sin enfermedades, biológicamente apto, físicamente hermoso, longevo. Pero esto no es todo, ya que solo tenemos la lista de materiales. No hemos terminado de comprender la vida y algunos ya se apresuran a querer jugar a ser dioses. El saber qué gen codifica para "x" proteína nos ha ayudado a entender un poco más lo maravilloso, coordinado, complejo y lo perfectamente orquestada que es la sinfonía de la vida. Es por eso que Ian Wilmut, el padre de la Oveja Dolly se negó a la petición de clonar personas que habían muerto y sus familiares

querían tenerlos de nuevo. Se negó porque no sabía las repercusiones que tendría la clonación.

En el lenguaje científico últimamente son muy abundantes los denominados "omas", es decir, términos conceptuales entre los que podríamos destacar genoma, transcriptoma, metaboloma y proteoma. En realidad, con ellos se trata de describir los diferentes niveles de análisis con los que se puede abordar el funcionamiento de nuestras células, órganos, tejidos u organismos. De este modo, el genoma (constituido por ADN) es el conjunto de genes. Una parte de esos genes se transcriben en forma de ARN mensajero, cuyo conjunto sería el transcriptoma. Los ARN mensajeros codifican la síntesis de proteínas y el conjunto de todas las proteínas obtenidas directamente o tras diversas transformaciones constituye el proteoma, mientras que el término metaboloma se reservaría al conjunto de los diferentes metabolitos existentes con diversas naturalezas químicas.

La Genética trata de los mecanismos de la herencia, que se expresan a través de los genes. La Genómica, precisamente, trata de conocer la naturaleza íntima de los genes y su funcionamiento. Sus logros están y estarán, en gran parte, íntimamente ligados a los del Proyecto Genoma Humano, con la identificación y secuenciación de nuestros alrededor de 40.000 genes, lo que, sin duda repercutirá muy favorablemente en numerosas facetas relacionadas con nuestra vida, ambiente, bienestar, salud o enfermedades.

Sin embargo, las proteínas son las verdaderas expresiones funcionales del genoma, de los genes. Y los conocimientos actuales hacen insostenible lo que fue denominado como uno de los dogmas de la biología, es decir, la idea de un gen-una proteína. El mundo de las proteínas nos está apareciendo como un mundo cuantitativamente (y posiblemente, cualitativamente) mayor y más complejo que el de los genes y, además, aún nos es bastante desconocido. Ante una situación concreta, muchas veces no sabemos cuáles son las proteínas que se expresan, cómo se

cuantifica esa expresión, ni las consecuencias que sobre la misma ejercen diversas modificaciones posibles de sufrir por parte de una proteína original que la lleva a convertirse en diferentes modalidades de esa proteína con funciones muy diversas. Por otra parte, cada vez es más evidente, que una misma forma de proteína en un ambiente biológico determinado, puede tener una función que sea muy diferente a la que ejerce en otro ambiente distinto.²⁵⁻²⁷

En el artículo "Proteomics in Genomeland" publicado en el número 16 de Febrero del 2001 en la revista Science Stanley Fields del Howard Hughes Medical Institute escribe: *"En el país de las maravillas de secuencias completas, quedan muchas cosas que el estudio genómico no puede hacer, y es por esto que el futuro pertenece al estudio proteómico, el cual es mucho más complejo que el análisis lineal del ADN de los genes., ya que su análisis debe llevarse mucho más allá. Los estudios proteómicos incluyen además de la identificación y cuantificación la importante labor de determinar su localización, actividades, interacciones, modificaciones y en última instancia su función."*²⁸

Por tanto, la situación es que estamos comenzando a descubrir cómo, desde un cierto número de genes se puede producir un número mucho mayor de proteínas y comenzamos a comprender que los mecanismos de modificación postraduccionales (tras su biosíntesis) de las proteínas tales como su fosforilación, glicosilación, polimerización, etcétera, afectan a aspectos esenciales de su funcionalidad. Y desconocemos casi totalmente aspectos tan importantes sobre la funcionalidad de las proteínas como son las influencias medioambientales o las relaciones multigénicas que subyacen en la mayoría de las enfermedades o en fenómenos como el del envejecimiento. Todo ello no podría aclararse por el mero examen y conocimiento del genoma.

Para muchas personas quizá supuso una decepción saber que "solo" poseemos unos 40.000 genes, un número no mucho mayor que el de otros organismos mucho más inferiores. Para tales personas podría serles de consuelo conocer que la relación entre número de proteínas y genes es sólo de 1:2 en bacterias, de 1:3 en levaduras, algo más superior en organismos intermedios, pero en los humanos ese número es mucho más elevado, posiblemente en el rango de 1:6 ó 1:8.

Es, pues, evidente que tenemos que ir más allá del genoma. Ya comienza a hablarse de que estamos entrando en la era postgenómica y algunos científicos manejan el término de operómica, como el conjunto de abordajes de estudio a realizar durante todo el trayecto que va desde el ADN, pasando por el ARN, hasta las proteínas y el análisis molecular y celular de sus funciones.

Posiblemente quede fijada la fecha de abril del 2001 como la del nacimiento del Proyecto Proteoma Humano (PPH), coincidente con la primera reunión internacional que se celebró para presentar a HUPO, es decir, la organización mundial creada para coordinar y estimular todos los estudios proteómicos que se pretenden integrar dentro del PPH. Como presidente de HUPO se eligió a un prestigioso científico, el Dr. Sam Hanash, un pionero en la proteómica del cáncer, con contribuciones científicas muy valiosas que van desde desarrollos de complejas tecnologías analíticas, construcción de bancos de datos de las expresiones proteicas, integración de datos genómicos y proteómicos, hasta ciertas aplicaciones clínicas como las posibilidades proteómicas en la clasificación de las enfermedades, en el desarrollo de nuevos medicamentos o en el descubrimiento de nuevos biomarcadores aplicables al diagnóstico precoz del cáncer.

Partiendo de la realidad inicial de que las organizaciones ya integradas en HUPO cuentan con más de mil millones de dólares de financiación, el primer congreso sobre el PPH logró establecer una serie de objetivos más o menos generales para ser cumplimentados, entre los que destacan crear un Catálogo general de proteínas humanas, en el que se incluyan todas las variantes posibles para cada proteína.

También se estimulará el conocimiento de las interacciones entre proteínas y proteínas o entre proteínas y ácidos nucleicos, sin olvidar las investigaciones para descubrir los mecanismos que gobiernan los niveles relativos de expresión y las formas de esa expresión de las proteínas de cada tejido u órgano en situaciones de salud, enfermedad o terapia.

Existe la seguridad de que la Proteómica será muy relevante en la próxima y esperada Medicina molecular individual, ya que casi todos los medicamentos o son proteínas o ejercen sus acciones a través de proteínas. Además, las funciones o disfunciones de las proteínas ligadas a las diversas patologías, sí como sus sistemas de participación, frecuentemente dependen de sus modificaciones postraduccionales, por lo que no están directamente codificadas por el Genoma. Por ello, la Proteómica será la tecnología fundamental para lograr convertir los avances genómicos en una comprensión más profunda de la naturaleza de las enfermedades y de los modos de combatirlas.

En suma, comienza la era Postgenómica, y se inicia basada en la esperanza de los inmediatos e importantes logros de la Proteómica.²⁵⁻²⁷

1.3. DEFINICIÓN Y OBJETIVOS DE LA QUÍMICA MEDICINAL

Considerando una definición etimológica la química medicinal es una rama de la farmacología: ciencia que estudia los fármacos (*pharmakon* + *logos*). En este sentido la **Química Medicinal** trata del diseño y producción de compuestos que pueden ser usados, tanto en animales como en humanos, para la prevención y tratamiento de enfermedades. Estudiando los compuestos existentes, tanto de sus propiedades biológicas como de los estudios de relación estructura-actividad.

La Comisión Especializada IUPAC dio una definición temprana "La Química Medicinal trata del descubrimiento, desarrollo, identificación y la interpretación del modo de acción de compuestos con actividad biológica a escala molecular. Aunque no está

restringido a entidades de origen sintético, ya que también incluye el estudio de compuestos bioactivos, productos metabólicos y de sus fármacos relacionados.^{1, 3, 7, 23}

Esta definición se expande constantemente como resultado de nuevas ideas, descubrimientos científicos y de aparatos más sofisticados. Por lo que trataría de encerrar en una definición sería limitarla y la ciencia no limita.

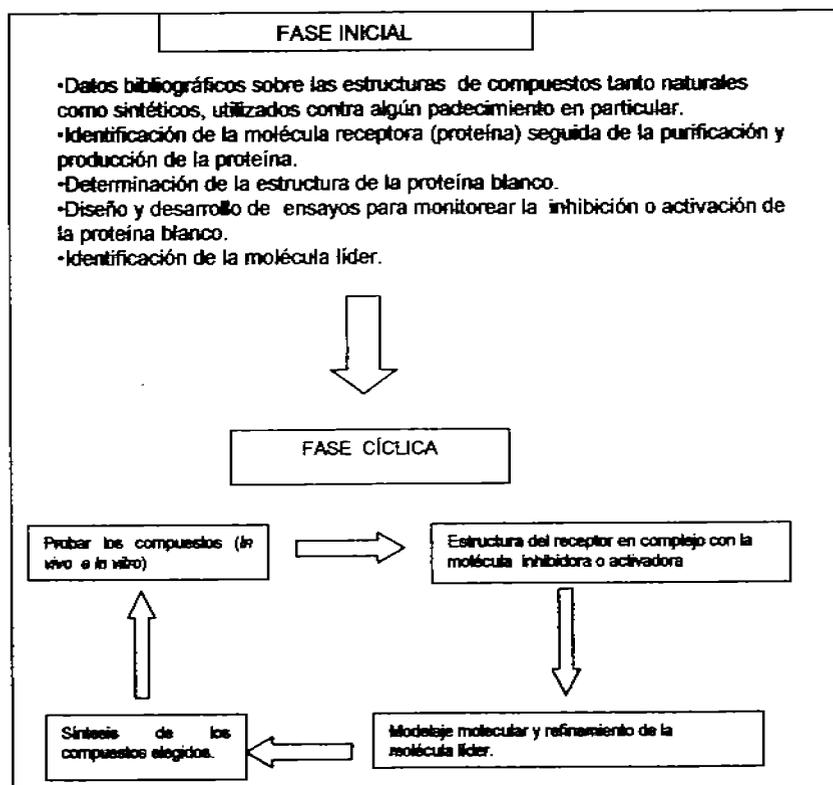
La Química Medicinal es una ciencia interdisciplinaria y multidisciplinaria situada en la interfase de la química orgánica e inorgánica con las ciencias de la vida tales como bioquímica, farmacología, biología molecular, toxicología e inmunología por una parte; y por otro lado con disciplinas en las que se basa la química tales como fisicoquímica, cristalografía, espectroscopía y tecnología computacional (como el uso de librerías químicas así como de programas de diseño molecular)

Originalmente la Química Medicinal solo realizaba modificaciones a moléculas pequeñas y su estudio se limitaba solo a ellas. En la actualidad es mucho más compleja que eso. Se ha visto beneficiada y ha logrado avances significativos en la construcción y síntesis de moléculas más complejas gracias al progreso en los procesos de síntesis orgánica (ej. Reacciones estereoselectivas, nuevas reacciones de acoplamiento C-C, técnicas de separación cromatográfica más sencillas, química combinatoria, síntesis automatizadas, etc.) así como en lo relativo a las técnicas de identificación estructural (ej. High-field NMR, cristalografía de Rayos X, HPLC, etc.).

Para la obtención de nuevos principios activos, se puede partir de cualquiera de los puntos mencionados en el esquema 1. La elección de una fase dependerá de la información y/o de los medios con que se cuente.⁴

La fase inicial es seguida por ciclos de determinación estructural auxiliados de la cristalografía de rayos X, por Resonancia Magnética Nuclear, Modelaje Molecular,

Síntesis Química y de verificación experimental tanto a escala biológica como bioquímica.



Esquema 1. Etapas en el desarrollo de Fármacos

1.4. DISEÑO DE FÁRMACOS ASISTIDO POR COMPUTADORA (DFAC).

El diseño de fármacos auxiliados por computadora es de las más nuevas estrategias utilizadas dentro de la química medicinal. Esta disciplina es mejor conocida como Modelaje Molecular. El uso del supercómputo para el desarrollo de nuevos principios activos, puede aplicarse prácticamente a cualquier molécula activa de la cual se conoce su efecto farmacológico aunque no necesariamente se conozca su blanco molecular (receptor, canal iónico, enzima, proteína de transporte, etc.). En la práctica el diseño o modelaje molecular sigue dos estrategias:

- 1) Diseño Directo de Sustancias Activas (DDSA)
- 2) Diseño Indirecto de Sustancias Activas (DISA)



FIG.11 Receptor interactando con proteína activadora

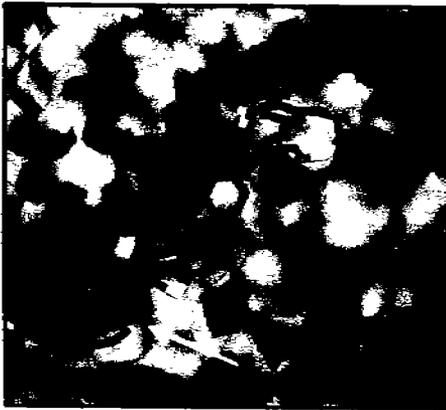


FIG.12 Fármaco interactando con su receptor

El DDSA se puede considerar cuando se conoce la estructura tridimensional del blanco macromolecular (Fig.11) La química computacional está capacitada, fundamentada en el conocimiento de la estructura tridimensional obtenida por cristalografía de Rayos X, para construir la macromolécula. El siguiente paso es optimizar tanto el fármaco elegido como la molécula blanco y la interacción entre ambos, buscando la

geometría más estable y la complementariedad electrónica entre ambos, ligando-receptor (Fig.12) La conformación del ligando puede modificarse o bien éste puede ser sustituido por otro u otros, a manera de tamizado, para buscar las condiciones más favorables de interacción (puenteo) Este procedimiento se ha visto favorecido de forma muy importante por los avances en el conocimiento de las estructuras

tridimensionales de los receptores, logrados por la Proteómica y el Proyecto Proteóma Humano.

El DISA se aplica o se considera cuando se desconoce la estructura tridimensional del blanco macromolecular. En este caso lo que se hace es llevar a cabo una comparación entre moléculas que tienen en común un efecto o son ligandos específicos

para un determinado receptor o enzima. De tal manera que este estudio nos revele una serie de datos moleculares sobre los compuestos y la relación que pudiera existir entre estos para que determinado compuesto presente actividad biológica, aunque existan aparentes diferencias químicas. El objetivo es determinar el farmacóforo.

En ambos casos la modificación de los principios químicos, se realiza manteniendo el esqueleto base. Los químicos médicos o farmacéuticos modifican todas las posiciones que son susceptibles de cambiar, ya sea añadiendo diferentes grupos: anillos, cadenas alifáticas; sustitución de enlaces sencillos por dobles y viceversa; o bien por la sustitución/eliminación de átomos de halógenos.

En este juego de ensayo-error hace aparecer toda una gama de moléculas, al mismo tiempo que se establecen un conjunto de relaciones cuantitativas entre las propiedades fisicoquímicas y la actividad biológica.

Algunas de las propiedades que se pueden obtener apartir de la Química Computacional se muestran en el cuadro 1.

| | |
|------------------------------|---|
| DATOS GEOMÉTRICOS | Longitud de enlace, ángulo de enlace, ángulos torcionales, estados de transición, estructura tridimensional, intermediarios de reacción, distancias interatómicas, conformaciones farmacofóricas. |
| PARÁMETROS TERMODINÁMICOS | Energía molecular, calores de formación, entropía, energía de activación, rutas de reacción, poblaciones conformacionales, energías de solvatación, energía potencial de superficie. |
| INTERACCIONES MOLECULARES | Energías de asociación, sitios de unión en macromoléculas, pka's, reglas de Woodward-Hoffman. |
| PROPIEDADES ELECTRÓNICAS | Distribución de carga, momento dipolo, potencial de ionización, afinidad electrónica, afinidad protónica, polarizabilidad. |
| PROPIEDADES DE TRANSPORTE | Liposolubilidad, volumen molecular, área superficial molecular. |
| PROPIEDADES ESPECTROSCÓPICAS | Frecuencia vibracional, intensidades Raman e Infrarrojo, energías de excitación UV, coeficientes de extinción. |

Cuadro 1. Propiedades que se pueden obtener apartir de estudios de Química Computacional

La contribución del DFAC, en la obtención de compuestos líderes, es en ocasiones limitada. Debido a que los estudios de modelaje molecular solo identifican nuevas moléculas o ligandos a partir de compuestos o sistemas biológicos ya conocidos. De la misma forma que los estudios QSAR solo optimizan a partir de una serie de parámetros de compuestos ya descubiertos. No obstante, el DFAC presenta varias ventajas:

- Puede explicar la falta de actividad de ciertos análogos de determinados compuestos activos. El conocimiento de la estructura o de ciertos parámetros electrónicos, permiten explicar la poca o nula actividad de compuestos, lo cual es un factor que implica la reducción de costos por la disminución de compuestos a sintetizar.
- Puede discriminar o hacer la diferencia entre estereoisómeros. La estereoespecificidad es uno de los principales factores a considerar en una interacción fármaco receptor.
- Puede distinguir entre antagonistas y agonistas. Esto es relativamente sencillo para los antagonistas los cuales, de acuerdo a la teoría de Ariens's, que dice que se puede obtener el correspondiente agonista por la adición de algunos anillos aromáticos suplementarios, los cuales participan en la unión a sitios adicionales. Es menos evidente cuando se busca el antagonista a partir del agonista.
- El modelaje molecular puede ayudarnos a predecir compuestos más potentes o a partir de compuestos ya existentes o, lo que es aún mejor, ayudarnos a elucidar moléculas completamente nuevas.

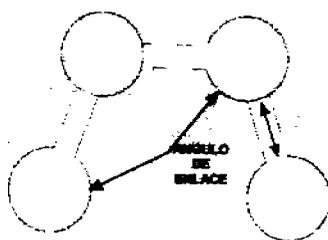
Lo que ha determinado el éxito de la química medicinal es sin duda el espíritu de retroalimentación que ha existido entre las diversas ramas de la ciencia, a partir de los avances obtenidos en cada una de estas, lo que permite optimizar los recursos materiales y humanos en aras de la ciencia.

1.5. MODELAJE MOLECULAR

El término **modelaje molecular** se aplica al conjunto de métodos que pretenden predecir las propiedades y el comportamiento de los sistemas químicos en forma numérica apoyándose en entornos gráficos, para la manipulación de moléculas, auxiliados principalmente de métodos computacionales. El objetivo fundamental es explicar los fenómenos químicos observados en el laboratorio y predecir propiedades moleculares que aún no han sido observadas, todo ello recurriendo a modelos teóricos que permitan resolver las ecuaciones planteadas en los modelos surgidos de la aplicación de un determinado sistema de leyes físicas fundamentales a los sistemas moleculares.²⁸⁻³⁸

El modelaje 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**.²⁸⁻³

La química computacional está compuesta de dos grandes áreas basadas en principios físicos distintos. Por una parte, tenemos la **mecánica molecular** que se basa



INTERACCIONES DE NO ENLACE

Fig. 13 Fuerzas involucradas en los enlaces entre átomos

en la **mecánica clásica**, considerando a los átomos como partículas puntuales y rígidas (dotadas de masa y carga) interaccionando unos con otros mediante enlaces que se asemejan a resortes. El modelo matemático que explica la deformación de los resortes, puede emplearse para describir la capacidad de los enlaces de estirarse, doblarse y girar por medio de funciones clásicas de energía potencial (fig. 13)²⁸⁻³⁸

Por otra parte, tenemos los **métodos de estructura electrónica** que se basan en la aplicación de la **Mecánica Cuántica** a los sistemas atómicos y moleculares, denominada Química Cuántica. ²⁸⁻³⁸

Tanto la **Mecánica Molecular (MM)** como los **Métodos de Estructura Electrónica (MEE)** permiten calcular un conjunto básico de propiedades, cuyos exponentes mas destacados son la **energía** de un determinado arreglo de núcleos (conformación de una molécula), la geometría óptima de un sistema molecular (es decir, el arreglo geométrico de los núcleos considerados que proporcione la energía mas baja) otras propiedades moleculares como pueden ser, por ejemplo, las frecuencias vibracionales y el momento dipolar. ²⁸⁻³⁸

Los distintos métodos dentro de la **MM** comparten el hecho general de basarse en las mismas leyes de la física clásica. Se diferencian en:

- (a) El tipo de ecuaciones que definen como varía la energía potencial de una molécula con la geometría de sus átomos componentes;
- (b) El tipo de los átomos, entendiéndose por ello las características que definen a un átomo de número atómico dado en el entorno molecular en que se encuentre (con lo cual, por ejemplo, un oxígeno carboxílico no es equivalente necesariamente a uno alcohólico);
- (c) En el conjunto de parámetros que ajustan las ecuaciones aplicadas a los átomos definidos por su tipo, a los valores experimentales (o calculados por otros métodos) que se emplean para la parametrización. Estos tres componentes definen lo que se conoce con el nombre de campo de fuerza y definen completamente un método de **MM**. ²⁸⁻³⁸

Los **MEE**, como mencione anteriormente, emplean la **mecánica cuántica** en lugar de la mecánica clásica, para estudiar el comportamiento de núcleos y electrones.

Los MEE se dividen en tres grupos principales en función que no usen más que las constantes atómicas fundamentales o empleen datos experimentales para parametrizar parte de los cálculos. Todos los MEE se basan en el planteo y solución aproximada de la Ecuación de Schrödinger. Estos métodos son:

- 1) **Ab initio**: En estos métodos se pretende resolver la ecuación de Schrödinger, incluyendo en los cálculos todos los electrones de valencia. Tienen el inconveniente de ser métodos muy costosos desde el punto de vista computacional y, consecuentemente aplicables sólo a moléculas muy pequeñas. El factor limitante en estos métodos es el tiempo necesario para calcular el gran número de integrales bielectrónicas sobre funciones de base y/o para transformarlas en integrales sobre orbitales moleculares.
- 2) **Funcionales de la densidad**: La teoría de funcionales de la densidad presenta una alternativa para estudiar el estado basal de los sistemas microscópicos. En esta teoría se trabaja con la densidad electrónica, la cual es una cantidad más simple que las soluciones de la ecuación de Schroedinger. Sin embargo es importante recalcar que ésta es una teoría de estados basales.
- 3) **Semiempíricos**: Los métodos de Mecánica Molecular, por el contrario, son aplicables a grandes moléculas, pero no tienen en cuenta en forma explícita la estructura electrónica. Consecuentemente, es necesario encontrar alguna metodología intermedia que permita tratar la estructura electrónica de las moléculas pero en forma aproximada, sin los costosos requisitos de los métodos ab initio. Este camino del medio lo proporcionan en cierta forma los métodos semiempíricos. Para la obtención de energía se emplean aproximaciones, considerando tan sólo los orbitales atómicos de valencia. En estos métodos se incluyen dentro de los cálculos valores parametrizados obtenidos experimentalmente.

- CNDO: Complete Neglect of Differential Overlap, mayormente en desuso
- INDO: Intermediate Neglect of Differential Overlap, sobrevive con dos parametrizaciones diferentes,
- INDO/1 para geometrías (no usada frecuentemente) e INDO/S parametrizado para reproducir propiedades espectroscópicas, sobrevive mayormente en la versión de Zerner, ZINDO/S
- MINDO: Modified Intermediate Neglect of Differential Overlap, actualmente en desuso
- MNDO: Modified Neglect of Differential Overlap, actualmente en desuso excepto cuando no existe parametrización específica en los métodos más modernos
- AM1: Austin Model 1, uno de los dos métodos más modernos en uso, debido a Dewar
- PM3: Parametric Method Number 3, el segundo de los dos métodos más modernos en uso, debido a Stewart.

Es difícil decidir cual de estos es el mejor, ya que esto depende del sistema a estudiar y la información que se desee obtener.²⁸⁻³⁸

2.1. INTRODUCCIÓN

El término inmunidad deriva de la palabra latina *immunitas*, el cual hacía referencia a ciertos privilegios que tenían los senadores romanos durante el desempeño de su cargo, tales como librarlos de diversas obligaciones civiles o procesamientos legales (algo parecido al fuero de nuestros legisladores). Se le atribuye a Tucídes (siglo V a.c.) el uso del vocablo. Aunque es muy probable que el concepto haya existido mucho tiempo antes, tal como ocurría en el tratamiento de la viruela en la antigua China.

La inmunología ha sentado sus bases a través del tiempo en la capacidad de observación y manipulación del sistema inmunológico bajo condiciones controladas. Tal como realizó Edward Jenner y sus estudios que sentaron las bases de lo que es la vacunación, mediante su tratado *Vaccinus* (1798)

En el transcurso de las dos últimas décadas del siglo XIX, gracias a los descubrimientos de las bacterias infecciosas realizados en París por Pasteur, a los realizados por Elie Metchnikoff (1882) sobre la inmunidad celular, a los estudios llevados a cabo por Emil Fisher y Paul Ehrlich sobre los receptores celulares; así como a la consecuente ampliación de la etiopatogénesis de las enfermedades causadas por microorganismos infecciosos, ayudaron a la individualización y a la comprensión de los fenómenos inmunológicos. Metchnikoff y Ehrlich compartieron el premio Nobel de Medicina en 1908 por sus investigaciones, Ehrlich fue uno de los primeros en propugnar la importancia de la inmunidad humoral en los mecanismos de defensa. De esta manera se pudieron desarrollar nuevas estrategias terapéuticas, como la producción de vacunas atenuadas (L. Pasteur, 1880).

Desde entonces hasta los años 50 y 60, los conocimientos del sistema inmunitario del hombre se han ampliado enormemente con la formulación de la teoría de la selección clonal y con el descubrimiento de las inmunodeficiencias humanas (N. Jeme

y F. Burnet, 1955-57) así como de los descubrimientos importantísimos sobre la estructura y síntesis de las moléculas de anticuerpos (Porter, Edelman y Nisonoff, 1959) para culminar con los descubrimientos sobre el Complejo Principal de Histocompatibilidad (MHC), llevados a cabo primero por Hugh O. McDevitt en la Universidad de Harvard durante los años sesenta y posteriormente a los realizados por Peter C. Doherty y Rolf M. Zinkernagel (1976), galardonados con el premio Nobel de Medicina 1996.

En las décadas comprendidas entre 1960 y 1980 se dio un progreso importante en lo relativo a la inmunofarmacología, abriendo interesantes perspectivas para la terapia de las inmunodepresiones, para el control del rechazo de los trasplantes, para la lucha contra las enfermedades autoinmunes y las neoplasias.

El descubrimiento y el esclarecimiento del papel de las citocinas así como el de las hormonas tímicas; han conducido al empleo de éstas en las terapias inmunológicas, primero de manera experimental y luego a gran escala. Así se llegó a la obtención de lisados bacterianos y a la producción de hormonas tímicas suministrables por vía oral o parenteral.

Paralelamente a estos tratamientos han surgido en los últimos años otras formas de terapia, que han conseguido algunos resultados alentadores en el hombre. El Instituto Nacional del Cáncer en Estados Unidos de Norteamérica elaboró en 1983 un vasto programa para el estudio de las sustancias dotadas de actividad inmunológica, dicho programa es el de Modificadores de la Respuesta Biológica (MRB). En un principio fue dirigido como una terapia alternativa para individuos con cáncer, pero se sabe que muchos de estos compuestos potencializan los mecanismos efectores y/o reguladores de la resistencia infecciosa. Estos agentes son tanto de origen natural endógenos y exógenos, como productos sintéticos.

Tales productos de síntesis han traído la importante ventaja de una mayor pureza, fundamento de una actividad biológica constante y de una evaluación más

precisa y más ágil de los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos, así como de una mayor reproducción de los resultados.

2.2. INMUNOLOGIA: ¿CÓMO OPERA LA INMUNIDAD?

La respuesta inmunológica representa una serie de ventajas selectivas que permiten a los organismos detectar, confinar y eliminar tanto microorganismos patógenos como células aberrantes, incluyendo células neoplásicas. De presentarse fallas en este sistema pueden conducir a infecciones graves y/o algún tipo de cáncer. Por otra parte, las fallas en su regulación pueden ocasionar el desarrollo de alergias graves y enfermedades autoinmunes.

La respuesta inmunológica (IR) comprende dos grandes ramas:

- a) Inmunidad Innata o inmunidad natural, o bien Mecanismos de Defensa Inespecíficos (MDI)
- b) Inmunidad adquirida o Mecanismos de Defensa Específicos (MDE).

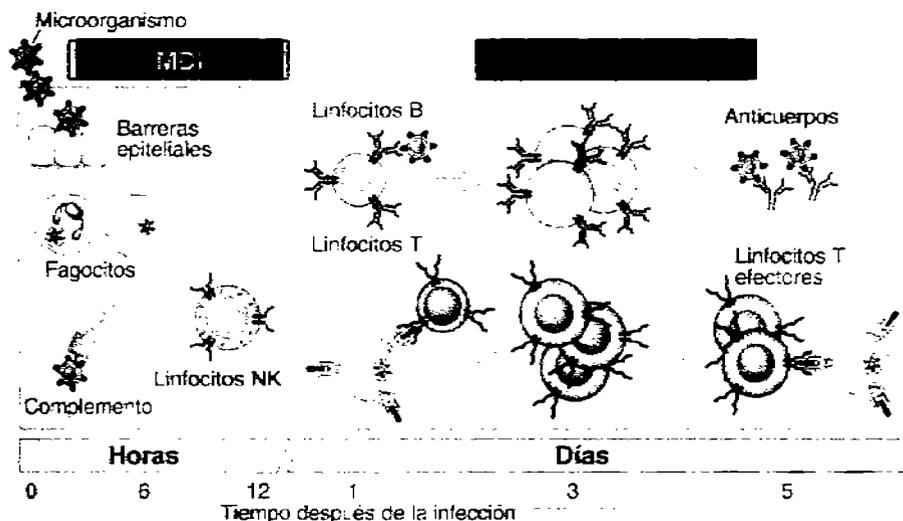


Fig. 14 Algunos MDI y MDE, así como el tiempo aproximado de reacción.

a) La primera apareció en el proceso evolutivo más tempranamente y es muy probable que lo hiciera como condición indispensable para la formación de los primeros organismos multicelulares. Esta inmunidad innata involucra barreras mecánicas, y químicas de la piel y mucosas (Fig. 14)

- 1) Dentro de las barreras mecánicas se encuentran la tos, el estornudo, el movimiento peristáltico del intestino, la misma piel, la mucina producida por las células caliciformes del tracto respiratorio, las vibrizas que detiene las partículas cuando respiramos.
- 2) Producción de sustancias como la lisozima (en la saliva) que rompe los enlaces B-1,4 del ácido murámico de las bacterias Gram positivas. Producción de ácidos grasos como el ácido undecílico que actúa como fungicida y el ácido oleico que actúa como bactericida (producidos por las glándulas sebáceas). En el alvéolo el pneumocito tipo II produce unas sustancias surfactantes, las cuales por ser lectinas activan la cascada del complemento. En el tracto digestivo se producen el HCl que desnaturaliza proteínas, el jugo gástrico, las sales biliares que tienen un efecto saponificante de la pared bacteriana (ácido taurocólico y glicocólico), defensinas; que son péptidos antimicrobianos y citotóxicos que son producidas por las criptas. En el mismo tracto digestivo tenemos la microflora que secreta el ácido láctico que impide la proliferación de otras colonias bacterianas por el cambio de pH, producen bactericidinas conocidas como porinas o perforinas ya que actúan promoviendo la lisis de otros microorganismos.
- 3) Un mecanismo de gran relevancia no específico es el fenómeno inflamatorio que es originado cuando existe un daño tisular ocasionado por cualquier agente físico, químico o biológico, tiene como finalidad reparar el tejido funcional afectado. consiste en una vasodilatación con salida de líquido y células de defensa como leucocitos, neutrófilos y monocitos a los tejidos de los cuales fagocitan y eliminan a los microorganismos. Al haber daño tisular queda expuesta la colágena lo cual va dar

lugar a la activación de diferentes cascadas. De manera sucesiva. La cascada de coagulación activa por medio del factor XIIa a la cascada de las cininas, la cual a su vez activa a la bradicinina que es la responsable de activar a la célula cebada para la producción de diferentes citocinas como IL-1, IL-3, TNF α , factores quimiotácticos de eosinófilos, de neutrófilos y de plaquetas; así como de otras moléculas como prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclina y óxido nítrico que desencadenan y potencializan la inflamación

- 4) Producción de interferón (INF), el cual sirve para impedir que en las células infectadas por virus, se lleve a cabo la replicación viral. No impide la infección sino que impide la replicación viral dentro de las células infectadas. El INF que se produce en los MDI es de tipo I que incluye al INF α y al INF β .
- 5) En los últimos años han tomado una gran importancia el estudio de un tipo especial de células conocidas como células NK (del inglés *Natural killer*) que participan en la eliminación de células infectadas por virus y de células aberrantes incluyendo las neoplasias.
- 6) Otras células importantes son las Células dendríticas (CD) que participan tanto en los mecanismos específicos como en los no específicos. Estas reciben el nombre de Células de Langerhans cuando se encuentran en la piel. Estas células se conocen como "centinelas" por ser las que presentan el Antígeno (Ag) a los linfocitos, ya que estos además de no tener la capacidad de reconocer al Ag si no es antes procesado por las CD's no se encuentran en los sitios donde entra o se encuentra el Ag, y son las CD's quienes llevan el Ag a los linfocitos (L ϕ) T vírgenes y de esta manera montar la respuesta inmune. Se sabe que las células dendríticas son de 100-1000 veces mejores presentadoras de antígeno que los macrófagos (M ϕ) y son de las principales células de la respuesta secundaria (de memoria).

- 7) Se ha observado que existe una estirpe de los linfocitos T que participan dentro de los MDI, estos se conocen como Linfocitos TCR1/ γ δ , por su receptor de membrana que reconoce carbohidratos y lípidos. Se encuentran en piel e intestino. Pertenecen a lo que se nombra como Tejido Linfoide Asociado a Mucosas (MALT).
- 8) Sistema del complemento. En él participan una serie de 20 proteínas solubles activables, 10 proteínas asociadas a membrana (receptores en la misma célula) y proteínas inhibitoras. Una vez activado promueve el fenómeno inflamatorio y la lisis de microorganismos. Puede ser activado por dos vías. En ausencia de anticuerpos el sistema se puede activar por otros mecanismos, como es la llamada vía alterna o por la vía de las lectinas, como la manosa. Sin embargo el sistema del complemento es más efectivo cuando se activa por anticuerpos.

En resumen la activación del complemento se da por:

- Vía Alterna: activación por Lipopolisacáridos (LPS) de bacterias Gram negativas.
- Vía de las Lectinas: activación por proteínas de unión a manosa o mananas (MBL) de bacterias Gram positivas.
- Vía Clásica: activación por complejos inmunes o por la reacción Antígeno-Anticuerpo

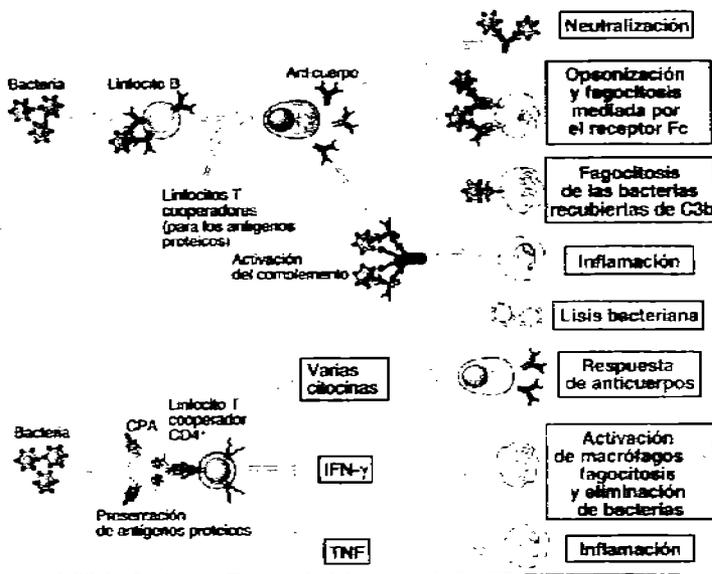


Fig. 15 MDE frente a microorganismos celulares.

b) La respuesta inmunológica específica o adquirida es más reciente en la evolución de los animales. En la actualidad se considera que su papel es amplificar y hacer más efectivos los mecanismos de la inmunidad innata (Fig. 15).

Esta respuesta se inicia cuando una Célula Presentadora de Antígeno (CPA), capta a éste, en su interior lo rompe en fragmentos, y los incorpora en las moléculas del Complejo Principal de Histocompatibilidad (CPH) que se encuentran en la superficie de las CPA. Estas moléculas son de dos tipos: Clase I y Clase II. En el caso mencionado anteriormente, los péptidos serían presentados en moléculas de clase II. Las moléculas de clase I, presentan péptidos de proteínas virales que han sido rotas en los proteosomas. Por lo tanto las moléculas de clase I como las de clase II presentan péptidos pero a diferentes linfocitos (L_4) T. Las de clase I presentan los segmentos

producción de anticuerpos (Ac). Existe un balance preciso y orquestado entre estas dos subpoblaciones de $L\phi$ T_H , lo que permite disfrutar de salud, ya que un desequilibrio entre estas dos puede conducir a enfermedades autoinmunes, infecciones o fenómenos de alergia. Las dos subpoblaciones se autorregulan por medio de la elaboración de citocinas en forma cruzada, así T_H1 produce interferón gamma ($IFN-\gamma$) que inhibe a T_H2 y a su vez T_H2 produce interleucina 10 (IL-10) que inhibe T_H1 .

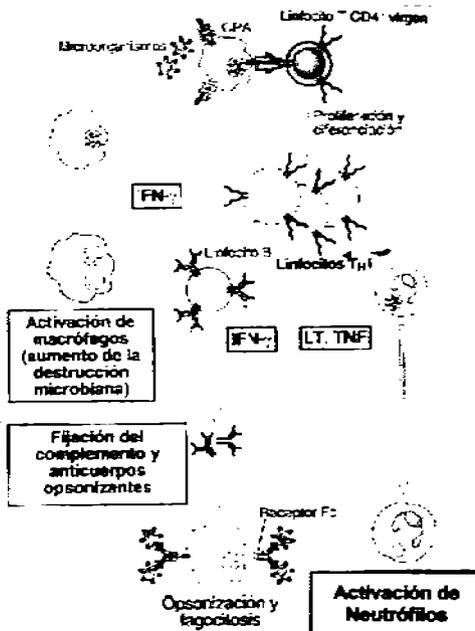


Fig. 17 Funciones Efectoras de los Linfocitos TH1

Una vez que se han completado los procesos indicados anteriormente, la respuesta inmune específica empieza a tener incidencia en los fenómenos de protección. Así los Ac son capaces de neutralizar toxinas, venenos, enzimas, y algunos virus, pero su acción más relevante contra bacterias llamadas piógenas la hacen los Ac en conjunción con las proteínas del complemento promoviendo el fenómeno inflamatorio. Esto conduce a la salida de leucocitos de la sangre, los cuales llegan a sitio donde se encuentran los gérmenes por acción quimiotáctica seguida de opsonización de los microorganismos y muerte de las bacterias en el interior de las células fagocíticas, por

acción de sustancias microbicidas oxidantes derivadas de oxígeno y nitrógeno. Algunas

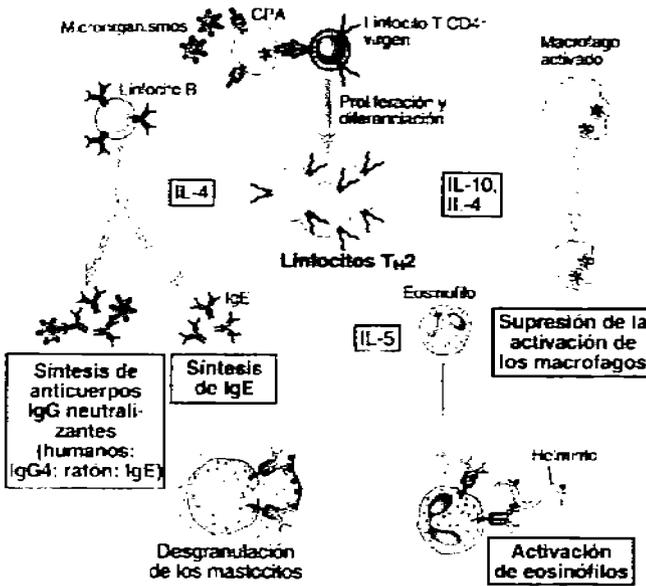


Fig.18 Funciones Eefectoras de los Linfocitos TH2

de estas sustancias son el agua oxigenada, el anión superóxido, el radical hidroxilo, los halógenos activados, el hipoclorito, el clorito y del nitrógeno el óxido nítrico. Pero desgraciadamente el mecanismo anterior no es suficiente para eliminar a los gérmenes intracelulares. Para eliminar a estos es necesario que los $L\phi$'s T, que reconocen al germen, promuevan el fenómeno

inflamatorio (vía inmunidad celular), que se puede llevar a cabo gracias que los $L\phi$ T liberan citocinas que hacen esencialmente lo mismo que en la inflamación mediada por Ac y complemento, pero con dos diferencias importantes:

1. Una de las citocinas al activar a los $M\phi$ los hace más adherentes y por lo tanto se quedan en el sitio donde se encuentran los gérmenes.
2. La otra diferencia importante es que los $M\phi$ al activarse ahora son capaces de matar microorganismos intracelulares.

En resumen podemos decir que la respuesta inmunológica adquirida o adaptativa tiene: especificidad, diversidad, memoria, especialización y autolimitación tal como se presenta en el cuadro 2.

| Característica | Significado funcional |
|------------------------------|---|
| Especificidad | Garantiza que los distintos antígenos desencadenen respuestas específicas |
| Diversidad | Capacita al sistema inmunitario para responder a una amplia variedad de antígenos |
| Memoria | Conduce a una amplificación de las respuestas ante la exposición repetida al mismo antígeno |
| Especialización | Genera respuestas que son adecuadas para defenderse contra distintos tipos de microorganismos |
| Autolimitación | Permite al sistema inmunitario responder ante el contacto con nuevos antígenos |
| No respuesta contra sí mismo | Evita la lesión del huésped durante las respuestas frente a antígenos extraños |

Cuadro 2. Características de la Respuesta Inmunológica Específica

Pero así como el sistema inmunológico es capaz de protegernos también es capaz de causarnos daño, uno de los trastornos del sistema inmunológico se conoce como hipersensibilidad o alergia.

La alergia ha sido clasificada por Coombs y Gell. Dicha clasificación se basa en los mecanismos por los cuales se presenta, así, se consideran cuatro tipos:

| Tipo de hipersensibilidad | Mecanismos inmunitarios patológicos | Mecanismos de lesión histica y enfermedad |
|---------------------------------------|--|---|
| Hipersensibilidad inmediata: tipo I | Anticuerpo IgE | Mastocitos y sus mediadores (aminas vasoactivas, mediadores lipídicos, citocinas) |
| Mediada por anticuerpos: tipo II | IgM, IgG, anticuerpos contra antígenos de la superficie celular o la matriz extracelular | Opsonización y fagocitosis de las células Reclutamiento y activación de leucocitos (neutrófilos, macrófagos) mediados por el complemento y el receptor Fc Alteraciones de las funciones celulares (p. ej., transmisión de señales de receptores hormonales) |
| Mediada por inmunocomplejos: tipo III | Inmunocomplejos circulantes formados por antígenos y anticuerpos IgM o IgG | Reclutamiento y activación de leucocitos mediados por el complemento y el receptor Fc |
| Mediada por linfocitos T: tipo IV | 1. Linfocitos T CD4+ (hipersensibilidad retardada) 2. LTC CD8+ (citólisis mediada por linfocitos T) | 1. Activación de macrófagos, inflamación mediada por citocinas 2. Muerte directa de las células diana, inflamación mediada por citocinas |

Cuadro 3. Clasificación de la hipersensibilidad según Coombs y Gell

1. Hipersensibilidad Tipo I: Esta mediada por Ac de la clase Ig E (se les nombra cuando se presentan en este tipo de hipersensibilidad como reagentes) esta alergia es la clásica, tal es el caso del choque anafiláctico, el asma bronquial y la rinitis alérgica.

2. Hipersensibilidad Tipo II. En este tipo de alergias el Ac se encuentra en la superficie de una célula y puede ser propio (autoinmunidad) o externo (hipersensibilidad). La célula blanco en estas condiciones puede sufrir varias alteraciones:
 - H. Tipo II citotóxica: sucede cuando al Ag se le unen Ac fijadores del complemento y provocan la lisis de la célula.
 - Citotoxicidad Celular Dependiente de Anticuerpos (ADCC): En este caso una célula al ser opsonizada por los Ac y el complemento sea fagocitada o pueda ser víctima de células que tengan receptores para los Ac y las maten.
 - H. Tipo II Estimuladora: Un ejemplo de esta patología es cuando se presentan Ac dirigidos contra el receptor de la hormona TSH en las células tiroideas estimula la producción exagerada de las hormonas presentandose un cuadro de hipertiroidismo.
 - H. Tipo II Neutralizante: El ejemplo más común es cuando existen Ac dirigidos contra los islotes de Langerhans del páncreas que impiden una producción adecuada de insulina provocando una hiperglicemia.

3. Hipersensibilidad Tipo III o Citotoxicidad Mediada por Complejos Inmunes: Esta patología es relativamente frecuente y se va a dar principalmente en infecciones crónicas o en padecimientos en los cuales la formación de anticuerpos, sin una regulación adecuada, producen daño en diferentes órganos y tejidos, como en varias enfermedades infecciosas o autoinmunes como el lupus eritematoso diseminado. En este caso se forman complejos antígeno-anticuerpo (complejos inmunes) en gran exceso de Ag, lo que da como consecuencia que sean solubles y ante cualquier estímulo que aumente la permeabilidad capilar estos salgan de

los vasos y lesionen arteriolas en órganos de gran importancia, como los riñones, las articulaciones, la piel y el corazón.

4. Hipersensibilidad Tipo IV; se debe a la producción exagerada y constante de mediadores (citocinas) derivados principalmente de células mononucleares, linfocitos y monocitos que conducen a procesos inflamatorios crónicos, como las lesiones en la tuberculosis pulmonar.

Se ha mencionado de una forma muy somera como funciona, que y quienes forman parte de los mecanismos de defensa, como nos ha provisto Dios o la naturaleza tanto a los humanos como a algunos primates de mecanismos que nos hacen menos susceptibles a los ataques de ciertos microorganismos y ante ciertas condiciones adversas del medio.

Suponiendo que un día me encuentro arreglando mi hogar y me corto un dedo con un clavo ya oxidado; a los pocos minutos, o inmediatamente después de que terminó de fluir la sangre, el Sistema Inmunológico empieza a trabajar para eliminar a los agentes indeseables introducidos por la herida. En la escena se encuentran o no tardan en llegar macrófagos, los cuales no sólo rodean y destruyen a los microorganismos invasores, sino que también liberan proteínas que activan otras partes del sistema inmunitario. Esta rápida respuesta celular es la denominada Inmunidad natural o innata. Todos los animales poseen un mecanismo defensivo de este tipo, que se cree es la forma más antigua de inmunidad. Esta inmunidad fue la observada por Metchnikoff en sus estudios.

Por lo general se basta la inmunidad innata para destruir a los microorganismos invasores; si no es así, los vertebrados contamos con otra respuesta más. La **inmunidad adquirida**.

Los soldados de la inmunidad adquirida son los Linfocitos B y los Linfocitos T que operan mancomunadamente, como un ejército. La inmunidad adquirida es muy eficaz.

Se tarda sin embargo, varios días en movilizarla, debido a la complejidad de la respuesta. Pero la inmunidad adquirida posee una singular peculiaridad, la memoria inmunológica, capacitada para abreviar la demora. Esta brota de mecanismos de origen génico que permiten que los linfocitos del cuerpo reconozcan la inmensa diversidad de antígenos, aun cuando cada linfocito reconoce un solo tipo de antígeno. En esencia, cada encuentro con un microorganismo invasor imprime una "plantilla" genética en determinadas células B y T. A la siguiente ocasión en que el mismo tipo de invasor salga al paso de estas células, utilizan la plantilla, de tal suerte que la respuesta se producirá antes y con mayor contundencia que en la primera vez.

Tal vez yo, con el tiempo llegue a olvidar este pequeño incidente pero mi Sistema Inmunológico jamás lo hará.³⁹⁻⁶⁴

2.3. INMUNOFARMACOLOGÍA

La inmunofarmacología es una rama relativamente nueva de la farmacología y de la medicina. Esta ha crecido conforme se han ido comprendiendo los mecanismos por los cuales el sistema inmunológico combate de manera orquestada, cualquier agente extraño al organismo y que puede poner en riesgo la salud del hospedero. Este término ha ganado aceptación hasta hacerse de uso común; para esto tuvieron que pasar cerca de 50 años. Para algunas personas la inmunofarmacología estudia el efecto de los fármacos sobre el sistema inmunológico y sus funciones, estos agentes pueden ser de origen natural: endógenos y exógenos, o bien productos sintéticos. Otros consideran a la inmunofarmacología como la ciencia que trata al sistema inmunológico con productos propios del sistema inmunológico: citocinas, anticuerpos, linfocinas y otras sustancias principalmente proteínas. Para los clínicos, la inmunofarmacología es una ciencia muy prometedora en el tratamiento de enfermedades del sistema inmunológico, principalmente en enfermedades autoinmunes, en reacciones anafilácticas y en reacciones alérgicas.

Considerando lo anterior, se puede decir que la inmunofarmacología es la disciplina de la medicina que se auxilia de la comprensión de las bases celulares y de los principios bioquímicos por los cuales está regido el Sistema Inmunitario (SI) para regular la Respuesta Inmunológica (RI) para el tratamiento de enfermedades y/o la prevención de estas. La manipulación del sistema inmunológico es importante para:

- A. El tratamiento de enfermedades autoinmunes
- B. La prevención y en la terapia efectiva en enfermedades malignas (infecciones virales, microbianas, micóticas o en tumores).
- C. La terapia de infecciones en pacientes inmunocomprometidos
- D. La terapia de rechazo en pacientes con órganos transplantados.

Dentro de la inmunofarmacología se tienen principalmente dos vertientes:

- I. **Inmunosupresión.** En la extensión de la palabra, el término se puede aplicar a cualquier terapia realizada con el fin de reducir la RI. Aunque se habla de inmunosupresión en los casos de rechazo a transplantes, en enfermedades autoinmunes y en los casos de hipersensibilidad. Por lo tanto se puede decir que la inmunosupresión es necesaria cuando existe una respuesta exacerbada del SI.
- II. **Inmunoestimulación o Inmunopotenciación.** De manera contraria la inmunestimulación es necesaria cuando el SI de un individuo se encuentra disminuida y no se basta para contener algún tipo de enfermedad infecciosa o algún tipo de cáncer.

2.4. INMUNOMODULACIÓN

Un inmunomodulador o Modificador de la Respuesta Inmune (MRB) es una sustancia que tiene la capacidad de modificar la respuesta inmunológica contra un agente extraño al organismo (el cual puede ser un organismo infeccioso o un tumor). La diferencia entre una vacuna y un inmunomodulador es que las vacunas están diseñadas para modificar la respuesta contra un organismo infeccioso específico, mientras que los inmunomoduladores generalmente tienen un amplio espectro de acción. Los inmunomoduladores pueden tener un mecanismo de acción específico sobre cualquier

mecanismo efector del sistema inmunológico o varios. Puede actuar como efector o inductor. Se consideran, de manera general, cinco tipos de inmunomoduladores:

- Citocinas
- Inmunotoxinas
- Adyuvantes
- Inmunosupresores
- Inmunoestimulantes.

2.5. INMUNOESTIMULANTES

Con el término de inmunoestimulantes se describen a una serie de sustancias que tienen un efecto activador inespecífico sobre la respuesta inmunológica. Son utilizados con el fin de prevenir y tratar una serie de enfermedades infecciosas y de ciertos tipos de cánceres.

Los inmunoestimulantes actúan sobre el sistema inmunológico de tal manera que como respuesta se observa una mejoría en la respuesta, calidad y cantidad de los mecanismos efectores del SI. En términos generales, promueven la generación de monocitos, macrófagos, así como de linfocitos T y B a partir de precursores de médula ósea, de la misma manera estimulan los MDE y los MDI.

Los inmunoestimulantes se pueden clasificar de acuerdo a:

- SU ORIGEN:
 - NATURALES: Exógenos o Endógenos
 - SINTÉTICOS
- SU NATURALEZA QUÍMICA:
 - PÉPTIDOS
 - PROTEÍNAS
 - HORMONAS
 - MURAMILDIPÉPTIDOS
 - LIPOPOLISACARIDOS

- VITAMINAS Y MINERALES
 - PURINAS Y PIRIMIDINAS
 - COMPUESTOS AZUFRADOS
 - SELENODERIVADOS.
 - POLINUCLEÓTIDOS
- SU MECANISMO DE ACCIÓN:
- TIMOMIMÉTICAS
 - INDUCTORES DE LA DIFERENCIACIÓN CELULAR, PROLIFERACIÓN Y SECRECIÓN DE CITOCINAS
 - AUMENTAR LA CITOTOXICIDAD

Como se puede apreciar en cuanto a su naturaleza química no existe un grupo químico definido, como ocurre con otras enfermedades, en las que existe un grupo bien caracterizado de compuestos que describen su acción. Como es el caso de las Dihidropiridinas, utilizadas en el tratamiento de la hipertensión. Por mencionar solo un ejemplo.

La clasificación que se propone en este trabajo es de acuerdo a su origen, debido a que no se presta a confusión.

Endógenos. Dentro de este tipo de compuestos se consideran los que son sintetizados por el propio organismo para combatir y prevenir enfermedades. Principalmente se obtienen de extractos de origen animal y en la actualidad se pueden obtener por manipulación genética de microorganismos o de cultivos celulares alterados. El que tengan que ser extraídos de determinados órganos de animales como terneras o corderos, así como de cultivos bacterianos o celulares, representa una seria desventaja por el tiempo que se requiere para extraerlos y purificarlos así como los elevados costos del proceso.

Exógenos. Estos compuestos se pueden obtener de diferentes fuentes. Organismos procariontes, levaduras, hongos, parásitos e incluso de algunos crustáceos. En el cuadro 4 se presentan algunos de los compuestos naturales con propiedad inmunoestimulante.

Sintéticos. Basándose en el conocimiento de la estructura química de estos inmunoestimulantes naturales, un gran número de análogos pudieron ser sintetizados. Por otro lado, un número considerable de sustancias sintéticas se han podido obtener de forma pura y que han demostrado una marcada actividad inmunoestimulante. Estas últimas se prepararon con toda intención de que presentaran una actividad inmunoestimulante; y otros fueron preparados sin estos fines, pero con la observación clínica se llegó a la conclusión de que podían presentar esta actividad de primera instancia. En el cuadro 5 se enlistan los diferentes compuestos sintéticos. En los cuadros del 6 al 8 se muestran las estructuras de algunos compuestos sintéticos.

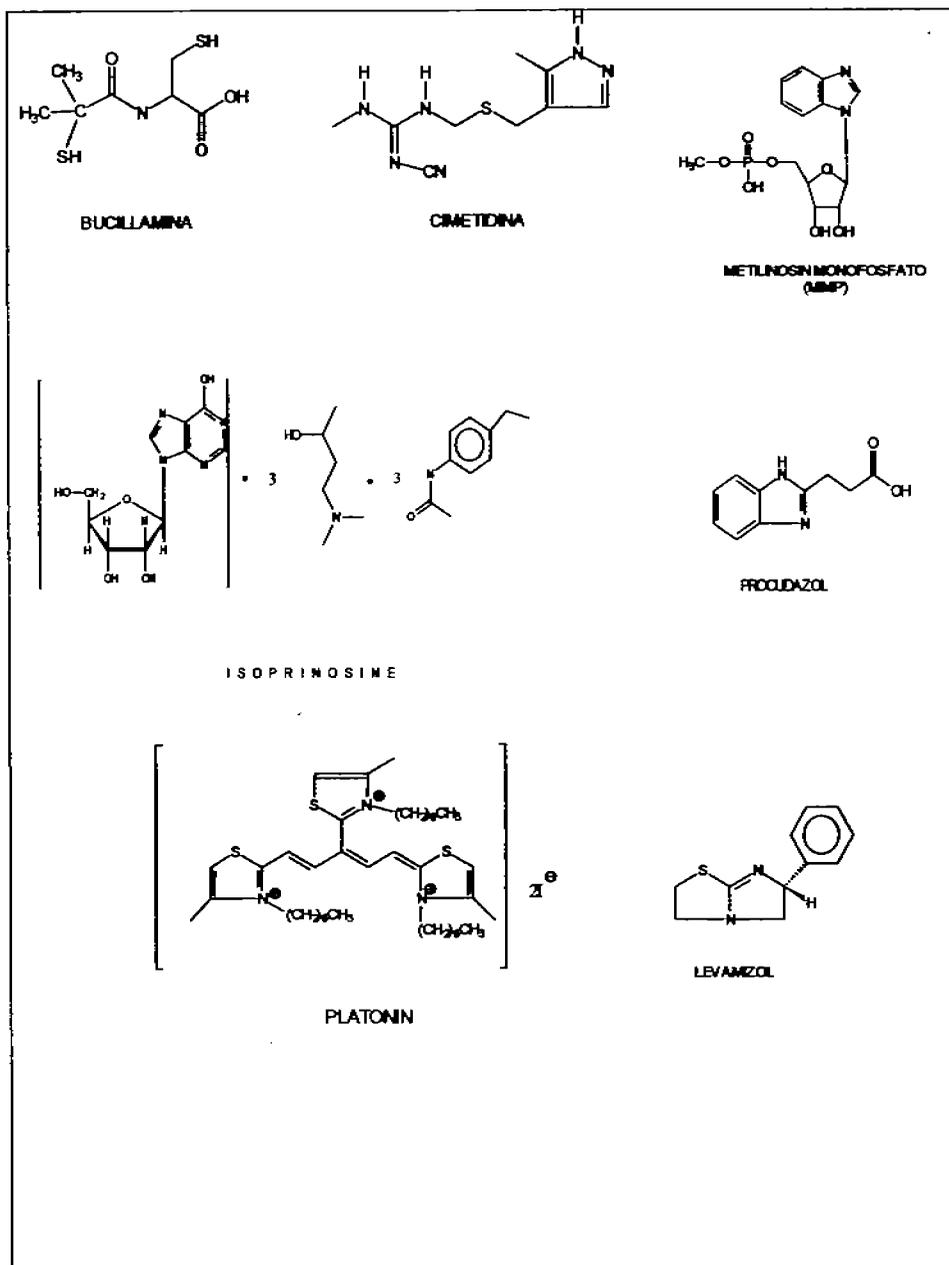
Al no existir una nomenclatura sencilla que describa la acción farmacológica de estas sustancias que tienen actividad sobre el sistema inmune; la mayoría de los agentes son clasificados como inmunoestimulantes, a pesar de que la estimulación ocurre en diferente contexto.⁶⁶⁻¹³⁷

| | | |
|-----------|---|--|
| ENDÓGENOS | HORMONAS TÍMICAS Y DERIVADOS | <ul style="list-style-type: none"> - Extracto tímico de ternero, puede contener una serie de proteínas, péptidos y otras sustancias orgánicas. - Mezcla de fracciones peptídicas menores de 10 kDa Thymoorgan, Thymostimulin o TP-1, Thymoject, ThymUvoval). - Thymulin o Factor Tímico Serico (TFS). Thymopoietin - Thymopentin (TP-5) - Factor Tímico Humoral (TFH-γ2). - Timosinas. Se incluye al Timosin α, Tα1, Protimosina α (ProTα). |
| | CITOCINAS Factores Estimulantes de Colonias (CSF). | G-CSF (Filgrastim), M-CSF, GM-CSF (Molgramostim). |
| | INTERLEUCINAS (IL). | IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12. |
| | INTERFERONES (IFN) Factor de Necrosis Tumoral (TNF) | IFN- α , IFN- β , IFN- γ . TNF- α , TNF- β , |
| EXÓGENOS | DERIVADOS DE ORGANISMOS PROCARIONTES Extractos o lisados de pared bacteriana -Metabolitos | <ul style="list-style-type: none"> - Muramidíptidos (MDP) de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>. - Lipopolisacáridos (LPS) o bien Endotoxinas. De bacterias Gram (+). - Lípido A y derivados - Trealosa-6,6-dimicolato (TDM). - Bestatin, es un metabolito de <i>Streptomyces olivoreticuli</i>. |
| | DERIVADO DE HONGOS Y LEVADURAS | <ul style="list-style-type: none"> - Glucanas. Son polisacáridos de glucopiranososa con enlace β-1,3. Se pueden obtener de levaduras como <i>Saccharomyces cerevisiae</i>, <i>S. commune</i> o de hongos comestibles como <i>Lentinus edodes</i> - <u>Krestin</u>: es obtenido de la fase micelial de <i>Coriokus versicolor</i>. - Lentinan o Glucan: |
| | OTROS | - Quitina |

CUADRO 4. Compuestos naturales con propiedades inmunoestimulantes

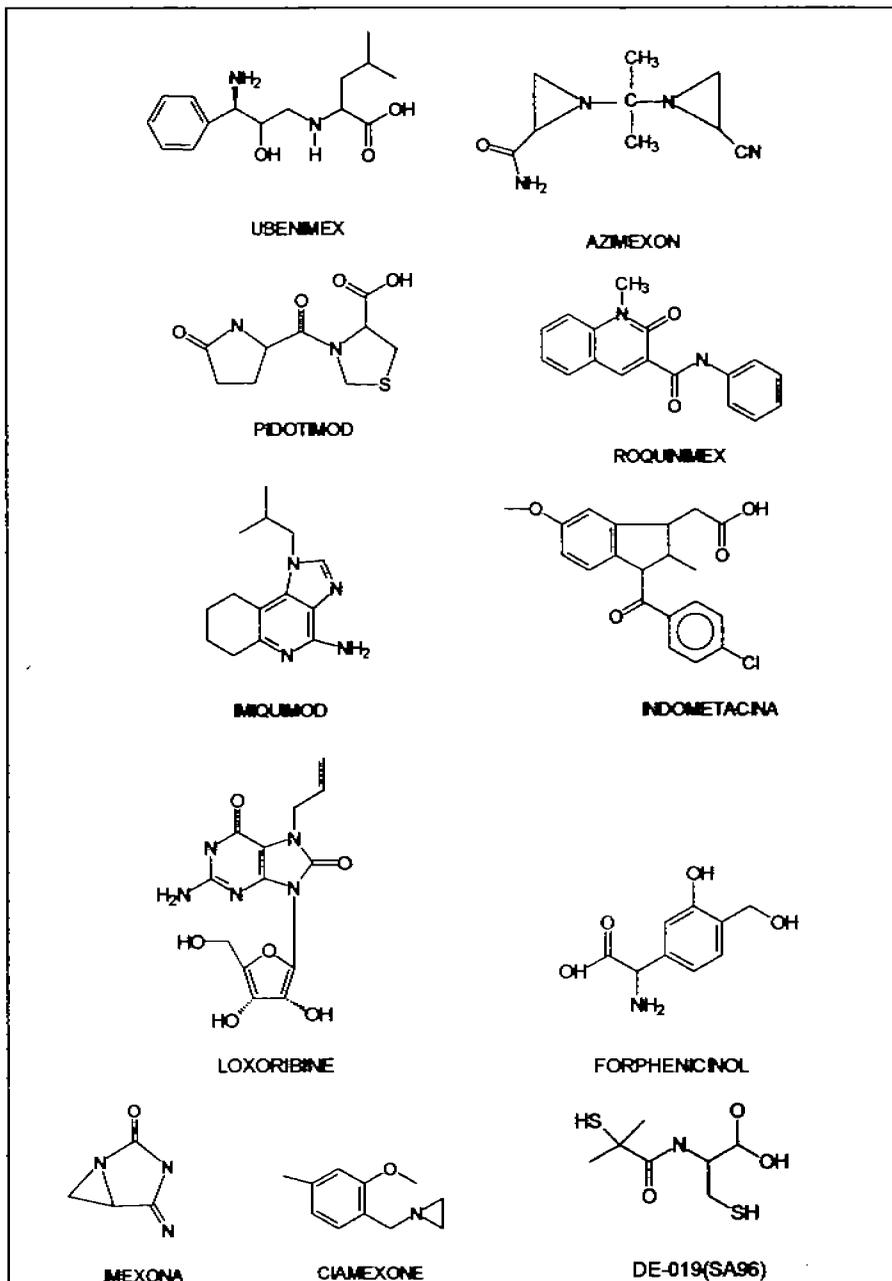
| | |
|------------------------|---|
| COMPUESTOS AZUFRADOS. | <ul style="list-style-type: none"> - Levamisol, Imutiol (Diethyl dithio carbamate, DTC), Cimetidina, Bucilamina, Cisteamina, Cistamina, Betatina, Pidotimod, Vitaletheine - NPT-16416, 7,8-dihidrotiazol (3,2-e) hipoxantina, Platonin, ADA-202-718 - WY-18251. - Ácido 2-metil-tiazolidin-2,4 dicarboxílico |
| PURINAS Y PIRIMIDINAS. | <ul style="list-style-type: none"> - Isoprinosine, Metil inosin monofosfato (MIMP), Loxoribine, 8-bromoguanosina, 7-metil-8-oxoguanosina, 7-tia-8-oxo guanosina, - Bromopirimina - 12-amino-5-bromo-6-fenil-4-pirimidinol (ABPP) - 12-amino-5-cloro -6-fenil-4-pirimidinol (AIPP). |
| POLINUCLEOTIDOS | <ul style="list-style-type: none"> - Poliadenilato-uridilato (poli A:U). - Poliinosinato-citidilato (poli I:C). - Complejo de poli I:C con poli-L-lisina. |
| DERIVADOS DE AZIRIDINA | <ul style="list-style-type: none"> - Azimexona, Ciamexona, Imexona, |
| VARIOS | <ul style="list-style-type: none"> - Procudazol, Tucaresol, Amiprilose, Ubenimex, Roquinimex, Indometacina, Imiquimod, Forfenicinol, Lobenzarit, D-penicilamina, Auranofin, Propagermanium, Divinil eter anhídrido maleico (MVE-2), Avridine, Briostatin 1, Selenoderivados, Talidomida. - LF-1695, LS-2616, CP 46,665-1, LS-2616, AS-101. - Piperidinoetoxiacridinas: CL 246,738; CL 259,763. |

CUADRO 5. Compuestos sintéticos con propiedades inmunoestimulantes

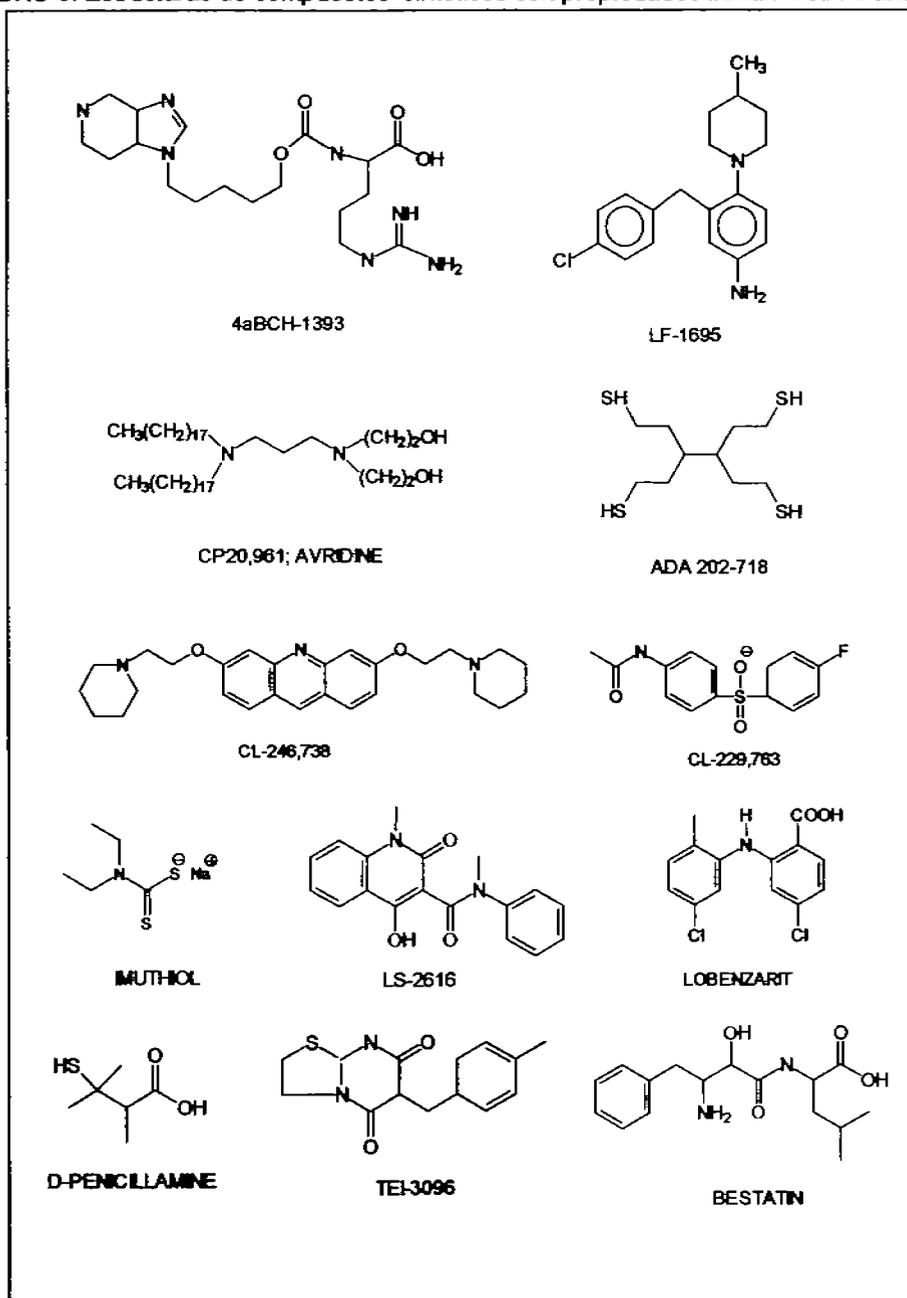


CUADRO 6. Estructuras de compuestos sintéticos con propiedades inmunoestimulantes

CUADRO 7. Estructuras de compuestos sintéticos con propiedades inmunoestimulantes



CUADRO 8. Estructuras de compuestos sintéticos con propiedades inmunoestimulantes



PROPIEDADES BIOLÓGICAS DE COMPUESTOS QUE CONTIENEN EN SU MOLÉCULA GRUPOS TIOL O DISULFURO (SH/S-S)

En 1951, Guzmán realizó una revisión de las múltiples propiedades biológicas de tioles/disulfuros.

Muchas de las biomoléculas que contienen azufre, pueden existir como un monómero, tiol, o en su forma oxidada formando un dímero, disulfuro.

La capacidad de la molécula de azufre en las proteínas, para existir en su forma -SH o para unirse a otros átomos, es fundamental para una regulación natural de unión de las proteínas. Los grupos tioles son extremadamente activos en condiciones fisiológicas (Gitler *et al.*, 1995). El cambio tiol/disulfuro es mucho menos costoso termodinámicamente y estructuralmente más importante que el cambio fosfatasa/cinasa.

Transición de la forma -SH a la forma oxidada de disulfuro en las cisteínas/cistinas es la responsable del adecuado plegamiento de proteínas. Los enlaces disulfuro, por ejemplo, son los responsables de la adecuada unión entre las inmunoglobulinas y los antígenos.

3.1. REGULACIÓN ENZIMÁTICA.

La activación de numerosas enzimas está controlada por tioles/disulfuros. Las enzimas fructosa-1,6-difosfatasa; ribonucleótido reductasa; guanilato ciclasa; acetilcoenzima A hidrolasa son enzimas que son reguladas por procesos redox debido a que tienen cisteínas como componente central de sus sitios activos.

Otras enzimas son reguladas por la transición de SH a S-S; incluyendo a la tripsina, lipoproteína lipasa, NADH oxidasa, nitrato reductasa, glutamina aminotransferasa y fenilalanina hidroxilasa; por mencionar solo algunas.

El rol que tiene la oxidación/reducción y la regulación metabólica SH/S-S ha sido ampliamente revisada por Jocelyn (1972), Gilbert (1982) y Ziegler (1985).

3.2. REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN.

El complejo regulador conocido como "dedos de zinc" contiene cistein tiolatos que al complejarse con zinc forman loops en la estructura proteínica, lo que le da tan singular aspecto. Se ha descrito que la Betathine™, así como compuestos relacionados que contienen cistamina y nitrógeno, pueden formar complejos con el zinc. Las subunidades jun y fos de la proteína AP-1 y la subunidad p50 del complejo transcripcional kB (NFkB), tienen cisteinas como componente crítico en los sitios de unión al DNA. Diversos autores han mencionado la importancia de la oxidación/reducción de los tioles como señales en varias rutas de transcripción. Incluso se ha propuesto que dada la importancia de los tioles en la regulación de los procesos de transcripción, pueden considerarse como terceros mensajeros.

La reducción de las cisteinas altamente conservadas en el heterodímero JUN-FOS, es necesaria para que se lleve a cabo la unión con el DNA. La proteína nuclear Ref-1 parece ser la responsable de esta transición.

3.3. INMUNOREGULACIÓN.

El NFkB es un factor regulador de numerosas respuestas inmunológicas incluyendo la síntesis de inmunoglobulinas, de citocinas y sus receptores; se sabe que dicho factor esta regulado por grupos SH/S-S.

También se ha descrito que pequeñas moléculas que contienen azufre en la forma SH o S-S presentan efectos significativos *in vivo* sobre diversas funciones del sistema inmunológico.¹³⁸⁻¹⁴⁴

Desarrollo Teórico

Experimental

4. DESARROLLO TEÓRICO-EXPERIMENTAL

4.1. DISEÑO Y MODELAJE MOLECULAR

El diseño y modelaje molecular de compuestos con probable actividad inmunoestimulante se llevó a cabo de la siguiente forma:

- Con base en la información recabada en estudios sobre compuestos que presentan actividad inmunoestimulante y su naturaleza química.
- Se descartaron los compuestos inmunoestimulantes que no presentaban en su estructura por lo menos un átomo de azufre y que eran moléculas muy complejas.
- Se incluyeron los dímeros o monómeros de algunos compuestos para determinar su relación. Como el disulfiram, que es el dímero del Imutiol (DTC)
- De la misma manera se incluyeron compuestos que no tienen probada actividad inmunoestimulante, pero, que presentan en su estructura uno o más átomos de azufre; como el glutation, el disulfiram y la bucilamina.
- Otro aspecto importante que se buscó fue el de definir una molécula o región indispensable para presentar la actividad biológica

La geometría molecular de todos los compuestos se generó con el programa de modelaje molecular PIMMS¹⁴⁶, el cual aplica mecánica molecular para obtener la estructura más estable (con el mínimo energético).

Las moléculas generadas en PIMMS fueron exportadas al programa SPARTAN 5.0¹⁴⁷, en donde se aplicó mecánica cuántica (utilizando el método semiempírico AM1) y mecánica molecular para optimizar completamente las moléculas.

Apartir de este programa se calcularon sus propiedades fisicoquímicas; como calor de formación, Orbitales Moleculares Frontera (MOF) HOMO y LUMO, momento dipolo, coeficiente de partición ($\log P$ Dixon-Hahre), cargas de Mulliken y potencial electrostático (PE).

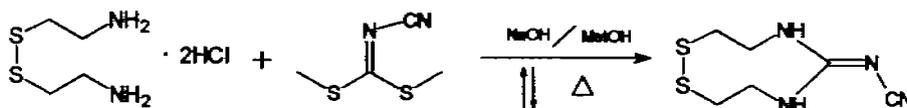
Utilizando los programas TSAR¹⁴⁸ y ACD/LABS 4.5 se determinaron las propiedades moleculares como índice de refractividad, refractividad molar, volumen molar, volumen molecular, tensión superficial, densidad, polarizabilidad, paracoro, área y volumen elipsoidal

4.2. MÉTODO ESTADÍSTICO

Se realizó un Análisis de Regresión múltiple a una serie de compuestos que presentan actividad inmunoestimulante a una serie de compuestos análogos a Cistamina para evaluar una probable correlación entre las variables calculadas y su actividad biológica. Finalmente se realizó el análisis de Cluster utilizando las mejores ecuaciones para determinar la similitud entre los compuestos teóricos y los comerciales con base en sus propiedades. Este análisis se realizó con el programa STATSOFT¹⁴⁹

4.3. SÍNTESIS QUÍMICA

OBTENCIÓN DEL COMPUESTO N-(1,2,5,7-DITIADIAZONAN-6-ILIDEN) CIANAMIDA.



En un matraz bola de dos bocas se conectó a una de estas un embudo de adición en donde se colocaron con 0.032 moles de ditiometilcianourea (DTMCU) disueltos en etanol (EtOH). En la otra boca se colocó un condensador.

Dentro del matraz se adicionaron 0.024 moles de cistamina con 0.07 moles de hidróxido de sodio utilizando como disolvente EtOH. Esta mezcla se deja a reflujo (50°C) y en agitación por aproximadamente 30 minutos, al final de los cuales se añadió poco a poco la DTMCU. Se deja la reacción a reflujo y en agitación por aproximadamente 2 horas. La reacción se monitoreó por cromatografía de capa fina (TLC).

4.4. CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA

- La identificación y caracterización del producto se realizó mediante el análisis de los espectros de RMN-¹H, RMN-¹³C.
- La espectroscopia de RMN-¹H se efectuó en un equipo Varian-Gemini-200 a una frecuencia de 300 MHz. La espectroscopia de RMN-¹³C se efectuó en un equipo a una frecuencia de 75 MHz.
- Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Mel-Temp® y no están corregidos.

Resultados y Análisis

de Resultados

5. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1. ESTUDIO TEÓRICO COMPUESTOS COMERCIALES Y EN FASE DE INVESTIGACIÓN

La numeración asignada para los átomos de cada compuesto se muestra en los anexos I, II y III.

Las propiedades fisicoquímicas y moleculares calculadas para los compuestos con probada actividad inmunoestimulante y sus moléculas relacionadas se muestran en el anexo IV. En el anexo V se enlistan las propiedades calculadas así como sus unidades y las abreviaturas utilizadas en este trabajo.

Puesto que los valores de energía de los orbitales frontera HOMO y LUMO por si mismos no nos indican que átomos de cada compuesto contribuyen en mayor porcentaje a este valor, se consideró la suma de los cuadrados de los valores calculados para los orbitales atómicos s , p_x , p_y , e p_z de cada átomo – debido a que se asocian con la probabilidad de encontrar un sitio electrófilo (LUMO) o uno nucleófilo (HOMO)- y se multiplica por 100 para obtener el porcentaje. Los resultados se muestran en el anexo VI.

En los anexos VII al X se muestran las imágenes generadas por el programa SPARTAN de los Orbitales Moleculares Frontera (MOF) HOMO, LUMO y el PE de algunos de los compuestos.

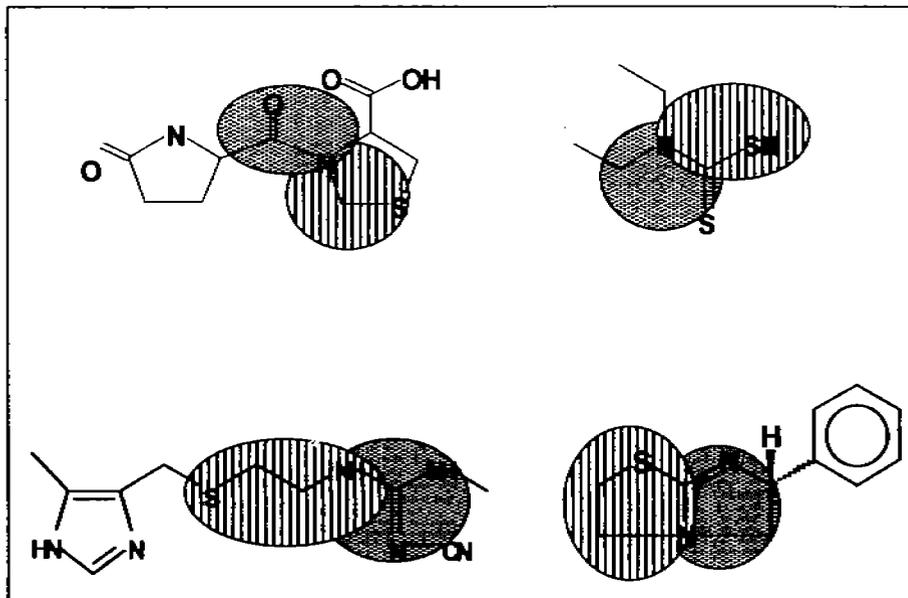
De los resultados incluidos en el anexo VI se desprende lo siguiente:

- a) Los enlaces disulfuro (S-S) presentes en las moléculas contribuyen en un porcentaje importante tanto para los MOF HOMO como para los LUMO. Como ocurre con la cistamina, disulfiram, β -aletina y vitalina.

- b) En los monómeros de estos compuestos; cisteamina, DTC, β -aileteina y vitalteina, se observa que los azufres reducidos (-SH) contribuyen principalmente al HOMO (0) y al LUMO (0).
- c) Para estos mismos compuestos se tiene que para los orbitales moleculares H(-1), H(-2), L(+1) y L(+2) los átomos que contribuyen principalmente son los átomos de azufre y los átomos de nitrógeno unidos por un carbono o a un par de carbonos sp.
- d) El porcentaje de contribución electrónica se distribuye también entre los átomos de nitrógeno unidos a diferentes átomos por carbonos sp₂. Como los átomos N3, C6 y N4 en la cimetidina; los átomos N2, C2 y S2 en el disulfiram; N1, C1 y S1 en el DTC; N1, C3 y C4 en el glutatión; N2, C3 y S1 para el levamisol; N1, C1 y C5 en la NAC; N2, C8 y C2 para el pidotimod; N2, C4 y C3 para la vitalteina y la vialteina.
- e) Para la cimetidina los átomos que contribuyen principalmente al HOMO (0) son el azufre S1 y el nitrógeno N3 que se encuentran unidos por un carbono sp¹ (C5). Para el HOMO (-1) y para el LUMO (+1) son los nitrógenos quienes en mayor porcentaje contribuyen a la población electrónica.
- f) Al igual que en la cimetidina, en el levamisol se observa que la contribución electrónica se distribuye entre los átomos del anillo aromático presente en las moléculas, haciendo que la contribución electrónica se distribuya entre más átomos, esto se observa principalmente en los MOF H(-1), H(-2), L(+1) y L(+2).
- g) Por lo anterior se puede inferir que la presencia de un anillo aromático no es determinante para que un compuesto presente actividad inmunoestimulante. Cabe hacer mención que en algunos estudios se menciona el metabolito del

levamisol (WR1065) como el compuesto con actividad inmunoestimulante. Y por otra parte ambos compuestos tienen otra actividad farmacológica.

- h) De los resultados anteriores se observa que hay dos regiones presentes en las moléculas que proporcionan el mayor porcentaje de contribución para los orbitales moleculares frontera HOMO Y LUMO.



De los resultados teóricos y del análisis de las estructuras se considera que para que una molécula pueda presentar actividad inmunoestimulante deberá presentar las siguientes regiones:



Región 1. Átomo de azufre unido a un nitrógeno u oxígeno por A. (S-A-T). S = azufre; A = metil, etil, propil; T = azufre, oxígeno o nitrógeno.



Región 2. Nitrógeno unido a un carbono sp^2 .



N = Nitrógeno.

B = Nitrógeno, azufre u oxígeno.

D = Nitrógeno, carbono o azufre.

En el anexo XI se presentan los porcentajes de la contribución electrónica a los MOF por regiones para los orbitales H(0), L(0), H(-1), L(+1), H(-2), L(+2); así como su contribución por cargas de cada región.

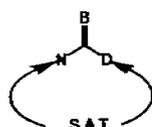
- De estos porcentajes se desprende que cuando una molécula presenta en su estructura ambas regiones, pero para la región 1 A = etil, T = oxígeno; y para la región 2, B = oxígeno y D = carbono; como sucede con la bucilamina; la mayor contribución al HOMO(0) la proporciona la región uno en un 90.6% y al LUMO(0) la región dos es quien contribuye en un mayor porcentaje con el 89.33%. Para el OF HOMO(-1) la región 2 es la que contribuye en mayor porcentaje con el 96.9% y para el OF LUMO(+1) la región uno contribuye con un 83.7%.
- Cuando se presentan ambas regiones y si la región 1 es un núcleo cianoguanidino; y para la región 2: A = propileno y T= nitrógeno; como ocurre con la cimetidina. El HOMO(0) de la región 1 es quien en mayor porcentaje con un 87.6%; para el LUMO(0) con un 51.6%. Para el HOMO(-1) y al LUMO(+1) la región 2 contribuye con 55.3% y 75.8% respectivamente.
- La presencia de enlaces disulfuro o de grupos sulfhidrilos aledaños a cualquiera de estas regiones, influye de manera decisiva en las contribuciones a los MOF, tanto para los orbitales HOMO(0) y LUMO(0) como para los HOMO(-1) y LUMO(+1); vitalina, vitaleteina, β -aleteina, β -aletina, cistamina, cisteamina.
- Las contribuciones electrónicas de los MOF más externos ya no presentan un patrón de distribución.
- Las demás propiedades fisicoquímicas y moleculares calculadas no presentan una tendencia debido a la variada naturaleza química de los compuestos.

Con estos datos y tomando en cuenta que una de las interacciones importantes para que se de la unión entre un fármaco y su receptor son las de transferencia de carga, se planteó la siguiente hipótesis:

Si se diseñaran nuevas moléculas que se asemejen en sus contribuciones por regiones a los orbitales moleculares frontera HOMO y LUMO; así como a propiedades moleculares de compuestos inmunoestimulantes comerciales, se pueden obtener compuestos inmunoestimulantes que mejoren potencialmente a los ya existentes.

Para esto se considero lo siguiente:

1. La molécula debe presentar una región o ambas.



2. El compuesto deberá tener, al menos, un enlace disulfuro, ya sea por formación de un dímero o que se encuentre como parte de la propia estructura; esto se considera dada la habilidad o la capacidad de moléculas que contienen SH/S-S para regular la respuesta inmunológica así como en diversos procesos de regulación transcripcional, incluyendo el factor NF- κ B (Factor Nuclear kappa B) involucrado en diversas funciones del sistema inmunológico, el cual fue en primera instancia señalado como el inductor de la producción de inmunoglobulinas

De esta manera se decidió llevar a cabo un estudio teórico para una serie de compuestos derivados de cistamina/cisteamina, debido a que cumple con lo postulado con anterioridad y en el conocimiento previo de que moléculas pequeñas con enlaces SH/S-S, tienen propiedades pleiotrópicas: como anticancerígenos, antivirales, inmunomodulador y más recientemente en la Enfermedad de Huntington.¹⁵⁰⁻¹⁵²

El primero de estos compuestos, que en lo sucesivo llamaré CIS-1, incluye además un grupo cianoguanidino, como ocurre con la cimetidina.

5.2. ESTUDIO TEÓRICO DE UNA SERIE DE COMPUESTOS DERIVADOS DE CISTAMINA/CISTEAMINA (SERIE CIS).

Las propiedades fisicoquímicas y moleculares calculadas para los compuestos derivadas de cistamina/cisteamina se muestran en el anexo XII. En el anexo XIII se presentan los átomos que contribuyen en mayor porcentaje a los MOF.

En el anexo XIV se muestra el porcentaje de contribución electrónica por regiones para los MOF, PE y CM.

En los anexos XV al XVIII se muestran las imágenes generadas por el programa SPARTAN de los Orbitales Moleculares Frontera (MOF) HOMO, LUMO y el PE de algunos de los compuestos.

- Al igual que los compuestos comerciales o en fase de investigación, esta serie de compuestos presenta semejanzas entre si en cuanto a sus propiedades fisicoquímicas y sus propiedades moleculares calculadas.
- Existe una tendencia, relación, semejanza entre los cuatro compuestos, principalmente para los MOF (0). Para los orbitales superiores conforme más alejados del orbital cero, más se acentúa la diferencia.
- Las contribuciones de los orbitales HOMO (0), LUMO (0) y LUMO (+2) de los cuatro compuestos son dadas en mayor porcentaje por la región 1 (R1) en promedio de 96.6%.
- Los compuestos 1,3 y 4 tienen mayor semejanza entre si. A diferencia del compuesto 2 en el que se observa una contribución por regiones diferente a las de los otros tres compuestos; como ocurre con la R2 del MOF L(+1).
- Para los potenciales electrostáticos y las cargas de Mulliken no existen diferencias significativas entre uno y otro compuesto.
- Aunque el estudio por regiones nos demuestra que existen semejanzas importantes entre los compuestos comerciales y los teóricos. Esta se observa principalmente con la Betatina™.

5.3. RESULTADOS Y ANALISIS DE RESULTADOS ESTUDIO DE REGRESIÓN MULTIPLE.

Solo los compuestos incluidos en este estudio muestran colinearidad y en todos los casos se consideraron las que presentaban un valor de $r \geq 0.9$.

El modelo de regresión Forward stepwise se realizó para observar la relación entre los compuestos y sus variables; así como para encontrar las mejores ecuaciones. Las variables que proporcionan las mejores ecuaciones y sus respectivos valores de r , r^2 , s y el valor p se muestran en el anexo XIX.

Las mejores ecuaciones obtenidas se muestran a continuación:

$$\begin{aligned} \text{HOMO 1} = & 3.85 + (-0.089) \text{HOMO2} + 1.74 \text{HOMO 0} - 4.23 \times 10^{-3} \text{H}_2\text{R}_2 \\ & + 7 \times 10^{-4} \text{VOLHELI} + 6 \times 10^{-3} \text{L}_1\text{R}_2 + 3.2 \times 10^{-3} \text{SURF TEN} - 2.7 \times 10^{-3} \text{H}_2\text{R}_1 \\ & - 0.4 \text{PER}_1 + 0.02 \text{LOG P MM} + 1.1 \times 10^{-3} \text{L}_2\text{R}_2 - 7.5 \times 10^{-5} \text{L}_0\text{R}_1 \\ & + 0.38 \text{IR} - 5.5 \times 10^{-3} \text{DIPOLO} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{HOMO 0} = & -2.91 + 0.52 \text{HOMO1} - 3.71 \times 10^{-4} \text{VOL HELI} - 3.1 \times 10^{-3} \text{L}_1\text{R}_2 \\ & + 2 \times 10^{-3} \text{H}_2\text{R}_2 - 2.5 \times 10^{-3} \text{SURF TEN} + 2 \times 10^{-3} \text{H}_2\text{R}_1 + 0.23 \text{PER}_1 \\ & + 0.59 \text{HOMO2} - 0.027 \text{LOPMM} - 4.8 \times 10^{-3} \text{L}_2\text{R}_2 + 7.8 \times 10^{-4} \text{H}_0\text{R}_2 \\ & + 2.6 \times 10^{-4} \text{H}_1\text{R}_1 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{HOMO 2} = & -2.84 + 0.61 \text{HOMO1} - 0.3343 \text{LUMO2} - 8.7 \times 10^{-3} \text{L}_2\text{R}_2 - 10.82 \times 10^{-3} \text{H}_1\text{R}_1 + \\ & 9.61 \times 10^{-3} \text{L}_1\text{R}_1 + 4.55 \times 10^{-3} \text{L}_1\text{R}_2 - 4.95 \times 10^{-3} \text{H}_2\text{R}_1 - 0.2566 \text{PER}_1 \\ & + 73.13 \times 10^{-3} \text{LOG P MM} - 0.681 \text{I.R.} + 3.2 \times 10^{-4} \text{PARACHOR} \end{aligned}$$

Estos resultados nos sugieren que los compuestos teóricos se asemejan mucho en sus propiedades calculadas con los compuestos comerciales y en fase de investigación; lo cual nos daría una certeza teórica del 99% de que tales compuestos teóricos presenten actividad inmunoestimulante y/o anticancerígena.

Utilizando las variables de las mejores ecuaciones se realizó el análisis de Cluster para observar la relación entre los compuestos y sus propiedades.

De este análisis se puede apreciar que existen correlaciones importantes entre los compuestos comerciales o en fase de investigación con los compuestos sugeridos.

Estas correlaciones se observan principalmente en las regiones que he denominado como R_2 y R_1 con los Orbitales Moleculares Frontera (MOF), tal como se explica a continuación.

5.3.1 ANALISIS DE CLUSTER REGION 2 (R_2)

PARA L_1R_2

- Como se observa claramente en el anexo XX existe una mayor correlación entre los compuestos β -aletina, β -aleteina, CIS-2, cisteamina y cistamina, Las distancias Euclidianas entre CIS-2 y estos cuatro compuestos están comprendidas entre 39-88. La menor distancia ocurre con la β -aletina. El cual como se mencionó anteriormente, es un dímero.
- Existe una correlación importante entre los compuestos CIS-3 y CIS-4 con la β -aleteina.
- La correlación entre los compuestos teóricos CIS-2, CIS-3 y CIS-4 con el CIS-1 no es tan importante como con los demás compuestos, aunque las distancias Euclidianas con estos compuestos están comprendidas entre 104-175.
- Cis-1 presenta una semejanza importante con la cimetidina, con una distancia euclidiana de 97.76.

PARA H_1R_2 (Anexo XXI)

- Distancias Euclidianas entre 47-94 se presentan entre los compuestos vitaletina, vitaleteina, pidotimod, NAC, cisteamina y β -aletina con el compuesto CIS-2.
- CIS-4 con los compuestos β -aleteina, cimetidina, vitaletina, vitaleteina, Pidotimod, NAC y cisteamina presenta correlaciones entre 50-98.

- El compuesto CIS-1 presenta mayores semejanzas con los compuestos Cimetidina, β -aleteina, Vitaletina, vitalteina, Pidotimod y NAC; al presentar distancias Euclidianas entre 48-94. El CIS-3 con la vitalteina y la cimetidina presenta mejor correlación.
- Los compuestos CIS-1, CIS-3 y CIS-4 la menor distancia que presentan es con cimetidina; con distancias euclidianas de 47.43, 56.87 y 50.73 respectivamente,

PARA H₂R₂ (Anexo XXII)

- El compuesto teórico CIS-1 se correlaciona principalmente con cimetidina con una distancias Euclidiana de 86.28
- CIS-4 se correlaciona principalmente con β -aleteina, cistamina y cisteamina. Las distancias euclidianas entre estos compuestos es de 68-100.
- Los compuestos β -aletina, β -aleteina, cistamina, cisteamina y vitaletina presentan distancias euclidianas con el CIS-2 de entre 86-101.

PARA L₂R₂ (Anexo XXIII)

- CIS-1 presenta distancias euclidianas entre 77 -98 con la cimetidina, cistamina, cisteamina y levamisol. La mejor correlación se da con la cimetidina.
- Las mejores correlaciones del compuesto CIS-2 se presentan con los compuestos β -aleteina, β -aletina cisteamina, cistamina y pidotimod. La menor distancia la presenta con la β -aleteina con una distancia euclidiana de 24.88.
- CIS-3 con cistamina y cisteamina.
- CIS-4 con β -aleteina, β -aletina, cistamina, cisteamina y vitalteina.

PARA H₀R₂ (Anexo XXIV)

- CIS-1 se correlaciona principalmente con cistamina, β -aleteina, cimetidina, β -aletina, cisteamina, vitaletina y pidotimod. La menor distancia Euclidiana (47.9) es con β -aleteina.

- CIS-2 se correlaciona principalmente con cistamina, β -aleteina, NAC, cimetidina, β -aletina, cisteamina, vialeteina, vialetina y pidotimod. Las menores distancias Euclidianas se presentan con cistamina (17.1), cisteamina (22.85) y con la vialetina (43.8).
- CIS-3 presenta correlaciones significativas con la β -aleteina, cimetidina y vialetina. Las distancias euclidianas se encuentran entre 83-100.
- El compuesto que se correlaciona con el mayor número de compuestos es el CIS-4. El cual presenta correlación tanto con los compuestos que tienen en su estructura grupos tiol como disulfuro. Como son la β -aleteina, β -aletina, cisteamina, cistamina, vialeteina, vialetina, NAC, cimetidina, y pidotimod, con distancias comprendidas entre 52-114. La menor distancia se presenta con β -aleteina.

PARA PER₂ (Anexo XXV)

- Ninguno de los compuestos teóricos presenta distancias euclidianas menores de 120 con levamisol, DTC o vialeteina
- CIS-1 y CIS-4 se correlacionan mejor con los mismos compuestos; β -aleteina, β -aletina, cisteamina, cistamina, vialeteina, vialetina, NAC, cimetidina y pidotimod. La mejor correlación se da en ambos compuestos con β -aleteina (68.52 y 69.48 respectivamente).
- CIS-2 se correlaciona mejor β -aleteina, β -aletina, cisteamina, cistamina, vialetina y pidotimod. La mejor correlación es con cistamina (21.27).
- CIS-3 se correlaciona mejor β -aleteina, cisteamina y vialetina. La mejor correlación es con cistamina (21.27).

PARA CMR₂ (Anexo XXVI)

- Ninguno de los compuestos teóricos presenta distancias euclidianas menores de 129 con DTC .

- CIS-1 se correlaciona principalmente con cistamina, β -aleteina, cimetidina, cisteamina, vitalteina, levamisol y pidotimod. La menor distancia Euclidiana (24.46) es con cistamina.
- El compuesto teórico CIS-2 tiene excelente correlación con los compuestos β -aletina, β -aleteina, cimetidina, cistamina, levamisol, NAC, pidotimod, vitalteina y vitalatina. Las distancias euclidianas van desde 45.4 a 12.41
- CIS-3 presenta las mejores correlaciones con β -aletina, β -aleteina, cimetidina, cistamina, pidotimod y vitalatina. La mejor es con cistamina (73.64).
- CIS-4 con β -aletina, β -aleteina, cimetidina, cistamina, cisteamina, levamisol, pidotimod, vitalteina y vitalatina.

5.3.2 ANALISIS DE CLUSTER REGION 1(R₁)

PARA L₂R₁ (Anexo XXVII)

- Los compuestos que presentan una mayor semejanza con el CIS-1 con distancias euclidianas de 82-113 son: β -aleteina, CISTAMINA Y VITALETINA.
- CIS-2 se correlaciona principalmente con cistamina. Además de presentar correlaciones entre 53-111 con la β -aletina, cisteamina, cistamina y vitalatina.
- CIS-3 se correlaciona mejor con la vitalatina con una distancia de 117.5. Con el resto de los compuestos presenta distancias por arriba de 120.
- Los compuestos β -aleteina, cimetidina, cistamina y vitalatina se correlacionan con CIS-4. Siendo la menor distancia con la β -aleteina.

PARA L₁R₁ (Anexo XXVIII)

- El compuesto CIS-1 presenta distancias euclidianas entre 59-108 con cistamina, cisteamina, β -aleteina, β -aletina, cimetidina NAC, pidotimod vitalteina y vitalatina. La mejor correlación se da con la cimetidina.
- CIS-2 se correlaciona principalmente con cistamina. Además de presentar correlaciones entre 53-111 con la β -aletina, cisteamina, cistamina y vitalatina.

- CIS-3 se correlaciona mejor con la vitaletina con una distancia de 117.5. Con el resto de los compuestos presenta distancias por arriba de 120.
- Los compuestos β -aleteina, cimetidina, cistamina y vitaletina. Siendo la menor distancia con la β -aleteina.

PARA PER₁ (Anexo XXIX)

- Todos los compuestos teóricos presentan correlaciones importantes con todos los compuesto excepto con el DTC.
- CIS-1 y CIS-4 tienen la mejor correlación con vitaletina presentando distancias de 5.48 y 3.10 respectivamente.
- CIS-2 se correlaciona mejor con β -aleteina. La distancia entre estos dos compuestos es de 12.44
- CIS-3 presenta la mejor correlación con cisteamina con una distancia de 13.09

5.4. OBTENCIÓN DEL COMPUESTO N-(1,2,5,7-DITIADIAZANONAN-6-ILIDEN) CIANAMIDA.

La mezcla de reacción se concentró en un rota vapor a presión reducida. Para separar el producto de la materia prima se agregaron aproximadamente 200mL de agua y se filtró. A este filtrado se le hicieron tres lavados con agua. A la fase acuosa se le hicieron extracciones con acetato de etilo (AcOEt). La fase orgánica se concentró observándose un precipitado blanco el cual se filtró y se lavó con hexano. Se recrystalizó el producto con AcOEt.

- El rendimiento de la reacción fue del 85 %
- El punto de fusión fue de 152-154° C.

5.5. ESPECTROSCOPIA.

5.5.1. ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^1H

En el espectro de RMN- ^1H se observan las siguientes señales: (anexo XXX).

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3 , Me_4Si , δ_{H}): 9.52 (2H, s, NH), 3.76 (4H, m, N- CH_2), 3.52 (4H, m, -S- CH_2).

5.5.2. ESPECTROSCOPIA DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{13}C .

En el espectro de RMN- ^{13}C se observan las siguientes señales: (anexo XXI).

$^{13}\text{C-NMR}$ (δ_{C}): 177.9 (C=N), 117.6 (CN), 47.42(-N- CH_2), 31.21 (-S- CH_2).

Conclusiones

6. CONCLUSIONES

- I. El estudio de análisis estadístico de los 41 variables de los 15 compuestos analizados (4 teóricos) muestra que existe entre ellos una importante correlación en cuanto a las propiedades: densidad, polarizabilidad, paracoro, volumen molar, refractividad molar, HOMO1(H₁), H₂, H₀, LUMO 0(L₀), L₁, L₂, índice de refractividad, Log P,
- II. Se observó que existen dos regiones que pueden estar directamente involucradas en la unión fármaco-receptor, tal interacción estaría influenciada principalmente por los orbitales moleculares frontera HOMO1 (H₁), H₂, H₀, LUMO 0 (L₀), L₁, L₂; así como de las cargas de Mulliken (CM) y el Potencial electrostático (PE) de las regiones 1 y 2.



Región 1. Átomo de azufre unido a un nitrógeno u oxígeno por A. (S-A-T). S = azufre; A = metil, etil, propil; T = azufre, oxígeno o nitrógeno.



Región 2. Nitrógeno unido a un carbono sp².



N = Nitrógeno.

B = Nitrógeno, azufre u oxígeno.

D = Nitrógeno, carbono o azufre.

- III. Principalmente estas cuatro propiedades electrónicas pueden estar involucradas en la activación de la respuesta inmunológica y/o en la actividad anti cancerígena.
- IV. Se observó que existen correlaciones importantes de los compuestos teóricos CIS-1 y CIS-2 con beta aletina y vitaletina, los cuales han demostrado tener propiedades inmunoestimulantes consistentes y actividad anticancerígena.
- V. Se logró la síntesis orgánica del compuesto CIS-1 con buenos rendimientos.
- VI. El estudio teórico nos indica que CIS-1, CIS-2, CIS-3 y CIS-4 son buenos candidatos para evaluar su actividad anticancerígena y/o inmunoestimulante.

Bibliografía

7. BIBLIOGRAFIA

1. Gringauz, Alex. **Introduction to Medicinal Chemistry: How Drugs Act and Why.** Wiley-VCH Inc., New York, U.S.A; 1996. pp. 1
2. Craik, D.J. **NMR in Drug Design.** CRC Press Inc., Florida, U.S.A.; 1995; pp.1-13.
3. Korolkovas, A. **Essentials of Medicinal Chemistry.** 2nded.Wiley Intersciences, Canada, 1988; pp.3-10.
4. Manuel Navia y Debra A. Peattie **Structure-based drug design: applications in immunopharmacology and immunosuppression.** . *TIPS - May 1993 (Vol. 14)* 189-195
5. Foye, W.O. **Principles of Medicinal Chemistry.** 3rd ed. Lea & Febiger. Philadelphia, U.S.A., 1989; pp.623-627.
6. Wermuth, C.G. **The Practice of Medicinal Chemistry.** Academic Press, U.S.A., 1996. pp. 913-916
7. Wermuth, C.G. *Op sit.* pp. 3-10
8. <http://encyclopedia.thefreedictionary.com>
9. Wermuth, C.G. *Op sit.* pp. 11-24,88,102
10. American Chemical Society (2000). **The Pharmaceutical Century: Ten Decades of Drugs Discovery (supplement)** pp. 19
11. Angeles, A.E. **Diseño Molecular Aplicado al Desarrollo de Nuevos Productos Inmunoestimulantes. Memorias del II Simposium Sobre Inmunoestimulantes e Inmunomodulación.** México, 1998. pp. 45- 49
12. Wolff, M.E. (ed.) **The basis of Medicinal Chemistry Burger's Medicinal Chemistry.** Wiley. New York, 1980. pp. 1-54
13. Wermuth, C.G. *Op sit.* pp. 102
14. American Chemical Society (2000). (supplement). *Op sit.* pp. 20-21,24,
15. CRAIK, D.J. *Op sit.* pp.3
16. Angeles, A.E. *Op sit.* pp. 45- 49
17. Wermuth, C.G. *Op sit.* pp. 14,57
18. American Chemical Society (2000). (supplement). *Op sit.* pp. 31
19. Craik, D.J. *Op sit.* pp.3-4

20. Wermuth, C.G. *Op sit.* pp. 81-116
21. Craik, D.J. *Op sit.* pp.4-13
22. American Chemical Society (2000). (supplement). *Op sit.* pp. 19-163.
23. Delgado, J.N. and Remers W.A.(Editors). **Textbook of Organic Medicinal and Chemistry.** Lipincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 1998. pp.1
24. Vinter J.G and Gardner M Editors. **Molecular Modeling and Drug Design** CRC Press Inc, USA, 1994 pp. 136-169
25. O'Donovan C., Apweiler R., Bairoch A. The human proteomics initiative (HPI). *Trends Biotechnol.* 2001 May; 19(5):178-181.
26. Fields Stanley. **Proteomics. Proteomics in genomeland.** *Science.* 2001 Feb 16;291 (5507):1221-1224.
27. <http://www.e-proteomics.net/>
28. Beth R. Sadler, Khalid S., Ishaq, *et al.* **Three-Dimensional Quantitative Structure Activity Relationship Study of Nonsteroidal Estrogen Receptor Ligands Using the Comparative Molecular Field Analysis/ Cross-Validated r^2 - Guided Region Selection Approach.** *J. Med. Chem.* 1998,41,2261-2267.
29. Coats E.A., **QSAR Challenges and Opportunities: A Commentary.** <http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature13.html>
30. **Diseño de fármacos.** <http://www.unav.es/organica/luis/Modeling/modeling/modeling-node1.html>
31. **Matthew, J., et al** Combinatorial Chemistry and New Drugs. *Scientific American*, 1997, April, 68-73.
32. **Michelet D., Helene C.** Síntesis Combinatoria. *Investigación y Ciencia*,1997(254), 20-24.
33. Pötter T. Matter H. **Random or Rational Design? Evaluation of Diverse Compound Subsets from Chemical Structure Databases.** *J. Med. Chem.* 1998, 41, 478-488.
34. Richon A.B. **An Introduction to Molecular Modeling** <http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature01.html>

35. Richon A.B. An Introduction to QSAR Methodology
<http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature19.html>
36. Teutsch G., *Química Médica. Investigación y Ciencia*, 1997(254), 12-19.
37. Viswanadhan V.N., Mueller G.A., Basak S. C. and Weinstein J.N.. A New QSAR Algorithm Combining Principal Component Analysis with a Neural Network: Application to Calcium Channel Antagonists.
<http://www.netsci.org/Science/Compchem/feature07.html>
38. Walters E., The Rational Basis Of Drug Design.
<http://www.biochem.vt.edu/courses/modeling/index.html>
39. Abbas A.K. et al. *Inmunología Celular y Molecular* McGraw- Hill Interamericana 3ª ed. Madrid, España; 1998. 552 pp.
40. Estrada-Parra, S. et al. Actividad Terapéutica e Inmunoreguladora del Factor de Transferencia. Memorias del II Simposium Sobre Inmunoestimulantes e Inmunomodulación. México, 1998, pp. 45- 49
41. Adorini L, Sinigaglia F. Pathogenesis and immunotherapy of autoimmune diseases. *Immunology Today*, 1997, Vol. 18, No.5, 209-211.
42. Allen J.E., Maizels R.M. Th1/Th2: reliable paradigm or dangerous dogma? *Immunology Today*, 1997, Vol. 18, No.8, 387- 392.
43. Argiles J.M., Lopez-Soriano F.J. The role of cytokines in cancer cachexia. *Med Res Rev.* (1999); May;19(3):223-248.
44. C. Erik Hack, Han Speijer, et al. A role for secretory phospholipase A2 and C-reactive protein in the removal of injured cells. *Immunology Today*, 1997, Vol. 18, No.3, 111-115.
45. Eigler A., Hartmann G., et al. Taming TNF: strategies to restrain this proinflammatory cytokine. *Immunology Today*, 1997, vol. 18, No. 10, 487-492.
46. Fresno M., Kopf M., Rivas L. Cytokines and infectious diseases. *Immunology Today*, 1997, Vol. 18, No.2, 56-58.
47. Gause William C., Greenwald Rebecca, et al. The function of co stimulatory molecules and development of IL-4-producing T cells. *Immunology Today*, 1997, Vol. 18, No.3, 115-119.

48. **Girolomoni Giampiero y Ricciardi-Castagnoli Paola.** Dendritic cells hold promise for immunotherapy. *Immunology Today*, 1997, Vol. 18, No.3, 102-104.
49. **Horwitz D., Ohtsuka K., et al.** The immunoregulatory effects of NK cells: the role of TGF- β and implications for autoimmunity. *Immunology Today*, 1997, vol. 18, No. 11, 538-542.
50. **Janeway C. A., Medzhitov R.** Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.* 2002. 20: 197-216.
51. **Johnson, Arthur G.** Molecular Adjuvants and Immunomodulators: New Approaches to Immunization. *Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 7, No. 3, July 1994, P. 277-289.
52. **Koretzky Gary A.** The role of Grb2-associated proteins in T-cell activation. *Immunology Today*. 1997, vol. 18, No. 8, 401- 406.
53. **Kurzrock R.** The role of cytokines in cancer-related fatigue. *Cancer*. 2001 Sep 15; 92(6 Suppl): 1684-1688.
54. **La Respuesta Immune.** Fondo Editorial Andromaco.
55. **Baeuerle, P.A.; et al.** Function and activation of NF- κ B in the immune system. *Annu. Rev. Immunol.*, 1994, 12: 141-179.
56. **Mackall C.L., Hakim F.T., Gress Ronald E.** T-cell regeneration: all repertoires are not created equal. *Immunology Today*, 1997, Vol. 18, No.5, 245- 251.
57. **Medd G., Woodhead V.** Towards a new horizon. *Immunology Today*, 1997, vol. 18, No. 11, 516-519.
58. **Pistoia V.** Production of cytokines by human B cells in health and diseases. *Immunology Today*, 1997, Vol. 18, No.7, 343- 349.
59. **Sahaf B., Heydari K., Herzenberg L. A.** Lymphocyte surface thiol levels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100(2003), 4001-4005.
60. **Romagnani S.** The Th1/Th2 paradigm. *Immunology Today*, 1997, Vol. 18, No.6, 263- 266.
61. **Salaheddine Mécheri, Bernard David.** Unravelling the mast cell dilemma: culprit or victim of its generosity? *Immunology Today*, 1997, Vol. 18, No.5, 212-215.

62. Shearer G.M. Redirecting T -cell function. *Nature*. Vol. 377, 7 September 1995, 16-17.
63. Yashwant M. Deo, Robert F. Graziano, et al. Clinical significance of IgG Fc receptors and FcγR- directed immunotherapies. *Immunology Today*, 1997, Vol. 18, No.3, 127-134.
64. Zinkernagel R.M., Hengartner H. Antiviral immunity. *Immunology Today*, 1997, Vol. 18, No.6, 258- 259.
65. Abbott Shaun D., Gagnon Lyne, et al. Synthesis and Activity of Dipeptides, Linked to Targeting Ligands, as Specific NK Cell Enhancers. *J. Med. Chem.* 1998,41,19091-1926.
66. Allavena P., Peccatori F., Maggioni D., Pirovano P., Mantovani A. Killing of tumor cells with pleiotropic drug resistance by OK432-activated effector cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1989;11: 257.
67. Arinaga S, Karimine N, Takamuku K, Nanbara S, Nagamatsu M, Ueo H, Akiyoshi T. Enhanced production of interleukin 1 and tumor necrosis factor by peripheral monocytes after lentinan administration in patients with gastric carcinoma. *Int J Immunopharmacol* 1992;14: 43-47.
68. Bahr G.M., Chedid L.A., Behbehani K. Induction, in vivo and in vitro, of macrophage membrane interleukin-1 by adjuvant-active synthetic muramyl peptides. *Cell Immunol* 1987;107: 443.
69. Boulos Z, Gagnon L, Attardo G, Connolly T.P., St-Denis Y., Penney C.L. Synthesis and Activity of 6-Substituted Purine Linker Amino Acid Immunostimulants. *J. Med. Chem.* 1997, 40, 2883-2894
70. Breikutz R, et al. Improvement of immune functions in HIV infection by sulfur supplementation: two randomized trials. *J. Mol. Med.* 2000; 78(1):55-62.
71. Marquardt H.; et al. Inhibition by cysteamine-HCl of oncogenesis induced by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene without affecting toxicity. *Cancer Res.* 1974, 34, 3387-3390.
72. Bryant H.U.; et al. Cysteamine produces dose-related bi-directional immunomodulatory effects in mice. *J.Pharmacol.* 1989; 249,424-429.

73. Dunn T.M., Wormsley S., Taub F.E., Pontzer C.H. **Increased T cell cytotoxicity by Betathine induced up regulation of TNF-alpha.** *Int. J. Immunopharmacol.* 2000 Mar;22(3):213-227.
74. Fruehauf J.P., Bonnard G.D., Herberman R.B. **The effect of lentinan on production of interleukin-1 by human monocytes.** *Immunopharmacology* 1982;5: 65.
75. Fudenberg H.H., Whitten H.D. **Immunostimulation-Synthetic and biological modulators of immunity.** *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1984;24: 147.
76. Gohda E, Okamura T, Aoyama E, Yamamoto I. **Augmentation by 2-mercaptoethanol of in vitro anti-TNP antibody production induced by butyrate plus IL-2 in murine splenic B cells.** *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2003 Nov;25(4):539-50.
77. Gourgiotis D., Papadopoulos N.G., Bossios A., Zamanis P., Saxoni-Papageorgiou P. **Immune modulator pidotimod decreases the in vitro expression of CD30 in peripheral blood mononuclear cells of atopic asthmatic and normal children.** *J Asthma.* 2004;41(3):285-7.
78. Guterman J.U., Mavligit G., McBride C., Frei E., Freireich E.J., Hersh E.M. **Active immunotherapy with BCG for recurrent malignant melanoma.** *Lancet* 1973;1: 1208.
79. Hadden, J. W. **Immunostimulants.** *Immunol. Today* 1993, 14, 275-280.
80. Hadden, J. W.; Comaglia-Ferraris, P.; Coffey, R. G. **Purine Analogs as Immunomodulators.** *Pro gr. Immunol.* 1983, V, 1393- 1408.
81. Hadden, J. W.; Giner-Sorolla, **Isoprinosine and NPT 15392: Modulators of Lymphocyte and Macrophage Development and Funtion.** A. *Augmenting Agents Cancer Ther.* 1981, 497-522.
82. Haegeman G., Goldman M. **Thiols And The Immune System: Effect of N-Acetyl cysteine on T Cell System in Human Subjects."** *Methods in Enzymology, Vol.* 251(1995); 255-270
83. Hasegawa K, Ito S, Inoue S, Wakamatsu K, Ozeki H, Ishiguro I. **Dihydro-1,4-benzothiazine-6,7-dione, the ultimate toxic metabolite of 4-S-**

- cysteaminylphenol and 4-S-cysteaminylcatechol. Biochem. Pharmacol.* 1997 May 15; 53(10):1435-44.
84. Hertzog P.J., Cheetham B.F., Sexton J.L., Linnane A.W. **Characterization of interferons produced by peripheral blood mononuclear cells from healthy subjects in response to *Corynebacterium parvum* or poly I: poly C.** *Biochem. Int.* 1989; 19: 1427.
 85. Hoffmann G.R., Buccola J., Merz M.S., Littlefield L.G. **Structure-activity analysis of the potentiation by aminothiols of the chromosome damaging effect of bleomycin in G0 human lymphocytes.** *Environ Mol Mutagen.* 2001; 37(2):117-127.
 86. Howard O.M., Oppenheim J.J. et al. **Inhibition of in Vitro and in Vivo HIV Replication by Distamycin Analogue a Candidate for Chemotherapeutic and microbial Application.** *Journal of Medicinal Chemistry*, 1998(41), 2184-2193.
 87. Hua Long L, Halliwell B. **Oxidation and generation of hydrogen peroxide by thiol compounds in commonly used cell culture media.** *Biochem Biophys Res Commun.* 2001 Sep 7; 286(5): 991-994.
 88. Iciek M.B., Rokita H.B., Wlodek L.B. **Effects of diallyl disulfide and other donors of sulfane sulfur on the proliferation of human hepatoma cell line (HepG2).** *Neoplasma.* 2001;48 (4):307-12
 89. **Immune modulators.** <http://www.glaxowellcome.ch/gw/fr/news/news.shtml>.
 90. Janik J., Kopp W.C., Smith J.W., et al. **Dose-related immunologic effects of levamisole in patients with cancer.** *J. Clin. Oncol.* 1993;11: 125-135.
 91. Janssen P.A. **Levamisole as an adjuvant in cancer treatment.** *J. Clin. Pharmacol.* 1991; 31: 396.
 92. Jeannin J.F., Lagadec P., Pelletier H., Reisser D., Olsson N.O., Chihara G., Martin F. **Regression induced by lentinan of peritoneal carcinomatoses in a model of colon cancer in rat.** *Int. J. Immunopharmacol.* 1988; 10: 855.
 93. Jeitner T.M., Lawrence D.A. **Mechanisms for the cytotoxicity of cysteamine.** *Toxicol. Sci.* 2001 Sep; 63(1):57-64.

94. Jokay I., Kelemenics K., Gyuris A., Minarovits J. **S-methylthio-cysteine and cystamine are potent stimulators of thiol production and glutathione synthesis.** *Life Sci.* 1998; 62(2):PL27-33.
95. Kelly Gregory S., **Clinical Applications of N-acetylcysteine,** *Alt Med Rev* 1998; 3(2): 114-127
96. Kikelj D., Kotnik V., *et al.* **N-{trans-2- [(2'-(Acetylamino)cyclohexyl]oxy} acetyl}-L-alanyl-D-glutamic Acid: A Novel Immunologically Active Carbocyclic Muramyl Dipeptide Analogue.** *J. Med. Chem.* 1998, 41, 530-539.
97. Kim, K.Y., Rhim, T., Choi, I., Kim, S.S. **ACTIVIDAD ANTIPROLIFERATIVA DEL NAC** *J. Biol. Chem.* 276(2001), 40591-40598.
98. Kleinerman E.S., Murray J.L., Snyder J.S., Cunningham J.E., Fidler I.J. **Activation of tumoricidal properties in monocytes from cancer patients following intravenous administration of liposomes containing muramyl tripeptide phosphatidylethanolamine.** *Cancer Res* 1989;49: 4665.
99. Knight G.D., Laubscher K.H., Fore M.L., Clark D.A., Scallen T.J. **Vitaethine modulates erythropoiesis and neoplasia.** *Cancer Research*, Vol 54, Issue 21 5623-5635,
100. Knight G.D., Mann P.L., Laubscher K.H., Scallen T.J. **Seemingly diverse activities of β -alethine.** *Cancer Res.* Vol 54, Issue 21: 5636-42.
101. Lant N.J., McKeown P., Kelland L.R., Rogers P.M., Robins D.J. **Synthesis and antimelanoma activity of analogues of N-acetyl-4-S-cysteaminyphenol.** *Anticancer Drug Des.* 2000 Aug;15(4):295-302. Erratum in: *Anticancer Drug Des* 2000 Oct;15(5):387.
102. Lant NJ, McKeown P, Timoney MC, Kelland LR, Rogers PM, Robins DJ. **Synthesis and anti-melanoma activity of analogues of N-acetyl-4-S-cysteaminyphenol substituted with two methyl groups alpha to the nitrogen.** *Anticancer Drug Des.* 2001 Feb;16(1):49-55.
103. Laragione T., Bonetto V., Casoni F., Massignan T., Bianchi G., Gianazza E. and Ghezzi P. **Redox regulation of surface protein thiols: Identification of integrin**

- α -4 as a molecular target by using redox proteomics. *Proc. Natl. Acad. Sci.* December 9 (2003), vol. 100 no. 25, 14737-14741
104. Lentzsch S., Rogers M.S., LeBlanc R., Birsner A.E., Shah J.H., Treston A.M., Anderson K.C., D'Amato R.J. **S-3-Amino-phthalimido-glutarimide inhibits angiogenesis and growth of B-cell neoplasias in mice.** *Cancer Res.* 2002 Apr 15; 62(8): 2300-2305.
 105. Lichtenstein A.K., Pende D. **Enhancement of natural killer cytotoxicity by cis-diamminedichloroplatinum (II) in vivo and in vitro.** *Cancer Res.* 1986; 46: 639.
 106. McBride B.J., Baldwin R.M., Kerr J.M., Jiann-Long Wu, Schultze L.M., Salazar N.E. **Structure Activity Relationship Of ^{99m}Tc Complexes Of Phenylenediamine-Thiol-Thioether Ligands (PhAT) To Brain Uptake In Rats.** *J. Med. Chem.* 1993, 36, 81-86.
 107. McDonnell N.B., De Guzman R.N., Rice W.G., Turpin J.A., Summers M.F. **Zinc ejection as a new rationale for the use of cystamine and related disulfide-containing antiviral agents in the treatment of AIDS.** *J. Med. Chem.* 1997 Jun 20; 40(13):1969-1976.
 108. Minamitsuji Y, Toyofuku K, Sugiyama S, Yamada K, Jimbow K. **Sulfur containing tyrosine analogs can cause selective melanocytotoxicity involving tyrosinase mediated apoptosis.** *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* 1999 Sep; 4(2):130-136.
 109. Misik V, Miyoshi N, Riesz P. **Effects of cysteamine and cystamine on the sonochemical accumulation of hydrogen peroxide—implications for their mechanisms of action in ultrasound-exposed cells.** *Free Radic. Biol. Med.* 1999 Apr; 26(7-8):961-967.
 110. Miura S., Ueda T., Jimbow K., Ito S., Fujita K. **Synthesis of cysteinylphenol, cysteaminyphenol, and related compounds, and in vivo evaluation of antimelanoma effect.** *Arch. Dermatol. Res.* 1987; 279(4):219-225.
 111. Miyachi H., Azuma A., Ogasawara A., Uchimura E., Watanabe N., Yoshiro K., et al. **Novel Biological Response Modifiers: Phthalimides with Tumor Necrosis Factor- α Production-Regulating Activity.** *J. Med. Chem.* 1997, 40, 2858-2865.

112. Mohamadi F., Grindey G., Spees M. Sulfonylureas: A New Class of Cancer Chemotherapeutic Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1992(35), 3012-3016.
113. O'Connor S.D., Smith P.E., et al. Quenched Molecular Dynamics Simulations of Tuftsin and proposed Cyclic Analogues. *J. Med. Chem.* 1992,345, 2870-2881.
114. Pontremolli S., et al. Regulation of fructose diphosphatase activity by disulfide exchange. *Biochemistry*, (1967) 58, 286-293.
115. Puscas I, Coltau M, Maghiar A, Domuta G. Cysteamine, the most potent ulcerogenic drug known so far, powerfully activates carbonic anhydrase I, II and IV. In vitro and in vivo studies. *Exp Toxicol Pathol.* 2000 Oct;52(5):431-5.
116. Qi Han, Chong-Hwan, et al. Cyclic HIV Protease Inhibitors: Design and Synthesis of Orally Bioavailable, Pyrazole P2/P2' Cyclic Ureas with Improved Potency. *J. Med. Chem.* 1998, 41, 2019-2028
117. Qiu L, Zhang M., Sturm R.A., Gardiner B., Tonks I., Kay G., Parsons P.G. Inhibition of melanin synthesis by cystamine in human melanoma cells. *J Invest Dermatol.* 2000 Jan; 114(1): 21-7.
118. Radin N.S. Review article: Killing tumors by ceramide-induced apoptosis: critique of available drugs. *Biochemical Journal Immediate Publication.* January 21, 2003: 1-34.
119. Ravot E., Lisziewicz J., Lori F. New Uses for Old Drugs in HIV Infection The Role of Hydroxyurea, Cyclosporin and Thalidomide. *Drugs* 1999 Dec; 58 (6): 953-963.
120. Reitz A, Goodman M. G., Pope B. L. Small Molecule Immunostimulants. Synthesis and Activity of 7,8-Disubstituted Guanosines and Structurally Related Compounds. *J. Med. Chem.* 1994, 37, 3561-3578.
121. Rhodes, J.; Chen, H.; Hall, S. R.; Beesley, J. E.; Jenkms, D. C.; Collins, P.; Zheng, B. Therapeutic Potentiation of the Immune System by Costimulatory Schiff-base Forming Drugs. *Nature* 1995,377,71-75.

122. Richardson P., Anderson K., **Immunomodulatory Analogs of Thalidomide: An Emerging New Therapy in Myeloma.** *J. of Clinical Oncology* Vol. 22, No.16, Aug 2004; 3212-3214.
123. Ruzala-Mallon V, Linn Y.I., Durr F.E., Wang B.S. **Low molecular weight immunopotentiators.** *Int. J. Immunopharmacol.* 1988; 10: 497.
124. Sakai T., Ueno H., *et al.* **Effects of α - and β -Galactosylated C2-Ceramides on the Immune System.** *J. Med. Chem.* 1998, 41; 650-652.
125. Salam O.M. **Modulation of inflammatory paw oedema by cysteamine in the rat.** *Pharmacol. Res.* 2002 Apr; 45(4):275-84.
126. Sampson D., Peters T.G., Lewis J.D., Metz J., Kurtz B.E. **Dose dependence of immunopotential and tumor regression induced by levamisole.** *Cancer Res* 1977;37.
127. Schiller J.H., Lindstrom M., Witt P.L, Hank J.A., Mahvi D., Wagner R.J., Borden E.C. **Immunological effects of levamisole in vitro.** *J Immunother.* 1991 Oct; 10(5):297-306.
128. Sosa M., Saha A. R., Wang Y., Coto J., Giner-Sorolla A., Hadden E.M., Hadden J.W. **Potentiation of Immune Responses in Mice by a New Inosine Derivative - Metfryl Inosine Monophosphate (MIMP).** *Int. J. Immunopharmacol.* 1992, 14, 1259-1266.
129. Tandon M., Thomas P., Shokravi M., Singh S., Samra S., Cheng D., Jimbow K. **Synthesis and antitumour effect of the melanogenesis based antimelanoma agent N-propionyl-4-S-cysteaminyphenol.** *Biochem. Pharmacol.* 1998 Jun 15; 55(12): 2023-2029.
130. Taub F., Mayerson S., Dunn T., Mokyr M., Pier G., Schuman R., Fichtner I. **Beta LTTM: A new low molecular weight non-toxic immune stimulant.** Presented in Amsterdam at the 10th Meeting of the NCI-EORTC, June 1998.
131. Thomas P.D., Kishi H., Cao H., Ota M., Yamashita T., Singh S., Jimbow K. **Selective incorporation and specific cytotoxic effect as the cellular basis for the antimelanoma action of sulphur containing tyrosine analogs.** *J. Invest. Dermatol.* 1999 Dec; 113(6): 928-934.

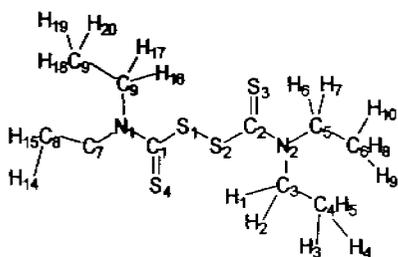
132. Uhlin U., et al. **Structure of ribonucleotide reductase protein R1.** *Nature* 370, 535-534 (1994).
133. Van Wauwe J, Janssen P.A. **Review article on the biochemical mode of action of levamisole: an update.** *Int J Immunopharmacol* 1991;13: 3.
134. Vecchiarelli A., Dottorini M., Pietrella D., Cociani C., Eslami A., Todisco T., Bistoni F. **Macrophage activation by N-acetyl-cysteine in COPD patients.** *Chest, Vol 105, No. 3; 806-811.*
135. Verhasselt V., Berghe W.V., Vanderheyde N., Willems F., Haegeman G., Goldman M. **N-Acetyl-L-Cysteine Inhibits Primary Human T Cell Responses at the Dendritic Cell Level: Association with NF- κ B Inhibition.** *The Journal of Immunology*, 1999, 162: 2569-2574.
136. Wilmore B.H., Cassidy P.B., Warters R.L., Roberts J.C. **Thiazolidine prodrugs as protective agents against gamma-radiation-induced toxicity and mutagenesis in V79 cells.** *J Med Chem.* 2001 Aug 2;44(16):2661-6.
137. Yamakido M, Ishioka S, Hozawa S, Matsuzaka S, Yanagida J, Shigenobu T, Otake M, Nishimoto Y. **Effect of *Nocardia rubra* cell-wall skeleton on cancer prevention in humans.** *Cancer Immunol Immunother* 1992;34: 389-392.
138. Dröge W.; Hack V.; Breikreutz R.; Holm E.; Shubinsky G.; Schmid E.; Galter D. **Role of cysteine and glutathione in signal transduction, immunopathology and cachexia** *Biofactors.* 1996, VOL. 8 No. 1-2, pp. 97-102(6).
139. Vos O. **Role of endogenous thiols in protection.** *Adv Space Res.* 1992;12(2-3):201-207.
140. Sahaf B., Heydari K., Herzenberg L. A. **role for surface thiols as targets of redox regulation in the immune system.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100(2003), 4001-4005.
141. Paalman S.R., Noll D.M., Clarke N.D. **Formation of a covalent complex between methylguanine methyltransferase and DNA via disulfide bond formation between the active site cysteine and a thiol-containing analog of guanine.** *Nucleic Acids Res.* 1997 May 1; 25(9):1795-1801.

142. Jiang Xing-Mai, Fitzgerald M., Grant C.M., Hogg P.J. **Redox Control of Exofacial Protein Thiols/Disulfides by Protein Disulfide Isomerase.** *The Journal Of Biological Chemistry* Vol. 274, No. 4, Issue of January 22, pp. 2416–2423, 1999.
143. Ignarro L.J., et al. **Requirement of thiols for activation of coronary arterial guanylate cyclase by glyceryl trinitrate and sodium nitrite: Possible involvement of S-nitrosothiols.** *Biochem. Biophys. Acta* 631(2), 221-231(1980).
144. Pontremoli S., et al. **Regulation of fructose diphosphatase activity by disulfide exchange.** *Biochemistry*, 58, 286-293(1967).
145. Angeles A.E., Martínez P., Keller J., et al. **Ethyl and methylcarbamates as antihelminthic agents: theoretical study for predicting their biological activity by PIM3.** *Journal of molecular structure (Theochem)*; 504(2000)141-170.
146. PIMMS, ASP, software desarrollado y distribuido por Oxford Molecular Ltd., 1993.
147. SPARTAN, ver. 5.0 Software desarrollado y distribuido por Wavefunction Products, 1998.
148. TSAR. Software desarrollado por Oxford Molecular LTD.
149. STATSOFT 4.2, 1993
150. Wilpart M, Speder A, Ruberfroid M. **Antiinitiation activity of N-acetylcysteine in experimental colonic carcinogenesis.** *Cancer Lett* 1986; 31:319-324.
151. De Flora S, D'Agostini F, Masiello L, et al. **Synergism between N-acetylcysteine and doxorubicin in the prevention of tumorigenicity and metastasis in murine models.** *Int J Cancer* 1996; 67: 842-848.
152. Omara FO, Blakley BR, Bernier J, Fournier M. **Immunomodulatory and protective effects of Nacetylcysteine in mitogen-activated murine splenocytes in vitro.** *Toxicology* 1997; 116:219-226.

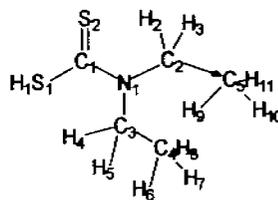
Anexos

ANEXO II

Moléculas numeradas. Numeración utilizada para el estudio teórico.

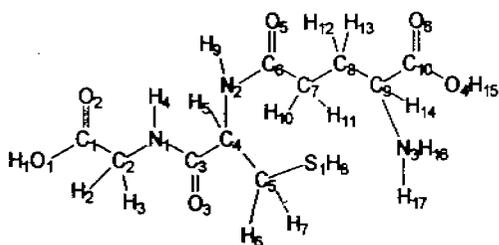


DISULFIRAM

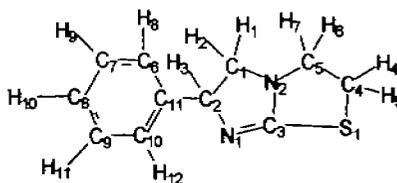


DIETILDITIOCARBAMATO

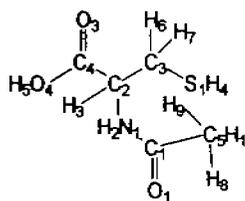
DTC



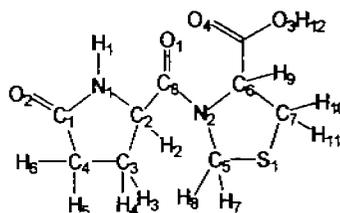
GLUTATION



LEVAMISOL



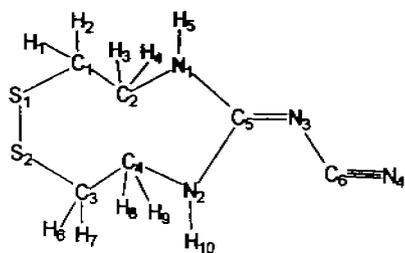
N-ACETILCISTEINA
(NAC)



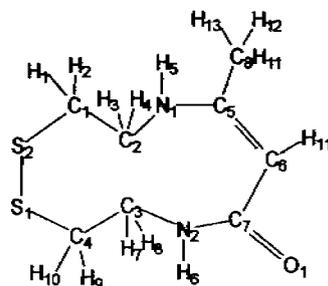
PIDOTIMOD

ANEXO III

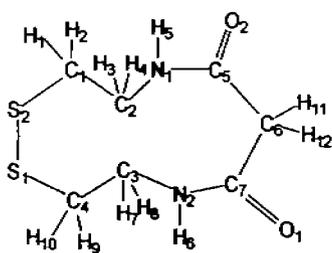
Moléculas numeradas. Numeración utilizada para el estudio teórico.



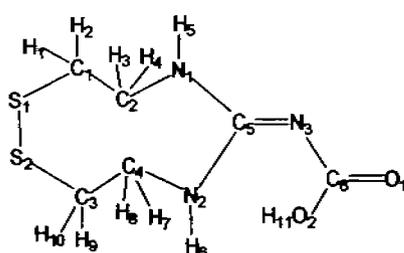
CIS-1



CIS-3



CIS-2



CIS-4

ANEXO IV

Propiedades fisicoquímicas y moleculares calculadas de compuestos inmunestimulantes

| | MW | AREA | S. AREA | VOLUMEN | V. MOL | V. RELI | LOGP MC | LOGP MM | AN | DIPOLO | H(0) | H(1) | H(2) |
|-------------------------|---------|--------|---------|---------|--------|---------|---------|---------|-----------|--------|----------|----------|-----------|
| B-ALLETINE(DIETATINA) | 294.44 | 307.06 | 280.20 | 330.31 | 223.70 | 638.6 | 2.18 | -2.30 | -80.48 | 7.71 | -9.16 | -9.63 | -9.77 |
| B-ALLETINE(MONOETATINA) | 148.23 | 193.78 | 194.00 | 175.89 | 120.00 | 169.8 | 0.78 | -1.38 | -51.65 | 1.90 | -9.11 | -9.99 | -10.18 |
| BUCILAMINA | 221.345 | 271.03 | 197 | 248.84 | 159.9 | 304.8 | 3.8 | 0.412 | -78.3829 | 1.6093 | -9.23921 | -9.42843 | -10.33608 |
| CIMETIDINA | 238.32 | 302.71 | 249.70 | 274.60 | 178.70 | 1070.8 | 0.97 | 1.28 | 121.08 | 4.88 | -9.22 | -9.48 | -9.66 |
| CISTAMINA | 182.29 | 201.98 | 184.80 | 177.27 | 118.00 | 189.1 | 1.89 | -0.61 | -8.37 | 2.43 | -9.97 | -9.67 | -10.03 |
| CISTEAMINA | 71.18 | 121.72 | 101.60 | 98.78 | 81.78 | 170.1 | 0.47 | -0.47 | -8.90 | 1.48 | -9.08 | -9.98 | -11.60 |
| DIGULPIRAM | 298.548 | 339.93 | 287.8 | 325.99 | 225.4 | 711 | 7.08 | 4.782 | 26.6107 | 4.1157 | -9.27413 | -9.57838 | -8.8138 |
| DTG | 149.28 | 192.53 | 183.00 | 172.82 | 118.00 | 149.7 | 2.42 | 2.18 | 13.88 | 3.91 | -9.66 | -9.09 | -9.82 |
| GLUTATION | 307.327 | 334.22 | 293.8 | 324.38 | 228.7 | 486.7 | -0.84 | -2.718 | -258.0548 | 4.7491 | -9.42867 | -10.4338 | -10.71898 |
| LEVAMISOL | 204.30 | 241.49 | 216.10 | 230.08 | 162.10 | 377.3 | 2.69 | 2.79 | 74.10 | 3.57 | -8.82 | -9.48 | -9.69 |
| NAC | 183.20 | 199.99 | 186.00 | 178.35 | 117.80 | 157.1 | -0.12 | -0.91 | -113.71 | 1.45 | -9.58 | -10.98 | -11.70 |
| PINDOTIMOD | 244.27 | 287.37 | 221.40 | 282.60 | 171.80 | 486.9 | 0.67 | -1.07 | -148.89 | 4.82 | -9.24 | -10.31 | -10.61 |
| VITALETHINE | 178.21 | 218.67 | 180.30 | 192.30 | 128.10 | 188.2 | -0.27 | -0.68 | -133.73 | -4.32 | -9.09 | -10.04 | -10.88 |
| VITALETHINE | 354.41 | 384.18 | 301.30 | 362.62 | 245.60 | 663 | -0.62 | -0.73 | -263.48 | 5.38 | -8.98 | -9.63 | -10.45 |

| | L(0) | L(1) | L(2) | HOM-LUM | MR T3AR | MRACOL | NRACDL | PARACH. | LR | S.T. | Q | RCARAZ |
|-------------------------|-------|-------|----------|----------|---------|--------|--------|---------|-------|------|-------|--------|
| B-ALLETINE(DIETATINA) | -1.81 | 0.63 | 0.83319 | 7.3377 | 77.89 | 81.93 | 240.2 | 606.8 | 1.897 | 70.7 | 1.474 | 32.48 |
| B-ALLETINE(MONOETATINA) | 0.68 | 1.28 | 1.00018 | 9.7883 | 39.84 | 40.29 | 134.7 | 344.8 | 1.009 | 42.8 | 1.1 | 15.98 |
| BUCILAMINA | 0.19 | -0.12 | 0.82214 | 8.8888 | 58.2 | 68.48 | 182.1 | 484.7 | 1.62 | 40.4 | 1.161 | 23.18 |
| CIMETIDINA | -0.12 | 0.33 | 0.85177 | 9.098007 | 66.12 | 66.09 | 182.1 | 487.4 | 1.648 | 61.3 | 1.3 | 26.1 |
| CISTAMINA | -1.63 | 0.77 | 0.96357 | 7.3368 | 42.68 | 43.64 | 129.8 | 350.8 | 1.587 | 63.1 | 1.172 | 17.3 |
| CISTEAMINA | 0.78 | 1.88 | 3.42179 | 8.8285 | 22.34 | 22.74 | 79.2 | 192.8 | 1.486 | 34.8 | 0.973 | 9.01 |
| DIGULPIRAM | -1.29 | -0.65 | -0.28973 | 9.9973 | 88.09 | 88.38 | 248 | 678.7 | 1.819 | 59.9 | 1.205 | 34.24 |
| DTG | -0.38 | 0.01 | 1.02238 | 8.1888 | 48.41 | 44.12 | 137.3 | 306.1 | 1.935 | 44.6 | 1.086 | 17.49 |
| GLUTATION | 0.28 | 0.82 | 0.6747 | 8.7087 | 68.08 | 68.91 | 209.1 | 508.8 | 1.548 | 62.8 | 1.397 | 26.4 |
| LEVAMISOL | 0.17 | 0.42 | 0.67108 | 8.8888 | 60.02 | 60.41 | 184.1 | 418 | 1.712 | 64.1 | 1.32 | 23.94 |
| NAC | 0.05 | 0.85 | 0.88882 | 8.8287 | 87.81 | 88.28 | 128 | 335.1 | 1.819 | 48.9 | 1.284 | 18.18 |
| PINDOTIMOD | -0.01 | 0.32 | 0.48288 | 9.2284 | 88.68 | 88.18 | 180 | 488.8 | 1.819 | 73.3 | 1.828 | 22.28 |
| VITALETHINE | 0.58 | 0.88 | 1.08833 | 9.8882 | 40.85 | 41.89 | 134.4 | 385.7 | 1.836 | 54.8 | 1.325 | 18.8 |
| VITALETHINE | -1.71 | 0.41 | 0.83282 | 7.2884 | 80.1 | 81.83 | 240.2 | 606.8 | 1.897 | 70.7 | 1.474 | 32.48 |

ANEXO V

Listado de propiedades calculadas, unidades y abreviaturas utilizadas en este trabajo. Entre parentesis se indica el programa utilizado para su cálculo

| |
|--|
| PESO MOLECULAR (SPARTAN) (AM1) EN g/mol |
| AREA EN AMSTRONGS AL CUADRADO (SPARTAN) |
| AREA SUPERFICIAL (TSAR) |
| VOLUMEN DE EN AMGSTRONGS AL CUBO (SPARTAN) |
| VOLUMEN MOLECULAR (TSAR) |
| VOLUMEN HELIPSOIDAL (TSAR) |
| COEFICIENTE DE PARTICIÓN POR MECANICA CUANTICA (SPARTAN) |
| COEFICIENTE DE PARTICIÓN POR MECANICA MOLECULAR (TSAR) |
| CALOR DE FORMACION kcal/mol |
| MOMENTO DIPOLO EN DEBYES |
| ORBITAL MOLECULAR OCUPADO DE MAS ALTA ENERGIA, eV, (AM1) |
| ORBITAL MOLECULAR DESOCUPADO DE MAS BAJA ENERGIA eV, (AM1) |
| ORBITAL MOLECULAR OCUPADO DE MAS ALTA ENERGIA NIVEL 0 |
| ORBITAL MOLECULAR OCUPADO DE MAS ALTA ENERGIA NIVEL 1 |
| ORBITAL MOLECULAR OCUPADO DE MAS ALTA ENERGIA NIVEL 2 |
| ORBITAL MOLECULAR DESOCUPADO DE MAS BAJA ENERGIA NIVEL 0 |
| ORBITAL MOLECULAR DESOCUPADO DE MAS BAJA ENERGIA NIVEL 1 |
| ORBITAL MOLECULAR DESOCUPADO DE MAS BAJA ENERGIA NIVEL 2 |
| DIFERENCIA HOMO (0)- LUMO (0) |
| REFRACTIVIDAD MOLAR (TSAR) C.C |
| HOMO 0 REGION 1 |
| HOMO 0 REGION 2 |
| HOMO 1 REGION 1 |
| HOMO 1 REGION 2 |
| HOMO 2 REGION 1 |
| HOMO 2 REGION 2 |
| LUMO 0 REGION 1 |
| LUMO 0 REGION 2 |
| LUMO 1 REGION 1 |
| LUMO 1 REGION 2 |
| LUMO 2 REGION 1 |
| LUMO 2 REGION 2 |
| POTENCIAL ELECTROSTATICO DE REGION 1 |
| POTENCIAL ELECTROSTATICO DE REGION 2 |
| CARGAS DE MULLIKEN DE REGION 1 |
| CARGAS DE MULLIKEN DE REGION 2 |
| REFRACTIVIDAD MOLAR (ACD/LABS) C.C |
| VOLUMEN MOLAR ACD/LABS C.C |
| PARACORO +/- 4.0 C.C. |
| INDICE DE REFRACCIÓN +/- 0.02 |
| TENSION SUPERFICIAL +/- DYNE/CM |
| DENSIDAD +/- 0.06 g/c.c |
| POLARIZABILIDAD +/- 0.5x10E-24 C.C |

* HIGHEST OCCUPIED MOLECULAR ORBITAL ENERGY eV, (AM1)

** LOWEST UNOCCUPIED MOLECULAR ORBITAL ENERGY eV, (AM1)

ANEXO VI

Porcentaje de contribución electrónica de los compuestos inmunestimulantes por átomo a los orbitales moleculares frontera HOMO y LUMO

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|----------------|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | 10.71 | 4.18 | 66.89 | 43.21 | 10.05 | 21.21 | 28.84 | 3.98 | 60.18 | 45.8 | 2.63 | 46.63 | 39.28 | 36.69 | 11.18 | 11.18 | 37.28 | 40.81 |
| | C ₉ | C ₁₀ | N ₁ | S ₁ | N ₂ | S ₂ | S ₁ | C ₉ | S ₂ | S ₁ | C ₉ | S ₂ | S ₁ | C ₇ | S ₂ | S ₁ | C ₉ | S ₂ |
| | 82.32 | 8.89 | 22.9 | 67.11 | 10.61 | 6.81 | 4.39 | 3.801 | 84.46 | 35.9 | 9.68 | 48.87 | 23.49 | 84 | 6.78 | 9.31 | 41.85 | 43.01 |
| | N ₂ | C ₉ | O ₁ | N ₁ | H ₁ | C ₁ | N ₁ | H ₇ | S ₁ | C ₉ | H ₁₂ | S ₁ | O ₁ | C ₂ | N ₂ | C ₃ | H ₁₂ | S ₁ |
| | 39.41 | 14.86 | 14.71 | 88.25 | 4.04 | 2.23 | 3.34 | 3.98 | 81.02 | 48.22 | 38 | 7.43 | 33.93 | 9.14 | 48.94 | 4.17 | 54.02 | 29.51 |
| | N ₁ | O ₁ | O ₂ | S ₁ | O ₁ | C ₂ | N ₁ | C ₄ | S ₂ | S ₁ | C ₂ | H ₁ | C ₇ | H ₇ | S ₂ | C ₉ | C ₉ | O ₂ |
| | 26.17 | 20.02 | 13.82 | 13.04 | 31.23 | 13.12 | 83.77 | 3.44 | 2.98 | 16.43 | 34.91 | 16.16 | 49.62 | 14.01 | 10.73 | 12.89 | 20.96 | 18.1 |
| | C ₁ | C ₂ | N ₂ | N ₂ | N ₉ | N ₆ | S ₁ | N ₂ | H ₉ | C2 | S1 | O5 | C ₉ | N ₁ | N ₆ | N ₁ | C ₂ | N ₂ |
| | 3.86 | 34.89 | 6.19 | 42.46 | 4.32 | 2.28 | 42.94 | 3.01 | 2.16 | 46 | 1.28 | 2.33 | 26.6 | 0.816 | 22.79 | 26.6 | 0.872 | 21.88 |
| | C4, C2 | N ₂ , N ₁ | H ₇ , H ₁₁ | S ₁ , S ₂ | C ₁ , C ₂ | H ₈ , H ₉ | S ₁ , S ₂ | C ₁ , C ₂ | C ₂ , C4 | S ₁ , S ₂ | H ₈ , H ₁₀ | C1, C3 | S ₁ , S ₂ | N ₁ , N ₂ | C ₁ , C ₂ | S ₁ , S ₂ | N ₁ , N ₂ | C ₁ , C ₃ |
| | 68.87 | 13.78 | 7.78 | 70.7 | 7.71 | 12.06 | 91.6 | 3 | 2.8 | 49.72 | 36.7 | 12.84 | 45.93 | 12 | 37.91 | 19.38 | 23.42 | 12.15 |
| | S ₁ | C ₁ | H ₁ | N ₁ | C ₂ | H ₇ | S ₁ | C ₂ | H ₄ | S ₁ | C ₁ | H ₁ | S ₁ | C ₁ | H ₁ | C ₁ | C ₂ | N ₁ |
| | 81.83 | 10.23 | 24.01 | 6.18 | 42.31 | 42.9 | 72.3 | 3.62 | 17.66 | 28.14 | 19.36 | 44.93 | 84.04 | 17.04 | 16.16 | 16.66 | 38.18 | 19.16 |
| | S ₂ | N ₁ | S ₂ | S ₂ | S ₄ | S ₁ | S ₂ | S ₄ | S ₂ | S ₂ | S ₄ | S ₁ | C ₁ | S ₄ | N ₁ | C ₁ | C ₂ | S ₁ |
| | 83.21 | 32.67 | 3.02 | 28.67 | 12.8 | 66.12 | 10.56 | 2.06 | 83.7 | 88.38 | 13.2 | 23.26 | 49.27 | 37.24 | 6.134 | 12.07 | 28.22 | 12.32 |
| | S ₁ | N ₁ | C ₄ | S ₁ | N ₁ | S ₁ | S ₁ | N ₁ | S ₂ | C ₁ | N ₁ | S ₂ | S ₁ | C ₁ | H ₁ | S ₁ | O ₁ | H ₁ |
| | 14.46 | 42.38 | 18.12 | 7.96 | 17.86 | 49.41 | 87.3 | 3.91 | 2.14 | 9.02 | 47.13 | 34.09 | 67.68 | 26.81 | 6.96 | 16.4 | 6.9 | 40.67 |
| | O ₂ | N ₂ | O ₂ | O ₂ | O ₃ | N ₁ | S ₁ | C ₄ | H ₇ | H ₉ | S ₁ | C ₂ | C ₁₀ | O ₁ | O ₄ | O ₃ | N ₁ | C ₂ |
| | 20.69 | 16.32 | 16.06 | 29.36 | 27.21 | 10.53 | 64.86 | 20.81 | 2.41 | 20.4 | 20.8 | 46.63 | 30.66 | 16.75 | 29 | 17.61 | 31.17 | 30.45 |
| | N ₂ | C ₇ | C ₁₀ | C ₁₁ | C ₉ | C ₁₀ | S ₁ | N ₁ | C ₂ | C ₄ | C ₂ | S ₁ | C ₁₁ | C ₉ | C ₉ | C ₂ | C ₇ | C ₁₀ |
| | 66 | 1.83 | 11.87 | 13.4 | 38.03 | 22.6 | 2.6 | 92.36 | 2.3 | 38.72 | 47.6 | 6.26 | 5.76 | 43.77 | 21.02 | 82.66 | 23.66 | 6.54 |
| | O ₁ | H ₂ | C ₉ | O ₂ | N ₁ | O ₃ | C ₂ | S ₁ | H ₉ | C ₂ | S ₁ | H ₄ | C ₁ | C ₄ | O ₂ | C ₁ | O ₁ | N ₁ |
| | 6.88 | 14.8 | 48.06 | 19.11 | 8.88 | 48.93 | 83.84 | 3.17 | 3 | 34.86 | 9.96 | 47.29 | 41.96 | 36.16 | 8.7 | 9.46 | 41.03 | 16.82 |
| | O ₂ | O ₁ | N ₂ | O ₂ | O ₁ | N ₁ | S ₁ | H ₂ | H ₁₀ | O ₉ | C ₇ | S ₁ | S ₁ | C ₉ | C ₈ | C ₉ | C ₃ | O ₁ |
| | 37.6 | 11.84 | 24.7 | 81.38 | 22.44 | 16.19 | 3.1 | 93.04 | 1.889 | 21.3 | 23.86 | 26.26 | 36.47 | 10.36 | 11.76 | 41.09 | 19.46 | 11.12 |
| | N ₁ | O ₂ | O ₃ | N ₂ | S ₁ | O ₂ | N ₂ | S ₁ | H ₉ | C ₄ | C ₉ | S ₁ | C ₁ | N ₁ | O ₂ | C ₁ | N ₁ | O ₂ |
| | 6.88 | 9.02 | 49.07 | 36.64 | 20.63 | 15.93 | 7.19 | 32.86 | 38.61 | 5.81 | 60.32 | 29.16 | 48.91 | 46.09 | 2.81 | 27.66 | 26.13 | 12.89 |
| | S ₂ | C ₉ | O ₃ | N ₂ | S ₂ | O ₄ | N ₂ | S ₁ | S ₂ | N ₂ | S ₁ | S ₂ | S ₁ | S ₂ | C ₉ | S ₂ | C ₉ | C ₇ |

ANEXO VII
DIBETATINA



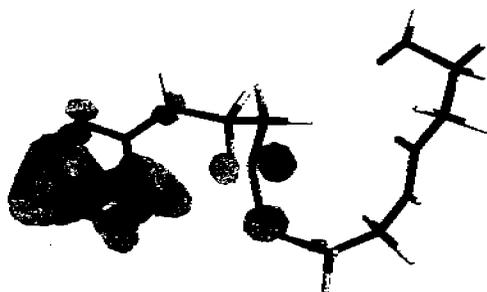
POTENCIAL ELECTROSTATICO



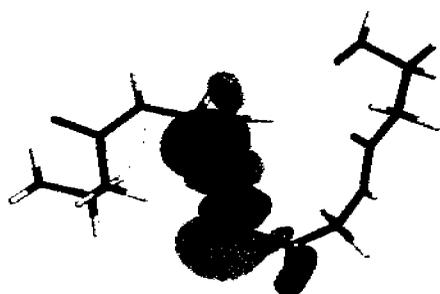
HOMO (0)



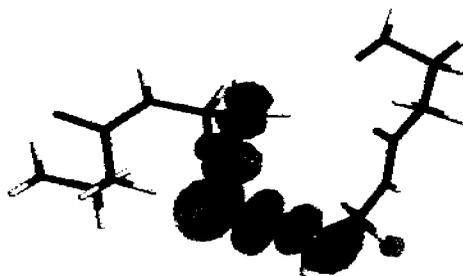
HOMO (-1)



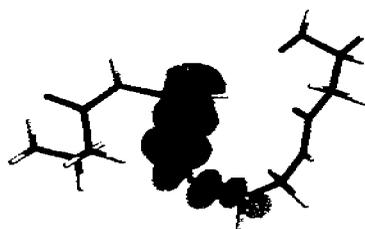
HOMO (-2)



LUMO (0)



LUMO (+1)

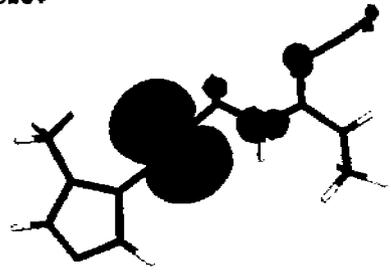


LUMO (+2)

**ANEXO VII
CINETIDINA**



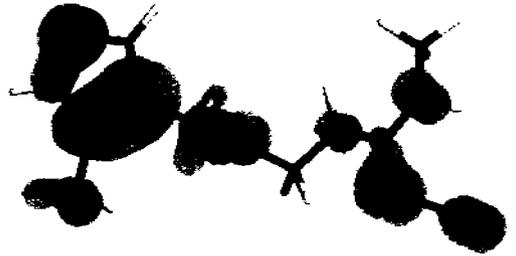
POTENCIAL ELECTROSTATICO



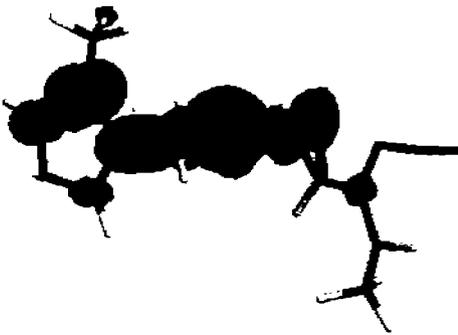
HOMO (0)



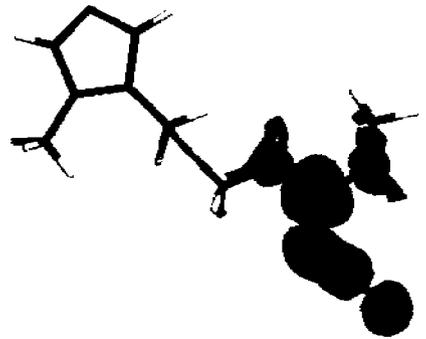
HOMO (-1)



HOMO (-2)



LUMO (0)

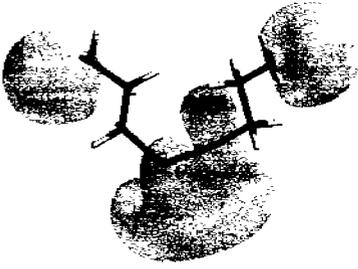


LUMO (+1)



LUMO (+2)

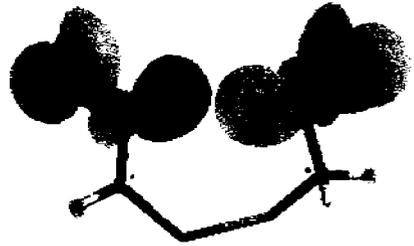
**ANEXO IX
CISTAMINA**



POTENCIAL ELECTROSTATICO

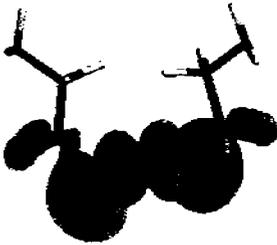


HOMO (0)



HOMO (-2)

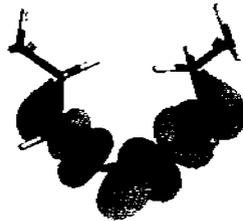
HOMO (-1)



LUMO (0)

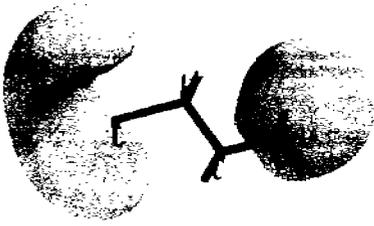


LUMO (+1)

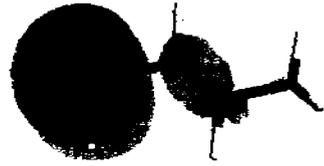


LUMO (+2)

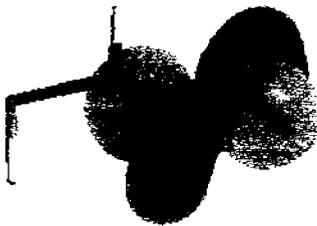
**ANEXO X
CISTEAMINA**



POTENCIAL ELECTROSTATICO



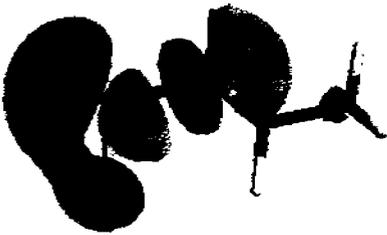
HOMO (0)



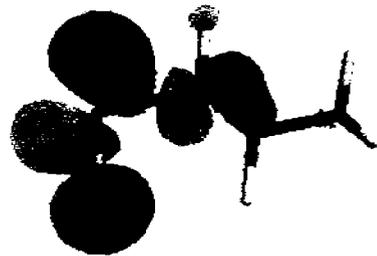
HOMO (-1)



HOMO (-2)



LUMO (0)



LUMO (+1)



LUMO (+2)

ANEXO XI

Porcentaje de contribución electrónica por regiones a los orbitales moleculares frontera HOMO y LUMO de compuestos Inmunoestimulantes comerciales y en fase de Investigación.

| | | | | | | | | |
|--|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 93.5718 | 5.3313 | 87.3682 | 14.9897 | 8.8081 | 13.2443 | 99.9958 | 0.1482 |
| | 89.3946 | 1.1663 | 4.6917 | 6.1545 | 65.8808 | 78.3157 | 88.0423 | 0.7827 |
| | 90.8485 | 6.0950 | 3.8318 | 98.9558 | 58.4812 | 55.7295 | 0.8592 | 89.3305 |
| | 87.5882 | 5.4603 | 17.5182 | 55.2690 | 7.3278 | 17.8110 | 51.5698 | 2.3685 |
| | 97.7023 | 0.0000 | 95.1078 | 0.0000 | 80.2983 | 0.0000 | 98.9128 | 0.0000 |
| | 87.0040 | 0.0000 | 79.6079 | 0.0000 | 84.3328 | 0.0000 | 86.8949 | 0.0000 |
| | 0.0 | 95.8918 | 0.0 | 98.5617 | 0.0 | 95.9369 | 0.0 | 98.7185 |
| | 0.0 | 96.5379 | 0.0 | 98.0045 | 0.0 | 87.9637 | 0.0 | 97.1578 |
| | 94.7075 | 8.3339 | 2.1208 | 89.3367 | 56.7035 | 62.8380 | 83.2053 | 7.2412 |
| | 67.3883 | 89.7122 | 5.5608 | 7.5289 | 27.2951 | 29.6858 | 68.9500 | 74.0648 |
| | 96.4416 | 0.2988 | 49.9043 | 48.9172 | 15.0488 | 92.1651 | 87.4229 | 0.2679 |
| | 86.5224 | 0.7314 | 5.0852 | 17.8008 | 53.2007 | 63.0998 | 82.5925 | 4.9094 |
| | 98.9178 | 4.5385 | 78.7733 | 68.1465 | 6.0491 | 40.0918 | 52.7834 | 33.4690 |
| | 94.8222 | 14.0648 | 91.1340 | 13.9990 | 73.1129 | 59.7421 | 98.5819 | 1.3301 |

| | | | | | | | | |
|--|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 96.3042 | 1.4270 | 97.0840 | 0.4410 | -0.9914 | -1.4074 | -1.4148 | -1.3349 |
| | 14.0410 | 85.2379 | 53.3630 | 2.8528 | -0.9289 | -0.9824 | -0.7334 | -0.6214 |
| | 83.7288 | 5.8170 | 7.7643 | 3.2849 | -0.8077 | -1.1185 | -0.8865 | -1.0251 |
| | 7.8971 | 75.9729 | 29.3367 | 6.3838 | -0.0242 | -0.5511 | 0.0910 | -0.9600 |
| | 99.1599 | 0.0 | 98.7435 | 0.0 | -1.7213 | 0.0 | -1.4024 | 0.0 |
| | 59.5108 | 0.0 | 55.4298 | 0.0 | -1.0175 | 0.0 | -0.7100 | 0.0 |
| | 0.0000 | 96.8923 | 0.0 | 95.8783 | 0.0 | -0.7813 | 0.0 | -0.8440 |
| | 0.0000 | 90.1612 | 0.0 | 86.4733 | 0.0 | -0.8007 | 0.0 | -0.4951 |
| | 0.2142 | 1.7233 | 13.7227 | 80.8182 | -0.7468 | -1.0899 | -0.8573 | -1.0483 |
| | 1.0306 | 0.8092 | 0.2151 | 0.6394 | -0.7408 | -0.8004 | -0.3258 | -0.2841 |
| | 15.3730 | 11.3449 | 9.3783 | 83.4801 | -0.7993 | -0.5285 | -0.7300 | -0.7159 |
| | 50.1045 | 7.4312 | 13.5044 | 71.1851 | -0.4387 | -0.3040 | -0.2423 | -0.3888 |
| | 13.3819 | 2.7190 | 0.1178 | 0.7545 | -0.6879 | -0.9269 | -0.5523 | -0.6601 |
| | 72.5494 | 28.3457 | 63.5427 | 33.2066 | -0.6188 | -1.5872 | -1.0501 | -1.2867 |

ANEXO XII

Propiedades fisicoquímicas y moleculares calculadas de compuestos inmunestimulantes teóricos

| | | | | | | | | | | | | |
|--------|--------|--------|--------|--------|-------|------|-------|--------|------|-------|--------|--------|
| 202.31 | 220.73 | 183.50 | 214.15 | 145.20 | 328.3 | 1.55 | 1.29 | 71.80 | 5.28 | -9.34 | -9.84 | -10.09 |
| 220.32 | 242.50 | 200.80 | 230.90 | 160.80 | 194.8 | 1.73 | -0.83 | -72.28 | 1.37 | -8.99 | -10.22 | -10.39 |
| 218.35 | 248.91 | 209.30 | 240.21 | 182.20 | 211.5 | 2.48 | -0.50 | -19.54 | 3.88 | -8.97 | -9.52 | -9.94 |
| 221.31 | 235.24 | 198.80 | 225.02 | 153.10 | 348.3 | 0.68 | 1.08 | -51.26 | 3.33 | -9.31 | -9.90 | -10.03 |

| | | | | | | | | | | | |
|-------|-------|---------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| -2.11 | -0.11 | 0.29841 | 7.2228 | 53.43 | 49.73 | 124.3 | 358 | 1.731 | 68.6 | 1.51 | 19.71 |
| -2.01 | 0.41 | 0.58605 | 6.9779 | 55.47 | 55.28 | 179.1 | 452.4 | 1.532 | 40.8 | 1.229 | 22.02 |
| -1.88 | 0.20 | 0.58597 | 7.087 | 61.28 | 60.14 | 202.8 | 485.3 | 1.505 | 32.8 | 1.087 | 23.64 |
| -2.11 | -0.01 | 0.28945 | 7.2048 | 55.96 | 56.39 | 166.2 | 480.4 | 1.641 | 69 | 1.42 | 22.35 |

ANEXO XIII

Porcentaje de contribución electrónica por átomo a los orbitales moleculares frontera HOMO y LUMO de los compuestos teóricos serie CIS

| | | | | | | | | | | | | |
|--|-------------------------|---|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 50.87 S ₁ | 3.33 C ₁ , C ₃ | 32.38 S ₂ | 17.83 S ₂ | 28.43 N ₃ | 12.81 N ₂ | 48.45 S ₁ | 2.4 C ₁ | 45.92 S ₂ | 48.61 C ₅ | 17.75 N ₃ | 11.14 N ₄ |
| | 48.7 S ₁ | 39.22 S ₂ | 2.1 C ₁ | 29.73 S ₁ | 43.9 S ₂ | 5.12 C ₄ | 45.77 S ₁ | 45.86 S ₂ | 2.94 C ₁ | 47.17 S ₂ | 43.22 C ₁ | 4.47 S ₁ |
| | 45.07 S ₁ | 40.98 S ₁ | 2.88 C ₄ | 34.76 C ₅ | 36.3 N ₁ | 12 C ₅ | 45.56 S ₁ | 46.27 S ₂ | 2.83 C ₁ | 41.72 C ₅ | 29.62 C ₆ | 8.67 C ₇ |
| | 41.98 S ₁ | 35.88 S ₂ | 3.4 C ₁ | 29.81 N ₃ | 18.01 S ₂ | 14.84 N ₁ | 48.65 S ₁ | 45.47 S ₂ | 2.4 C ₁ | 45.01 C ₅ | 15.1 C ₆ | 8.02 O ₁ |

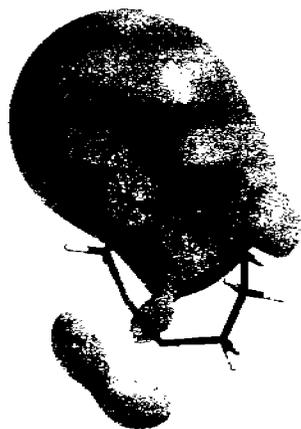
ANEXO XIV

Porcentaje de contribución electrónica por regiones a los orbitales moleculares frontera HOMO y LUMO de compuestos serie C18

| COMPUESTO | HOMO |
|-----------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| C18 | 95.5198599 | 2.89797273 | 63.3383413 | 50.0034248 | 77.4242757 | 23.4061621 | 97.3100725 | 0.10091598 |
| C18 | 97.1892341 | 1.25402358 | 91.7340109 | 9.89791082 | 66.5719317 | 73.5206027 | 96.8774201 | 0.08525409 |
| C18 | 97.2200797 | 0.47571483 | 41.118857 | 84.5298992 | 91.1051735 | 1.2481976 | 96.9142539 | 0.02745115 |
| C18 | 96.4830516 | 6.9306168 | 57.8789588 | 51.698259 | 74.302175 | 32.4556643 | 96.7657236 | 0.07745936 |

| COMPUESTO | LUMO | LUMO | LUMO | LUMO | LUMO | LUMO | LUMO | LUMO |
|-----------|------------|------------|------------|------------|-----------|-----------|---------|---------|
| C18 | 16.6736044 | 73.9649268 | 97.279421 | 1.03995996 | -1.222874 | -1.4929 | -1.3235 | -0.5712 |
| C18 | 97.558308 | 1.10428892 | 97.2577689 | 0.97689254 | -0.930675 | -1.318214 | -1.4028 | -1.0923 |
| C18 | 10.2247406 | 73.9432385 | 96.679253 | 1.10877943 | -1.085841 | -1.284637 | -1.3519 | -0.7117 |
| C18 | 20.3391212 | 64.2931209 | 96.6573049 | 1.32439671 | -1.230217 | -1.378952 | -1.3533 | -0.6907 |

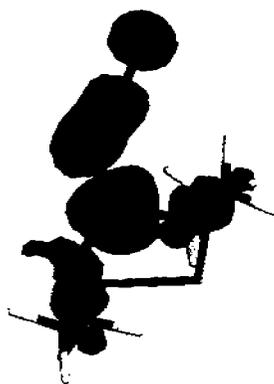
XV
CIS-1



POTENCIAL ELECTROSTATICO

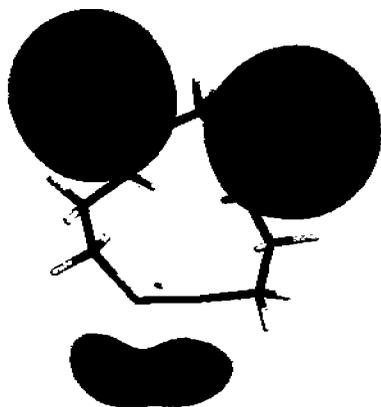


HOMO (0)



LUMO (+1)

ANEXO XVI
CIS-2



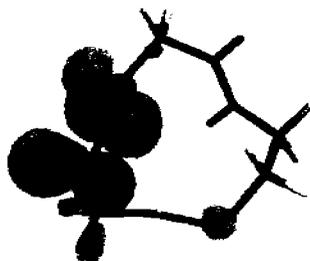
POTENCIAL ELECTROSTATICO



HOMO (0)



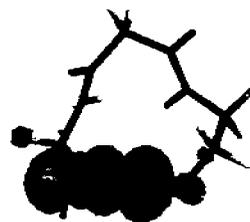
HOMO (+1)



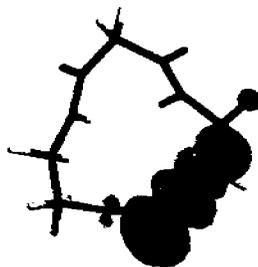
HOMO (+2)



LUMO (0)

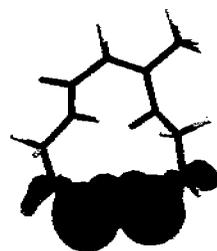
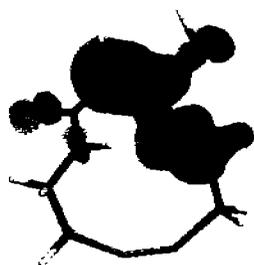
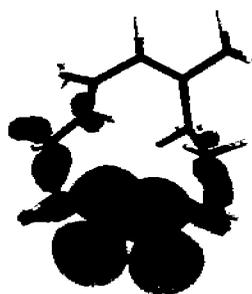
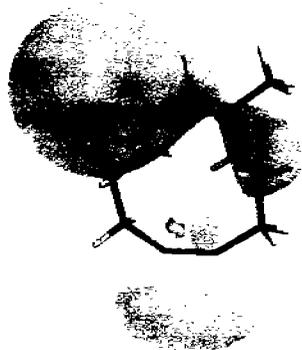


LUMO (+1)

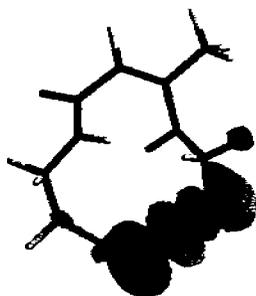


LUMO (+2)

ANEXO XVII
CIS-3



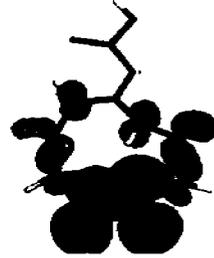
LUMO (+1)



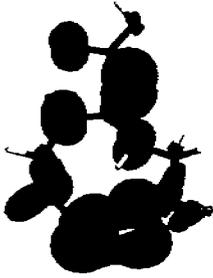
ANEXO XVIII
CIS-4



POTENCIAL ELECTROSTATICO



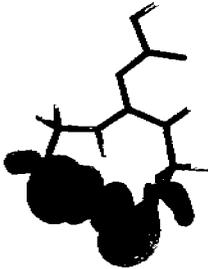
HOMO (0)



HOMO (-1)



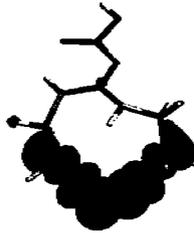
HOMO (-2)



LUMO (0)



LUMO (+1)



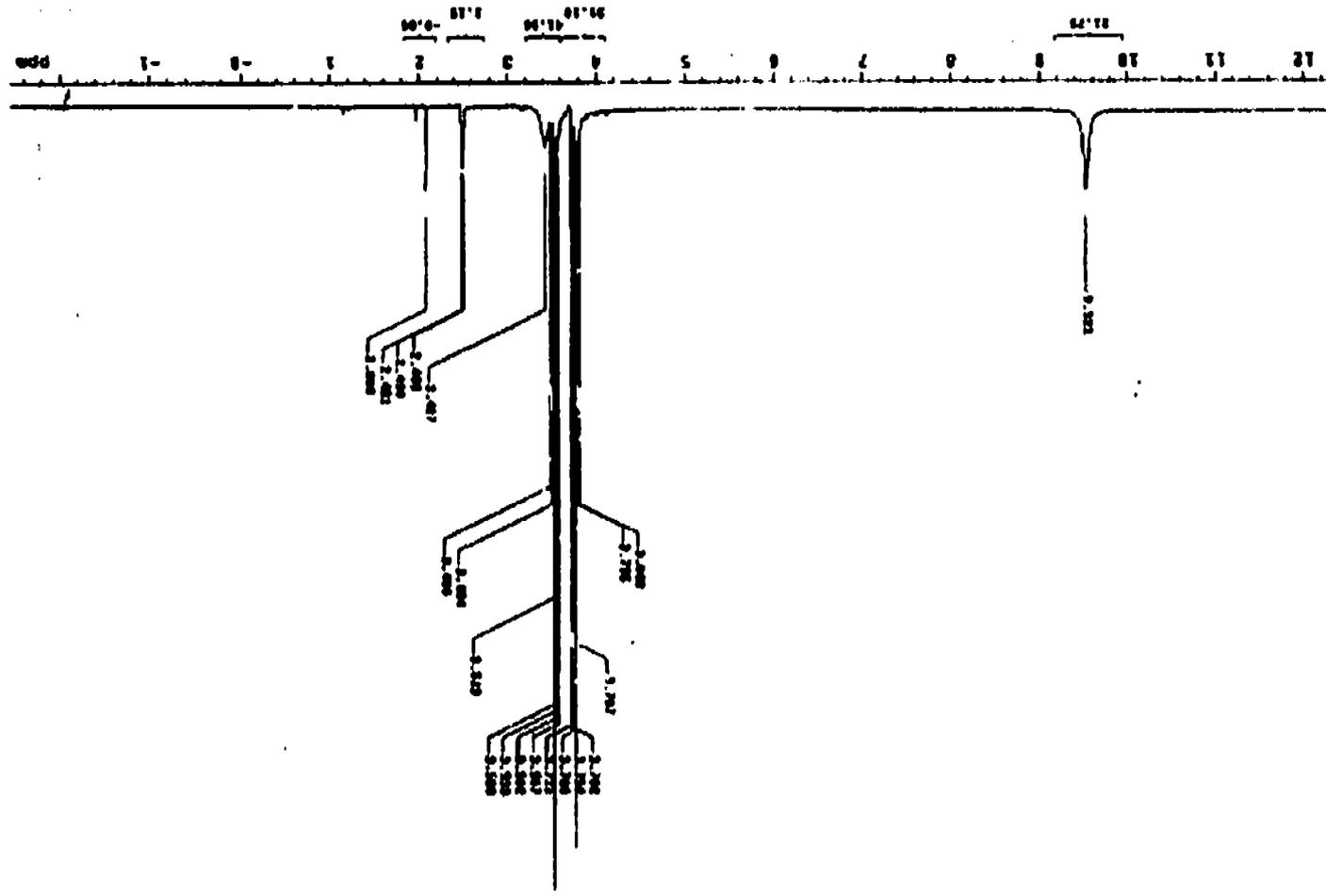
LUMO (+2)

ANEXO XIX

Mejores ecuaciones obtenidas del estudio de regresión.

| | | | | | |
|------------|------------|------------|------------------|------------|------------|
| 0.99999999 | 0.99999998 | 0.99999993 | 2050 E4 | 0.00000000 | 0.00165000 |
| 0.99856623 | 0.99314428 | 0.98400327 | 108.85000000 | 0.00000800 | 0.02211000 |
| 0.99998486 | 0.99996972 | 0.99976808 | 5504.51600000 | 0.00018000 | 0.46125000 |
| 0.99997510 | 0.99995019 | 0.99982568 | 8030.60000000 | 0.00000000 | 1.74650000 |
| 1.00000000 | 1.00000000 | 1.00000000 | 4676 E6 | 0.00001000 | 0.00067000 |
| 0.99999999 | 0.99999998 | 0.99999993 | 2099 E4 | 0.00000000 | 0.00416000 |
| 1.00000000 | 1.00000000 | 0.99999995 | 2000 E4 | 0.00018000 | 0.00090000 |
| 0.99999996 | 0.99999991 | 0.99999878 | 884584.10000000 | 0.00083000 | 0.00059000 |
| 0.99999751 | 0.99999503 | 0.99996520 | 33520.38000000 | 0.00003000 | 0.00314000 |
| 0.99989877 | 0.99979754 | 0.99905520 | 1346.80700000 | 0.00003000 | 0.01380000 |
| 0.99995005 | 0.99990010 | 0.99930070 | 1668.20000000 | 0.00060000 | 0.86762000 |
| 0.99999205 | 0.99998410 | 0.99992581 | 17153.00000000 | 0.00000000 | 0.32095000 |
| 0.99998030 | 0.99996060 | 0.99972420 | 4229.88700000 | 0.00024000 | 0.52881000 |
| 0.99999981 | 0.99999921 | 0.99998897 | 97675.09000000 | 0.00250000 | 0.10119000 |
| 0.99998863 | 0.99997727 | 0.99984086 | 7330.80000000 | 0.00014000 | 0.34105000 |
| 0.99999937 | 0.99999873 | 0.99998222 | 60553.33000000 | 0.00318000 | 0.13746000 |
| 0.99978781 | 0.99957528 | 0.99008947 | 1765.04800000 | 0.00000000 | 0.48301000 |
| 1.00000000 | 1.00000000 | 1.00000000 | 1153 E7 | 0.00000000 | 0.00001000 |
| 0.99999998 | 0.99999996 | 0.99999937 | 1721057.00000000 | 0.00080000 | 0.00038000 |
| 0.99922574 | 0.99845207 | 0.99458225 | 258.00980000 | 0.00004000 | 0.05699000 |
| 1.00000000 | 1.00000000 | 1.00000000 | 1120 E7 | 0.00000000 | 0.00001000 |
| 0.99975150 | 0.99950305 | 0.99768081 | 548.53000000 | 0.00011000 | 0.03089000 |
| 0.99999772 | 0.99999544 | 0.99993811 | 16854.72000000 | 0.00603000 | 0.00372000 |
| 0.99997376 | 0.99994752 | 0.99983262 | 3175.50000000 | 0.00031000 | 0.00461000 |
| 0.99997104 | 0.99994207 | 0.99959453 | 2877.10000000 | 0.00035000 | 0.02100000 |
| 0.99999977 | 0.99999953 | 0.99999341 | 1635 E2 | 0.00194000 | 0.00019000 |

ANEXO XXX ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR DE ¹H PARA EL COMPUESTO CIS-1



ANEXO XXXI ESPECTRO DE RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE ^{13}C . PARA EL COMPUESTO CIS-1

