

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA**

**ESTUDIO ACUARESA DE ANÁLOGOS DEL 2,5- DIMETIL -
(4-(2-FENILMETIL)BENZOIL)-1H-PIRROL-3-
CARBOXILATO DE METILO (FPL 64176)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICO BIÓLOGA

PRESENTA

ALEJANDRA MARCELA ROMÁN GONZÁLEZ

MÉXICO, D.F.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

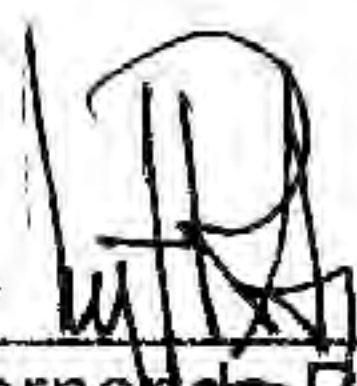
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

Jurado Asignado:

Presidente: Profa. María Luisa García Padilla.
Vocal: Prof. Manuel Fernando Rubio Arroyo.
Secretario: Profa. Ana María Vázquez Álvarez.
1er. Suplente: Prof. Héctor Antonio Ponce Monter.
2do. Suplente: Prof. Alejandro Ortiz Osorio.

Sitio donde se desarrolló el tema:
Instituto de Química, UNAM.



Dr. Manuel Fernando Rubio Arroyo.
Asesor.



Alejandra Marcela Román González.
Sustentante.

INDICE

	Página
Capítulo I	
Introducción.....	1
Capítulo II	
Antecedentes.....	4
2.1 Receptores.....	4
2.2 Mapeo de Receptores	5
2.3 La Química del Calcio.....	6
2.4 Canales del Calcio.....	8
2.5 Movilización Celular de Ca	12
2.5.1 Intercambio $\text{Na}^+ : \text{Ca}^{2+}$	13
2.5.2 Ca^{2+} - ATPasa	13
2.6 Bomba de Calcio	14
2.7 Acción Hormonal	16
2.8 Inositol -1,4,5- trifosfato (IP3)	17
2.9 Moduladores de Canales de Ca	17
Capítulo III	
Métodos de Química Computacional Aplicada al ACUARESA	22
3.1 Propiedades Fisicoquímicas	23
3.1.1 Sigma de Hammett	24
3.1.2 Densidad Electrónica	24
3.1.3 Coeficiente de Partición	26
3.1.4 Ecuación de Taft	27

3.1.5 Refractividad Molar	28
3.2 Métodos de Análisis Conformacional	28
3.3 Teoría de Orbitales Moleculares	29
3.4 Métodos Mecano-Cuánticos	34
3.5 Métodos MNDO y AM1	36
3.6 Mecánica Molecular	38

Capítulo IV

Resultados y Discusión	40
4.1 Metodología y Resultados	42
4.1.1 Cálculo de Conformación	42
4.1.2 Cálculo de propiedades Fisicoquímicas	43
4.1.3 Densidades Electrónicas	46
4.1.4 Ordenes de Enlace	48
4.1.5 Orbitales Moleculares	49
4.1.6 Estudio ACUARESA	52
4.2 Discusión	59

Capítulo V

Conclusiones	61
Bibliografía	62

CAPITULO I

INTRODUCCION

Las enfermedades del corazón han tomado gran importancia en la última década a nivel mundial, éstas se encuentran entre las tres principales causas de mortalidad de la población general.

A pesar de los 200 años de uso de los glucósidos digitálicos, para el tratamiento de las cardiopatías, aún hay mucho campo de investigación en el área, dada la alta tasa de mortalidad entre los pacientes con insuficiencia cardiaca avanzada, que por lo general se asocia con muerte súbita.

Aunque las causas por las que se pueden desarrollar enfermedades del corazón son diversas, actualmente están ligadas a la industrialización de los países, al crecimiento del sector urbano, a las diferencias en la educación para la salud y por tanto a una vida más acelerada, lo que provoca un estado de *stress* tal, que afecta a los individuos de manera importante.

Anteriormente este tipo de enfermedades se asociaban con las poblaciones adultas o viejas; en la actualidad, las cardiopatías también afectan de manera significativa a los jóvenes, por ello la emergencia de nuevos agentes terapéuticos para controlar estos padecimientos¹.

Actualmente se cuenta con una gran variedad de fármacos auxiliares para el tratamiento de cardiopatías, entre los que se encuentran los antagonistas y agonistas de canales de Ca^{2+} .

El desarrollo de fármacos bloqueadores o antagonistas de canales de calcio ha tenido éxito con el descubrimiento de moléculas como: verapamilo, diltiazem y nuevos derivados de 1,4-dihidropiridina que han tomado actualmente gran relevancia.

Por el contrario el desarrollo de los activadores o agonistas de canales de calcio (ACC) no ha tenido mucho éxito dado que las moléculas encontradas como: BAY K 8644, CGP 28392 y RS 36026 tienen fuertes efectos colaterales que han restringido su uso clínico². Actualmente se está estudiando una nueva clase de compuestos: 2,5,-Dimetil-(4-(2-fenilmetil) benzoil)-1H-pirrol-3-carboxilato de metilo (FPL64176) y análogos de éste, los cuales son activadores de canales de calcio tipo-L voltaje-dependientes, en células de tejido cardiaco y vascular³, trabajo que estamos tomando como base para ejemplificar cómo los problemas actuales deben resolverse con herramientas y técnicas avanzadas, que nos permitan mejores opciones para asegurar el éxito, por ejemplo el diseño de fármacos por computadora⁴, con el cual se desarrollo este trabajo y con el que también se han logrado muchos adelantos en diversas áreas.

El análisis teórico conformacional tiene como función principal calcular la energía asociada a una conformación particular de cierta molécula, con la finalidad de proporcionar parámetros fisicoquímicos de interés para el químico.

Anteriormente las moléculas poliatómicas constituían grandes dificultades en el desarrollo de los cálculos mecánico-cuánticos aproximados; en la actualidad, este impedimento ya no existe gracias a la creación de computadoras más poderosas con gran capacidad de memoria y una mayor rapidez; además, los métodos que se utilizan, son actualizados dependiendo de las necesidades de los investigadores, haciéndolos de esta manera más eficientes, por lo que podemos decir que específicamente los estudios de ACUARESA* pueden ayudar a dirigir investigaciones relevantes disminuyendo tiempo y costos invertidos para desarrollar nuevos fármacos.

*Nota: ACUARESA es la abreviatura que se utiliza para describir el Análisis Cuantitativo de la Relación Estructura-Actividad. Esta expresión fue introducida por el Dr. Pedro Lehmann, del Departamento de Farmacología y Toxicología del CINVESTAV-IPN. Las siglas corresponden a la traducción de QSAR: Quantitative Structure-Activity Relationship.

Estos estudios son de gran ayuda para entender el mecanismo de acción farmacológica de los compuestos e identificar los rasgos estructurales que influyen directamente en los diferentes tipos de actividad biológica.

El objetivo de este trabajo es realizar el análisis teórico conformacional y el cálculo de estructura electrónica de los derivados del FPL64176, para lo cual se calcularon 36 derivados carboxílicos de éste, empleando el programa de mecánica molecular PC Model 4,0 y de mecánica cuántica AM1 incluido en el paquete MOPAC 6,0 obteniendo como resultados la energía total, el potencial de ionización, la energía HOMO, la afinidad electrónica, la energía LUMO, el momento dipolar, los volúmenes moleculares y las densidades electrónicas de cada compuesto, al igual que las áreas de VDW y áreas accesibles al disolvente.

Con estos resultados se realizó el análisis de la distribución electrónica en cada uno de los compuestos, de igual manera, se analizaron los ordenes de enlace y las contribuciones de los orbitales atómicos; también se efectuó un estudio relacionando las propiedades fisicoquímicas mencionadas de éstos, con su actividad biológica (estudio ACUARESA), buscando así los parámetros más importantes que contribuyen a que se presente la eventual actividad biológica de estos compuestos.

Consideramos que la presente investigación puede representar un avance que de pie a estudios posteriores en el área, contribuyendo así al desarrollo de fármacos de utilidad para el tratamiento de cardiopatías y dando un ejemplo más de las ventajas del diseño de fármacos por computadora, como una herramienta actual de gran alcance.

CAPITULO II

ANTECEDENTES

2.1. RECEPTORES.

El término receptor se usa para describir una macromolécula con la que interactúa un fármaco para producir su efecto biológico característico.

El concepto receptor tuvo su origen desde fines del siglo pasado, surgiendo de algunos estudios experimentales realizados por Ehrlich y Langley⁵.

Los adelantos en bioquímica molecular, genética, farmacología y fisiología, han ampliado los conocimientos sobre las estructuras, mecanismos de acción y funciones bioquímicas de los receptores fisiológicos.

El clonado molecular ha permitido revelar secuencias de aminoácidos de varios receptores con lo que se ha logrado su expresión y estudio en condiciones genéticamente definidas y facilitando el análisis detallado de las relaciones estructura-actividad de las proteínas de señal mediante mutaciones dirigidas a sitios determinados; por lo que, el estudio de los mecanismos de acción se complementa con los estudios sobre estructura molecular y electrónica de los compuestos biológicamente activos (estudios estructura-actividad o ACUARESA), de tal manera que se encuentre respuesta a el ¿Cómo? y ¿Porqué? algunas moléculas producen eventualmente una respuesta biológica.

A la fecha se conoce que los receptores tienen fundamentalmente dos características: Especificidad de reconocimiento por su ligando y una amplificación del componente; es decir, la amplificación de la señal que permite producir la respuesta.

Se conocen dos tipos de interacciones fármaco-receptor: 1) las reversibles

2) las irreversibles. Las interacciones covalentes son irreversibles; por el contrario, las interacciones iónicas, ión-dipolo, dipolo-dipolo, puente de hidrógeno, transferencia de carga, hidrofóbicas y de Van der Waals son interacciones reversibles^{6,7}.

La función de los receptores fisiológicos, muchos de los cuales son componentes de la membrana plasmática, consiste en fijar un ligando apropiado y propagar su señal reguladora en la célula efectora (como ya se había mencionado) ya sea en virtud de un efecto intracelular directo o promoviendo la síntesis o liberación de otra molécula reguladora intracelular, denominada " segundo mensajero ".

2.2. MAPEO DE RECEPTORES.

Los efectos de la gran mayoría de los fármacos se deben a su interacción con los componentes macromoleculares del organismo, estos tienen sitios específicos donde se lleva a cabo dicha interacción y éste es conocido como sitio receptor.

Al hacer diseño de fármacos, se requiere de información completa acerca de la topografía de los sitios receptores y de las moléculas pequeñas ligadas con ellos. En esto es importante no sólo la posición de los núcleos atómicos y el sitio activo sino también y de manera más significativa, las densidades electrónicas (distribución de carga). Aunque se espera que la estructura cristalina de las proteínas receptoras pueda estar disponible en un futuro inmediato, la tendencia actual se basa en la hipótesis de que el receptor puede describirse por medio de estudios detallados de moléculas pequeñas que se unen a él. Particularmente, si se estudian las propiedades físicas y químicas, de estas moléculas se espera que los receptores se vayan gradualmente describiendo⁹.

La aproximación de enlaces reversibles (débiles) justifica el estudio de las moléculas activas en estado aislado o en solución, por medio de cálculos teóricos por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de alta resolución para caracterizar y mapear los receptores. Los estudios de estructura-actividad son frecuentemente

resumidos en forma de mapas de sitios receptores, los cuales intentan indicar la fisonomía esencial de un receptor responsable¹⁰.

La mayoría de los mapas de receptores que se han publicado, se basan fuertemente en los patrones de carga localizada, los cuales reflejarán las supuestas distribuciones en la molécula a la que se unirán.

Hasta hace poco, la distribución de carga detallada era en mucho desconocida y tenía que ser estimada con base en estructuras de resonancia, actualmente existen métodos precisos para calcular la distribución de carga por integración directa de los cuadrados de la función de onda molecular sobre volúmenes definidos. Un diseño revelador del receptor daría detalles de la topografía electrónica más que de cargas localizadas.

Un uso alternativo de las funciones de onda para producir información de la distribución de carga, es calcular campos de potencial molecular electrostático. Estos resultados pueden ser presentados como diagramas de contorno, que indican el potencial que experimentaría una unidad de carga en la presencia de la molécula⁷.

2.3. LA QUIMICA DEL CALCIO.

El ión calcio es el quinto entre los elementos más abundantes del organismo. Aproximadamente el 95% de este calcio está depositado en los huesos en forma de hidroxapatita (mineral de fosfato de calcio), la cantidad restante está distribuida en diversas formas.

En cantidades pequeñas [10^{-5} M] está presente en el líquido extracelular y en menor grado en la estructura y el citoplasma de algunas células, de tal manera que el calcio soluble se encuentra en una pequeña fracción, pero es éste quien tiene un papel crítico, pues desempeña funciones farmacológicamente importantes, incluyendo la transmisión de impulsos electroquímicos en el nervio y en las fibras musculares. El acoplamiento estímulo-secreción y relajación-contracción es esencial además para la integridad funcional de nervios y músculos, donde ejerce una gran influencia sobre la excitabilidad y la liberación de

neurotransmisores a concentraciones mM.

El ión Ca^{2+} es necesario para la contracción muscular, la función cardíaca y la coagulación de la sangre. Además, interviene como mediador en las acciones intracelulares de muchas hormonas.

El calcio puede clasificarse de acuerdo con su localización como: intracelular o extracelular. El calcio, dependiendo de la función a ejercer, debe estar disponible en los tejidos que lo requieren y en la concentración adecuada. De estas mediaciones de calcio intracelular, dependen eventos de alta afinidad que son posibles por la existencia de un alto gradiente de concentración interna de Ca^{2+} y por la presencia de canales selectivos; procesos de bombardeo y secuestro ocurren para regular el influjo, eflujo y almacenamiento de Ca^{2+} celular, lo que podemos observar en el esquema no. 3.

En el plasma, la concentración de Ca^{2+} se mantiene relativamente constante, alrededor de 2.5 mM, sin embargo, esto representa el total de tres componentes diferentes.

- 1) Alrededor del 40% del Ca^{2+} plasmático se encuentra fijado a proteínas, principalmente albúmina.
- 2) Aproximadamente el 10% está en forma de complejos con aniones como el citrato y el fosfato entre otros.
- 3) La fracción restante (50%) la constituye el calcio iónico difusible, Ca^{2+} . Esta forma es la que ejerce los efectos fisiológicos antes mencionados¹¹.

Como en el caso de otros constituyentes esenciales, el organismo ha desarrollado un sistema de control endócrino que mantiene las concentraciones plasmáticas del Ca^{2+} dentro del sistema. Las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} también son reguladas estrictamente mediante el intercambio de iones (esquema 3).

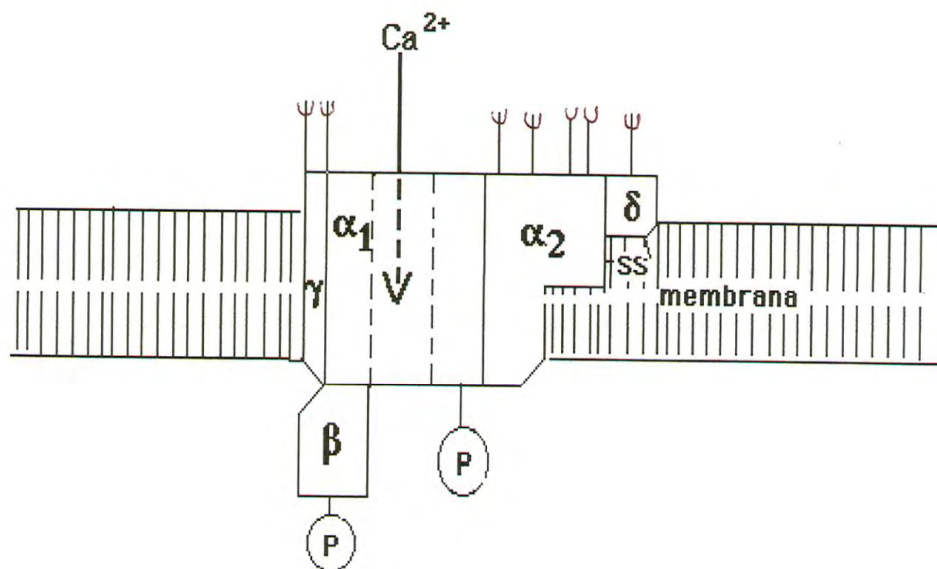
El calcio se absorbe en el intestino y la vía de eliminación son los riñones, se mantiene una gran reserva en el esqueleto, accesible para depósitos o extracción con dependencia de la demanda periférica. Principalmente son tres

factores los que regulan el metabolismo del Ca^{2+} : hormona paratiroidea (PTH), calcitocina y vitamina D.

2.4. CANALES DE CALCIO.

Un medio por el cual el ión calcio gana una mayor entrada a una variedad de células es vía proteínas transmembranales conocidas como canales de calcio ¹².

Los canales de calcio son proteínas multiméricas compuestas por cinco subunidades: α_1 , α_2 , β , γ y δ . Estas se muestran en el esquema 1. La subunidad denominada α_1 , es la que propiamente forma el canal; las demás subunidades son llamadas menores.



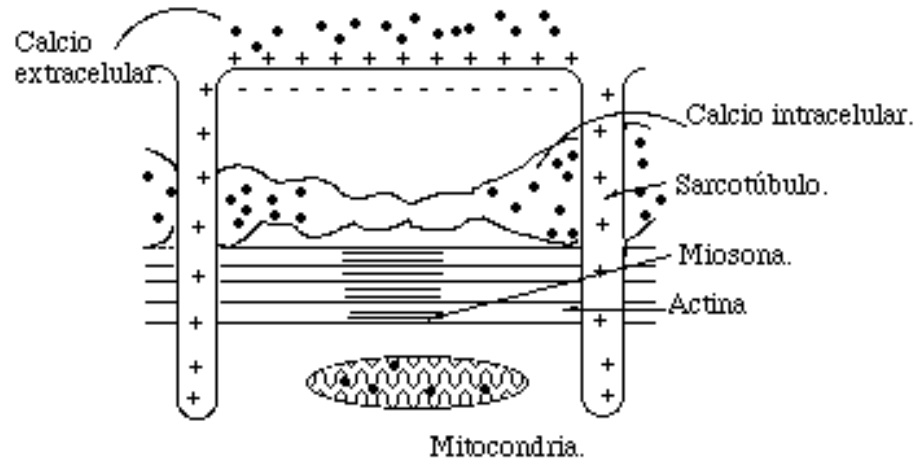
Esquema 1. Modelo propuesto para la estructura del canal de calcio. Se indican los sitios de fosforilación dependientes de AMPc (P), de glicosilación (Ψ y Υ) y de interacción con la membrana¹³.

El calcio extracelular entra a la célula vía canales de calcio. El influjo de iones calcio dentro de las células excitables es importante por la variación de eventos fisiológicos que suceden, incluyendo la liberación de neurotransmisores y la contracción muscular.

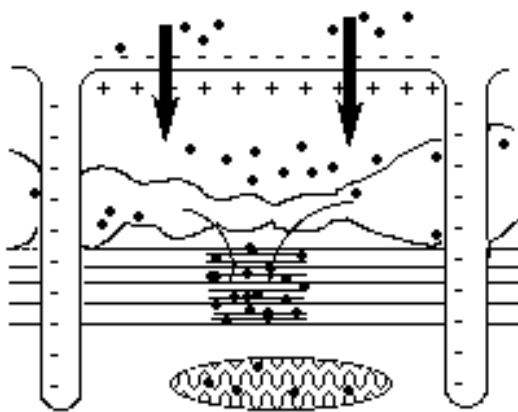
Existen dos formas por las que se puede estimular a las células excitables: Por estimulación química y eléctrica ¹⁴.

La célula en condiciones de reposo tiene una concentración intracelular de calcio, que por lo general es de bajo nivel (10^{-7} M) contra un gradiente de concentración, el calcio extracelular está a una concentración aproximada de 10^{-5} M. Cuando la célula es estimulada; por ejemplo, durante la contracción muscular, se produce la entrada de calcio a través de la membrana plasmática y aumenta la concentración intracelular. Este proceso se muestra en el esquema 2.

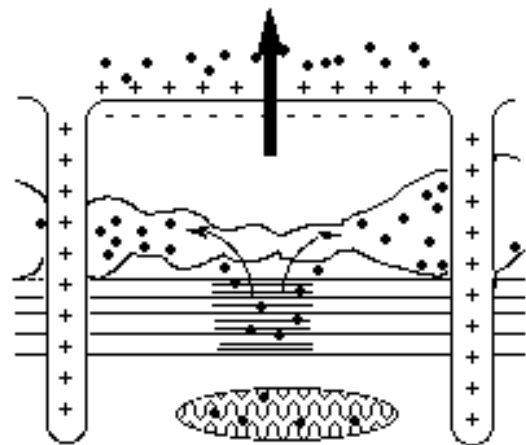
CORAZON NORMAL EN REPOSO.



EXCITACION-CONTRACCION.



RELAJACION



Esquema 2. Secuencia normal de liberación y reacumulación de calcio ¹⁴.

Los canales de calcio se clasifican como: voltaje-dependientes u operados por potencial (COV) y en canales operados por receptor (COR), estos últimos son sensibles a cambios químicos mediados en la membrana ¹⁵.

Algunos vasos sanguíneos también presentan un mayor ingreso de Ca^{2+} , cuando son dilatados, se dice que contienen canales " operados por tensión ".

Los canales de calcio llamados voltaje-dependientes son caracterizados electrofisiológicamente. Este tipo de canales se subclasifican en varios tipos dependiendo de la conductancia y sensibilidad al voltaje. Las fuentes de información sostienen cuatro categorías de canales de calcio dependiendo de sus propiedades electrofisiológicas (voltaje de activación) y estos son conocidos como canales de calcio tipo: T, L, P y N ^{2,16}.

Los canales de calcio tipo-L son también llamados "lentos" y los T "rápidos". Los canales tipo-L dominan en el sistema cardiovascular y algunas células sensoriales, estos canales tienen especial importancia en el control de acoplamiento relajación-contracción del musculo cardiaco. Los canales de calcio tipo-L voltaje-dependientes, proveen un mejor medio dentro de los tejidos cardiovasculares para ganar Ca^{2+} .

Los canales tipo-L se caracterizan por activarse con despolarizaciones intensas, donde el potencial de membrana alcance valores positivos a -10mV, por tener una conductancia grande de 20 a 25 pS y por inactivarse lentamente ¹⁷.

Farmacológicamente también pueden diferenciarse los canales tipo N, L y T. El canal tipo-L, es sensible a las 1,4-dihidropiridinas y los canales tipo-N y tipo-T, no. La toxina w-conotoxina, derivada del caracol marino *Conus geographus* , bloquea irreversiblemente a los canales tipo-N y tipo-L pero no a los tipo-T, en el SNC. El canal tipo-L muscular no es afectado por la toxina.

Asimismo, los canales de calcio pueden existir en dos conformaciones: activa o inactiva, estas corresponden a los estados abierto y cerrado del canal iónico¹⁸.

Los estudios de bioquímica y biofísica en la función de canales de calcio voltaje-dependientes y la regulación estímulo-respuesta al ingresar el Ca^{2+} a la célula, son importantes tanto por el hecho de investigar fármacos de uso terapéutico en esta área, así como por los adelantos obtenidos para conocer la función de estos canales, lo que puede traer avances en las ciencias antes mencionadas.

2.5. MOVILIZACION CELULAR DE CALCIO.

Como se dijo, la movilización de Ca^{2+} se da a dos niveles : intracelular y extracelular.

El almacenamiento intracelular de calcio tiene lugar en el retículo sarcoplásmico y en la mitocondria. El proceso de movilización de calcio en la mitocondria está regulado por enzimas. Dentro de la célula la movilización de calcio se lleva a cabo del citosol al retículo sarcoplásmico y a la mitocondria, y también en sentido inverso ² .

Las señales fisiológicas también son integradas en el interior de la célula, como resultado de interacciones entre las vías de segundos mensajeros. Los segundos mensajeros influyen entre sí en forma directa alterando los respectivos metabolismos, e indirecta compartiendo "blancos" intracelulares. Esta imagen superficialmente confusa, de las vías reguladoras permite a la célula responder a los agonistas, solos o combinados, con un ordenamiento integrado de segundos mensajeros y respuestas citoplásmicas. El segundo mensajero AMPc puede regular la función de Ca^{2+} extracelular a través de vías paralelas y muy interrelacionadas.

Los fármacos que intervienen en la movilización de Ca^{2+} , ya sean antagonistas o agonistas operan utilizando alguno de los siguientes sistemas:

- 1) Los canales de calcio voltaje-dependientes y operador-dependientes.

- 2) Intercambio $\text{Na}^+ : \text{Ca}^{2+}$.
- 3) Sistema Ca^{2+} - ATPasa.
- 4) Mitocondria expulsión/liberación de Ca^{2+}
- 5) Retículo sarcoplásmico Ca^{2+} - ATPasa.
- 6) Retículo sarcoplásmico Ca^{2+} liberación.

2.5.1. INTERCAMBIO $\text{Na}^+ : \text{Ca}^{2+}$

El intercambio $\text{Na}^+ : \text{Ca}^{2+}$ está incluido en muchos sistemas celulares de músculo cardíaco y neuronas. En general, este proceso electrónico con proporción $\text{Na}^+ : \text{Ca}^{2+}$ de aproximadamente 3:1 puede generar corriente, dependiendo de la dirección del gradiente de Na^+ , el proceso puede generar cualquier movimiento de Ca^{2+} externo o interno, siendo acorde con esto, el papel del intercambio $\text{Na}^+ : \text{Ca}^{2+}$ en la introducción de Ca^{2+} a las células. Siguiendo las despolarizaciones iniciales se produce una seria elevación de Na^+ intracelular por tanto movimiento de calcio.

2.5.2. Ca^{2+} - ATPasa

Como se indicó anteriormente, se puede mediar el eflujo de Ca^{2+} en el cruce de la membrana plasmática; esto sirve como un mecanismo de Ca^{2+} intracelular que puede ser utilizado posteriormente para restaurar el nivel de calcio post-estímulo. La alta afinidad Ca^{2+} -ATPasa ha sido reconocida en una gran variedad de células incluyendo las de músculo cardíaco, neuronas, macrófagos, plaquetas, etc. Las enzimas están sometidas a una fosforilación dependiente de Ca^{2+} .(esquema 3)

La alta afinidad Ca^{2+} -ATPasa está regulada por la calmodulina.

2.6. BOMBA DE CALCIO.

La bomba de calcio actúa continuamente, y está localizada en las paredes de los túbulos longitudinales del retículo sarcoplásmico, ésta, impulsa iones calcio, sacándolos del líquido sarcoplásmico y devolviéndolos a las cavidades vesiculares de los túbulos longitudinales. Esta bomba puede concentrar los iones de calcio unas 200 veces dentro de los túbulos, lo cual permite una concentración masiva de calcio en el retículo sarcoplásmico, y origina una pérdida casi total en el líquido de las miofibrillas; por lo que, excepto inmediatamente después de un potencial de acción, la concentración de iones calcio en las miofibrillas se conserva en concentraciones muy bajas¹⁰.

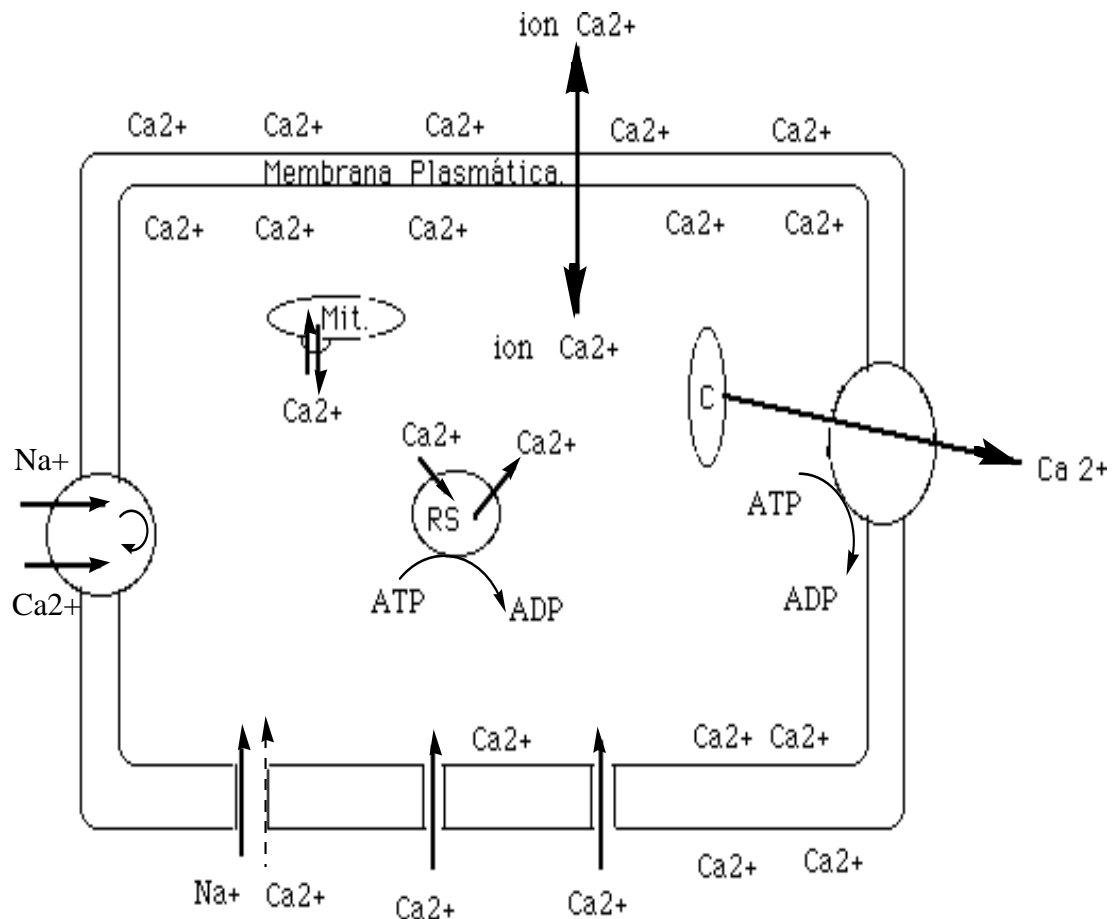
La bomba de Ca^{2+} depende del ATP, la resíntesis del ATP ocurre en parte, gracias al equilibrio entre la producción y utilización de energía, pero la principal responsable de casi toda la síntesis aeróbica del ATP es la fosforilación oxidativa, en consecuencia el consumo de oxígeno proporciona un índice adecuado del metabolismo miocárdico, por lo cual existe una relación entre los procesos de mantenimiento y consumo de oxígeno, éstos incluyen la reaccumulación del calcio que inició la contracción y por lo tanto causa la relajación y la restauración del equilibrio iónico motivado por la repolarización.

Durante la excitación se libera Ca^{2+} y por tanto dada la alta concentración intracelular de Ca^{2+} se lleva a cabo la contracción, en la relajación debe presentarse el efecto opuesto, el Ca^{2+} debe ser retirado del citosol, lo cual implica la intervención de la ATPasa activada por el Ca^{2+} , que se haya en el retículo sarcoplásmico. Este sistema funciona como una bomba de calcio incorporando al catión por acción del ATP ¹⁹.(ver esquema 2)

Con la hidrólisis del ATP se determina la translocación de dos moléculas de Ca^{2+} . El calcio interno puede ser utilizado para la formación de ATP.

El movimiento de calcio hacia dentro y fuera del retículo sarcoplásmico, está relacionado con la fosforilación y desfosforilación de la proteína que forma la bomba de Ca^{2+} . En presencia de Ca^{2+} y ATP esta proteína es rápidamente fosforilada y se acumula Ca^{2+} . En ausencia de ATP la proteína es desfosforilada y el Ca^{2+} sale del retículo sarcoplásmico.

En el esquema 3 podemos observar, este proceso.



Esquema no. 3. Representación de la movilización celular del nivel de calcio ¹⁹.

2.7. ACCION HORMONAL.

Las hormonas pueden funcionar como mensajeros químicos que coordinan las actividades de diferentes células en los organismos pluricelulares.

Las últimas investigaciones han revelado varios puntos comunes de la acción hormonal, de entre éstos se sabe, que la cascada del fosfoinosítido es otra vía de acción hormonal utilizada habitualmente: la hidrólisis de un fosfolípido de membrana produce dos mensajeros intracelulares: el inositol trifosfato que abre los canales de calcio y el diacilglicerol que activa la proteína quinasa.

Las señales fisiológicas también son integradas en el interior de la célula como resultado de interacciones entre las vías de segundos mensajeros. Se conocen relativamente pocos segundos mensajeros citoplasmáticos, su síntesis o activación a menudo es resultado de muchas vías.

El AMPc (adenosina-3'-5'-monofosfato) es el primer segundo mensajero identificado, es sintetizado por la adenilato ciclasa en respuesta a la activación de muchos receptores, el AMPc es también mediador de la acción de muchas hormonas.

El trabajo de Sutherland⁵ dió lugar al concepto de que el AMPc es el segundo mensajero en la acción de muchas hormonas. El primer mensajero es la propia hormona.

Un aspecto importante de este modelo del segundo mensajero es que la hormona no necesita penetrar en la célula, su impacto se realiza sobre la membrana celular. Los efectos biológicos de la hormona dentro de la célula se realizan a través del AMPc en vez de por la propia hormona.

A partir de 1970 se consideró al calcio como otro segundo mensajero intracelular y, más adelante, se reconoció que actúa principalmente por medio de una serie de proteínas que tienen la capacidad de fijarlo y de servir de intermediarias para su acción reguladora. Estas proteínas reguladoras son: tropina C y calmodulina². (ver esquema 3)

2.8 INOSITOL-1, 4, 5-TRIFOSFATO. (IP₃)

La cascada del fosfoinosítido, al igual que la cascada de la adenilato ciclasa, convierte señales extracelulares en intracelulares. Los mensajeros intracelulares formados por activación de esta ruta provienen del fosfatidil inositol 4,5-bifosfato (PIP₂), un fosfolípido de membrana plasmática.

La liberación de Ca²⁺ a partir de los depósitos intracelulares está mediada por un segundo mensajero, el inositol 1,4,5-trifosfato (IP₃). Este es el producto de la hidrólisis del lípido de membrana fosfatidilinositol-4,5,-difosfato, esta reacción es catalizada por una fosfolipasa C. La enzima participante es regulada por lo menos por dos proteínas G.

El IP₃ provoca la rápida liberación de calcio desde los reservorios intracelulares: el retículo sarcoplásmico, en células de musculo liso y el retículo endoplásmico; con esto se desencadena el proceso de la contracción muscular. Niveles mM de IP₃ movilizan el Ca²⁺ de los depósitos intracelulares, abriendo directamente los conductos de calcio de la membrana del retículo sarcoplásmico y endoplásmico.

2.9 MODULADORES DE CANALES DE CALCIO

En la actualidad se cuenta con una gran variedad de fármacos auxiliares para el tratamiento de cardiopatías, estos son: anti-hipertensivos, diuréticos, vasodilatadores, digitálicos y agentes inotrópicos positivos y negativos (WIN47203, pirbuterol, prenalterol, butopamina y salbutamol). Dentro del grupo de los vasodilatadores se encuentran los antagonistas y agonistas de canales de Ca²⁺.

El desarrollo de fármacos bloqueadores de canales de calcio ha tenido éxito con el desarrollo de moléculas como: verapamilo, diltiazem y otros compuestos derivados de la 1,4-dihidropiridina.

Por el contrario el desarrollo de los activadores de canales de calcio (ACC) no ha tenido mucho éxito dado que las moléculas encontradas como: BAY K 8644, CGP 28392 y RS 36026 tienen fuertes efectos colaterales que han

restringido su uso clínico. Actualmente se está estudiando una nueva clase de compuestos, el 2,5,-Dimetil-(4-(2-fenilmetil) benzoil)-1H-pirrol-3-carboxilato de metilo (FPL64176) y análogos de éste, que presentan actividad como agonistas de los canales de calcio en células de tejido cardiaco y vascular ².

Los agonistas de canales de calcio son una buena herramienta para detectar la presencia de corriente en canales de calcio tipo-L²⁰. El desarrollo de fármacos que activen específicamente otros tipos de canales de calcio es de gran importancia para el completo entendimiento de el funcionamiento de esta área.

Muchos fármacos afectan procesos dependientes de calcio, de manera directa o indirecta. Los activadores o agonistas de canales de calcio se pueden considerar como fármacos cuyo efecto primario es el facilitar la entrada de Ca²⁺ a la célula de tipo voltaje-dependiente u " operados por potencial ".

Existen clasificaciones de activadores de canales de calcio, basadas en su sitio de acción y estructura química.

Clasificación de moduladores de calcio basada en su sitio de acción:

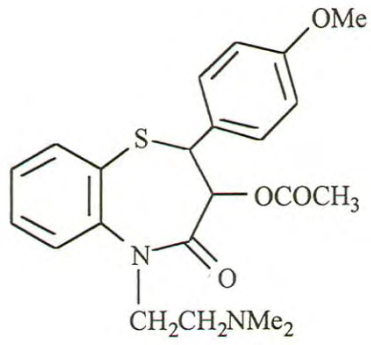
A. Estimulantes de calcio disponible.

1. Activadores de canales de calcio.
2. Estimulantes del influjo de Ca²⁺ o disminución del eflujo vía los efectos:
 - a) Intercambio Na⁺ : Ca²⁺.
 - b) Eflujo ATP-dependiente.
3. Inhibición de calcio libre dentro de sitios dependientes.
4. Estimulantes de liberación de Ca²⁺ desde los sitios de almacenamiento intracelular. (ej. cafeína, IP₃).
5. Ionóforos de calcio. (ej. ionomycina, A23187).

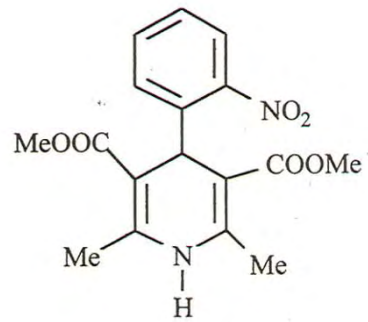
B. Sensibilidad al aumento de calcio. Fármacos que incrementan la sensibilidad de los receptores de Ca²⁺ o incrementan la sensibilidad a la respuesta en el sistema de calcio.

Clasificación de moduladores de calcio basada en su estructura química:

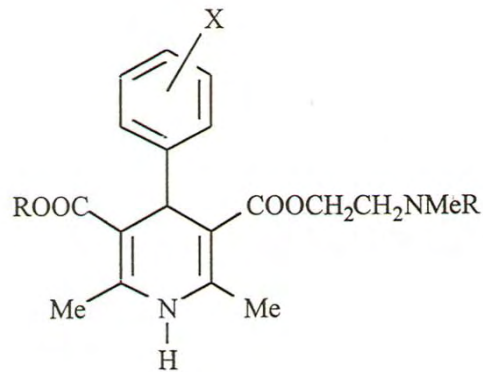
A. Bloqueadores o antagonistas de canales de calcio.



DILTIAZEM

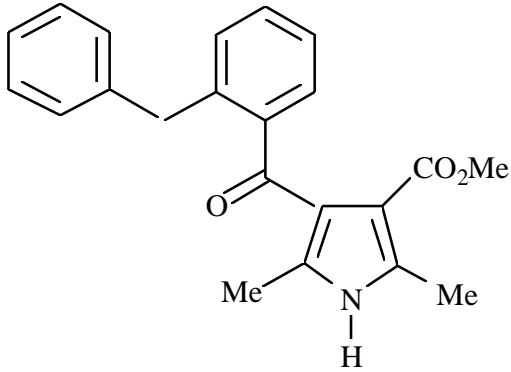


NIFEDIPINO

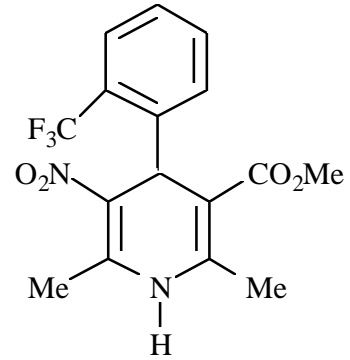


1,4-DIHIDROPIRIDINAS

B. Activadores o agonistas de canales de calcio (ACC):



FPL 64176



BAY K 8644

Los ACC todavía no han podido ser utilizados en la práctica clínica; aunque, a la fecha el eventual desarrollo de éstos ha fracasado en el tratamiento de desordenes cardíacos, dado que sus efectos colaterales son indeseables sobre el SNC, se continúan los esfuerzos por encontrar nuevas moléculas cuyo uso sea seguro en humanos. A pesar de lo anterior y gracias a los estudios realizados, actualmente se tiene más conocimiento acerca de los efectos electrofisiológicos de algunos fármacos que actúan en el corazón, particularmente los efectos debidos al influjo de Ca²⁺ durante la sístole, así como también sobre la caracterización de los canales de calcio y las células en las que éstos se encuentran^{2,20}.

El FPL64176 2,5,-Dimetil-(4-(2-fenilmetil) benzoil)-1H-pirrol-3-carboxilato de metilo y análogos de este son una nueva clase de compuestos ACC, a los cuales se les examinó midiendo su habilidad de incrementar la respuesta contractil, utilizando para ello cobayos. La respuesta máxima del FPL64176 fue aproximadamente dos veces mayor que el BAYK 8644²¹.

Recientemente se han hecho estudios que permiten pensar que los compuestos ACC como los citados anteriormente ocupan el mismo sitio de enlace que los antagonistas, como las 1,4-dihidropiridinas; ésto en la subunidad α_1 de los canales de calcio tipo-L voltaje-dependientes; por lo que se cree que estos compuestos pueden resultar más seguros en su uso clínico²².

CAPITULO III

METODOS DE QUIMICA COMPUTACIONAL APLICADA AL ACUARESA.

Dentro de las aplicaciones de la computación en la química hay una área cuyo desarrollo ha sido muy importante, dada la disponibilidad actual de computadoras más poderosas tanto en software como en hardware y a la creciente cantidad de datos cristalográficos relevantes, el diseño molecular por computadora se enfoca al descubrimiento de nuevos compuestos con propiedades específicas deseadas. Cuando los compuestos estudiados son fármacos, se dice que se realiza diseño de fármacos por computadora.

Entre las herramientas que pueden utilizarse para hacer diseño de fármacos por computadora se incluyen: la mecánica cuántica, y la mecánica molecular, entre otras, así como simulaciones empíricas y trazadores con manejo de base de datos.

La tendencia al uso de estos métodos va en aumento, aunque hay aún muchos profesionistas, investigadores y estudiantes que desconocen los logros que se han realizado en esta área.

Los métodos utilizados en el ACUARESA son caracterizados por dos particularidades con respecto a la relación entre la actividad biológica y la estructura química de una serie de compuestos. En primer lugar, un método que describa numéricamente las propiedades relevantes de la actividad biológica de un grupo de compuestos, permitiendo realizar así ciertas transformaciones para ser estudiadas; en segundo lugar, que permite establecer relaciones matemáticas, es decir, que se puedan establecer relaciones numéricas entre la actividad biológica y las propiedades moleculares y fisicoquímicas de los compuestos estudiados²³.

El método de ACUARESA más "popular" o conocido es el de Hansch^{24,25}, también llamado de Regresión Múltiple o Extratermodinámico. Este método se basa en el hecho de que la actividad biológica es función de las propiedades o parámetros fisicoquímicos, tales propiedades fisicoquímicas pueden ser: solubilidad, lipofilicidad, efectos electrónicos, ionización, estereoquímica, entre otros; éstos tienen una profunda influencia en la química de los compuestos; por tanto, ACUARESA, puede expresarse con la siguiente ecuación:

$$\text{Actividad Biológica} = f(\text{Efecto hidrofóbico, estérico y electrónico}) \dots (1)$$

Los términos de la ecuación se desarrollan a continuación.

La actividad biológica de un fármaco, es el efecto que produce al ser administrado en el organismo. En ACUARESA, ésta, se expresa generalmente en términos de concentración molar (C) y en los cálculos se utiliza como $\log(1/C)$.

3.1. Propiedades Fisicoquímicas.

Efecto Electrónico:

3.1.1 Sigma de Hammett.

La sigma de Hammett (σ), es una de las más ampliamente utilizadas para considerar el efecto electrónico del sustituyente en los estudios ACUARESA. Los valores de σ fueron definidos por Hammett a partir de las constantes de ionización del ácido benzoico de la siguiente manera:

$$\sigma_x = \log K_x - \log K_H \quad \text{.....(2)}$$

en donde K_H es la constante de ionización para el ácido benzoico en agua a 25°C y K_x es la constante correspondiente para el ácido benzoico *-para* o *-meta* sustituido.

La σ de Hammett toma en cuenta componentes de campo/inductivo (σ_I) y de resonancia (σ_R).

$$\sigma_P = \sigma_I + \sigma_R \quad \text{.....(3)}$$

El parámetro electrónico, σ , como vemos depende de las propiedades electrónicas y de posición del sustituyente^{25,26,27}.

3.1.2 Densidad Electrónica.

La densidad electrónica también es un parámetro que puede ser considerado para estudiar la parte electrónica en la ecuación de Hansch, siendo la primera, la probabilidad de que un electrón sea encontrado en una pequeña región del espacio, $\delta\tau$ y está dada por la expresión: $\Psi\tau \Psi\tau^* d\tau$, en la cual $\Psi\tau$ es el valor de la función de onda normalizada en la pequeña región τ .

Puesto que las funciones son generalmente reales, se puede omitir la notación compleja conjugada. Para la combinación lineal de orbitales atómicos (CLOA):

$$\Psi = \sum_r C_r \phi_r \dots\dots(4)$$

$$\int \Psi^2 d\tau = \int \left(\sum_r C_r \phi_r \right)^2 d\tau \dots\dots(5)$$

$$= \int \sum_r C_r^2 \phi_r^2 d\tau + \int \sum_r \sum_{s=r} C_r C_s \phi_r \phi_s d\tau \dots\dots(6)$$

la ortogonalidad supuesta es:

$$\int \phi_r \phi_s d\tau = 0 \quad \text{para } r \text{ diferente de } s \dots\dots(7)$$

De ahí que:

$$\int \Psi^2 d\tau = \int \sum_r C_r^2 \phi_r^2 d\tau = \sum_r C_r^2 \int \phi_r^2 d\tau = 1 \dots\dots(8)$$

la cual se conoce como condición de normalización. Sin embargo (5), representa la probabilidad de encontrar un electrón en la región del espacio asociado con el orbital atómico ϕ_r . Debido a que la integración se hace abarcando el espacio de configuraciones, el valor de cada integral es la unidad, pero cada término se multiplica por un factor C_r^2 . En la simple aproximación CLOA, C_r^2 , consecuentemente, tiene el significado físico de ser la probabilidad de que un electrón en un orbital atómico ϕ_r , esté asociado con un orbital molecular dado; es decir, que C_r^2 es la densidad electrónica en el átomo r en un cierto orbital molecular:

$$q_r = \sum_j^{O_c} n_j C_{jr}^2 \dots\dots(9)$$

siendo C_{jr} el coeficiente del átomo r en el orbital j , el cual es ocupado por n_j electrones. La suma es tomada sobre todos los orbitales moleculares.

El potencial de ionización, desde el punto de vista teórico, es importante ya que su valor corresponde, de manera aproximada, a la energía del orbital molecular más alto ocupado (HOMO) del sistema, y por consiguiente, su

determinación ha sido útil para evaluar teorías de orbitales moleculares. Estas teorías son útiles para entender los efectos de la estructura sobre el potencial de ionización ; a partir de este valor se pueden obtener indicios importantes sobre el estado electrónico de la molécula.

Efecto Hidrofóbico:

3.1.3 Coeficiente de Partición.

En la ecuación de Hansch se considera como un punto básico la hidrofobicidad. La importancia de este efecto sobre la actividad biológica es grande, dado que la acción de un fármaco depende de dos procesos que se ven directamente relacionados con la hidrofobicidad del fármaco; el primero de ellos, es el hecho de que el fármaco se transporte al sitio de acción a través del cruce de membranas dentro del organismo (farmacocinética), y el segundo el que se lleve a cabo la interacción entre el sitio de acción y el fármaco.(farmacodinamia), para que de esta manera se exprese la actividad del fármaco.

El coeficiente de particion octanol/agua (P), nos indica la lipofilicidad de un compuesto.

P puede ser calculado mediante métodos tradicionales de equilibrio, seguidos por determinaciones espectrofotométricas o por cromatografía de gases^{28,29,30}. Para dicho objetivo se puede utilizar la siguiente ecuación:

$$P = \frac{[\text{compuesto}]_{\text{oct.}}}{[\text{compuesto}]_{\text{acu.}}(1 - \alpha)} \quad \dots\dots\dots(10)$$

donde α es el grado de disociación del compuesto calculado en agua, es decir, la constante de ionización.

Por lo que π podemos calcularla como:

$$\pi = \frac{\log P}{\log P_{\text{ref.}}} \quad \dots\dots\dots(11)$$

donde $\log P_{\text{ref}}$ es el coeficiente de partición del compuesto referencia^{25,26}.

Los coeficientes de partición pueden encontrarse en tablas de constantes hidrofóbicas del sustituyente^{31,32,33} (π), o calcularse por medio del método de adición de fragmentos usando el programa GLOGP3, que está incluido en el software MedChem³⁴; sin embargo es necesario remarcar que todos los métodos para medir o estimar los coeficientes de partición, tienen problemas cuando se aplican a compuestos extremadamente hidrofóbicos ó hidrofílicos.

La constante π para la contribución de un sustituyente a la hidrofobicidad de la molécula se deriva de la siguiente ecuación:

$$\pi_x = \log P_x - \log P_H \quad \dots\dots(12)$$

donde P_x es el coeficiente de partición de un derivado y P_H el del compuesto patrón. un valor positivo de π significa que comparado con el compuesto patrón, el sustituyente confiere mayor hidrofobicidad.

Efecto Estérico.

3.1.4 Ecuación de Taft.

Dado que las moléculas tienen un tamaño y forma tridimensional, esto influye en su habilidad para interactuar con el sitio receptor, por lo que el efecto estérico, es otro parámetro importante tomado en cuenta en la ecuación de Hansch.

Taft^{25,26} utiliza una reacción de referencia, la hidrólisis del ácido benzoico – *m* o –*p* sustituido alifáticamente, donde se observa la presencia de un efecto inductivo, con lo que se obtienen los valores de E_S y este valor es corregido por el de E_S^C siendo éste último el parámetro estérico de Taft y *n* es el número de α -hidrógenos. El valor de E_S es un valor experimental derivado de este tipo de reacciones.

$$E_S = \log K_{X-C_6H_4COOH} - \log K_{X-C_6H_4COOH} = \log \frac{K_x}{K_o} \dots\dots\dots(13)$$

$$E_s^c = E_s + 0,306(n-3) \dots\dots\dots(14)$$

3.1.5 Refractividad Molar.

Otro parámetro que puede ser utilizado para estudiar el efecto estérico es la refractividad molar (MR)^{30,32,33}. Está definida por la ecuación de Lorentz-Lorentz, donde n es el índice de refracción de la línea D del sodio, MW es el peso molecular y d es la densidad del compuesto.

$$MR = \frac{n^2-1}{n^2+2} \frac{MW}{d} \dots\dots\dots(15)$$

En la actualidad existen programas computacionales que calculan este parámetro, como por ejemplo el CMR que está incluido en el programa MedChem. También pueden utilizarse los parámetros de Verloop o por cálculo directo de volúmenes o medidas moleculares.

La ecuación de Hansch para el ACUARESA se muestra como sigue:

$$\log\left(\frac{1}{C}\right) = a + b\pi + cE_s + d MR + e\sigma \dots\dots(16)$$

donde cada uno de sus términos se desarrollaron anteriormente. Como podemos ver este estudio involucra varias variables, que intervienen en la relación de la estructura química de un compuesto con su actividad biológica.

Los estudios ACUARESA deben cumplir con una serie de requisitos como son: Las variables en estudio deben ser linealmente independientes, los datos mínimos para el estudio deben ser 5 para cada variable, el coeficiente r de correlación de la ecuación debe ser mayor a 0,88 y los coeficientes a,b,c,y d deben ser significativamente diferentes de cero.

3.2. Métodos de análisis conformacional.

El análisis conformacional involucra la determinación de las características

tridimensionales de una molécula. De manera general, estos métodos pueden dividirse en dos grandes grupos: Métodos físicos y métodos químicos.

Entre los métodos físicos se encuentran los diferentes tipos de espectroscopias y técnicas de difracción, entre otros. Por su parte los métodos químicos se encargan de estudiar aquellas reacciones que permiten un análisis de las características en el espacio de la estructura molecular; sin embargo, debido a que este tipo de métodos no son muy certeros, deben complementarse con métodos fisicoquímicos. Algunos métodos fisicoquímicos que se utilizan son: métodos cinéticos, termodinámica del equilibrio y medidas calorimétricas.

Hasta mediados de siglo, la principal forma de determinar la configuración y conformación de una molécula estaba basada en los métodos químicos. Actualmente existen fundamentalmente tres métodos para determinar la conformación de moléculas grandes: 1) difracción de rayos X, 2) cálculos cuánticos y empíricos para sistemas aislados y 3) resonancia magnética nuclear (RMN) para el estado líquido o en solución.

Actualmente, muchos de éstos han sido reemplazados y/o reforzados por métodos fisicoquímicos. Otro cambio notable ha sido la determinación de estructuras moleculares con el uso de métodos teóricos. El análisis conformacional en el diseño de fármacos no es el resultado final, sino la base para saber cuál podría ser la conformación preferida de un fármaco y/o del sitio receptor. Esto es de gran importancia debido a que la conformación influye en las interacciones moleculares en el organismo.

3.3. Teoría de Orbitales Moleculares.

En mecánica cuántica, cualquier estado de un sistema dinámico de n partículas queda descrito tan completamente como es posible por una función $\Psi = \Psi (q_1, q_2, \dots, q_n, \tau)$ tal que $\Psi^* \Psi d\tau$ es proporcional a la probabilidad de encontrar a q_1 y $q_1 + dq_1$, a q_2 entre q_2 y $q_2 + dq_2, \dots$, a q_n entre $q_n + dq_n$ en un tiempo determinado.

En general la teoría de orbitales moleculares considera que la función de onda Ψ , se puede aproximar por una combinación lineal de orbitales atómicos (CLOA)^{36,37}, Φ_i , en la molécula de acuerdo con la siguiente expresión:

$$\Psi = a_1\phi_1 + a_2\phi_2 + \dots + a_n\phi_n = \sum a_i\phi_i \quad \dots\dots\dots(17)$$

donde a_1, a_2, \dots, a_n son los coeficientes de combinación lineal. Esta función de onda es sustituida en la ecuación de Schrödinger; su expresión más sencilla es:

$$H \Psi = E \Psi \quad \dots\dots\dots(18)$$

Siendo H el operador Hamiltoniano, que es el operador de energía cinética y energía potencial, y E la energía asociada al sistema, conocida también como la energía esperada asociada al operador Hamiltoniano.

Existe una serie de aproximaciones utilizadas, principalmente en los métodos semiempíricos, que van desde el número de funciones base utilizado, hasta el número de integrales usadas.

Para encontrar la función de onda se puede utilizar la aproximación de Born-Oppenheimer³⁹, la cual consiste en separar del hamiltoniano total los términos de energía cinética nuclear y de repulsión núcleo-núcleo y considerar únicamente la parte del hamiltoniano que depende de la posición, pero no del movimiento de los núcleos, por lo que tenemos que:

$$\hat{H} = \hat{T}_N(\mathbf{R}) + \hat{H}_e(\mathbf{r}, \mathbf{R}) \quad \dots\dots\dots(19)$$

en donde \mathbf{r} y \mathbf{R} se refieren a las coordenadas de los núcleos y de los electrones, respectivamente. El primer término es el operador de energía cinética nuclear, mientras que el segundo término es el operador hamiltoniano electrónico, el cual, describe el movimiento de electrones para una posición fija del núcleo i , es decir, los electrones dependen de la posición y no del momento lineal del núcleo.

Asimismo se considera que la función de onda se puede separar en una función de onda electrónica, Ψ_C (depende de r y R) y una función de onda nuclear, Ψ_N (dependiente sólo de R) :

$$\varphi(r, R) = \psi_C(r, R) \cdot \psi_N(R) \quad \dots\dots(20)$$

y consecuentemente:

$$\widehat{H}_e \psi_e(r, R) = E(R) \psi_e(r, R) \quad \dots\dots\dots(21)$$

Esta aproximación es razonable dado que las masas de los núcleos son miles de veces más grandes que la de los electrones, lo que hace que el núcleo se mueva muy lento y los electrones se puedan ajustar a la nueva posición del núcleo, de manera que en cualquier instante los electrones se mueven en torno al núcleo como si estuviera en reposo en la posición en que se encuentra en ese instante.

Otra aproximación es la llamada teoría de campo autoconsistente (self consistent field-SCF) de Hartree-Fock, quien escribe la función de onda molecular considerándola como un producto antisimétrico (determinante de Slater) de spin-orbitales; cada spin-orbital es un producto de un orbital y una función del spin (tanto α como β): $\phi_i(n)\alpha(n)$, $\phi_i(n)\beta(n)$

Para un átomo de n electrones el determinante de Slater es:

$$\psi = \frac{1}{\sqrt{n!}} \begin{vmatrix} A(1) & B(1) & \dots \\ A(2) & B(2) & \dots \\ \dots & \dots & \dots \\ A(n) & B(n) & \dots \end{vmatrix} \quad \dots\dots(22)$$

siendo A,B....los spin-orbitales.

Fock introduce un nuevo operador, \widehat{F} , llamado operador de Fock, para incluir el cambio de electrones, y reemplazar el operador hamiltoniano en la ecuación de Schrödinger:

$$\widehat{F}_i \psi_i = E_i \psi_i \quad \dots\dots\dots(23)$$

en donde el operador \widehat{F} para un electrón i se define como:

$$\hat{F}(i) = -0.5V_i^2 - \sum_p \frac{Z_p}{r_{pi}} + \sum_{j=1}^{\frac{n}{2}} (2\hat{J}_j - \hat{K}_j) \dots\dots\dots(24)$$

en donde Z_p es la carga del núcleo p de la molécula, y r_{pi} es la distancia del electrón i al núcleo p . Los operadores J_j y K_j , son conocidos como operador Coulómbico y operador de intercambio respectivamente.

Las ecuaciones de Hartree-Fock en la aproximación CLOA, cuando se usan para calcular los coeficientes, toman la forma de ecuaciones de Roothaan:

$$\hat{F}_{(i)} \sum_r C_{ir\phi r} = E_i \sum_r C_{ir\phi r} \dots\dots\dots(25)$$

multiplicando la ecuacion por $C_{ir\phi r}$ e integrando tenemos:

$$\sum_r C_{ir} (F_{ir} - E_i S_{ir}) = 0 \dots\dots(26)$$

Estas ecuaciones corresponden a varios valores de i , y pueden ser resueltas si el siguiente determinante secular es igual a cero:

$$|F_{ir} - E_i S_{ir}| = 0 \dots\dots\dots(27)$$

En los orbitales tipo Slater, la parte de la energía potencial del operador hamiltoniano, está formada por repulsiones coulómbicas internucleares, atracciones coulómbicas entre electrones, núcleos y repulsiones coulómbicas interelectrónicas, las cuales presentan simetría esférica, es decir, dependen exclusivamente de r , mientras que los orbitales tipo hidrogenoides son caracterizados por la parte angular y por la parte radial.

Cuando se tienen r muy pequeñas, cercanas al núcleo, no se presenta fenómeno de apantallamiento, por lo que Slater propone la siguiente expresión para los orbitales atómicos:

$$\varphi_{n,l,m}(r, \theta, \phi) = \left[N r^{n-1} \exp\left(-\frac{Z'r}{n}\right) \right] \left[Y_{l,m}(\theta, \phi) \right] \dots\dots(28)$$

donde N es el factor de normalización, n' es el número cuántico principal efectivo, Z' es la carga nuclear efectiva y $\Psi_{lm}(t,f)$ es la parte angular o armónico-esférica. La ecuación antes presentada es conocida como orbital tipo Slater y es utilizada en la mayoría de los métodos semiempíricos.

El gran número de integrales que deben ser evaluadas al resolver la ecuación de Schrödinger³⁹ por medio del tratamiento de Roothaan⁴⁰ de campo de autoconsistencia, es un gran problema de tiempo de computo. Pople introdujo una simplificación a este tratamiento que es conocida como el método de Pople o aproximación Pople.

Pople resuelve el problema de integrales de tres o cuatro centros en el tratamiento de Roothaan al ignorar algunos términos. Matemáticamente, el método de Pople asume que los orbitales atómicos ϕ_i no son interpenetrados en el espacio, es decir, si ϕ_i, ϕ_j son dos diferentes orbitales atómicos se tiene:

$$\int \phi_i \phi_j d\tau = 0 \quad \dots(29)$$

donde $d\tau$ es el elemento del volumen.

Con esta suposición, las integrales (ij, kl) se resuelven si $i=j$ y $k=l$, obteniéndose integrales bicéntricas que son más fáciles de evaluar que las que involucran tres o cuatro centros .

Esta aproximación es conocida como NDO. Obviamente las integrales de traslape entre diferentes orbitales atómicos ϕ_i, ϕ_j se expresan como:

$$S_{ij} = \int \phi_i \phi_j d\tau = 0 \quad \dots(30)$$

los métodos de Pople^{41, 42} asumen que los electrones de valencia se mueven sobre el "core" (que está compuesto por los núcleos y los electrones de las capas internas), que los orbitales moleculares pueden ser aproximados por una CLOA y desprecia las integrales de traslape y las de tres o cuatro centros.

También considera que todos los orbitales son de simetría esférica en los cálculos de las integrales electrónicas de repulsión, mientras que las integrales monoeléctricas (β_{ij}) de resonancia las toma como:

$$\beta_{ij} = \beta_0 S_{ij} \quad \dots(31)$$

donde β_0 es una constante relacionada al tipo de enlace involucrado.

3.4. Métodos mecano-cuánticos.

El objetivo de la mayoría de los cálculos mecano-cuánticos moleculares es evaluar una función de onda molecular Ψ .

Los métodos mecano-cuánticos de tratamiento de las moléculas se clasifican en *ab initio* y semiempíricos.

Cuando se realizan cálculos *ab initio*, el punto de partida es una geometría molecular, dado que define la naturaleza y coordenadas de cada átomo; dependiendo de los átomos que compongan dicha molécula. Se elige una serie de orbitales atómicos base, para cuya representación matemática aproximada se utilizan funciones de Slater o Gaussianas. Con éstos, se construyen orbitales moleculares y el producto de ellos incluyendo el spin, se hace antisimétrico de acuerdo con el principio de Pauli. Un cálculo *ab initio* utiliza el hamiltoniano molecular verdadero (completo) y no hace uso de datos empíricos en el cálculo para encontrar la solución. El programa calcula todas las integrales involucradas en la solución de la ecuación secular, construye y diagonaliza el determinante produciendo una serie de energías de orbitales y coeficientes ya mejorados. Este proceso se repite hasta que se logra autoconsistencia. Cuando esto ocurre, el programa imprime una serie de orbitales ϕ_i en forma de coeficientes y una energía orbital, ε_i , asociada a cada uno de ellos. Una de las desventajas de este tipo de métodos es que el tiempo de computo que se requiere es grande. Además, no siempre tiene buen éxito al tratar de reproducir observaciones experimentales; esto es debido a algunas consideraciones dentro de sus modelos; como es que el electrón interactúa con el campo promedio de los electrones restantes, en vez de tratar a cada electrón de una forma independiente. Otro problema es que al estar basado este modelo en la ecuación de Schrödinger, no considera el efecto relativista por lo que generalmente se utiliza para cálculos de moléculas pequeñas.

Por otra parte los métodos semiempíricos utilizan un hamiltoniano más simple que el verdadero, usa datos empíricos para asignar valores a algunas de las integrales que aparecen en el cálculo y desprecia otras. Estos métodos parten de una ecuación secular pero hacen gran variedad de aproximaciones, con lo que

el tiempo de cálculo se ve reducido. Los métodos semiempíricos fueron desarrollados originalmente para moléculas orgánicas conjugadas y después se extendieron para abarcar todas las moléculas. Estos métodos se dividen en dos grupos: a) métodos de interpenetración máxima y b) métodos que desprecian la interpenetración (NDO) o métodos con diferencial de interpenetración cero (ZDO). Entre los métodos NDO más populares están aquellos conocidos como CNDO^{46,47} (Complete Neglect of Differential Overlap), INDO (Intermediate Neglect of Differential Overlap), MINDO (Modified Intermediate Neglect of Differential Overlap) y MNDO (Modified Neglect of Diatomic Overlap).

Los primeros métodos semiempíricos de orbitales moleculares, denominados CNDO, INDO y NDDO, fueron desarrollados por J. A. Pople y colaboradores⁴³,. Klopman y Pople modificaron en 1965 el tratamiento cuántico de los electrones p, incluyendo en los cálculos todos los electrones de valencia, suponiendo que estos se mueven en una capa fija compuesta del núcleo y de los electrones internos. Dichos electrones se describen usando un conjunto mínimo de funciones base y se desprecian las integrales de repulsión electrónica.

Se calculan las integrales restantes en función de parámetros empíricos conocidos.

Dewar^{48,49,50} modificó el formalismo matemático del método INDO³⁸ y de esa forma desarrolló el método denominado MINDO. La filosofía de este método es totalmente diferente al de Pople, quien calculó los parámetros de sus métodos semiempíricos (NDDO, CNDO e INDO) con el fin de reproducir los resultados obtenidos por los métodos experimentales. Así, el objetivo específico de esta nueva forma de deducir los parámetros, es diseñar un método que reprodujese en forma precisa varios resultados experimentales.

Se han desarrollado tres formas sucesivas de determinar los parámetros de esta aproximación, cada una superior a la anterior. En la primera versión, MINDO/1⁵¹, no fue posible reproducir simultáneamente los calores de atomización y geometrías moleculares. En la segunda versión, MINDO/2, se lograron reproducir mejor los resultados experimentales, aunque todavía estaban presentes

algunas diferencias. Finalmente, otra redefinición de los parámetros condujo a la versión final del método llamado MINDO/3⁴³.

Con las diferentes versiones del método MINDO pueden hacerse buenas estimaciones de los calores de atomización, geometrías moleculares, momentos dipolares, potenciales de ionización y constantes de fuerza.

Dewar y Thiel fueron quienes introdujeron en 1977 el método MNDO⁵². La motivación para desarrollar este método surgió cuando estos investigadores advirtieron que los métodos, como MINDO/3, que se basan en el formalismo INDO, no reproducían adecuadamente los efectos debidos a las repulsiones entre pares electrónicos libres, por lo que los autores fundamentaron el método MNDO sobre las aproximaciones efectuadas en el esquema NDDO^{54,46}.

3.5. Métodos MNDO Y AM1.

Los métodos de cálculo MNDO y AM1 (Austin Model 1) son los más usados actualmente, pertenecen a una serie de métodos de orbitales moleculares desarrollados por M. J. S. Dewar y colaboradores^{54,55}, cuyo objetivo fue producir métodos de cálculo, capaces de proporcionar resultados precisos de interés para el químico orgánico, a un costo computacional razonable.

Para disminuir el costo de los cálculos, es necesario modificar el tratamiento de Roothan-Hall. Dewar y Thiel, crearon modificaciones basándose en las aproximaciones realizadas por Pople, sobre todo para el método INDO, donde se reduce el número de integrales de repulsión electrónica usando la aproximación del "core", lo cual implica una reducción en las series de funciones base correspondientes a los orbitales atómicos de los electrones de valencia y el desprecio de todas las integrales que involucran interpenetración diferencial, excepto las integrales monoeléctricas del "core" de resonancia. Las consideraciones anteriores son las que hizo Pople en la aproximación NDDO. Por otra parte, el desprecio de las integrales monoeléctricas de repulsión efectuadas en INDO, en consecuencia, no es justificable. Dewar y colaboradores consideran que NDDO debe ser la base lógica de un tratamiento semiempírico.

Dewar y Thiel desarrollaron un procedimiento para estimar las integrales de repulsión de NDDO y utilizaron éstas, para una completa reparametrización de NDDO para H, C, N y O. Este nuevo tratamiento es llamado MNDO.

No se logró reproducir los puentes de hidrógeno para la aplicación de MNDO en el estudio de sistemas biológicos, por lo que su aplicación no fue completa. Dewar comenzó inmediatamente a trabajar para corregir este problema. La reparametrización no fue la solución, porque no existen términos en MNDO que puedan corregir la excesiva repulsión a distancias de Van der Waals. En lugar de esto, se asignó a cada átomo un número de gaussianas esféricas para simular los efectos de correlación. Esto incrementó el número de parámetros, de 7 originales a entre 13 y 16 por átomo.

Con AM1 se reprodujo el enlace de hidrógeno del dímero de agua con una energía de 5.5 kcal/mol.

Por 1985 cuatro elementos fueron parametrizados: C, H, N y O. Actualmente son diecisiete los elementos parametrizados, estos incluyen F, Cl, Al, P, S, B, Zn, Hg, Ge, y Sn.

MNDO predice poca estabilidad para moléculas estéricamente impedidas.

AM1 funciona mejor que MNDO para hidrocarburos.

MNDO no predice bien los calores de formación de compuestos hipervalentes; consecuentemente no debe usarse cuando se involucren sistemas de este tipo.

Los errores en el ΔH_f de cationes son ligeramente mayores que los errores equivalentes en moléculas neutras. Por ésto, se debe tener cuidado en cualquier cálculo que involucre especies cargadas.

Ambos métodos reproducen las geometrías de estado basal adecuadamente. Los errores promedio son: para longitudes de enlace 0.054 Å en MNDO y 0.050 Å en AM1, para ángulos de valencia 4.3° en MNDO y 3.3° en AM1 y para ángulos diedros 21.6° en MNDO y 12.5° en AM1.

Actualmente, los métodos semiempíricos están evolucionando aceleradamente.

3.6. Mecánica Molecular.

El método de mecánica molecular⁵⁶ 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, interacciones de no enlace y electrostáticas, y torsión a través de enlaces; siendo muy usado en aquellos casos en los que solamente se desea saber las conformaciones energéticamente preferidas.

El método de mecánica molecular, también conocido como método de campo de fuerza o de Westheimer, considera a la molécula desde el punto de vista clásico, es decir, considera que los átomos están unidos por resortes mutuamente independientes. La energía total del sistema se calcula como la suma de varias contribuciones, como son las energías de estiramiento (V_r) y de flexión (V_θ) que están relacionadas con sus componentes de fuerzas según las ecuaciones clásicas de oscilador armónico, y entonces la energía se minimiza usando el método de Newton-Raphson modificado⁵⁷:

$$E=V_r+V_\theta+V_{vdw}+V_{tor}+V_{d-d}+\text{términos cruzados.} \dots\dots(32)$$

Una desventaja de este método es que se requieren una gran cantidad de datos experimentales que deben obtenerse antes de comenzar el cálculo y la ventaja principal es que el tiempo de cómputo es menor comparado con los métodos *ab initio* y semiempíricos. Se estima que el cálculo de mecánica molecular es 10^3 veces más rápido que un *ab initio* para moléculas pequeñas, no obstante, este factor crece considerablemente conforme el sistema molecular crece, por ello si se trata de moléculas grandes y se dispone de los parámetros necesarios, se recomienda aplicar los métodos de mecánica molecular.

La mecánica molecular es un procedimiento matemático que ha sido aplicado a muchas clases de estructuras y este método computacional es actualmente utilizado de manera rutinaria por muchos químicos. Debido al gran tamaño de muchos sistemas bioquímicos, la mecánica molecular es la única aproximación teórica actualmente disponible para su estudio.

El incremento en la complejidad matemática de los procedimientos utilizados en mecánica molecular, ha estado fuertemente relacionado con el rápido incremento del poder computacional, debido a la disponibilidad de computadoras más rápidas. La falta de poder de cómputo del pasado había limitado los avances que se pudieron obtener con esta técnica. Esto, por supuesto, ocurrió también con las aplicaciones de la mecánica cuántica.

La química computacional puede tratar exitosamente una variedad de propiedades moleculares, lo que es la base para poder usarla en el diseño molecular por computadora.

Dada la demanda creciente de nuevos medicamentos y considerando que el proceso de obtención de éstos es largo y de alto costo, el diseño de fármacos por computadora, es una muy buena alternativa.

El mercado de los llamados compuestos de alto valor añadido es muy competitivo, esto hace que no sea suficiente que un fármaco sea tan activo como otro que ya está en el mercado, sino que los nuevos compuestos además deben ofrecer mejores características pudiendo ser bajo costo, menos efectos colaterales, etc. Por lo tanto no es extraño que miles de fármacos sean examinados por la tecnología del diseño molecular por computadora, por cada uno que llegará al mercado.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION.

En este capítulo se presentan los resultados del análisis cuantitativo de la relación Estructura-Actividad Biológica de los derivados del 2,5,-Dimetil-(4-(2-fenilmetil)benzoil)-1H-pirrol-3-carboxilato de metilo ó FPL64176, que se muestran en la figura 1; así como la numeración IUPAC utilizada para los compuestos.

El descubrimiento del FPL 64176 fue guiado directamente por un modelo de regresión lineal. Davis A. M. y colaboradores²¹, probaron la habilidad de estos compuestos para incrementar las contracciones del ventrículo de tejido cardiaco de cobayos acompasados a 1Hz.

También se utilizaron los valores de hidrofobicidad ($\log P$) y efecto estérico (RM), siendo respectivamente CLOGP y CMR (éstos fueron calculados utilizando el programa MedChem³⁴, versión 3,54), los cuales fueron tomados del trabajo mencionado anteriormente. Estos resultados se muestran en la tabla 3.

La potencia inotrópica de los compuestos fue medida de acuerdo con la concentración del fármaco necesaria para contraer el ventrículo del tejido cardiaco del cobayo incrementando la tensión desarrollada al 50% del máximo de la isopropalina. Los resultados fueron informados como Concentración Efectiva al 50% (CE₅₀) de cada compuesto y se utilizó como estándar agonista del canal de calcio, al Bay K 8644. Para el análisis ACUARESA la actividad biológica se consideró como el $\log 1/CE_{50}$.

No. de Comp.	Sustituyente
1	2-H
2	2-Cl
3	2-F
4	2-Br
5	2-I
6	2-CH ₃
7	2-CF ₃
8	2-OCH ₃
9	2,4-Cl ₂
10	2-Br,4-F
11	2-Cl,4-NO ₂
12	2-CH ₃ ,4-CH ₃
13	2-Ph
14	2-CH ₂ Ph
15	2-CH ₂ Ph,4-F
16	2-CH ₂ (4'-F-Ph)
17	2-CH ₂ (4'-F-Ph),4-F
18	2-OPh
19	2-NHPh
20	2-OCH ₂ Ph
21	2-SPh
22	2-SOPh
23	2-S-CH ₂ -Ph
24	2-CH ₂ CH ₂ Ph
25	2-S(4'-NO ₂ -Ph)
26	2-CH ₂ (4'-NO ₂ Ph)
27	2-CH ₂ (2'-NO ₂ Ph)
28	2-CH ₂ (4'-NH ₂ -Ph)
29	2-O(4'-NO ₂ Ph)
30	2-NH-pirid-2'-yl
31	2-CH ₂ C ₆ H ₁₁
32	2-NHC ₆ H ₁₁
33	2-OCO(2'-OH-C ₆ H ₅)
34	2-SOCH ₂ Ph
35	2-SO ₂ CH ₂ Ph
36	2-OSO ₂ (4'-Me-Ph)

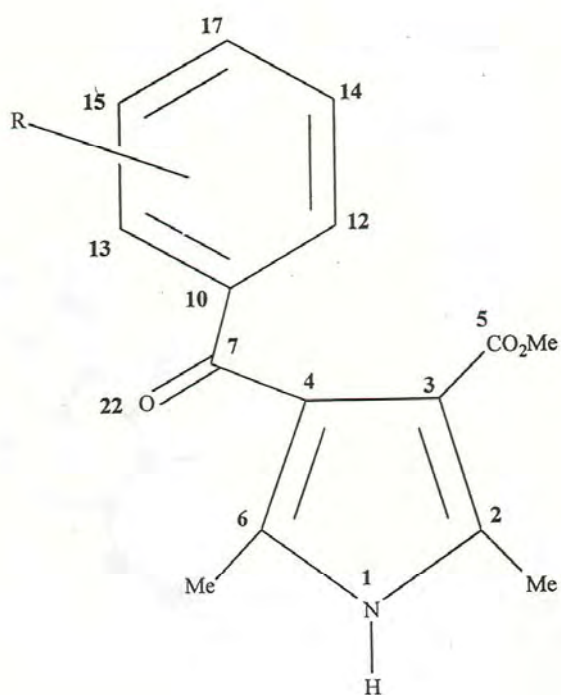


Figura 1. Análogos del FPL 64176.

4.1. METODOLOGIA Y RESULTADOS.

4.1.1. Cálculo de conformación.

La geometría inicial de los compuestos bajo estudio se obtuvo construyendo las moléculas con el programa PC Model 4.0⁶⁰, dando como resultado las estructuras de mínima energía mediante cálculos de mecánica molecular. El programa anterior se procesó en una computadora personal Gateway 2000 486.

Con las estructuras minimizadas se obtuvieron las coordenadas internas. En la figura 2 se presenta un ejemplo de los resultados alcanzados con el programa precitado.

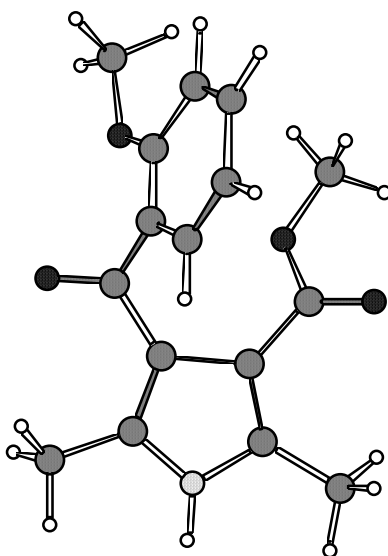


Figura 2 Conformación optimizada obtenida con el programa PC Model 4,0, correspondiente al derivado # 8.

4.1.2.Cálculo de propiedades fisicoquímicas.

Utilizando como base las coordenadas internas de cada uno de los 36 derivados obtenidas con mecánica molecular, se realizaron cálculos semiempíricos de orbitales moleculares, utilizando el método de cálculo AM1^{54, 55}. El programa que se utilizó fue el MOPAC 6,0 instalado en la super computadora CRAY YMP 4/432 de la Dirección General de Servicios de Computo Académico de la UNAM.

De los cálculos realizados con el método de cálculo Austin Model (AM1), se obtuvieron las densidades electrónicas de cada átomo, el calor de formación (DH_f), el momento dipolar (m), energía total (E_t), energía del HOMO y energía del LUMO. Las áreas de Van der Waals (A_{VDW}), las áreas accesibles al disolvente y los volúmenes moleculares de cada derivado, se obtuvieron utilizando el programa de mecánica molecular PC Model 4,0.

Las propiedades obtenidas con AM1, para cada uno de los compuestos se muestran en la tabla 1y2.

Tabla 1 Propiedades fisicoquímicas, obtenidas con el método AM1.

No. de Comp.	Actividad Biológica ²² . CE50	D H for. (kcal/mol)	Energía Total. (eV)	Energía HOMO. (eV)	Energía LUMO. (eV)	m. (D)
1	0,059	-61,140	-3294,23	-8,938	-0,181	3,850
2	0,094	-64,060	-3654,16	-8,976	-0,226	4,090
3	0,009	-104,120	-3765,55	-8,975	-0,112	5,230
4	0,150	-53,130	-3633,70	-8,927	0,038	4,850
5	0,220	-40,870	-3627,67	-8,942	0,036	4,780
6	0,140	-67,040	-3450,03	-8,925	0,016	4,940
7	0,270	-212,070	-4864,68	-9,072	-0,566	6,300
8	0,005	-96,910	-3770,00	-8,809	0,176	5,260
9	0,330	-70,590	-4014,24	-9,059	0,497	4,480
10	0,220	-97,830	-4105,10	-9,018	-0,253	5,590
11	0,160	-58,580	-4484,94	-9,297	-1,403	7,560
12	0,578	-74,740	-3605,90	-8,902	-0,002	5,060
13	0,174	-30,470	-4116,88	-8,926	-0,176	3,180
14	35,500	-39,690	-4272,82	-8,964	0,081	5,090
15	19,000	-84,430	-4744,21	-9,030	-0,246	4,660
16	14,000	-85,230	-4744,25	-9,022	-0,026	6,430
17	19,000	-130,340	-5215,66	-9,105	-0,300	6,200
18	2,900	-56,950	-4436,71	-8,850	0,020	5,830
19	18,910	-28,330	-4337,75	-8,308	-0,074	4,360
20	1,130	-68,910	-4592,77	-8,832	0,093	4,550
21	2,570	-25,580	-4311,28	-8,037	-0,086	5,040
22	0,340	-57,180	-4631,34	-8,831	-0,276	3,940
23	2,890	-28,700	-4466,96	-8,235	-0,347	4,430
24	8,000	-45,930	-4428,63	-8,924	0,015	4,860
25	1,240	-22,580	-5142,17	-8,630	-1,085	8,570
26	4,310	-36,970	-5103,71	-9,168	-0,859	9,220
27	2,900	-31,790	-5103,49	-9,527	-0,870	6,390
28	0,046	-40,760	-4493,83	-8,252	0,044	2,940
29	0,960	-52,870	-5267,55	-9,138	-0,863	8,670
30	7,700	-15,520	-4402,62	-8,365	-0,251	3,110
31	27,600	-97,640	-4357,27	-8,928	0,113	5,000
32	27,600	-82,560	-4422,04	-8,365	0,065	4,380
33	0,340	-146,880	-5206,20	-8,984	-0,498	5,120
34	0,312	-63,540	-4787,15	-9,022	-0,430	4,860
35	0,021	-86,610	-5106,83	-9,038	-0,812	7,340
36	0,007	-143,710	-5427,99	-8,862	-0,847	5,220

Tabla no.2 Propiedades calculadas con Mecánica Molecular.

Sustituyente	Volumen Molecular A ³	Area VDW	Densidad Electrónica C sust.	Area acc.
2-Cl	373	272	4,074	458
2-CF ₃	389	277	4,011	467
2-OCH ₃	378	270	3,882	454
2-H	395	282	4,135	472
2-OCO(2'-OH-C ₆ H ₅)	388	286	4,229	474
2-CH ₃	298	277	4,024	467
2-F	420	283	4,121	470
2,4-Cl ₂	413	293	3,896	488
2-I	411	299	4,080	489
2-Br	405	286	4,111	478
2-OCH ₂ Ph	438	306	4,027	505
2-Cl,4-NO ₂	426	299	4,019	496
2-CH ₂ Ph	472	338	3,978	550
2-Ph	504	370	4,032	580
2-S-CH ₂ -Ph	513	367	3,998	568
2-SOCH ₂ Ph	513	378	4,034	616
2-SO ₂ CH ₂ Ph	525	390	4,007	600
2-CH ₂ CH ₂ Ph	493	359	3,904	580
2-CH ₃ ,4-CH ₃	490	354	3,876	581
2-SPh	521	397	3,899	622
2-SOPh	502	362	4,227	584
2-NHPh	514	383	4,499	601
2-CH ₂ (4'-NO ₂ Ph)	532	378	4,198	608
2-CH ₂ (2'-NO ₂ Ph)	535	402	4,023	628
2-S(4'-NO ₂ -Ph)	554	399	4,265	635
2-O(4'-NO ₂ Ph)	555	387	4,014	616
2-CH ₂ (4'-NH ₂ -Ph)	548	372	3,999	588
2-OSO ₂ (4'-Me-Ph)	503	366	4,003	583
2-OPh	538	394	3,916	625
2-NH-pirid-2'-yl	484	362	3,867	591
2-CH ₂ C ₆ H ₁₁	550	392	4,032	610
2-NHC ₆ H ₁₁	533	370	3,863	631
2-Br,4-F	532	406	3,908	643
2-CH ₂ (4'-F-Ph)	546	416	4,526	644
2-CH ₂ Ph,4-F	549	420	4,789	640
2-CH ₂ (4'-F-Ph),4-F	556	430	3,822	652

Los resultados mostrados anteriormente son utilizados para realizar el ACUARESA. En éste se analiza de manera profunda qué propiedad fisicoquímica de las calculadas es la que más contribuye con la actividad biológica. Este estudio se muestra más adelante.

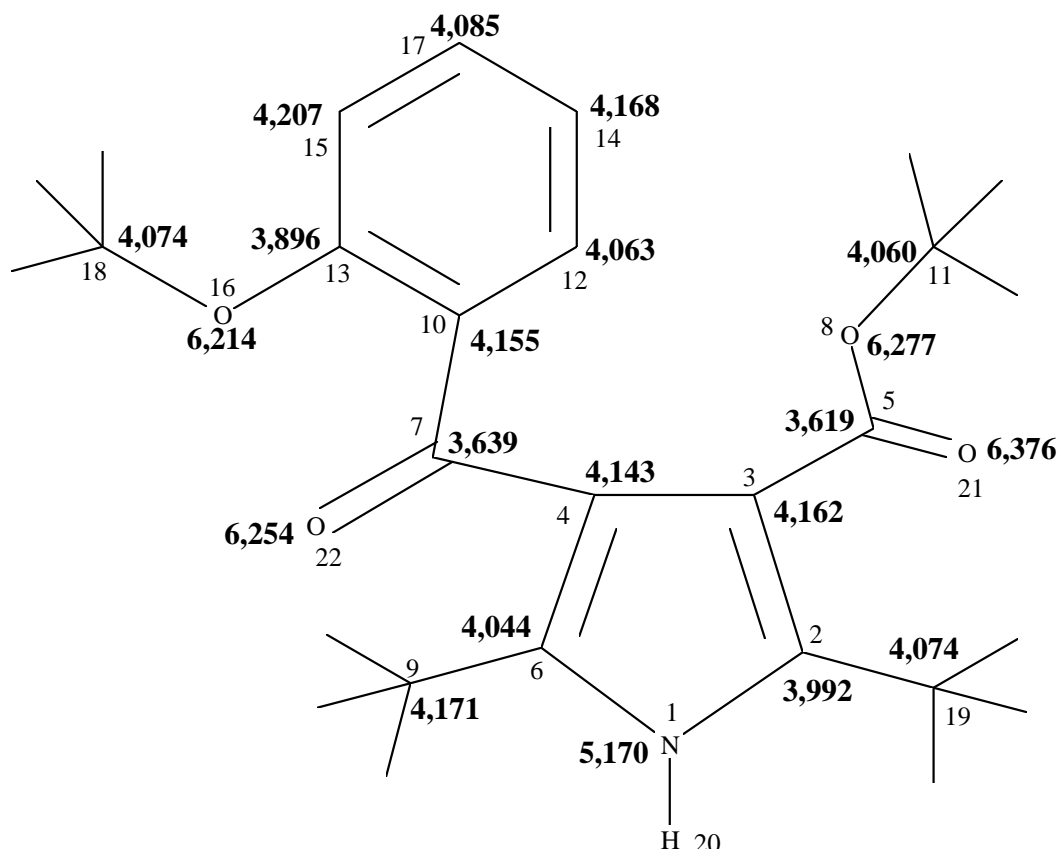
4.1.3. Densidades Electrónicas.

Por otra parte la densidad de carga por átomo que informa AM1, nos da a conocer la distribución electrónica de toda la molécula, de tal manera que podemos analizar el posible comportamiento de ésta. En la tabla 3 se muestran las densidades electrónicas de los 6 compuestos más activos y en la figura 3 se muestra la distribución de carga que se presenta en estos compuestos.

Tabla 3. Densidades electrónicas de cada átomo de los compuestos más activos.

ATOMO No.	Comp. 8	Comp. 36	Comp. 35	Comp. 1	Comp. 2	Comp. 3
1	5,170	5,173	5,171	5,169	5,169	5,169
2	3,992	3,993	3,985	3,994	4,005	3,989
3	4,162	4,159	4,168	4,159	1,145	4,161
4	4,143	4,147	4,145	4,147	4,158	4,146
5	3,619	3,626	3,626	3,622	3,624	3,620
6	4,044	4,058	4,034	4,047	4,031	4,044
7	3,639	3,634	3,669	3,652	3,652	3,649
8	6,278	6,263	6,279	6,265	6,261	6,279
9	4,171	4,164	4,186	4,160	4,175	4,168
10	4,155	4,157	4,002	4,167	4,124	4,165
11	4,060	4,069	4,059	4,141	4,063	4,060
12	4,063	4,067	4,123	4,082	4,011	3,882
13	3,896	3,822	4,789	4,074	4,088	4,068
14	4,168	4,167	4,073	4,148	4,122	4,174
15	4,207	4,197	4,048	4,148	4,139	4,151
16	6,214	6,636	3,160	4,103	4,103	4,093
17	4,085	4,078	4,14 2	4,185	4,182	4,186
18	4,074	3,125	4,792	6,378	6,373	6,373
19	4,185	4,876	4,065	6,289	6,275	6,247
20	6,376	4,006	4,112		6,991	7,101

Figura no.3. Distribución de las densidades electrónicas del compuesto 8.



En la figura los números marcados son la densidad electrónica que presenta cada átomo y en números claros se presenta la numeración utilizada.

Las densidades electrónicas de los 36 derivados no tienen cambios significativos en los átomos que forman el anillo de pirrol ni en los que forman el carboxilato; esto es, en esta parte de la molécula no se observan cambios debidos al sustituyente; lo que por el contrario, sí ocurre en la otra parte de la molécula (el carbonilo, el fenilo y el mismo sustituyente). Estos cambios dependen totalmente de las características del sustituyente, aunque ninguno de éstos indica que la densidad electrónica sea el parámetro principal para que se de la eventual actividad biológica de estos compuestos.

4.1.4. Órdenes de Enlace.

Otros parámetros que se analizaron, fueron los órdenes de enlace, los cuales también son calculados con el método de cálculo semiempírico AM1. En la figura 4, se muestran como ejemplo los órdenes de enlace del compuesto 8. Ahí podemos observar la deslocalización de electrones dado el valor promedio de enlace de 1,39. En general los demás órdenes de enlace que se presentan varían dependiendo de la electronegatividad de los átomos que los forman y de los que se encuentran vecinos a éstos.

En la tabla 4, se presentan los órdenes de enlace entre el átomo de carbono que forma parte del anillo fenólico y que se une al sustituyente con el primer átomo del mismo; de los 18 derivados más activos.

Figura 4. Ordenes de enlace del compuesto 8, obtenidos con AM1.

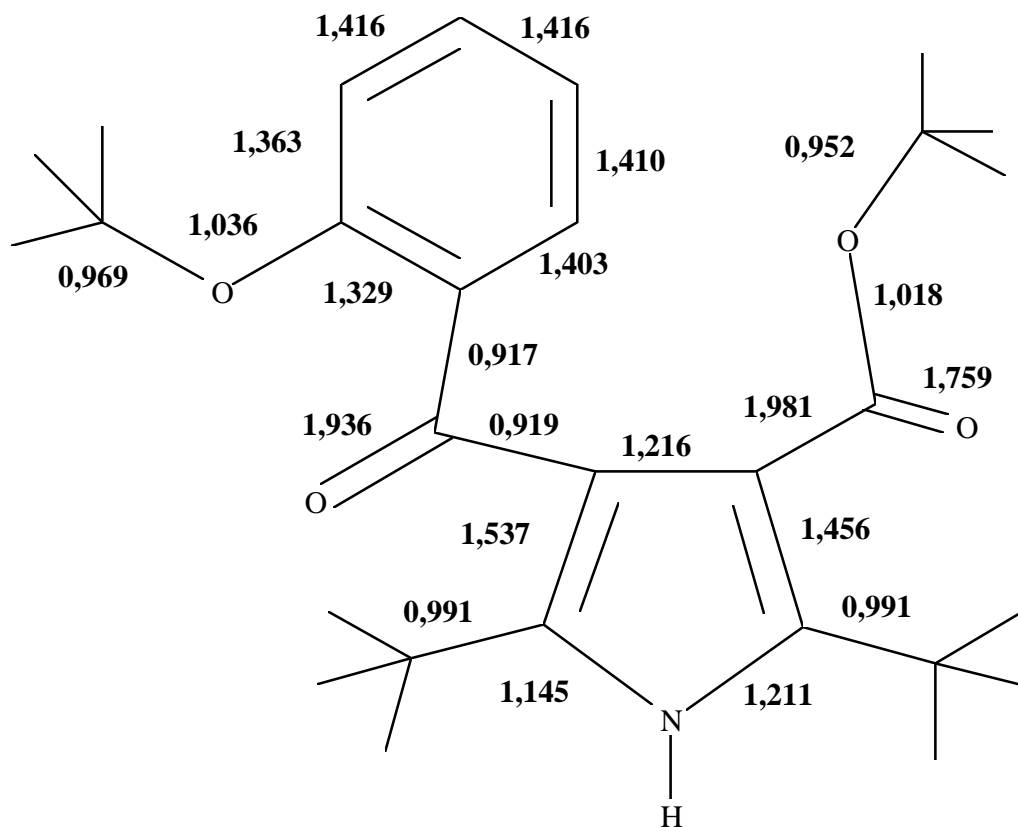


Tabla 4. Se muestran los ordenes de enlace entre el C13 y el primer átomo del sustituyente de los 18 compuestos más activos. Datos obtenidos con el método AM1.

Comp. No.	Orden de enlace
8	1,036
36	1,024
3	1,021
35	0,597
28	0,975
12	0,999
2	1,009
6	0,999
4	0,984
11	1,016
13	0,997
5	0,961
10	0,987
7	0,905
9	1,013
33	0,982
22	0,742

Como se puede observar los valores de orden de enlace no varían mucho, a excepción de los compuestos 22 y 35 donde el orden de enlace se ve muy disminuido; en estos derivados el átomo 16 es un azufre, la razón es porque para el S el método AM1 no tiene buenos parámetros.

4.1.5. Orbitales Moleculares.

Como se había mencionado, el método AM1 provee de los valores de HOMO y LUMO de todos los derivados del FPL 64176, así como los coeficientes de los orbitales atómicos que más contribuyen a dichos orbitales moleculares; éstos se presentan en la tabla 5.

Los valores de estas energías son índices muy útiles de interés químico y farmacéutico, pues estos miden respectivamente la capacidad de donar o aceptar electrones por parte de la molécula, es decir un valor grande de HOMO indicará una alta tendencia a donar electrones, así como un pequeño de LUMO denotará la

mayor resistencia a aceptar electrones. Por consiguiente, los átomos cuyos coeficientes de los orbitales atómicos contribuyen más al HOMO, se consideran como el centro nucleofílico de la estructura; en el caso del LUMO, los átomos que contribuyen más a éste, se consideran como el centro electrofílico del derivado correspondiente.

Este tipo de parámetros es importante, puesto que nos permite conocer como podría ser la interacción del fármaco con el sitio receptor.

Tabla 5. Orbitales atómicos que más contribuyen al HOMO obtenidos con AM1.

Comp. No.	átomo y no.	Orb. atóm.	Coficiente. HOMO	Comp. No.	átomo y no.	Orb. atóm.	Coficiente HOMO
8	C2	pz	0,51548	1	C2	pz	-0,52547
8	C3	pz	0,335442	1	C3	pz	-0,35222
8	C4	pz	-0,39877	1	C4	pz	0,39531
8	C6	pz	-0,55587	1	C6	pz	0,55913
3	C2	pz	0,52070	2	C2	pz	0,53130
3	C3	pz	0,35096	2	C3	pz	0,35932
3	C4	pz	-0,39432	2	C4	pz	-0,39050
3	C6	pz	-0,55801	2	C6	pz	-0,54937
36	C2	pz	-0,52619	4	C2	pz	0,52886
36	C3	pz	-0,35854	4	C3	pz	0,34764
36	C4	pz	-0,38493	4	C4	pz	-0,40540
36	C6	pz	0,56331	6	C2	pz	0,52105
35	C2	pz	0,51858	6	C3	pz	0,34791
35	C3	pz	0,35628	6	C4	pz	-0,39261
35	C4	pz	0,39865	6	C6	pz	-0,56128
35	C6	pz	0,55546	11	C2	pz	0,52944
12	C2	pz	0,51788	11	C3	pz	0,37436
12	C3	pz	0,34282	11	C4	pz	-0,38562
12	C4	pz	-0,39249	11	C6	pz	-0,54120
12	C6	pz	-0,55940				

Los orbitales atómicos que contribuyen más al HOMO en la gran mayoría de los 36 derivados son el **pz** de los átomos de carbono 2, 3, 4 y 6; estos átomos son los que forman el anillo pirrólico de la estructura; siendo los que más contribuyen los carbonos 2 y 6, que están vecinos al átomo de nitrógeno del mismo anillo; por lo que, podríamos decir que esta zona de la molécula es nucleofílica. Esta zona se muestra en la figura 5.

Por otra parte los átomos que más contribuyen al orbital molecular LUMO son los que forman parte del carbonilo, del anillo fenólico y del sustituyente siendo los que más se repiten, los átomos: 7, 10, 12, 13, 14 y 15. En este caso se observa, a diferencia de lo que ocurre en HOMO que la contribución de los orbitales atómicos no es uniforme, es decir, que de manera variable los orbitales atómicos: **px**, **py** y **pz**, contribuyen al LUMO. En la tabla 7 se muestran los orbitales atómicos que más contribuyen al LUMO.

Tabla 6. Orbitales atómicos que más contribuyen al LUMO.

Compuesto No. 8			Compuesto No. 36			Compuesto No.3		
Atomo No.	Orbital atóm.	Coefic. contr.	Atomo No.	Orbital atóm.	Coefic. contr.	Atomo No.	Orbital atóm.	Coefic. contr.
C7	px	0,210	C10	px	0,139	C7	px	0,214
C10	px	0,259	C13	px	0,149	C10	px	0,261
C10	py	0,411	C14	px	0,132	C10	py	0,417
C10	pz	0,157	O16	s	0,102	C10	pz	0,157
C12	px	0,155	O16	px	0,155	C12	px	0,179
C12	py	0,289	S18	s	0,397	C12	py	0,361
C12	pz	0,127	S18	px	0,240	C12	pz	0,126
C13	px	0,105	C19	s	0,115	C13	py	0,177
C13	py	0,234	C19	px	0,354	C15	px	0,156
C14	px	0,100	C20	px	0,286	C15	py	0,275
C14	py	0,177	C21	px	0,273	C16	px	0,246
C15	px	0,134	C23	px	0,381	C16	py	0,422
C15	py	0,229	C23	pz	0,127	C16	pz	0,161
C17	px	0,265	C24	px	0,136	O20	px	0,178
C17	py	0,446	O43	px	0,126	O20	pz	0,101
C17	pz	0,176	O43	py	0,153			
O22	px	0,172	O43	pz	0,123			
O22	pz	0,103	O44	px	0,193			

Como podemos observar también encontramos una zona marcada de los átomos que más contribuyen al LUMO, la cual es el centro electrofílico de la molécula. Esta zona se muestra en la figura 5.

Para corroborar esta representación se realizaron cálculos del compuesto 8 (que es el más activo de esta serie) al igual que del BAYK8644 (modelo biológico), con el programa Spartan Versión 4.0⁶¹, que nos calcula e ilustra los orbitales de mayor contribución HOMO y LUMO. Los resultados obtenidos corroboran lo anteriormente expuesto, en referencia a las zonas nucleofílica y electrofílica de la

molécula 8 y se observa como en el BAYK8644 tiene contribución HOMO y LUMO en la misma zona (el anillo nitrogenado) aunque de diferente manera (Figuras 5 y 6). Este resultado es muy interesante dado que se ha comprobado que el modelo biológico actúa tanto de agonista como de antagonista de canales de calcio lo que indica que la contribución electrónica de las moléculas puede ser parte importante para que se de la eventual actividad biológica.

4.1.6. Estudio ACUARESA

Siguiendo la ecuación de Hansch, incluimos los factores hidrofóbico, estérico y electrónico para realizar el estudio ACUARESA, utilizando todos los valores de las tablas 1 y 2. La correlación entre las variables utilizadas se presenta en la tabla 7. El análisis de regresión múltiple se realizó con el programa Start Works™ 1,2, Fr; procesado en una computadora Macintosh SE FH HD. De esta correlación resultan las siguientes ecuaciones:

$$\log(1/CE50) = -9,997C\log P - 0,052 CMR + 0,500E_{HOMO} + 8,619 \quad \dots(4,1)$$

$$n=36, r=0,843, s=0,614$$

$$\log(i/CE50) = -0,916C\log P - 0,073CMR + 0,192E_{LUMO} + 4,046 \quad \dots(4,2)$$

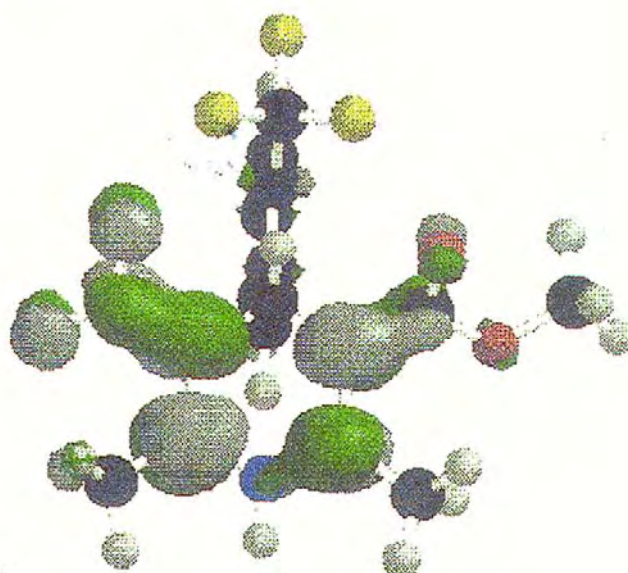
$$n=36, r=0,834, s=0,630$$

$$\log(1/CE50) = -0,922C\log P - 0,129CMR - 0,552GAP + 9,382 \quad \dots(4,3)$$

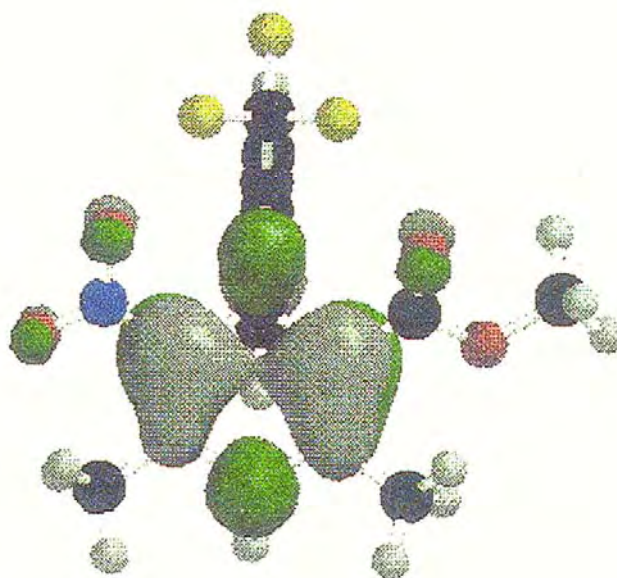
$$n=36, r=0,851, s=0,601$$

De las variables utilizadas en el método de análisis de regresión múltiple, la actividad biológica es la variable dependiente para la combinación lineal de las variables independientes antes descritas como son, la lipofilicidad y el efecto electrónico^{25,26}. En las ecuaciones anteriores, el coeficiente de correlación es aceptable, con cualquiera de los parámetros electrónicos que utilizemos, pero analizando la tabla 7 podemos observar que las variables CMR y ClogP no se pueden utilizar juntas en la misma ecuación porque están muy correlacionadas ($r=0,549$) y, como ya se había mencionado, necesitamos que las variables utilizadas sean linealmente independientes, y para esto se requiere una correlación entre las variables con un r menor a 0,30.

Figura 5.
Representación de la zona nucleofílica (1) y electrofílica (2)
del compuesto No. 8.

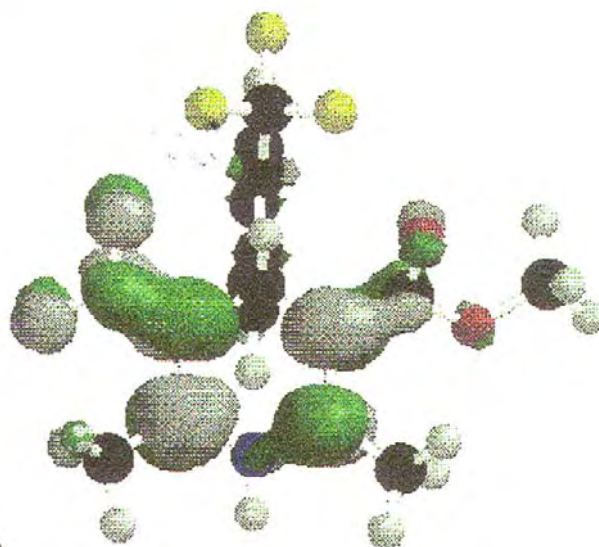


(2) Energía LUMO

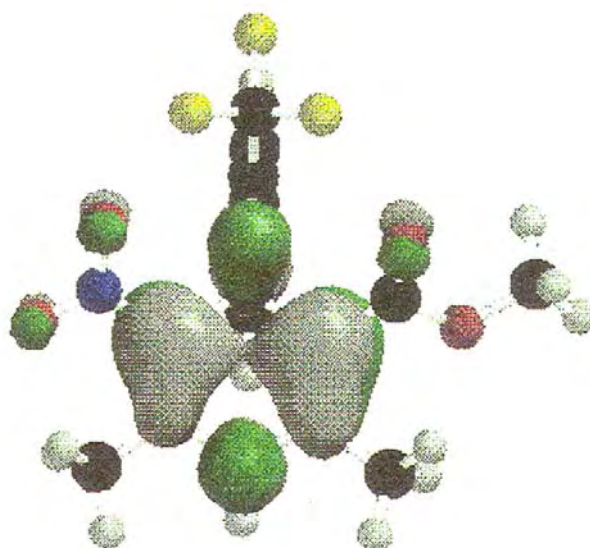


(1) Energía HOMO

Figura 6.
Representación de la zona nucleofílica (1) y electrofílica (2)
del compuesto del BAYK8644



(2) Energía LUMO



(1) Energía HOMO

Tabla 7. Correlación entre las variables utilizadas en ACUARESA.

	-log CE ₅₀	ClogP	CMR	-E _{HOMO}	-E _{LUMO}	m	-E _{tot}	-DH _f	Gap
-log CE ₅₀	1,000	-0,831	-0,496	0,151	0,116	-0,069	-0,298	0,259	0,009
ClogP		1,000	0,549	-0,334	-0,095	0,066	0,351	-0,177	-0,177
CMR			1,000	-0,214	-0,279	0,217	0,783	-0,268	-0,444
-E _{HOMO}				1,000	0,380	0,459	0,141	0,328	0,437
-E _{LUMO}					1,000	0,666	0,617	0,073	-0,666
m						1,000	0,520	0,106	-0,278
-E _{tot}							1,000	0,223	-0,486
-DH _f								1,000	0,193
Gap									1,000

Tomando en cuenta las consideraciones anteriores, se realizó el ACUARESA con dos variables, resultando las siguientes ecuaciones:

$$\log(1/CE_{50})=0,492E_{HOMO}-1,0364ClogP+8,196 \quad \dots\dots(4,4)n=36, \quad r=0,842, \quad s=0,608$$

$$\log(1/CE_{50})=0,108E_{LUMO}-0,976ClogP+3,586 \quad \dots\dots(4,5)n=36, \quad r=0,832, \quad s=0,625$$

$$\log(1/CE_{50})=0,398Gap -1,010ClogP+7,145 \quad \dots\dots(4,6)n=36, \quad r=0,843, \quad s=0,606$$

$$\log(1/CE_{50})=-0,011m-0,979ClogP+3,687 \quad \dots\dots\dots(4,7)n=36, \quad r=0,831, \quad s=0,626$$

$$\log(1/CE_{50})=1,0 \times 10^{-5}E_{Tot}-0,978ClogP+3,682 \quad \dots(4,8)n=36, \quad r=0,831, \quad s=0,626$$

$$\log(1/CE_{50})=3,0 \times 10^{-5}DH_f-0,956ClogP+3,335 \quad \dots(4,9)n=36, \quad r=0,839, \quad s=0,613$$

Las ecuaciones 4,4 a 4,9 muestran que la actividad biológica se puede describir aceptablemente por dos variables. La mejor ecuación es la que involucra

ClogP y E_{Homo} (Ec.4,4).

Primero se tomó en cuenta que en el caso de los grupos que contienen azufre, por ejemplo -OSO₂ y -SO, los cálculos semiempíricos que relacionan las características electrónicas con las propiedades fisicoquímicas no coinciden con los datos reales. Además, se observó que los compuestos con estos grupos(34 y 22) no se ajustaban a las ecuaciones. La mejor ecuación que se obtuvo es la siguiente:

$$\log(1/CE_{50})=0,533E_{HOMO}-1,105ClogP+8,817 \quad \dots\dots\dots(4,10)$$

$$n=33, \quad r=0,886, \quad s=0,519$$

se observa que la correlación mejora un poco.

Siguiendo con el análisis de los compuestos cuya actividad biológica no se predice bien, consideramos que los compuestos 33, 13 y 14, se alejaban demasiado de los valores esperados y decidimos eliminarlos del ACUARESA.

De esta manera se hizo el ACUARESA final sin los compuestos 34, 22, 36 y 33. Las ecuaciones obtenidas son las siguientes:

$$\log(1/CE_{50})=0,582E_{HOMO}-1,1308ClogP+9,311 \quad \dots\dots(4,11)$$

$$n=30, \quad r=0,933, \quad s=0,406$$

$$\log(1/CE_{50})=0,172E_{LUMO}-1,059ClogP+3,952 \quad \dots\dots\dots(4,12)$$

$$n=30, \quad r=0,919, \quad s=0,444$$

$$\log(1/CE_{50})=0,212Gap-1,077ClogP+5,781 \quad \dots\dots\dots(4,13)$$

$$n=30, \quad r=0,920, \quad s=0,441$$

$$\log(1/CE_{50})=-0,002m-1,054ClogP+3,894 \quad \dots\dots\dots(4,14)$$

$$n=30, \quad r=0,917, \quad s=0,450$$

$$\log(1/CE_{50})=1,6 \times 10^{-4}E_{Tot}-1,008ClogP+4,410 \quad \dots\dots(4,15)$$

$$n=30, \quad r=0,920, \quad s=0,442$$

$$\log(1/CE_{50})=8,2 \times 10^{-4}DH_f-1,062ClogP+3,966 \quad \dots\dots(4,16)$$

$$n=30, \quad r=0,917, \quad s=0,449$$

La tabla 8 presenta la correlación entre las variables involucradas en las ecuaciones anteriores. En las tablas 9 y 10 se presentan los valores de la actividad biológica calculados y la desviación con respecto al valor experimental.

Tabla 8. Correlación entre las variables usadas en ACUARESA final.

	-log CE ₅₀	ClogP	CMR	-E _{HOMO}	-E _{LUMO}	m	-E _{tot}	-DH _f	Gap
-log CE ₅₀	1,000	-0,917	-0,640	0,173	-0,006	-0,041	-0,505	0,170	0,152
ClogP	-0,917	1,000	0,700	-0,362	-0,062	0,042	0,481	-0,216	-0,247
CMR	-0,640	0,700	1,000	-0,259	0,264	0,296	0,789	-0,406	-0,476
-E _{HOMO}	0,173	-0,362	-0,259	1,000	0,405	0,503	0,135	0,371	0,452
-E _{LUMO}	-0,006	-0,062	0,264	0,405	1,000	0,727	0,588	-0,071	-0,633
m	-0,041	0,042	0,296	1,503	0,727	1,000	0,614	0,084	-0,284
-E _{tot}	-0,505	0,481	0,789	0,135	0,588	0,614	1,000	0,050	-0,459
-DH _f	0,170	-0,216	-0,406	0,371	-0,071	0,084	0,050	1,000	0,383
Gap	0,152	-0,247	-0,476	0,452	-0,633	-0,284	-0,459	1,383	1,000

Tabla 9. Valores observados, calculados y desviaciones entre éstos, obtenidos con las ecuaciones 4,11, 4,12 y 4,13.

Sustituyente	log 1/CE ₅₀ observado	-log CE ₅₀ Ec. 4,11	Dlog 1/CE ₅₀ Ec. 4,11	-log CE ₅₀ Ec. 4,12	Dlog 1/CE ₅₀ Ec. 4,12	-log CE ₅₀ Ec. 4,13	Dlog 1/CE ₅₀ Ec. 4,13
2-Cl	1,0255	1,113	-0,088	1,129	-0,103	1,092	-0,067
2-CF ₃	0,5686	0,537	0,032	0,583	-0,014	0,649	-0,080
2-OCH ₃	2,2757	1,889	0,387	1,833	0,442	1,688	0,587
2-H	1,2291	1,644	0,415	1,613	0,384	1,575	-0,346
2-OCO(2'-OH-C ₆ H ₅)	0,4685						
2-CH ₃	0,8539	1,097	-0,244	1,128	-0,274	1,009	-0,155
2-F	2,0315	1,442	0,590	1,455	0,576	1,380	0,651
2,4-Cl ₂	0,4815	0,251	0,231	0,320	0,161	0,357	0,124
2-I	0,6576	0,669	-0,012	0,740	-0,082	0,602	0,005
2-Br	0,8239	0,972	-0,148	1,015	-0,191	0,885	-0,061
2-OCH ₂ Ph	-0,0531	-0,126	0,073	-0,055	0,002	-0,204	0,152
2-Cl,4-NO ₂	0,7959	1,173	-0,377	1,159	-0,363	1,510	-0,714
2-CH ₂ Ph	-1,5502						
2-Ph	0,7594						
2-S-CH ₂ -Ph	-0,4609	0,695	0,234	-0,988	0,528	-0,857	0,396
2-SOCH ₂ Ph	0,5058						
2-SO ₂ CH ₂ Ph	1,6778	1,608	0,069	1,525	0,152	1,709	-0,032
2-CH ₂ CH ₂ Ph	-0,9031	-1,107	0,204	-0,942	0,039	-1,084	0,181
2-CH ₃ ,4-CH ₃	1,2457	0,545	0,700	0,595	0,650	0,479	0,767
2-SPh	-0,4099	-0,591	0,181	-0,954	0,544	-0,881	0,471
2-SOPh	0,4685						
2-NHPh	-1,2767	-0,941	0,336	-1,132	-0,144	-1,124	-0,153
2-CH ₂ (4'-NO ₂ Ph)	-0,6345	-0,367	0,267	-0,261	-0,373	-0,117	-0,517
2-CH ₂ (2'-NO ₂ Ph)	-0,4624	-0,259	0,203	0,033	-0,495	0,111	-0,572
2-S(4'-NO ₂ -Ph)	-0,0934	-0,755	0,661	-0,956	0,863	-0,622	0,529
2-O(4'-NO ₂ Ph)	0,0177	-0,677	0,695	-0,569	0,587	-0,422	0,440
2-CH ₂ (4'-NH ₂ -Ph)	1,3400	1,263	0,077	0,906	0,434	0,949	0,391
2-OSO ₂ (4'-Me-Ph)	2,1427						
2-OPh	-0,4624	-0,60	0,138	-0,502	0,039	-0,634	0,172
2-NH-pirid-2'-yl	-0,8865	-0,013	-0,874	0,252	-0,624	-0,183	-0,703
2-CH ₂ C ₆ H ₁₁	-1,4409	-1,901	0,460	-1,700	0,259	-1,818	0,377
2-NHC ₆ H ₁₁	-1,4409	--1,030	-0,410	-1,184	-0,257	-1,192	-0,249
2-Br,4-F	0,6576	0,761	-0,103	0,16	-0,159	0,777	-0,119
2-CH ₂ (4'-F-Ph)	-1,1461	-0,734	-0,412	-0,542	-0,604	-0,693	-0,452
2-CH ₂ Ph,4-F	-1,2788	-0,750	-0,528	-0,590	-0,689	-0,659	-0,619
2-CH ₂ (4'-F-Ph),4-F	-1,2788	-0,964	-0,315	-0,758	-0,521	-0,825	-0,453

Tabla 10. Valores observados, calculados y desviaciones entre éstos, obtenidos con las ecuaciones 4,14, 4,15 y 4,16.

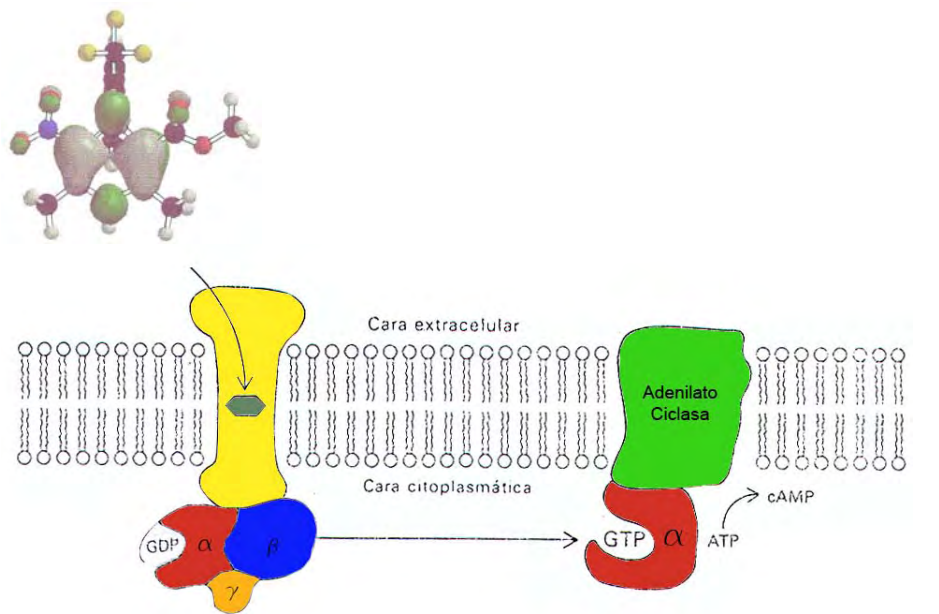
Sustituyente	log 1/CE ₅₀ observado	-log CE ₅₀ Ec. 4,14	Dlog 1/CE ₅₀ Ec. 4,14	-log CE ₅₀ Ec. 4,15	Dlog 1/CE ₅₀ Ec. 4,15	-log CE ₅₀ Ec. 4,16	Dlog 1/CE ₅₀ Ec. 4,16
2-Cl	1,0255	1,114	-0,089	1,181	-0,155	1,122	-0,096
2-CF ₃	0,5686	0,626	-0,57	0,526	0,043	0,513	0,056
2-OCH ₃	2,2757	1,745	0,531	1,773	0,503	1,732	0,544
2-H	1,2291	1,589	-0,360	1,691	-0,462	1,602	-0,373
2-OCO(2'-OH-C ₆ H ₅)	0,4685						
2-CH ₃	0,8539	1,071	-0,217	0,173	-0,319	1,077	-0,223
2-F	2,0315	1,418	0,613	1,456	0,576	1,397	0,634
2,4-Cl ₂	0,4815	0,354	0,127	0,398	0,084	0,352	0,129
2-I	0,6576	0,680	-0,023	0,772	-0,114	0,705	-0,048
2-Br	0,8239	0,954	-0,131	1,033	-0,209	0,971	-0,148
2-OCH ₂ Ph	-0,0531	-0,120	0,067	-0,147	0,094	-0,124	0,071
2-Cl,4-NO ₂	0,7959	1,341	-0,545	1,271	-0,475	1,360	-0,564
2-CH ₂ Ph	-1,5502						
2-Ph	0,7594						
2-S-CH ₂ -Ph	-0,4609	-0,974	0,513	-0,944	0,483	0,951	0,490
2-SOCH ₂ Ph	0,5058						
2-SO ₂ CH ₂ Ph	1,6778	1,604	0,073	1,425	0,253	1,602	0,075
2-CH ₂ CH ₂ Ph	-0,9031	-0,985	0,082	-0,948	0,045	-0,976	0,073
2-CH ₃ ,4-CH ₃	1,2457	0,543	0,702	0,644	0,602	0,540	0,706
2-SPh	-0,4099	-0,985	0,575	-0,930	0,520	-0,959	0,549
2-SOPh	0,4685						
2-NHPh	-1,2767	-1,163	0,113	-1,105	-0,171	-1,142	0,134
2-CH ₂ (4'-NO ₂ Ph)	-0,6345	-0,170	-0,465	-0,268	-0,366	-0,141	-0,494
2-CH ₂ (2'-NO ₂ Ph)	-0,4624	0,130	-0,592	0,014	-0,476	0,161	-0,623
2-S(4'-NO ₂ -Ph)	-0,0934	-0,822	0,729	-0,900	0,806	-0,787	0,694
2-O(4'-NO ₂ Ph)	0,0177	-0,474	0,492	-0,587	0,604	-0,461	0,479
2-CH ₂ (4'-NH ₂ -Ph)	1,3400	0,863	0,477	0,806	0,534	0,886	0,454
2-OSO ₂ (4'-Me-Ph)	2,1427						
2-OPh	-0,4624	-0,554	0,092	-0,536	0,074	-0,550	0,087
2-NH-pirid-2'-yl	-0,8865	-0,265	-0,621	-0,258	-0,628	-0,229	-0,657
2-CH ₂ C ₆ H ₁₁	-1,4409	-1,723	0,282	-1,643	0,202	-1,761	0,320
2-NHC ₆ H ₁₁	-1,4409	-1,216	-0,225	-1,169	-0,272	-1,239	-0,201
2-Br,4-F	0,6576	0,806	-0,148	0,817	-0,159	0,786	-0,129
2-CH ₂ (4'-F-Ph)	-1,1461	-0,587	-0,559	-0,615	-0,531	-0,605	-0,541
2-CH ₂ Ph,4-F	-1,2788	-0,594	-0,684	-0,625	-0,654	-0,615	-0,664
2-CH ₂ (4'-F-Ph),4-F	-1,2788	-0,755	-0,524	-0,851	-0,428	-0,811	-0,467

4.2. Discusión

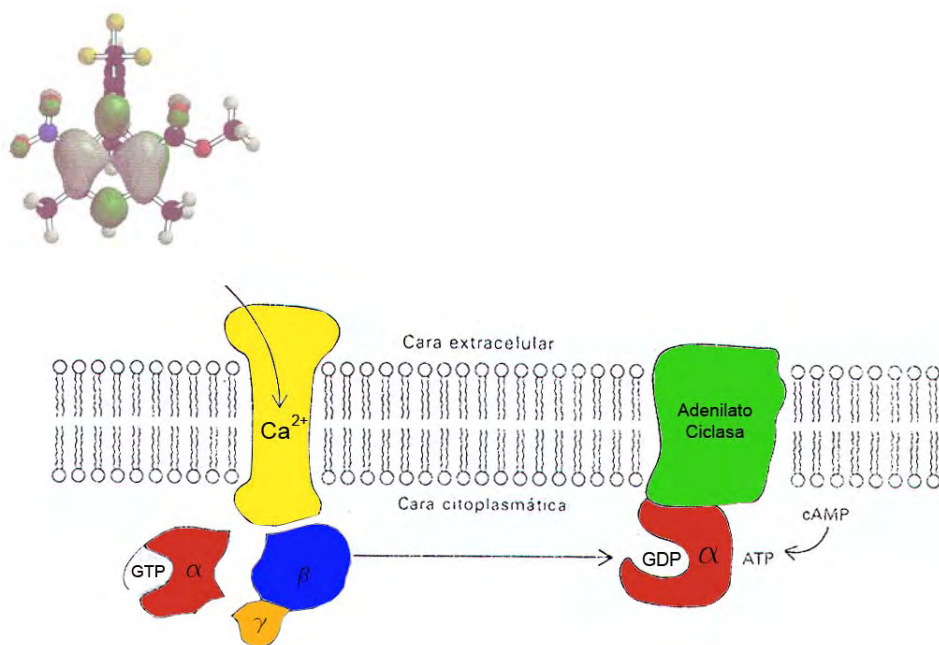
La ecuación obtenida con el ACUARESA, que mejor describe la actividad biológica es la que involucra EHOMO y logP (ec 4,11). Si bien, las ecuaciones 4,12 y 4,13 demuestran que también E LUMO y el Gap (EHOMO-ELUMO) describen bien el efecto electrónico sobre la actividad biológica. Al analizar los coeficientes de correlación de las ecuaciones anteriores y compararlos con la actividad biológica y log de P, $r=0,917$, podemos deducir que la hidrofobicidad es el efecto principal que influye sobre la actividad de los compuestos estudiados. De los tres parámetros electrónicos utilizados, sólo HOMO incrementa aceptablemente el coeficiente de correlación, por lo tanto, aunque las tres ecuaciones tienen buen coeficiente de correlación, E HOMO, es la única que está correlacionando sustancialmente el efecto electrónico con la actividad biológica.

Por lo antes expuesto podemos decir que aún cuando las ecuaciones 4,14, 4,15 y 4,16 tienen buenos coeficientes de correlación; no nos permiten concluir acerca de la influencia de la E total, el momento dipolar y el calor de formación sobre la actividad biológica.

En la figura 7 se presenta un esquema que donde se propone la probable mecanismo de acción donde el FPL64176 interactúa en el Canal de Ca^{2+} con su receptor acoplado alostéricamente a la subunidad α_1 , y estimulándolo para su activación, por medio de una diferencia de potencial, que permite la activación del mismo, permitiendo así el paso de la corriente de Ca^{2+} al interior de la célula. ⁶²



Estado Inactivo



Estado Activo

Figura 7. Esquema de una propuesta de interacción del FPL64176 en el Canal de Ca^{2+} .

CAPITULO V

CONCLUSIONES

Se realizó el análisis teórico conformacional del FPL64176 y análogos, obteniéndose los parámetros fisicoquímicos siguientes: la energía total, el potencial de ionización, la energía HOMO, la afinidad electrónica, la energía LUMO, el momento dipolar, los volúmenes moleculares y las densidades electrónicas de cada compuesto, al igual que las áreas de VDW y las áreas accesibles al disolvente; teniendo así suficientes datos que puedan describir el efecto estérico y electrónico en el estudio ACUARESA.

Realizamos también el cálculo de la estructura electrónica, obteniendo como resultado que en la molécula se formen dos sistemas específicos de distribución electrónica, que son determinantes para que se presente la eventual actividad biológica.

Los resultados del estudio ACUARESA nos muestran que dos son los parámetros más importantes que se correlacionan con la actividad biológica de estos compuestos. El que presenta mayor aporte es la hidrofobicidad ($\log P$) resultado esperado, dado que la interacción de estos compuestos con su receptor esta dada en las membranas celulares del músculo cardiaco. Por otra parte, aunque influyendo menos, se encuentra el efecto electrónico descrito por la contribución de los orbitales atómicos en HOMO localizado en el anillo pirrólico, creándose un sistema nucleófilo en esta parte de la molécula.

Con base en los resultados obtenidos y las referencias citadas en cuanto al mecanismo de acción posible de los agonistas de canales de calcio, puede proponerse que el FPL64176 y sus análogos, al interactuar con su receptor en el canal de calcio voltaje-dependiente tipo "L," estimulan de manera directa, por medio de una diferencia de potencial, la entrada de Ca^{2+} a la célula. Lo anterior se propone en la figura 5 del capítulo anterior.

Los estudios ACUARESA son una herramienta actual de gran alcance, pues ayudan a dirigir investigaciones optimizando tiempo y costos invertidos, además de comprobarse que métodos matemáticos como éste, describen bien las propiedades relevantes de la actividad biológica de un grupo de compuestos y permiten realizar ciertas transformaciones para ser evaluadas, dando pie a nuevos conocimientos y estudios posteriores, contribuyendo así al desarrollo de fármacos de utilidad en el tratamiento de cardiopatías.

Bibliografía.

1. González Carbajal, E., " Diagnóstico de la Salud en México " Ed. Trillas Impreso en México (1988).
2. Janis, R. A., Silver, P., Triggle, D. J. Drug Action and cellular calcium regulation. *Adv. Drug. Res.* **16**, 309-591, (1987).
3. Baxter, Andrew J. G., Dixon John, Ince Francis, Carol N., Manners and Simon J. Teague. "Discovery and Synthesis of methyl 2,5-dimethyl(-4(2-(fenylmethyl)benzoyl)-1H-pyrrole-3-carboxylate (FPL 64176) and Analogues: The first examples of a new class of calcium channel activator. *J. Med. Chem.* **36**, 2739-2744, (1993).
4. Reviews in Computational Chemistry. Lipkowitz, K. B. y Boyd, D. B., Eds. VCH Publishers, New York, Vol. 1.
5. Langley, J. N. 1878. *J. Physiol.* (London), **1**, 367
6. Ehrlich, P. 1897, *Klin Jahr*, **6**, 299.
7. Silverman, R. B.. The organic Chemistry of Drug Design and Drug. Actiun Academic U. S. A. 1992 Charter 3, Receptors 53-95
8. Goldstein, A. Aronow, L. and Kalman, S. M., Farmacología, Ed. Limusa, México pp.2, (1979).
9. Loew, G. A. Et al, in molecular and quantum pharmacology; E. Bergmann and Pullman (eds), *Proc. 7th Jerusalem Simposium on Quantum Chemistry and Biochemistry*; Reidel, Dordrecht, Holland, (1974).
10. Goodman, L. and Gilman. Bases farmacológicas de la Terapéutica 8a Ed Panamericana, impreso en Argentina, Capitulo 7, (1991).
11. Rampe, David and Lacerda, Antonio E. " A New Site for the Action of Cardiac Calcium Channels Cefined by the Nondihidropyridine FPL 64176. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **259**, no.3: 982-987, (1991).
12. Takahashi et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* (1987) **84**:5478-5482.
13. Chidsey, C.A. en Braunwald, E, New York, H. P, Publicado en 1975, pág. 45..
14. Kunze, Diana L. and Rampe David. Characterization of the effects of a New calcium-channel agonist. *J. Med. Chem.* **26**: 666-672, (1992).
15. Tsien, R. W.; D. Lipscombe, D. V. Madison, K. R. Bley, and A, P. Fox, Multiple types of neutral calcium channels and their selective modulation *Trends Neurosci*; **11**: 431-438, (1988).
16. Bean, B. P. Classes of Calcium Channels in vertebrate Cells. *Annu Rev. Physiol.* **51**: 367-384, (1989).
17. Llinas, R. M. Bugimori, J. W. Lin, and B. Cherksey, Blocking and isolation of a calcium channel from neurons in mammals and cephalopods utilizing a toxin fraction (FTX) from funnel-web spider poison *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* **86**: 1689-1693 (1989).
18. Janis, R. A. et. Al, p.314 (2).
19. Rompe, David and Cade, Richard C., Functional Interactions between two Ca²⁺

- channel activators, (s)-BayK 8644 and FPL 64176, in smooth muscle. *Molecular Pharmacology*, **41**: 599-602, (1992).
20. Davis, Andrew M., Gensmantel Nigel P., Johansson Erik, and Marriott David P.. The use of the program in the 3-D QSAR analysis of series of calcium-channel agonist. *J. Med. Chem.* **37**: 963-972, (1994).
 21. Triggle, J.; and D. Rampe, 1,4-dihydropyridine activators and antagonists: structural and functional distinctions. *Trends Pharmacol. Sci.* **10**: 507-511, (1989).
 22. Yvonne C. Martin A. Practitioners Perspective of the role of Quantitative Structure-Activity Analysis in Medical Chemistry. *Journal of Medical Chemistry.* **24**, 3, (1981) 229-237.
 23. Hansch, C. Kim, D., Leo, A. J. Novellino, E. Silipo, C. Vittoria, A. *CRC Crit Rev. Toxicol*, **19**: 185-226 (1989).
 24. Hansch, C. Maloney, P.P. Fujita, T., and Muir, R. M. 1962 *Nature* (London)**194**, 178
 25. Hansch, C. and Fujita, T. 1964 *J. Am. Chem. Soc.*, **86**: 1616.
 26. Hammett, L. P. *Physical Organic Chemistry*. McGraw-Hill, New York.
 27. Ellgehausen, H. D'Homdt, C. Fuerer, R., *Pestic. Sci.*, **12**: 219-227, (1981).
 28. Konemann, H. Zelle, R. Busser, F. *J. Chromatog.*, **178**: 559-565, (1979).
 29. Fujita, T., Iwasa, J, and Hansch, C. *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 5175, (1964).
 30. Kubinyi, H., *Prog. Drug. Res.*, **23**: 97-198, (1979).
 31. Compadre, C. M., Hansch, C. Klein, T. E., Langridge, R., *Biochim Biophys. Acta*, **1038**, 158-163, (1990).
 32. Hansch, C, and Leo, A. Substituent constants for correlation Analysis in Chemistry and Biology, pp.339, Wiley-Interscience, New York, (1979).
 33. Anónimo., *Manuales de Software Medchem*. Daylight Chemical information Systems, Inc., Claremont, California, pp75, (1989).
 34. Hansch, C. Leo A. Unger, S. H., Kim, K. H., Nikaitani, D, and Lien, E. J. *J. Med. Chem.*, **16**, 1207, (1973).
 35. Lennard-Jones J. E., *Trans Faraday Soc.* **25**, 668 (1929).
 36. C. A. Coulson and J. C. Longuet-Higgins, *Proc. Roy. Soc. (London)*, **A191**, 139 (1947).
 37. Born, M. & Oppenheimer, J. R., *Ann. Physik*, **84**, 457, (1927).
 38. Schrödinger E., *And Physik.*, **79**, 361-489, **80**, 437, **81**, 109 (1926).
 39. Roothan, C. J., *Rev. Mod. Phys.*, **23**, 69, (1951).
 40. Pople, J. A., Beveridge, D. L. " *Approximate Molecular Orbital Theory*", McGraw-Hill Book Co. New York (1970).
 41. Klopman, G., *J. Am Chem. Soc.*, **86**, 4550 (1964). **87**, 3300 (1965).
 42. Dewar, M. J. S. and Thiel, W., *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 4899(1977).
 43. Craig, P. N., *J. Med Chem.*, **14**, 680 (1971)
 44. Brickstock, A., and Pople, J. A., *Trans Faraday Soc.*, **50**, 901 (1954)
 45. Hansch, C., et al., *J. Med. Chem*, **16**, 1207 (1973).
 46. Purcell, W. P., Bass, G.E. and Clayton, J. M. , *Strategy of Drug Design: A Guide to Biological Activity*. Wiley, New York, 1973.
 47. Pople, J. A., D. P. Santry, and Segal, G. A., *J Chem. Phys.*, **43** s129 (1965).
 48. Dixon, R. N., *Mol. Phys.*. **12**, 83 (1967).
 49. Baird, N.C., and Dewar, M.J. S., *J. Chem Phys.*, **50**, 1262 (1969).

- Baird, N. C., and Dewar, J. S., *J. Chem Phys.*, **50**, 1262 (1969)
- 50.** Coulson, C. A. and Longuet-Figgins, J., C., *Proc. Roy. Soc. (London)*, A191, 139(1947).
- 51.** Ganellin, C. R., en *Chroniques of Drug Discovery*, J. S. Bindra and D. Lednicer, Eds. Wiley, New York, 1982. Cimetidine.
- 52.** Pople, J. A., *Trans. Faraday Soc.*, **49**, 1375 (1953)
- 53.** Dewar, M. J. S. , and Haselbach, E., *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 1285 (1975).
- 54.** Bingham, R. C., Dewar, M. J. S., and Lo, D. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, 1285 (1975).
- 55.** Allinger, N. L. Tribble M. T., Miller, M. A. & Weertz, D. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 1637 (1971).
- 56.** Boyd, D. B. & Lipkowitz, K. B. *J. Chem Educ.*, **59**, 269, (1982).
- 57.** Bowen, J. P. & Allinger N. L, *Reviews in Computational Chemistry*, Cap 3, pp81, Ed. por Boid y Lipkowitz.
- 58.** Counts, R. W., *QCPE Bull.*, **4**, 7393 (1988).
- 59.** Mopac 6.0 J.J.P. Stewart QCPE Program No.455 Chemistry Department, Indiana University In.USA 1989
- 60.** Waverfunction, Inc.. Guía del usuario de Spartan Versión 4.0, 1995
- 61.** Instructivo PC. Model 4.0 Serena Software. Box 3076 Bloomington, In 47402-3076
- 62.** Bean, B.P., Nowycky, M.C. & Tsien, R. W. *Nature* 307(5949), 371-375.. Beta-Adrenergic modulations in frog ventricular heart cells. 1984