



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**ESTUDIO TEÓRICO DE LA INTERACCIÓN DE
METILTRANSFERASA CON ANTINEOPLÁSICOS
DACARBAZINA, TEMOZOLOMIDA Y ANÁLOGOS.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

**P R E S E N T A:
GABRIELA SÁNCHEZ LUIS**

ASESORES

**Dr. ENRIQUE R. ANGELES ANGUIANO
Dra. ANA MARIA VELÁZQUEZ SÁNCHEZ
M. en C. ALBERTO RAMÍREZ MURCIA**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

MAMÁ (Yolanda Luis Velásquez): Todo lo obtenido en la vida y todo lo bueno que hay en mi es debido a tu apoyo y amor incondicional. Gracias por estar conmigo y ser tan linda eres mi mayor motivación y lo más importante en mi vida. TE AMO MUCHO.

ABUELITA (Carmen Velásquez García): Por todo tu amor, cuidados y tiempo brindado. Siempre te he considerado como una segunda mamá.

HERMANOS (David Sánchez Luis y Carmen Sánchez Luis): Espero haber sido un buen ejemplo y esto sirva como motivación. Son al igual que nuestra mami, mi mejor compañía. Gracias por estar conmigo cuando más los he necesitado.

TIOS (Daniel, Lupita, Lulú, Roberto, Rebeca) : Por todo el cariño brindado todos estos años, y por haber hecho de mi infancia la mejor etapa de mi vida, por seguirme brindado ese cariño tan especial y hacerme sentir tan querida.

PRIMOS (Araceli, Adriana, Jorge, Maura, Carmen, Martín, Clara, Citlalli, David, Brandon, Arturo, Ricardo): Por los buenos momentos que hemos pasado juntos.

AMIGOS:

Isabel Flores, Sandra Ramírez, Ricardo Blas, Luis Torres, Mario Patlani, Alejandra Rugerio, y a mi adoradísimo e incondicional **Máximo** . Por haber y seguir compartiendo buenos y malos momentos, por la confianza y complicidad en todos estos años. Los quiero mucho.

A TODOS AQUELLOS:

Por haber compartido una etapa de nuestras vidas, de los que aprendí y quise mucho. En especial; Ana Mera, Álvaro Domínguez, Gilberto, Agustín, Isabel Sánchez, Socorro, Nancy Gil, Verito.

AGRADECIMIENTOS:

ASESORES: Por la orientación, tiempo y paciencia brindada para la realización de este trabajo;

Dr. Enrique Ángeles Anguiano

Dra. Ana Maria Velásquez Sánchez

M en C. Alberto Ramírez Murcia

Q.F.B. Oscar Luis Vásquez Valadez / **Q.F.B.** Víctor Hugo Vásquez Valadez: por transmitirme sus conocimientos y tiempo en la enseñanza del uso de la Silicon Graphics Spartan Builder y el Programa computacional de diseño molecular; Tripos SYBYL para la realización de mi tesis.

PROFESORES:

Por sus enseñanza muchas gracias, en especial; Enrique Ángeles, Ana Maria Velásquez, Enrique Salas, Alma Núñez, Maria Luisa, Ma Esther Revueltas, Andrea Becerril, Leticia Badillo.

SINODALES: Por el tiempo dedicado a la revisión de mi tesis;

Maria Esther Revueltas, Lidia Rangel, Beatriz Maya.

AGRADECIMIENTO PARA APOYO PARCIAL A LOS PROYECTOS. PROYECTO PAPIIT IN 203609; Proyecto CONACYT No 82473; Proyecto Cátedra Química Medicinal FESC-UNAM. Por su asistencia técnica a; Carmen Pérez, Moisés Hernández, Fernando Sotres y Draucin Jiménez.

A TODOS LOS INTEGRANTES DEL EQUIPO DEL LABORATORIO DE QUÍMICA MEDICINAL: En especial, Hilda, Miguel, Roberto, Carmen, Moni, Wendy, Victor, Ana, Aracely.

UNAM:

Por brindarnos esa gran oportunidad de superación en la vida.

ÍNDICE GENERAL

Índice de imágenes.....	3
Índice de cuadros y tablas.....	4
Índice de abreviaturas empleadas.....	5
1. Resumen.....	7
2. Introducción.....	9
3. Objetivos.....	13
4. Hipótesis.....	14
5. Generalidades.....	15
5.1. Ciclo celular.....	15
5.2. Cáncer.....	17
5.2.1 ¿Cómo de desarrolla un cáncer?.....	17
5.2.2. Carcinogénesis.....	19
5.2.3. Fase de la Carcinogénesis.....	20
5.3. Carcinógenos químicos.....	22
5.3.1. Mecanismo de acción de los carcinógenos químicos.....	22
5.4. Virus de oncógenos.....	23
5.5. Carcinogénesis por radiación.....	23
5.6. Otros factores.....	24
5.7. Tipos de tumores.....	25
5.7.1. Fase de los tumores.....	28
6. Cáncer y metilación del DNA.....	28
6.1. La maquinaria de la metilación del DNA en mamífero.....	28
6.2. Papel de la metilación en el DNA.....	33
6.3. DNA Metiltransferasa I.....	34
6.4. DNMT1: Candidato como blanco en el tratamiento del cáncer.....	35
7. Química computacional.....	36
7.1. Modelado molecular.....	36
8. Estudios de Diseño Molecular de Imidazotetrazinonas.....	39
9. Métodos de cálculos teóricos.....	40
9.2. Métodos de mecánica molecular.....	47

9.3. Análisis de los términos de la ecuación de energía potencial V	50
9.4. Métodos de Hartree-Fock para el cálculo de propiedades de Estructura electrónica.....	53
10. Quimioterapia del cáncer.....	55
11. Desarrollo de fármacos antineoplásicos.....	55
11.1. Agentes de alquilación.....	56
11.2. Dacarbazina (DTIC).....	59
11.3. Temozolomida.....	61
11.4. Nitrosoureas.....	63
11.5. Análogos.....	66
11.6. Análogos de DTIC.....	66
11.7. Análogos de Nitrosoureas CCNU.....	69
12. Materiales y Métodos.....	71
13. Metodología.....	72
14. Resultados.....	73
15. Análisis de resultados.....	115
16. Conclusiones.....	124
17. Bibliografía.....	125
Apéndice.....	129
Glosario.....	130

INDICE DE IMÁGENES

Fig1. Distribución de moléculas blanco en un estudio sobre 485 fármacos	7
Fig2. Gráfico en porcentaje de defunciones por tumores malignos 1998-2007	10
Fig3. Cambios de la metilación en neoplasia	29
Fig4. Fenómenos biológicos involucrados en cambios de la metilación; activación transcripcional, represión transcripcional	30
Fig5. Mecanismos moleculares en el silenciamiento de la expresión genética	31
Fig6. Factores que influyen en la metilación del DNA	33
Fig7. Principales fuerzas en mecánica molecular	48
Fig8. Contribuciones a la energía potencial molecular	49
Fig9. Dacarbazina/Mecanismo de acción	59
Fig10. Características biológicas de los átomos de Temozolomida	61
Fig11. CCNU	64
Fig 12. Mecanismo de acción de Nitrosoureas	65
Fig13. SLTA	68
Fig14. Análogos de triazenos	69
Fig15. Análogos de CCNU	70
Fig16. Enzima Metiltransferasa.	74
Fig17. Interacciones entre Dacarbazina y Metiltransferasa	78
Fig18. Interacciones entre Temozolomida y Metiltransferasa	81
Fig19. Interacciones entre SLTA1 y Metiltransferasa	83
Fig20. Interacciones entre SLTA2 y Metiltransferasa	85
Fig21. Interacciones entre SLTA4 y Metiltransferasa	88
Fig22. Interacciones entre SLTA6 y Metiltransferasa	91
Fig23. Interacciones entre SLTA5 y Metiltransferasa	94
Fig24. Interacciones entre SLTA7 y Metiltransferasa	96
Fig25. Interacciones entre SLTA8 y Metiltransferasa	99
Fig26. Interacciones entre SLTA10 y Metiltransferasa	101
Fig27. Interacciones entre SLDTIC y Metiltransferasa	103
Fig28. Interacciones entre SLCNUala y Metiltransferasa	106
Fig29. Interacciones entre SLCNU leu y Metiltransferasa	108

INDICE DE CUADROS Y TABLAS

Tabla 1. Distribución en porcentaje de egresos hospitalarios por tipo de tumor	10
Tabla 2. Nomenclatura de tumores comunes	26
Tabla 3. Fases TMN	28
Tabla 4. Agentes anticancerígenos	58
Tabla 5. Resultado del análisis conformacional	73
Tabla 6. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de Dacarbazina	75
Tabla 7. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de Temozolomida	79
Tabla 8. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLTA1	82
Tabla 9. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLTA2	94
Tabla 10. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLTA3	86
Tabla 11. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLTA4	87
Tabla 12. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLTA5	92
Tabla 13. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLTA6	89
Tabla 14. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLTA7	95
Tabla 15. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLTA8	97
Tabla 16. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLTA10	100
Tabla 17. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLDTIC	102
Tabla 18. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de CCNU	104
Tabla 19. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLCNUala	105
Tabla 20. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLCNUleu	107
Tabla 21. Complejos enzima-ligando de mejores energía	109

ABREVIATURAS

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

C-G: Citosina-Guanina

DNMT1: DNA Metiltransferasa 1

SLTA: Spin Labeled Triazenos

SLDTIC: Spin Labeled Dacarbazina

CCNU: Nitrosourea

SLCNUleu: Spin Labeled Nitrosourea leucina

SLCNUala: Spin Labeled Nitrosourea alanina

SLCNUphe: Spin Labeled Nitrosourea fenilalanina

RNA: Ácido Ribonucleico

SNC: Sistema Nervioso Central

TNM: T (tamaño) N (status del nodo) M (metástasis distante)

Mtasas: Methyltransferase (Metiltransferasa)

DNMTs: DNA Metiltransferasas

Dnmt1: DNA Metiltransferasa 1

Dnmt2: DNA Metiltransferasa 2

Dnmt3a: DNA Metiltransferasa 3a

Dnmt3b: DNA Metiltransferasa 3b

Dnmt3L: DNA Metiltransferasa 3L

AdoMet: S-adenosylmethionine

MeCP2: Methyl CpG binding Protein 2

HDAC1: Histonas Deacetilasas 1

HDAC2: Histonas Deacetilasas 2

Gly: Glisina

Lys: Lisina

PDB: Protein Data Bank

MTIC: Temozolomida (Monometil Triazeno Carboxamida)

Å: Armstrong

Pro: Prolina

Glu: Glutamina

Cys: Cisteina

Ser: Serina

Arg: Arginina

OM: Orbital Molecular

OMS: Orbitales Moleculares

OA: Orbital Atómico

MM: Mecánica Molecular

V: Energía Potencial

V^{tor} : Rotación interna alrededor de un enlace.

V^{Alar} : Alargamiento del enlace.

V^{oop} : Deformación fuera del plano.

V^{cruz} : Terminos cruzados (interacciones entre estas clases de movimiento)

V^{vdW} : Atracciones y repulsiones de Van der Waals entre los átomos no enlazados.

V^{elec} : Interacciones electrostáticas entre los átomos.

l_{IJ}^0 : Longitud de referencia

K_{IJ} : Constante de fuerza

θ_{IJK}^0 : Valor de referencia para el ángulo IJK

BCNU: Carmustina

DTIC: Dacarbazina (Dimetil Triazeno Carboxamida)

AIC: 5-aminoimidazol-4-carboxamida

CCNU: Lomustina

TMPO: 2, 2, 6,6-tetrametilpiperidina-N-Oxyl

Metilo CCNU: Semustina

EGCG: (-) – epigallocatequina-3-gallate

TMPO: 2, 2, 6,6-tetrametilpiperidina-N-Oxyl

BCNU: Carmustina

CNF: Confórmero

DAC: Dacarbazina

Hmts: Histona metiltransferasas

H_{π} : Operador Hamiltoniano

CLOA: Función de orbitales moleculares.

1. RESUMEN

Muchos medicamentos actualmente en uso deben su descubrimiento tanto al estudio de remedios tradicionales como al aislamiento de principios activos de productos naturales, o bien a cierto azar, como en el caso de la penicilina. Sin embargo, en el desarrollo moderno de fármacos se utiliza la tecnología más sofisticada para realizar búsquedas sistemáticas a gran escala con el propósito de encontrar sustancias cada vez con mayor potencia medicinal y menor toxicidad.

(Padilla J, et a)

Una primera etapa en el complejo proceso del desarrollo de fármacos es la elección del sujeto de estudio, también conocido como molécula blanco, sobre la que actuará el medicamento para lograr el efecto terapéutico deseado. Diversas investigaciones sobre los fármacos empleados en las últimas décadas han revelado que la acción terapéutica de éstos incide principalmente en proteínas, ya sea como receptores moleculares o como enzimas. Por esta razón, en el diseño racional de medicamentos las proteínas pueden considerarse como la primera opción para fungir como moléculas blanco. La selección de la proteína específica de trabajo dependerá de la información disponible sobre el mecanismo molecular responsable del desarrollo de la enfermedad particular que se estudie. *(Padilla J, et al)*

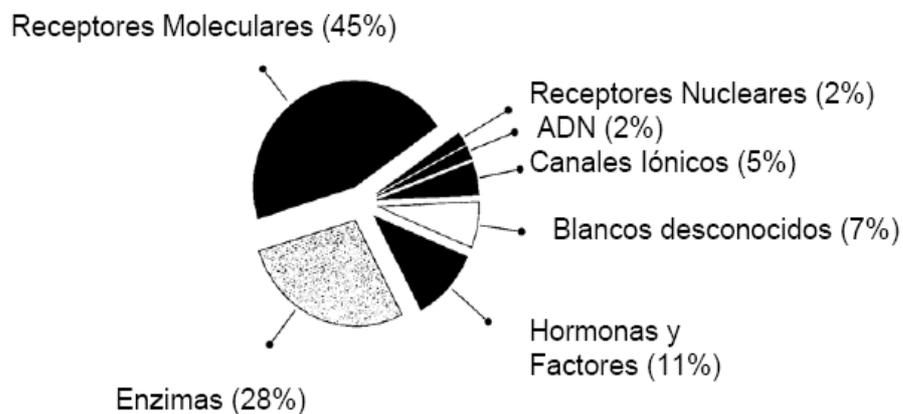


Figura 1. Distribución de moléculas blanco en un estudio sobre 485 fármacos de uso actual. *(Padilla J, et al)*

El efecto deseable en un nuevo fármaco es el control de los procesos bioquímicos alterados en un paciente. En los casos donde la enfermedad que desea tratarse se debe al funcionamiento inapropiado de la maquinaria molecular del propio paciente, es preciso indagar el tipo y modo de acción particular de las enzimas involucradas en la disfunción y elegir como blanco de estudio la molécula que esté mejor caracterizada. La elección del sujeto de estudio puede validarse a través de experimentos que permitan conocer el efecto de la modificación funcional del blanco (o incluso, de la ausencia total del mismo) sobre un microorganismo. Cuando se trabaja con proteínas, y particularmente con enzimas como sustancias blanco, deben considerarse tres factores importantes: la especificidad o selectividad molecular de la enzima, la afinidad o fuerza con que se fija el sustrato a ella, y la geometría del sitio de unión. Muchos fármacos son inhibidores de la función de una enzima a través de un bloqueo efectivo del sitio activo o de las zonas coadyuvantes de la catálisis. En estos casos es deseable desarrollar compuestos que se unan con gran firmeza y alta especificidad a los sitios funcionales, y para desarrollar un fármaco con ambas características es imprescindible conocer con detalle la geometría del sitio de unión. (*Padilla J, et al*)

En el presente trabajo se describirá un método de simulación por computadora de reconocimiento molecular o *docking*, el cual es ampliamente utilizado para el hallazgo de nuevos compuestos con efectos terapéuticos. Si bien la técnica del *docking* representa una alternativa a los procedimientos de ensayo masivo de laboratorio, también, y de manera más importante, ella ha sido utilizada en el diseño de fármacos, tanto para llevar a cabo las etapas de identificación del sitio de unión sobre el blanco, como las de construcción y evaluación de los complejos moleculares resultantes.

2. INTRODUCCIÓN

El número de células de un organismo en desarrollo se encuentra en constante incremento, mientras que en un adulto, este permanece invariable aún cuando la división celular continúa, este fenómeno se debe a que la división celular se encuentra en equilibrio dinámico con la muerte celular. Para mantener este equilibrio u homeostasis en el número de células debe existir un mecanismo para su eliminación. La muerte celular ocurre en respuesta a traumas o a condiciones tóxicas, se le conoce con el nombre de necrosis y es, en general, la respuesta a estrés en el medio ambiente. *(Hernández, 1998)*

Por el contrario, el cáncer es un desorden celular y a pesar de que aparece como un tumor formado por una masa de células, el tumor visible es el resultado final de una serie de cambios que tienen lugar durante un proceso que debió tomar muchos años para desarrollarse una proliferación incontrolada de células en un órgano o tejido.

El cáncer es una enfermedad que ha padecido la humanidad desde hace milenios y actualmente es uno de los problemas más importantes de salud mundial. *(Joshina, 2001).*

A nivel mundial, el cáncer es la principal causa de mortalidad, se le atribuyen 7.9 millones de defunciones ocurridas en 2007. La Organización Mundial de la Salud (OMS), estima que alrededor de 84 millones de personas morirán a causa de esta enfermedad entre 2005 y 2015.

Asimismo, la mortalidad más alta es debida al cáncer de pulmón, seguido por el de estómago, hígado, colon y mama; por sexo las incidencias más frecuentes en los hombres son por cáncer de pulmón, estómago, hígado, colon-recto, esófago y próstata; y para las mujeres al de mama, pulmón, estómago, colon-recto y cuello uterino. *(www.inegi.gob.mx)*

- En 2006, de cada 100 egresos hospitalarios de mujeres, 20 fueron por cáncer de mama, 13 por cáncer en el cuello del útero y 12 por leucemias.
- En el mismo año, de los hombres, 19 de cada 100 egresos fueron por leucemias, cerca de 8 por cáncer de próstata y 6 por cáncer de tráquea, bronquios y pulmón.

- El cáncer en 2007 representó la tercera causa de muerte entre las mujeres con 35 303 defunciones (15.4%), mientras que en los hombres fue la cuarta con 33 509 muertes (11.8%).
- Durante 2007, los tres principales tipos de cáncer que causaron defunciones en las mujeres fueron el de mama (13.8%), cuello del útero (12.1%) e hígado (7.6%). En los hombres, el cáncer de próstata (15.7%), tráquea, bronquios y pulmón (14%) y estómago (9%).

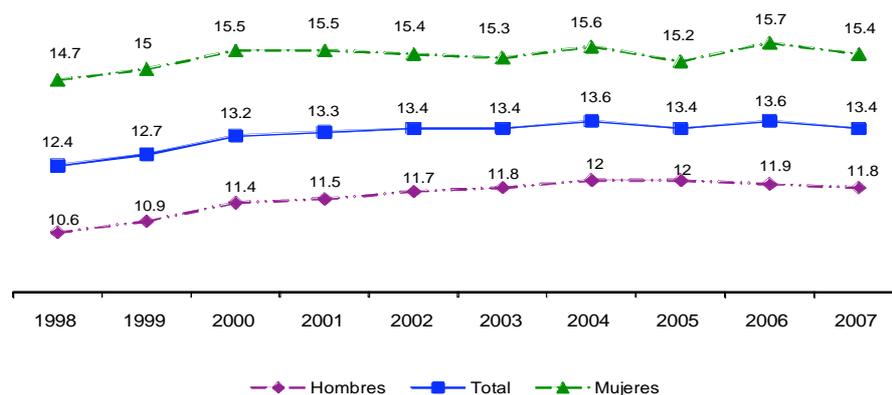
Distribución porcentual de egresos hospitalarios por tipo de tumor maligno para cada sexo, 2006

Tipo de tumor maligno	Hombres	Mujeres
Total	100.0	100.0
Del estómago	4.0	2.7
Del colon	3.7	2.8
Del rectosigmoides, recto y ano	2.4	1.6
Tráquea, bronquios y pulmón	6.0	2.6
Mama	0.4	19.8
Cuello del útero	0.0	13.1
Leucemias	18.8	11.9
Labio, cavidad bucal y faringe	2.3	1.2
Esófago	1.5	0.4
Hígado	2.4	1.9
Páncreas	1.9	1.5
Melanoma y otros tumores de la piel	0.8	0.8
Cuerpo del útero	0.0	2.8
Ovario	0.0	7.3
Próstata	7.8	0.0
Vejiga	2.9	0.9
Otros	45.1	28.7

Fuente: SSA, DGIS. Egresos Hospitalarios, 2006. Base de datos. Procesó INEGI.

Tabla1. Distribución en porcentaje de egresos hospitalarios por tipo de tumor.

Porcentaje de defunciones por tumores malignos por sexo según año de ocurrencia, 1998-2007



Nota: El porcentaje está en relación con el total de defunciones registradas en cada año, en general y por sexo.
Fuente: INEGI. Estadísticas Vitales, 1998-2007. Bases de datos.

Fig.2. Gráfico en porcentaje de defunciones por tumores malignos 1998-2007.
(www.inegi.gob.mx)

Los humanos estamos expuestos a compuestos alquilantes producidos tanto endógenamente como en el medio ambiente. Por otra parte hay agentes alquilantes que son usados como fármacos citotóxicos en terapia contra el cáncer. (*Finn Drablos y col., 2004*). Los agentes alquilantes están entre los quimioterapéuticos mas ampliamente usados en el tratamiento del cáncer en humanos. Dentro de estos agentes se encuentran; Mostazas nitrogenadas, **Etileniminas**, **Metilmelaminas**, Alquilsulfonatos, **Nitrosoureas** y **Triazenos**.

Varios sitios de alquilación en el DNA han sido descritos siendo blancos de acción de estos compuestos. (*Ma. F paz y col., 2004*).

La inhibición farmacológica de la enzima DNA Metiltransferasa (enzima encargada de **metilar** predominantemente los dinucleótidos hemimetilados C-G del genoma en mamíferos en procesos cancerigenos, además de mantener el patrón de metilación durante la replicación del DNA) proporciona una nueva oportunidad en terapias de cáncer, reduciendo la actividad de la DNMT1 (los inhibidores de la DNMT1 son administrados con la intención de modular el patrón de metilación del DNA geonómico), se ha mostrado que causa una disminución dominante en los niveles de metilación del genoma del DNA, por lo que se considera que la DNMT1 es también esencial para mantener la **epimutación** en el cáncer, por lo que esta enzima ha llegado a ser un blanco primario de terapias experimentales en cáncer (*Pawel Siedlecki y col., 2003*)

Varias pruebas en la fase III de inhibidores de la Metiltransferasa han sido terminadas exitosamente, pero la eficacia de estos compuestos parece estar comprometida por su falta de especificidad. (*Bodo Brueckner ; Frank Lyko. 2004*)

Por otro lado el desarrollo del cómputo y de la ciencia de las computadoras ha permitido el florecimiento de la química computacional a partir de unidades centrales de proceso (o procesadores) mas rápidos, dispositivos con alta capacidad de almacenamiento de datos, procesamiento en paralelo, etc. Asimismo, la evolución de las matemáticas, la física y la química teórica han contribuido ha tal florecimiento al proveer de métodos numéricos y analíticos más eficientes, modelos teóricos y conceptos más poderosos, que se han incorporado en algoritmos programables. De esta manera, las computadoras han invadido los laboratorios de investigación, ya que ahora de pueden calcular con mucha precisión algunas propiedades moleculares como la geometría y la energía relativa, brindando con esto información sobre la estabilidad y la reactividad molecular a partir

de lo cual se puede aprender sobre el efecto que tienen en los procesos químicos, los sustituyentes, la conformación, etcétera. (*Gabriel Cuevas; Fernando Cortés, 2003*)

La representación molecular del reconocimiento molecular proteína – ligando se refiere a “docking molecular”. Este método es una herramienta útil en el diseño de fármacos y en la estimación de la afinidad de la unión. (*Jon A. Erickson y col., 2004*)

3. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Llevar a cabo estudios de interacción fármaco –receptor entre la Metiltransferasa, enzima involucrada en procesos cancerosos y compuestos antineoplásicos mediante un programa de diseño molecular, para que así en base a la energía de interacción determinar la afinidad de estos compuestos antineoplásicos por la enzima Metiltransferasa.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Construir las moléculas Temozolomida, Dacarbazina, sus análogos (SLTA1, SLTA2, SLTA3, SLTA4, SLTA5, SLTA6, SLTA7, SLTA8, SLTA10, SLDTIC) y CCNU, sus análogos (SLCNUleu, SLCNUala) utilizando los programas Sybyl (menú Build) y Silicon Graphics Spartan Builder y realizar un análisis conformacional de Temozolomida, Dacarbazina, CCNU y sus análogos para escoger los conformeros más estables de cada una de estas moléculas.
- Exportar del banco de datos de proteínas (<http://www.csb.org/pdb/>) el archivo de la estructura de la enzima Metiltransferasa, **5MHT** para realizar varios estudios de interacción fármaco –receptor (Docking) entre la enzima Metiltransferasa con cada uno de los antineoplásicos y calcular la energía de Interacción así determinar cual de las interacciones resultan más estables.

4. H I P Ó T E S I S

Si mediante el uso de un programa de diseño molecular se realizan estudios de interacción fármaco-receptor entre la enzima Metiltransferasa y compuestos antineoplásicos entonces se tendrá una estimación tanto del comportamiento molecular de estos compuestos antineoplásicos así como la afinidad de la unión fármaco - receptor.

5. GENERALIDADES

5.1 CICLO CELULAR

La célula se define como la unidad fundamental, estructural y funcional de los seres vivos. Se reproduce en una sucesión ordenada de eventos que garantiza la duplicación exacta de todos los componentes celulares y su partición en dos células hijas, este fenómeno se conoce como ciclo de división celular. (*Hernández, 1998*)

La clasificación celular parece seguir operando según Bizzozero, quien considera a las células lábiles que presenta poca diferenciación celular, un tiempo de vida bajo y una alta capacidad para reproducirse y generar más tejido, ejemplo de estas células son eritroblastos formadores de eritrocitos, de las células epiteliales de la piel, las cuales se encuentran sometidas a un desgaste continuo. Las células estables como las del hígado tienen una menor capacidad para reproducirse, presentan una mayor diferenciación celular, y por lo tanto mayor especialización en sus funciones y morfología, y presentan un tiempo de vida mayor. Por último, las células permanentes, que son altamente especializadas, su capacidad para reproducirse se ha perdido por completo, pero en cambio, su tiempo de vida se vuelve mayor, de hecho de por vida, ejemplo de estas células son las neuronas o el tejido muscular. Todas estas células partieron de una sola célula totalmente indiferenciada e “inmadura”, la cual tienen la capacidad para reproducirse y diferenciarse.

El ciclo celular es el proceso por el cual las células aumentan y es similar en todas las células somáticas* e involucran el crecimiento de los componentes de la célula seguido por la división de la misma, en dos células hijas con las mismas características morfológicas y fisiológicas que la célula madre. (*Joshina, 2001*)

*Células somáticas: Células del cuerpo que no contribuyen a la descendencia.

Se conocen 4 etapas:

- G1: Es una pausa donde parece que no pasa nada, aunque hay mucha actividad bioquímica. Es la fase de crecimiento citoplasmático caracterizado por la síntesis de las proteínas.
- S: Es la fase de síntesis, particularmente DNA, para doblar la cantidad normal, con lo que se garantiza la misma estructura molecular en las células hijas, también incrementan otros componentes.

- G2: Es un segundo periodo de pausa, donde se realizan un reacondicionamiento del material genético sintetizado.
- M: Es la fase de mitosis en la cual el núcleo se divide para formar los cromosomas, los cuales en las células normales se separan en dos grupos idénticos, la membrana nuclear se forma y el citoplasma se divide para formar dos células idénticas. Este proceso se llama citocinesis.

La mitosis presenta 5 fases:

1. Profase: Caracterizada por el movimiento de cromatina y la formación de los cromosomas hasta el punto de ser visible como filamentos en el microscopio, cada cromosoma consiste en dos cromátidas unidas al centrómero. El núcleo comienza a desaparecer al igual que el citoesqueleto y su tubulina se comienza a reacomodar para formar el huso acromático.
2. Prometáfase: Se reconoce por la fragmentación de la membrana nuclear permitiendo que entre el huso acromático al área nuclear; los cromosomas ocupan la región ecuatorial del núcleo y los centriolos se disponen uno en cada polo.
3. Metafase: Los cromosomas que se encuentran ya condensados, se alinean para formar el plato metafásico, que es el plano equidistante entre dos polos del huso acromático.
4. Anafase: Es la fase más corta, las cromátidas de cada cromosoma se separan y se mueven hacia polos opuestos de la célula.
5. Telofase: Los cromosomas se desenrollan. El huso desaparece y forma la membrana nuclear alrededor de los dos grupos de cromosomas “hijos”. Al mismo tiempo, la célula es la citocinesis para producir dos células hijas.

El ciclo total normalmente tiene una duración de 18-24 horas, varía de acuerdo al tipo y a la especialización de la célula.

Este ciclo puede ser bloqueado en una fase en particular por fármacos, por agentes fisiológicos o llevados a una fase de reposos conocida como G0. (*Joshina, 2001*)

5.2 CÁNCER

El termino “cáncer” (palabra derivada del griego, Karkinos, cangrejo) se refiere a más de 100 formas de enfermedad. Casi todos los tejidos del cuerpo pueden sufrir un desequilibrio en la regulación de la proliferación celular, algunos de tipo muy severos; cada cáncer tiene características únicas, puede iniciarse en cualquier órgano o tejido del cuerpo humano. (*Hernández, 1998*)

Es una enfermedad que ataca los procesos básicos de la vida de la célula, alterando en casi todos los casos el genoma celular y dando lugar a un crecimiento no controlado y diseminado de las células cancerosas. La causa de la alteración del genoma es la mutación de uno o más genes. Recientemente ha habido un gran proceso identificando los genes mutados durante la Carcinogénesis y fueron llamados oncogenes.

La célula cancerosa difiere de la normal en una gran variedad de características anatómicas, funcionales y bioquímicas que permiten distinguirla con relativa facilidad de los elementos no alterados, lo más importante es que la célula afectada exhibe un comportamiento radicalmente distinto al de los elementos normales. Este comportamiento se caracteriza por una propiedad fundamental: su anatomía de los mecanismos que regulan la morfofisis en organismos superiores.

Existen muchas definiciones de neoplasia, lo que nos hace suponer que no hay una totalmente satisfactoria, pero de acuerdo a las características de ésta podemos definirla de la siguiente manera:

“La neoplasia es un trastorno del crecimiento y la diferenciación celulares caracterizado por crecimiento excesivo, generalmente rápido y progresivo, debido a múltiples causas que probablemente inducen un cambio en el genoma (mutación) y que manifiesta diversos grados de los mecanismos normales de regulación de la morfofisis”. (*Joshina, 2001*)

5.2.1 ¿CÓMO SE DESARROLLA UN CÁNCER?

Después de varias décadas de investigación, la ciencia ha propuesto que el cáncer se desarrolla de una manera similar en la mayoría de los tejidos, es decir, es el resultado del daño del material genético.

Los genes son secuencias específicas de aminoácidos que se encuentran en las moléculas de DNA, ellos contienen la información necesaria para poder sintetizar proteínas particulares. Cuando los genes son activados las células responden sintetizando las proteínas que codifican dichos genes.

Muchos carcinógenos dañan el DNA o interfieren con las enzimas necesarias para su correcta replicación. La célula puede responder adecuadamente a los daños pequeños y en la mayoría de las ocasiones a daños mayores: esto puede retrasar la división celular hasta que el daño es reparado, entrar en apoptosis o puede progresar sin interrupción a través del ciclo de crecimiento celular. La transformación maligna no ocurre por un evento simple, es una evolución progresiva de las células somáticas para dar variantes con crecimiento descontrolado y con propiedades invasivas. Las mutaciones en los genes pueden perturbar a la célula induciendo cambios en las cantidades o en las actividades de los productos proteicos. Ahora, el hecho de que un número de células anormales aisladas proliferen de manera normal no causa ningún daño, sin importar que otras desagradables propiedades puedan tener, pero si la proliferación esta fuera de control, originan un tumor o neoplasia. *(Hernández, 1998)*

Dos clases de genes, los cuales solo constituyen una pequeña parte del equipo genético completo, juegan un papel muy importante en el inicio de un cáncer. En su configuración normal, estos organizan la compleja secuencia de eventos que componen el ciclo celular, los **proto-oncogenes** que se encargan de activar la proliferación celular y, los **genes supresores de tumores**, que inhiben la proliferación. Cuando mutan, los proto-oncogenes inducen una excesiva multiplicación, por sobre producción de la proteína estimuladora de crecimiento o una forma mas activa. En contraste los genes supresores de tumores, por una mutación, pueden quedar inactivos, dando como resultado una pérdida de la funcionalidad de las proteínas que se encargan de detener la proliferación inapropiada de la célula.

Como es evidente, la homeostasis se pierde cuando los **sistemas de reparación no pueden eliminar estas mutaciones permanentes**. Ahora se sabe que para que un tumor se desarrolle, es necesario que ocurran media docenas o más de mutaciones en los genes que controlan la proliferación celular, y que las células de un tumor son descendientes de una célula ancestral común. La proporción de la división y muerte celular determina que tan rápido crece un tumor. Algunas células transformadas se

dividen más lentamente que las normales, pero en general, la vida de dicha célula se prolonga más de lo normal. Comúnmente deben transcurrir décadas antes de que un tumor sea palpable, una vez que se han alterado los genes que controlan el programa de proliferación. Como podemos ver, estos genes son la clave para entender el proceso del origen del cáncer.

Cuando las células neoplásicas se encuentran agrupadas en una masa bien delimitada se dice que forman un tumor benigno y es completamente curable con la remoción del conjunto celular. Pero si las células tienen la capacidad de invadir tejidos vecinos u órganos distantes se dice que el tumor es maligno, es decir, un cáncer. La invasividad es la capacidad de células malignas de desprenderse del grupo neoplásico, desplazarse por torrente sanguíneo o linfático y formar colonias secundarias en otras partes del cuerpo, la formación de estos tumores secundarios se conoce como metástasis. (*Hernández, 1998*)

Otras dos importantes características del cáncer son: la anaplasia y la autonomía manifestada a través de la pérdida de la inhibición del crecimiento celular, dando como resultado una semidependencia en cuanto a la conducta y la función. Existen diferentes tipos de cáncer, clasificados de acuerdo al tejido y al tipo de célula donde se originan. De esta manera carcinoma es el cáncer originado en las células epiteliales, sarcoma es el que se origina en tejido conectivo o células musculares, leucemia el derivado de las células hematopoiéticas, entre otros. La más terrible característica del cáncer, es que cuando no se detecta a tiempo, lenta e irremediablemente conduce al enfermo hacia la muerte, por lo que todos los demás daños son secundarios. (*Hernández, 1998*)

5.2.2 CARCINOGENÉISIS

La carcinogénesis es un proceso de varias fases. La acción de un agente productor de cáncer (carcinógeno) no guía a la producción inmediata de un tumor, hay una serie de cambios después de la inducción por el carcinógeno. Las etapas subsecuentes- promoción del tumor- puede ser producido por el carcinógeno o por otras sustancias (agentes promotores) que por ellos mismos no producen tumores. (*Joshina, 2001*)

5.2.3 FASE DE LA CARCINOGENESIS

La progresión incluye todos los cambios en la naturaleza de la neoplasia una vez que ha alcanzado su estado de autonomía. Comprenden variaciones de la velocidad de crecimiento, desarrollo de una población celular heterogénea, transformación en neoplasia maligna, variaciones del tipo y el índice de la agresividad, capacidad de producir metástasis, entre otras. Las características generales de la progresión neoplásica pueden resumirse en las siguientes seis reglas o principios: (*Joshina, 2001*)

- 1) progresión independiente de tumores múltiples. Cuando en un mismo animal o individuo coexisten dos o más tumores, la progresión de cada uno de ellos es independiente de la mostrada por los demás.
- 2) Progresión independiente de distintos caracteres. Las diversas propiedades de una misma neoplasia sufren cambios cualitativos independientes; por ejemplo, las anomalías cromosómicas pueden alterarse mientras la velocidad de crecimiento se conserva constante.
- 3) Progresión independiente del crecimiento. Las modificaciones en las características de un tumor no se correlaciona ni con su crecimiento, ni con su estadio clínico, tamaño, tiempo de duración, u otros factores.
- 4) La progresión neoplásica puede ser continua o discontinua, o sea puede llevarse a cabo de forma gradual o por cambios bruscos.
- 5) La progresión sigue uno o varios caminos alternativos del desarrollo.
- 6) La progresión no siempre alcanza una forma estable durante la vida del portador de la neoplasia.

Aunque una de las características de la célula neoplásica es su crecimiento indefinido, en ocasiones éste se detiene espontáneamente por largos periodos, con menor frecuencia cesa definitivamente y en un numero muy pequeño de casos el tumor puede incluso desaparecer, a esta fase se le conoce como regresión. Se considera dos formas generales de mecanismos de regresión de los tumores: (*Joshina, 2001*)

- 1) Las debidas a cambios en el medio requerido por las células neoplásicas para continuar su crecimiento, que incluyen tumores hormona-dependientes o que presentan reacción “defensiva” del huésped en contra de las células tumorales,

por ejemplo: fenómenos vasculares oclusivos que interfieren con la irrigación de la masa tumoral y provocan su necrosis y esfacelo o respuesta inmune específicas, dirigidas contra antígenos presentes en las células neoplásicas y ausentes en las normales, que resultaría en la destrucción selectiva del tumor.

- 2) El segundo mecanismo es intrínseco en las células tumorales, se postula una “programación” simultánea con el origen del tumor, cuyo genoma recibe al mismo tiempo instrucciones para multiplicarse con carácter neoplásico pero también para cometer “suicidio” al llegar a cierto límite.

Las células cancerosas tienden a expandirse. La expansión a tejidos vecinos se llama invasión, esta se puede llevar a cabo de diferentes maneras:

- Infiltración de los espacios intersticiales por hileras de elementos tumorales constituyendo prolongaciones o bien células aisladas o en grupos pequeños, pero siempre en continuidad con la masa neoplásica principal.
- Los cordones dendríticos de células tumorales penetran dentro de un vaso linfático o sanguíneo y continúan creciendo a lo largo de su luz.
- Invasión nodular o en gruesos cordones de células tumorales, que en vez de separar las estructuras vecinas y penetran en ellas, las obliteran y las destruyen.

(Joshina, 2001)

La expansión a órganos distantes se denomina metástasis. Este depósito secundario de un tumor maligno primario además de encontrarse alejado de él no hay continuidad anatómica entre las dos masas neoplásicas. Se lleva a cabo a través de varios pasos:

- Invasión. El tumor alcanza y penetra los vasos linfáticos o sanguíneos, las cavidades serosas o conductos preformados y revestidos por epitelio, como el árbol bronquial.
- Embolia o transportes. Cuando la célula neoplásica es acarreada por linfa, sangre, líquido seroso o secreción epitelial, hasta detenerse al final de su viaje en un órgano distante o en una superficie, serosa o epitelial.
- Multiplicación celular y desarrollo de un nódulo, que invade los tejidos vecinos y deriva de ellos el estroma necesario para su subsistencia.

(Joshina, 2001)

5.3 CARCINÓGENOS QUÍMICOS

Se ha logrado demostrar que varias sustancias químicas son carcinógenas.

Las siguientes observaciones han surgido del estudio de estas sustancias:

- 1) Tienen estructuras en extremo diversas e incluyen tanto productos naturales como sintéticos.
- 2) Algunos reaccionan en forma directa y no requieren de transformación química para inducir carcinogenicidad, pero otros reaccionan en forma indirecta y solo se activan después de conversión metabólica. Estos agentes se denominan procarcinógenos y sus productos activos carcinógenos esenciales.
- 3) Todos los carcinógenos químicos, tanto los de reacción directa como los esenciales, son electrófilos altamente reactivos que reaccionan con átomos ricos en electrones en el RNA, proteínas celulares y principalmente DNA.
- 4) Los agentes que en si tienen poca o ninguna actividad cancerosa aumentan la carcinogenicidad de muchas sustancias químicas, en particular carcinógenos débiles. Estos agentes aumentadores se conocen como promotores.
- 5) Los efectos transformadores de los carcinógenos sobre el DNA son permanentes e irreversibles. No obstante, los efectos de los promotores son transitorios y reversibles.

Diversos carcinógenos químicos pueden actuar con otros tipos de influencias carcinógenas (por Ej.: virus o radiación) para inducir neoplasia: cocarcinogénesis.

(Joshina, 2001)

5.3.1 MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS CARCINÓGENOS QUÍMICOS

El estudio de carcinógenos químicos ha propiciado a datos respecto a la naturaleza fundamental de la carcinogénesis. Estos datos pueden resumirse como sigue:

Casi todos los carcinógenos químicos mutágenos: se unen de forma directa al DNA y a sitios específicos dentro de la molécula, induciendo errores en la codificación durante la **transcripción y replicación**. Esto no excluye la posibilidad de unión a RNA o a proteínas citoplasmáticas. Ya que el DNA es el blanco primario, puede convertir células normales en cancerosas por transfección (transferencia de genes mediante técnicas de DNA recombinante) de DNA tomado de células transformadas químicamente.

(Joshina, 2001)

5.4 VIRUS ONCÓGENOS

Algunos virus han sido relacionados con algún tipo de cáncer, y se denominan virus oncogénicos y se consideran dos grupos, según la naturaleza del ácido nucleico que constituyen su genoma: los virus de DNA y los de RNA.

Los virus oncogénicos de RNA fueron denominados oncornavirus (de VIRUS ONCOgenos-RNA), posteriormente se demostró que poseen polimerasa de DNA dependiente de RNA, conocida como transcriptasa inversa, que permite la transcriptasa inversa del RNA viral hacia DNA específico para virus, de ahí que ahora se conozcan como retrovirus. Estos virus son responsables de muchos tumores espontáneos, son muy semejantes entre si y de tamaño menor con respecto a los virus DNA.

Los virus oncogénicos de DNA se han asociado con una variedad mayor de neoplasias experimentales incluidas en animales que los RNA, son más heterogéneos y de mayor tamaño. No contienen transcriptasa inversa, por lo tanto el DNA viral o una porción del mismo se incorpora en forma directa dentro del genoma de células susceptibles. En contraste con los retrovirus no pueden replicarse más virus; la multiplicación de virus causa histolisis*. Se conocen como papota ya que incluyen virus de papiloma y vacuolizantes. (*Joshina, 2001*)

* Histolisis: Ruptura celular

5.5 CARCINOGENESIS POR RADIACIÓN

La radiación, cualquiera que sea su fuente (luz solar, rayos X, fisión nuclear, **radionúclidos**) es un carcinógeno establecido. Se sabe que la energía radiante tiene el potencial de producir mutaciones y aún de matar células, el mecanismo de carcinogenicidad no este bien definido, pero hay dos factores establecidos:

- Los tumores solo aparecen luego de un periodo latente prolongado durante el cual se han desarrollado generaciones sucesivas de clonas. Estas replicación celular puede ser un requisito para la fijación permanente de la lesión inducida por radiación y quizá para que se amplifique.
- La iniciación por radiación por lo general es irreversible, pero a dosis bajas es reparable. Pueden aparecer o no tumores cuando las células reciben dosis fracciones, según la dosis, duración de los intervalos y la capacidad de las células para repararse durante estos.

5.6 OTROS FACTORES DE RIESGO

- Cigarro y alcohol: Los extensos estudios epidemiológicos realizados en distintos países del mundo han establecido de manera definitiva que el hábito de fumar cigarro se relaciona casualmente con la existencia y fenomenal aumento en la frecuencia de carcinoma pulmonar, además de existir datos que apoyan una relación semejante con otros tumores, como carcinomas de la cavidad oral, de laringe, vejiga urinaria y esófago; los datos no excluyen la existencia y posible acción de otros agentes carcinógenos, pero demuestran, hasta donde la investigación epidemiológicas pueden hacerlo, que el hábito de fumar cigarro desempeñan un importante papel etiológico. El exceso de alcohol esta relacionado con cáncer de boca, faringe, laringe y esófago. Además también produce cirrosis en el hígado, lo cual incrementa el riesgo de cáncer de hígado.
- Dieta: La dieta juega un papel muy importante en el desarrollo de algún tipo de cáncer, particularmente de los órganos digestivos y reproductores. Los carcinógenos de la dieta pueden existir dentro de alimentos naturales, pueden ser producidos al cocinar, por almacenamiento no adecuado o generados por la actividad de los ácidos biliares y flora intestinal o sintética como los aditivos para la conservación, saborizantes, colorantes, entre otros.
- Ocupacional: existen muchas sustancias capaces de producir tumores, las cuales se pueden encontrar en el medio ambiente, a veces como compuestos orgánicos naturales o como productos de procesos industriales. Los factores de riesgo a los que estamos expuestos en un trabajo son diversos. *(Joshina, 2001)*
- Medicamentos: Las terapias con estrógenos después de la menopausia se ha ligado al desarrollo de cáncer endometrial, se han hecho estudios que indican que la progesterona a bajas dosis reduce la incidencia de cáncer uterino asociado con el uso de estrógenos. Otros fármacos potencialmente carcinogénicos son los agentes alquilantes como ciclofosfamida, que se asocia con leucemia linfocítica aguda.

5.7 TIPOS DE TUMORES (NOMENCLATURA)

En la práctica es muy importante homologar la nomenclatura para tomar una decisión acerca del tratamiento adecuado. A pesar de que pueden parecer confusos, es una nomenclatura simple:

- Los términos tumor, crecimiento o neoplasia se utilizan para describir tumores malignos.
 - Los tumores pueden originarse de células maduras, diferenciadas o células tallo*. El cáncer de una célula tallo lo identificamos como el sufijo -oma. EJ: neuroblastoma para un tumor de origen neuroblástico.
 - Otro elemento importante es la categorización de tumores, es el tejido donde se origina:
 - ✓ Carcinoma: son los tipos más comunes de cáncer, surge de las células epiteliales, los más comunes son los cáncer de pulmón pecho y colon.
 - ✓ Sarcomas: Se originan en tejidos de soporte de origen mesodérmico, como el hueso, cartílago y tejido conectivo.
- Linfomas, Eritoblastomas y Leucemias: surge de células sanguíneas y de origen linfático. (*Joshina, 2001*)

* Células tallo: Células célula madre; es toda célula que da origen a nuevas células.

TEJIDO	TIPO DE CELULA	TUMOR BENIGNO	TUMOR MALIGNO
Piel	Epitelio escamoso Célula basal Cél. de pigmento	Papiloma Melanoma	Carcinoma Carcinoma basal Melanoma maligno
Boca, labios, lengua, esófago.	Epitelio escamoso	Papiloma	Carcinoma escamoso
Estómago e intestinos	Epitelio columnar	Adenoma	Carcinoma
Faringe y pulmones	Epitelio bronquial	Adenoma	Carcinoma
Sistema urinario (vejiga)	Urotelio	Papiloma	Carcinoma
Hígado, riñón, próstata, tiroides, páncreas y pituitaria	Epitelio	Adenoma	Carcinoma
Gónadas: Ovario	Epitelio superficial	Cistadenoma seroso Cistadenoma mucinoso	Cistadenocarcinoma seroso Cistadenocarcinoma mucinoso.
Testículos	Células germinales Células germinales	Teratoma Teratoma	Teratocarcinoma Coriocarcinoma Seminoma Carcinoma embrional Coriocarcinoma Teratoma maligno

<p>Mesencrimo Tejido fibroso Tejido adiposo Hueso Cartílago Músculo liso Músculo estriado</p> <p>Vesícula sanguíneas Vesícula linfática</p>	<p>Fibrositos Adipositos Osteocitos Coindrocitos Cél. Músculo liso Células músculo Endotelio</p> <p>Endotelio</p>	<p>Fibroma Lipoma Osteoma Coindroma Leiomioma Rabdomioma Hemangioma</p> <p>Linfagioma</p>	<p>Fibrosarcoma Liposarcoma Osteosarcoma Coindrosarcoma Leimiosarcoma Rabdomiosarcoma Hemangiosarcoma</p> <p>Linfagiosarcoma</p>
<p>Sistema nervioso</p> <p>Nervios Células de soporte Células de envoltura (SNC)</p>	<p>Ioelectro oligodendrocitos</p> <p>Meninges</p>	<p>Meningioma</p>	<p>Neuroblastomas Retinoblastoma Astrocitoma Oligodendrocitoma</p>
<p>Células de envoltura (SNA)</p>	<p>Perineurio Endoneurio</p>	<p>Neurofibroma Neurofibroma</p>	<p>Neurofibrosarcoma Neurofibrosarcoma</p>
<p>Sistema Reticuloendotelial</p> <p>Leucocitos</p> <p>Eritrocitos</p> <p>Nódulos linfáticos</p>	<p>Células mieloides Monocitos Granulocitos Linfocitos</p> <p>Eritrocitos</p> <p>Linfocitos</p>		<p>Leucemia mieloide Leucemia monocítica Leucemia granulocítica Leucemia linfática Eritroleucemia</p> <p>Linfoma Non-Hodgkin Enfermedad de Hodgkin`s</p>
<p>Tejidos embrionarios</p>	<p>Mixtos</p>	<p>Teratoma</p>	<p>Teratocarcinoma</p>

Tabla 2. Nomenclatura de Tumores Comunes. (Joshina, 2001)

5.7.1 FASES DE LOS TUMORES

La idea de conocer la fase de los tumores es seleccionar el tratamiento apropiado, la precisión de categorizar la fase puede depender de la localización del tumor primario, las características físicas del paciente y la experiencia para la examinación clínica.

Existen varios sistemas para llevar esto a cabo para los diferentes tipos de tumores pero la principal clasificación internacional es el sistema TNM, el cual involucra el tamaño (T), el status del nodo (N) y la presencia o ausencia de metástasis distante (M).

FASE	MANIFESTACION CLINICA
I	Pequeño tumor localizado
II	Diseminación a nódulos linfáticos locales
III	Tumor grande local y/o diseminación a otros nódulos linfáticos
IV	Presencia de metástasis distante.

Tabla 3. Fases TMN. (Joshina, 2001)

6. CANCER Y METILACIÓN DEL DNA

6.1 LA MAQUINARIA DE LA METILACIÓN DEL DNA EN MAMIFEROS

La maquinaria mamífera de la metilación del DNA consiste en tres o más DNA (5-citosina) metiltransferasas (DNMTs), estas enzimas son agrupadas dentro de una familia que consiste de cinco miembros: Dnmt1, Dnmt2, Dnmt3a, Dnmt3b, Dnmt3L. DNMT1 es responsable de mantener el patrón de la metilación durante la replicación del DNA.

Dnmt3 a y b participan en el establecimiento del patrón de la nueva metilación durante el desarrollo temprano embrionario, Dnmt3L comparte alguna homología con Dnmt3a y Dnmt3b y juega un papel central en el establecimiento de la impresión genómica materna, no obstante se piensa que no tienen actividad catalítica *in Vitro*. Finalmente, aún no se ha encontrado alguna función en particular para Dnmt2, una proteína similar a las Mtasas procarióticas. No es capaz de metilar DNA *in Vitro* y mostró no ser esencial para la nueva (*de novo*) o el mantenimiento de la metilación en células ES. (**Jean B Margot y col., 2003**)

Catalíticamente las tres enzimas (DNMT1, DNMT3 a y b) son activas *in Vitro* en la presencia del sustrato DNA y cofactor AdoMet.

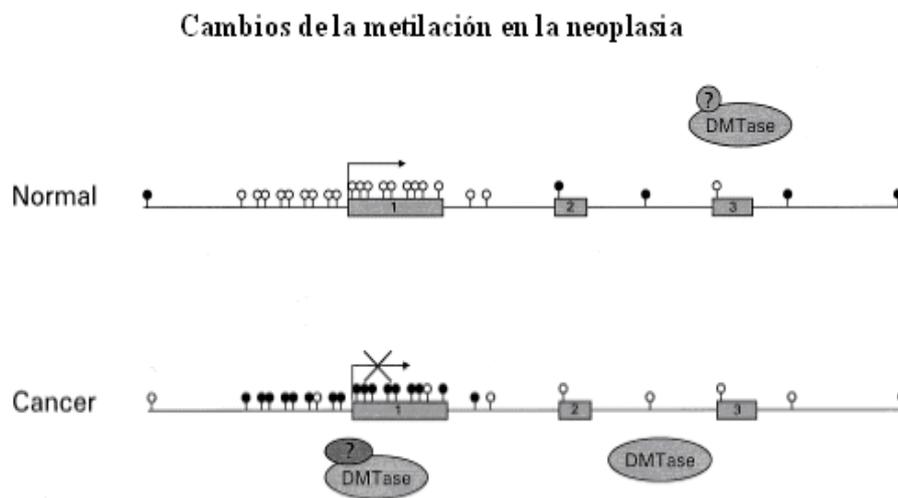


Fig.3. Cambios de la metilación en Neoplasia (James G. Herman)

Se muestra la estructura de un gen que contiene islas CpG, con exones designados por cajas (1, 2,3). Los sitios CpG se muestran en forma de paletas, las paletas no rellenas (sombreadas en color negro) representa un sitio CpG no metilado, y las paletas rellenas representan un sitio CpG metilado. En una célula normal son poco comunes sitios CpG fuera de la isla CpG altamente metilados, mientras que aquellos dentro de las islas permanecen libres de la metilación. Esto permite transcripción, mostrado por la flecha. La DNA metiltransferasa también se muestra en la figura. En células con cáncer, la pérdida de la metilación en las regiones que no son las islas CpG ocurre junto con regiones hipermetiladas de sitios CpG dentro de las islas CpG. Este cambio tardío conduce a un block de transcripción. La DNA metiltransferasa puede también ser alterada, con un ligero incremento en los niveles de la enzima, y quizás cambios en la regulación de proteínas a través de la alteración de factores reguladores.

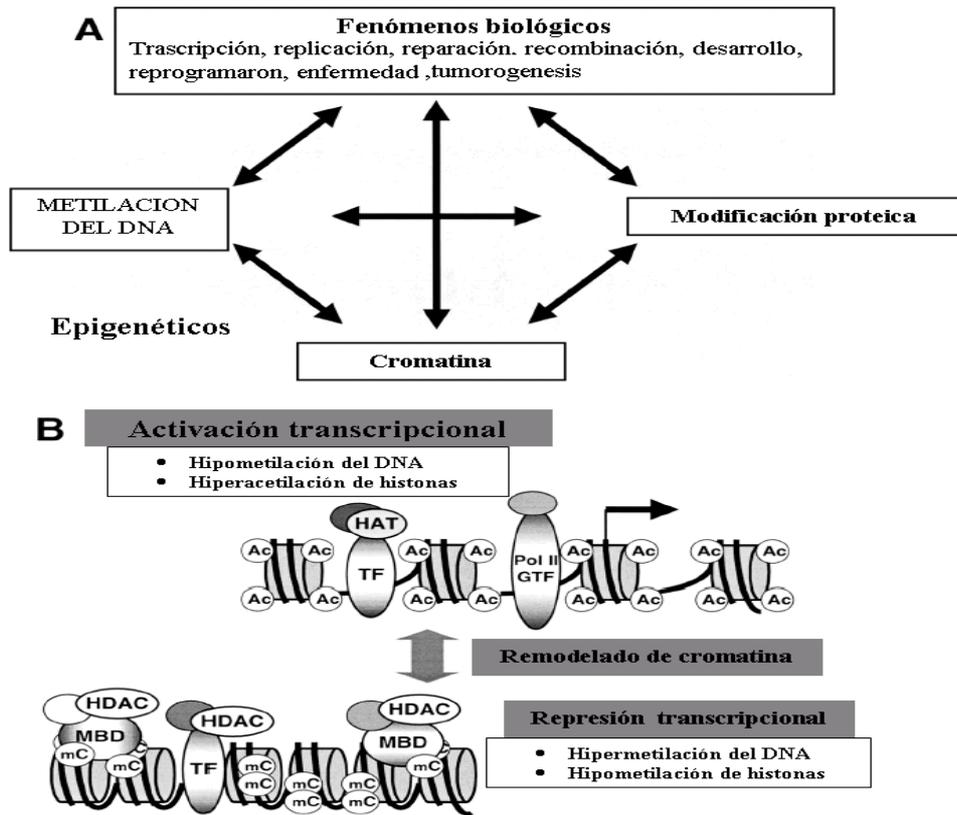


Fig4. Fenómenos biológicos involucrados en cambios de la metilación; activación transcripcional, represión transcripcional. (M. Nakao)

- (A) Epigenéticos es un sistema biológico avanzado que selectivamente utiliza información genómica y es involucrado en varios fenómenos fundamentales. Específicamente, se pone énfasis en la regulación de la expresión de genes, a través de DNA metilación, cromatina, y modificación post-transcripcional de proteínas tal como histonas. Las flechas indican posibles interacciones funcionales entre ellas. DNA hipermetilación, histona hipoacetilación y cromatina inactiva reprime la transcripción. En contraste, una condición activa transcripcionalmente puede estimular DNA hipometilación, histona hiperacetilación y cromatina activa. También, una estructura de la cromatina en particular puede ser requerida para establecer la metilación del DNA.
- (B) DNA metilación y la modificación de la histona juega un rol clave en el control de la transcripción. La figura muestra factores transcripcionales (TF), RNA polimerasa (Pol II), factores de la transcripción general (GTF), histona acetilada (Ac) y citosina metilada (mC). Cualquiera de los dos HAT o HDAC reclutado por TF u otra proteína unida al DNA induce la activación transcripcional o represión respectivamente. Factores de remodelado de la cromatina, convierte a la cromatina en un estado activo o inactivo.

Recientes avances han demostrado que la maquinaria de la DNA metilación no esta compuesta solo por Mtasas, más bien por un complejo de diferente proteínas en conjunto. **(Sriharsa Pradhan; Pierre-Olivier Esteve 2003)**

La base molecular de la correlación entre cambios epigenéticos en la metilación del DNA y modificaciones en la cromatina fue inicialmente revelada por la identificación de un complejo proteínico conteniendo ambos la metil-citosina unida a una proteína MeCP2 y las histonas deacetilasas HDAC1 y HDAC2. Estudios posteriores han revelado que muchas de las DNA metiltransferasas y metilcitosinas interactúan con enzimas que modifican la cromatina, incluyendo HMTs.

De esta manera los mecanismos moleculares el silenciamiento epigenéticos de los genes es probable que involucre la acción coordinada de DNA metiltransferasas, HDACs, HMTs, y proteínas adicionales que modifican la cromatina. **(Jonathan G. Moggs y col., 2004)**

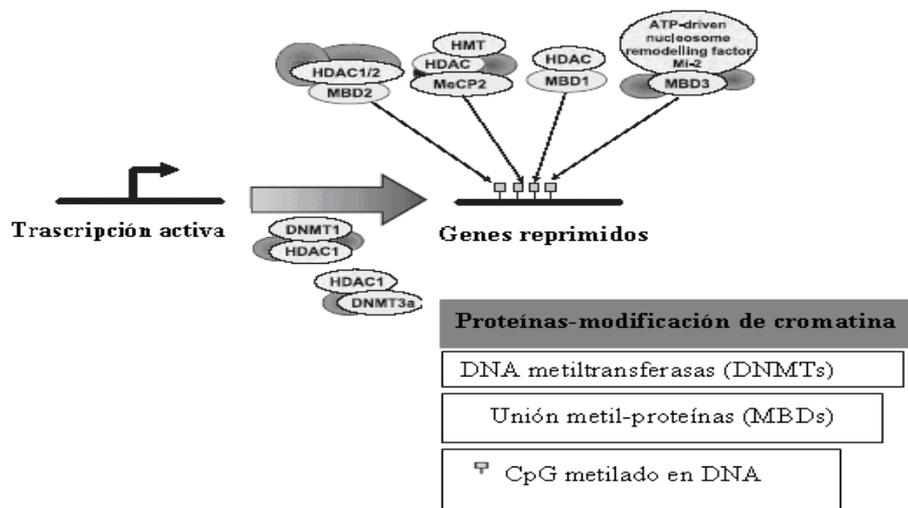


Fig5. Mecanismos moleculares en el silenciamiento de la expresión genética.

(J.G. Moggs et al.) / (James G. Herman)

Regulación epigenética de la expresión de genes involucra vínculos moleculares entre la metilación del DNA y proteínas modificadoras de la cromatina. Las bases moleculares para la interrelación entre cambios epigenéticos en la metilación del DNA y modificaciones en la cromatina fueron inicialmente reveladas por la identificación de un complejo proteínico conteniendo ambos, proteínas unidas a metil-citosina MeCP2 y las histonas de-acetilasas HDAC1 y HDAC2. Estudios subsiguientes han revelado que varias metiltransferasas y proteínas unidas a metil-citosina interactúan con enzimas modificadoras de cromatina. De esta manera, el mecanismo molecular del silenciamiento epigenético de los genes probablemente involucra las acciones coordinadas de DNA metiltransferasas HDACs, HMTs y proteínas modificadoras de la proteína.

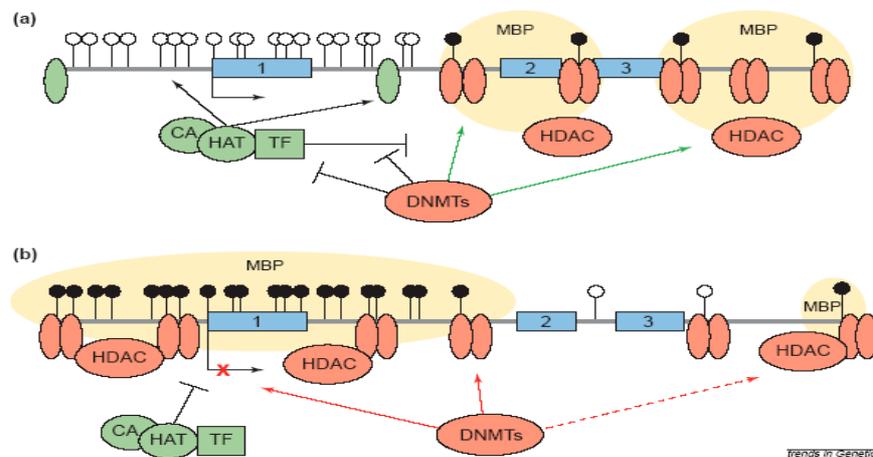


Fig.5. Mecanismos moleculares en el silenciamiento de la expresión genética.

(J.G. Moggs et al.) / (James G. Herman)

Una célula normal. La configuración típica de un transcrito activo (la flecha indica donde empieza el exon 1), tres exones (cajas marcadas 1,2 y 3) con una región promotora no metilada isla CpG (círculos blancos). La isla esta constituida por una región rica de CpG protegido de la metilación, en tanto que las áreas que se encuentran en seguida, ambas dentro del cuerpo del gen, muestra la disminución de CpG y una elevada metilación (círculos negros). La constitución de la cromatina de la isla es transcripcionalmente favorable y caracterizada por nucleosomas no compactados y ampliamente separados con histonas acetiladas (óvalos verdes en el DNA). En contraste las regiones son regularmente separadas, nucleosomas compactados con histonas de-acetiladas (óvalos rojos en el DNA). Las islas son completamente accesibles para una transcripción típica complejo compuesto por histona acetilasa (HAT), co-activador (CA), factor transcripcional basal (TF) pero no interactúa con DNA metiltransferasa (DNMTs). En contraste, el complejo transcripcional es excluido de la interacción con la región metilada que es completamente accesible para la DNMTs y tienen complejos proteínicos que están compuestos por proteínas unidas a metil-citosina (MBPs; halo amarillo) e histona-de-acetilasa (HDAC).

Célula con cáncer. Los genes son mostrados aberrantemente metilados, transcripcionalmente silenciado (X roja en el sitio donde empieza la transcripción). La isla rica en CpG es ahora ampliamente metilada (círculos blancos) completamente accesible a DNMTs, los nucleosomas contienen histonas-de-acetiladas y un compactado y espaciado más uniforme (óvalos rojos en el DNA). Los CPGs metilados de las islas están ahora interactuando con los complejos MBP-HDAC y el complejote transcripción (HAT, CA, TF) es excluido de la región.

El área hacia debajo de la isla muestra la típica hipometilación del cáncer en el genoma de las células, con una débil interacción con DNMTs, decrece el agrupamiento de nucleosomas y el número y disminuyendo el complejo MBP-HDAC.

6.2 PAPEL DE LA METILACIÓN EN EL DNA

La regulación epigenética de la expresión de los genes se basa en la modulación de la transcripción por mecanismos hereditarios sobrepuesto en aquella conferida por la secuencia de DNA primaria. La metilación del DNA es un ejemplo de cómo un mecanismo y una alteración en la metilación del DNA pueden jugar un papel clave en la carcinogénesis como un mecanismo secundario epigenético* y no genotóxico*. La metilación del DNA o la transferencia de grupos metilos a la citosina de los dinucleótidos de la región CpG es llevado acabo por DNA metiltransferasa (Mtasas) (*Jean B Margot y col., 2003*), es un mecanismo que permite o lleva a la pérdida de la función de la supresión de tumores en el cáncer en humanos. La metilación en esta zona indica que algunos genes son más frecuentemente metilados que otros, y que cada tipo de tumor es asociado con un único conjunto de genes metilados. La metilación del DNA en mamíferos ocurre en los residuos de citosina en la región CpG. (*Sriharsa Pradhan; Pierre-Olivier Esteve 2003*)

Hay múltiples factores que regulan la metilación del DNA, como se puede observar en la figura 2;

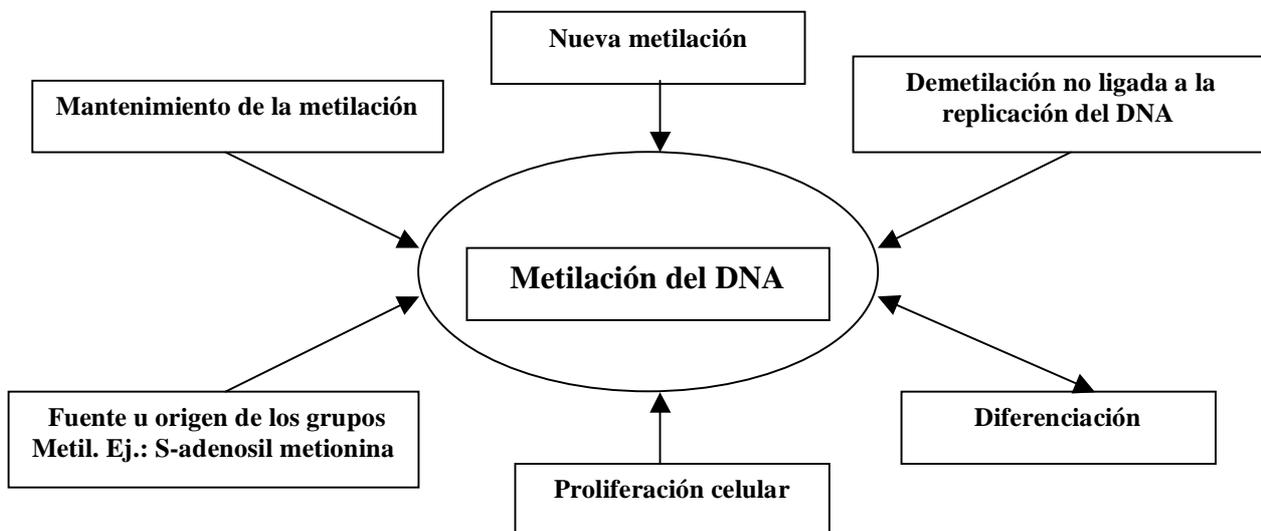


Fig. 6. Factores que influyen en la metilación del DNA. Múltiples factores controlan la metilación del DNA. Un patrón particular en la metilación del DNA es el producto de múltiples factores interdependientes. Alteración de uno o más de estos pueden conducir a un mayor cambio en el estado de metilación. El estado de diferenciación puede afectar la metilación y el estado de metilación puede influir en el estado de diferenciación; así de esta manera, la doble flecha entre la metilación del DNA y diferenciación. “*Annual Review of pharmacology and toxicology, volume 42, 2002. By annual reviews.*”

*Epigenético: mecanismo de regulación de la expresión (transcripción y traducción) de genes que no dependen de cambios en la secuencia primaria del DNA, sino que opera a un nivel superior (p. ej., metilación, efectos de posición.)

*Genotóxico: Es todo aquello que ocasiona daño o es dañino para el ADN.

6.3 DNA METILTRANSFERASA 1

- **DNMT1:** Es la metiltransferasa más abundante en la célula de mamíferos, metila predominantemente los dinucleótidos hemimetilados C-G en el genoma mamífero. La enzima tiene alrededor de 1620 aminoácidos. Los primeros ~1100 aminoácidos constituyen el dominio regulador o la región N terminal de la enzima. El resto del residuo constituye el dominio catalítico o región C terminal. Los dominios están unidos por repetidas secuencias de Gly-Lys.
- **Expresión y papel de la DNA (5-citosina) Metiltransferasa en enfermedades y sistema inmune:** La metilación del DNA juega un papel muy importante en el mantenimiento del desarrollo y función celular. Cambios en el patrón de metilación de genes específicos están correlacionados con el desarrollo de la inmunidad, envejecimiento y cáncer. La sobre expresión de las enzimas DNMT1, DNMT3a y DNMT3b están asociadas con la hipermetilación de p15 en leucemias agudas. Además, la hipermetilación de la isla C-G de la proteína Kinasa asociada a la muerte (DAP-Kinase), fue encontrado que es común en células B malignas resultando en la protección de apoptosis.

Esta enzima ha llegado a ser un blanco primario de experimentos en la terapia del cáncer. En muchos casos, la inhibición de la DNMT1 se ha llevado a cabo por 5-azacitidina y compuestos relacionados. Estas sustancias tienen función de sustratos suicidas después de haber sido incorporados dentro del DNA. 5-azacitidina tiene un átomo de nitrógeno en lugar de carbono en la posición C-5, el cual previene la terminación de la reacción de la metilación del DNA. La DNA metiltransferasa permanece unida al DNA como una reacción intermediaria y de esta manera llegan a ser reducidas del núcleo. Subsecuentemente la replicación del DNA sobre varias generaciones celulares resulta luego en una pasiva demetilación del genoma. La actividad reducida de la DNMT1 humana ha mostrado una reducción dominante en los niveles de metilación del DNA genómico. (*Pawel Siedlecki y col., 2003*)

La inactivación farmacológica de la DNA metiltransferasa proporciona una nueva oportunidad para la terapia del cáncer. Varias pruebas en la fase III de inhibidores de la DNA metiltransferasa han sido completadas exitosamente, pero la eficacia de estos compuestos parecen estar comprometidas por su carencia de especificidad. Los inhibidores de la DNMT son administrados con la intención de modular el patrón en la metilación del DNA genómico.

El DNA humano es metilado en la posición citosina-5 dentro de los dinucleótidos citosina-guanina (CpG). Esta modificación epigenética tiene un papel importante en la inactivación del cromosoma X, sello genómico, silenciamiento de secuencias retrovirales y transpuestas, estabilidad genómica y regulación transcripcional. (*Bodo Brueckner; Frank Lyko. 2004*)

6.4 DNMT1: CANDIDATO COMO BLANCO EN EL TRATAMIENTO DEL CÁNCER

Líneas que evidencian la unión entre la DNA metilación y el cáncer:

- ✓ El DNA de las células con cáncer están generalmente más metiladas que el DNA de las células en estado normal.
- ✓ Los genes supresores del tumor están hipermetilados en muchos cánceres en comparación con las células normales.
- ✓ DNMT1, la enzima responsable de la replicación del patrón de metilación del DNA, es regulada por múltiples señales oncogénicas.
- ✓ Los niveles de DNMT1 están elevadas en líneas celulares con cáncer y tumores.

(Moshe Szyf , 2001)

La inhibición de la DNMT1 causa demetilación y activación de los genes supresores del tumor, resultando en la inhibición de la célula tumoral. Esta hipótesis es apoyada por varios reportes en el tratamiento de líneas celulares cancerígenas con 5-azacitidina, un inhibidor farmacológico de DNMT1, o análogos de oligonucleótidos dirigidos contra DNMT1.

En muchos casos, la inhibición de la DNA metiltransferasa se logra por 5-azacitidina o compuestos relacionados. Sin embargo, 5-azacitidina y compuestos relacionados se caracterizan por su baja especificidad y alta toxicidad. Esto ha limitado su potencial como agentes quimioterapéuticos. (*Siedlecki et al, 2003*)

7. QUÍMICA COMPUTACIONAL

A finales de los años setenta apareció un nuevo campo del conocimiento orientado al diseño de moléculas asistido por computadora: la química computacional. Esta nueva disciplina fue impulsada por las principales compañías farmacéuticas del mundo interesadas en la química medicinal y por el vertiginoso desarrollo del cómputo.

Si bien la definición de la química computacional puede parecer arbitraria y subjetiva, al gusto de cada persona, es necesario proponer una muy general:

La disciplina que comprende todos aquellos aspectos de la investigación química que se benefician con la aplicación de la computadora. Esta definición incluye desde la utilización del cómputo para controlar un espectrómetro de resonancia magnética nuclear o un espectrofotómetro de infrarrojo hasta el manejo de bancos de información, pasando desde luego por las implicaciones que impactan la descripción de la estructura de moléculas. En un sentido más restrictivo, el núcleo de la química computacional implica el uso de modelos matemáticos para la predicción de propiedades químicas y físicas de compuestos empleando computadoras. Se puede concluir que la química consiste en determinar la estructura y las propiedades moleculares mediante el uso de mecánica molecular, métodos semiempíricos y teorías de orbitales moleculares a primeros principios (*ab initio*). (*Gabriel Cuevas; Fernando Cortés 2003*)

7.1 MODELADO MOLECULAR

El desarrollo del cómputo y de la ciencia de las computadoras ha permitido el florecimiento de la química computacional a partir de unidades centrales de proceso (o procesadores) más rápidos, dispositivos con alta capacidad de almacenamiento de datos, procesamiento en paralelo, etc. Asimismo, la evolución de las matemáticas, la física y la química teórica también ha contribuido a tal florecimiento al proveer de métodos numéricos y analíticos más eficientes, modelos teóricos y conceptos más poderosos, que se han incorporado en algoritmos programables. De esta manera, las computadoras han

invadido laboratorios de investigación, ya que ahora se pueden calcular con mucha precisión algunas propiedades moleculares como la geometría y la energía relativa. **(Gabriel Cuevas; Fernando Cortés 2003)**

El uso de *Sybyl* (ver. 6.9 y 7.0), el cual es un programa computacional de diseño molecular ayuda en la descripción y predicción del comportamiento molecular. La representación molecular del reconocimiento molecular proteína-ligando se refiere a “Docking Molecular”. Este método es una herramienta útil en el diseño de fármacos, estimación de la afinidad de la unión. **(The Tripos Bookshelf Ver. 6.9)**

En el método de diseño molecular se trata de colocar un ligando en la cavidad de unión de la enzima, esta unión de un ligando a una proteína provee datos o información de la posición y de esta manera de las interacciones entre el ligando y las proteínas. Un detallado entendimiento de las interacciones de dicho reconocimiento proteína-ligando puede ser útil en términos de relación estructura-actividad, el cual es importante para el diseño y optimización de fármacos.

Muchos de los métodos de Docking que han surgido difieren principalmente con respecto a la colocación del ligando, exploración del espacio conformacional, representación de las interacciones proteína-ligando, estimación de la afinidad de interacción. Estos métodos son una herramienta útil en el diseño de fármacos, desde su ayuda para proporcionar un entendimiento de las interacciones clave hechas por un ligando conocido o para examinar el potencial de nuevas interacciones de un ligando diseñado.

Un detalle importante en el estudio de la validación de un Docking es el tratamiento de las estructuras de la proteína y ligandos. La manipulación de estas estructuras antes del Docking puede tener un gran impacto en la precisión del Docking. **(Jon A. Erickson y col., 2004)**

- Se adicionaran hidrógenos y calcularan las cargas (método Gasteiger-Hückel) de la enzima. Ya que generalmente las estructuras en PDB no contienen hidrógenos y las cargas atómicas necesarias para el mantenimiento de las energías de interacción.

- En cuanto a los ligandos, una vez construidos se minimizaran sus energías (Kcal/mol).
- Se realizara un análisis conformacional de cada una de las estructuras, escogiendo el conformero más estable de cada molécula.
- Optimizar la geometría de cada uno de los conformeros escogidos mediante el método Hartree-Fock y B3LYP.

Ⓢ CARGAS MEDIANTE EL MÉTODO GASTEIGER-HÜCKEL

La determinación de las cargas atómicas es una cantidad que no solo es un índice de la ionicidad de un enlace, sino también se puede considerar como un índice de reactividad cuando se involucran especies cargadas en un proceso químico.

Las cargas atómicas no son variables observables, por lo que cualquier definición resulta arbitraria dado que los postulados de mecánica cuántica no permiten discernir a los electrones de cada uno de los átomos de una molécula; esto ocasiona que el grado de arbitrariedad para efectuar la asignación de los electrones de cada átomo varíe con cada método. (*Gabriel Cuevas; Fernando Cortés 2003*)

Este método es una combinación de otros dos métodos computacionales para calcular las cargas: el método Gasteiger-Marsili para calcular los componentes σ de las cargas atómicas y el método Hückel para calcular los componentes π de las cargas atómicas. La carga total es la suma de las cargas calculadas por los dos métodos. Cargas formales en los átomos incluidos en el sistema π se asumieron estar deslocalizados sobre todo el sistema π . Por esta razón, la porción Hückel de las cargas es calculada primero y esta carga es usada como base para calcular la carga Gasteiger-Marsili. (*The Tripos Bookshelf Ver. 6.9*)

Ⓢ MINIMIZACIÓN ENERGÉTICA

Mediante la optimización energética, se obtendrá una geometría adecuada al igual que una energía menor de la estructura, lo cual es de suma importancia para la estabilidad de la estructura.

La energía es una función de las coordenadas y el programa (*Sybyl*) trata de generar coordenadas las cuales corresponden a un mínimo de energía. (*The Tripos Bookshelf Ver. 6.9*)

Ⓢ ANALISIS CONFORMACIONAL

Los átomos que constan de una molécula, generalmente pueden tomar diferentes posiciones relativas sin experimentar un nuevo arreglo de sus enlaces químicos. Cada uno de estos arreglos de estos átomos es una conformación (conformero).

La transformación de una conformación a otra es llevada a cabo primeramente por cambios en la rotación en un enlace con alteraciones menores de la longitud del enlace y rotación. Para que una conformación sea estable, debe haber algunas interacciones internas favorables entre los átomos de la molécula o con átomos en el medio externo. Es importante identificar todas las conformaciones variables de una molécula. (*The Tripos Bookshelf Ver. 6.0*)

8. ANTECEDENTES DE LOS ESTUDIOS DE DISEÑO MOLECULAR DE IMIDAZOTETRAZINONAS

Estudios sobre la estructura actividad de imidazotetrazinonas muestran que un hidrógeno unido a un grupo donador en la posición C-8 es requerido para la actividad anticancerígena, y grupos voluminosos en la posición C-6 no tienen un efecto quimioterapéutico, ya que estudios realizados de la actividad anticancerígena de análogos de Temozolomida como Mitozolomida contra tumores, decrece cuando hay sustituyentes voluminosos en la posición C-6 y se prefiere un puente de hidrógeno de un grupo donador proveniente del C-8. (*Lunt, E y col., 1987*)

Estos estudios solo se han realizado utilizando al DNA como receptor, en donde la hipótesis de que el pro-fármaco antitumor Temozolomida habré su anillo a MTIC el cual luego además se rompe para reaccionar en una secuencia rica de guanina en el DNA ha sido probada por técnicas computacionales. De acuerdo a los datos reportados

de la interacción DNA con Temozolomida, la accesibilidad estérica y electrostática es mejor en los residuos de guanina.

Los residuos de guanina presentan un microambiente nucleofílico accesible en el DNA facilitando así la conversión del pro-fármaco Temozolomida a MTIC. Se ha mostrado también las características rotacionales del grupo 8-carboxamida, durante la minimización el grupo carboxamida fue acomodado planarmente con respecto a el anillo imidazol.

Las bases de guanina en el DNA tienen un mayor potencial electrostático molecular que otras bases, y el átomo con mayor potencial negativo es el N-7 de la guanina. Esto explica por que este átomo es mas frecuentemente alquilado por una serie de fármacos electrofílicos. El segundo factor responsable para la selectividad de la alquilación de la guanina es la accesibilidad estérica. Con lo que se ha reportado una interacción Temozolomida-Guanina del 70% y distancias menores a 4.0Å.

Si el grupo 3-metil de Temozolomida es reemplazado por el grupo 3-(2-cloroetil) en Mitozolomida, no hay un cambio apreciable en la interacción. (*Brian J. Denny y col., 1994*)

Se ha reportado que el (-) – epigallocatequina-3-gallate (EGCG), el polifenol mayor del té verde puede inhibir la actividad de la enzima DNMT. Estudios de diseño molecular respaldan la actividad del té verde y sugieren que EGCG puede formar puentes de hidrógeno con Pro_{1223} , Glu_{1265} (estos dos sitios son catalíticamente importante dentro de la enzima), Cys_{1225} , Ser_{1229} y Arg_{1309} en el sitio catalítico de la DNMT. Estos hallazgos sugieren que EGCG ejerce su efecto inhibitorio sobre la función de DNMT bloqueando o impidiendo la entrada del nucleótido de citosina dentro de su sitio activo, previniendo así la metilación. (*Ming Zhu Fang y col., 2003*)

9. MÉTODOS DE CÁLCULOS TEÓRICOS

MECÁNICA MOLECULAR

La mecánica molecular considera a una molécula como un conjunto de átomos unidos por fuerzas elásticas, las cuales se describen mediante funciones clásicas de energía potencial, comprendiendo principalmente: alargamiento y flexión de longitudes de enlace y ángulos de valencia (planos y diédricos), torsión a través de enlaces e interacciones de no enlace y electrostáticas.

Es un método muy usado en aquellos casos en los que solamente se requiere saber cuales son las conformaciones energéticamente preferidas. También se le conoce como campo de fuerzas. (*Enrique Moreno Guerrero. 1997*)

MECÁNICA CUÁNTICA

Los cálculos de mecánica cuántica, no solo proporciona las conformaciones preferidas, sino también la estructura electrónica y ciertos parámetros y propiedades derivadas de ella, como son calor de formación, momento dipolar, potencial de ionización, afinidad electrónica y energía total. Sin embargo se obtienen a costa de un mayor consumo de recursos computacionales porque se realizan a partir de resolver la ecuación Schrödinger ($H\psi = \psi E$), empleando el operador Hamiltoniano completo de energía potencial y cinética.

Por otro lado, los métodos semiempíricos emplean aproximaciones para la obtención de valores de energía, haciendo uso tan solo de los orbitales atómicos de valencia, considerando que los orbitales atómicos internos no intervienen en la combinación. Las diferencias entre estos métodos es que los semiempíricos aproximan las integrales que salen del proceso de solucionar la ecuación de Schrödinger el cual puede ser variacional o perturbacional, así mismo las funciones base que usan no son las mismas para ambos métodos y finalmente el tiempo de cómputo, es mucho mayor para métodos ab initio que para semiempíricos, siendo estos evidentemente más rápidos.

Actualmente existen una gran cantidad de métodos semiempíricos, pero es difícil decidir cuál es el mejor, pues eso depende del sistema a estudiar y la información que se desee obtener. (*Enrique Moreno Guerrero. 1997*)

9.1 MÉTODOS DE CÁLCULOS TEÓRICOS

Hückel simple, fue descrito por primera vez en 1930, para ser aplicado a sistemas conjugados, y por lo tanto, solo considera los electrones π del sistema. Tales electrones muestran una alta reactividad y pueden ser fácilmente excitables por radiación UV-visible, a diferencia de aquellos involucrados en enlaces σ ; estas características derivables de la diferente naturaleza de ambos enlaces, y por tanto de su diferente

simetría llevó a postular la separación σ/π , en la cual la parte σ y la parte π en la función de onda molecular podían ser consideradas como independientes:

$$\psi = \psi^\sigma \psi^\pi$$

Así los electrones π podían ser tratados explícitamente, sin considerar los electrones σ , y sobre esta base.

$$E_{tot} = E_\sigma + E_\pi$$

Esta aproximación se interpreta físicamente, como aquella que considera el movimiento de los electrones en un campo de potenciales debido al núcleo y al **carozo*** de electrones σ , por lo que la energía calculada corresponderá a la energía electrónica más la repulsión internuclear. La función de onda π es tomada como CLOA que participan en el sistema π de lo cual resultan OM y no OMS; la energía π es entonces la suma de las energías unielectrónicas correspondientes, y se asigna no más de dos electrones de cada OM, comenzando por aquellos de más baja energía. (*Enrique Moreno Guerrero. 1997*)

El operador H_π debe interpretarse como un operador efectivo unielectrónico y, por tanto no considera explícitamente las interacciones electrón-electrón.

El método permitió reproducir teóricamente muchas propiedades observadas, tales como las longitudes de enlace C-C es una cadena insaturada, la alta estabilidad de los compuestos aromáticos y la reactividad de moléculas insaturadas antes reacción de adición, estableciéndose en algunos casos correlaciones experimento-teoría útiles.

***Carozo: Núcleo**

Las integrales correspondientes al desarrollo variacional se aproximan a:

$$S_{ij} = \langle \Phi_i | \Phi_j \rangle = \delta_{ij}$$

$$H_{ij} = \langle \Phi_i | H_{eff}^\pi | \Phi_i \rangle = \alpha_i$$

$$H_{ij} = \langle \Phi_i | H_{eff}^\pi | \Phi_i \rangle = \beta_{ij}$$

Es decir, que se desprecia cualquier traslape, las integrales de Coulomb se aproximan a los potenciales de ionización de los estados de valencia y las de intercambio se anulan para átomos no vecinos y se asocian a una constante β para átomos vecinos (conectados por un enlace σ); β evaluado termodinámicamente mide la energía de desmoralización del sistema π . Aunque la consideración acerca de las integrales de traslape parece ser

una consideración muy drástica, no tuvo un efecto grande sobre los resultados y han podido ser hechas ciertas predicciones sobre el comportamiento químico y la estructura de estos sistemas conjugados.

Con estas aproximaciones, y haciendo uso de la simetría molecular para simplificar el problema secular, podemos obtener el conjunto de valores $\{\epsilon_i, \epsilon_y\}$. El método fue concebido para hidrocarburos, pero prevé aproximaciones de α y β para los heteroátomos.

Aunque en la actualidad, esta teoría no es utilizada, sigue manteniendo su importancia en el orden metodológico ya que, es posible resolver sin otra herramienta que lápiz y papel, diversos sistemas conjugados y predecir reactividades y aspectos estructurales de los mismos mediante el cálculo de determinados índices, como los ordenes de enlace, las cargas π y las energías de deslocalización; y en segundo lugar, porque la formulación de estos índices desde un punto de vista químico-cuántico, a la vez que enriqueció conceptualmente determinados conceptos de la química, fue de gran utilidad en la explicación de reactividades y mecanismos de reacción con participación de moléculas insaturadas. (*Enrique Moreno Guerrero. 1997*)

9.1.2 LA TEORIA DE HÜCKEL EXTENDIDIO

Este método, establecido para todos los electrones de valencia, complica el problema secular respecto al Hückel simple, pero no llega a utilizarse un tiempo computacional excesivo en el mismo.

Si se expresa el Hamiltoniano de un sistema como:

$$H = -\sum_v \left[\frac{1}{2} \nabla^2 + \sum_A \frac{Z_A}{r_{\mu A}} \right] - \sum_{\substack{\mu, \nu \\ \mu \neq \nu}} \sum_B \frac{Z_B}{r_{\mu B}} + \sum_{\mu(\nu)} \frac{1}{r_{\mu\nu}} + \sum_{\substack{A, B \\ A \neq B}} \sum_A \sum_B \frac{Z_A Z_B}{R_{AB}}$$

En la formulación del Hamiltoniano, Hoffmann señala que el término positivo isoelectrónica se cancela con el término negativo electrón-núcleo, por lo que el Hamiltoniano del sistema puede reducirse al monoeléctrico. El término de repulsión núcleo-núcleo no se considera explícitamente, sino a través de las aproximaciones hechas a las integrales con parámetros experimentales.

De esta manera el operador monoeléctrico se puede descomponer en los operadores de cada orbital atómico:

$$H_0 = \sum_{\mu} h_{\mu}$$

Por analogía con el Hückel simple, las integrales son reemplazadas por parámetros empíricos en el determinante secular $|H_{\mu\nu} - \epsilon S_{\mu\nu}| = 0$

Los términos diagonales son aproximados al parámetro α que corresponde al potencial de ionización correspondiente, considerando los estados de valencia energéticamente entre los 4 enlaces C-H lleva a considerar un estado un estado de valencia hibridizado y de capa abierta para los átomos de carbono al cual le están asociados varias posibles configuraciones de spín. En este sentido deben de asignarse potenciales de ionización que reflejen en lo posible el potencial de ionización del estado de valencia.

Los términos no diagonales son evaluados por la fórmula:

$$H_{\mu\nu} = 0.5K(\alpha_{\mu}/2 + \alpha_{\nu}/2)S_{\mu\nu} \quad (1)$$

Siendo K un parámetro empírico ajustable y $S_{\mu\nu}$ la integral de traslape para los orbitales atómicos μ y ν centrada sobre tales átomos. Esta ecuación, conocida como relación de Wolfsberg-Helmholtz, parte de la consideración de que la energía de interacción aumenta a mayor traslape entre los OA y que la energía de interacción de traslape entre OA de baja energía debe ser menor que aquella producida entre aquellos de mayor energía aun considerando igual la magnitud de traslape. El parámetro K fue parametrizado por Hoffmann, sugiriéndose el valor de 1.75. (*Enrique Moreno Guerrero. 1997*)

La ecuación 1 es una generalización, derivada de la conocida aproximación de Mulliken, según la cual la distribución de electrones que es producto de dos OA* centrados en átomos distintos es tomada como aquello que resulta repartir por igual los electrones entre los dos átomos.

Las funciones base son construidas de orbitales atómicos tipo Slater normalizados; se define sobre la base de los OA y sus posiciones en la molécula, dados por las coordenadas internas (o cartesianas) de los átomos. Las integrales S_{ij} de traslape son ahora todas calculadas explícitamente a partir de las funciones de onda atómicas proyectadas geoméricamente del sistema en el sentido de su conectividad.

* OA: Orbital atómico

Una vez obtenida la matriz de traslape $[S]$ y la matriz $[h]$, ya que puede ser resuelta la ecuación secular de $|H_{\mu\nu} - \epsilon S_{\mu\nu}| = 0$

Se requiere entonces que las funciones base sean ortogonales, de manera que no exista superposición espacial alguna. Ello se logra realizando transformaciones adecuadas sobre el sistema; si seleccionamos la matriz de transformación A, la cual aplicada sobre las funciones $\phi_\mu, \phi_\nu, \dots$, producirán una nueva serie de orbitales $1_i, 1_j, \dots$ que satisfacen la condición de ortogonalidad; entonces:

$$\begin{aligned} \langle \phi_\mu | \phi_\nu \rangle &= S_{\mu\nu} \\ 1_i &= \sum_\mu \phi_\mu A_{\mu i} \\ 1_j &= \sum_\nu \phi_\nu A_{\nu j} \\ \langle 1_i | 1_j \rangle &= \delta_{ij} \\ \langle 1_i | 1_j \rangle &= \sum \langle \phi_\mu A_{\mu i} | \phi_\nu A_{\nu j} \rangle = \sum A_{\mu i}^* \langle \phi_\mu | \phi_\nu \rangle A_{\nu j} = \sum A_{\mu i}^* S_{\mu\nu} A_{\nu j} \end{aligned}$$

La condición de ortogonalidad requiere que:

$$\langle 1_i | 1_j \rangle = A^+ SA = I$$

donde Y es la matriz unidad. Si consideramos que A es una matriz Hermitiana ($A^+ = A$), entonces la ecuación puede ser simbólicamente escrita como:

$$A = S^{-1/2}$$

Como S es generalmente es una matriz no diagonal, es necesario transformarla a donde:

$$S' = U^{-1} S U$$

Siendo S' una matriz diagonal. Evaluando $(S')^{1/2}$ y regresando a S obtenemos:

$$S^{-1/2} = U(S')^{-1/2} U^{-1}$$

lo cual permite definir la matriz de transformación.

Los coeficientes son obtenidos en la forma CLOA*, lo cual permite analizar directamente propiedades de simetría, estructura de nodos y otros aspectos relativos a la contribución orbital de los enlaces, de gran importancia para el químico.

Las energías orbitales pueden interpretarse como energías de ligadura, asociadas experimentalmente con energías de espectros de fotoelectrones y la energía total es tomada como la suma de las energías unielectrónicas:

$$E_T^{EH} = \sum_i^{OM \text{ ocup}} n_i \epsilon_i$$

*CLOA: Función de orbitales moleculares.

Evidentemente, si las aproximaciones que sustentan el método tienen un efecto negativo, es en los valores de energía total donde más significativamente van a sentirse. No obstante, se ha demostrado que (i) la variación en la energía total como resultado de un cambio en la geometría es aproximadamente el mismo que la variación en la energía electrónica (incluyendo la repulsión nuclear), a pesar de que el valor absoluto calculado y el real difieren considerablemente y (ii) la parametrización realizada a partir de los valores empíricos, permite comparar valores de energía, tanto en el EHT para moléculas como el variante de sólido, para sistemas que se acercan a reaccionar. (*Enrique Moreno Guerrero. 1997*)

La energía total, puede entonces ser mejorada con la consideración del término de Madelung formulado a partir de las cargas netas de cada átomo y que de alguna manera tiene en cuenta el término internuclear. Esta alternativa es particularmente adecuada para compuestos polares, donde los resultados sobrestiman la polaridad de los enlaces, ya que los elementos de matriz H_{ii} del Hamiltoniano efectivo se han aproximado al potencial de ionización del átomo neutro y no del átomo cargado. Para corregir esto, en el método se deja depender los elementos diagonales de la carga Q_i neta sobre cada átomo, de forma que:

$$H_i = \alpha_i - \lambda_i Q_i$$

Donde λ_i es un parámetro. Tales cargas son ajustadas iterativamente durante el proceso de resolver las ecuaciones correspondientes hasta que la solución SCF se alcanza.

De ahí que esta opción sea llamada interacción de cargas. (*Enrique Moreno Guerrero. 1997*)

9.2 MÉTODOS DE MECÁNICA MOLECULAR

LOS MÉTODOS DE MECÁNICA MOLECULAR (MM) no están basados en la mecánica cuántica ya que no tienen relación con el Hamiltoniano electrónico ni con la función de onda y tampoco con la densidad electrónica, sino más bien en las leyes de la mecánica clásica, y usan como modelo una molécula compuesta por átomos (considerados partículas puntuales dotadas de masa y carga) unidos por enlaces que se pueden comparar con resortes. A partir del uso de varios parámetros como las constantes de fuerza de alargamiento del enlace y de la introducción de términos que permiten considerar interacciones entre los átomos no enlazados, el método **construye** una expresión para la energía potencial que es función de las posiciones atómicas $V(x, y, z)$. Por medio de la minimización de esta función, para varios conformeros moleculares, los métodos de MM predicen geometrías en el equilibrio y energías relativas. Estos métodos fueron desarrollados por Westheimer, Hendrickson, Wiberg, Allinger, Warshel y otros, quienes elaboraron sus propias parametrizaciones, y son aplicables a estados electrónicos en su estado basal. La mayoría de las aplicaciones se han diseñado para compuestos orgánicos, así como para compuestos organometálicos y de coordinación. Debido a que los cálculos de MM son mucho más rápidos que los cálculos mecánicos cuánticos, se pueden tratar sistemas de hasta 10000 átomos.

En estos métodos se analizan las contribuciones a la energía potencial de las moléculas debidas a: alargamiento del enlace (V^{alarg}), deformación fuera del plano (V^{oop}), rotación interna alrededor de un enlace, también llamado torsión (V^{tor}), interacciones entre estas clases de movimiento (que producen el término cruzado (V^{cruz}), atracciones y repulsiones de Van der Waals entre los átomos no enlazados (V^{vdW}) e interacciones electrostáticas entre los átomos (V^{elec}). (*Gabriel Cuevas; Fernando Cortés 2003*)

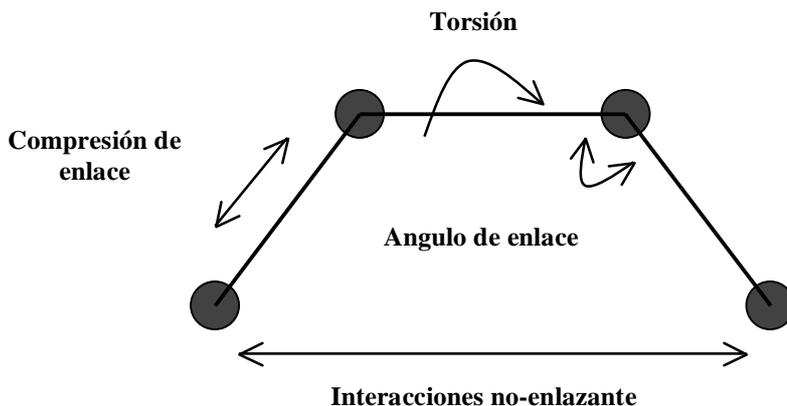


Fig7. Principales fuerzas en mecánica molecular

$$V = V^{alarg} + V^{def} + V^{oop} + V^{tor} + V^{cruz} + V^{vwd} + V^{elec} \dots(\mathbf{ec1})$$

Las moléculas son tratadas como un conjunto de átomos en el espacio, unidas entre sí mediante enlaces y gobernadas por un conjunto de funciones de potencial mecanoclásicas. Como consecuencia, la energía total de una molécula se obtiene como la suma de una serie de contribuciones o términos perfectamente definidos que dependen de las coordenadas espaciales de los núcleos. (*Juan Andrés; Juan Beltrán 2000*)

Los términos que componen la función energía pueden ser agrupados en:

- Términos de valencia: asociados a movimientos de tensión, flexión, torsión y flexión fuera del plano. Son términos que dependen directamente de los enlaces químicos.
- Términos de no valencia: son los términos que reflejan las interacciones a larga distancia entre átomos no enlazados. Engloban las interacciones de Van de Waals y las interacciones electrostáticas.
- Términos cruzados: estos términos aparecen al considerar que los enlaces, ángulos de enlace y diedros en una molécula no están aislados sino que pueden estar influenciados por los átomos y grupos químicos vecinos. vienen representados por funciones que dependen de dos o más coordenadas de movimiento (p.e. término tensión-flexión, término tensión-torsión, etc.). (*Juan Andrés; Juan Beltrán 2000*)

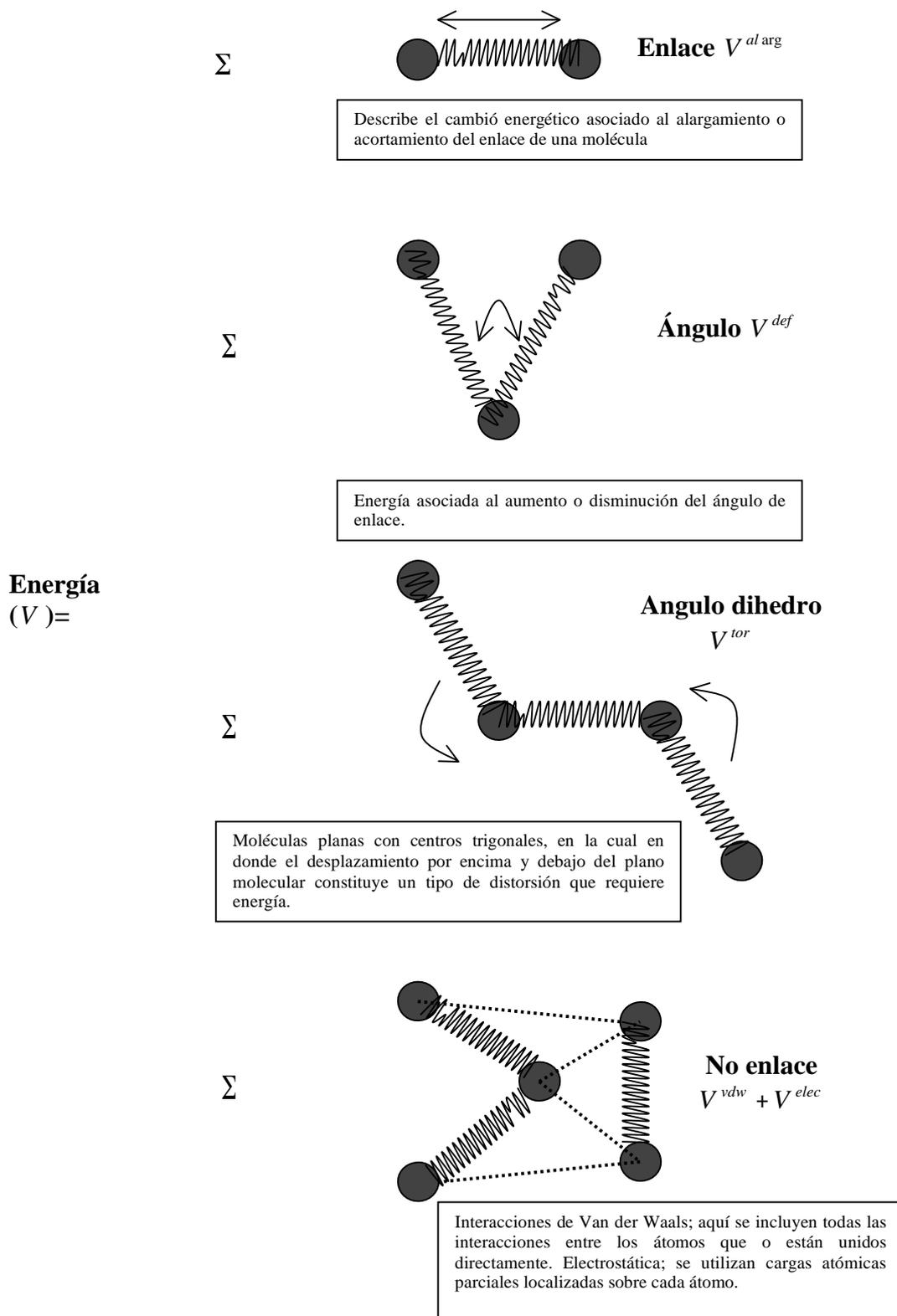


Fig8. Contribuciones a la energía potencial molecular (*Gabriel Cuevas; Fernando Cortés 2003*) / (*Juan Andrés; Juan Beltrán 2000*)

La suma de estas contribuciones produce la energía, V , para una conectividad y conformación molecular determinada.

Algunas personas usan el término energía estérica o de tensión para designar a V , pero otros autores prefieren el de energía de tensión para denotar otra cantidad. Las expresiones explícitas empleadas para cada término en la ecuación 1 definen lo que se llama campo de fuerzas en mecánica molecular y las derivadas de energía potencial determinan las fuerzas que actúan en cada átomo. Un campo de fuerzas contiene fórmulas analíticas para los términos en la ecuación 1, así como los valores para todos los parámetros que aparecen en estas fórmulas

Cada campo de fuerzas en mecánica molecular asigna un número (código) a cada átomo en la molécula según el tipo al que pertenece y en función de su número atómico, carga y ambiente molecular. Cada tipo corresponde a diferentes características y comportamientos. (*Gabriel Cuevas; Fernando Cortés 2003*)

9.3 ANÁLISIS DE LOS TERMINOS DE LA ECUACIÓN DE ENERGÍA POTENCIAL V

- **Alargamiento:** La energía potencial de alargamiento del enlace $V^{al\ arg}$ es tomada como la suma de las energías potenciales $V_{ij}^{al\ arg}$ para el alargamiento de cada enlace en la molécula $V^{al\ arg} = \sum_{i,j} V_{ij}^{al\ arg}$, donde la suma es sobre todos los pares de átomos directamente enlazados (relación 1,2). La elección mas simple para modelar el término $V_{ij}^{al\ arg}$ es el uso de la aproximación del oscilador armónico en donde $V_{ij}^{al\ arg}$ es una función cuadrática del desplazamiento (o alargamiento de enlace) l_{ij} de la longitud de referencia o natural l_{IJ}^0 esto es:

$$V_{ij}^{al\ arg} = \frac{1}{2} K_{IJ} (l_{ij} - l_{IJ}^0)^2$$

La constante de fuerza K_{IJ} y la longitud de referencia l_{IJ}^0 dependen del tipo de los átomos enlazados.

- **Deformación:** La energía potencial V^{def} es debida a la deformación del ángulo de enlace entre tres átomos (relación 1-3), que es considerada como la suma de las energías potenciales V_{ijk}^{def} para la deformación de cada ángulo

de enlace de la molécula $V_{ijk}^{def} = \sum_{ijk}^{1-3} V_{ijk}^{def}$, donde la suma corre sobre todos los ángulos de enlace que tiene la molécula. En este caso se calcula la energía asociada a la vibración de apertura o cierre alrededor del ángulo de enlace en el equilibrio. La elección más simple para calcular V_{ijk}^{def} es como una función cuadrática:

$$V_{ijk}^{def} = \frac{1}{2} K_{IJK} (\theta_{ijk} - \theta_{IJK}^0)^2$$

donde θ_{IJK}^0 es el valor de referencia para el ángulo de tipo IJK, es decir, el valor del ángulo en el punto de mínima energía. La constante K_{IJK} controla la flexibilidad del ángulo de forman tres átomos directamente unidos. Estos datos también son característicos del tipo de átomos involucrados.

- **Torsión:** El término V^{tor} es tomado de la suma de los términos V_{tor}^{jkl} sobre todos los pares de átomos con relación 1-4. $V = \sum_{ijkl}^{1,4} V_{ijkl}^{tor}$. La energía V_{tor}^{jkl} se relaciona con la rotación alrededor del enlace i-j en una secuencia de cuatro átomos i-j-k-l. La expresión usada con más frecuencia para V_{ijkl}^{tor} es la serie de Fourier truncada:

$$V^{tor} = \frac{1}{2} \sum_{n=1} V_n \left[1 + \cos(n\Phi - \Phi^0) \right]$$

- **Términos cruzados:** Los términos cruzados V^{cruz} en la expresión de V representan acoplamientos entre los términos de alargamiento, deformación y movimiento de torsión. Para permitir estas interacciones se adiciona un termino cruzado de alargamiento-deformación con la forma $1/2k_{12}(\Delta l_1 + \Delta l_2)\Delta\theta$, donde $\Delta l_1, \Delta l_2, \Delta\theta$ son las desviaciones de los enlaces y los ángulos de los valores de referencia.

Los términos cruzados más usados son los de alargamiento-deformación y alargamiento-alargamiento para dos enlaces del mismo átomo, así como alargamiento-torsión, deformación-torsión y deformación-deformación para dos ángulos con el mismo tipo de átomo central.

- **Interacción electrostática:** El termino electrostática V^{elec} se toma como la suma de las interacciones electrostáticas que involucran todos los pares de

átomos excepto los pares con relación 1-2 y 1-3: V_{ij}^{elec} se calcula usando la expresión de la energía de interacción electrostática (Coulómbica),

$$V_{elec} = \frac{Q_i Q_j}{E_r R_{ij}}$$

E_r es la constante dieléctrica del medio

R_{ij} la distancia entre los átomos

(Gabriel Cuevas; Fernando Cortés 2003)

- **Interacciones de Van der Waals**

El termino de Van der Waals usualmente se tomo como la suma de las interacciones que involucran todos los pares de átomos posibles con relación 1-4; 1-5;1-6;..... y se calcula como $V^{vdw} = \sum_{i,j)1-4} V^{vdw}$.

Las interacciones de Van der Waals y electrostáticas entre átomos con una relación 1-2 y 1-3 se consideran incluidas en forma implícita en los parámetros de alargamiento y deformación. Cada término V^{vdw} como el potencial de Lennard-Jones que tiene la fórmula:

$$V^{vdw} = E_{IJ} \left[\left(\frac{R_{IJ}^*}{R_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{R_{IJ}^*}{R_{ij}} \right)^6 \right]$$

donde R_{ij} es la distancia entre los átomos i y j, el parámetro E_{IJ} es el valor de la energía V^{vdw} y el parámetro R_{IJ}^* da el valor de la distancia R_{ij} en el mínimo de la energía potencial $V^{vdw} (E_{IJ})$.

Las interacciones electrostáticas y de Van der Waals son llamadas interacciones de no enlace y consumen la mayor parte del tiempo de cómputo ocupado en el calculo de V de una molécula grande. *(Gabriel Cuevas; Fernando Cortés 2003)*

Debido a que las frecuencias moleculares dependen de la segunda derivada de la energía respecto a las coordenadas nucleares, es necesario calcularla, lo que es posible con numerosas metodologías y niveles de teoría, como la de Hartree-Fock (HF), Møller-

Plesser de segundo orden (MP2), CASSCF, etc., y en el marco de la teoría de funcionales de la densidad a nivel BP8,PW91,**B3LYP**,entre otros, que la calcula de forma analítica, aunque existen aproximaciones que lo hacen de forma numérica.

También se debe considerar que el cálculo de las frecuencias moleculares tiene sentido cuando se calculan geometrías que corresponden a puntos estacionarios de la superficie de potencial y, además, debe realizarse con el mismo nivel de teoría y la misma base de calculo con que se optimizo la geometría molecular.

(Gabriel Cuevas; Fernando Cortés 2003)

9.4. MÉTODO DE HARTREE-FOCK PARA EL CÁLCULO DE PROPIEDADES DE ESTRUCTURAS ELECTRÓNICAS

La teoría de estructura electrónica abordada a través de métodos *ab initio* se enfoca a la predicción de las propiedades de los sistemas atómicos y moleculares. Esta basada en las leyes de la mecánica cuántica.

POSTULADOS DE LA MECÁNICA CUÁNTICA

Postulado 1

- a) El estado de un sistema dinámico de N partículas esta descrito por una función $\Psi (q_1, q_2, \dots, q_{3N}, t)$.
- b) La cantidad de $\Psi^* \Psi (q_1, q_2, \dots, q_{3N}, t)$ es proporcional a la probabilidad de encontrar a la partícula 1, entre q_1 y $q_1 + dq_1$; a la partícula 2, entre q_2 y $q_2 + dq_2, \dots$, y a la partícula N entre q_{3N} y $q_{3N} + dq_{3N}$ para un tiempo especifico t.

Postulado 2

Para toda propiedad *observable* (cualquier variable dinámica que puede ser medida) de un sistema, existe su correspondiente operador (operación matemática que transforma una función en otra) lineal hermitiano y las propiedades físicas del sistema puede ser inferidas a partir de las propiedades matemáticas asociadas a su operador.

Postulado 3

Sea A un operador correspondiente a un observable. Entonces: $A\psi_s = a_s\psi_s$, donde a_s , es un número. Si un experimentador efectúa una serie de mediciones de la observable relacionada con el operador A, el resultado será siempre un valor propio

de A. Solamente cuando la función de onda que describe al sistema coincide con la función propia de A, un experimento dará el mismo resultado en cada medición y éste coincidirá con el valor propio asociado a la función propia.

Postulado 4

Si el sistema está descrito por una función que *no es función propia* del operador A, una serie de mediciones de la observable relacionada con el operador A no dará el mismo resultado. En lugar de eso se obtendrá una distribución de resultado donde el promedio estará dado por la expresión:

$$A = \frac{\langle \psi_s | A | \psi_s \rangle}{\langle \psi_s | \psi_s \rangle}$$

Postulado 5

La evolución del estado $\Psi(q, t)$ en el tiempo esta dada por la ecuación

$$i\hbar \frac{\partial \psi}{\partial t} = H\psi$$

donde H es el operador de Hamilton o Hamiltoniano para el sistema.

(Gabriel Cuevas; Fernando Cortés 2003)

MÉTODO DE HARTREE-FOCK

Las ecuaciones Hartree-Fock (HF) se obtienen al sustituir un determinante de Slater en la ecuación de Schrödinger; seguida por algunas transformaciones algebraicas. Estas ecuaciones pueden ser vistas como una alternativa a la de Schrödinger donde el Hamiltoniano exacto es sustituido por el operador de Fock: $F\Psi = E\Psi$. La diferencia entre operador Fock y el Hamiltoniano exacto es que, en lugar de considerar que los electrones interaccionan uno a uno mediante un potencial Coulómbico como lo hace el Hamiltoniano, éstos mantienen una interacción promedio con todos los electrones del sistema. Lo anterior se logra al sustituir el operador Coulómbico por uno que describe el promedio de la interacción, de tal manera que las ecuaciones HF parecen ser un conjunto de ecuaciones independientes para cada electrón. El Hamiltoniano y la función de onda verdaderos involucran las coordenadas de todos los electrones, mientras que el operador Hartree-Fock, operador de un electrón involucra las coordenadas de un sólo electrón.

La función de onda de Hartree-Fock está descrita como un producto antisimétrico (como un determinante de Slater) de espín-orbitales ϕ_i que minimizan la energía del sistema según la ecuación:

$$F(1)\phi_i(1) = \varepsilon_i\phi_i(1)$$

donde ε_i es la energía del orbital y F es el operador Fock, que se define como:

$$F(1) = h(1) + \sum_{j=1}^{N/2} [2J_j(1) - K_j(1)]$$

(Gabriel Cuevas; Fernando Cortés 2003)

10 . QUIMIOTERAPIA DEL CÁNCER

La incidencia, distribución geográfica y comportamiento de los tipos específicos del cáncer se relacionan con múltiples factores que incluyen sexo, edad, raza, predisposición genética y exposición a carcinógenos ambientales. De estos factores, probablemente el último es el más importante. Los carcinógenos químicos (en particular aquéllos presentes en el humo del tabaco) así como los colorantes azo, aflatoxinas y benceno están implicados con claridad en la inducción de cánceres en humanos y animales.

También se han implicado ciertos tipos de herpes y papilomas del grupo de virus de DNA y de tipo RNA C como agentes causantes de cánceres en animales y podrían originar de igual modos algunos canceres en seres humanos.

11. DESARROLLO DE FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS

Por tres decenios se ha hecho un gran esfuerzo por desarrollar medicamentos antineoplásicos a través del diseño tanto de pruebas de selección empíricas como racionales de los nuevos compuestos de la actualidad. Los avances recientes en este campo han incluido la síntesis de péptidos y proteínas con la técnica de DNA recombinante y anticuerpos monoclonales. El programa para el desarrollo de fármacos a empleado el análisis de unos cuantos sistemas tumorales animales trasplantables bien reconocidos. El análisis *in Vitro* para determinar sensibilidad medicamentosa de una

bacteria de células tumorales humanas, puede aumentar o disminuir el programa de análisis. (*Bertram G. Katzung, 2002*)

11.1. AGENTES DE ALQUILACIÓN

Historia. La mostaza sulfurada fue sintetizada en 1854, pero no fue hasta 1887 cuando se describieron por fin sus propiedades vesicantes. Durante la Primera Guerra Mundial, la atención médica se orientó en primer término a la acción vesicante de dicho compuesto en la piel, ojos y vías respiratorias, aunque más tarde se advirtió que después del contacto con él surgían signos tóxicos graves a nivel sistémico. En 1919, Krumbhaar y Krumbhaar hicieron la observación pertinente de que la intoxicación causada por la mostaza sulfurada se caracterizaba por leucopenia, y en casos en que hubo necesidad de necropsia, por aplasia de médula ósea, disolución del tejido linfoide y úlceras de vías gastrointestinales.

En el lapso que medió entre la Primera y Segunda Guerras Mundiales se emprendieron estudios amplios sobre las acciones biológicas y químicas de las *mostazas nitrogenadas*. Su notable acción citotóxica en el tejido linfoide motivó a Gilman, Goodman y T.F. Dougherty a estudiar el efecto de tales compuestos en el linfoma de trasplantes en ratones, y en 1942 emprendieron estudios en seres humanos. Así nació la era de la quimioterapia antineoplásica actual.

***Vesicantes:** Sustancias que pueden ser sólidas, líquidas o gaseosas que en contacto con la piel producen irritación y ampollas.

En sus fases iniciales, las investigaciones mencionadas se hicieron bajo las restricciones de secreto máximo impuestas al empleo de agentes clasificados como sustancias bélicas. Sin embargo, al terminar la Segunda Guerra Mundial se cambiaron las clasificaciones de dichos compuestos.

Se han preparado miles de variedades de la estructura química básica de las mostazas nitrogenadas, pero solo unos cuantos agentes han sido más útiles que el compuesto original en circunstancias clínicas específicas. En la actualidad, en la quimioterapia de las neoplasias se utilizan cinco tipos principales de agentes de alquilación: 1) las mostazas nitrogenadas; 2) las etileniminas; 3) los alquilsulfonatos; 4) las nitrosoureas y 5) los triazenos.

Propiedades químicas. Los agentes de alquilación de uso en quimioterapia tienen en común la propiedad de tornarse electrófilos potentes, por la formación de intermediarios del ion carbonio o de complejos transicionales con las moléculas “blanco” en las que actúan. Tales reacciones motivan la formación de enlaces covalentes, por alquilación de diversas fracciones nucleófilas, como los grupos fosfato, amino, sulfhidrilo, hidroxilo, carbonilo e imidazol. Los efectos quimioterapéuticos y citotóxicos guardan relación directa con la alquilación del ácido desoxirribonucleico. El átomo del nitrógeno 7 de la guanina es particularmente susceptible a la formación de enlaces covalentes con los agentes de alquilación bifuncionales y pueden presentar adecuadamente el punto clave o “blanco” que gobierne los efectos biológicos. Sin embargo, hay que advertir que pueden ser alquilados en menor grado otros átomos en las bases de purina y pirimidina de DNA, como serían los nitrógenos 1 y 3 de adenina, el nitrógeno 3 de citosina y el oxígeno 6 de guanina, como lo estarán los átomos de fosfato de las cadenas de DNA y los grupos amino y sulfhidrilo de proteínas. (***Goodman & Gilman, 2003***) Son macromoléculas intracelulares. Estos agentes se clasifican como monofuncionales (un grupo reactivo) o bifuncionales (dos grupos reactivos). Los agentes alquilantes bifuncionales pueden formar enlaces cruzados entre moléculas biológicas y son el tipo más útil en la clínica.

Los agentes alquilantes fueron los primeros empleados para tratar tumores malignos y ahora se usan en muchos regímenes quimioterapéuticos combinados. Los agentes alquilantes poseen muchos efectos comunes. La toxicidad limitante de la dosis es mielosupresión (reducción de la producción de leucocitos y plaquetas). La neutropenia (cuenta de neutrófilos menor de $2000/\mu\text{L}$) aparece alrededor de 10 días después de iniciar la administración del fármaco y el recuento sanguíneo más bajo, se observan a los 15 días aproximadamente. La recuperación a los niveles basales en general ocurre entre 21 a 28 días; esto puede retardarse con melfalan y las nitrosoureas. (***Harold Kalant, 2002***)

CLASE	TIPO DE AGENTES	NOMBRES GENERICOS Y OTROS	ENFERMEDAD
Agentes de alquilación	Nitrosoureas	Carmustina (BCNU) Lomustina (CCNU)	Enfermedad de Hodgkin, linfomas no Hodgkin, tumores cerebrales primarios, mieloma múltiple, melanoma maligno.
	Triazenos	Dacarbazina (DTIC; dimetiltriazeno imidazolcarboxamida) Temozolomida	Melanoma maligno, enfermedad de Hodgkin, sarcomas de tejidos blandos. Glioma Melanoma maligno

Tabla 4. Goodman & Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. (Joel G. Hardman. Lee E. Limbird .Vol II. 10ª edición. Mac. Graw-Hill. Mexico. 2003.)

11.2. DACARBAZINA (DTIC)

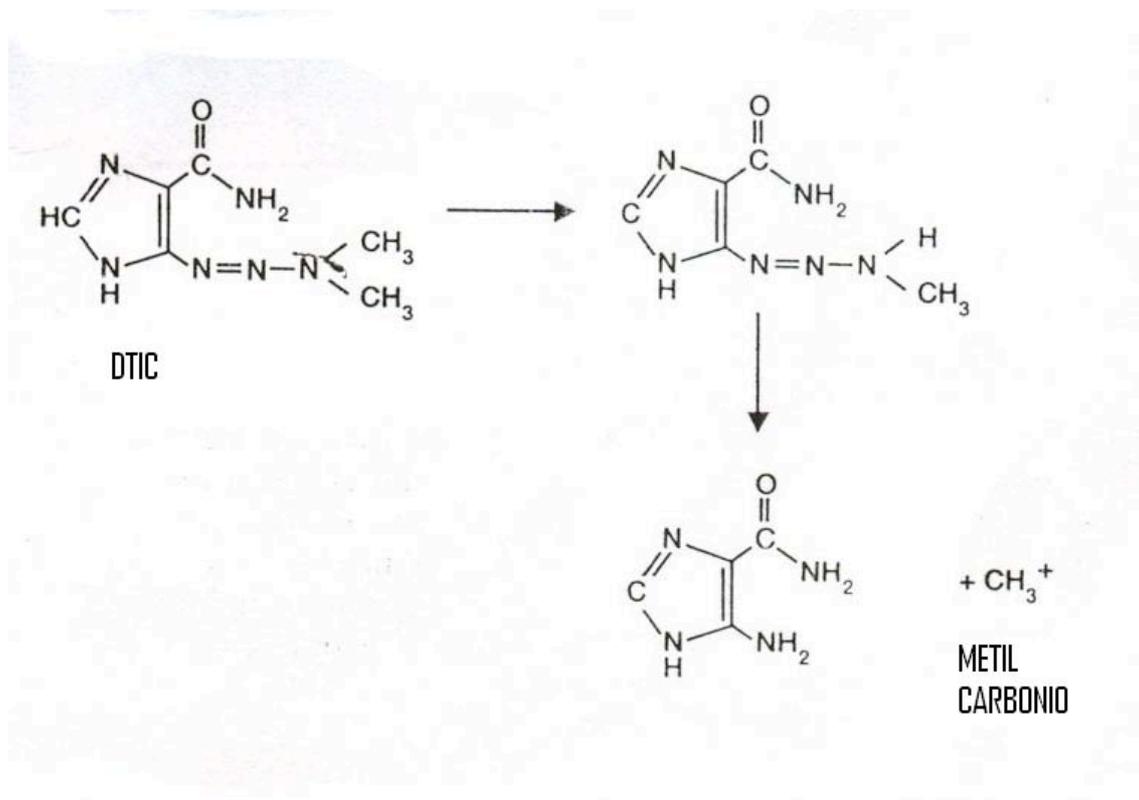
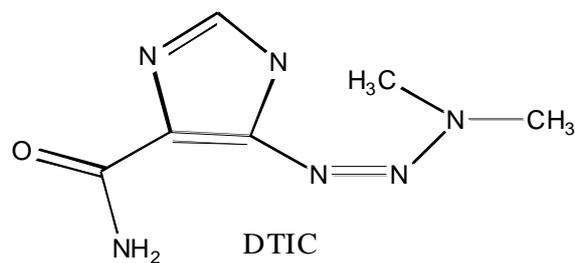


Fig.9. Estructura de Dacarbazina y su mecanismo de acción

Aunque considerado inicialmente como antimetabolito, el derivado triazénico 5-(3,3-dimetilo-1-triazeno)-imidazol-4-carboxamida, de un nombre común *dacarbazina* o DTIC. (*Goodman & Gilman, 2003*). Se sintetizó originalmente como un antimetabolito para inhibir la biosíntesis de purina. Se cree que actúa a través de la formación de un metabolito con propiedades alquilantes. El fármaco se emplea principalmente para tratamiento de sarcomas, enfermedad de Hodgkin y melanomas. Causa náuseas y vomito en una elevada proporción de pacientes, y la toxicidad que limita la dosis es la mielosupresión. (*Harold Kalant, 2002*)

Este compuesto sintético necesita de la activación inicial por parte del hígado, en una reacción de N-desmetilación, tal reacción se lleva a cabo mediante enzimas microsomales hepáticas, al derivado monometilo que se descompone de manera espontánea en 5-aminoimidazol-4-carboxamida, que se excreta en la orina, y diazometano. Este último genera un ion metilo carbonio que se cree es la especie probablemente citotóxica. La dacarbazina se administra por vía parenteral y no después de algún esquema. (*Bertram G. Katzung, 2002*). La absorción oral es errática e incompleta y el porque de que DTIC sea administrada intravenosamente. Después de la administración intravenosa, desaparece rápidamente del plasma probablemente como resultado del metabolismo hepático. El clearance* es bifásico con vida media inicial y final de 20min y 5 horas respectivamente. En pacientes con disfunción renal y hepáticas se prolonga el clearance (vida media terminal de 7.2 horas). El fármaco es pobremente distribuido al líquido cefalorraquídeo. A las 6 ½ horas de la excreción del fármaco esta intacto y el remanente es un metabolito N-demetilado, 5-amino-4-imidazol carboxamida (AIC). En dosis recomendada, solo alrededor del 5% del fármaco se une a proteínas. La secreción tubular renal parece ser responsable de la mayoría de la eliminación urinaria del fármaco y su metabolito. Alrededor del 50% de la dosis se excreta en la orina.

Este fármaco destruye células en todas las fases de su ciclo. Se ha atribuido la farmacorresistencia a la reparación de las bases guaninicas metiladas en el DNA, por activación de la transferasa O6-alkilo de guanina. (*Goodman & Gilman, 2003*)

*Clearance o depuración: Es la depuración o eliminación de un fármaco por unidad de tiempo, generalmente constante dentro de las concentraciones terapéuticas.

Compuesto sintetizado originalmente en 1984. Temozolomida es clasificado como una imidazotetrazinona. Estudios de estabilidad química han mostrado que Temozolomida se hidroliza espontáneamente a **MTIC** a un pH de 7.0. Por lo tanto, siguiente a la absorción intestinal el carbonil electropositivo C4 del anillo de la tetrazinona de temozolomida, es susceptible a un ataque nucleofílico por el agua, formándose así **MTIC** el cual luego rápidamente se degrada a un derivado ácido carboxílico inactivo 5-aminoimidazol-4-carboxamida (**AIC**), y un altamente reactivo ion metildiazonio. Este catión es el agente metilante activo y es vulnerable a ataques nucleofílicos instantáneos por donadores de electrones dentro de los nucleótidos de **DNA** causando la transferencia del grupo metil del ion para formar un aducto de DNA metilado. (*Malcolm J.M y col., 2002*)

En niños y adultos con cáncer avanzado, Temozolomida en forma oral (50 a 20 mg/m²) muestra una farmacocinética predecible. La absorción gastrointestinal de Temozolomida es completa (biodisponibilidad \approx 100%) y rápida [tiempo en que tarda en alcanzar concentraciones altas en plasma (t_{\max}) \approx 1hr]. Se absorbe rápidamente por vía oral, alcanzándose la C_{\max} a las 0.5-1.5 horas de su administración, transformándose al poco tiempo en su metabolito activo. Presenta una baja unión a proteínas plasmáticas (10-20%) atravesando con rapidez la barrera hematoencefálica. Su principal vía de eliminación es la renal, siendo su semivida de 1.8 horas. Su biodisponibilidad en LCR es aprox. el 30% de la plasmática (*Cuesta Terán, Martínez de la Gándara.,2000*).

Sin embargo, la administración de Temozolomida (200mg/ m² /día por cinco días) con comida retrasa los valores t_{\max} en un 110% y suprime ambos, la concentración máxima en plasma C_{\max} y el área bajo la curva tiempo-concentración en plasma (AUC) por 32 y 9% respectivamente. C_{\max} y AUC incrementan linealmente con la dosis. Temozolomida tiene un rango calculado del volumen de distribución (Vd) 28.3 a 47.2L. La concentración de Temozolomida en plasma disminuye con una eliminación principal vida-media de \approx 1.8 horas (rango 1.7 a 1.9 horas). Seguido de la absorción, Temozolomida es inmediatamente sujeto de un proceso de eliminación que involucra excreción vía riñones. El principal proceso de eliminación es vía hidrólisis pH-

dependiente a MTIC luego la degradación a 5-amino-imidazol-4-carboxamida, un y altamente reactivo ión metildiazonio. La biotransformación hepática de Temozolomida a Temozolomida ácida tiene un rol de eliminación menor.

Análogo de Dacarbazina, Temozolomida es un profármaco alquilante monofuncional, contrario a la Dacarbazina no requiere del metabolito hepático además de poder cruzar la barrera hematoencefálica.

Contrario a la Dacarbazina, Temozolomida no requiere metabolismo hepático para las especies intermediarias (MTIC), espontáneamente se hidroliza a (MTIC) a un pH de 7.0. MTIC se degrada a un cation altamente reactivo que metila guaninas en el DNA en la posición O^6 . Temozolomida ha mostrado actividad citotóxica y antiproliferativa en líneas celulares y tumores aislados de pacientes.

La potenciación de la actividad de temozolomida con los inhibidores de la reparación del DNA será en un futuro un área experimental y clínica a explorar en el futuro. Tiene actividad importante contra gliomas y melanoma en seres humanos. Tiene el mismo perfil de toxicidad que la **DTIC**, y actividad contra gliomas y melanomas malignos. (*Goodman & Gilman, 2003*)

11.4. NITROSOUREAS

Estos fármacos parecen no reaccionar de manera cruzada (con respecto a la resistencia tumoral) con otros alquilantes; todos parecen requerir de una biotransformación para lograr su acción antitumoral, la cual se presenta por descomposición no enzimática para liberar derivados con acciones tanto alquilantes como *carbamoilantes. Las nitrosoureas son bastante liposolubles y atraviesan la barrera hematoencefálica, lo que las hace útiles en el tratamiento de tumores cerebrales. Se cree que la función de las nitrosoureas se lleva acabo por el entrecruzamiento a través de la alquilación del DNA. Los medicamentos pueden ser más efectivos contra las células en fase de meseta en desarrollo exponencial, aunque dentro de una población celular cíclica los fármacos parecen retardar la progresión a través de la fase sintética de DNA. (*Bertram G. Katzung, 2002*)

Los fármacos de este grupo, que incluyen BCNU (*carmustina*) N,N'-bis (2-cloroetil)-N-nitrosourea y CCNU (*lomustina*) N'-ciclohexil-N-(2-cloroetil)-N-nitrosourea, son

agentes alquilantes que no tienen mostaza en su molécula. Una diferencia principal entre estos fármacos y otros agentes alquilantes es su carácter lipofílico, que permite a una fracción significativa estos fármacos atravesar la barrera hematoencefálica y actuar contra tumores en el SNC. Aunque casi todos los agentes alquilantes causan concentraciones mínimas de leucocitos (nadir) alrededor de 10 días después de su administración, y recuperación en los días 21 a 28, las nitrosoureas ocasionan dos nadires, uno próximo al día 10 y un segundo alrededor del día 28, con recuperación cerca del día 42. Por tanto, estos agentes se administran con intervalos de seis a ocho semanas en vez de tres a cuatro semanas como otros agentes alquilantes. Con el empleo crónico puede ocurrir toxicidad pulmonar (neumonitis intersticial). En la actualidad las nitrosoureas tienen una función muy limitada en el tratamiento de cáncer. (*Harold Kalant, 2002*)

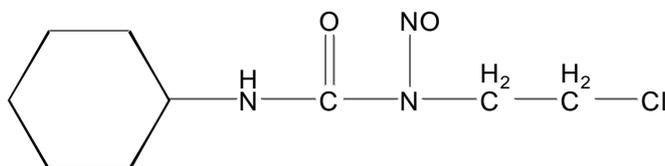


Fig11. CCNU

Luego de la administración oral de CCNU o metil-CCNU, las concentraciones máximas plasmáticas de metabolitos aparecen en 1 a 4 horas y las concentraciones en el SNC llegan de 30 a 40% de las del plasma.

***Carbamoilante:** Reacciones con compuestos carbonilo participan otros grupos funcionales y aminoácidos como Lisina o Arginina.

Aunque la vida media plasmática inicial se encuentra en el intervalo de seis horas, una segunda vida media está en el intervalo de 1 a 2 días. La excreción urinaria parece ser la principal vía de eliminación del fármaco. Es de interés una nitrosourea de origen natural que contiene azúcar, la estreptozocina, debido a que tiene una mínima toxicidad sobre la médula ósea y, con frecuencia, es eficaz en el tratamiento del carcinoma de las células de islote secretora de insulina del páncreas y en ocasiones en los linfomas de Hodgkin. (*Bertram G. Katzung, 2002*)

Las nitrosoureas, que incluyen compuestos tales como 1,3-bis-(2-cloroetil)-1-nitrosourea (carmustina, BCNU), 1-(2-cloroetil)-3-ciclohexil-1-nitrosourea (Lomustina,

CCNU) y su derivado metilo (semustina, metilo-CCNU), ejercen su toxicidad por la separación espontánea de las **fracciones alquilantes carbamoilantes**.

Las nitrosoureas antineoplásicas tienen en común la capacidad de experimentar degradación espontánea no enzimática, con la formación del ion 2-cloroetil carbonio (a partir de compuestos CNU); este producto electrófilo potente alquila diversas sustancias y se han identificado aductos (complejos de inclusión) con guanina, histidina y adenina. En esta situación, el desplazamiento del átomo de halógeno puede ocasionar enlaces cruzados entre uno y otro filamento de DNA o dentro de un solo filamento.

Las nitrosoureas tienen importancia en el tratamiento de los tumores cerebrales y las neoplasias de vías gastrointestinales. Al parecer actúan como agentes de alquilación bifuncionales. Las nitrosoureas utilizadas hasta la fecha en seres humanos, causan una *mielosupresión profunda y acumulativa que reduce su utilidad terapéutica. Además, la administración prolongada de las nitrosoureas ha ocasionado insuficiencia renal. Como ocurre con otros agentes de alquilación, las nitrosoureas son altamente carcinógenas y mutágenas. (*Goodman & Gilman, 2003*)

*Mielosupresión: Afección en la cual disminuye la actividad de la médula ósea; esto da lugar a que haya menos glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas.

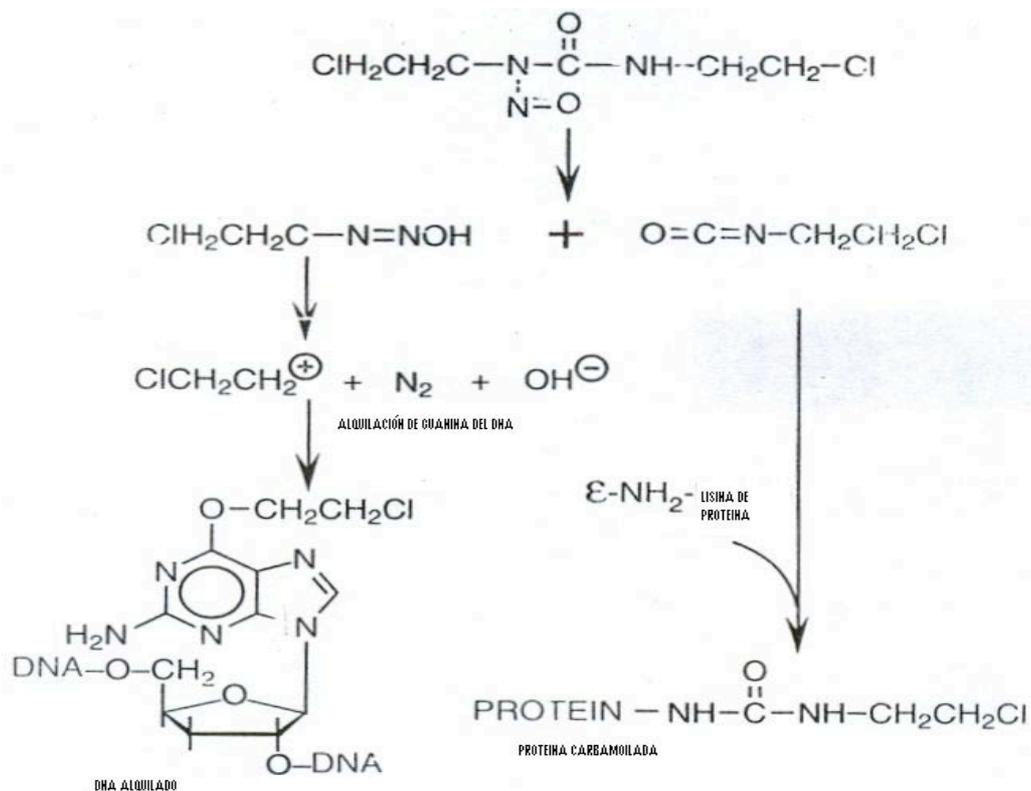


Fig12. Mecanismo de acción de nitrosoureas.

11.5. ANÁLOGOS

Tanto las nitrosoureas como los triazenos son agentes quimioterapéuticos alquilantes usados en el tratamiento de cánceres humanos, principalmente gliomas, linfomas, algunos tumores sólidos y melanomas. Desafortunadamente, la eficacia clínica de estos agentes es limitada por que causan una toxicidad retardada hematológica acumulada. Una toxicidad reducida e incremento en las actividades antineoplásicas fue llevado a cabo cuando grupos nitroexil (aminoxyl), tales como 2, 2, 6,6-tetrametilpiperidina-N-Oxyl (**TMPO**) fue introducido dentro de la estructura química de cierto fármaco anticancerígeno. Este descubrimiento alentó a los investigadores a sintetizar un número de análogos **spin labeled** de los fármacos anticancerígenos CCNU y DTIC. Estos compuestos muestran ventajas sobre CCNU y DTIC, teniendo baja toxicidad y alta actividad anticancerígena contra modelos de tumores experimentales. (*Vesselina Gadjeva y col., 2003*)

11.6. ANÁLOGOS DE DTIC

Una seria desventaja de DTIC como un agente quimioterapéutico no es solo su alta toxicidad, efectos adversos, si no también su fotosensibilidad que le permite una rápida descomposición. La sustitución del anillo imidazol con un anillo aril u otro anillo heteroaril estabiliza las triazinas en muchos casos no afecta su actividad. En el caso de la introducción del radical libre nitroxil en la estructura de las triazinas (DTIC) incrementa la estabilidad de este compuesto. Las triazinas **spin labeled** muestran dos veces una menor toxicidad contra linfocitos humanos que DTIC. Además, las triazinas **spin labeled** parecen ser más tóxicas en las células B16, YAC-1 y a linfocitos humanos que DTIC. (*Antoaneta M y col., 2001*)

Se cree que los radicales nitroxil estables (**spin labels**) pueden actuar como un vehículo de transporte a través de las membranas celulares y en general los radicales aminoxil poseen baja toxicidad. Es también sabido que los radicales nitroxil se acumulan predominantemente dentro de los tumores pigmentados melanoma. Con el propósito de que se tenga un efecto citotóxico mas selectivo se han sintetizado nitrosoureas **spin labeled** y triazenos **spin labeled** (DTIC, SLTA6, SLTA8) como potentes agentes antimelanómicos selectivos, en dicho estudio preliminar se observó una mayor toxicidad para células melanómicas B16 que para YAC-1 y para linfocitos normales fue demostrado para las triazinas **spin labeled** en comparación con DTIC.

Se dedujo que triazinas spin labeled son agentes citotóxicos selectivos contra células B16. Al realizarse un estudio comparativo de derivados de triazinas spin labeled (SLTA6 y SLTA8) con DTIC. La actividad citotóxica de las triazinas spin labeled fue evaluada en leucemia linfoide L1210 en ratones.

La distribución de SLTA6 y SLTA8 se encontró en hígado, pulmones, cerebro, sangre en riñones y en tumor (melanoma B16) de ratones C57BL. La máxima concentración de estos compuestos fue encontrada 30 minutos después de la inyección i.p en pulmones y tumor melanoma B16. La triazina spin labeled también se encontró en cerebro, y esto podría ser debido al hecho de que las nitrosoureas spin labeled cruzan la barrera hematoencefálica y podría ser el “fármaco de elección” en la quimioterapia de los tumores en cerebro. Una baja acumulación fue encontrada 30 minutos después de la inyección i.p en el hígado con lo cual caracteriza al compuesto posiblemente con una baja toxicidad aguda. Estas triazinas spin labeled fueron localizadas principalmente en el melanoma B16. Sin embargo una alta concentración de ambos SLTA6 o SLTA8 en melanoma B16 permaneció constante en el tumor durante el transcurso del estudio de tal estudio.

Este resultado puede ser explicado por la acumulación selectiva de la parte acarreadora de la porción nitroxil de las triazinas spin labeled, en el tumor melanoma B16, y puede ser un prerequisite para su citotoxicidad selectiva. No se encontró una diferencia significativa entre la concentración de SLTA6 y SLTA8 en melanoma B16.

En un estudio in Vitro, SLTA8 inhibió la proliferación de células de melanoma B16 más que SLTA6. Los efectos benéficos como una alta actividad antimelanómica y baja toxicidad de las triazinas spin labeled puede ser atribuida a el efecto antioxidante del nitroxido incorporado. La introducción de este antioxidante también permite una acumulación selectiva en el tumor selectivo melanoma B16 y en el cerebro. (*Vesselina G y col., 2002*)

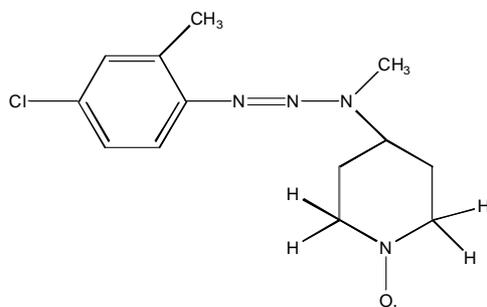


Fig.13. SLTA

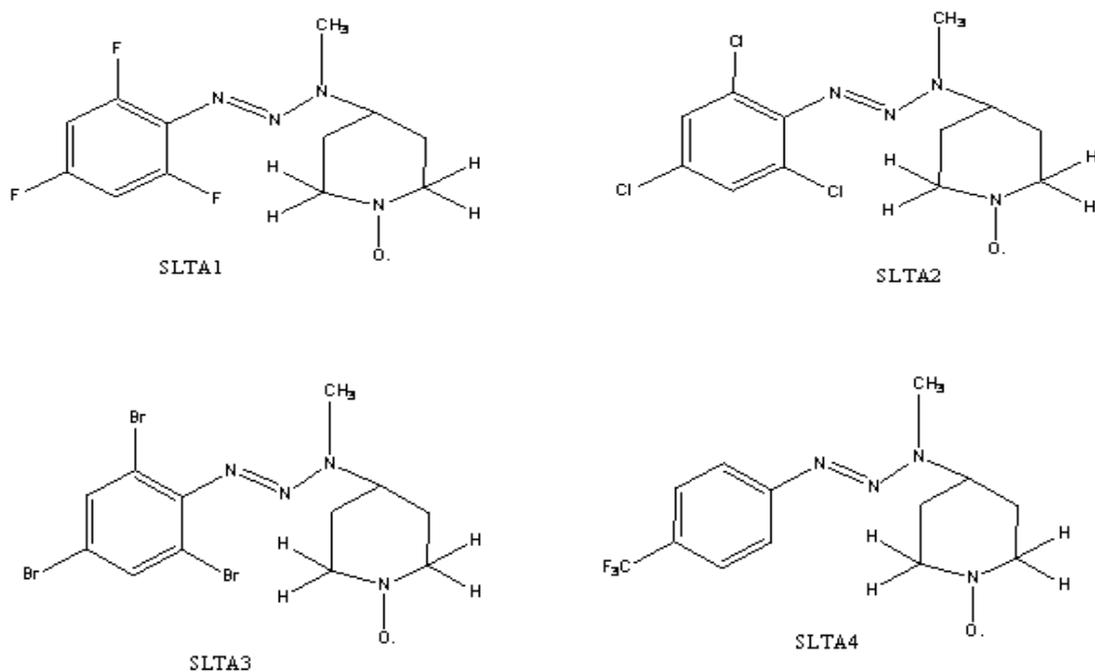


Fig14. Análogos de triazenos

La sustitución del anillo imidazol con un anillo aril u otro anillo heteroaril estabiliza los triazenos y en mucho de los casos, no afecta adversamente sus efectos.

El radical nitroxil estable puede actuar como un vehículo de transporte a través de las membranas celulares y en general radicales aminoxil poseen baja toxicidad.

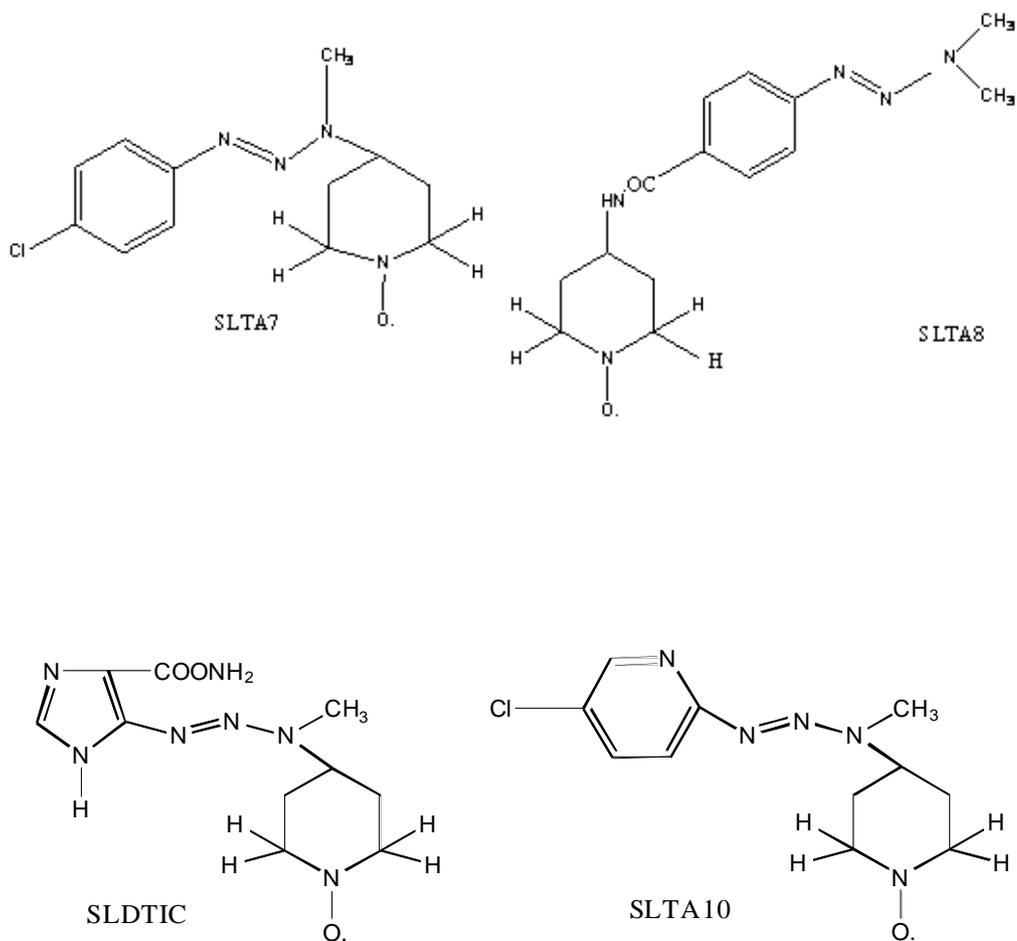


Fig14. Análogos de triazenos

La sustitución del anillo imidazol con un anillo aril u otro anillo heteroaril estabiliza los triazenos y en mucho de los casos, no afecta adversamente sus efectos.

El radical nitroxil estable puede actuar como un vehículo de transporte a través de las membranas celulares y en general radicales aminoxil poseen baja toxicidad.

11.7. ANÁLOGOS DE NITROSOUREAS CCNU

Los análogos de nitrosoureas (CCNU) han sido preparados, y han mostrado ventaja sobre CCNU-teniendo baja toxicidad y alta actividad anticancerígena contra algunos modelos experimentales de tumores. (*Antoaneta M y col., 2001*)

Todas las nitrosoureas spin labeled mostraron un corto tiempo de vida media y una baja actividad carbamoylante que las de CCNU. Sin embargo, su actividad alquilante fue mayor que CCNU. Es obvio que, en su totalidad, ambos la introducción de porciones de aminoácidos y sustitución de la porción ciclohexil con el radical libre nitroxil, permite

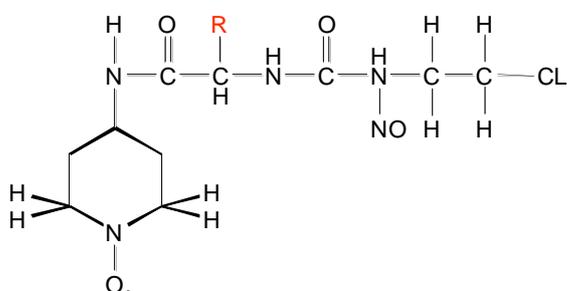
una rápida descomposición de los compuestos y también decrecen sus actividades carbamoilante, por otra parte aumentan sus actividades alquilantes.

El mecanismo general de acción de estos fármacos implica la ciclización intramolecular para formar un ión etilenimonio que puede transferir directamente o mediante la formación de un ión carbonio, un grupo alquilo a un constituyente celular. Además de la alquilación, un mecanismo secundario que se presenta con las nitrosoureas implica la carbamoxilación de los residuos de lisina de proteínas a través de la formación de isocianatos.

Resultados de pruebas in vivo contra melanoma B16 de las nitrosoureas spin labeled aminoácidos y CCNU muestran que el mayor efecto antimelanómico a la nitrosourea spin labeled alanina. Todas las demás nitrosoureas (con excepción de SLCNUmet) también muestran mejor actividad que CCNU. Además las nitrosoureas spin labeled aminoácidos muestran una más baja toxicidad que CCNU.

De esta manera, se considera que la introducción de una porción nitroexil a las estructuras tanto de CCNU y DTIC, puede empezar una nueva tendencia para la preparación de fármacos antimelanómicos potentes más selectivos y menos tóxicos.

(Antoaneta M y col., 2001)



SLCNU

COMPUESTO	R
SLCNUala	CH ₃
SLCNUleu	CH ₂ -CH(CH ₃) ₂

Fig15. Análogos de CCNU

La introducción de una porción de aminoácidos y la sustitución del ciclohexil por un radical libre nitroxil en nitrosoureas permite una descomposición rápida de los compuestos y también decrece su actividad carbamoilante y por otra parte incrementa su actividad alquilante.

12. MATERIALES Y MÉTODOS

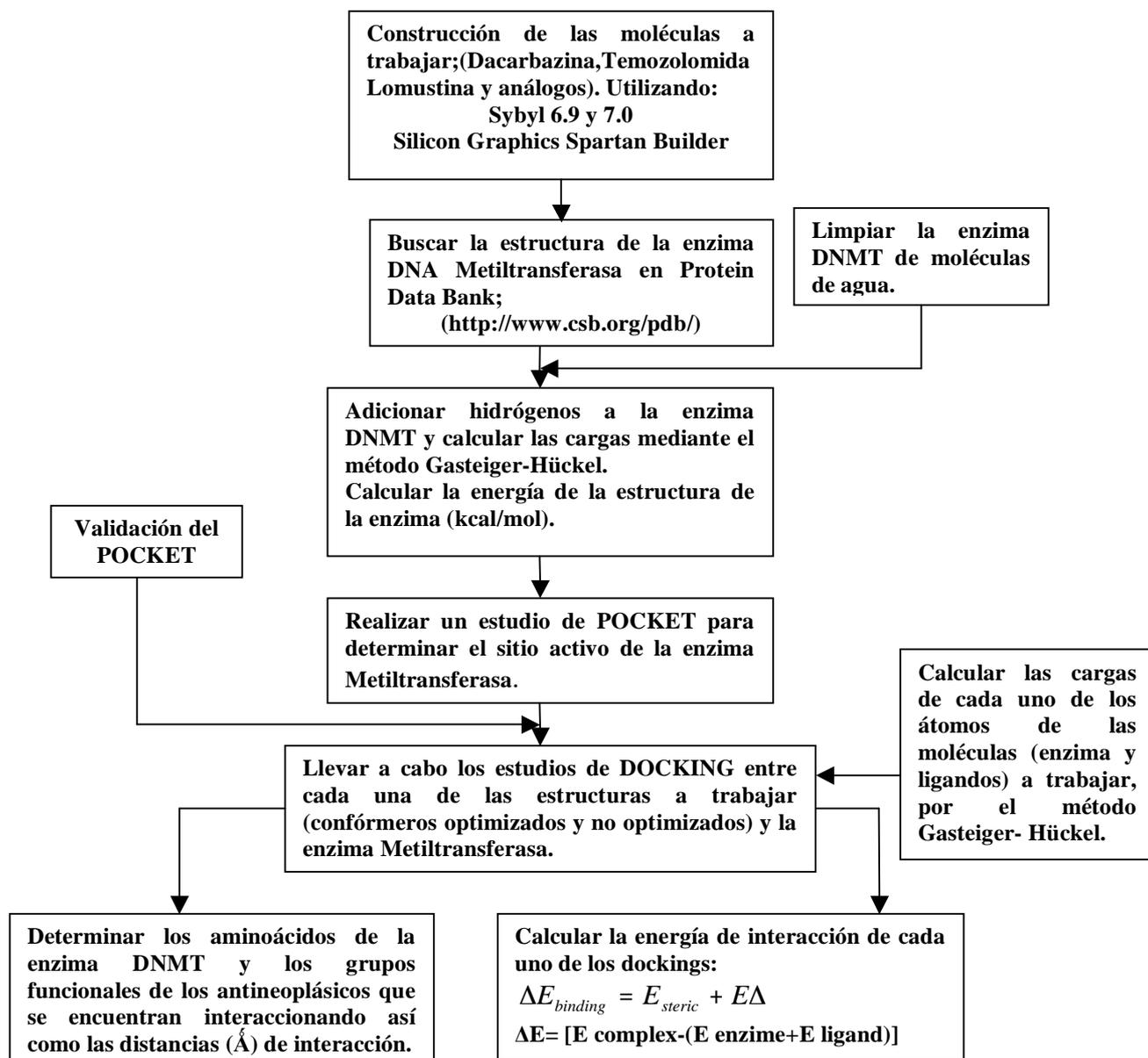
EQUIPO

- **Supercomputadora SGI Silicon Graphics Octane 2**
- **Computadora Silicon Graphics**

MÉTODO

- **Módulo Build de Civil 6.7 y 7.0**
- **Silicon Graphics Spartan Builder**
- **Programa computacional de diseño molecular; Tripos SYBYL**
Molecular Modeling Software. Ver 6.9 y 7.0

13. METODOLOGIA DIAGRAMA DE FLUJO



14. RESULTADOS

MOLECULA	ENERGIA INICIAL Kcal./mol	ENERGIA OPTIMIZADA Kcal./mol	CONFORMERO
DTIC	25.539	25.47	CNF_ 589 E = 25.54kcal/mol
TEMOZOLOMIDA	26.97	26.97	CNF_127 E = 16.563kcal/mol
SLTA1	106.552	4.231	CNF_ 290089 E = 9.26 Kcal./mol
SLTA2	52.875	5.78	CNF_ 17030 E = 9.70 Kcal./mol
SLTA3	50.870	2.449	CNF_ 82435 E = 5.27 Kcal./mol
SLTA4	51.843	3.57	CNF_ 497083 E = 6.72 Kcal./mol
SLTA5	94.11	2.20	CNF_ 13595 E = 5.73 Kcal./mol
SLTA6	49.356	-1.30	CNF_ 498217 E = 11.91 Kcal./mol]
SLTA7	49.225	1.710	CNF_ 497209 E = 6.14 Kcal./mol
SLTA8	41.356	-1.518	CNF_ 37720 E = 12.47 Kcal./mol
SLTA10	60.715	1.297	CNF_ 466585 E = 5.65 Kcal./mol
CCNU	64.509	-5.837	CNF_ 416467 E = 2.90 Kcal./mol
SLCNUleu	56.193	-8.928	CNF_ 80665 E = 14.95 Kcal./mol
SLDTIC	137.251	13.286	CNF_ 19405 E = 31.29 Kcal./mol

TABLA 5. RESULTADOS DEL ANALISIS CONFORMACIONAL

ENZIMA METILTRANSFERASA

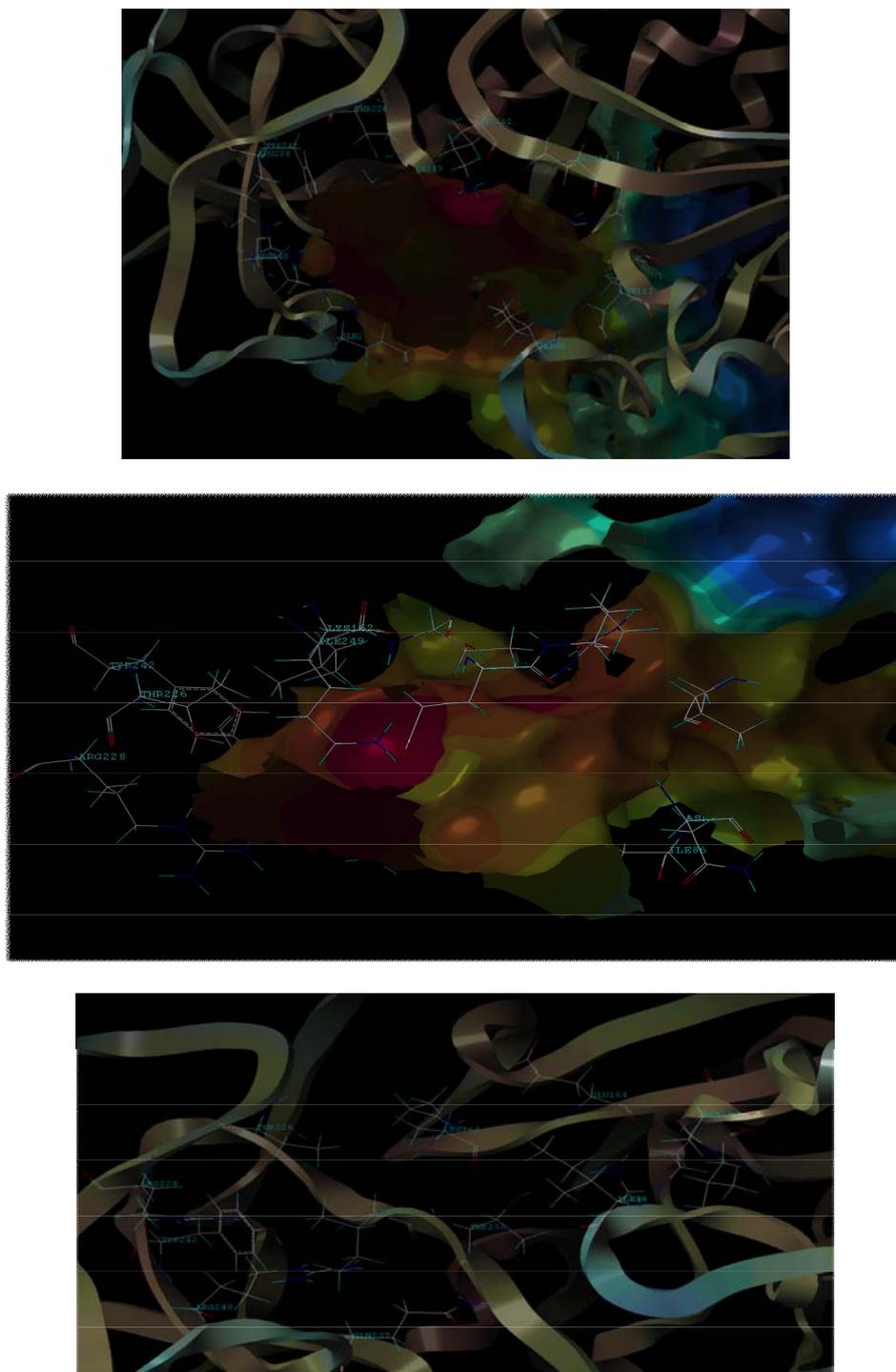


Fig16. Enzima metiltransferasa. Aminoácidos (TYR242, THR226, LYS162, ILE249, ARG228, ILE86,ASN123, THR250, ARG240, GLN237, GLU164), involucrados en el sitio activo.

ESTRUCTURA CONFÓRMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal./mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	* ΔE <i>binding</i> (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				DTIC	ENZIMA DNMT	
Dacarbazina CNF_589 E= 21.434 Kcal./mol	E.total=-12.351 Estérica= -9.965 Electrostática= -2.387 E.inicial = 20648.063	E.total= -30.093 Estérica= -14.018 Electrostática= -16.076 E.final = 20630.967	-771.23	O (9) N (10) N (4)	H (3908) ARG165 H (3910) ARG165 H (4612) THR 250	1.727 2.777 3.294
	E.total= -10.508 Estérica= -9.147 Electrostática= -1.362 E.inicial =21400.107	E.total= -31.464 Estérica= -8.820 Electrostática= -22.644 E.final =21380.718	-73.796	O (9) N (4) N (10)	H(4530) ARG 240 H (4447)ARG 228 H (4607) ILE 249	1.653 2.601 3.132
	E.total= -12.940 Estérica= -8.523 Electrostática= -4.418 Einicial =21409.872	E.total= -31.527 Estérica= -10.353 Electrostática= -21.174 E.final =21391.713	-62.792	N (4) O (9) N (10) H (11) H (14)	H (3908) ARG 165 H (3908) ARG 165 H (3878) LYS 162 H (3876) LYS 162 H (4612) THR 250	3.061 1.618 2.538 2.477 2.175

TABLA6. Docking entre la enzima DNMT y el conformero de Dacarbazina

* $\Delta E_{binding} = E_{steric} + E_{\Delta}$ [E complex – (E enzyme + E ligand)]

ESTRUCTURA CONFÓRMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal./mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	* ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				DTIC	ENZIMA DNMT	
Dacarbazina CNF_589 E= 25.54 Kcal/mol	E.total= -14.376 Estérica= -9.959 Electrostática= -4.418 Ei= 22089.968	E.total= -31.281 Estérica= -12.289 Electrostática= -18.992 E.f= 21389.265	-65.066	O (9) N (6) N (10) N (2) N (4)	H (3878) LYS162 H (3876) LYS162 H (4612) THR250 H (4600) ILE249 H (4612) THR250	1.949 1.788 3.077 4.405 2.832
	E.total= -15.761 Estérica= -11.075 Electrostática= -4.687 Ei=21412.106	E.total= -33.421 Estérica= -10.695 Electrostática= -22.727 E.f=21389.556	-66.915	N (4) O (9) N (10) N (15)	H (3908) ARG165 H (3908) ARG165 H (4616) THR250 H (3876) LYS162	3.189 1.670 3.072 2.492
	E.total=-23.351 Estérica= -10.391 Electrostática= -12.960 E.inicial= 21344.134	E.total= -31.669 Estérica= -5.687 Electrostática= -25.982 E.final= 21333.519	-121.27	N (4) N (2) N (6) O (9) C (8) N (10)	H (4612) THR 250 H (4612) THR250 H (3877) LYS162 H (3908) ARG165 H (3908) ARG165 H (3908) ARG165	2.517 3.594 2.015 1.605 2.493 2.842

TABLA6. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de Dacarbazina

* $\Delta E_{binding} = E_{steric} + E_{\Delta}$ [E complex – (E enzyme + E ligand)]

ESTRUCTURA CONFÓRMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	* ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				DTIC	ENZIMA DNMT	
Dacarbazina CNF_589 E= 25.54 Kcal/mol	E.total= -19.553 Estérica= -8.547 Electrostática= -1.006 E. inicial =21348.456	E .total= -34.146 E. Estérica= -10.016 Electrostática= -24.130 E .final =21333.723	-123.471	O (9) C (8) N (10) N (6) N (15) N (4) N (2)	H(3908) ARG165 H(3908) ARG165 H(3908) ARG165 H(3877) LYS162 H (3877)LYS162 H(4612) THR250 H (4612) THR 250	1.605 2.503 2.851 2.080 2.726 2.530 3.484
	E.total=-20.316 Estérica= -13.546 Electrostática= -6.770 E.inicial= 21203.914	E.total= -35.259 Estérica= -15.293 Electrostática= -19.966 E.final= 21184.687	-273.692	N (2) N (4) O (9) N (10)	H(4601)ILE 249 H(3876)LYS 162 H(3878)LYS 162 H(4612)THR 250	2.611 1.744 1.984 2.696

TABLA6. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de Dacarbazina

* $\Delta E_{binding} = E_{steric} + E_{\Delta} [E_{complex} - (E_{enzyme} + E_{ligand})]$

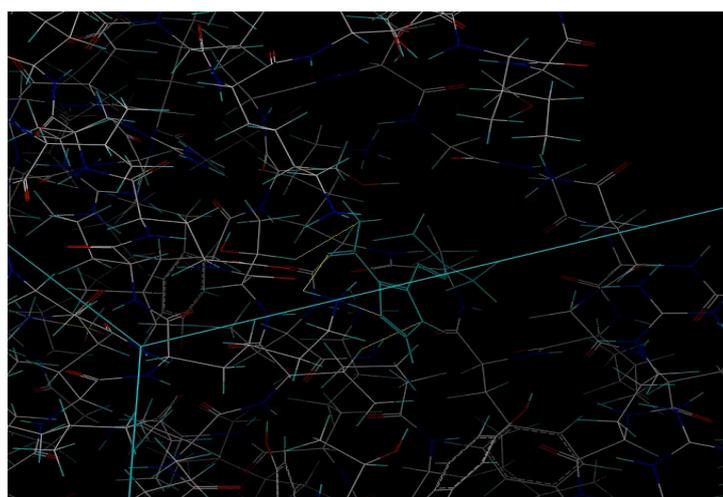
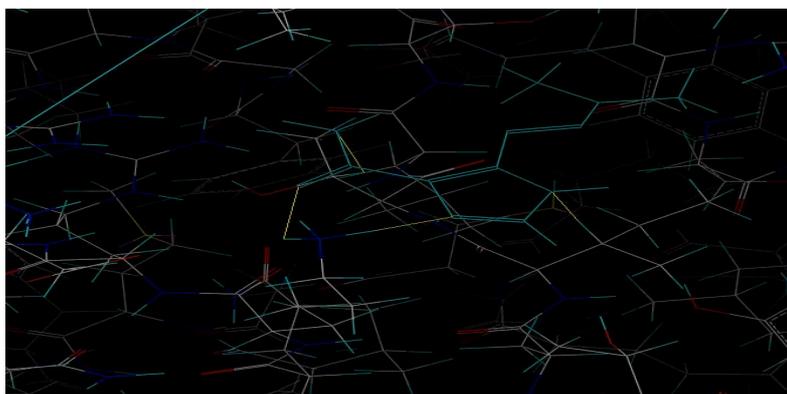
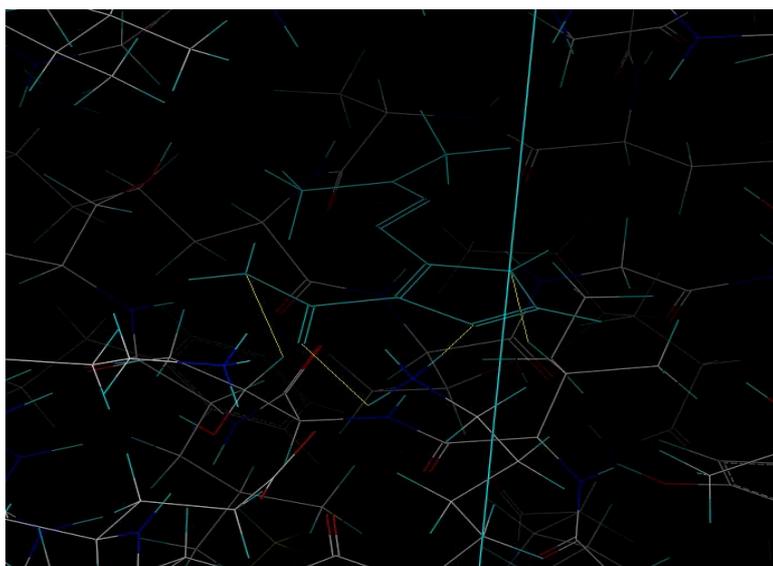


Fig 17. Interacciones entre Dacarbazina y el sitio activo de Metiltransferasa. Complejo de Mejor interacción: -273.692 Kcal/mol.

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	* ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				TEMO	DNMT	
TEMOZOLOMIDA CNF_ E = Kcal/mol	E total = -10.029 E estérica = -9.972 E electrostática = -0.057 E inicial = 21415.484	E total = -28.119 E estérica = -11.851 E electrostática = -16.268 E inicial = 21386.802	-55.46	N(18) C(13) O(17) N(8) C(6) O(10)	H(3910) ARG165 H(3908) ARG165 H(3908) ARG165 H(3260) ILE86 H(3876) LYS162 H(4533) ARG240	2.969 2.617 1.651 3.830 3.762 3.835
	E total = -12.774 E estérica = -8.350 E electrostática = -4.424 E inicial = 21403.330	E total = -34.882 E estérica = -12.454 E electrostática = -22.428 E inicial = 21380.170	-68.855	C(6) O(10) O(17) N(8) N(18)	H(4423) THR226 H(4423) THR226 H(4530) ARG240 H(4601) ILE249 H((4607) ILE249	2.872 1.785 1.691 2.501 2.832
	E total = -13.089 E estérica = -12.027 E electrostática = -1.061 E inicial = 21401.387	E total = -28.782 E estérica = -15.489 E electrostática = -13.294 E inicial = 21384.763	-58.162	N(8) O(17) N(18) C(6) O(10)	H(3570) LYS122 H(3877) LYS162 H(3877) LYS162 H(3260) ILE86 H(3577) ASN123	2.723 1.599 3.334 2.966 2.368
	E total = -14.720 E estérica = -10.763 E electrostática = -3.957 E inicial = 21397.772	E total = -35.151 E estérica = -12.763 E electrostática = -22.388 E inicial = 21377.649	-71.645	O(17) N(18) N(8) C(6) O(10)	H(4530) ARG240 H(4607) ILE249 H(4601) ILE249 H(4423) THR226 H(4423) THR226	1.691 2.833 2.507 2.874 1.787

TABLA7. Docking entre la enzima DNMT y el conformero de TEMOZOLOMIDA

* ΔE binding= E estérica + ΔE [E complex-(E enzime + E ligand)]

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	* ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				TEMO	DNMT	
TEMOZOLOMIDA CNF_ E = Kcal/mol	E total = -14.990 E estérica = -12.650 E electrostática = -2.340 E inicial = 21399.409	E total = -24.019 E estérica = -10.912 E electrostática = -13.107 E inicial = 21387.758	-50.404	C(6) O(10) N(8) N(18) O(17)	H(3877) LYS162 H(3261) ILE86 H(3260) ILE86 H(4616) THR250 H(3910) ARG165	3.263 3.142 3.158 2.907 1.727
	E total = -16.275 E estérica = -7.520 E electrostática = -8.756 E inicial = 21403.230	E total = -34.843 E estérica = -12.371 E electrostática = -22.472 E inicial = 21380.173	-68.813	C (6) O (10) N (8) N (18) O (17)	H(4423) THR226 H(4423) THR226 H(4601) ILE249 H(4607) ILE249 H(4530) ARG240	2.873 1.785 2.504 2.833 1.692
	E total = -10.117 E estérica = -11.795 E electrostática = 1.678 E inicial = 21405.477	E total = -28.128 E estérica = -13.585 E electrostática = -14.543 E inicial = 21386.901	-55.37	O(10) C(6) N(8) O(17) N(18)	H(3260) ILE86 H(3260) ILE86 H(4616) THR250 H(3876) LYS162 H(4610) THR250	2.678 2.941 2.720 1.605 2.890
	E total = -9.824 E estérica = -10.734 E electrostática = 0.910 E inicial = 21406.376	E total = -30.102 E estérica = -13.902 E electrostática = -16.200 E inicial = 21385.112	-59.113	C(6) O(10) N(3) N(8) N(18) O(17)	H(4601) ILE249 H(4533) ARG240 H(3876) LYS162 H(4612) THR250 H(3908) ARG165 H(3878) LYS162	3.680 3.405 1.772 3.383 2.712 1.691

TABLA7. Docking entre la enzima DNMT y el conformero de TEMOZOLOMIDA

* ΔE binding= E estérica + ΔE [E complex-(E enzime + E ligand)]

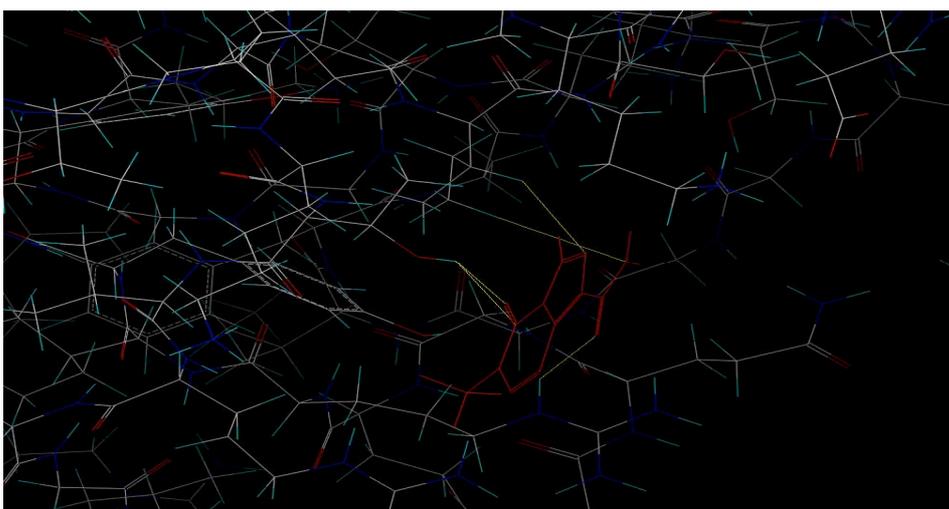
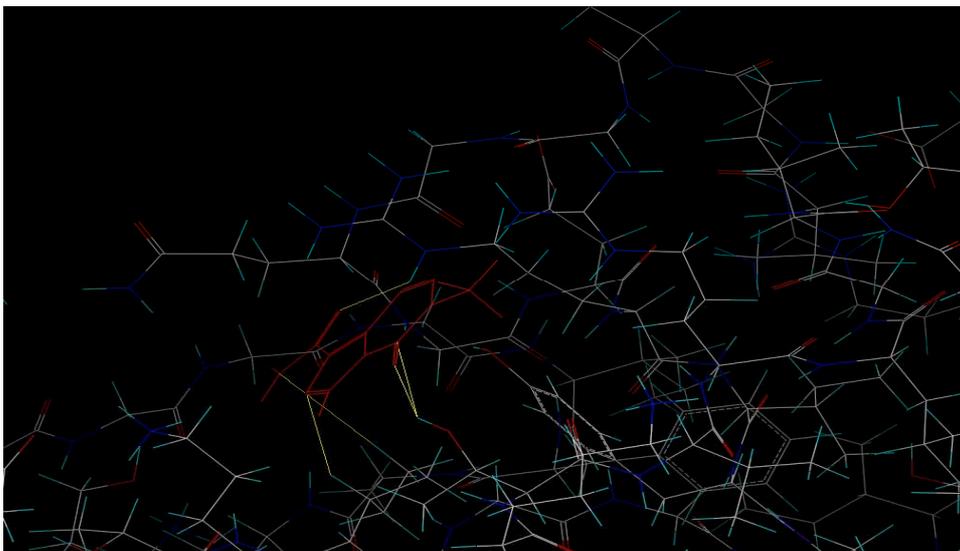


Fig 18. Interacciones entre Temozolomida y el sitio activo de Metiltransferasa. Complejo de Mejor interacción: -71.645 Kcal/mol.

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	<i>*ΔE binding</i> (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				SLTA1	DNMT	
SLTA1 CNF_290089 E= 4.826	E total = -12.483 E estérica = -12.036 E electrostática = -0.447 E inicial = 21481.608	E total = -26.097 E estérica = -18.564 E electrostática = -7.533 E inicial = 21370.640	-57.863	F (1) F (10)	H(3876) LYS 162 H(3908) ARG 165	1.791 1.768
	E total = -26.137 E estérica = -17.039 E electrostática = -9.098 E inicial = 21370.957	E total = -26.624 E estérica = -18.324 E electrostática = -8.300 E inicial = 21370.548	-58.482	F (1) F (10)	H(3876) LYS 162 H(3908) ARG 165	1.787 1.771
	E total = -22.345 E estérica = -17.079 E electrostática = -5.266 E inicial = 21373.650	E total = -26.888 E estérica = -18.023 E electrostática = -8.865 E inicial = 21370.582	-58.712	F (1) F (10)	H(3876) LYS 162 H(3908) ARG 165	1.759 1.800
	E total = -12.497 E estérica = -13.590 E electrostática = 1.093 E inicial = 21386.508	E total = -20.868 E estérica = -20.786 E electrostática = -0.082 E inicial = 21375.855	-47.419	F(1) O(32)	H(4533) ARG 240 H(4616) THR 250	2.102 2.623

TABLA8. Docking entre la enzima DNMT y el conformero de SLTA1.

- $\Delta E \text{ binding} = E \text{ estérica} + \Delta E [E \text{ complex} - (E \text{ enzyme} + E \text{ ligand})]$

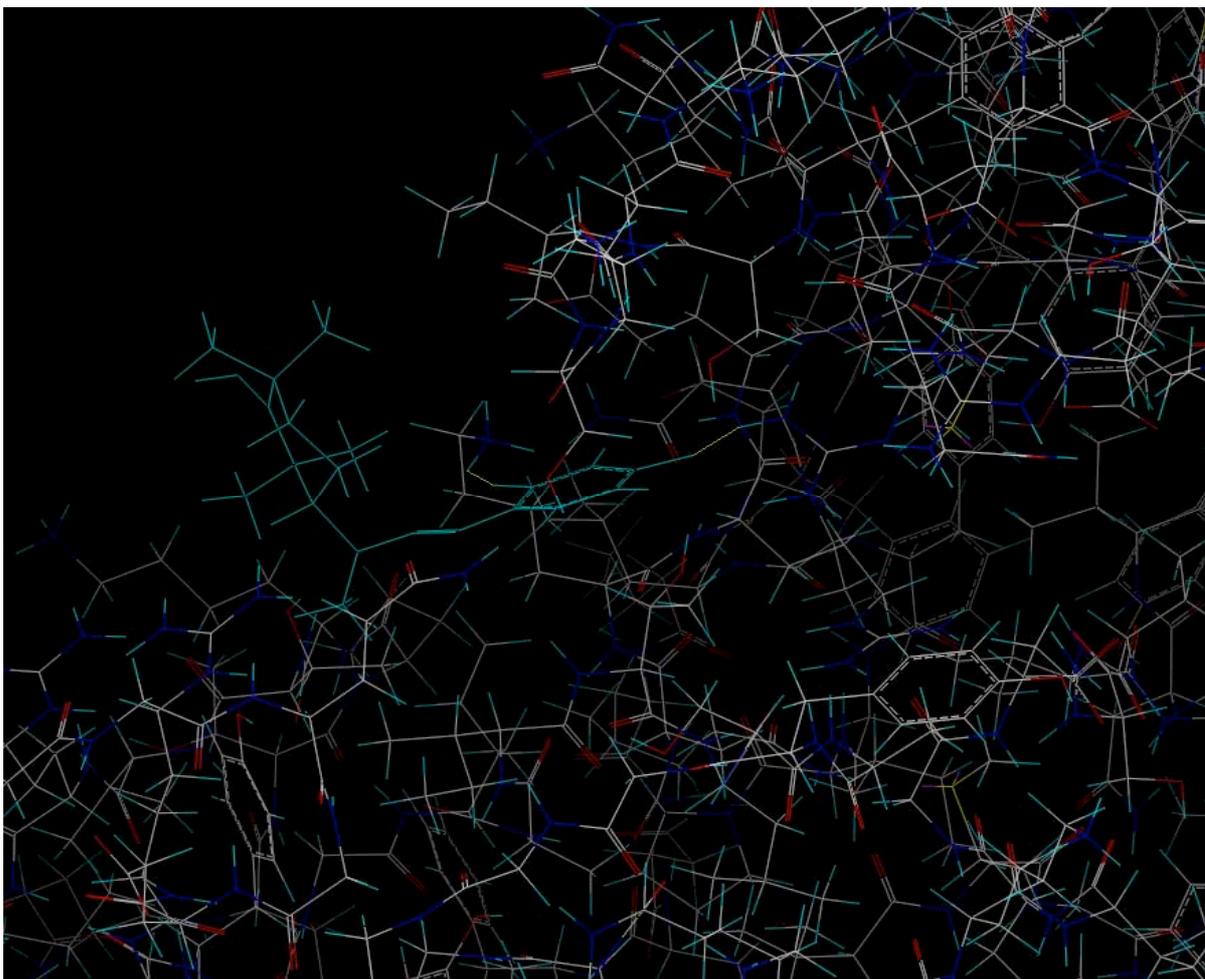


Fig 19. Interacciones entre SLTA1 y el sitio activo de Metiltransferasa. Complejo de Mejor interacción. - 58.712 Kcal/mol.

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	* ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				SLTA2	DNMT	
SLTA2 CNF_17030 E = 6.724 Kcal/mol	E total = -13.223 E estérica = -10.465 E electrostática = -2.758 E inicial = 21784.472	E total = -30.244 E estérica = -20.693 E electrostática = -9.551 E inicial = 21361.242	-73.306	N(8)	H(3877) LYS 162	1.946
	E total = -8.464 E estérica = -9.622 E electrostática = -1.158 E inicial = 21388.176	E total = -31.170 E estérica = -19.442 E electrostática = -11.728 E inicial = 21366.196	-69.278	O(32) H(35) N(14) N(8)	H(4533) ARG 240 H(4533) ARG240 H(3876) LYS 162 H(3876) LYS 162	2.010 2.395 2.055 2.077
	E total = -14.246 E estérica = -7.479 E electrostática = -6.767 E inicial = 21375	E total = -31.172 E estérica = -19.489 E electrostática = -11.683 E inicial = 21360.180	-75.296	O(32) N(8)	H(4533) ARG 240 H(3877) LYS 162	2.075 1.928
	E total = -8.637 E estérica = -8.937 E electrostática = 0.300 E inicial = 21401.235	E total = -31.786 E estérica = -19.441 E electrostática = -12.345 E inicial = 21376.602	-59.488	N(8) O(32) H(35)	H(3876) LYS162 H(4533) ARG240 H(4533) ARG240	2.079 2.016 2.387
	E total = -20.141 E estérica = -14.027 E electrostática = -6.115 E inicial = 21385.633	E total = -29.941 E estérica = -19.105 E electrostática = -10.836 E inicial = 21373.593	-60.652	N(8)	H(3876) LYS162	2.016

TABLA9. Docking entre la enzima DNMT y el conformero de SLTA2.* ΔE binding= E estérica + ΔE [E complex-(E enzyme + E ligand)]

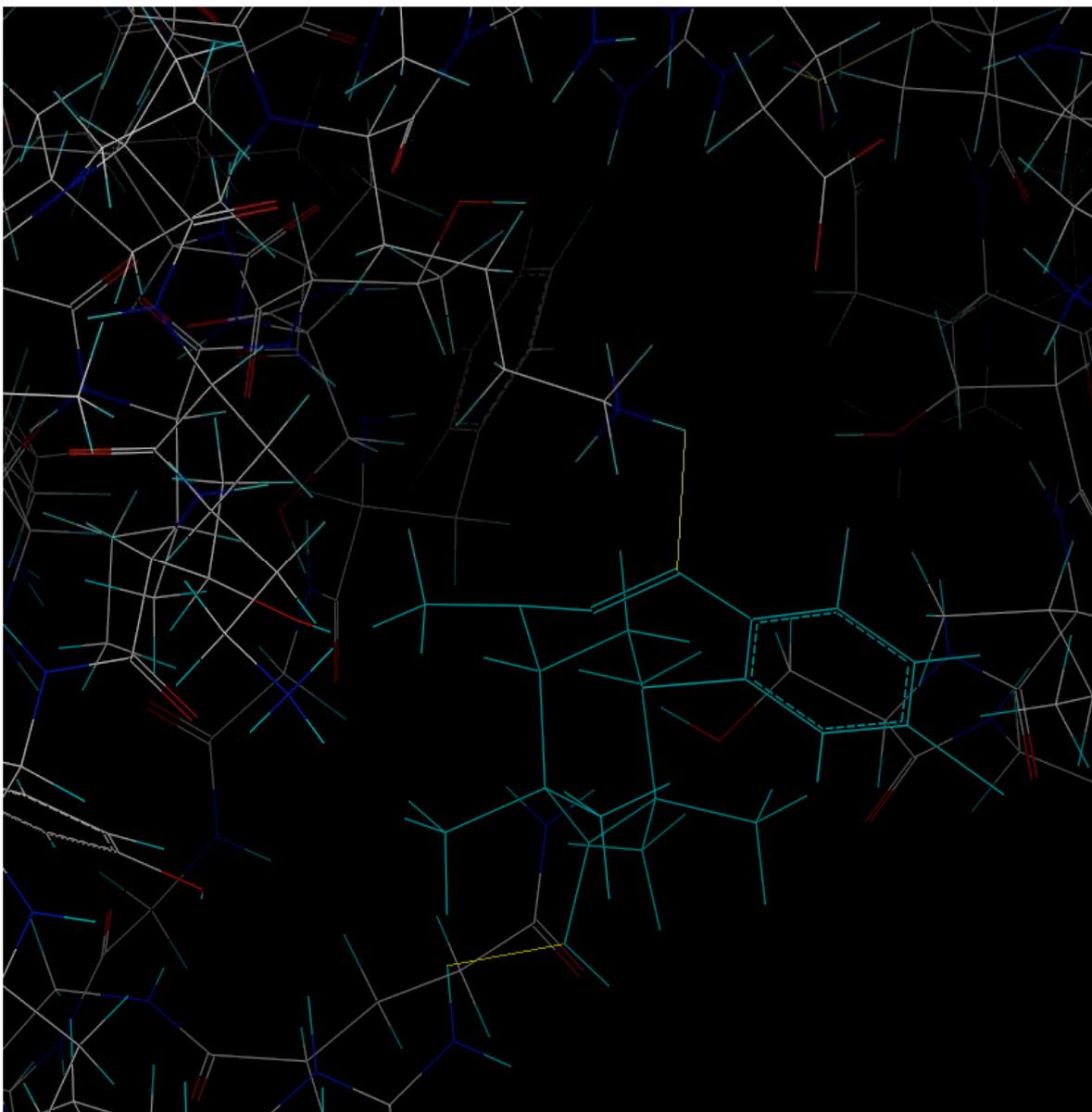


Fig 20. Interacciones entre SLTA2 y el sitio activo de Metiltransferasa. Complejo de Mejor interacción. - 75.296 Kcal/mol.

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	* ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				SLTA3	DNMT	
SLTA3 CNF_ 82435 E = 2.453 Kcal/mol	E total = -18.964 E estérica = -21.028 E electrostática = -2.064 E inicial = 21382.559	E total = -27.021 E estérica = -26.830 E electrostática = -0.191 E inicial = 21375.167	-54.704	H (35) O(32)	H(4447) ARG 228 H(4447) ARG 228	2.888 2.852
	E total = -10.246 E estérica = -5.971 E electrostática = -4.274 E inicial = 21395.950	E total = -26.727 E estérica = -16.160 E electrostática = -10.567 E inicial = 21375.811	-50.949	H(35) O(32) N(28)	H(3876) LYS 162 H(3876) LYS 162 H(3876) LYS 162	2.419 1.637 2.550
	E total = -13.021 E estérica = -6.132 E electrostática = -6.889 E inicial = 21388.819	E total = -30.219 E estérica = -18.708 E electrostática = -11.511 E inicial = 21373.015	-57.237	H(35) O(32) N(28)	H(3876) LYS 162 H(3876) LYS 162 H(3876) LYS 162	2.410 1.653 2.611
	E total = -11.447 E estérica = -14.493 E electrostática = 3.046 E inicial = 21388.712	E total = -22.590 E estérica = -21.862 E electrostática = -0.728 E inicial = 21377.879	-44.744	O(32)	H(4601) ILE 249	3.405

TABLA10. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLTA3

- ΔE binding= E estérica + ΔE [E complex-(E enzyme + E ligand)]

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS \AA
				SLTA4	DNMT	
SLTA4 CNF_497083 E = 4.142 Kcal/mol	E total = -17.074 E estérica = -12.747 E electrostática = -4.327 E inicial = 21385.392	E total = -42.913 E estérica = -19.517 E electrostática = -23.397 E inicial = 21362.260	-82.375	F(48) F(49) C(10) F(50) O(32)	H(3908) ARG 165 H(3908) ARG 165 H(3908) ARG 165 H(3878) LYS 162 H(4447) ARG 228	1.899 2.230 2.553 1.788 1.719
	E total = -35.483 E estérica = -18.549 E electrostática = -16.934 E inicial = 21372.727	E total = -41.972 E estérica = -18.967 E electrostática = -23.005 E inicial = 21361.881	-81.813	O(32) F(50) F(48) C(10) F(49)	H(4447) ARG 228 H(3878) LYS 162 H(4613) THR 250 H(3908) ARG 165 H(3908) ARG 165	1.706 1.779 1.826 2.587 2.230
	E total = -41.595 E estérica = -20.048 E electrostática = -21.547 E inicial = 21362.074	E total = -42.517 E estérica = -21.394 E electrostática = -21.123 E inicial = 21361.822	-82.417	F(49) C(10) F(48) F(50) O(32)	H(3908) ARG 165 H(3908) ARG 165 H(4613) THR 250 H(3878) LYS 162 H(4447) ARG 228	2.231 2.593 1.823 1.778 1.700
	E total = -12.130 E estérica = -9.384 E electrostática = -2.746 E inicial = 21390.332	E total = -38.676 E estérica = -23.425 E electrostática = -15.251 E inicial = 21362.135	-78.263	F(50) C(10) F(48) F(49) O(32)	H(4613) THR 250 H(3908) ARG 165 H(3908) ARG 165 H(3878) LYS 162 H(4447) ARG 228	1.782 2.526 2.227 1.740 2.460

TABLA11. Docking entre la enzima DNMT y el conformero de SLTA4

- ΔE binding = E estérica + ΔE [E complex - (E enzyme + E ligand)]

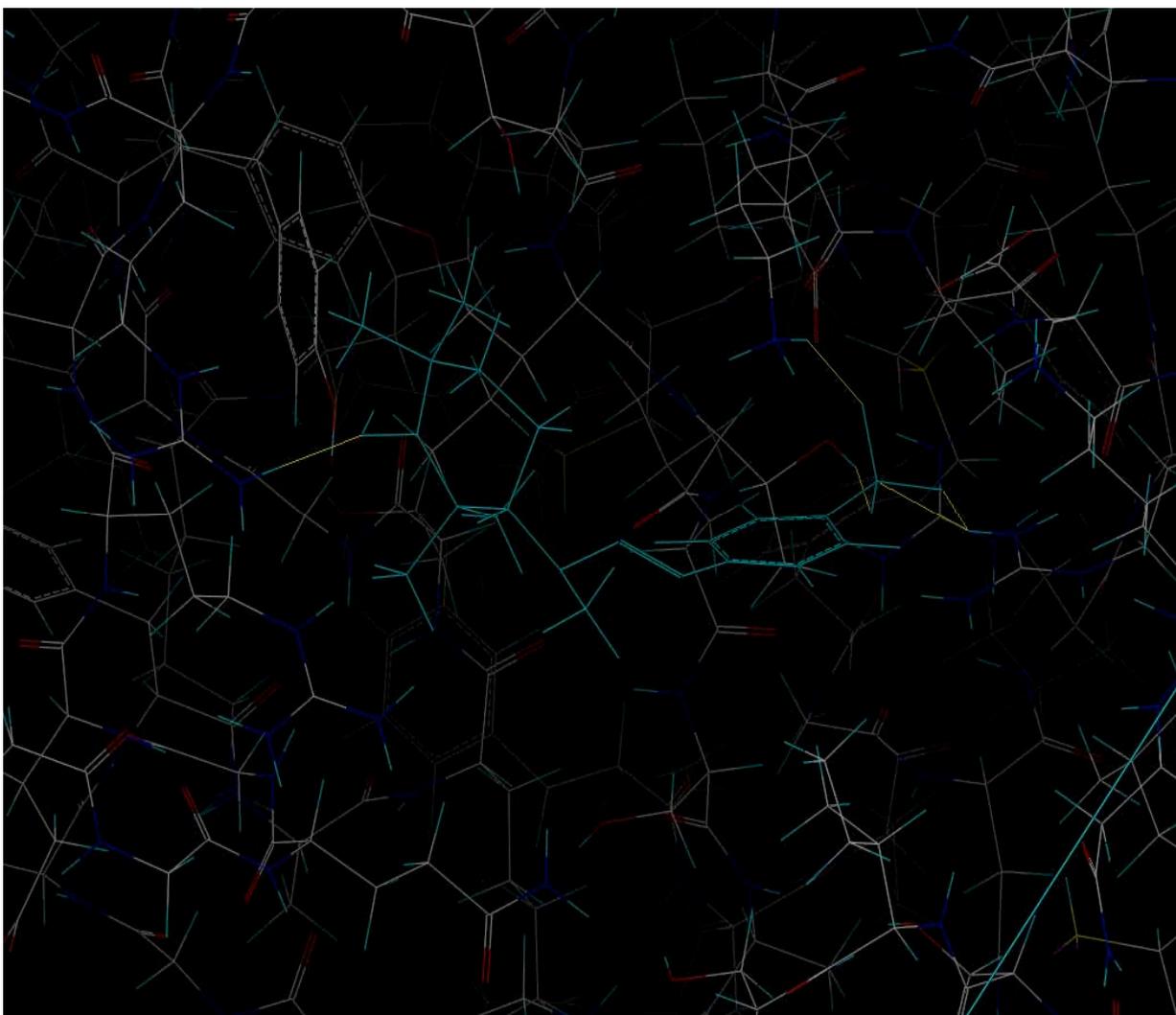


Fig 21. Interacciones entre SLTA4 y el sitio activo de Metiltransferasa. Complejo de Mejor interacción. - 82.417 Kcal/mol.

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				SLTA5	DNMT	
SLTA6 CNF_498217 E = 6.846 Kcal/mol	E total = -9.619 E estérica = -9.724 E electrostática = -0.104 E inicial = 213895.699	E total = -33.274 E estérica = -13.449 E electrostática = -19.824 E inicial = 21371.086	-66.614	O(48) C(10) O(49) N(5227)	H(3910) ARG 165 H(3908) ARG 165 H(3557) VAL 121 H(3876) LYS 162	1.807 2.541 3.070 1.905
	E total = -11.533 E estérica = -12.367 E electrostática = -0.835 E inicial = 21393.962	E total = -31.878 E estérica = -15.437 E electrostática = -16.442 E inicial = 21371.062	-65.242	O(48) C(10) O(49) N(5227)	H(3910) ARG 165 H(3908) ARG 165 H(3557) VAL 121 H(3876) LYS 162	1.817 2.553 3.030 1.860
	E total = -33.688 E estérica = -13.688 E electrostática = -19.999 E inicial = 21371.311	E total = -32.063 E estérica = -15.330 E electrostática = -16.732 E inicial = 21371.017	-65.472	O(48) C(10) O(49) N(5227)	H(3910) ARG 165 H(3908) ARG 165 H(3557) VAL 121 H(3876) LYS 162	1.813 2.552 3.050 1.8962
	E total = -33.694 E estérica = -16.464 E electrostática = -17.232 E inicial = 21371.958	E total = -34.079 E estérica = -14.992 E electrostática = -19.086 E inicial = 21370.994	-65.495	O(48) C(10) O(49) N(5227)	H(3910) ARG 165 H(3908) ARG 165 H(3557) VAL 121 H(3876) LYS 162	1.812 2.550 3.060 1.864

TABLA12. Docking entre la enzima DNMT y el conformero de SLTA6

* ΔE binding = E estérica + ΔE [E complex - (E enzyme + E ligand)]

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS \AA
				SLTA5	DNMT	
SLTA6 CNF_ 498217 E = 6.846 Kcal/mol	E total = -11.199 E estérica = -7.690 E electrostática = -3.509 E inicial = 21393.033	E total = -38.525 E estérica = -19.245 E electrostática = -19.279 E inicial = 21363.225	-79.726	O(32) H(50) O(49) C(10) O(48)	H(4447) ARG 228 H(3910) ARG 165 H(3910) ARG 165 H(3910) ARG 165 H(3908) ARG 165	2.325 3.071 2.176 2.549 1.655
	E total = -21.352 E estérica = -10.168 E electrostática = -11.184 E inicial = 21382.057	E total = -26.416 E estérica = -16.139 E electrostática = -10.277 E inicial = 21374.135	-56.707	O(49) C(10) H(50) O(48)	H(4613) THR 250 H(4613) THR 250 H(3908) ARG 165 H (3878) LYS 162	2.032 2.959 2.629 1.783

TABLA12. Docking entre la enzima DNMT y el conformero de SLTA6

* ΔE binding= E estérica + ΔE [E complex-(E enzyme + E ligand)]

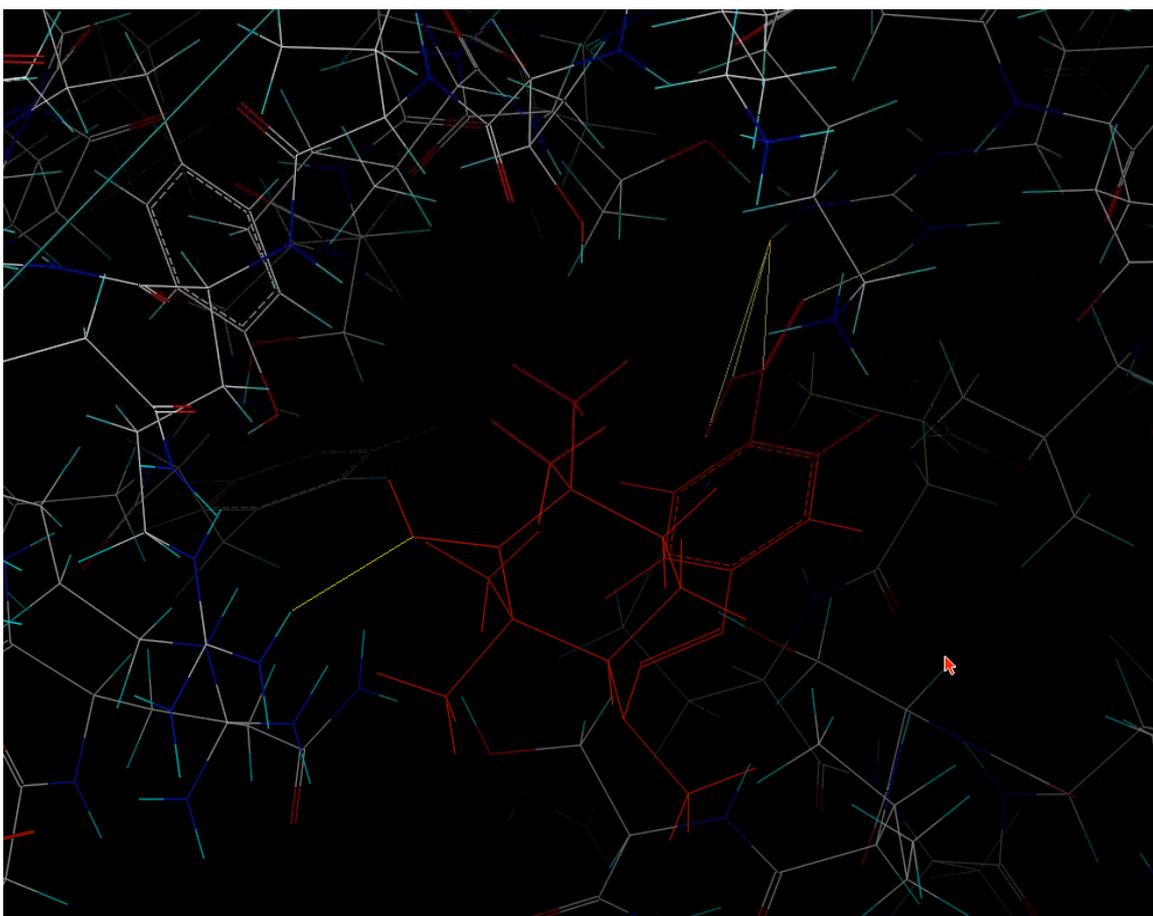


Fig 22. Interacciones entre SLTA6 y el sitio activo de Metiltransferasa. Complejo de Mejor interacción. - 79.726 Kcal/mol.

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS \AA
				SLTA6	DNMT	
SLTA5 CNF_13595 E = 1.783 Kcal/mol	E total = -12.015 E estérica = -13.804 E electrostática = 1.789 E inicial = 21393.977	E total = -25.298 E estérica = -24.328 E electrostática = -0.970 E inicial = 21377.345	-47.316	O(5251)	O (1949) TYR 242	2.801
	E total = -16.306 E estérica = -11.028 E electrostática = -5.279 E inicial = 21385.932	E total = -27.329 E estérica = -19.837 E electrostática = -7.492 E inicial = 21373.272	-53.42	H(5254) O(5251) N(5247)	H(3876) LYS 162 H(3876) LYS 162 H (3876) LYS 162	2.629 1.807 2.599
	E total = -10.461 E estérica = -14.683 E electrostática = 4.222 E inicial = 21389.556	E total = -19.399 E estérica = -19.967 E electrostática = 0.569 E inicial = 21380.836	-37.926	O(32)	H(4601) ILE 249	2.509
	E total = -8.872 E estérica = -12.849 E electrostática = 3.977 E inicial = 21397.976	E total = -36.947 E estérica = -26.857 E electrostática = -10.090 E inicial = 21367.022	-69.288	N(8) O(32)	H(3877) LYS 162 O(1949) TYR 242	2.322 2.551

TABLA13. Docking entre la enzima DNMT y el conformero de SLTA5

* ΔE binding= E estérica + ΔE [E complex-(E enzyme + E ligand)]

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				SLTA6	DNMT	
SLTA5 CNF_13595 E = 1.783 Kcal/mol	E total = -37.389 E estérica = -27.082 E electrostática = -10.306 E inicial = 21367.063	E total = -37.002 E estérica = -27.114 E electrostática = -9.888 E inicial = 21366.984	-69.381	N(8) O(32)	H(3877) LYS 162 O(1949) TYR 242	2.320 2.556
	E total = -31.948 E estérica = -21.875 E electrostática = -10.073 E inicial = 21372.913	E total = -36.551 E estérica = -26.088 E electrostática = -10.462 E inicial = 21366.885	-69.029	N(8) O(32)	H(3877) LYS 162 O(1949) TYR 242	2.154 2.557

TABLA13. Docking entre la enzima DNMT y el conformero de SLTA5

* ΔE binding= E estérica + ΔE [E complex-(E enzyme + E ligand)]

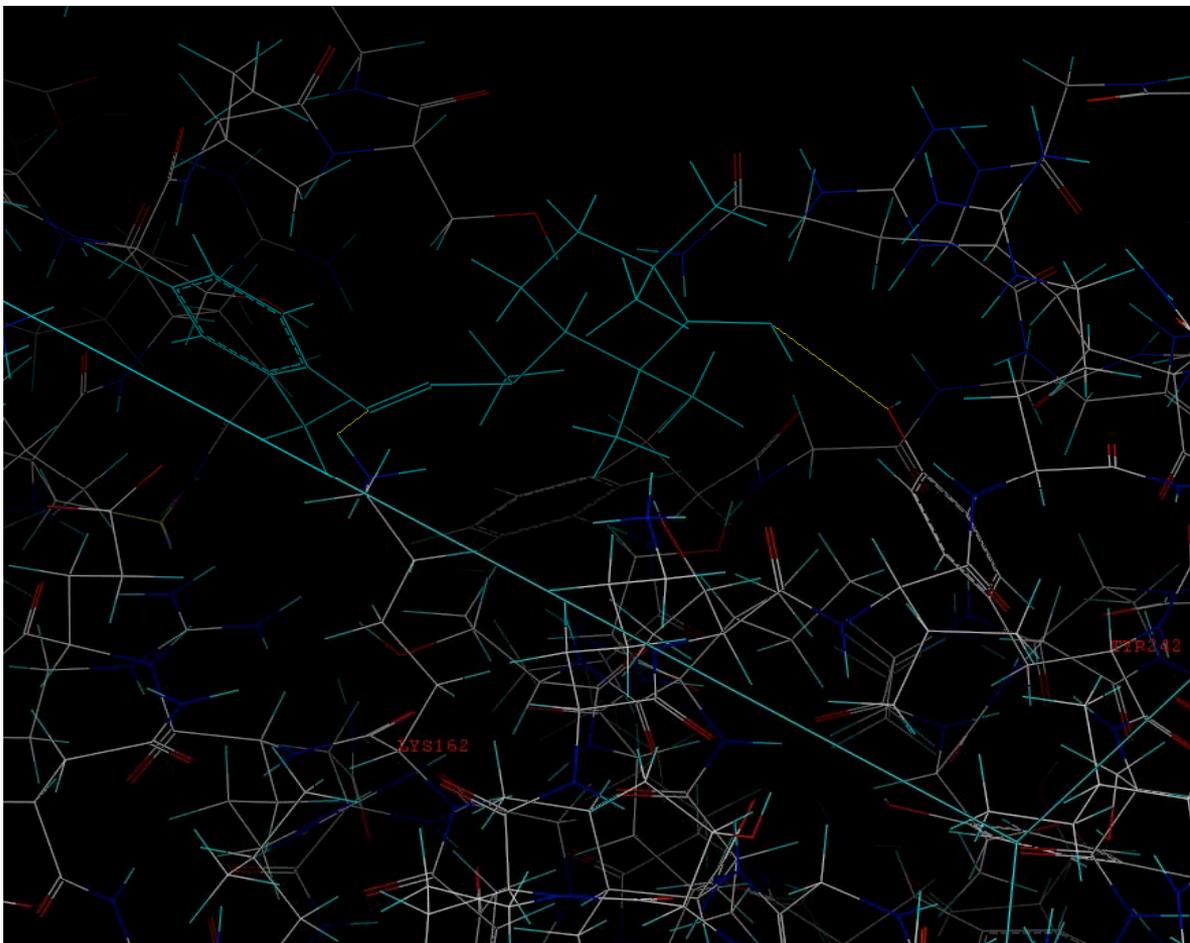


Fig 23. Interacciones entre SLTA5 y el sitio activo de Metiltransferasa. Complejo de Mejor interacción. - 69.381 Kcal/mol.

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				SLTA7	DNMT	
SLTA7 CNF_13595 E = 1.974 Kcal/mol	E total = -10.227 E estérica = -9.224 E electrostática = -1.003 E inicial = 21392.302	E total = -31.809 E estérica = -18.908 E electrostática = -12.901 E inicial = 21371.539	-59.824	N (5247) O(5251) H(5254)	H (3876) LYS 162 H (3876) LYS 162 H (3876) LYS 162	2.785 1.737 2.411
	E total = -13.898 E estérica = -10.989 E electrostática = -2.909 E inicial = 21391.017	E total = -25.333 E estérica = -21.695 E electrostática = -3.638 E inicial = 21375.477	-49.41	O(32)	O(1949) TYR 242	2.773
	E total = -11.159 E estérica = -7.690 E electrostática = -3.470 E inicial = 21388.405	E total = -30.730 E estérica = -21.479 E electrostática = -9.250 E inicial = 21371.065	-59.219	N(8) O(32)	H(3876) LYS 162 H(4447) ARG 228	2.117 3.537
	E total = -16.004 E estérica = -11.932 E electrostática = -4.072 E inicial = 21389.459	E total = -29.676 E estérica = -21.564 E electrostática = -8.111 E inicial = 21370.647	-58.583	N(8)	H(3876) LYS 162	2.343

TABLA14. Docking entre la enzima DNMT y el conformero de SLTA7

* ΔE binding= E estérica + ΔE [E complex-(E enzyme + E ligand)]

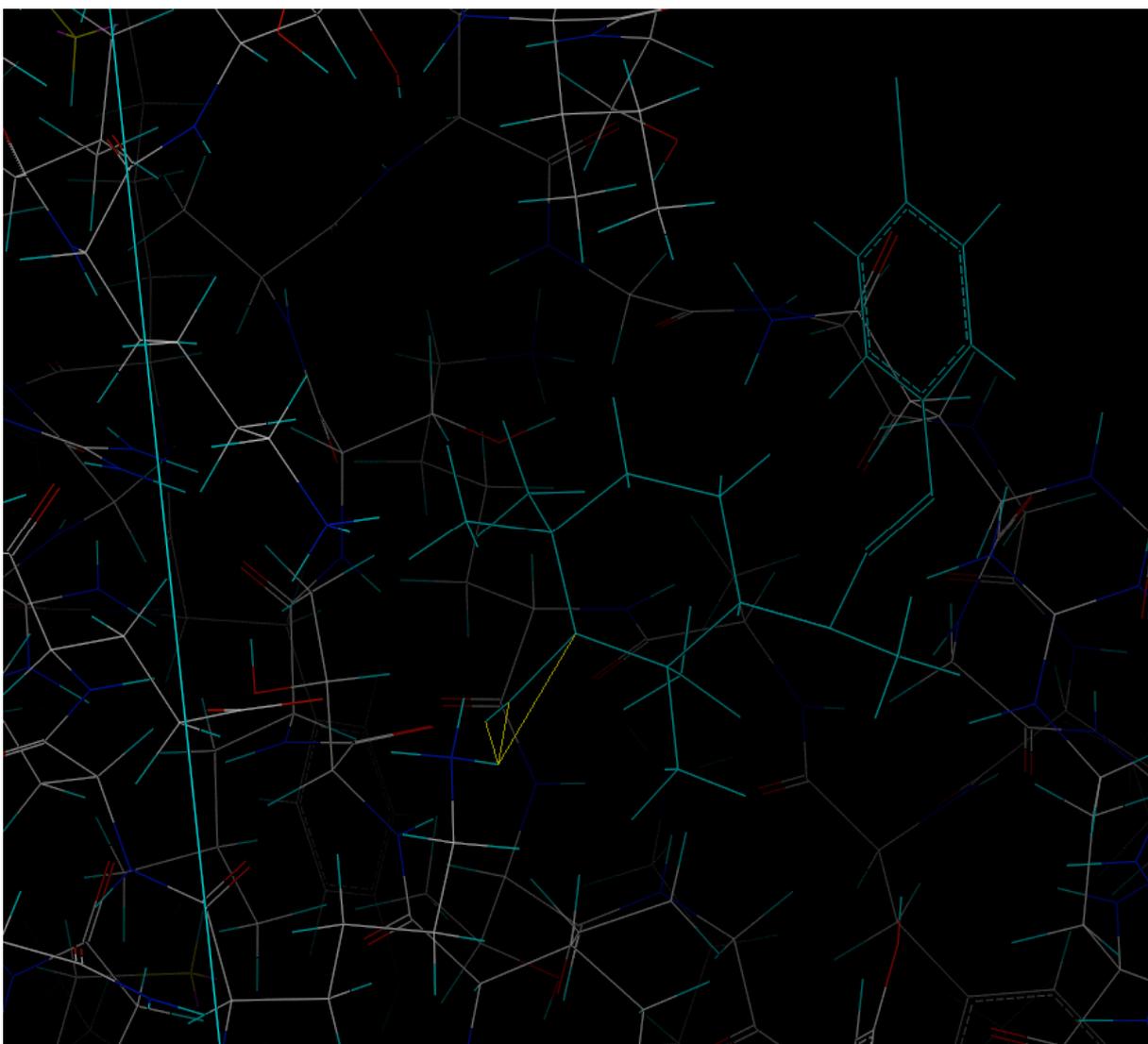


Fig 24. Interacciones entre SLTA7 y el sitio activo de Metiltransferasa. Complejo de Mejor interacción. - 59.824 Kcal/mo

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				SLTA8	DNMT	
SLTA8 CNF_ 37720 E = 3.965 Kcal/mol	E total = -17.293 E estérica = -14.398 E electrostática = -2.895 E inicial = 21377.449	E total = -33.761 E estérica = -21.357 E electrostática = -12.404 E inicial = 21354.174	-81.132	O(23)	H(4530) ARG 240	1.759
	E total = -33.401 E estérica = -21.012 E electrostática = -12.390 E inicial = 21354.546	E total = -34.707 E estérica = -22.708 E electrostática = -11.999 E inicial = 21352.912	-83.34	O(23)	H(4530) ARG 240	1.807
	E total = - 9.356 E estérica = -10.000 E electrostática = 0.644 E inicial = 21392.516	E total = -26.287 E estérica = -20.696 E electrostática = -5.591 E inicial = 21369.306	-58.526	O(40) O(23)	H(4616) THR 250 H(3876) LYS 162	2.551 4.644
	E total = -6.795 E estérica = -4.682 E electrostática = -2.113 E inicial = 21390.706	E total = -25.975 E estérica = -19.998 E electrostática = -5.977 E inicial = 21369.331	-58.189	O(40) O(23)	H(4616) THR 250 H(3876) LYS 162	2.559 4.707

TABLA15. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLTA8

* ΔE binding= E estérica + ΔE [E complex-(E enzime + E ligand)]

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS \AA
				SLTA8	DNMT	
SLTA8 CNF_37720 E = 3.965 Kcal/mol	E total = -19.134 E estérica = -14.127 E electrostática = -5.007 E inicial = 21422.652	E total = -26.830 E estérica = -16.700 E electrostática = -10.130 E inicial = 21413.655	-14.92	H(42) O(40) N(29) O(23) N(24)	H(4510) GLN 237 H(4533) ARG 240 H(4533) ARG 240 H(3877) LYS 162 H(3876) LYS 162	2.559 1.683 2.133 2.937 2.451
	E total = -10.448 E estérica = -7.346 E electrostática = -3.102 E inicial = 21392.704	E total = -33.682 E estérica = -18.861 E electrostática = -14.821 E inicial = 21364.476	-70.751	N(8) O(23)	H(4612) THR 250 H(4533) ARG 240	2.601 1.791
	E total = -33.896 E estérica = -18.924 E electrostática = -14.972 E inicial = 21365.319	E total = -34.926 E estérica = -19.255 E electrostática = -15.671 E inicial = 21364.242	-72.229	N(8) O(23)	H(3876) LYS 162 H(4533) ARG 240	2.637 1.804
	E total = -13.747 E estérica = -13.667 E electrostática = -0.800 E inicial = 21393.779	E total = -25.711 E estérica = -21.642 E electrostática = -4.069 E inicial = 21374.284	-52.972	N(24) O(23)	H(3876) LYS162 H(3876) LYS162	2.461 3.469

TABLA15. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLTA8

* ΔE binding= E estérica + ΔE [E complex-(E enzyme + E ligand)]

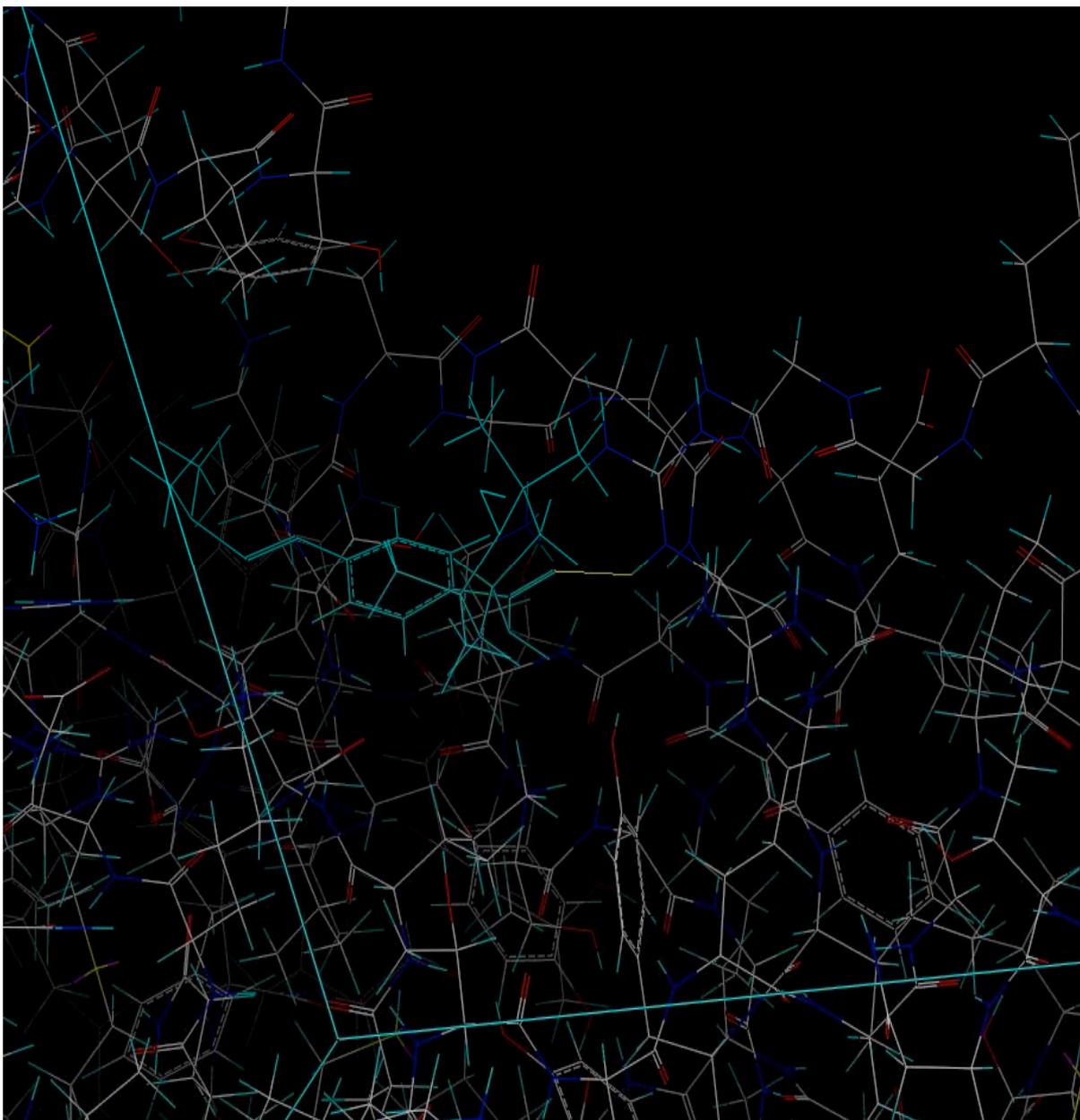


Fig 25. Interacciones entre SLTA8 y el sitio activo de Metiltransferasa. Complejo de Mejor interacción. - 83.34 Kcal/mol.

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS \AA
				SLTA10	DNMT	
SLTA10 CNF_466585 E = 1.448 Kcal/mol	E total = -23.163 E estérica = -15.620 E electrostática = -7.542 E inicial = 21399.495	E total = -34.026 E estérica = -20.442 E electrostática = -13.584 E inicial = 21386.585	-46.469	N(6) H(46) O(32)	H(3877) LYS 162 H(4533) ARG 240 H(4533) ARG 240	1.702 2.421 1.821
	E total = -37.284 E estérica = -21.978 E electrostática = -15.305 E inicial = 21386.790	E total = -34.531 E estérica = -21.215 E electrostática = -13.316 E inicial = 21386.539	-47.02	N(6) O(32) H(46)	H(3877) LYS 162 H(4533) ARG 240 H(4533) ARG 240	1.699 1.831 2.423
	E total = -3.747 E estérica = 0.199 E electrostática = -3.946 E inicial = 21400.420	E total = -31.841 E estérica = -23.876 E electrostática = -7.965 E inicial = 21369.524	-61.345	N(6)	H(4530) ARG 240	2.322
	E total = -19.517 E estérica = -14.538 E electrostática = -4.979 E inicial = 21381.084	E total = -29.024 E estérica = -21.628 E electrostática = -7.396 E inicial = 21370.242	-64.0758	N(6)	H(4530) ARG240	2.324

TABLA16. Docking entre la enzima DNMT y el conformero de SLTA10

- ΔE binding= E estérica + ΔE [E complex-(E enzyme + E ligand)]

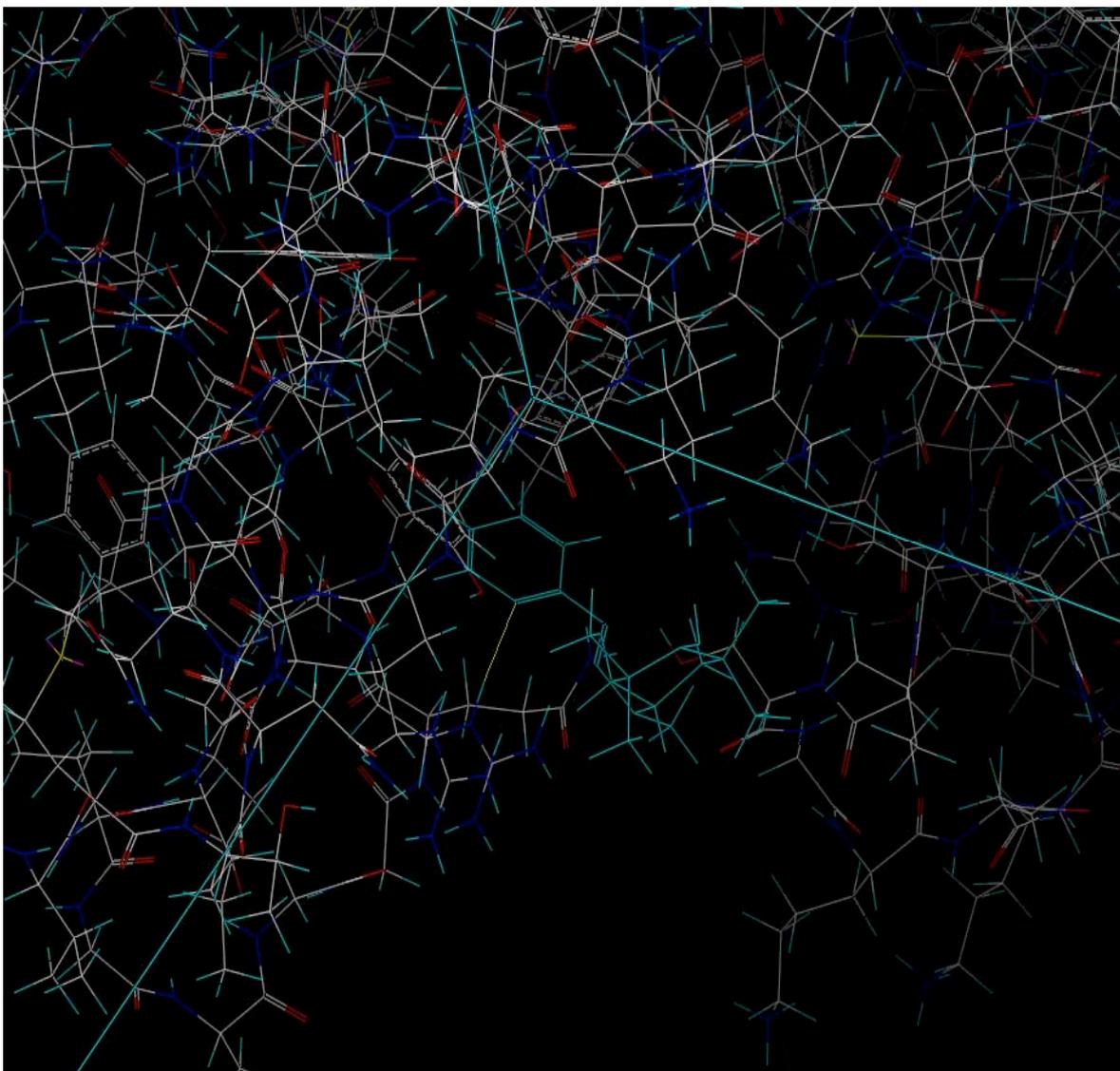


Fig 26. Interacciones entre SLTA10 y el sitio activo de Metiltransferasa. Complejo de Mejor interacción, -64.0758 Kcal/mol.

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				SLDTIC	DNMT	
SLDTIC CNF_19405 E = Kcal/mol	E total = -9.761 E estérica = -9.000 E electrostática = -0.761 E inicial = 21606.025	E total = -40.335 E estérica = -16.184 E electrostática = -24.152 E inicial = 21373.794	-87.72	O(33) O(10) N(11) N(5)	H(4447) ARG 228 H(3877) LYS 162 H(3261) ILE 86 H(4612) THR 250	2.037 1.826 3.280 2.590
	E total = -42.354 E estérica = -17.186 E electrostática = -25.167 E inicial = 21374.301	E total = -40.905 E estérica = -17.386 E electrostática = -23.519 E inicial = 21373.728	-88.356	O(33) O(10) N(11) N(5)	H(4447) ARG 228 H(3877) LYS 162 H(3261) ILE 86 H(4612) THR 250	2.024 1.834 3.284 2.568
	E total = -23.803 E estérica = -9.061 E electrostática = -14.742 E inicial = 21393.309	E total = -33.512 E estérica = -14.481 E electrostática = -19.031 E inicial = 21381.552	-73.139	N(11) N(5) O(10)	H(4612) THR250 H(4604) ILE249 H(3876) LYS162	2.933 2.686 1.862
	E total=-17.666 E estérica = -11.404 E electrostática = -6.262 E inicial = 21405.984	E total = -29.082 E estérica = -14.578 E electrostática = -14.504 E inicial = 21382.507	-67.754	N(5) N(11) O(10)	H(4612) THR250 H(4612) THR250 H(3876) LYS162	2.400 3.352 1.652

TABLA17. Docking entre la enzima DNMT y el conformero de SLDTIC

* ΔE binding= E estérica + ΔE [E complex-(E enzime + E ligand)]

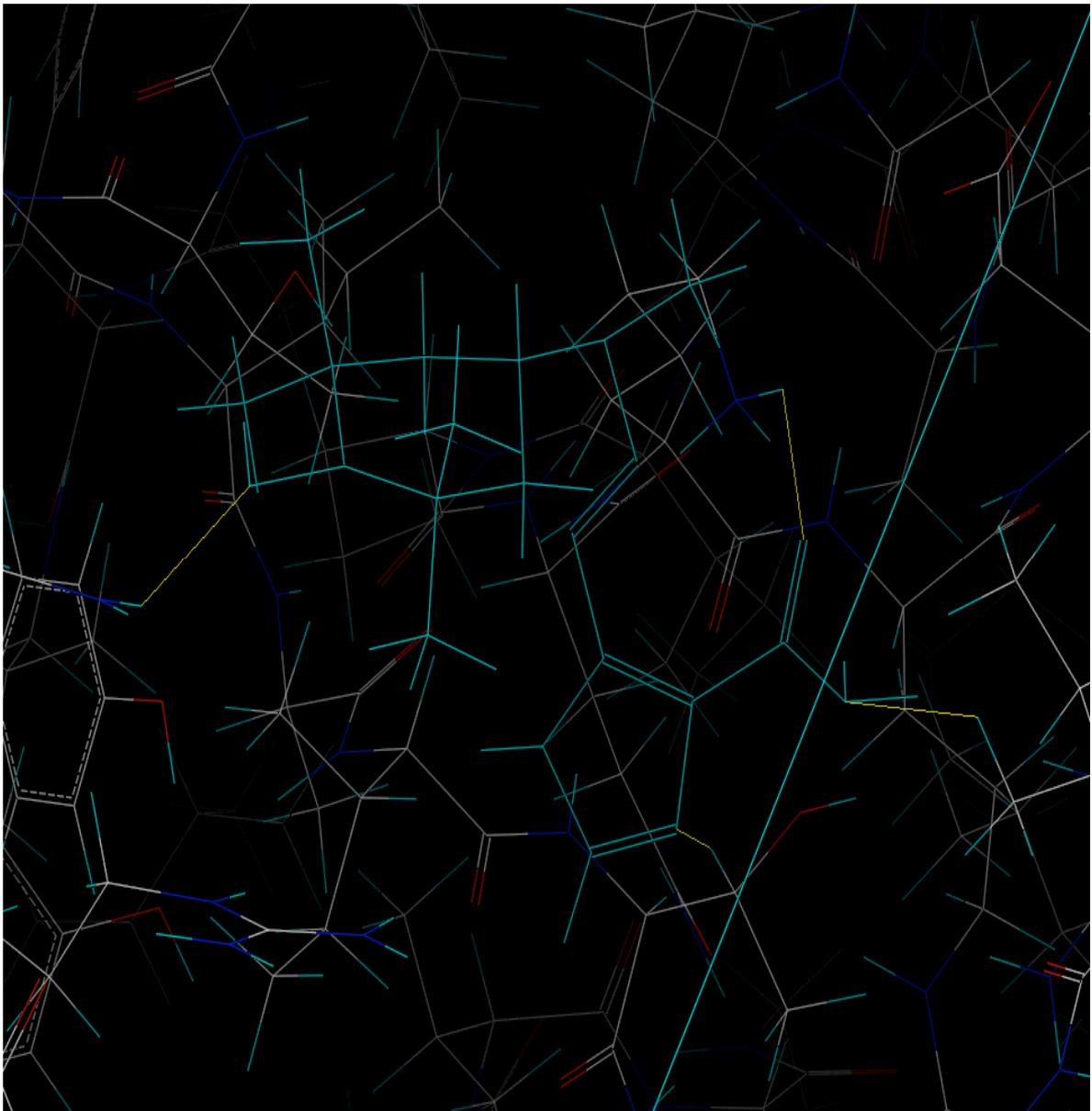


Fig 27. Interacciones entre SLDTIC y el sitio activo de Metiltransferasa. Complejo de Mejor interacción, -88.356 Kcal/mol.

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				CCNU	DNMT	
CCNU CNF_416467 E = Kcal/mol	E total = -15.976 E estérica = -12.111 E electrostática = -3.865 E inicial = 21378.417	E total = -35.328 E estérica = -21.045 E electrostática = -14.283 E inicial = 21358.472	-36.369	O(25) C(20) O(21)	H(3892)GLU164 H(3908)ARG165 H(3908)ARG165	1.772 2.691 1.783
	E total = -12.572 E estérica = -11.265 E electrostática = -1.307 E inicial = 21382.855	E total = -22.976 E estérica = -12.068 E electrostática = -10.907 E inicial = 21370.110	-47.707	O(25) C(20) O(21)	H(4530)ARG240 H(4533)ARG240 H(3876)LYS162	1.711 3.694 3.852
	E total = -18.575 E estérica = -14.229 E electrostática = -4.346 E inicial = 21378.666	E total = -37.998 E estérica = -19.832 E electrostática = -18.167 E inicial = 21356.409	-76.43	O(25) C(20) O(21)	H(3878) LYS162 H(3908) ARG165 H(3908) ARG165	1.757 2.655 1.628

TABLA18. Docking entre la enzima DNMT y el conformero de CCNU.

* ΔE binding= E estérica + ΔE [E complex-(E enzime + E ligand)]

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				SLCNUala	DNMT	
SLCNUala CNF_ 498755 E = Kcal/mol	E total = -25.465 E estérica = -12.503 E electrostática = -12.959 E inicial = 21394.097	E total = -45.447 E estérica = -17.971 E electrostática = -27.475 E inicial = 21351.195	-113.168	O(33) O(44) O(40) C(38)	H(3876) LYS162 H(4447) ARG228 H(4533) ARG240 H(4533) ARG240	1.731 1.724 1.755 2.900
	E total = -44.202 E estérica = -12.327 E electrostática = -31.876 E inicial = 21354.886	E total = -46.494 E estérica = -18.747 E electrostática = -27.747 E inicial = 21350.926	-114.484	O(33) O(40) O(44) C(38)	H(3876) LYS162 H(4533) ARG240 H(4447) ARG228 H(4533) ARG240	1.742 1.736 1.721 2.881
	E total = -20.927 E estérica = -12.536 E electrostática = -8.391 E inicial = 21405.139	E total = -35.167 E estérica = -16.597 E electrostática = -18.571 E inicial = 21359.765	-94.318	O(40) C(38) O(33)	H(3876) LYS162 H(3876) LYS162 H(4533) ARG240	1.798 2.947 2.688

TABLA19. Docking entre la enzima DNMT y el confórmero de SLCNUala.

* ΔE binding= E estérica + ΔE [E complex-(E enzyme + E ligand)]

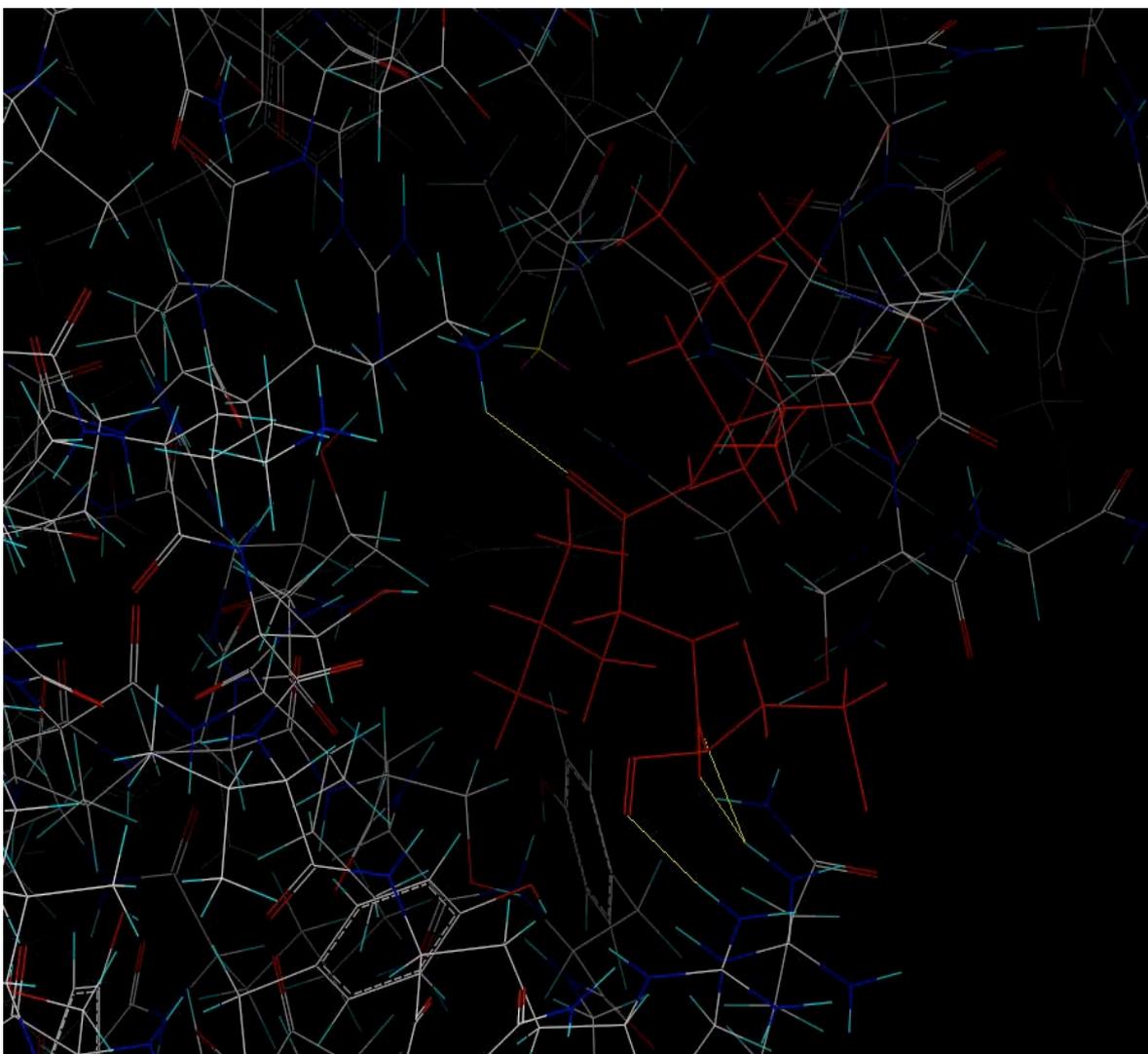


Fig 28. Interacciones entre SLCNUala y el sitio activo de Metiltransferasa. Complejo de Mejor interacción, -114.484 Kcal/mol.

CONFORMERO	ENERGIAS INICIALES (Kcal/mol)	ENERGIAS FINALES (Kcal/mol)	ΔE binding (Kcal/mol)	INTERACCIONES		DISTANCIAS Å
				SLCNUleu	DNMT	
SLCNUleu CNF_80665 E = Kcal/mol	E total = -9.356 E estérica = -6.393 E electrostática = -2.963 E inicial = 21392.596	E total = -27.033 E estérica = -19.479 E electrostática = -7.554 E inicial = 21364.336	-59.946	O(40) O(33) O(18)	H(4447) ARG228 H(4533) ARG240 H(4616) THR250	3.140 1.911 2.797
	E total = -14.283 E estérica = -10.930 E electrostática = -3.353 E inicial = 21384.090	E total = -36.776 E estérica = -21.724 E electrostática = -15.052 E inicial = 21354.224	-79.801	O(40) C(38) O(44) O(33)	H(3876) LYS162 H(3876)LYS162 H(4423)THR226 H(4533)ARG240	3.0 3.555 1.917 1.621

TABLA20. Docking entre la enzima DNMT y el conformero de SLCNUleu

* ΔE binding= E estérica + ΔE [E complex-(E enzyme + E ligand)]

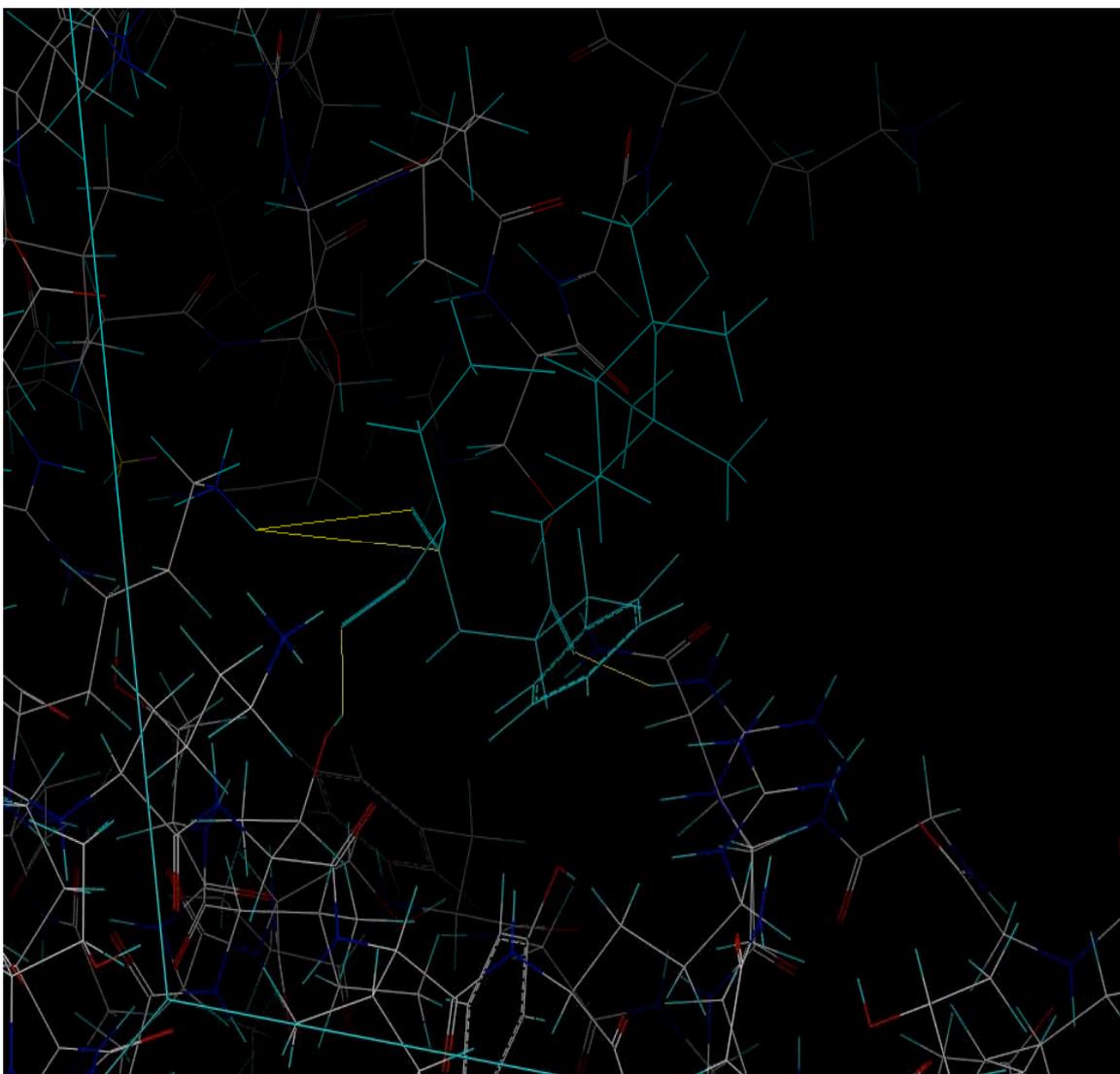


Fig 29. Interacciones entre SLCNUleu y el sitio activo de Metiltransferasa. Complejo de Mejor interacción, -79.801Kcal/mol.

TABLA 21.COMPLEJOS ENZIMAS-LIGNDOS CON MEJORES ENERGIAS

COMPLEJO ENZIMA-LIGANDO	LONGITUD DE ENLACE Å	ΔE binding (Kcal/mol)
<p>DACARBAZINA -DNAMT</p> <p>N))))))) $H—C$ 4601ILE249</p> <p>N))))))) $H—N$ 3878LYS162</p> <p>O))))))) $H—N$ 3878LYS162</p> <p>N))))))) $H—C$ 4612THR250</p>	<p>2.611</p> <p>1.744</p> <p>1.984</p> <p>2.696</p>	<p>-273.692</p>
<p>TEMOZOLOMIDA-DNAMT</p> <p>O))))))) $H—N$ 4530ARG240</p> <p>N))))))) $H—C$ 4607ILE249</p> <p>N))))))) $H—C$ 4601ILE249</p> <p>C))))))) $H—H$ 4423THR226</p> <p>O))))))) $H—H$ 4423THR226</p>	<p>1.691</p> <p>2.833</p> <p>2.507</p> <p>2.874</p> <p>1.787</p>	<p>-71.645</p>

COMPLEJO ENZIMA-LIGANDO	LONGITUD DE ENLACE Å	ΔE binding (Kcal/mol)
<p style="text-align: center;">SLTA1-DNAMT</p> <p style="text-align: center;">F)))))))) <i>H</i>— N 3876 LYS162</p> <p style="text-align: center;">F)))))))) <i>H</i>— N 3908 ARG165</p>	<p style="text-align: center;">1.759</p> <p style="text-align: center;">1.800</p>	<p style="text-align: center;">-58.712</p>
<p style="text-align: center;">SLTA2-DNAMT</p> <p style="text-align: center;">O)))))))) <i>H</i>— N 4533 ARG240</p> <p style="text-align: center;">N)))))))) <i>H</i>— N 3877 LYS162</p>	<p style="text-align: center;">2.075</p> <p style="text-align: center;">1.928</p>	<p style="text-align: center;">-75.296</p>
<p style="text-align: center;">SLTA3-DNAMT</p> <p style="text-align: center;">H)))))))) <i>H</i>— N 3876 LYS162</p> <p style="text-align: center;">O)))))))) <i>H</i>— N 3876 LYS162</p> <p style="text-align: center;">N)))))))) <i>H</i>— N 3876 LYS162</p>	<p style="text-align: center;">2.410</p> <p style="text-align: center;">1.653</p> <p style="text-align: center;">2.611</p>	<p style="text-align: center;">-57.237</p>

COMPLEJO ENZIMA-LIGANDO	LONGITUD DE ENLACE Å	ΔE binding (Kcal/mol)
<p style="text-align: center;">SLTA4-DNAMT</p> <p>F)))))) $H - N$ <small>3908 ARG165</small></p> <p>C)))))) $H - N$ <small>3908 ARG165</small></p> <p>F)))))) $H - O$ <small>4613 THR250</small></p> <p>F)))))) $H - N$ <small>3878 LYS162</small></p> <p>O)))))) $H - N$ <small>4447 ARG228</small></p>	<p style="text-align: center;">2.231</p> <p style="text-align: center;">2.593</p> <p style="text-align: center;">1.823</p> <p style="text-align: center;">1.778</p> <p style="text-align: center;">1.700</p>	<p style="text-align: center;">-82.417</p>
<p style="text-align: center;">SLTA5-DNAMT</p> <p>N)))))) $H - N$ <small>3877 LYS162</small></p> <p>O)))))) $O - H$ <small>1949 TYR242</small></p>	<p style="text-align: center;">2.320</p> <p style="text-align: center;">2.556</p>	<p style="text-align: center;">-69.381</p>

COMPLEJO ENZIMA-LIGANDO	LONGITUD DE ENLACE Å	ΔE binding (Kcal/mol)
<p>SLCNUala-DNAMT</p> <p>O 1 1 1 1 1 1 1 $H-N$ 4447 ARG228</p> <p>O 1 1 1 1 1 1 1 $H-N$ 3877 LYS162</p> <p>O 1 1 1 1 1 1 1 $H-C$ 3261 ILE86</p> <p>C 1 1 1 1 1 1 1 $H-C$ 4612 THR250</p>	<p>1.742</p> <p>1.736</p> <p>1.721</p> <p>2.881</p>	<p>-114.484</p>
<p>SLCNUleu-DNAMT</p> <p>O 1 1 1 1 1 1 1 $H-N$ 3876 LYS162</p> <p>C 1 1 1 1 1 1 1 $H-N$ 3876 LYS162</p> <p>O 1 1 1 1 1 1 1 $H-C$ 4423 THR226</p> <p>O 1 1 1 1 1 1 1 $H-C$ 4533 ARG240</p>	<p>3.0</p> <p>3.55</p> <p>1.917</p> <p>1.621</p>	<p>-79.801</p>

TABLA 21.COMPLEJOS ENZIMAS-LIGNDOS CON MEJORES ENERGIAS

15. ANALISIS DE RESULTADOS

ANALISIS CONFORMACIONAL

El cálculo de energía que posee una molécula en una conformación particular (E_{conf}) es de gran importancia, ya que dicha energía esta en función de la posición de los átomos de una molécula, para buscar la conformación de menor tensión (minimización de la energía o regularización de la energía).

Las moléculas utilizadas en el presente trabajo fueron construidas con ayuda de un editor de moléculas, con esto se tiene una aproximación de la estructura de la molécula la cual posteriormente se regularizó, asigno cargas, minimizó energía y finalmente se les realizó un análisis conformacional, escogiendo el conformero de menor energía. Evitando así la existencia de longitudes o ángulos de enlace demasiados pequeños.

Para describir tal proceso de optimización se requiere de la relación entre la conformación y la energía. Sin embargo existen complicaciones para encontrar la geometría de menor energía, ya que existen una gran cantidad de mínimos y no se puede saber cuantos hay ni cual de ellos es el más profundo, conocido como mínimo global.

Este tipo de estudio necesita de un análisis conformacional riguroso de cada una de las moléculas a analizar, pues puede ser que para un determinado fármaco, la conformación activa no sea la más estable termodinámicamente, debido a que la energía libre de asociación supera generalmente la energía necesaria para que el ligando sufra un cambio conformacional. Esta limitante, hace que este tipo de estudio sea muy complicado y que los resultados a obtener no sean siempre satisfactorios, pues cada conformación energéticamente accesible, presupone una disposición tridimensional diferente de los grupos candidatos a interactuar con el receptor.

Como se pudo observar en la tabla de resultados No 4. La energía de la molécula inicialmente construida fue mayor que la obtenida después de un análisis conformacional, obteniéndose de cada análisis conformacional para cada molécula, geometrías de mayor estabilidad lo cual es de gran importancia para estudios de

Docking ya que de la estabilidad de las estructuras a trabajar depende la estabilidad de los enlaces del complejo enzima-ligando formado.

DETERMINACION DEL SITIO ACTIVO DE DNAMT

El trabajo está destinado a la búsqueda de las secuencias en la estructura química de múltiples ligandos que se unan a un mismo receptor. Para esto, se utilizan una serie de programas que permiten la visualización tridimensional de las estructuras, a través del cual se pueden realizar rotaciones, traslaciones y operaciones superposición de estructuras, para que en esta serie con una variación sistemática de la estructura química de los ligandos, se llegue a detectar, por superposición de las estructuras aquellas regiones de la moléculas que son indispensables para la actividad, y aquellas que son vulnerables a ser sustituidas con variaciones pequeñas en la afinidad. (*J.C. Escalona, R. Carrasco, J. A. Padrón.*)

Se debe de conocer el volumen del sitio de unión que está realmente disponible para ser ocupado por los ligandos. (*J.C. Escalona, R. Carrasco, J. A. Padrón.*) Cuando se trabaja con proteínas, y particularmente con enzimas como sustancias blanco, deben considerarse tres factores importantes: la especificidad o selectividad molecular de la enzima, la afinidad o fuerza con que se fija el sustrato a ella, y la geometría del sitio de unión. Muchos fármacos son inhibidores de la función de una enzima a través de un bloqueo efectivo del sitio activo o de las zonas coadyuvantes de la catálisis. En estos casos es deseable desarrollar compuestos que se unan con gran firmeza y alta especificidad a los sitios funcionales, y para desarrollar un fármaco con ambas características es imprescindible conocer con detalle la geometría del sitio de unión.

La superficie de una proteína es irregular, con una serie de protuberancias y cavidades que forman un relieve complejo. Generalmente, es en estas cavidades es en donde las moléculas orgánicas pueden unirse. Sin embargo, debido al tiempo de cálculo que implica, no es práctico probar el conjunto de las moléculas de la base de datos en todas las orientaciones posibles sobre cada uno de los sitios potenciales de unión. Por ello es necesario seleccionar una sola de esas cavidades para su estudio. Si la proteína es una enzima o un receptor, la elección directa es analizar el sitio activo o de reconocimiento; ya que cualquier molécula que pueda unirse a este lugar impedirá que la proteína realice adecuadamente su función biológica. Lamentablemente, no siempre es posible

dirigir el diseño de inhibidores sobre el sitio activo, pues es una región que está muy conservada en diferentes especies a lo largo de la evolución, esto hace que el ligando se una con la misma afinidad a la enzima de un organismo patógeno que a la del huésped. Existen dos alternativas que para identificar posibles sitios de unión para el reconocimiento de moléculas pequeñas. La primera es computacional y consiste en revisar la superficie molecular en busca de cavidades con ciertas características de tamaño, hidrofobicidad y grupos funcionales. La segunda es experimental y en ella se requiere determinar los sitios donde se albergan moléculas de solvente orgánico que difunden por el cristal de una proteína. La ubicación de tales moléculas de solvente se determina por difracción de rayos X y se consideran probables sitios de unión para un ligando. (*Padilla J, et al*)

Mediante el modulo MOLCAD SURFACES, se realizo un estudio en la enzima Metiltransferasa para conocer su sitio de acción y así determinar por medio del estudio de su superficie y potencial electrostático visualizar la zona que se utilizaría para los estudios de interacción.

Los aminoácidos involucrados con el sitio de interacción de la enzima son *Lys*₁₆₂, *Arg*₁₆₅, *Arg*₂₄₀, *Arg*₂₂₈, *Thr*₂₂₆, *Ile*₂₄₉, *Tyr*₂₄₂, concentrados en la región con mayor potencial electrostático. Lo cual indica que es el sitio en donde se llevaran a cabo las interacciones con las moléculas antineoplásicas.

RECONOCIMIENTO MOLECULAR PROTEINA-LIGANDO

El modelado molecular ha permitido crear modelos tridimensionales de receptores y ligandos posibilitando conocer el comportamiento de ambos a nivel submolecular.

La tarea de acomodar una molécula orgánica en una cavidad de la proteína blanco no es sencilla. En el más sencillo de estos esquemas se determina el número de contactos totales que pueden establecerse entre cada pareja de átomos del sitio de unión y del ligando, en una orientación particular de éste. Se considera formado un contacto cuando un átomo del ligando y otro del sitio de unión se encuentran a una distancia menor o igual a la de un valor umbral (5 Å). Si la forma geométrica del ligando es

complementaria a la de la cavidad una orientación adecuada generará un gran número de contactos y se le asignará un puntaje alto; por supuesto que debe haber penalizaciones por el traslape de cualquier átomo del ligando con los de la proteína para evitar así interacciones no realistas. (*Padilla J, et al*)

Aunque este criterio de evaluación es bueno para detectar compatibilidad geométrica, no considera la naturaleza de los átomos que interactúan, es decir, otorga el mismo peso a tener dos átomos cercanos con carga del mismo signo que con carga opuesta o sin ella. Una forma alterna y más confiable para asignar puntajes consiste en hacer uso de programas de regularización de geometría o de simulación de dinámica molecular. (*Padilla J, et al*)

De acuerdo a lo anterior y a los resultados obtenidos en el presente trabajo, se tiene que de los 15 estudios de Docking realizados y de acuerdo a los valores obtenidos de ΔE *binding* se tiene el siguiente orden de afinidad de los ligandos por la Metiltransferasa; DTIC (-273.692) > SLCNUala (-114.484) > SLDTIC (-88.356) > SLTA8 (-83.34) > SLTA4 (-82.417) > SLCNUleu (-79.801) > SLTA6 (-79.726) > CCNU (-76.43) > TEMOZOLOMIDA (-71.645) > SLTA5 (-69.381) > SLTA10 (-64.075) > SLTA7 (-59.824) > SLTA1(-58.712) > SLTA3 (-57.237).

Los aminoácidos que predominaron en los enlaces obtenidos fueron; Isoleucina, Lisina, Treonina, Arginina, y Tirosina, los cuales como se puede observar corresponden a los aminoácidos del sitio activo de la enzima metiltransferasa.

Los estudios de modelado molecular indican que la Dacarbazina es bien acomodada dentro de la cavidad (sitio activo) de DNMT, formando 4 enlaces, involucrando a los siguientes aminoácidos; Ile 249 (2.6 Å), Lys 162 (1.774, 1.984 Å), THR 250 (2.696 Å). Dicha interacción arrojó una ΔE *binding* de -273.692 Kcal. /mol. En donde los enlaces involucrados (ligando-enzima) son de origen electrostático y puentes de hidrogeno y cuyas distancias se encuentran por debajo de los 5 Å, lo cual nos indica que la Dacarbazina es el ligando con mayor afinidad por la enzima.

La tarea de acomodar una molécula orgánica en una cavidad de la proteína blanco no es sencilla, y debido a que la dacarbazina es de menor tamaño en comparación con los demás ligandos, pudo ser acomodada perfectamente dentro de toda la cavidad de la DNMT, de la misma manera se pudieron obtener mas y mejores interacciones y diferentes posiciones dentro de la cavidad en comparación con los demás ligandos.

El siguiente complejo con mejor energía de interacción fue el de SLCNUala-Metiltransferasa cuya energía fue de -114.484 Kcal. /mol, cuyos enlaces obtenidos son puentes de hidrógenos formados por Lys 162(1.742 Å), Arg 240, (1.736, 2.881 Å), Arg 228 (1.721 Å) y distancias menores a los 3 Å.

Este resultado aunado con los obtenidos en estudios de efectos antimelanómicos realizados in vivo (*M. Zheleva, 2001*), en el cual dicho análogo de CCNU muestra un alto efecto antimelanómico, cuya actividad se atribuye a el efecto antioxidante del radical nitroxil, se deben relacionar para permitir evaluar o diseñar nuevos candidatos que interaccionen con el receptor.

Los análogos de DTIC que mostraron más favorable ΔE binding fueron SLDTIC, SLTA8, SLTA4, SLTA 6, cuyas energías fueron de -88.35, -83.34, -82.417 y -79.726 Kcal. /mol respectivamente con enlaces menores a 5Å.

El análogo SLDTIC de Dacarbazina presento un mejor ΔE binding de -88.35 que los demás análogos conformando 4 enlaces entre oxígeno 33, oxígeno 10, nitrógeno 11, nitrógeno 5 y los átomos de hidrógeno de Arginina 228, Lisina 162, isoleucina 86 y treonina 250 respectivamente. Predominando los enlaces de hidrogeno.

Para SLTA4 predominan los enlaces entre los átomos de fluor, carbono 10 y oxígeno 32 del ligando y los hidrógenos de los aminoácidos Arg 165, Thr 250, Lys 162 y Arg 228, cuyos enlaces son de origen puentes de hidrogeno.

Los enlaces obtenidos de SLTA6 fueron entre los átomos oxígeno 32, hidrogeno 50, oxígeno 49, carbono 10 y oxígeno 48 entre los átomos de hidrógeno de Arg 228, Arg 165, predominando este ultimo. Dichos enlaces son en su mayoría de origen puentes de hidrogeno.

Para SLTA 8 la mejor ΔE binding fue de -83.34, como se puede observar en la tabla No 14 de resultados para SLTA8, los mejores ΔE binding están compuestos por solo un enlace o dos ; -81.132, **-83.34**, predominando la interacción entre el oxígeno 32 del ligando y los hidrógenos 4530 del aminoácido arginina 240, posteriormente -70.751 formado por dos interacciones, nitrógeno 8 y oxígeno 23 entre el hidrogeno 4612 de Thr 250 e hidrogeno 4533 de Arg 240 respectivamente, -72.229 también formado por dos enlaces, nitrógeno 8 y oxígeno 23 entre los átomos de hidrogeno de Lisina 162 y Arginina 240.

El complejo con más número de interacciones fue el de ΔE binding -14.92 con 5 interacciones, de acuerdo a la energía obtenida se puede decir que a pesar del gran numero de interacciones son débiles y no muy estables debido a su no muy favorables ΔE binding. Con lo cual y debido a lo anterior se toma a ΔE binding -83.34 como la mejor y mas favorable interacción complejo-enzima de SLTA8. En un estudio in Vitro, SLTA8 inhibió la proliferación de células de melanoma B16 más que SLTA6. (*M. Zheleva, 2001*)

SLTA5 (-69.381) SLTA10 (-64.075) SLTA7 (-59.824) SLTA1 (-58.712) SLTA3 (-57.237) son los análogos de triazinas que tienen una mayor energía de interacción a comparación de los demás ligandos trabajados, dichas interacciones no dejan de ser favorables.

Los efectos benéficos como una alta actividad antimelanómica y baja toxicidad de las triazinas spin labeled puede ser atribuida a el efecto antioxidante del nitroxido incorporado. La introducción de este antioxidante también permite una acumulación selectiva en el tumor selectivo melanoma B16 y en el cerebro. (*M. Zheleva, 2001*)

Así pues, a pesar de que en teoría DTIC destruye células en todas las fases de su ciclo y de acuerdo su favorable ΔE binding de DTIC obtenida en el presente trabajo no quiere decir que sea el antineoplasico de mejor elección ya que además de ser inestables (fotosensibilidad) presenta una alta toxicidad al igual que Temozolomida y

CCNU. Desafortunadamente, la eficacia clínica de estos agentes es limitada por que causan una toxicidad retardada hematológica acumulada.

Debido a lo anterior se han realizado síntesis de análogos de estos compuestos, reemplazando el anillo imidazol con un anillo heteroaryl estabilizando las moléculas y disminuyendo los efectos adversos.

SLCNUleu fue el segundo análogo de CCNU trabajado, obteniéndose del Docking realizado una ΔE binding -79.801, existiendo interacción entre oxígeno 40, carbono 38, oxígeno 44, oxígeno 33 y los hidrógenos de los aminoácidos Lisina 162, Treonina 226 y arginina 240 respectivamente.

CCNU molécula de la cual parten SLCNUala y SLCNUleu, formó un complejo con una ΔE binding favorable de -76.43 Kcal. / mol, el cual es mayor que los ΔE binding de sus análogos lo cual se debe a que a estos últimos se les atribuye una mejor acción metilante y carbomoiante debido a su radical nitroxil introducido en su molécula. Las interacciones fueron formadas por el oxígeno 25, carbono 20, oxígeno 21 y los átomos de hidrogeno de Lisina 162, Arginina 165.

Estos análogos de CCNU han mostrado una ventaja sobre este, tanto en estudios in vivo como en los obtenidos en este trabajo de docking. Estas nitrosoureas muestran in vivo una alta actividad antileucemica contra el linfoma L1210.

Una toxicidad reducida e incremento en las actividades antineoplásicas fue llevado a cabo cuando grupos nitroexil (aminoxyl), tales como 2, 2, 6,6-tetrametilpiperidina-N-Oxyl (**TMPO**) fue introducido dentro de la estructura química de cierto fármaco anticancerígeno. Este descubrimiento alentó a los investigadores a sintetizar un número de análogos spin labeled de los fármacos anticancerígenos CCNU y DTIC. Estos compuestos muestran ventajas sobre CCNU y DTIC, teniendo baja toxicidad y alta actividad anticancerígena contra modelos de tumores experimentales. (*M. Zheleva, 2001*)

Temozolomida formó un complejo enzima-ligando con ΔE binding de -71.645 Kcal /mol, cuyas interacciones se dieron entre oxígeno 17, nitrógeno 18, nitrógeno 8,

carbono 6, oxígeno 10 y los átomos de hidrógeno de Arginina 240, Isoleucina 249, Treonina 226.

Uno de los inconvenientes para obtener una energía de interacción lo suficientemente favorable entre enzima-ligando es la accesibilidad estérica, la facilidad con la que el ligando sea acomodado dentro del sitio de acción de la enzima y esto se puede observar haciendo una comparación entre la Dacarbazina y sus análogos.

Los enlaces formados entre enzima-ligando fueron en su mayoría puentes de hidrógeno, interacciones electrostáticas e interacciones o fuerzas de VdW.

La intención es emplear ecuaciones matemáticas de la física clásica que determinen la energía no covalente de la unión blanco-ligando como función de las distancias atómicas entre moléculas.

Para calcular la energía electrostática entre dos átomos cargados puede utilizarse la ecuación de Coulomb:

$$E = k \cdot \frac{q_B \cdot q_L}{d_{BL}}$$

Valores negativos, generados por cargas con signo opuesto, indican interacciones favorables, y viceversa.

De esta forma, como es de esperarse, la menor distancia entre átomos genera la mayor energía de interacción. Para estimar las relaciones de tipo van der Waals existe una expresión matemática típicamente descrita por:

$$E = \frac{A}{d_{BL}^{12}} - \frac{B}{d_{BL}^6}$$

Donde A y B representan los valores de constantes que dependen de la naturaleza de los dos átomos que establecen la interacción. En los cálculos de *Docking* es común emplear más de un criterio de asignación de puntaje para evaluar de manera más completa las diferentes orientaciones que adquiere cada una de las moléculas en la cavidad del blanco. Es importante mencionar que los cálculos de energía, debidos tanto

a las contribuciones electrostáticas como a las de tipo van der Waals, deben repetirse para cada pareja de átomos que intervienen en el reconocimiento molecular. (*Padilla J, et al*)

Las energías totales y los calores de formación de las moléculas son un reflejo de la estabilidad de las mismas, por lo que el empleo de estos índices puede conducir a la explicación del fenómeno estudiado. Estos procedimientos ayudan al mejor entendimiento del comportamiento de estos sistemas a nivel subcelular, permitiendo establecer comparaciones entre los datos teóricos y los experimentales, e incluso realizar predicciones cuantitativas. Teniendo en cuenta los avances que promete tener la farmacología molecular, es de suponer que el futuro del diseño de fármacos no esté destinado como hasta el presente, a la obtención de sustancias que puedan ser reconocidas por los receptores o que modulen la síntesis, metabolismo o recaptación de los neurotransmisores, sino que estará orientado a obtener sustancias que actúen sobre los sistemas enzimáticos activadores de la cascada de eventos que lleva consigo una respuesta farmacológica

Con estos resultados es posible conocer la naturaleza de la unión, la flexibilidad del receptor, y las interacciones que mantienen al ligando unido al mismo, pudiendo estimarse por tanto la energía de estabilización de este complejo, y además, el aporte por separado, de cada una de las regiones del ligando.

Esto permite además, la inserción de estructuras **construidas o diseñadas** intencionalmente para su ajuste exacto al receptor, siendo fuente interesante de generación de nuevas entidades farmacológicamente activas.

El influir mediante estos fármacos sobre estos mecanismos intermediarios entre el receptor y el efector, pueden dar origen a sustancias muy selectivas que operen selectivamente sobre las células que padezcan la disfunción.

16. CONCLUSIONES

- Se determinó el sitio activo de la enzima Metiltransferasa y los aminoácidos involucrados en dicha región.
- Todas las moléculas con actividad anticancerígenas utilizadas como ligandos, mostraron tener gran afinidad por la enzima Metiltransferasa.
- La Dacarbazina fue la molécula con mejor energía de interacción.
- Los análogos de Lomustina (CCNU) presentan una mejor afinidad por la enzima Metiltransferasa que la CCNU.

17. BIBLIOGRAFIA

1. Antoaneta M. Zheleva, Vesselina G. Gadjeva. 2001. Spin labeled nitrosoureas and triazenes and their non-labelled clinically used analogues — a comparative study on their physicochemical properties and antimelanomic effects. *International Journal of Pharmaceutics* 212; pp257–266.
2. Bertram G. Katzung. *Farmacología básica y clínica. Manual moderno.* 8ª edición. 2002. México. pp1035-1043.
3. Bodo Brueckner and Frank Lyko. 2004. DNA methyltransferase inhibitors: old and new drugs for an epigenetic cancer therapy. *TRENDS in Pharmacological Sciences*, Vol.25 No.11. pp551-554.
4. Brian J. Denny, Richard T. Wheelhouse, Malcolm F. G. Stevens, Lincoln L. H. Tsang, and John A. Slack. 1994. NMR and Molecular Modeling Investigation of the Mechanism of Activation of the antitumor drug Temozolomide and Its Interaction with DNA. *Biochemistry*. 33. pp 9045-9051.
5. Cuesta Terán, Martínez de la Gándara. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud.* Vol. 24, No. 1-2000.
6. Enrique Moreno Guerrero. 1997. Tesis Maestría. *Diseño Molecular y Síntesis Orgánica de Fenilcarbamatos de Etilo con Actividad Antihelmíntica. “Relación Estructura Química –Actividad Biológica”.* FESC. pp 12-18.
7. F. A. Feltus, E. K. Lee, J. F. Costello, C. Plass and P. M. Vertino. Predicting aberrant CpG island methylation. *PNAS*. Vol 100. No 21. 2003 .pp12253-12258
8. Finn Drablos, Emadoldin Feyzi, Per Arne Aas, Cathrine B. Vaagbo, Bodil Kavli, Marit S. Bratlie, Javier Peña-Díaz, Marit Otterlei, Geir Slupphaug, Hans E. Krokan. 2004. *DNA Repair.*

9. Gabriel Cuevas, Fernando Cortés. Introducción a la Química Computacional. 2003. Fondo de Cultura Económica. pp.11, 15-16, 28-36,114.
10. Goodman & Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. Joel G. Hardman. Lee E.Limbird. Vol II. 10ª edición. Mc.Graw-Hill. México.2003. pp
11. Harold Kalant. Walter H. E.Roschlau. Principios de farmacología mèdica. 6ª ediciòn. Oxford University Press. 2002. México.pp.
12. Hernández García Sergio. Perspectivas del Empleo de la Apoptosis como Posible Terapia para el Cáncer. Tesis Profesional. Cuautitlán Izcalli Estado de México. 1998
13. Ilse Van den Wyngaert, Joërg Sprengel, Stefan U. Kass, Walter H.M.L. Luyten. 1998. Cloning and analysis of a novel human putative DNA methyltransferase. FEBS Letters 426, 283-289.
14. *James G. Herman* U1999, *seminars in Cancer Biology*, Vol 9,: pp. 359-367
15. J.C. Escalona, R. Carrasco, J. A. Padrón. Introducción al diseño de Fármacos. Folleto para la docencia de la asignatura de Farmacia. Universidad de Oriente.
16. Jean B Margot, Ann E Ehrenhofer-Murray and Heinrich Leonhardt. 2003. Interactions within the mammalian DNA methyltransferase family BMC Molecular Biology, 4:7. 1-9
17. Jonathan G. Moggs,^a Jay I. Goodman,^{b,1} James E. Trosko,^c and Ruth A. Roberts^d. Epigenetics and cancer: implications for drug discovery and safety assessment. Toxicology and Applied Pharmacology 196 (2004) 422–430.
18. Jon A. Erickson, Mehran Jalie, Daniel H. Robertson, Richard A. Lewis. Lessons in Molecular Recognition: The Effects of Ligand and Protein Flexibility on Molecular Docking Accuracy.2004. J. Med. Chem. 47, 45-55.
19. Juan Andrés, Juan Beltrán. 2000. Química teórica y computacional. Universitat Jaume I.

20. Joshina Ortiz Alma Yuriko. 2001. Comparación Riesgo – Beneficio Costo de los Diferentes Tratamientos Quimioterapéuticos contra el Cáncer. Cuautitlán Izcalli Estado de México.
21. Lunt, E., Newton, C. G., Smith, C., Stevens, G.P., Stevens, M. F.G., Straw, C. G., Walsh, R.J.A., Warren, P.J., Fizames, C., Lavelle, F., Langdon, S.P., & Vickers, L.M. 1987. *J. Med. Chem.* 30, 357-365.
22. Malcolm J.M. Darkes, Greg L. Plosker. 2002. Advanced Cancers. Temozolomide. A Review of its Use in the Treatment of Malignant Gliomas, Malignant Melanoma and Other Advanced Cancers. *Am. J Cancer.* 1 (1), 55-80
23. Ma. F paz, Ricard Yaya-Tur otros. CpG Island Hypermethylation of the DNA Repair Enzyme Methyltransferase Predicts Response to Temozolomide in Primary Gliomas. *Clinical Cancer Research* 2004; 10, 4933-4938.
24. M. Nakao / *Gene* 278 (2001) 25–31
25. Ming Zhu Fang, Yimin Wang, Ni Ai, Zhe Hou, Yi Sun, Hong Lu, William Welsh and Chung S. Yang. 2003. Tea polyphenol (-)-Epigallocatechin-3-Gallate Inhibits DNA Methyltransferase and Reactivates Methylation-Silenced Genes in Cancer Cell Lines. *Cancer Research* 63. 7563-7570, November 15.
26. Moshe Szyf. 2001. Towards pharmacology of DNA methylation. *TRENDS in Pharmacological Sciences.* Vol.22. No.7. 350-354
27. Moshe Szyf, Pouya Pakneshan, Shafaat A. Rabbani. DNA methylation and breast cancer. *Biochemical Pharmacology* 68 (2004) 1187–1197.
28. Pawel Siedlecki, Regine Garcia Boy, Slobodan Comagic, Ralf Schirmacher, Manfred Wiessler, Piotr Zielenkiewicz, Sandor Suhai, and Frank Lyko. 2003. Establishment and functional validation of a structural homology model for human DNA methyltransferase 1. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 306 (2003) 558–563

29. Padilla J, et al. Simulación del reconocimiento entre proteínas y moléculas orgánicas o docking. Aplicación al diseño de fármacos. *Mensaje bioquímico*.2002: XXVI; 129-145.
30. Sriharsa Pradhan* and Pierre-Olivier Esteve. Clinical Immunology .Mammalian DNA (cytosine-5) methyltransferases and their expression. 109 (2003) 6–16.
31. The Tripos Bookshelf Ver. 6.9
32. TIG April 2000, volume 16, No. 4
33. Vesselina Gadjeva, Grozdanka Lazarova, Antoaneta Zheleva. 2003. Spin labeled antioxidants protect bacteria against the toxicity of alkylating antitumor drug CCNU. *Toxicology Letters* 144; 289-294.
34. Vesselina G. Gadjeva. 2002. Two spin labeled triazenes: relationship between biochemical and biological activities. *International Journal of Pharmaceutics* 247; 39-45.
35. <http://www.inegi.gob.mx>
36. <http://www.csb.org/pdb/>

18. APENDICE

SECUENCIA DE AMINOACIDOS DE LA ENZIMA METILTRANSFERASA

Deposited: 22-Oct-1996 Exp.
Method: X-ray
Diffraction Resolution: 2.70 Å

{ [EXPLORE](#) }

Title Ternary Structure Of Hhai Methyltransferase With Hemimethylated DNA and Adohcy

Classification Complex (Methyltransferase/DNA)

Compound **Mol_Id:** 1; **Molecule:** Hhai Methyltransferase; **Chain:** A; **Ec:** 2.1.1.73
Mol_Id: 2; **Molecule:** DNA; **Chain:** C, D; **Engineered:** Yes

TOTAL DE AMINOACIDOS: 2753

SEQRES	1	A	327	MET	ILE	GLU	ILE	LYS	ASP	LYS	GLN	LEU	THR	GLY	LEU	ARG
SEQRES	2	A	327	PHE	ILE	ASP	LEU	PHE	ALA	GLY	LEU	GLY	GLY	PHE	ARG	LEU
SEQRES	3	A	327	ALA	LEU	GLU	SER	CYS	GLY	ALA	GLU	CYS	VAL	TYR	SER	ASN
SEQRES	4	A	327	GLU	TRP	ASP	LYS	TYR	ALA	GLN	GLU	VAL	TYR	GLU	MET	ASN
SEQRES	5	A	327	PHE	GLY	GLU	LYS	PRO	GLU	GLY	ASP	ILE	THR	GLN	VAL	ASN
SEQRES	6	A	327	GLU	LYS	THR	ILE	PRO	ASP	HIS	ASP	ILE	LEU	CYS	ALA	GLY
SEQRES	7	A	327	PHE	PRO	CYS	GLN	ALA	PHE	SER	ILE	SER	GLY	LYS	GLN	LYS
SEQRES	8	A	327	GLY	PHE	GLU	ASP	SER	ARG	GLY	THR	LEU	PHE	PHE	ASP	ILE
SEQRES	9	A	327	ALA	ARG	ILE	VAL	ARG	GLU	LYS	LYS	PRO	LYS	VAL	VAL	PHE
SEQRES	10	A	327	MET	GLU	ASN	VAL	LYS	ASN	PHE	ALA	SER	HIS	ASP	ASN	GLY
SEQRES	11	A	327	ASN	THR	LEU	GLU	VAL	VAL	LYS	ASN	THR	MET	ASN	GLU	LEU
SEQRES	12	A	327	ASP	TYR	SER	PHE	HIS	ALA	LYS	VAL	LEU	ASN	ALA	LEU	ASP
SEQRES	13	A	327	TYR	GLY	ILE	PRO	GLN	LYS	ARG	GLU	ARG	ILE	TYR	MET	ILE
SEQRES	14	A	327	CYS	PHE	ARG	ASN	ASP	LEU	ASN	ILE	GLN	ASN	PHE	GLN	PHE
SEQRES	15	A	327	PRO	LYS	PRO	PHE	GLU	LEU	ASN	THR	PHE	VAL	LYS	ASP	LEU
SEQRES	16	A	327	LEU	LEU	PRO	ASP	SER	GLU	VAL	GLU	HIS	LEU	VAL	ILE	ASP
SEQRES	17	A	327	ARG	LYS	ASP	LEU	VAL	MET	THR	ASN	GLN	GLU	ILE	GLU	GLN
SEQRES	18	A	327	THR	THR	PRO	LYS	THR	VAL	ARG	LEU	GLY	ILE	VAL	GLY	LYS
SEQRES	19	A	327	GLY	GLY	GLN	GLY	GLU	ARG	ILE	TYR	SER	THR	ARG	GLY	ILE
SEQRES	20	A	327	ALA	ILE	THR	LEU	SER	ALA	TYR	GLY	GLY	GLY	ILE	PHE	ALA
SEQRES	21	A	327	LYS	THR	GLY	GLY	TYR	LEU	VAL	ASN	GLY	LYS	THR	ARG	LYS
SEQRES	22	A	327	LEU	HIS	PRO	ARG	GLU	CYS	ALA	ARG	VAL	MET	GLY	TYR	PRO
SEQRES	23	A	327	ASP	SER	TYR	LYS	VAL	HIS	PRO	SER	THR	SER	GLN	ALA	TYR
SEQRES	24	A	327	LYS	GLN	PHE	GLY	ASN	SER	VAL	VAL	ILE	ASN	VAL	LEU	GLN
SEQRES	25	A	327	TYR	ILE	ALA	TYR	ASN	ILE	GLY	SER	SER	LEU	ASN	PHE	LYS
SEQRES	26	A	327	PRO	TYR											

GLOSARIO

Célula somática: Células del cuerpo que no contribuyen a la descendencia.

Célula tallo: Células célula madre; es toda célula que da origen a nuevas células.

Carbomoiante: Reacciones con compuestos carbonilo participan otros grupos funcionales y aminoácidos como Lisina Arginina.

Carozo: núcleo

Epigenético: mecanismo de regulación de la expresión (transcripción y traducción) de genes que no dependen de cambios en la secuencia primaria del DNA, sino que opera a un nivel superior (p. ej., metilación, efectos de posición.)

Genotóxico: Es todo aquello que ocasiona daño o es dañino para el ADN.

Histolisis: Ruptura celular

Mielosupresión: Afección en la cual disminuye la actividad de la médula ósea; esto da lugar a que haya menos glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas

Vesicante: sustancias que pueden ser sólidas, líquidas o gaseosas que en contacto con la piel producen irritación y ampollas.