

UCH-FC
MA6-A
0397
C1

314

PARAMETRIZACION DEL EFECTO ESTERICO EN
FARMACOLOGIA CUANTICA.



Tesis

Entregada a la

Universidad de Chile

en cumplimiento parcial de los requisitos

para optar al grado de

MAGISTER EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN QUÍMICA

FACULTAD DE CIENCIAS

por

MARIO OJEDA VERGARA

1991.

DIRECTOR DE TESIS: PROFESOR JUAN SEBASTIAN GOMEZ JERIA.

Facultad de Ciencias

Universidad de Chile

I N F O R M E D E A P R O B A C I O N
T E S I S D E M A G I S T E R

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Magister presentada por el candidato

MARIO ANDRES OJEDA VERGARA

ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito de Tesis para el grado de Magister en Ciencias Químicas con Mención en Química Cuántica.

Director de Tesis
Prof. J. Sebastián Gómez J.

Comisión Informante de Tesis

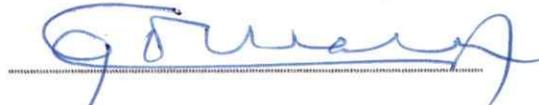
Dr. Bruce K. Cassels N.

Dr. Ernesto González

Dr. Ricardo Letelier









A G R A D E C I M I E N T O S .

1. Al Profesor Juan Sebastián Gómez Jeria, quién me guió y apoyó constantemente en la realización de este trabajo.
2. Al Profesor Dr. Juan Carlos Saavedra (Fac. de Medicina, Universidad de Chile), por la ayuda y consejos en la parte biológica y farmacológica.
3. Al Profesor Dr. Bruce Cassels, por su ayuda y muy valiosos consejos en la parte biológica, farmacológica y la estructura global de este trabajo.
4. Al Sr. Cristián Gazzari, por facilitar los equipos computacionales que permitieron la escritura e impresión de la forma final de este trabajo, y por su constante apoyo y valiosos consejos.
5. Al Fondo Nacional de Ciencia (CONICYT, Proyecto 1111-88 y 915-89) y al Departamento Técnico de Investigación (Universidad de Chile, Proyecto Q-2442 y Q-3064), por haber contribuido al financiamiento de las investigaciones reportadas aquí.
6. Al Servicio de Computación e Informática de la Universidad de Chile, por haber facilitado gentilmente los servicios computacionales necesarios para la parte teórica, sin los cuales este trabajo no habría podido llevarse a cabo.

INDICE DE MATERIAS

1. AGRADECIMIENTOS	I.
2. INDICE DE MATERIAS	II.
3. INDICE DE TABLAS Y FIGURAS	IV.
4. CAPITULO I. EL EFECTO ESTERICO EN RELACION AL DISEÑO DE NUEVOS FARMACOS	1
I.1. Diseño de nuevos fármacos	1
I.2. Aspectos moleculares de la acción de drogas	3
I.3. Formulación general de la relación estructura- actividad	6
I.4. Representación del efecto estérico	9
I.5. Clasificación de los ACEA	21
5. CAPITULO II. LA CONSTANTE DE EQUILIBRIO DROGA-RECEPTOR	24
II.1. Introducción	24
II.2. Función de partición rotacional	28
II.3. Momentos de inercia	32
II.4. Traducción del sistema de coordenadas	36
II.5. Rotación del sistema de coordenadas	38
II.6. Relación del parámetro orientacional con otros propuestos.....	57
II.7. Tratamiento de ΔE_0	63
6. CAPITULO III. ASPECTOS GENERALES DE LA APLICACION DEL METODO	65
III.1. Introducción	65
III.2. Elección de la geometría a emplear	68
III.3. Obtención de la función de onda molecular	69
III.4. Medición de la constante de equilibrio	71
III.5. Análisis estadístico	73
7. CAPITULO IV. INHIBICION DE LA ACETILCOLINESTERASA POR ALGUNOS FENIL N-METILCARBAMATOS	77
IV.1. Acetilcolina	77
IV.2. Sitios de modulación colinérgico	78
IV.3. Los fenil N-metilcarbamatos	80
IV.4. Resultados y discusión	82
8. CAPITULO V. ESTUDIO DE LA INHIBICION DE LA MONOAMINO- OXIDASA POR ALGUNAS β -CARBOLINAS	100
V.1. Monoaminoxidasa	100
V.2. Inhibidores de la MAO	100
V.3. Las β -carbolinas como inhibidores de la MAO	102

V.4. Resultados y discusión	103
9. CAPITULO VI. ANALISIS DE LA INTERACCION DE ALGUNAS APOMORFINAS CON RECEPTORES DOPAMINERGICOS	118
VI.1. Receptores dopaminérgicos	118
VI.2. Apomorfina	121
VI.3. Resultados y discusión	123
10. CONCLUSIONES GENERALES	132
11. APENDICE I	137
12. APENDICE II	146
13. REFERENCIAS	150

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS.

FIGURAS.

1. FIGURA 3.1. ESQUEMA DE TRABAJO EN UN ACEA	67
2. FIGURA 4.1. LOS FENIL N-METILCARBAMATOS	89
3. FIGURA 4.2. GRAFICO A exp./A calc. EC.4.4.....	96
4. FIGURA 4.3 GRAFICO A exp./A calc. EC. 4.5.....	97
5. FIGURA 4.4 GRAFICO A exp./A calc. EC. 4.6.....	98
6. FIGURA 4.5 GRAFICO A exp./ A calc. EC. 4.7.....	99
7. FIGURA 5.1. LAS β -CARBOLINAS	108
8. FIGURA 5.2 GRAFICO p150 exp./ p150 calc. EC. 5.2.....	117
9. FIGURA 6.1. LAS APOMORFINAS	127
10.FIGURA 6.2 GRAFICO log K exp./ log K calc. EC. 6.2....	131

TABLAS.

5. TABLA 2.1. PARAMETROS ORIENTACIONALES (PO) PARA HIDROCARBUROS	45
6. TABLA 2.2. PO PARA ALCOXIDOS	47
7. TABLA 2.3. PO PARA GRUPOS OXIALQUILICOS	48
8. TABLA 2.4. PO PARA GRUPOS AMINDALQUILICOS	49
9. TABLA 2.5. PO PARA GRUPOS ALQUILAMINO	50
10. TABLA 2.6. PO PARA GRUPOS DI-ALQUILAMINO	51
11. TABLA 2.7. PO PARA GRUPOS TIOALQUILICOS	52
12. TABLA 2.8. PO PARA GRUPOS HALOALQUILICOS	53
13. TABLA 2.9. PO PARA GRUPOS CON ELECTRONES π	54
14. TABLA 2.10. PO PARA GRUPOS HIDROXIALQUILICOS	55
15. TABLA 2.11. PO PARA GRUPOS VARIOS	56

16.	TABLA 4.1. VALORES EXPERIMENTALES Y CALCULADOS DE A PARA LOS FENIL N-METILCARBAMATOS ORTO SUSTITUIDOS	90
17.	TABLA 4.2. VALORES EXPERIMENTALES Y CALCULADOS DE A PARA LOS FENIL N-METILCARBAMATOS META SUSTITUIDOS	91
18.	TABLA 4.3. VALORES EXPERIMENTALES Y CALCULADOS DE A PARA LOS FENIL N-METILCARBAMATOS PARA SUSTITUIDOS	92
19.	TABLA 4.4. TEST DE STUDENT PARA LA ECUACION 4.4.	93
20.	TABLA 4.5. TEST DE STUDENT PARA LA ECUACION 4.5.	93
21.	TABLA 4.6. TEST DE STUDENT PARA LA ECUACION 4.6.	94
22.	TABLA 4.7. CUADRADO DE LOS COEFICIENTES DE CORRELACION PARA LA ECUACION 4.6.	94
23.	TABLA 4.8. TEST DE STUDENT PARA LA ECUACION 4.7.	95
24.	TABLA 4.9. CUADRADO DE LOS COEFICIENTES DE CORRELACION PARA LA ECUACION 4.7.	95
25.	TABLA 5.1. VALORES EXPERIMENTALES DE I_{50} PARA LAS β -CARBOLINAS	109
26.	TABLA 5.2. TEST DE STUDENT PARA LA ECUACION 5.1.	110
27.	TABLA 5.3. CUADRADO DE LOS COEFICIENTES DE CORRELACION PARA LA ECUACION 5.1.	111
28.	TABLA 5.4. TEST DE STUDENT PARA LA ECUACION 5.2.	112
29.	TABLA 5.5. CUADRADO DE LOS COEFICIENTES DE CORRELACION PARA LA ECUACION 5.2.	113
30.	TABLA 5.6. TEST DE STUDENT PARA LA ECUACION 5.3.	114
31.	TABLA 5.7. CUADRADO DE LOS COEFICIENTES DE CORRELACION PARA LA ECUACION 5.3.	115
32.	TABLA 5.8. VALORES CALCULADOS DE K CON LA ECUACION 5.2.	116
33.	TABLA 6.1. VALORES EXPERIMENTALES DE K PARA APOMORFINAS	128
34.	TABLA 6.2. TEST DE STUDENT PARA LA ECUACION 6.1.	129
35.	TABLA 6.3. VALORES CALCULADOS DE K PARA APOMORFINAS ...	130

CAPITULO I.

EL EFECTO ESTERICO EN RELACION AL DISEÑO DE NUEVOS FARMACOS

I.1 DISEÑO DE NUEVOS FARMACOS.

El diseño de nuevos compuestos con actividad farmacológica específica es un problema arduo, ya que se requiere que ellos sean más efectivos y específicos que los ya existentes, y que no produzcan efectos colaterales no deseados. La técnica más simple consiste en probar compuestos más o menos al azar y ver si presentan las propiedades farmacológicas deseadas. Esta modalidad de trabajo es poco efectiva ya que consume mucho tiempo, no garantiza los resultados y es poco económica. Se ha estimado que para obtener un anticancerígeno útil utilizando un método al azar deberían investigarse alrededor de $4 \cdot 10^8$ compuestos /1,2/. De ello la necesidad imperiosa de desarrollar y ensayar métodos que establezcan relaciones cuantitativas entre la estructura de la molécula y las propiedades de interés. Esto permitirá racionalizar las síntesis a realizar de tal modo que la probabilidad de obtener nuevos compuestos con propiedades específicas aumente considerablemente.

Si consideramos un sistema formado por un cierto número de compuestos que se diferencian por variaciones de una estructura dada (o compuesto guía) que presenta una actividad interesante, la hipótesis de trabajo es que la

probabilidad de descubrir compuestos con las propiedades biológicas deseadas es mayor en ese sistema que en cualquier otro. No existe aún un criterio absolutamente seguro para seleccionar sistemas, por lo que el primer paso en la investigación de nuevas drogas, el cual usualmente se conoce como "generación del compuesto guía", involucra un cierto grado de incerteza. Existen varios métodos de aproximación a este problema /3,4/ el que puede resumirse en las siguientes interrogantes:

01. ¿Cómo seleccionar sistemas apropiados en los cuales basarse y cómo utilizar las propiedades de compuestos guías conocidos en la predicción correcta de propiedades biológicas de dichos sistemas?

02 ¿Cómo encontrar aquél derivado del compuesto guía que exhiba las propiedades más favorables con la mínima cantidad de pruebas?, y

03 ¿Cuál estrategia elegir para obtener un máximo de información acerca de propiedades biológicas con el mínimo de pruebas, cuáles son estas y en qué orden deben efectuarse?

Para responder estas preguntas se requiere un conocimiento extenso de las relaciones entre estructura química y actividad biológica. Las técnicas empleadas para establecer tales relaciones son englobadas bajo el apelativo de "Análisis Cuantitativo Estructura Actividad" (ACEA), y hacen uso intenso de diversos métodos de análisis estadístico /5,6/.

En general, el uso de estas herramientas revela las conexiones entre un parámetro biológico, A, y propiedades moleculares, X_i . Una vez analizadas y evaluadas, estas relaciones permiten la predicción de la actividad biológica de compuestos nuevos. Además, algunos de estos ACEA permiten obtener información sobre el mecanismo de acción a nivel molecular. Antes de entrar a la formulación general de los ACEA, se examinarán en la próxima sección los aspectos moleculares de la acción de drogas.

1.2 ASPECTOS MOLECULARES DE LA ACCION DE DROGAS.

Globalmente, la acción de una droga comprende todos los procesos fisicoquímicos que afectan la molécula desde la zona de ingreso al organismo hasta que produce su efecto biológico. Estos procesos ocurren en una secuencia específica y pueden separarse en tres fases consecutivas: farmacéutica, farmacocinética y farmacodinámica /7/.

La fase farmacéutica comprende los procesos que conducen a la liberación de la especie activa de la droga, y depende de la forma de la dosis y de su distribución en la zona de administración, lo que determina la cantidad disponible para ser absorbida. La fase farmacocinética incluye todos los procesos relacionados con el transporte de la molécula de droga a través del organismo: absorción, distribución, metabolismo y excreción. En esta fase queda determinada la concentración de droga en el fluido extracelular, en la biofase y en los sitios en los cuales actúa. El transporte hasta las vecindades del receptor

generalmente implica el paso de la molécula a través de membranas celulares de estructuras complejas, como la barrera hematoencefálica, la mucosa gástrica y otras.

No todas las moléculas llegan a su sitio de acción, ya que algunas pueden enlazarse a las proteínas del plasma o a otras sustancias, o también pueden ser metabolizadas /8/. Es posible distinguir dos vías según si la molécula es sometida a procesos degradativos (catabolismo), o si la molécula es asimilada y posteriormente fijada en la biofase o en el fluido extracelular. En general, los procesos catabólicos conducen a una disminución de la concentración efectiva de la droga, y los de fijación o secuestro a una acción prolongada de esta.

Finalmente, la fase farmacodinámica comprende los procesos mediante los cuales las moléculas interactúan con su sitio de acción. En la mayoría de los casos (aunque no siempre), el sitio de acción es una macromolécula que puede ser una enzima, un receptor de hormonas o neurotransmisores, o un canal iónico. En este trabajo se denominarán receptores a todas estas estructuras.

La situación física en la vecindad de un receptor puede ser descrita como sigue : existe un conjunto de diversas moléculas con diferentes velocidades de traslación y rotación, las cuales interaccionan entre ellas y con las estructuras moleculares que constituyen las paredes celulares. Por otro lado, la biofase está sometida a un gradiente de flujo, lo que garantiza su renovación. Todo

ello hace pensar que las velocidades de traslación y rotación varían en el tiempo para cualquier molécula presente. La vecindad del receptor puede ser dividida en tres zonas /9/:

Zona I: Es el espacio inmediato que rodea la superficie del receptor y es donde se forma el complejo droga-receptor. Las fuerzas intermoleculares que gobiernan esta interacción son del tipo de puentes de hidrógeno, fuerzas de van der Waals y transferencia de carga. Ello originará en el receptor aquellos cambios que inducirán el estímulo que desencadenará la secuencia de procesos que generarán el efecto biológico. La entrada de moléculas a la zona I dependerá del grado de complementariedad entre la molécula y el receptor. A este respecto, se ha sugerido que la comparación de mapas de potencial electrostático molecular de una molécula de droga, cuya acción no haya sido medida experimentalmente, con el mapa de potencial electrostático de otras drogas de acción conocida, es un buen índice teórico para predecir este fenómeno /10,11/.

Zona II: Es el espacio que rodea la zona I. En esta zona, las fuerzas intermoleculares presentes son de carácter electrostático. Aquí, las moléculas de droga tienden a concentrarse, ser atraídas hacia el receptor y adquirir la orientación correcta para entrar a la zona I.

Zona III: Es el espacio remanente de la biofase, en el cual las moléculas y el receptor no interactúan en forma significativa.

Respecto del paso de moléculas desde la zona III a la zona II, todas las moléculas tienen en principio la misma probabilidad de hacerlo. Aquí lo importante es la concentración relativa de moléculas. Una vez en la zona II, algunas moléculas con distribuciones de carga apropiadas serán reconocidas, orientadas y conducidas hacia el receptor.

1.3 FORMULACION GENERAL DE LA RELACION ESTRUCTURA ACTIVIDAD.

En primera aproximación e intuitivamente, la actividad biológica, A, puede describirse como /12,13/:

$$\log A = F_h(X_h) + F_e(X_e) + F_s(X_s) + \text{constante} \quad (1.1)$$

donde F_h , F_e y F_s caracterizan respectivamente las influencias de los efectos hidrofóbicos, electrónicos y estéricos en la actividad biológica. Esta caracterización es llevada a cabo a través de los correspondientes parámetros X_i . En forma muy somera, estos efectos pueden ser descritos como sigue:

A. Efecto hidrofóbico.

Si en una molecula polar existen zonas apolares, como resultado se produce un desplazamiento de moléculas de agua de esta área (llamada región hidrofóbica). A este respecto es necesario aclarar que se supone que la droga es complementaria estructuralmente con el receptor. De ello deriva que se espera que si el receptor tiene una zona apolar, la parte complementaria de la droga lo sea también. Lo que se denomina efecto hidrofóbico corresponde a una

descripción macroscópica, por lo que a un nivel cuántico no es conveniente utilizar esa denominación. Desde un punto de vista biológico, el efecto hidrofóbico afecta aquellas moléculas que, por no poder solvatare, quedarán unidas a porciones de tejido adiposo y permanecerán por mayor tiempo en el organismo /14/. Las interacciones hidrofóbicas de drogas con los constituyentes de biosistemas pueden considerarse como una partición de la droga en la biofase, la que actuaría como solvente. En todo caso es conveniente distinguir entre los efectos hidrofóbicos sobre la afinidad por el receptor (efectos localizados), y sobre la distribución (efectos globales).

La hidrofobicidad de un compuesto depende en gran medida de su conformación y de su distribución electrónica, ya que éstas determinan sus regiones polares y apolares. Dentro de los parámetros más utilizados para caracterizar la hidrofobicidad global de una droga, se encuentran:

a) el coeficiente de partición, P, que es la relación entre la concentración de droga en un solvente no acuoso determinado y la concentración de droga en agua, siendo el solvente más comúnmente utilizado el octanol, y

b) π_x (para un sustituyente x) definido por :

$$\pi_x = \log P_{Y-x} - \log P_{Y-H} \quad (1.2)$$

donde $\log P$ es el logaritmo del coeficiente de partición octanol-agua, e Y el esqueleto al cual está unido el sustituyente x /15/.

B. Efectos electrónicos.

Debido a que en última instancia la interacción entre drogas y receptores se produce a través de interacciones de corto alcance, la distribución electrónica de una molécula de droga está íntimamente relacionada con su actividad biológica.

Esta relación es variada, ocurriendo bajo múltiples condiciones y a través de varios mecanismos: fuerzas de dispersión, transferencia de carga, interacciones electrostáticas, enlaces de hidrógeno, etc. Se han propuesto varios métodos para caracterizar los efectos hidrofóbicos y electrónicos y su influencia en la actividad biológica /Ref.1, pág.70/.

C. Efecto estérico.

El llamado efecto estérico ha sido definido como "aquél efecto producido por la distribución espacial de los átomos en una molécula, y que contribuye a retardar un proceso o reacción química" /16/. Este efecto es el más problemático de describir debido a que no existe un conjunto de valores o un método de parametrización aplicable a todos los casos. A continuación mencionaremos las principales contribuciones al respecto.

1.4 REPRESENTACION DEL EFECTO ESTERICO.

En 1889 S. Arrhenius demostró que la principal dependencia de la constante de velocidad de una reacción química es una función exponencial de la temperatura. Esta relación empírica se formuló como /17/:

$$k = A e^{-E_a/RT} \quad (1.3)$$

donde E_a es la energía de activación y A un factor que debía estar relacionado con los choques efectivos entre las moléculas reaccionantes y con su orientación espacial relativa. Ambas son determinadas a partir de la pendiente y ordenada al origen de la recta que representa la variación de $\ln k$ con $(1/T)$. Arrhenius postuló que en este factor preexponencial debían estar contenidos el número de choques entre las moléculas reaccionantes que poseen la energía necesaria para que se produzca la reacción, y un factor que diera cuenta de la orientación espacial relativa de los reaccionantes, ya que tanto la energía como la orientación relativa conducirían a definir qué choques serían efectivos. A pesar de que la teoría de Arrhenius representó un avance importante en el conocimiento de los procesos involucrados en las reacciones químicas, es sólo una descripción cualitativa que no muestra cómo el factor preexponencial depende de las propiedades de las moléculas reaccionantes. Esto no permite formular un modelo teórico de la energía de activación. Posteriormente se desarrollaron dos teorías con las que se logró una mejor interpretación del significado de A: la teoría de colisiones y la teoría del estado de

transición.

Básicamente la teoría de colisiones afirma que las colisiones moleculares que conducen a una reacción no sólo deben poseer la energía necesaria, sino además una configuración específica. Por ello se introduce en el valor de A un factor que se denominó factor estérico. Para reacciones que involucran moléculas complejas y/o de gran tamaño, es posible considerar que este factor debe tener un valor bastante pequeño, debido a que la mayor parte de los choques no se producirán en una orientación adecuada. Si consideramos la expresión para la constante de velocidad:

$$k = P Z_{AB} e^{-E_a/RT} \quad (1.4)$$

donde P es el factor estérico y Z_{AB} el número de choques efectivos, en cuanto a los requerimientos energéticos y orientacionales, entre las moléculas A y B por m^3/s , es evidente que un valor pequeño de P conduce a un valor pequeño para k . Cabe mencionar que las unidades de P son $(\text{choques efectivos})^{-1}$, por lo que fue también llamado factor de frecuencia. La teoría de colisiones es una descripción teórica ligada del todo a la teoría cinético molecular y, en consecuencia, está fuera del dominio de la termodinámica. La teoría del estado de transición, por el contrario, es un modelo que permite utilizar importantes conceptos termodinámicos. Aquí se requiere la caracterización de un complejo activado de masa $(m_A + m_B)$ y de momento de inercia $I = \mu(r_A + r_B)^2$, donde μ es la masa reducida de los reaccionantes A y B , y r_A y r_B son las distancias de A y B

al centro de masas del sistema. La formación de este complejo activado implica la conversión de grados de libertad traslacionales y rotacionales a grados de libertad vibracionales. En una primera etapa, las moléculas reaccionantes se acercan y orientan adecuadamente. En la segunda etapa se forma el complejo activado y aumentan sus grados de libertad vibracionales hasta la ruptura del complejo, con la correspondiente formación de moléculas de productos, que se puede analizar como una tercera etapa. Esta teoría relaciona el factor preexponencial de la constante de velocidad con una disminución de la entropía en la formación del complejo activado debido al mayor espaciamiento entre los niveles de energía vibracionales. Si bien sería posible asociar un efecto estérico en la etapa de orientación de los reaccionantes esta teoría no lo cuantifica y evalúa el factor preexponencial en forma global, ya que evaluando la entropía de activación ΔS_a^\ddagger se procede a realizar el cálculo de A (factor preexponencial). Explícitamente:

$$A = e^{\Delta S_a^\ddagger / R} \frac{k T}{h} \quad (1.5)$$

Otra aproximación interesante en la parametrización del efecto estérico es la de Taft /18/, basada en la ecuación de Hammett. Hammett estudió las relaciones estructura-actividad para el efecto de sustituyentes en las constantes de equilibrio y de velocidad en reacciones

orgánicas, señalando que éste era de naturaleza electrónica y se debía a cambios en las fuerzas electrostáticas en el centro de reacción /19/. La clásica ecuación es /20/:

$$\log \frac{k}{k_0} = \rho \sigma \quad (1.6)$$

donde k se refiere a la constante para la reacción del compuesto sustituido, y k_0 a aquella para el compuesto de referencia donde el sustituyente es H. ρ es la constante de proporcionalidad característica de la sensibilidad de la reacción a efectos electrónicos tomando como patrón la ionización de los ácidos benzoicos diversamente sustituidos. σ es un parámetro empírico que describe la naturaleza electrónica de los distintos sustituyentes, asignándosele arbitrariamente el valor unitario al H. Taft extendió esta ecuación para incluir el efecto estérico del sustituyente y el efecto de sustituyentes en compuestos no aromáticos, proponiendo la siguiente ecuación :

$$\log \frac{k}{k_0} = \rho^* \sigma^* + E_s \quad (1.7)$$

donde σ^* da cuenta del efecto electrónico de un sustituyente en un compuesto no aromático. E_s y σ^* , juntos o por separado, pueden contribuir a las diferencias observadas en las constantes de velocidad. Taft tomó como modelo de reacción la hidrólisis catalizada por ácidos de los ésteres metílicos acil sustituidos comparada con la del acetato de

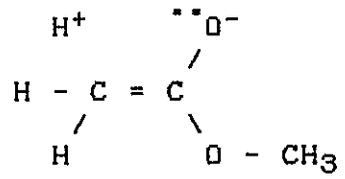


metilo, por lo que no pueden ser calculados valores de E_s para muchos sustituyentes. Explícitamente:

$$E_s = \log \frac{k}{k_0} \quad (1.8)$$

donde k es la constante de velocidad para la reacción del $R-COO-CH_3$ donde R es el sustituyente para el cual se quiere calcular su efecto estérico, y k_0 la constante de velocidad para la reacción del $CH_3-COO-CH_3$.

Hancock /21-24/ postuló que esta reacción modelo está bajo la influencia de la hiperconjugación, la cual es un efecto de deslocalización debido a la proximidad de las nubes de carga, existiendo contribuciones importantes de estructuras del tipo:



por lo que el parámetro de Taft no sería puramente estérico sino que de naturaleza electrónica, y propuso una corrección en su cálculo. Aunque su justificación es avalada por cálculos mecanocuánticos, sigue siendo un método limitado por el modelo utilizado. Mager /25/ demostró que esto no es totalmente cierto debido a la poca contribución de estructuras hiperconjugadas en compuestos como el acetato de metilo, por lo que E_s es primariamente función del efecto estérico de sustituyentes y, en una menor extensión del

efecto de deslocalización mencionado. Paralelamente, van den Berg definió una escala del llamado efecto ortoestérico o "efecto orto", ya que los sustituyentes en posición orto inducen cambios conformacionales en toda la molécula. En anillos aromáticos, dichos sustituyentes pueden desacoplar efectos de resonancia mediante su influencia estérica. Como resultado, la hidrofobicidad total disminuye por la separación de cargas que se produce en torno a los sustituyentes debido a su proximidad, siendo esta reducción notoriamente constante para una gran variedad de estructuras /26/.

Dubois /27-29/ propuso un parámetro alternativo al de Taft, E_s' , tomando como reacción de referencia la esterificación catalizada por ácidos de RCOOH. Los valores E_s' son convenientes para grupos voluminosos, pero no ofrecen ventajas reales por sobre el conjunto de Taft. Se han propuesto variadas modificaciones al parámetro de Taft /30-34/, pero todas limitadas a la hidrólisis de ésteres catalizadas por ácidos.

Una aproximación distinta fue propuesta por Charton, quién basándose en la relación existente entre E_s y el radio de van der Waals para sustituyentes simétricos, propuso una nueva constante para el efecto estérico de sustituyentes /35,36/:

$$\mu = r_{\mu,x} - r_{\mu,H} = r_{\mu,x} - 1,20 (\text{\AA}) \quad (1.9)$$

donde los r son los respectivos radios de van der Waals.

Esta constante ha resultado ser muy útil al investigar series de reacciones de sustancias alifáticas /37-39/, pero no brinda información muy distinta a la ofrecida por el parámetro de Taft.

Por otro lado, se han propuesto varios parámetros que tratan de representar el tamaño del sustituyente. Uno de ellos es la llamada refractividad molar RM :

$$RM = \frac{4}{3} \pi N \alpha \text{ (cm}^3\text{/mol)} \quad (1.10)$$

donde N es el número de Avogadro y α la polarizabilidad. La RM ha sido interpretada como un reflejo de interacciones donde priman fuerzas de dispersión. Es posible hallar una correlación entre la RM y la hidrofobicidad en series homólogas de compuestos hidrofóbicos con geometrías básicas similares y propiedades electrónicas constantes. Aparte de esta ambigüedad que dificulta una interpretación clara, la RM parece ser un parámetro estérico útil en la caracterización de las dimensiones de los sustituyentes. Posee la ventaja de ser fácilmente accesible para todos los sustituyentes, ya que se calcula sumando valores conocidos /40,41/.

Un método más refinado fue propuesto por Verloop /42/, considerando que los sustituyentes son estructuras tridimensionales y que, dependiendo de la naturaleza de las interacciones con el receptor, las posibles rotaciones y sus orientaciones en una dirección espacial determinada pueden

llegar a ser muy importantes de especificar. Verloop introdujo sus parámetros STERIMOL, donde cada sustituyente es caracterizado por cinco valores que guardan estrecha relación con su geometría, las longitudes de enlace y volumen del sustituyente. Posee la ventaja de poder calcularse para casi cualquier sustituyente, suponiendo una conformación flexible para él. Existen pruebas de que estos parámetros pueden ser muy útiles en cálculos de ACEA, pero no ha sido determinado cuál o cuales de estos tienen mayor peso y cuales no lo tienen.

Otra forma de enfocar el efecto estérico es considerando las propiedades de la estructura química completa. Un ejemplo es el concepto de mínima diferencia topológica, (MDT), introducido por Simon /43-52/. La idea básica en este procedimiento es que la afinidad de una droga hacia un receptor dado disminuye linealmente con el aumento del volumen no recubierto entre las moléculas y la cavidad existente en el sitio de enlace al receptor. Debido al desconocimiento del tamaño y forma de la cavidad, este volumen no puede ser calculado directamente. Por ello, se desarrolló un método indirecto en el cual se deriva un "mapa del receptor" a partir de estructuras existentes en la muestra de compuestos considerada (en lugar de la estructura exacta del receptor). El volumen no recubierto para una molécula dada, se obtiene luego en forma aproximada mediante MDT, y representa el número de átomos no sobrepuestos entre la molécula y la zona del mapa del receptor que representa

la cavidad (sin considerar los átomos de H). Los valores MDT son ventajosos para series de compuestos que poseen amplias diferencias en su estructura espacial pero con algunas regiones espaciales no muy diferentes y sin excesiva flexibilidad, debido a que las cavidades del receptor son consideradas como estructuras rígidas.

Posteriormente el mismo Simon desarrolló un tratamiento de Monte Carlo, para la llamada mínima diferencia estérica, resultando los valores DMC (Diferencia Monte Carlo) /53/, los cuales se utilizan del mismo modo que los valores MDT. Estos mostraron mejores resultados para los casos de moléculas policíclicas o que contienen anillos de distintos tamaños. Los valores DMC representan los volúmenes de no recubrimiento para la envoltura de van der Waals de moléculas comparadas con un patrón estándar.

Hopfinger /54-57/ introdujo el concepto de análisis de la forma molecular, para lo cual definió como parámetro descriptor el volumen de recubrimiento estérico, V_0 , entre pares de moléculas, el cual mide el espacio compartido entre éstas bajo una cierta relación intermolecular. V_0 sólo tiene un significado relativo a las dos moléculas consideradas. Su utilización en ACEA ha mostrado ser de mucha utilidad, ya que además provee de información acerca de la conformación bioactiva y de los átomos más importantes en la actividad biológica de un grupo de compuestos.

Otro parámetro propuesto para caracterizar las propiedades globales de moléculas fue introducido por Amoore

/58-61/, llamándolo índice de similaridad, el cual comparte algunos contenidos del concepto de MDT. Es un proceso complicado que consiste básicamente en fotografiar modelos moleculares desde tres direcciones, y en un análisis posterior utilizando un método especial de reconocimiento. La complicada naturaleza del procedimiento ha impedido una aplicación más amplia de este, aunque se simplificaría adaptándolo a un programa computacional de modelaje molecular.

Otra manera de enfocar el efecto estérico es en la determinación de aquellas conformaciones biológicamente activas de una molécula. Teóricamente es posible utilizar como "parámetros estéricos" las barreras de energía entre conformeros, las cuales pueden obtenerse, por ejemplo, a partir de cálculos mecano-cuánticos. Otra posibilidad es calcular la fracción del conformero que se supone biológicamente activo y corregir la actividad biológica total para esa fracción /62/.

En otro plano, se pueden describir sustituyentes estereoisoméricos (sustituyentes que son estereoisómeros entre sí), de un modo relativamente fácil cuando el cociente entre la actividad biológica de ambas formas es aproximadamente constante o aumenta en forma regular cuando aumenta la afinidad por el receptor /63-65/. También es posible describir sustituyentes estereoisoméricos y moléculas estereoisómeras con valores MDT o mediante descriptores moleculares, tomando en cuenta explícitamente

los cambios hidrofóbicos y/o electrónicos provenientes de la ubicación de sustituyentes en distintas áreas del receptor /66-68/.

En química cuántica, R. Constanciel /69,70/ propuso la partición de la energía libre total para un sistema de soluto y solvente como:

$$A(E,P) = \text{tr } P H(P) + (1/2E) \sum_A \sum_B Q_A(P) Q_B(P) \mathcal{E}_{AB} + \sum_A \sum_B Z_A Z_B (\Gamma_{AB} - \mathcal{E}_{AB}) + C \quad (1.11)$$

donde el primer término representa una energía electrónica neta calculada mediante un operador de Fock efectivo. El segundo es un término de cargas netas y el tercero es interpretado como el impedimento estérico que contribuye a la desestabilización de las estructuras presentes en tales sistemas, ya que a grandes distancias de separación tiende a cero y sólo cobra importancia a pequeñas distancias de acercamiento. Físicamente representa las interacciones núcleo-núcleo y núcleo-electrón, por lo que no se le considera como un efecto puramente repulsivo o atractivo.

Por el lado de la farmacología molecular el efecto estérico es asociado al siguiente fenómeno: si en una molécula dada que interactúa con un receptor y cuya constante de afinidad puede medirse, se sustituye un determinado sitio con grupos de volumen creciente y se observa que la constante de afinidad disminuye, se explica dicha disminución proponiendo la existencia de una cavidad en el receptor, la cual impediría la interacción en los

casos de sustituyentes que excedan su volumen /71,72/. A este respecto podemos acotar que esta interpretación es conceptualmente errónea. Si efectivamente la constante de afinidad decrece en una familia de moléculas, esto sólo está indicando que disminuye la cantidad de complejo droga-receptor. Si existiese una cavidad en el receptor que realmente impidiera la interacción a las moléculas con sustituyentes de tamaño apropiado, entonces para aquellas con sustituyentes más voluminosos no podría medirse la constante ya que no habría interacción.

Este somero análisis del efecto estérico indica que el mismo estaría relacionado con diversos efectos: "orientaciones relativas óptimas, conformación de cada reaccionante, efectos de repulsión y/o atracción del sustituyente, tamaño de los átomos, etc. Una conclusión de esta sección es que el llamado efecto estérico se puede dividir claramente en dos tipos, que son:

a) "Efectos orientacionales", que se refieren solamente a las orientaciones relativas de los reaccionantes antes de que las fuerzas de enlace aparezcan, y

b) "Efectos estéricos" propiamente tales, que tienen que ver con la facilidad o dificultad que los reaccionantes tengan para interactuar químicamente.

1.5 CLASIFICACION DE LOS ANALISIS DE CORRELACION DE ESTRUCTURA-ACTIVIDAD (ACEA).

Existen varios métodos de trabajo para obtener correlaciones entre la estructura de una familia de moléculas y su actividad biológica. Estos métodos pueden separarse en dos grandes grupos: los métodos empíricos y los métodos teóricos o basados en modelos /Ref.15, pag.140/.

Los métodos empíricos se basan en la observación y análisis de los efectos de una molécula específica sobre un sistema biológico. Posteriormente se obtiene una ecuación que da cuenta de estos efectos en función de propiedades estructurales de la molécula y valores constantes cuya única justificación es la de reproducir los valores experimentales. Los problemas aparecen cuando dicha ecuación no es aplicable a nuevos conjuntos de valores experimentales de otras moléculas. Además, una ecuación empírica ofrece poca información acerca del o los mecanismos físicos presentes debido a la ausencia de un marco teórico que avale la o las ecuaciones obtenidas. El mejor ejemplo de este tipo de métodos es proveído por la ecuación (1.1).

Por otro lado, los métodos teóricos basan su formulación en un conjunto de hipótesis respecto de las características fisicoquímicas del sistema en estudio. Estas hipótesis aparecen formalizadas en ecuaciones que relacionan las variables involucradas, ya sean éstas experimentales o calculadas. Estos métodos son más directos y versátiles en cuanto al manejo de nuevos problemas, y ofrecen ecuaciones

más fáciles de interpretar físicamente. Además, si en este formalismo una ecuación no se ajusta bien a los datos experimentales, sólo quiere decir que el modelo es inadecuado o que debe ser afinado. Una ecuación teórica a menudo es difícil de obtener, especialmente para los experimentos "in vivo", y contiene más parámetros que las ecuaciones empíricas por lo que establecer su significatividad estadística no es una tarea fácil. Aunque una ecuación teórica puede no ser adecuada para un conjunto particular de valores relacionados con efectos biológicos, su comprensión puede ser muy útil en la interpretación de una ecuación empírica para ese conjunto particular de valores /73/.

Durante los últimos años, se ha desarrollado en el Grupo de Química Cuántica de esta facultad un método teórico aplicable al estudio de los factores involucrados en la variación de la constante de equilibrio para una familia de drogas que interactúan con un receptor dado /74-78/. La aplicación de este método a diversos casos muestra su clara superioridad por sobre otros tipos de aproximaciones /Ref.15, pag.233/. Una parte del éxito de este método se debió a la introducción intuitiva de un factor que considera la masa y las coordenadas de los sustituyentes. Ello nos ha movido a proceder en este trabajo al análisis más profundo de este factor a fin de poder obtener una descripción aproximada, pero formal, de él. Ello está basado en las siguientes reflexiones:

01.- Desde el punto de vista del estricto formalismo, el hecho de introducir arbitrariamente un parámetro que luego es ajustado, convierte un método teórico en uno empírico. Ello, por cierto, sólo puede hacerse en última instancia.

02.- Si la formulación está bien planteada, debe contener en forma natural uno o más factores que representen los efectos estérico y/u orientacional.

Además, desde el punto de vista de los estudios de relaciones estructura-actividad, es necesario tratar de hallar un conjunto de valores estándar para cada sustituyente. Ello permitirá contar, por primera vez, con un conjunto de valores formales y que no dependan del tipo de molécula que se analiza.

CAPITULO II.

LA CONSTANTE DE EQUILIBRIO DROGA RECEPTOR.

II.1) INTRODUCCION.

La magnitud que caracteriza la interacción droga-receptor es la constante de equilibrio, K para la siguiente reacción que se supone de estequiometría 1:1



donde D, R y DR representan, respectivamente, la molécula de droga, el receptor y el complejo droga-receptor. K está dada por /79/:

$$K = \left[\frac{Q_{DR}}{Q_D Q_R} \right] \quad (2.2)$$

donde Q_D , Q_R y Q_{DR} representan respectivamente las funciones de partición moleculares totales para la moléculas de droga, receptor y complejo droga-receptor. La función de partición molecular está definida como:

$$Q = \sum_i g_i e^{-\epsilon/kT} \quad (2.3)$$

donde el índice i representa los niveles energéticos de la molécula y g_i sus respectivas degeneraciones, ϵ la energía total, k la constante de Boltzmann y T la temperatura Kelvin. En una primera aproximación, se supone que los movimientos traslacionales, vibracionales y rotacionales son

independientes en una molécula, por lo que sus energías pueden ser separadas. Sin embargo, los estados vibracionales y rotacionales no son por lo general independientes de los estados electrónicos, por lo que la ecuación (2.3) se puede expresar como:

$$Q = Q^t \sum_i g_i(e_l) e^{-E_i(e_l)/kT} Q_i^r Q_i^v \quad (2.4)$$

donde el término con (el) se refiere a estados electrónicos, y Q^t , Q^r y Q^v son respectivamente las funciones de partición de traslación, rotación y vibración para el i-ésimo estado electrónico de degeneración g_i . Sin incurrir en mucho error, se considerara sólo el estado basal electrónico para las especies debido a la alta separación relativa en los estados electrónicos, por lo que la ecuación (2.4) se puede reescribir como:

$$Q = Q^t Q^{ro} Q^{vo} e^{-E_0/kT} \quad (2.5)$$

donde los índices "o" se refieren al estado electrónico basal de la molécula. Reemplazando (2.5) en (2.2), se obtiene :

$$K = \left[\frac{Q_D^{to} Q_R^{vo} Q_D^{ro}}{Q_D^{to} Q_R^{to} Q_D^{vo} Q_R^{vo} Q_D^{ro} Q_R^{ro}} \right] e^{-SE_0/kT} \quad (2.6)$$

donde SE_0 es la diferencia de energía electrónica entre los estados electrónicos basales de la droga y el receptor, y el complejo droga-receptor :

$$\Delta E = (E_D^0 + E_R^0) - E_{DR}^0 \quad (2.7)$$

Dadas las condiciones en que ocurre la interacción, se pueden efectuar algunas aproximaciones que permiten obtener una expresión analítica para la ecuación (2.6). Usualmente los receptores son macromoléculas o constituyentes de estructuras moleculares complejas, por lo que la masa molecular del receptor es aproximadamente igual a la masa molecular del complejo droga-receptor ya que las moléculas de droga son usualmente pequeñas. Esto permite, en una primera aproximación, cancelar los términos pertenecientes al receptor y al complejo en la ecuación (2.6). Ello lleva a que la ecuación (2.6) se reescriba como :

$$K = \frac{e^{-\Delta E_0/kT}}{Q_D^t Q_D^{ro} Q_D^{vo}} \quad (2.8)$$

donde ΔE_0 representa la energía de interacción entre la molécula de droga y el receptor. Extrayendo el logaritmo natural de (2.8) se obtiene :

$$\ln K = (-\Delta E_0/kT) - \ln (Q_D^t Q_D^{ro} Q_D^{vo}) \quad (2.9)$$

Dado que para ΔE_0 ya se han propuesto expresiones en términos de la estructura electrónica de la droga, ellas serán mencionadas someramente en la sección II.8, debido a su uso en las aplicaciones de este método.

La función de partición traslacional por unidad de volumen puede expresarse en unidades S.I. como :

$$Q_D^t = 2.7772 \times 10^{26} M_D^{3/2} T^{3/2} \quad (2.10)$$

la que es reemplazada en (2.9) obteniéndose:

$$\ln K = (-\Delta E_0/kT) - \ln (Q^{r_0_D} Q^{v_0_D}) - 3/2 \ln M_D - 3/2 \ln T - 152.992 \quad (2.11)$$

donde M_D es la masa molecular de la droga y T la temperatura. A temperatura corporal ($\approx 37^\circ\text{C}$) la función de partición vibracional para el estado basal es aproximadamente igual a 1.0 /80/, por lo que la ecuación (2.11) se transforma en:

$$\ln K = (-\Delta E_0/kT) - \ln Q^{r_0_D} - 3/2 \ln M_D - 3/2 \ln T - 152.992 \quad (2.12)$$

En la próxima sección se derivará la expresión para la función de partición rotacional, la que reemplazada en la ecuación (2.12) produce:

$$\ln K = (-\Delta E_0/kT) - 3 \ln T - 3/2 \ln M_D - \ln([ABC]^{1/2}/\sigma_D) - 310.3535 \quad (2.13)$$

donde ABC es el producto de los momentos de inercia en torno a los tres ejes principales de rotación molecular y σ_D el número de simetría. A la temperatura de 310 K la ecuación anterior se puede expresar como :

$$\ln K = -327.5632 - 3/2 \ln M_D + \ln (\sigma_D/[ABC]^{1/2}) - A \Delta E_0 \quad (2.14)$$

con $A = 2.3364 \times 10^{20}$

La ecuación (2.14) muestra que la variación de K en una familia de moléculas dependerá de la masa de la droga, sus momentos de inercia y su energía de interacción con el receptor.

11.2) FUNCION DE PARTICION ROTACIONAL.

Para encontrar la expresión de la función de partición rotacional en el caso de una molécula que rota en tres dimensiones, se debe expresar la energía cinética de rotación en términos del operador $H(p,q)$ /81/, el cual puede ser escrito en función de los ángulos de Euler (ξ, θ, ϕ) como:

$$\begin{aligned}
 H(p,q) = & \frac{\text{sen}^2\xi}{2A} \left[P_\theta - \frac{\cos \xi}{\text{sen } \theta \text{ sen } \xi} (P_\phi - P_\xi \cos \theta) \right]^2 \\
 & + \frac{\cos^2\xi}{2B} \left[P_\theta + \frac{\text{sen } \xi}{\text{sen } \theta \cos \xi} (P_\phi - P_\xi \cos \theta) \right]^2 \\
 & + \frac{1}{2C} P_\xi^2 \qquad \qquad \qquad (2.15)
 \end{aligned}$$

donde A, B y C son los momentos de inercia en torno a los tres ejes principales de rotación molecular.

Si se define:

$$F = \frac{\text{sen}^2\xi}{A} + \frac{\cos^2\xi}{B} \qquad \qquad \qquad (2.16)$$

H(p,q) puede reescribirse como:

$$H(p,q) =$$

$$= \frac{F}{2} \left[P_{\theta} + \frac{\sin \xi \cos \xi}{F \sin \theta} \left[\frac{1}{B} - \frac{1}{A} \right] (P_{\Phi} - P_{\xi} \cos \theta) \right]^2$$

$$+ \frac{1}{2AB \sin^2 \theta} \cdot \frac{1}{F} (P_{\Phi} - P_{\xi} \cos \theta)^2 + \frac{1}{2C} P_{\xi}^2 \quad (2.17)$$

Clásicamente, la función de partición rotacional está definida según:

$$Q_r = \frac{1}{h^3} \int_0^{\pi} \int_0^{2\pi} \int_0^{2\pi} \int_0^{\omega} \int_0^{\omega} \int_0^{\omega} e^{-H(p,q)/kT} d\theta d\Phi d\xi dP_{\theta} dP_{\Phi} dP_{\xi} \quad (2.18)$$

El procedimiento operacional es:

01) Integración sobre P_{θ} , obteniéndose:

$$\left[\frac{2\pi kT}{F} \right]^{\frac{1}{2}}$$

02) Integración sobre P_{Φ} , obteniéndose:

$$F^{\frac{1}{2}} (2\pi kT AB)^{\frac{1}{2}} \sin \theta$$

03) Integración sobre P_{ξ} , obteniéndose:

$$(2\pi kT C)^{\frac{1}{2}}$$

por lo que la ecuación (2.18) queda como:

$$Q_r = \frac{(2\pi kT)^{3/2} (ABC)^{1/2}}{h^3} \int_0^\pi \int_0^{2\pi} \int_0^{2\pi} \sin \theta \, d\theta \, d\phi \, d\epsilon \quad (2.19)$$

lo que conduce finalmente a:

$$Q_r = \frac{8\pi^2 (2\pi kT)^{3/2} (ABC)^{1/2}}{h^3} \quad (2.20)$$

Ahora debe considerarse la simetría de la molécula, mediante la introducción en el denominador de la ecuación (2.20) del número de simetría, σ . Este indica la cantidad de configuraciones distinguibles que puede adoptar la molécula. Al dividir por σ se están eliminando por lo tanto aquellas configuraciones idénticas que puede adquirir la molécula al rotar. Q_r se expresa entonces como:

$$Q_r = \frac{8\pi^2 (2\pi kT)^{3/2} (ABC)^{1/2}}{\sigma h^3} \quad (2.21)$$

Por último, si en la molécula existen grupos que pueden rotar libremente, esta contribución debe incluirse en la función. Una manera de proceder es separandola en dos factores, uno para la rotación externa, suponiendo una configuración rígida, y otra para la rotación interna. Si φ es el ángulo de rotación en torno al enlace que une al grupo rotante con el esqueleto, y P_φ el momento conjugado, entonces la energía de rotación en términos del operador H es :

$$H(p, \vartheta) = \frac{1}{2 K_i} P_{\vartheta}^2 \quad (2.22)$$

donde K_i es el momento de inercia del grupo rotante en torno al enlace que lo une al esqueleto. Procediendo de la misma manera que condujo a la ecuación (2.21), se obtiene para la función de rotación interna de cada grupo (considerando la simetría del grupo) :

$$Q_i = \frac{(8\pi^3 K_i kT)^{1/2}}{\sigma_i h} \quad (2.23)$$

Si los grupos con rotación interna son independientes entre sí, la función total puede separarse en un producto :

$$Q_r = Q_e \cdot Q_i \quad (2.24)$$

En el caso más simple de una molécula con un grupo de rotación interna, se tendrán 3 grados de libertad de rotación externos para el esqueleto y 1 grado de libertad de rotación interna. Reemplazando las expresiones 2.21 y 2.23 en 2.24 se llega a :

$$Q_r = \left[\frac{8\pi^2 (8\pi^3 ABC)^{1/2} (kT)^{3/2}}{\sigma_e h^3} \right] \left[\frac{(8\pi^3 K_i kT)^{1/2}}{\sigma_i h} \right] \quad (2.25)$$

donde K_i es el momento de inercia del grupo con rotación interna en torno al enlace que lo une al esqueleto.

Extrayendo ln a la ecuación anterior :

$$\ln Q_r = \ln \alpha + 3/2 \ln T + \ln ([ABC]^{1/2}/\sigma_e) + \ln ([\beta K_i]^{1/2})/\sigma_i \quad (2.26)$$

donde α y β representan los términos constantes en la ecuación (2.25).

11.3) MOMENTOS DE INERCIA.

Los momentos de inercia en torno a los ejes principales están definidos en coordenadas cartesianas generalizadas como:

$$A = I_{xx} = \sum_i m_i (x_{2,i}^2 + x_{3,i}^2) \quad (2.27)$$

$$B = I_{yy} = \sum_i m_i (x_{1,i}^2 + x_{3,i}^2) \quad (2.28)$$

$$C = I_{zz} = \sum_i m_i (x_{1,i}^2 + x_{2,i}^2) \quad (2.29)$$

donde el primer subíndice que acompaña a x_{ji} representa la coordenada x ($j=1$), y ($j=2$) o z ($j=3$). Los factores entre paréntesis son los cuadrados de las distancias perpendiculares desde los núcleos a los ejes coordenados.

Consideremos una molécula de M átomos, con un esqueleto (E), y un sustituyente con N átomos unido a él. Para un mejor análisis de los momentos de inercia, separaremos las contribuciones del esqueleto de las del sustituyente:

$$I_{xx} = \sum_{i=1}^{M-N} m_i (x_{2,i}^2 + x_{3,i}^2) + \sum_{i=M-N+1}^M m_i (x_{2,i}^2 + x_{3,i}^2) \quad (2.30)$$

$$I_{yy} = \sum_{i=1}^{M-N} m_i (x_{1,i}^2 + x_{3,i}^2) + \sum_{i=M-N+1}^M m_i (x_{1,i}^2 + x_{3,i}^2) \quad (2.31)$$

$$I_{zz} = \sum_{i=1}^{M-N} m_i (x_{1,i}^2 + x_{2,i}^2) + \sum_{i=M-N+1}^M m_i (x_{1,i}^2 + x_{2,i}^2) \quad (2.31)$$

Para simplificar la notación y el desarrollo algebraico reescribiremos las ecuaciones (2.30) a (2.32) como:

$$I_{xx} = I_{xx}^E + I_{xx}^S$$

$$I_{yy} = I_{yy}^E + I_{yy}^S$$

$$I_{zz} = I_{zz}^E + I_{zz}^S$$

donde los superíndices E y S representan, respectivamente, esqueleto y sustituyente. En la ecuación (2.14) aparece un término del tipo $\ln I_{ii}$ (por ej. $\ln A$), el cual se tratará de la siguiente manera:

$$\ln I_{ii} = \ln \left[I_{ii}^E + I_{ii}^S \right] + \ln \frac{I_{ii}^E}{I_{ii}^E} \quad (2.33)$$

Esta expresión se puede reordenar, quedando como:

$$\ln I_{ii} = \ln \left[1 + (I_{ii}^S / I_{ii}^E) \right] + \ln \left[I_{ii}^E \right] \quad (2.34)$$

El primer término del lado derecho de esta última ecuación puede expandirse como una serie del tipo :

$$\ln (1 + x) = \left[x - \frac{x^2}{2} + \frac{x^3}{3} - \frac{x^4}{4} + \dots \right] \quad (2.35)$$

la que es de rápida convergencia y sólo exige que $-1 < x \leq 1$. Esta condición se cumple, ya que la contribución al momento de inercia de los sustituyentes es menor que la del esqueleto. Observando que en la ecuación (2.14) produce un término de la forma:

$$\ln I \equiv \ln I_{xx} + \ln I_{yy} + \ln I_{zz} \quad (2.36)$$

y haciendo uso de (2.34) y conservando solamente el primer término de la serie (2.35) se obtiene:

$$\ln I = \left[\frac{I_{xx}^S}{E_{I_{xx}}} + \frac{I_{yy}^S}{E_{I_{yy}}} + \frac{I_{zz}^S}{E_{I_{zz}}} \right] + \ln (I_{xx}^E I_{yy}^E I_{zz}^E) \quad (2.37)$$

Explicitando los numeradores:

$$\ln I = \frac{\sum_{i=M-N+1}^M m_i (x_{2,i}^2 + x_{3,i}^2)}{E_{I_{xx}}} + \frac{\sum_{i=M-N+1}^M m_i (x_{1,i}^2 + x_{3,i}^2)}{E_{I_{yy}}} + \frac{\sum_{i=M-N+1}^M m_i (x_{1,i}^2 + x_{2,i}^2)}{E_{I_{zz}}} + \ln (I_{xx}^E I_{yy}^E I_{zz}^E) \quad (2.38)$$

y desarrollando obtenemos:

$$\begin{aligned}
\ln I = & \left(I_{xx}^E \right)^{-1} \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{2,i}^2 + \left(I_{xx}^E \right)^{-1} \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{3,i}^2 \\
& + \left(I_{yy}^E \right)^{-1} \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{1,i}^2 + \left(I_{yy}^E \right)^{-1} \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{3,i}^2 \\
& + \left(I_{zz}^E \right)^{-1} \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{1,i}^2 + \left(I_{zz}^E \right)^{-1} \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{2,i}^2 \\
& + \ln \left(I_{xx}^E I_{yy}^E I_{zz}^E \right) + \left(I_{xx}^E \right)^{-1} \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{1,i}^2 - \left(I_{xx}^E \right)^{-1} \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{1,i}^2 \\
& + \left(I_{yy}^E \right)^{-1} \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{2,i}^2 - \left(I_{yy}^E \right)^{-1} \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{2,i}^2 + \left(I_{zz}^E \right)^{-1} \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{3,i}^2 \\
& - \left(I_{zz}^E \right)^{-1} \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{3,i}^2 \tag{2.39}
\end{aligned}$$

Finalmente, considerando que para una familia de moléculas los momentos de inercia del esqueleto común permanecen constantes, la expresión anterior se puede compactar en:

$$\begin{aligned}
\ln I = & k_0 \sum_{i=M-N+1}^M m_i r_i^2 - k_1 \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{1,i}^2 - k_2 \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{2,i}^2 - k_3 \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{3,i}^2 \\
& + k_4 \tag{2.40}
\end{aligned}$$

donde:

$$\begin{aligned}
k_0 = & \left(I_{xx}^E \right)^{-1} + \left(I_{yy}^E \right)^{-1} + \left(I_{zz}^E \right)^{-1} & k_1 = & \left(I_{xx}^E \right)^{-1} \\
k_2 = & \left(I_{yy}^E \right)^{-1} & k_3 = & \left(I_{zz}^E \right)^{-1} & k_4 = & \ln \left(I_{xx}^E I_{yy}^E I_{zz}^E \right) \tag{2.41}
\end{aligned}$$

son constantes dependientes de la estructura del esqueleto solamente, y r_i^2 es la distancia del átomo i al centro de masas molecular.

II.4) TRASLACION DEL SISTEMA DE COORDENADAS.

Todos los términos que aparecen en la ecuación (2.40) deben ser calculados respecto del centro de masas molecular. Dado que el centro de masas de cada componente de una familia de moléculas no está ubicado a igual distancia de un eje de coordenadas común dado, se debe realizar una traslación hacia un punto común a toda la familia. El átomo del esqueleto al cual está unido el sustituyente fue elegido como punto de referencia (i.e., centro de un eje coordenado común a toda la familia).

Sea a el vector desplazamiento de componentes /82/:

$$a^2 = \epsilon x_1^2 + \epsilon x_2^2 + \epsilon x_3^2 \quad (2.42)$$

Si se denota por $(r'_i)^2$ la distancia del átomo i al nuevo eje de coordenadas, tenemos:

$$\sum_{i=M-N+1}^M m_i (r'_i)^2 = \sum_{i=M-N+1}^M m_i \left[(x_{1,i} + \epsilon x_1)^2 + (x_{2,i} + \epsilon x_2)^2 + (x_{3,i} + \epsilon x_3)^2 \right] \quad (2.43)$$

$$= \sum_{i=M-N+1}^M m_i \left[x_{1,i}^2 + x_{2,i}^2 + x_{3,i}^2 + \epsilon x_1^2 + \epsilon x_2^2 + \epsilon x_3^2 + 2 \epsilon x_1 x_{1,i} + 2 \epsilon x_2 x_{2,i} + 2 \epsilon x_3 x_{3,i} \right] \quad (2.44)$$

Separando términos y reordenando se obtiene:

$$\sum_{i=M-N+1}^M m_i (r_i')^2 = \sum_{i=M-N+1}^M m_i r_i^2 + (\epsilon x_1^2 + \epsilon x_2^2 + \epsilon x_3^2) \sum_{i=M-N+1}^M m_i + 2 \sum_{j=1}^3 \epsilon x_j \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{ij} \quad (2.45)$$

reemplazando la ecuación (2.42) en (2.45) resulta:

$$\sum_{i=M-N+1}^M m_i (r_i')^2 = \sum_{i=M-N+1}^M m_i r_i^2 + a^2 M_S + 2 \sum_{j=1}^3 \epsilon x_j \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{ij} \quad (2.46)$$

Sabiendo que para un sistema de n partículas se cumple que:

$$\sum_{\alpha} m_{\alpha} r_{\alpha} = 0 \quad (2.47)$$

donde r_{α} es el vector que define la posición de la α -ésima partícula respecto del centro de masas del sistema, podemos escribir:

$$\sum_{j=1}^3 \sum_{i=1}^{M-N} m_i x_{i,j} + \sum_{j=1}^3 \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{i,j} = 0 \quad (2.48)$$

por lo que el tercer término del lado derecho de la ecuación (2.46) puede ser rescrito como:

$$\sum_{j=1}^3 \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{i,j} = - \sum_{j=1}^3 \sum_{i=1}^{M-N} m_i x_{i,j} \quad (2.49)$$

y la ecuación (2.46) toma la forma:

$$\sum_{i=M-N+1}^M m_i (r_i')^2 = \sum_{i=M-N+1}^M m_i r_i^2 + a^2 M_S - 2 \sum_{j=1}^3 \epsilon x_j \sum_{i=1}^{M-N} m_i x_{i,j} \quad (2.50)$$

Reordenando los términos :

$$\sum_{i=M-N+1}^M m_i r_i^2 = \sum_{i=M-N+1}^M m_i (r_i')^2 - a^2 M_S + 2 \sum_{j=1}^3 \delta x_j \sum_{i=1}^{M-N} m_i x_{ij} \quad (2.51)$$

Ahora, este término se reemplaza en la ecuación (2.40), quedando finalmente como:

$$\begin{aligned} \ln I = k_0 & \left[\sum_{i=M-N+1}^M m_i (r_i')^2 - a^2 M_S + 2 \sum_{j=1}^3 \delta x_j \sum_{i=1}^{M-N} m_i x_{i,j} \right] \\ & - \sum_{j=1}^3 k_j \sum_{i=M-N+1}^M m_i (x_{ji})^2 + 2 \sum_{j=1}^3 k_j \delta x_j \sum_{i=1}^{M-N} m_i x_{ji} \\ & - a^2 M_S \sum_{j=1}^3 k_j + k_4 \end{aligned} \quad (2.52)$$

II.5) ROTACION DEL SISTEMA DE COORDENADAS.

El sistema de coordenadas fue trasladado desde el centro de masas molecular hasta el átomo por el cual el sustituyente está unido al esqueleto. Ahora se debe rotar el sistema de coordenadas de tal manera que uno de los ejes coincida con el enlace que une el sustituyente con el esqueleto. Esta rotación afectará a todos los términos del lado derecho de la ecuación (2.52), con la excepción de los primeros dos que permanecen invariantes.

Consideremos un sistema de ejes ortogonales (x', y', z) sobre el cual se efectúa una rotación que genera (x'', y'', z'') . Este proceso puede representarse mediante la ecuación:

$$X'' = \Gamma X' \quad (2.53)$$

donde Γ es la matriz de rotación que describe la orientación relativa de ambos sistemas. Los elementos X_i'' corresponden a las coordenadas nuevas (rotadas), y los X_i' a las coordenadas antiguas (trasladadas). Despejando X' :

$$X' = \Gamma^{-1} X'' \quad (2.54)$$

La matriz Γ es ortogonal, por lo que:

$$\Gamma^{-1} = \Gamma^t$$

y

$$X' = \Gamma^t X'' \quad (2.55)$$

La rotación a efectuar es tridimensional por lo que la matriz de transformación debe contener tres ángulos independientes. Existen varias posibilidades para estos ángulos, en este caso se utilizará la matriz de rotación de Éuler con ángulos (ϕ, θ, ξ) . Explícitamente la ecuación (2.55) es:

$$\begin{bmatrix} X' \\ Y' \\ Z' \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \epsilon_{11} & \epsilon_{21} & \epsilon_{31} \\ \epsilon_{12} & \epsilon_{22} & \epsilon_{32} \\ \epsilon_{13} & \epsilon_{23} & \epsilon_{33} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} X'' \\ Y'' \\ Z'' \end{bmatrix} \quad (2.56)$$

luego:

$$X' = \epsilon_{11} X'' + \epsilon_{21} Y'' + \epsilon_{31} Z'' \quad (2.57)$$

$$Y' = \epsilon_{12} X'' + \epsilon_{22} Y'' + \epsilon_{32} Z'' \quad (2.58)$$

$$Z' = \epsilon_{13} X'' + \epsilon_{23} Y'' + \epsilon_{33} Z'' \quad (2.59)$$

donde los ϵ_{ij} son los elementos de la matriz de Euler. Explícitamente, estos elementos son:

$$\epsilon_{11} = \cos \xi \cos \varphi - \sin \varphi \sin \xi \cos \theta \quad (2.60)$$

$$\epsilon_{21} = -\sin \xi \cos \varphi - \sin \varphi \cos \xi \cos \theta \quad (2.61)$$

$$\epsilon_{31} = \sin \theta \sin \varphi \quad (2.62)$$

$$\epsilon_{12} = \cos \xi \sin \varphi + \cos \varphi \sin \xi \cos \theta \quad (2.63)$$

$$\epsilon_{22} = -\sin \xi \sin \varphi + \cos \varphi \cos \xi \cos \theta \quad (2.64)$$

$$\epsilon_{32} = -\cos \varphi \sin \theta \quad (2.65)$$

$$\epsilon_{13} = \sin \xi \sin \theta \quad (2.66)$$

$$\epsilon_{23} = \cos \xi \sin \theta \quad (2.67)$$

$$\epsilon_{33} = \cos \theta \quad (2.68)$$

Ahora deben explicitarse las expresiones para las componentes del momento de inercia del sustituyente, I_{ii}^S , en términos de las nuevas coordenadas. En la ecuación (2.52) obtenida para $\ln I$ en términos de las coordenadas trasladadas, estas deben ser reemplazadas por las nuevas coordenadas que dan cuenta de la rotación. Ello conduce a:

$$\begin{aligned}
\ln I = & k_0 \left[\sum_{i=M-N+1}^M m_i (r_i')^2 - a^2 M_S + 2 \sum_{j=1}^3 \sum_{k=1}^3 \delta x_j \sum_{i=1}^{M-N} m_i (\epsilon_{kj} x_{ki}) \right] \\
& - k_1 \sum_{i=M-N+1}^M m_i \left[\sum_{k,j=1}^3 \epsilon_{k,1} x_{ji} \right]^2 - k_2 \sum_{i=M-N+1}^M m_i \left[\sum_{k,j=1}^3 \epsilon_{k,2} x_{ji} \right]^2 \\
& - k_3 \sum_{i=M-N+1}^M m_i \left[\sum_{k,j=1}^3 \epsilon_{k,3} x_{ji} \right]^2 - 2 \sum_{j=1}^3 k_j \delta x_j^2 \sum_{i=M-N+1}^M m_i x_{ji} \\
& - M_S \sum_{j=1}^3 k_j \delta x_j^2 + k_4 \quad (2.69)
\end{aligned}$$

donde los términos ϵ_k que acompañan a las coordenadas dan cuenta de la rotación del sistema de coordenadas.

Si consideramos la necesidad de tratar de hallar un conjunto de valores estándar para el "efecto estérico" de cada sustituyente, nuestro interés primario es emplear aquél o aquellos términos cuya variación contribuya de forma significativa a dar cuenta de la variación de K en una familia de moléculas. Examinando la ecuación (2.69) se puede apreciar que:

1.- Al haber aceptado que la contribución al momento de inercia del sustituyente es menor que la del esqueleto, es coherente con ello el aceptar que si definimos un sistema de coordenadas común al grupo de moléculas bajo análisis, sus centros de masas no estén muy alejados unos de otros. Ello implica que, en una primera aproximación, a^2 puede ser tomado como constante.

2.- En el caso más general, no hay ningún fundamento teórico para suponer que los ejes principales de rotación de cada una de las moléculas estén orientados de la misma manera respecto del eje coordenado común. Ello implica que, en forma general, todos los términos que aparecen al lado derecho de la ecuación (2.69), excepto los dos primeros y k_4 , serán afectados en forma distinta por una rotación.

3.- Ello implica que, en vista a lograr los objetivos de este trabajo, en una primera aproximación se consideren los dos primeros términos del lado derecho de la ecuación (2.69). El tercer término entre paréntesis en dicha ecuación se mantiene prácticamente constante en una familia de moléculas dados los tipos de sustituyentes y tamaño de los esqueletos comúnmente utilizados en farmacología. Aún quedaría por evaluar el peso dentro de la ecuación de los otros términos que dependen de k_1 , k_2 , k_3 y k_4 .

Esta aproximación tiene la gran ventaja de poder establecer inmediatamente una lista de valores estándar para cada sustituyente. Estos valores se presentan en las Tablas I a XI para una gran variedad de sustituyentes. Debido a que muchos sustituyentes ofrecen una gran flexibilidad conformacional, se presentan en las tablas aquellos valores correspondientes a las conformaciones completamente extendida y más contraída. Estos valores han sido calculados empleando la geometría estándar de Pople /95/, y considerando que el sustituyente está enlazado a un esqueleto a través de un átomo de carbono sp^3 . En el caso de

que el sustituyente esté unido al esqueleto a través de otro tipo de átomo, el parámetro orientacional puede ser calculado fácilmente a partir de los valores aquí presentados. Ello es debido a que sólo variará la distancia que separa al sustituyente del esqueleto, por lo que sólo se necesitan las coordenadas cartesianas del sustituyente en ambas moléculas. Sea el parámetro orientacional que se quiere calcular $(MR^2)'$, el de la tabla MR^2 , y ϵ_x , ϵ_y y ϵ_z la variación en las coordenadas de cada átomo del sustituyente. En coordenadas cartesianas se tiene que:

$$(MR^2)' = \sum_i m_i [(x_i + \epsilon_x)^2 + (y_i + \epsilon_y)^2 + (z_i + \epsilon_z)^2] \quad (2.70)$$

$$= \sum_i m_i [x_i^2 + y_i^2 + z_i^2 + (\epsilon_x)^2 + (\epsilon_y)^2 + (\epsilon_z)^2 + 2\epsilon_x x_i + 2\epsilon_y y_i + 2\epsilon_z z_i] \quad (2.71)$$

$$= \sum_i m_i (x_i^2 + y_i^2 + z_i^2) + [(\epsilon_x)^2 + (\epsilon_y)^2 + (\epsilon_z)^2] \sum_i m_i + 2\epsilon_x \sum_i m_i x_i + 2\epsilon_y \sum_i m_i y_i + 2\epsilon_z \sum_i m_i z_i \quad (2.72)$$

donde el subíndice i se refiere a los átomos del sustituyente. Reordenando:

$$(MR^2)' = MR^2 + M_s [(\epsilon_x)^2 + (\epsilon_y)^2 + (\epsilon_z)^2] + 2\epsilon_x \sum_i m_i x_i + 2\epsilon_y \sum_i m_i y_i + 2\epsilon_z \sum_i m_i z_i \quad (2.73)$$

El primer término de la última expresión corresponde al valor de la tabla, el segundo contiene la masa total del sustituyente y la variación en la distancia del sustituyente

al esqueleto. La ecuación (2.73) es análoga a la ecuación (2.45) referente a la traslación del eje de coordenadas.

¿Cuál puede ser la interpretación física de este parámetro?

Si recordamos que el tensor momento de inercia aparece en la expresión que define la energía cinética de rotación, una interpretación coherente con el tratamiento clásico dado a la función de partición rotacional, es que este término DA CUENTA DE LA INFLUENCIA DEL SUSTITUYENTE EN EL PORCENTAJE DE MOLECULAS QUE ALCANZA LA ORIENTACION CORRECTA PARA INTERACTUAR CON EL RECEPTOR.

En otras palabras, la probabilidad de que la droga interactue con el receptor aumentará cuando la molécula se aproxime con una velocidad de rotación tal que le de tiempo al receptor de reconocerla y atraerla, proceso influenciado por la distribución de masas del o de los sustituyentes en la droga. Proponemos aquí llamar a este factor "PARAMETRO ORIENTACIONAL" (PO). En las secciones siguientes se presentan tres estudios de Relaciones Estructura-Actividad Cuantitativas en donde se han empleado estos Parámetros Orientacionales.

TABLA 2.1

PARAMETROS ORIENTACIONALES PARA HIDROCARBUROS (UMR-A2)

Sustituyente	Extendido	Contraído
-Me	42.5361	----
-Et	141.1041	----
-Pr	366.3316	239.5504
-iPr	239.5504	----
-Bu	737.3051	610.5239
-iBu	528.1684	401.3872
-sBu	464.8031	338.0219
-tBu	338.0469	----
-Am	1323.7438	982.1293
-CH(CH ₂) ₂	218.4169	----
-CH ₂ CH(CH ₂) ₂	661.2472	----
-CH ₂ sBu	867.4464	683.6485
-CH ₂ CH ₂ iPr	1013.1919	586.4586
-CH ₂ tBu	622.1152	----
-CHEt ₂	662.8454	563.2506
-CH(Pr)Me	835.7788	590.7152
-CH(iPr)Me	599.4562	536.0656
-CMe ₂ Et	563.2743	436.4931
-Hexilo	2144.6372	1495.6457
-CH ₂ CH ₂ tBu	1289.0779	680.6759
-CH(Pr)Et	970.4345	716.3477
-CH(Bu)Me	1422.2180	932.0901
-CH(iBu)Me	965.9263	779.7376

-(CH ₂) ₃ iPr	1720.0092	1174.9897
-CH(Me)tBu	725.0862	----
-CH(Et)iPr	792.9960	725.0918
-CH(Me)iBu	1111.6656	687.9404
-C(Me) ₂ Pr	934.2530	684.6777
-CH(Me)Bu	1422.2167	927.5778
-CH ₂ CH ₂ sBu	1599.6298	935.3524
-CMe(Et) ₂	693.4245	657.2175
-CH ₂ CH(Et) ₂	1063.6456	864.4523
-CH ₂ CH(Me)iPr	1143.3332	779.9908
-C(Me) ₂ iPr	693.4159	598.3300
-CH ₂ CH(Me)iPr	1170.5168	1079.9426
-CH ₂ C(Me) ₂ Et	997.5876	870.8065
-Heptilo	3269.7020	(a)
-Octilo	4717.9323	(a)
-Nonilo	6559.0461	(a)
-Decilo	8812.0327	(a)
-Undecilo	11546.6119	(a)

(a). Debido al gran número de posibles conformaciones que puede adoptar la molécula, sólo fue considerada su configuración más extendida.

TABLA 2.2
PARAMETROS ORIENTACIONALES PARA ALCOXIDOS (uma-A²)

Sustituyente	Extendido	Contraído
-OMe	122.4838	----
-OEt	328.6994	210.9740
-OPr	674.3240	446.7649
-OiPr	446.6210	387.7584
-OBu	1229.0786	773.9599
-OiBu	961.0858	535.4026
-OsBu	792.2456	634.1443
-OtBu	564.5427	----
-OAm	2011.9488	1337.1633
-OCH ₂ sBu	1486.4079	1021.3872
-O(CH ₂) ₂ iPr	1600.4509	1094.3617
-OCH ₂ tBu	1188.9850	624.0403
-OCHEt ₂	1119.3670	948.6976
-O(CH ₂) ₂ OH	702.3364	454.4134
-O(CH ₂) ₂ Cl	1205.7950	818.3589
-O(CH ₂) ₂ Br	2451.8464	1670.4312
-O(CH ₂) ₃ Cl	2078.6431	1269.6990
-O(CH ₂) ₄ OMe	3129.8652	2089.6217

TABLA 2.3
PARAMETROS ORIENTACIONALES PARA
GRUPOS OXIALQUILICOS (uma -A²)

Sustituyente	Extendido	Contraído
-CH ₂ OMe	349.1648	225.4238
-CH ₂ OEt	694.7893	461.2147
-CH ₂ CH ₂ OMe	722.8211	485.8331
-CH ₂ OCH ₂ OMe	1246.9731	764.3796
-CH ₂ OPr	1249.5427	779.3533
-CH ₂ OiPr	981.5512	595.8851
-CH ₂ CH ₂ OEt	1277.5745	803.9716
-CH ₂ OBu	2032.4142	1334.1086
-CH ₂ OiBu	1682.0429	982.4253
-CH ₂ CH ₂ OPr	2060.4459	1358.7270
-CH ₂ (CH ₂) ₄ OMe	3310.7040	2303.2656
-CHOMeBu	1630.2742	1140.1470
-(CH ₂) ₃ OMe	1323.1864	819.4672
-CHMeOEt	793.2607	559.6861
-CHEtOMe	672.8636	546.0824
-(CH ₂) ₃ OEt	2106.0578	1374.2225
-(CH ₂) ₄ OMe	2159.2361	1423.9874
-CHPrOMe	1043.8363	798.7727
-(CH ₂) ₃ OPr	3186.7673	2100.0347
-(CH ₂) ₄ OEt	3184.9491	2126.0314

TABLA 2.4
PARAMETROS ORIENTACIONALES PARA
GRUPOS AMINO-ALQUILICOS (uma¹-A²)

Sustituyente	Extendido	Contraído
-CH ₂ (NH ₃) ⁺	147.9303	----
-CONH ₂	142.8108	----
-CH ₂ NH ₂	142.2539	136.6798
-CH ₂ CH ₂ NH ₂	370.9258	242.3992
-CH(Me)NH ₂	239.2844	----
-CH(Et)NH ₂	464.5118	337.7306
-CH(Pr)NH ₂	835.4845	590.4209
-CH(iPr)NH ₂	593.3072	529.9167
-CH ₂ (CH ₂) ₂ NH ₂	750.8137	497.4222
-CMe ₂ NH ₂	337.7558	----

TABLA 2.5

PARAMETROS ORIENTACIONALES PARA GRUPOS ALQUIL-AMINO ($\text{uma} \cdot \text{\AA}^2$)

Sustituyente	Extendido	Contraído
$-\text{NH}_3^+$	42.8781	----
$-\text{NH}_2(\text{sp}^2)$	39.6722	----
$-\text{NH}_2(\text{sp}^3)$	38.6745	----
$-\text{NHMe}$	140.8734	----
$-\text{NHEt}$	362.8562	251.6946
$-\text{NHPr}$	737.9755	523.1039
$-\text{NH}i\text{Pr}$	529.2582	418.0965
$-\text{NHBu}$	1322.6209	892.8777
$-\text{NH}i\text{Bu}$	1004.7379	630.5789
$-\text{NHsBu}$	876.5871	717.2963
$-\text{NHtBu}$	640.0793	----
$-\text{NHAm}$	2149.1119	1511.9488
$-\text{NHCH}_2i\text{Bu}$	1728.8091	1242.5175

TABLA 2.6

PARAMETROS ORIENTACIONALES PARA
GRUPOS DIALQUIL-AMINO (uma-A²)

<u>Sustituyente</u>	<u>Extendido</u>	<u>Contraído</u>
-NMe ₂	170.0747	----
-NMeEt	464.0574	352.8958
-NEt ₂	686.0402	463.7169
-NPr ₂	1436.2789	1076.9314
-NiPr ₂	963.2633	852.1017

TABLA 2.7

PARAMETROS ORIENTACIONALES PARA
GRUPOS TIO-ALQUILICOS (uma -A²)

Sustituyente (a)	Extendido	Contraído
-SMe	226.6843	----
-CH ₂ SMe	546.8655	----
-CH ₂ SEt	974.5123	795.1117
-EtSMe	1098.9656	670.2079
-EtSEt	1732.2202	1088.3457
-CHMeSEt	1072.9837	742.4910

(a) Valores de la geometría interna de estos sustituyentes fueron tomados de:

-I.Gargitai: The Structure of Volatile Sulphur Compounds,
D.Reidel Publishing Company, Kluwer Ac. Publishers, 1985.

TABLA 2.8

PARAMETROS ORIENTACIONALES PARA
GRUPOS HALO-ALQUILICOS (uma -A²)

<u>Sustituyente</u>	<u>Extendido</u>	<u>Contraído</u>
-CH ₂ F	144.6384	----
-CHF ₂	246.6440	----
-CF ₃	348.6496	----
-CH ₂ Cl	295.8740	----
-CHCl ₂	549.1152	----
-CCl ₃	802.3565	----
-CH ₂ Br	687.3226	----
-CHBr ₂	1332.0125	----
-CBr ₃	1976.7024	----
-C ₂ H ₄ F	390.4153	254.9523
-CH ₂ CF ₃	685.8431	----
-CH ₂ CF ₂ CF ₃	1752.0144	1170.1276
-C ₂ H ₄ Cl	721.1864	384.1782
-C ₂ H ₄ Br	1571.7448	728.9081

1

TABLA 2.9

PARAMETROS ORIENTACIONALES PARA
GRUPOS CON SISTEMAS π (una $\text{-}\delta^2$)

Sustituyente	Extendido	Contraído
-NO ₂	206.9421	----
-CO ₂ H	228.8044	----
-CONH ₂	227.1708	----
-Ac	411.8372	391.1365
-COC ₆ H ₅	1452.5899	----
-OCOC ₆ H ₅	2340.1275	----
-CH ₂ C ₆ H ₅	1298.7781	----
-CHO	123.3573	----
-V1 (-CH=CH ₂)	122.3827	----
-CH ₂ CH=CH ₂	328.2958	----
-Ph	844.2869	----
-COMe	231.0102	----
-COEt	462.3322	347.3896
-CO ₂ Me	436.9648	324.7785
-CO ₂ Et	792.8129	581.0489
-CO ₂ H	228.8044	224.0010
-COO ⁻	217.6732	----

TABLA 2.10

PARAMETROS ORIENTACIONALES PARA
GRUPOS HIDROXI-ALQUILICOS (uma -A²)

<u>Sustituyente</u>	<u>Extendido</u>	<u>Contraído</u>
-CH ₂ OH	142.8287	137.5306
-CH ₂ CH ₂ OH	377.0554	249.9011
-CH ₂ CH ₂ CH ₂ OH	768.2298	501.2358
-CH ₂ CH(Me)OH	506.9171	443.7131
-CH(Me)OH	241.3001	236.0020
-CH(Et)OH	466.5275	339.7464
-CH(Pr)OH	837.5002	592.4366
-CMe ₂ OH	339.7715	334.4733

11

TABLA 2.11
PARAMETROS ORIENTACIONALES PARA
GRUPOS NO CLASIFICADOS (una -A²)

Sustituyente	Extendido	Contraído
-H	1.1975	----
-F	35.1394	----
-Cl	110.6945	----
-Br	299.8161	----
-OH	36.6291	----
-SH	66.9396	----
-CH ₂ NO ₂	443.7602	----
-CH ₂ Ac	923.7199	491.5810
-CH ₂ CO ₂ Me	806.6041	716.4796
-CH ₂ SC≡N	831.4387	----
-C≡CMe	1101.6319	----
-C≡N	121.7507	----
-CH ₂ C≡N	277.0486	----
-CH ₂ CH ₂ C≡N	638.0305	----
-CH ₂ C≡CH	276.4680	----

11.6) RELACION DEL PARAMETRO ORIENTACIONAL CON OTROS PROPUESTOS.

Para completar el análisis del parámetro orientacional (PO) hemos llevado a cabo un estudio de su correlación con otros parámetros utilizados en ACEA. Se emplearon los valores del PO para 35 sustituyentes en sus configuraciones más extendida y más contraída y sus valores equivalentes de 74 parámetros utilizados en ACEA /83/. Se ha propuesto que estos están relacionados con efectos de solubilidad (So), lipofilicidad (Li), estéricos (Et), electrónicos (El) y derivados de la fórmula (F). Se seleccionaron aquellos valores de $R^2 \geq 0.7$ los que fueron arbitrariamente separados en dos grupos según si $R^2 \geq 0.8$ y $0.8 > R^2 \geq 0.7$. Estos aparecen listados en las tablas 11.6.1 y 11.6.2.

Mencionaremos el significado físico adscrito a cada parámetro antes de relacionarlo con nuestro PO:

a) K_0 : es uno de los cuatro índices del contorno molecular propuesto por Kier /84/ obtenidos a partir de grafos moleculares. Un índice del contorno molecular también llamado índice de topología molecular es una cantidad que se obtiene a partir del grafo estructural de la molécula o a partir de su fórmula estructural plana. Los índices de Kier tienen relación con las siguientes propiedades estructurales de la molécula:

K_0 : está relacionado con la simetría de la molécula

K_1 : está relacionado con la ciclicidad de la molécula

K_2 : está relacionado con el tamaño de los átomos

K_3 : está relacionado con el número y tipo de enlaces presentes.

Básicamente este conjunto de parámetros pretende separar y cuantificar algunos de los atributos estructurales más importantes de la molécula que guarden relación o influyeran directamente algún fenómeno específico relativo a la interacción con el receptor.

b) Pr (Paracoro): es un parámetro que se determina a partir de propiedades macroscópicas de la sustancia:

$$Pr = \frac{M \gamma^{1/4}}{D}$$

donde M es la masa molecular, γ la tensión superficial de la sustancia y D su densidad. Su significado físico es un tanto ambiguo. Podría decirse por ej. que está relacionado con las fuerzas intermoleculares presentes en la sustancia ya que la γ y la D están influenciadas por estas. En el caso de sustancias apolares, Pr sería una medida de las fuerzas de dispersión existentes.

c) Vw: volumen de recubrimiento de van der Waals calculado a partir del radio de van der Waals (R_w). Para un átomo esférico X, su Vw es:

$$Vw(X) = \frac{4}{3} \pi R_w^3(X)$$

donde $R_w(X)$ es el radio de van der Waals de X. Aunque este parámetro se correlaciona bien con parámetros estéricos, existen referencias de muy buenas correlaciones entre este y

parámetros hidrofóbicos debido a que los agrupamientos de moléculas de agua que cubran la superficie de la molécula dependerán de su tamaño y de su polaridad /85/.

d) X^1_{AR} : conectividad molecular valencial de primer orden para compuestos aromáticos. Este es otro parámetro obtenido a partir de la teoría de los grafos. En la literatura se emplea el término conectividad molecular para referirse a una familia completa de índices de topología molecular. El manejo matemático de la conectividad molecular es un método para cuantificar la estructura molecular la que es descrita por un conjunto de índices X, los que son obtenidos a partir de la fórmula estructural o del grafo molecular sin considerar los átomos de H. En general, la conectividad molecular es difícil de interpretar debido a que muestra altas correlaciones con parámetros hidrofóbicos y con la RM. El término conectividad adquiere significado en el cálculo de estos parámetros al tomar en cuenta todas las conexiones posibles entre los átomos de la molécula utilizando en su cálculo trayectos de varias longitudes. Cuando además se consideran los electrones de valencia de cada átomo se habla de conectividad molecular de valencia o valencial.

e) L, B4, B5, LOLD: estos cuatro parámetros son parte de un conjunto propuesto por Verloop que cuantifica la estructura molecular considerando por separado diversos aspectos estructurales. Específicamente:

L: representa la longitud de un sustituyente en la dirección de su enlace al esqueleto.

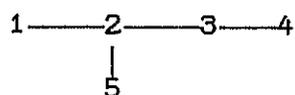
B₁: este parámetro es una medida de la mínima distancia que une un eje interno de rotación y la superficie molecular a través de un trazo perpendicular al eje considerado. A partir de este se calculan otros cuatro valores relacionados con la amplitud, B₂, B₃, B₄ y B₅. De esta manera cinco parámetros B miden el grosor del sustituyente en cinco direcciones todas ellas perpendiculares a L y siendo B₅ su máximo valor.

Con respecto a L, suele denotarse L_{OLD} y L según sea la modalidad de cálculo empleada /42/.

f) RM (refracción molecular): Este parámetro frecuentemente es interpretado como un reflejo de las fuerzas de dispersión presentes en la interacción droga receptor. Aunque presenta una alta correlación con parámetros hidrofóbicos, la RM como fue señalado anteriormente (ver cap. I) caracteriza el tamaño o volumen del sustituyente.

El PO aquí presentado depende formalmente del número de átomos del sustituyente, su distribución espacial y la masa total de éste. Este PO está contenido en la función de partición rotacional por lo que no cabe duda en cuanto a su carácter teórico formal ni a su significado físico. En base a su definición no es raro que se correlacione más o menos bien con parámetros relacionados con el volumen del sustituyente o factores que afecten a éste. Incluso este PO podría servir como referencia por ej. para determinar cuan

bueno es un parámetro para describir la distribución espacial de los átomos en el sustituyente. De especial interés es el caso de K_0 por presentar el valor más alto del cuadrado del coeficiente de correlación de toda la serie de parámetros considerada. El subíndice representa la longitud de todos los trayectos posibles que unen los átomos a través de sus enlaces. Consideremos por ej. el 2-metilbutano:



Para esta molécula un trayecto de longitud 1 es el que une los átomos 1 y 2, uno de longitud 2 es el que une 1, 2 y 3, y uno de longitud 3 es el que une 1, 2, 3 y 4 no existiendo trayectos de longitud 4. Luego existen cuatro trayectos de longitud 1, cuatro de longitud 2, dos de longitud 3 y ninguno de longitud 4. Ahora, existirán tantos trayectos de longitud 0 como átomos existan en la molécula. Esto quiere decir que el cálculo de K_0 está basado en el número de átomos que forman la molécula, al igual que el P_0 presentado. El hecho de que la correlación sea mayor para configuraciones contraídas se debería a que en éstas es posible encontrar un mayor número de elementos de simetría, lo que concuerda con el significado dado anteriormente para K_0 .

TABLA 11.6.1

Parámetro	Clasificación	Origen	R ² ext.	R ² cont.
K ₀	Et, Li, F	Teórica	0.89	0.91
Pr	Et, Li	Experim.	0.85	0.80
Vw	Et	Teórica	0.82	0.81
X ¹ _{AR}	F	Teórica	0.82	0.86
L	Et	Teórica	0.81	0.70

TABLA 11.6.2

Parámetro	Clasificación	Origen	R ² ext.	R ² cont.
RM	Et, Li	Experim.	0.79	0.78
X ⁰ _{VAR}	F	Teórica	0.78	0.75
X ¹ _{VAR}	F	Teórica	0.78	0.75
NC (n át. C)	F	Experim.	0.77	0.81
K ₁	Et, Li, F	Teórica	0.76	—
B4	Et	Teórica	0.76	0.70
B5	Et	Teórica	0.74	0.69
NA (n át. total)	F	Experim.	0.73	—
LOLD	Et	Teórica	0.72	—
X ⁰ _{AR}	F	Teórica	0.71	0.75

II. 7 TRATAMIENTO DE LA ENERGIA DE INTERACCION (ΔE_o).

El problema en la determinación de la energía de interacción (ΔE_o) radica principalmente en el desconocimiento de la estructura molecular del receptor. En todo caso, si sólo se consideran interacciones débiles (i.e., sin formación de enlaces covalentes), es aplicable la teoría de perturbaciones para el cálculo de ΔE_o . Su aplicación ha conducido a la siguiente expresión /86,87/:

$$\begin{aligned}
 E(KPG) = a + \sum_i^E [e_i Q_i + f_i S_i + s_i S_i] + \sum_i^N \sum_m [h_i(m) D_i(m) \\
 + j_i(m) S_i(m)] + \sum_i^E \sum_{m'}^N [r_i(m') D_i(m') + t_i(m') S_i(m')]
 \end{aligned}
 \tag{2.74}$$

donde el subíndice i se refiere al i ésimo átomo de la molécula de droga, y la suma sobre m incluye los orbitales ocupados y la suma sobre m' incluye los orbitales virtuales. Los términos Q_i , S_i^E , S_i^N y D_i corresponden a los denominados índices de reactividad y representan la carga neta del átomo i , la contribución a la superdeslocalizabilidad electrofílica, la contribución a la superdeslocalizabilidad nucleofílica y densidades electrónicas, respectivamente. Los índices de reactividad poseen las siguientes implicancias físicas concretas: las cargas netas sobre cada átomo están relacionadas con las interacciones electrostáticas entre la droga y el receptor; las densidades electrónicas en los orbitales representan la disponibilidad de una densidad de carga en una determinada

posición. Interesan sobre todo las densidades electrónicas en los orbitales frontera (HOMO y LUMO, representando el orbital molecular más alto ocupado y el "orbital molecular virtual" más bajo, respectivamente), y en los orbitales moleculares más cercanos a estos. Las SDN y SDE de un átomo son medidas para comparar la reactividad de un átomo equivalente en distintas moléculas con respecto a su capacidad aceptora y dadora de electrones respectivamente. Las SDN y SDE orbitales representan la contribución de los orbitales frontera a las SD atómicas. En este caso si los orbitales frontera juegan un papel importante en la interacción, las SD orbitales serán un mejor índice de reactividad que las SD atómicas. Cabe hacer notar que han sido propuestos varios otros formulismos basados en la teoría de perturbaciones para evaluar S_{EO} para la interacción de sistemas a cortas distancia de acercamiento /88-93/.

CAPITULO III.

ASPECTOS GENERALES DE LA APLICACION DEL METODO.

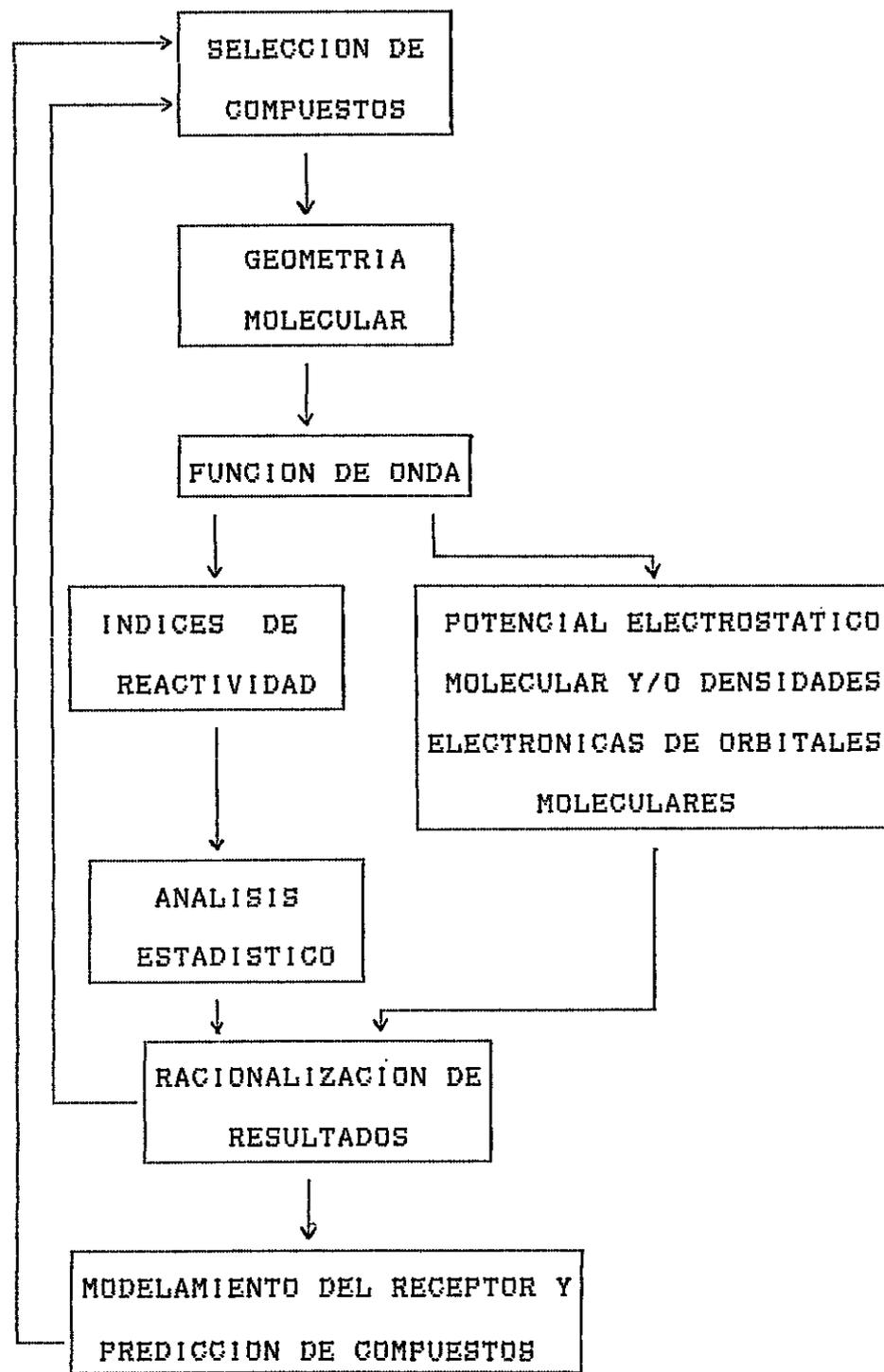
III.1) INTRODUCCION.

Debido a que en las diversas aplicaciones del método que se presenta en esta tesis hay varios elementos comunes, hemos decidido presentarlos en este capítulo. La primera etapa en un estudio de ACEA es seleccionar una familia de compuestos que posea un esqueleto común reconocible y, en lo posible, análogos rígidos para fundamentar la elección de determinadas conformaciones en compuestos que puedan poseer libertad conformacional. El número de moléculas elegidas debe ser grande, de modo que los resultados obtenidos sean estadísticamente significativos. Las constantes de equilibrio o los parámetros relacionados con la cinética de la interacción droga-receptor deben haber sido medidos en igualdad de condiciones experimentales y asegurándose de que reflejen la interacción con un sólo receptor. A continuación se construye la geometría en coordenadas cartesianas, la que constituye junto con datos como la carga y la multiplicidad moleculares, los datos de entrada para los programas que calculan la función de onda. A partir de la función de onda se calculan todos los índices de reactividad electrónicos. Con los factores de orientación y los índices de reactividad se lleva a cabo un análisis de regresión lineal múltiple frente a los logaritmos de las constantes de equilibrio de la familia de drogas. Este análisis entrega una serie de

ecuaciones de regresión junto con sus respectivos parámetros estadísticos que permiten seleccionar la mejor. La interpretación física de esta ecuación permite entender los factores moleculares responsables de la variación de la constante de equilibrio en la serie de moléculas escogidas, lo que conlleva el modelamiento del sitio receptor y la predicción de nuevos fármacos con la actividad analizada. Alternativamente se pueden calcular y graficar mapas de densidad electrónica de los orbitales moleculares más importantes y mapas de potencial electrostático molecular. Estos estudios permiten además de detectar características relevantes en la familia escogida, ayudar en la elección de una conformación óptima de interacción y el modelamiento del sitio receptor. Con todos estos antecedentes es posible predecir de manera aproximada la afinidad de uno o más compuestos nuevos. La predicción cuantitativa se hace a través del uso de la mejor ecuación de regresión.

La metodología recién descrita está representada esquemáticamente en la Figura 3.1:

FIGURA 3.1
ESQUEMA DE TRABAJO EN UN ACEA



III.2) ELECCION DE LA GEOMETRIA A EMPLEAR.

Para obtener las funciones de onda es necesario disponer de información acerca de la estructura y conformación moleculares. Para esto pueden utilizarse datos cristalográficos aunque estos corresponden a la estructura de la molécula dispuesta en un cristal, la que puede variar en solución. Las coordenadas cristalinas son transformadas en coordenadas internas (distancias interatómicas, ángulos de enlace y ángulos diedros), para luego construir la geometría en coordenadas cartesianas. En el caso de no disponer de datos cristalográficos, pueden utilizarse geometrías estándares. Pople /94/ estableció uno de esos conjuntos para parámetros estructurales comunes a varias moléculas poliatómicas y postuló que éstos se aproximaban lo suficiente a los parámetros de equilibrio como para dar buenos resultados en cálculos de algunas propiedades moleculares. La bondad de esta geometría puede apreciarse en la ref. 94, donde se presentan distribuciones de carga y momentos dipolares para moléculas orgánicas calculadas mediante el método CNDO/2 utilizando dicha geometría, comparadas con los respectivos datos experimentales. Se aprecia en general una buena concordancia entre ambos valores.

III.3) OBTENCION DE LA FUNCION DE ONDA MOLECULAR.

Si las fuerzas que actúan sobre la molécula son independientes del tiempo, la energía total puede obtenerse resolviendo la ecuación de Schrödinger :

$$\hat{H} \psi = E \psi$$

donde \hat{H} es el operador Hamiltoniano, ψ la función de onda molecular y E la energía total. El primer problema en la solución de la ecuación de Schrödinger es la determinación de la forma de la función para un sistema polieletrónico. Una solución práctica a este problema es la dada por el método de Hartree-Fock (también llamado método del campo autoconsistente o SCF), el cual permite obtener una expresión aproximada para ψ en términos de funciones monoeléctricas, utilizando un conjunto de funciones base. Sin embargo, en el método SCF aparece el problema de la enorme cantidad de integrales que deben ser calculadas. En este punto existen varios grados de aproximación para solucionar el problema. Por ejemplo, pueden eliminarse algunos de los aspectos más engorrosos reemplazando operadores de intercambio por los denominados potenciales locales /95/. También es posible reducir el número de funciones base utilizadas en la expansión de los orbitales moleculares /96/. En otro aspecto, los cálculos más complicados a realizar en cualquier esquema propuesto para la obtención de la función de onda, pueden ser reemplazados por parámetros empíricos. A este último nivel de aproximación pertenecen los llamados métodos semiempíricos.

Los métodos semiempíricos dentro del esquema SCF, se derivan omitiendo ciertos elementos del cálculo y estimando empíricamente la mayoría de los elementos restantes. Sin embargo, cualquier aproximación llevada a cabo en su derivación no debe eliminar aquellos factores físicamente importantes para la determinación de la estructura electrónica molecular. Por otro lado, el método debe tomar en cuenta los electrones químicamente activos, vale decir aquellos de la capa de valencia. El esquema más uniforme en la selección de estos parámetros es quizá el propuesto por Pople /97-99/ en el denominado método CNDO/2 (ver Apéndice II). Existen también refinaciones de este método, para el cálculo de propiedades moleculares específicas /100-103/.

Las principales características del método CNDO/2 son las siguientes :

- 01.- Se dispone de parámetros para elementos de hasta el tercer período.
- 02.-Se obtienen buenos resultados en cálculos de geometrías moleculares, momentos dipolares, intensidades de absorción en el infrarrojo, constantes de fuerza y densidades de carga.
- 03.-Se obtienen malos resultados en cálculos de potenciales de ionización, calores de formación, energías de transición electrónicas y energías de enlace.

Es necesario además, analizar la influencia de los efectos electrostáticos del medio en el cual se produce la interacción. Esto se ha llevado a cabo apoyándose en

trabajos desarrollados en nuestro grupo, los que permiten simular la polarización del medio y fenómenos de saturación dieléctrica /104/. Uno de estos modelos ha sido incorporado al formalismo mecano-cuántico empleado aquí (ver Apéndice I).

¿Por qué estudiar la influencia de los efectos electrostáticos del entorno? Se ha sugerido /105/ que los sitios receptores se ubican generalmente en sectores de baja polaridad de moléculas de proteínas. Si ello es cierto, deberíamos esperar que en los estudios de ACEA presentados en este trabajo las ecuaciones más significativas desde el punto de vista estadístico sean aquellas en las que la polaridad asignada al medio es baja.

En uno de los estudios presentados en lo que sigue, se realizó un ACEA para los casos de las moléculas en forma protonada y neutra. Ello se hizo porque, como se sabe que esas moléculas se encuentran mayoritariamente en forma protonada al pH de los tejidos, se esperaba que la mejor ecuación fuese la correspondiente a esa forma.

III.4) MEDICION DE LA CONSTANTE DE EQUILIBRIO.

Una etapa importante en la investigación de nuevas drogas es la experimental. Es necesario determinar las pruebas de laboratorio apropiadas para obtener la información acerca de compuestos que será utilizada en posteriores ACEA. En farmacología experimental es común definir una respuesta biológica como la magnitud del cambio

en un parámetro biológico medible (contracción muscular, presión sanguínea, etc.), luego de la administración de una cantidad determinada de la droga. En las pruebas "in vitro", la concentración de la droga libre en las vecindades del receptor se aproxima a la concentración utilizada en la prueba. Esto no sucede en pruebas "in vivo", debido a que la concentración de droga disponible para interactuar con el receptor depende de los procesos farmacocinéticos.

La aplicación de la ley de acción de masas en farmacología y la reversibilidad de la interacción droga-receptor han servido de base para teorías de ocupación del receptor que postulan que la magnitud del efecto provocado por la droga es proporcional a la concentración del complejo droga-receptor. Fundamentales son los conceptos de afinidad (la tendencia de una droga a fijarse a un receptor determinado) y actividad intrínseca o eficacia. Para medir parámetros relacionados con la constante de equilibrio se confecciona un gráfico correspondiente a resultados de pruebas en las que se mide una respuesta para varias concentraciones (C). Habitualmente se grafica $\log C$ contra porcentaje de respuesta (W), obteniéndose una curva sigmoidea típica. Los puntos de la curva que presentan mayor interés son aquellos que caen en la zona de inflexión de ella, ya que allí se cumple una relación lineal dosis-respuesta. Así se obtiene por ejemplo el denominado I_{50} , que corresponde a la dosis que produce un 50% de inhibición de la respuesta estudiada.

La afinidad de la droga i por un receptor R es proporcional a la inversa de K_i (siendo K_i la constante de equilibrio para la disociación del complejo droga-receptor). Los valores de afinidades pueden ser usados para clasificar y evaluar drogas, ya que por ejemplo los valores I_{50} experimentales se correlacionan con $-\log K_i$ y por lo tanto con la afinidad de D_i por el receptor /106/. En suma es de primera importancia acceder a valores experimentales que sean de buena calidad para llegar a ecuaciones relevantes.

III.5) ANALISIS ESTADISTICO

Como fue señalado anteriormente, en la determinación de relaciones cuantitativas entre estructura y actividad biológica se considera que los valores relativos de algún parámetro relacionado con la fase farmacodinámica en una familia de moléculas, son determinados por varias propiedades fisicoquímicas del esqueleto común. El análisis estadístico de un cálculo ACEA tiene dos objetivos principales: encontrar la mejor ecuación de todas las posibles considerando la población total de variables a incluir, y evaluar la significatividad estadística de la contribución individual de cada una de las variables que aparezcan en la mejor ecuación.

Para una población de p variables independientes, existen $(2^p - 1)$ ecuaciones que contienen al menos una de estas variables, por lo que el análisis de regresión lineal múltiple completo sólo puede realizarse mediante computación. Una correcta interpretación de los índices

estadísticos asociados a cada ecuación es fundamental. Entre los índices estadísticos necesarios para evaluar la bondad de una ecuación de regresión se encuentran: el cuadrado del coeficiente de correlación múltiple (R^2), la desviación estándar (DS), la varianza F, el valor t de Student asociado a cada variable de la ecuación y los coeficientes de correlación interna entre las variables de la ecuación. R^2 es una medida del porcentaje en que las variables en la ecuación explican la variación de K en la familia considerada. La DS indica el error implícito en el cálculo de K mediante la ecuación. El valor F es una medida indirecta de la probabilidad de que la ecuación haya sido obtenida por azar. Se compara el F obtenido con una tabla de valores límites de F para varios grados de probabilidad. Si el F obtenido es igual o mayor que el valor en la tabla, la ecuación es significativa estadísticamente. Los valores t de Student representan la probabilidad de que una variable en particular haya sido incluida en la ecuación por azar. El t calculado debe ser igual o mayor al que aparece en una tabla de valores límites de t, para que la variable en cuestión sea significativa. Según esta última comparación es posible determinar cuál o cuales de las variables son más significativas dentro de la ecuación. Por último, los coeficientes de correlación interna muestran el grado de interdependencia de las variables entre sí, siendo su cuadrado una medida del grado en que una de ellas explica la otra.

En general, una ecuación estadísticamente significativa debería poseer un alto valor para R^2 (considerando que este varía entre 0 y 1), y uno pequeño para la DS (aproximadamente 0.20). Valores de F y t son deseables para $p < 0.0005$. Los cuadrados de los coeficientes de correlación interna deben ser pequeños, indicando así que las variables en la ecuación están contribuyendo a la variación de K y no además a la variación de otras variables /107/.

Una estrategia muy utilizada en el análisis de regresión lineal múltiple es la de obtener todas las ecuaciones posibles para la población total de variables. El único problema es quizá que tales programas son de larga ejecución y su salida, según el número de variables incluidas, puede ser muy voluminosa. Sin embargo es posible reducir el tiempo computacional si previamente se verifica la existencia de variables cuyo valor se mantenga constante para toda la familia de moléculas considerada. Estas variables pueden ser suprimidas de la regresión debido a que no están contribuyendo a la variación de K. En todo caso, independientemente del número inicial de variables, este método asegura la obtención de la ecuación estadísticamente de mayor significatividad. También permite determinar si existen otras ecuaciones con distintas variables cuya significatividad no sea muy diferente a la de la mejor. Esta última consideración es importante en la posterior interpretación de los resultados para establecer un modelo

de la interacción de la familia de drogas con el receptor
(Ref.15, pag.189).

CAPITULO IV.

INHIBICION DE LA ACETILCOLINESTERASA POR ALGUNOS FENIL-N-METILCARBAMATOS.

IV.1) ACETILCOLINA (ACh).

La ACh es un neurotransmisor presente en todos los vertebrados e invertebrados. Actúa sobre receptores de la membrana celular que conforman canales, alterando su permeabilidad a los iones Na^+ y K^+ , lo que resulta en una despolarización de la membrana. La ACh es el éster acético de la colina, que se forma por una reacción enzimática entre la acetilcoenzima-A, y la colina.

En cuanto a su distribución, la ACh es hallada en el sistema nervioso central y periférico de los vertebrados. En el sistema nervioso periférico se ubica en las neuronas de todos los ganglios del sistema vegetativo y en las terminaciones del asta anterior medular que inerva las células musculares estriadas.

La ACh participa en múltiples funciones como ser: procesos digestivos mediados por sistemas neurovegetativos, motricidad voluntaria, alerta, procesamiento sensorial, mecanismos de memoria y cognición.

La degradación de la ACh ocurre en el espacio sináptico por una hidrólisis catalizada por esterasas inespecíficas y una específica llamada acetilcolinesterasa (AChE). La acción de esta enzima produce la liberación de colina, la que es recaptada por el terminal presináptico

para su reutilización, siendo este el paso limitante en la síntesis de ACh.

IV.2) SITIOS DE MODULACION COLINERGICA.

La acción biológica de la ACh puede ser modulada por inhibición y/o estimulación de su metabolismo. Además se puede actuar bloqueando su acción a nivel de receptores. La clasificación morfofuncional de los receptores colinérgicos no está completamente aclarada hasta este momento. En general, éstos se clasifican en receptores nicotínicos y muscarínicos debido a su activación preferencial por nicotina o muscarina.

El receptor nicotínico mejor caracterizado es el situado en la placa motora del músculo estriado, estando relacionado con la fisiopatología de la miastenia grave. Este receptor es bloqueado selectivamente por especies presentes en el curare y por la galamina /108,109/. Son también nicotínicos los receptores localizados en los ganglios simpáticos.

En cuanto a los receptores muscarínicos, éstos se encuentran ubicados tanto a nivel periférico parasimpático como a nivel central. Una clasificación de ellos los dividió en receptores M_1 y M_2 . El receptor M_2 corresponde a los localizados preferentemente a nivel de sistema nervioso parasimpático. Los receptores M_1 se hallan a nivel central, y poseen gran afinidad por la pirenzapina (PZ), al contrario de los M_2 localizados a nivel central que muestran una baja afinidad por este antagonista /110,111/. Sin embargo, otros

subtipos de receptores muscarínicos han sido caracterizados. Estos corresponden a los receptores H, llamados así por su alta afinidad por agonistas como el carbacol, y los receptores L que tienen una baja afinidad por estos agonistas. Sin embargo está claro que esta clasificación de receptores no corresponde a entidades moleculares bien definidas, materia que aún está en estudio.

Por otra parte existen agentes agonistas indirectos de la transmisión colinérgica, que actúan inhibiendo la degradación de la ACh por la AChE.

Inhibidores de la AChE son por ejemplo ciertos ésteres organofosforados, que la bloquean irreversiblemente. Algunos de estos compuestos han sido usados como insecticidas (fosfato de diisopropilo), y como gases de combate (sarin y tabun) /112,113/.

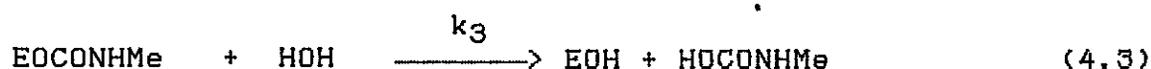
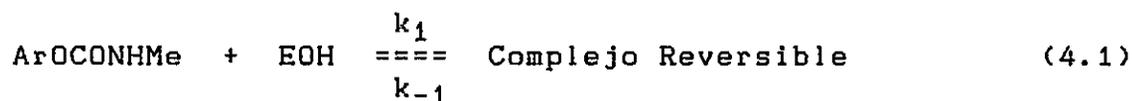
Con respecto a la estructura de la enzima se sabe que su sitio activo consta de dos subsitios: uno aniónico y uno llamado esterásico. El sitio aniónico enlaza y orienta la porción catiónica del sustrato de la ACh. Se piensa que la energía de este enlace es provista por interacciones de van der Waals entre los grupos metilo del nitrógeno y una porción hidrocarbonada de la ACh. El sitio esterásico esencialmente contiene un grupo ácido y un grupo básico. La interacción es aquí a través de un enlace covalente entre el grupo básico y el átomo de C electrofílico del grupo carbonilo /114,115/. El sitio aniónico orienta la actividad de la enzima hacia compuestos que contengan un grupo amonio

cuaternario ubicado apropiadamente /116,117/. En el caso de los compuestos organofosforados, estos se comportan como sustratos que fosforilan el sitio esterásico. Una vez que esto sucede, la hidrólisis de la ACh no es llevada a cabo o sucede muy lentamente dependiendo de la naturaleza del radical orgánico de la molécula /118,119/.

IV.3) LOS FENIL-N-METILCARBAMATOS (NMC).

Los carbamatos son utilizados como insecticidas debido a su complementariedad estructural con el sitio activo de la AChE, actuando como inhibidores reversibles de ella. Su toxicidad fue reconocida primero en Africa, donde en algunas regiones se utilizaba una especie de leguminosa, Physostigma venenosum, como veneno. Esta planta contiene un alcaloide, la fisostigmina, que es el metilcarbamato de un derivado del indol. Muchos compuestos con el grupo carbamoilo han sido investigados en cuanto a sus propiedades farmacológicas, resultando ser todos inhibidores de la AChE. Su utilización más amplia ha sido en agricultura, desde 1954 cuando se publicaron las propiedades insecticidas de los dimetilcarbamatos de varias series de alcoholes tales como el 5,5-dimetildihidroresorcinol, el cual junto a otros como el Dimetilan han sido extensamente estudiados y en un menor grado comercializados /120/.

El mecanismo de inhibición de la AChE por los NMC fue propuesto por Fujita /121/ suponiendo una reacción de tres etapas con constantes de velocidad k_1 , k_{-1} , k_2 y k_3 , donde $k_{-1} \gg k_2 \gg k_3$.



donde ArOCONHMe y EOH representan, respectivamente, a la molécula de fenil-N-metilcarbamato (Figura 4.1) y de acetilcolinesterasa. La enzima carbamilada resultante en la etapa 2 se acumula debido a la baja velocidad de la tercera etapa, produciéndose la inhibición. Fue demostrado que aquellos carbamatos con sustituyentes electrofílicos en el anillo bencénico eran inhibidores relativamente débiles. Hansch y Deutsch habían demostrado que la hidrofobicidad de los sustituyentes del anillo aromático tenían un papel importante en la formación del complejo, mientras que su capacidad dadora de electrones así como también factores geométricos y de posición estaban involucrados en todo el proceso inhibitorio /122/. Posteriormente se postuló que la porción aromática de los carbamatos actuaba como un dador de electrones π además de participar en interacciones hidrofóbicas en la formación del complejo, lo que explicaría la débil inhibición mostrada por los NMC con sustituyentes electrofílicos /123-125/.

IV.4) RESULTADOS Y DISCUSION.

En este trabajo se analizó la etapa reversible para la formación del complejo entre algunos NMC y la AChE. El objetivo final es determinar cuáles son las variables que explican la variación de K a través de la familia de moléculas considerada. Se seleccionó un esqueleto común incluyendo el anillo aromático y la fracción $-OCONHCH_3$. Las moléculas seleccionadas junto a sus constantes de equilibrio fueron tomadas de Ref.121 [Tablas 4.1 a 4.3), las que fueron transformadas calculando $A = -\log K$ (constante de afinidad)]. Se empleó geometría estándar de Pople. No se incluyó la polarización del medio ya que este fue un estudio primario para comprobar si el parámetro orientacional aparecía como variable importante en la variación de K y evaluar así su significancia como tal.

Un análisis estadístico exhaustivo mostró que no era posible encontrar una ecuación de regresión que incluyera todas las moléculas, por lo que fueron separadas en tres grupos, según poseyeran sustituyentes en orto, meta o para. Se hallaron ecuaciones para las moléculas sustituidas en las posiciones orto y para, no así para las sustituidas en posición meta, por lo que se procedió como sigue: se tomaron las moléculas con sustituyentes alquílicos en posición meta, incluyendo todas aquellas que contribuían significativamente a la ecuación. De las moléculas restantes se tomaron las que contenían sustituyentes oxialquílicos llevando a cabo la misma selección, y así sucesivamente con todas las

moléculas.

Las ecuaciones obtenidas son:

01. Fenil N-metil carbamatos sustituidos en posición orto.

$$A = 3,7321 - 3,8695 D_3(H-2) + 0,0019 O_{orto}^e \quad (4.4)$$

donde O_{orto}^e es el parámetro orientacional del o-sustituyente en su conformación extendida y $D_3(H-2)$ la densidad electrónica del átomo 3 en el Orbital Molecular (HOMO-2). Se puede apreciar que una molécula sustituida en posición orto presentará una alta afinidad por la AChE si es baja la contribución de la densidad electrónica del átomo 3 al (HOMO-2) y alto el valor del parámetro orientacional del sustituyente, aunque este no puede sobrepasar el más alto utilizado en la generación de la ecuación. El parámetro orientacional está indicando que una conformación extendida del sustituyente favorece la interacción NMC-AChE. Cabe hacer notar que la ecuación de regresión muestra solamente las variables que contribuyen a la variación de la afinidad.

El análisis estadístico de la ecuación arrojó los siguientes resultados: $R^2=0.87$, lo que representa una significatividad de aproximadamente un 87%, $SD=0.23$, una varianza $F(2,11)=41.49$ ($p<0,0001$). El test t de Student para las variables se presenta en la Tabla 4.4.

El cuadrado del coeficiente de correlación interna para este par de variables es de $r^2= 0.30$, lo cual muestra su baja correlación. En la Tabla 4.1 aparecen los valores predichos de A según la ecuación 4.4, y en la Figura 4.2 se

grafican los valores experimentales frente a los calculados.

02. Fenil-N-metil carbamatos sustituidos en posición meta.

Para el primer grupo de moléculas de la tabla 4.2 la mejor ecuación es:

$$A = 2,9507 + 99,4520 S_{11}^{E(H-2)} + 0,0017 O_m^C \quad (4.5)$$

donde $S_{11}^{E(H-2)}$ y O_m^C son, respectivamente, la contribución a la superdeslocalizabilidad electrofílica del OM (HOMO-2) del átomo 11, y el parámetro orientacional del sustituyente en su conformación contraída. Según la ecuación, A crecerá cuando aumente la capacidad dadora de electrones del átomo 11 en el OM (HOMO-2). La aparición del parámetro orientacional induce a pensar que algunos de los sustituyentes adoptan la conformación contraída al interactuar con la AChE.

El análisis estadístico presentó los siguientes resultados: $R^2=0.84$, $SD=0.20$, $F(2,5)=46.36$ ($p<0,005$). El test t de Student se muestra en la Tabla 4.5. El cuadrado del coeficiente de correlación interna de las variables de la ecuación (4.5) es $r^2=0.0017$. En la Tabla 4.2 aparecen los valores predichos de A y en la Figura 4.3 se grafican los valores experimentales frente a los calculados.

Para el segundo grupo de moléculas se obtuvo:

$$A = -25,2008 + 158,7820 Q_1 - 18,0715 S_7^{N(L+1)} + 0,0038 O_{meta}^e \quad (4.6)$$

donde Q_1 , $S_7^{N(L+1)}$ y O_m^e son respectivamente, la carga neta

del átomo 1, la contribución a la superdeslocalizabilidad nucleofílica del OM (LUMO +1) del átomo 7, y el parámetro orientacional del sustituyente en su conformación extendida. Se aprecia que la afinidad aumentará con la existencia de una carga neta positiva en el átomo 1 y una baja capacidad aceptora de electrones del átomo 7 a nivel del (LUMO+1), además de la presencia de un sustituyente con un valor alto para su parámetro orientacional en su conformación extendida.

El análisis de la ecuación (4.6) arrojó los siguientes resultados: $R^2=0.98$, $SD=0.17$, $F(3,6)=136.12$ ($p<0.0005$). Los resultados del test de Student para las variables de la ecuación (4.6) se muestran en la Tabla 4.6. El cuadrado de los coeficientes de correlación interna para esas variables se halla en la Tabla 4.7. En la Tabla 4.2 aparecen los valores predichos de A y en la Figura 4.4 aparecen graficados los valores experimentales frente a los calculados.

03. Fenil-N-metil carbamatos sustituidos en posición para.

La ecuación obtenida:

$$A = 2,6157 + 3,3837 D_7(H-2) + 16,0755 D_{11}(H-2) + 0,0007 \rho_{para}^e \quad (4.7)$$

donde $D_7(H-2)$, $D_{11}(H-2)$ y ρ_{para}^e son, respectivamente, las contribuciones a las densidades electrónicas del OM (HOMO-2) de los átomos 7 y 11, y el parámetro orientacional del sustituyente en su conformación extendida. La interacción de los NMC sustituidos en posición para con la AChE se verá

favorecida con altas densidades electrónicas en el OM (HOMO-2) de los átomos 7 y 11, y un valor alto del parámetro orientacional del sustituyente en su conformación extendida.

Los tests estadísticos arrojaron los siguientes resultados: $R^2 = 0.66$, $DS = 0.27$, $F(3,13) = 9.08$ ($p < 0.005$), el resultado del test de Student y los cuadrados de los coeficientes de correlación para las variables de la ecuación (4.7) se muestran, respectivamente en las Tablas 4.8 y 4.9. Los valores predichos de A según esta ecuación aparecen en la Tabla 4.3, y en la Figura 4.5 se presenta el gráfico de los valores experimentales frente a los calculados.

Estas cuatro ecuaciones nos permiten proponer un mecanismo de unión entre los NMC y la AChE, en forma aproximada y válido al menos para el grupo de moléculas considerado. Para el caso de los NMC sustituidos en posición orto aparecen las variables $D_3(H-2)$ y el PO del sustituyente en su configuración extendida. Un valor alto para A se obtiene con una baja densidad electrónica en el OM (H-2) del átomo 3 y un valor alto para el PO del sustituyente. Esta condición se cumplirá para el caso de sustituyentes lo bastante electronegativos como para descargar el anillo y suficientemente pequeños para que las distribuciones de carga no se repelan y desestabilicen el sistema. En la Tabla 4.1 se aprecia que los mejores valores se obtienen para grupos como halógenos y oxialquílicos, siendo el Br y el O-*i*Pr los que presentan las más altas A experimentales.

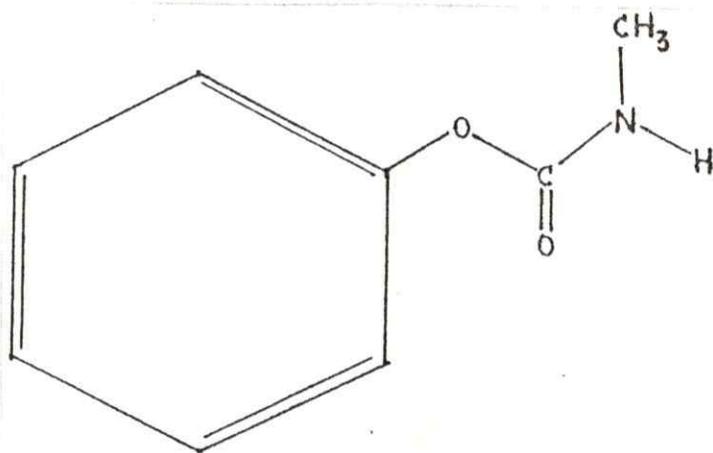
En el caso de los NMC sustituidos en posición meta es interesante notar lo siguiente: las A más altas son exhibidas por sustituyentes apolares y voluminosos. Para el primer grupo de sustituyentes la ecuación 4.5 presenta el PO del sustituyente en su configuración contraída y la $S_{11}^E(H-2)$ en ese orden de significatividad, mientras que para el segundo grupo la ecuación 4.6 muestra la Q_1 y el PO del sustituyente en su configuración extendida más significativas que la $S_7^E(L+1)$. Luego aquellos sustituyentes del segundo grupo que puedan incrementar la carga neta sobre el átomo 1 y además ser voluminosos presentarán mejores valores para A. Por otro lado para el primer grupo de sustituyentes apareció el PO contraído del sustituyente, existiendo este para OEt, O-iPr y O-nBu en este caso, lo que estaría indicando que en el sitio receptor estas moléculas pasan por una región que exigiría una máxima apolaridad del sustituyente. En este sentido una extensión del trabajo podría ser el realizar otras regresiones formando conjuntos con sustituyentes todos apolares para ratificar la hipótesis anterior.

En el caso de NMC sustituidos en posición para, la ecuación 4.7 presenta al PO del sustituyente en su conformación extendida como más importante que las $D_7(H-2)$ y $D_{11}(H-2)$. Se aprecia que sustituyentes con altos valores de su PO extendido y que al mismo tiempo sean dadores de electrones, de tal manera que incrementen las densidades de carga en los átomos 7 y 11, presentarán los mejores valores

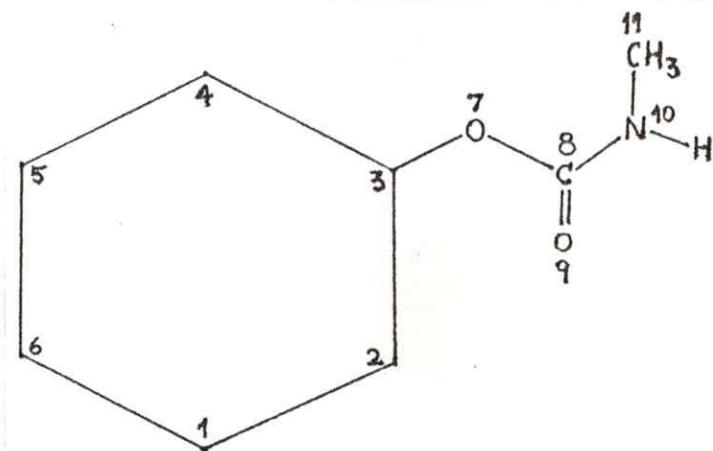
para A. Examinando la Tabla 4.3 se aprecia que los valores más altos para A lo exhiben los sustituyentes NO₂, CN y CHO, y que la mejor concordancia la dan el NO₂, OEt y el Et. La peor concordancia se observa para el CN ya que si bien puede ser un buen dador de electrones posee un PO relativo pequeño.

En términos generales resumiendo podemos señalar que los átomos 1 y 3 de los NMC interactuarían electrostáticamente con sitios complementarios de la AChE, ayudados probablemente por una interacción electrostática o de transferencia de carga del átomo 11. Hay que mencionar que la aparición de índices referentes a los OM (H-2) y (L+1), y la ausencia de similares respecto de (H-1), HOMO y LUMO sólo quiere decir que la variación de estos últimos no explica la variación de A. Ello por cierto no quiere decir que dichos índices no participan en la interacción: sólo indica que, o son nulos, o constantes.

FIGURA 4.1



Nombre aceptado por I.U.P.A.C. : N-metilcarbamato de fenilo



Numeración utilizada en el cálculo CNDO/2.

TABLA 4.1

Valores experimentales y calculados de A para los
fenil-N-metilcarbamatos orto-sustituídos

	Sustituyente	A Exp. ^a	A Calc. ^b
1.	-H	2.5199	2.4857
2.	-F	3.0333	3.0325
3.	-Cl	3.5968	3.6497
4.	-Br	4.1668	4.2701
5.	-Me	2.6090	2.8832
6.	-Et	3.0287	3.2079
7.	-n-Pr	3.4034	3.6072
8.	-i-Pr	3.9065	3.6811
9.	-sec-Bu	4.2881	4.1724
10.	-OMe	3.3851	3.4281
11.	-OEt	3.7904	3.8072
12.	-O-i-Pr	4.4012	4.3834
13.	-CN	3.8013	3.2142
14.	-NO ₂	3.8927	3.9197

a. Ref.121

b. Con ecuación 4.4

TABLA 4.2

Valores experimentales y calculados de A para los
fenil-N-metilcarbamatos meta-sustituídos.

-----		-----		
Sustituyente	A Exp. ^a	A Calc. ^b	A Calc. ^c	
-----		-----		
1.	-F	2.3798	2.4512	
2.	-Cl	2.9914	2.8452	
3.	-Br	3.2247	3.3368	
4.	-NO ₂	3.2196	3.2724	
5.	-OEt	3.2062	3.0370	
6.	-O-i-Pr	3.4621	3.4178	
7.	-O-n-Bu	4.0000	4.0600	
8.	-OMe	2.6946	2.8587	
1.	-H	2.5199		2.6701
2.	-CF ₃	3.3199		3.3477
3.	-CH ₃	3.4248		3.3311
4.	-Et	4.1904		4.0587
5.	-n-Pr	4.9101		4.6850
6.	-i-Pr	5.2557		5.4424
7.	-t-Bu	5.4948		5.5241
8.	-CHO	2.7328		2.6226
9.	-COEt	3.3685		3.5002
10.	-CN	3.0675		3.1548
-----		-----		

a. Ref. 121

b. Ecuación 4.5

c. Ecuación 4.6

TABLA 4.3

Valores experimentales y calculados de A para los
fenil-N-metilcarbamatos para-sustituídos.

	Sustituyente	A Exp. ^a	A Calc. ^b
1.	-H	2.5199	2.9716
2.	-Cl	2.5003	2.7612
3.	-Br	2.6925	2.8340
4.	-Me	2.7931	2.9905
5.	-Et	3.0255	3.0667
6.	-n-Pr	3.0408	3.1701
7.	-i-Pr	3.4202	3.1365
8.	-t-Bu	3.1549	2.8861
9.	-OMe	3.0675	3.1044
10.	-OEt	3.2168	3.2266
11.	-O-n-Bu	3.5686	3.7741
12.	-SMe	3.0324	2.8980
13.	-CHO	3.6401	3.7462
14.	-COEt	3.0269	2.9818
15.	-SO ₂ Me	3.3595	3.0879
16.	-CN	3.6946	3.1683
17.	-NO ₂	3.9871	3.9094

a. Ref. 121

b. Ecuación 4.7

TABLA 4.4

Test de Student para las variables de la
Ecuación (4.4).

Variable	t
$D_3(H-2)$	-4.70 (p<0.01)
σ_{orto}^e	3.95 (p<0.025)

TABLA 4.5

Test de Student para las variables de la
Ecuación (4.5).

Variables	t
$E_{S_{11}}(H-2)$	3.01 (p<0.05)
σ_{meta}^c	7.08 (p<0.005)

71

TABLA 4.6

Test de Student para las variables de la
Ecuación (4.6)

Variable	t
Q ₁	16.59 (p<0.0005)
N S ₇ (L+1)	-4.99 (p<0.005)
e Q _{meta}	9.75 (p<0.0005)

TABLA 4.7

Cuadrados de los coeficientes de correlación
entre las variables de la Ecuación (4.6)

	Q ₁	N S ₇ (L+1)
Q ₁		
N S ₇ (L+1)	0.0016	
e Q _{meta}	0.0001	0.0001

TABLA 4.8

Test de Student para las variables de la
Ecuación (4.7)

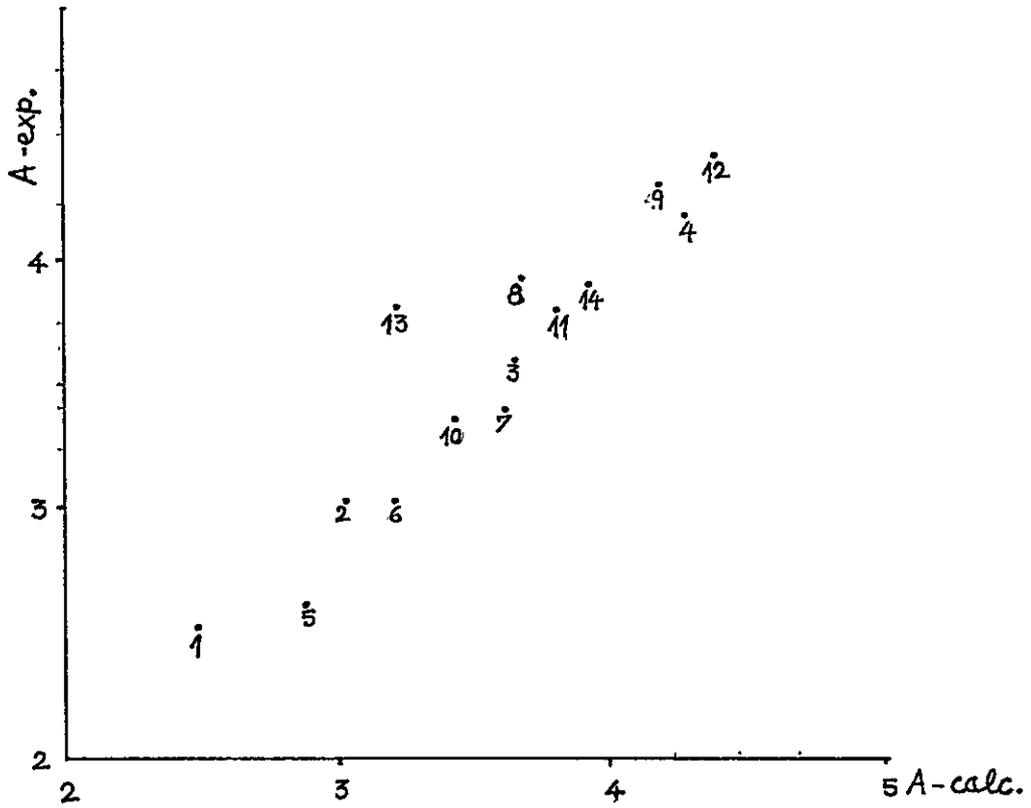
Variable	t
D ₇ (H-2)	4.78 (p<0.05)
D ₁₁ (H-2)	2.33 (p<0.05)
e Q _{para}	2.92 (p<0.025)

TABLA 4.9

Cuadrados de los coeficientes de correlación
entre las variables de la Ecuación (4.7)

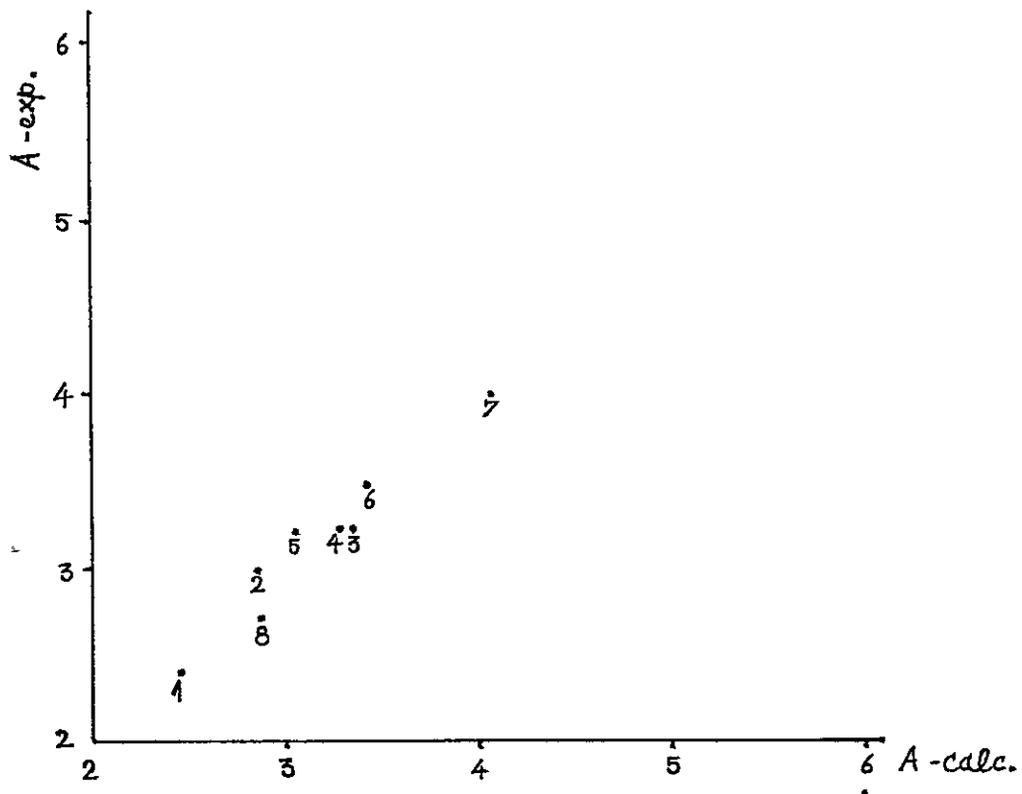
	D ₇ (H-2)	D ₁₁ (H-2)
D ₇ (H-2)		
D ₁₁ (H-2)	0.12	
e Q _{para}	0.04	0.00005

FIGURA 4.2



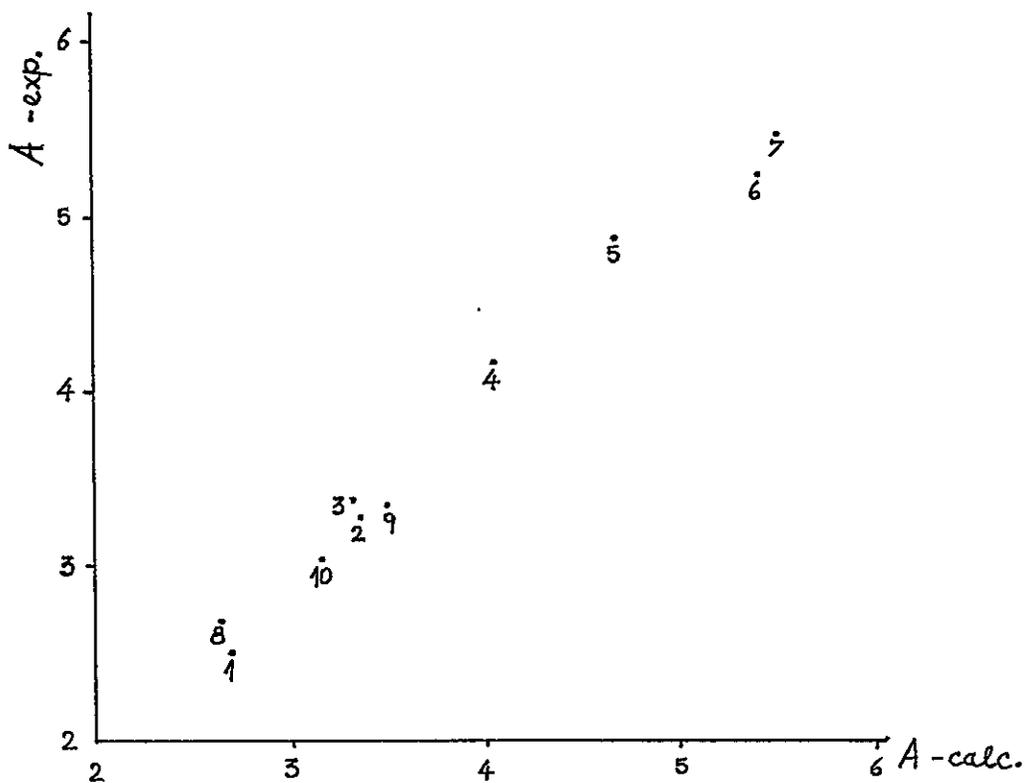
Aexp./Acalc. con Ec. 4.4

FIGURA 4.3



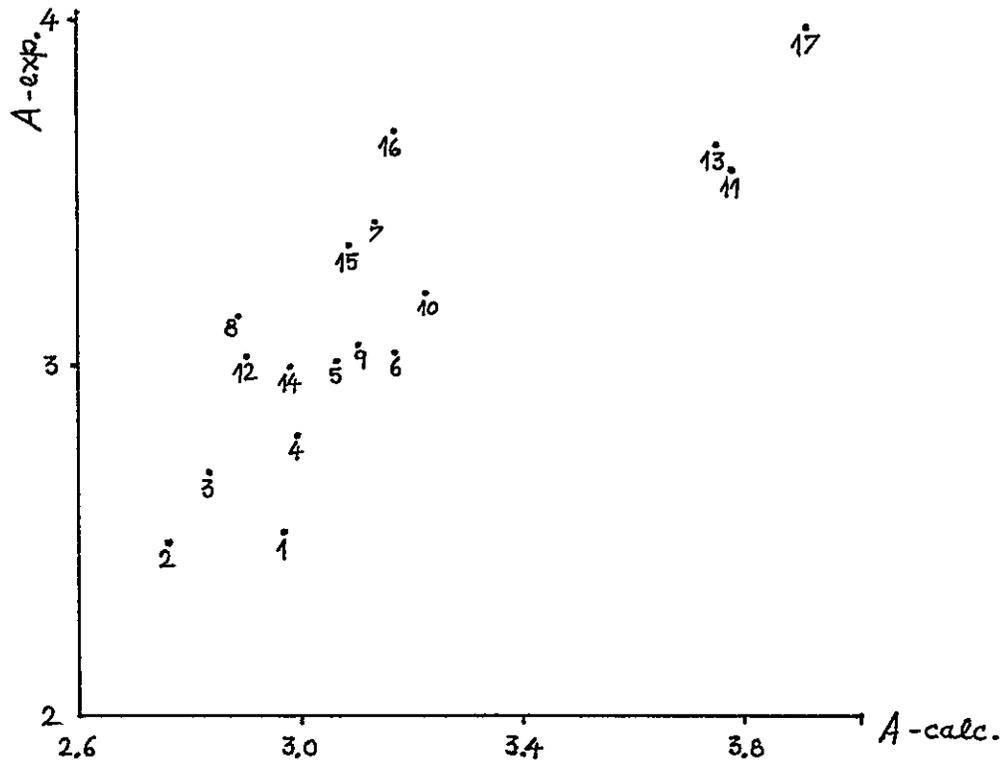
Aexp./Acalc. con Ec. 4.5

FIGURA 4.4



Aexp./Acalc. con Ec. 4.6

FIGURA 4.5



Aexp./Acalc. con Ec. 4.7

CAPITULO V.
ESTUDIO DE LA INHIBICION DE LA
MONOAMINO-OXIDASA POR ALGUNAS β -CARBOLINAS.

V.1) MONOAMINO-OXIDASA (MAO).

La MAO es una enzima importante en la degradación de las aminas biogénas serotonina (5-HT), dopamina (DA), y noradrenalina (NA). Está contenida en la membrana externa de las mitocondrias y desde allí es liberada al citoplasma y fuera de la célula. Desde 1968 se conoce la existencia de al menos dos formas de MAO: MAO_A y MAO_B /126/. Se han encontrado actividades variables de los subtipos A y B en diversos tejidos. Estos subtipos han sido caracterizados mediante electroforesis y técnicas cromatográficas /127,128/. En todo caso, los esfuerzos por delinear su estructura primaria han sido infructuosos.

Aunque no se conoce un sustrato específico para un determinado subtipo de la MAO, algunos son altamente selectivos /129/. Por ejemplo, la serotonina es selectiva para el subtipo A y la feniletilamina lo es para el subtipo B. En todo caso aún no se han encontrado diferencias en cuanto a distribuciones de estos subtipos en regiones cerebrales /130/.

V.2) INHIBIDORES DE LA MAO.

En las últimas décadas los inhibidores de la monoamino-oxidasa (IMAO), han perdido en gran parte su aceptación como una alternativa eficaz ante los antidepresivos tricíclicos, debido a su escasa selectividad

y toxicidad elevada. No obstante lo anterior, en recientes estudios ha quedado confirmada la eficacia terapéutica de los IMAO en un amplio espectro de desórdenes psiquiátricos. Se han comunicado aplicaciones clínicas exitosas en el tratamiento de afecciones obsesivo-compulsivas, fobias sociales, déficit de atención, entre otros /131-134/. Otro punto interesante es su aparente superioridad sobre los antidepresivos tricíclicos, como ansiolíticos y para aminorar los síntomas de pánico asociados a afecciones depresivas. Además han demostrado ser eficaces en el tratamiento de las formas endógenas y no endógenas de depresión /135-139/. Los IMAO parecen no ser selectivos en el tratamiento de varios tipos de depresión, aunque hay indicios de que la inhibición de la actividad de MAO_A es esencial en el tratamiento de la depresión severa /140/. Esta parece ser una afección con varios desórdenes superpuestos bien definidos como ansiedad, fobias, fatiga excesiva e hipersomnia. Estudios de pacientes con estos síntomas dan la impresión que los tratamientos con IMAO son más efectivos que aquellos con antidepresivos tricíclicos /141/. Sin embargo, existen pruebas que los IMAO y los antidepresivos tricíclicos son igualmente efectivos en el tratamiento de la depresión melancólica. Estos estudios comparativos en la depresión han llevado a proponer que los IMAO poseen propiedades ansiolíticas junto al efecto antidepresivo. Hay que señalar, sin embargo, que todos estos estudios se han hecho con IMAO no selectivos que inhiben

ambos subtipos de enzima. El otro éxito de los IMAO por sobre los tricíclicos está en el tratamiento de niños con déficit de atención caracterizado por una hiperactividad. Los IMAO fueron los primeros agentes en igualar los efectos de la dextroanfetamina, contrastando con los pobres resultados obtenidos con agentes tricíclicos /142/. Estas posibles ventajas de los IMAO sobre otras alternativas terapéuticas han conducido desde mediados de la década de 1970 a la búsqueda de sustancias más selectivas y menos tóxicas cuya acción se base en los mismos principios.

V.3) LAS β -CARBOLINAS COMO INHIBIDORES DE LA MAO.

Algunos derivados de las β -carbolinas son IMAO en deaminaciones oxidativas cerebrales. Estudios in vitro usando triptamina como sustrato mostraron que algunos derivados eran potentes inhibidores competitivos /143-151/. El esqueleto común de las β -carbolinas es el sistema aromático tricíclico de ese nombre, donde sustituyentes potencian o disminuyen su actividad (ver Figura 5.1). En este trabajo se examinaron las correlaciones de las actividades inhibitorias de las β -carbolinas con factores electrónicos del esqueleto común y factores de inercia de los sustituyentes. Las moléculas seleccionadas se presentan en la Tabla 5.1. Allí, R₁ a R₁₄ ocupan las distintas posiciones de sustitución mostradas en la Figura 5.1 y pI₅₀ es el logaritmo negativo del I₅₀ medido en mM.

El análisis de regresión múltiple se llevó a cabo incluyendo los índices de reactividad electrónicos del

esqueleto, los parámetros orientacionales de los sustituyentes R_I a R_{IV} en conformación extendida, el parámetro orientacional del sustituyente en R_{III} en conformación contraída y el (-log I₅₀) tomado de la literatura /143,145,148/.

También fue considerada la solvatación efectuando tres regresiones, cada una con los índices de reactividad del esqueleto calculados con una polaridad distinta del medio considerando constantes dieléctricas de 1 (vacío), 5 y 30.

V.4) RESULTADOS Y DISCUSION

01) Interacción en vacío (ε=1).

Se obtuvo la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned} \log I_{50} = & 2.0729 - 0.0017 \overset{e}{O}_{III} - 0.0093 \overset{e}{O}_{IV} - 0.3027 \overset{N}{S}_1(L+1) \\ & + 2.4534 D_5(H-2) - 32.8258 D_6(H-1) + 0.9769 \overset{E}{S}_6(H) \end{aligned} \quad (5.1)$$

donde $\overset{e}{O}_{III}$, $\overset{e}{O}_{IV}$, $\overset{N}{S}_1(L+1)$, $D_5(H-2)$, $D_6(H-1)$ y $\overset{E}{S}_6(H)$ son respectivamente, los PO extendidos para las posiciones de sustitución III y IV, la contribución a la SN del OM (L+1) del átomo 1, la densidad electrónica del OM (H-2) en el átomo 5, la densidad electrónica del OM (H-1) en el átomo 6 y la contribución a la SE del OM (H) del átomo 6.

El coeficiente de correlación múltiple para la Ecuación (5.1) es de 0.93, lo que representa una significatividad de más de un 87%, y una desviación standard

de 0.23. La varianza $F(6,17)=20.55$ ($p<0.005$) corrobora su significatividad estadística indicando que la probabilidad de que la ecuación sea obtenida por azar es menor que un 0.5 %. Los resultados del test de Student para cada variable se presentan en la Tabla 5.2. La matriz de correlación interna para cada par de variables en la ecuación (5.1) se presenta en la Tabla 5.3.

Los parámetros orientacionales son muy significativos para la ecuación, al igual que la capacidad dadora de electrones de los átomos 5 y 6, aunque estrictamente están involucrados de un modo distinto, ya que para el átomo 6 aparecen su densidad electrónica en el orbital (H-1) y su contribución a la superdeslocalizabilidad electrofílica del HOMO. Con un grado menor de significatividad aparece la capacidad aceptora de electrones en el orbital (L+1) del átomo 1 (adyacente al átomo 6 en el anillo).

02) Interacción en un medio poco polar ($\epsilon=5$).

$$\begin{aligned} \log I_{50} = & 2.0982 - 0.0018 \overset{e}{O_{III}} - 0.0070 \overset{e}{O_{IV}} + 2.6842 D_5(H-2) \\ & + 8.8883 \overset{E}{S_6(H-1)} + 0.8249 \overset{E}{S_6(H)} + 4.3733 Q_7 \end{aligned} \quad (5.2)$$

Esta ecuación tiene un $R=0.94$ y $SD=0.22$. El coeficiente representa una significatividad del 88.62 % y la varianza $F(6,17) = 23.37$ ($p<0.005$) corrobora su alta significatividad estadística. Los resultados del test de Student para las variables se presenta en la Tabla 5.4. La

matriz de correlación interna para cada par de variables en la ecuación 5.2 se presenta en la Tabla 5.5.

Son determinantes en la variación del $\log I_{50}$, los parámetros orientacionales, la densidad electrónica en el átomo 5 y la superdeslocalizabilidad electrofílica del átomo 6 en el HOMO, lo cual está en total acuerdo con la ecuación anterior. Con menos significancia, pero con más que en el caso de $\epsilon=1$, están la superdeslocalizabilidad electrofílica del átomo 6 en el orbital (H-1) lo que confirma la aparición de la misma en el HOMO y Q₇, término que aparece dando cuenta de interacciones electrostáticas. Las distintas pruebas estadísticas para la ecuación global y las asociadas a cada variable muestran a esta ecuación como más significativa estadísticamente que la ecuación anterior.

03) Interacción en un medio de polaridad media ($\epsilon=30$).

$$\log I_{50} = 2.2128 - 0.0018 O_{III}^e - 0.0063 O_{IV}^e + 1.3194 S_6^E(H) - 0.1774 S_{10}^E(H-2) - 7.7542 D_{12}(H) \quad (5.3)$$

La ecuación (5.3) tiene un $R = 0.92$ y $SD = 0.25$. El coeficiente muestra una significancia de 83,85 %. La varianza es $F(5,18) = 19.73$ ($p < 0.005$). Los valores del test de Student para cada variable se presentan en la Tabla 5.6. La matriz de correlación interna para cada par de variables se presenta en la Tabla 5.7.

En esta ecuación son de primera importancia el parámetro orientacional del sustituyente en la posición III

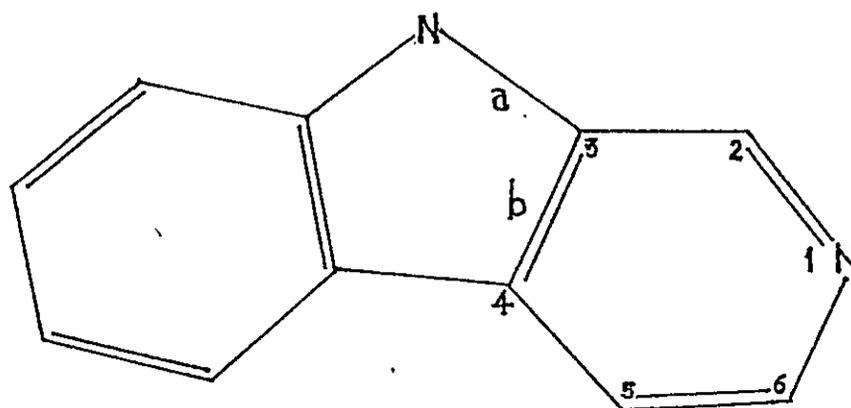
y la contribución a la superdeslocalizabilidad electrofílica del HOMO del átomo 6. Como menos importantes aparecen el parámetro orientacional del sustituyente en la posición IV y la contribución a la densidad electrónica del HOMO del átomo 12. De mucho menor importancia es la contribución a la superdeslocalizabilidad electrofílica del orbital H-2 del átomo 10. Estadísticamente esta ecuación aparece como la menos significativa de las tres, lo que induce a creer que la interacción ocurre en un entorno poco polar, ya que la comparación de las ecuaciones (5.1), (5.2) y (5.3) muestra que aquella que explica la variación de p_{150} en un medio de $\epsilon = 5$ es la mejor. En la Tabla 5.8 se presentan los valores de p_{150} calculados con la ecuación (5.2) y en la Figura 5.2 se presenta el gráfico de los valores experimentales frente a los calculados.

Desde un punto de vista general, ello indica que el sitio activo enzimático no está fuertemente polarizado, hecho coherente con que la carga neta total de las β -carbolinas sea nula. También es coherente con esa idea el que las contribuciones más significativas sean las del anillo homocíclico [$D_5(H-2)$ y $S_6^E(H)$].

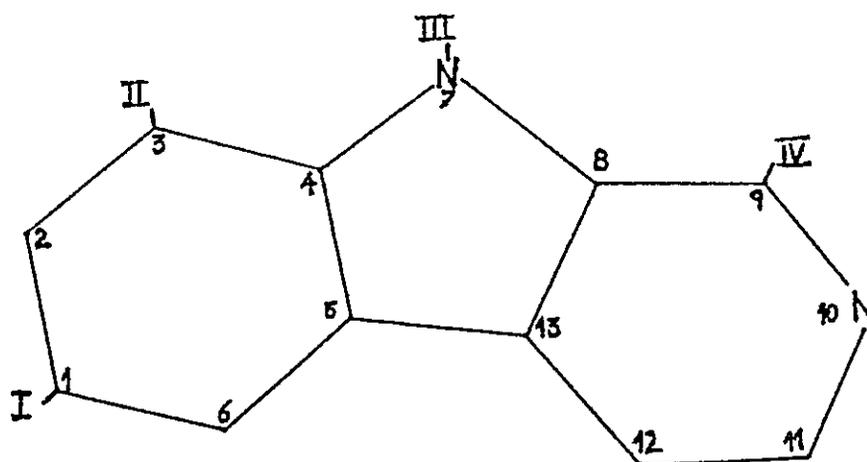
La ecuación (5.2) muestra más allá de toda duda la importancia y la validez de los PO en la descripción de la variación de la afinidad en un grupo de moléculas. Es interesante mencionar a este respecto que el examen de la naturaleza de los sustituyentes R_{III} (Tabla 5.1) muestra que varios de ellos que poseen libertad conformacional a

pesar de lo cual es el valor correspondiente a la conformación extendida el que aparece en la ecuación final. En el caso de los sustituyentes R_{1y} , estos son pequeños, pero sin embargo de gran influencia en la orientación conducente a la interacción.

FIGURA 5.1



Nombre aceptado por I.U.P.A.C. : Pirido[3,4-b]indol.



Numeración utilizada en el cálculo CNDO/2.

TABLA 5.1
Familia de β -Carbolinas escogidas para el análisis
de regresión, junto a sus valores de pI_{50} .

MOLECULA	R _I	R _{II}	R _{III}	R _{IV}	pI_{50}
01	-H	-H	-H	-H	1.5376
02	-H	-H	-H	-Me	0.8539
03	-H	-H	-H	-Et	0.3279
04	-H	-H	-Me	-H	2.0000
05	-H	-H	-nPr	-H	0.8239
06	-H	-H	-nBu	-H	0.8539
07	-H	-H	-iPen	-H	-0.2553
08	-H	-H	-(CH ₂) ₃ OH	-H	0.3188
09	-H	-H	-(CH ₂) ₂ OH	-H	0.9586
10	-H	-H	-CH ₂ OH	-H	1.4685
11	-H	-H	-CH ₂ OMe	-H	0.3979
12	-H	-H	-COMe	-H	0.8239
13	-H	-H	-H	-NH ₂	0.8239
14	-OMe	-H	-H	-H	1.3665
15	-OMe	-H	-Me	-H	1.5528
16	-Me	-H	-H	-H	0.9208
17	-Me	-H	-Me	-H	1.1549
18	-Cl	-H	-H	-H	1.6198
19	-NH ₂	-H	-H	-H	0.2007
20	-H	-OMe	-H	-H	0.9208
21	-H	-Me	-H	-H	1.1427
22	-H	-Me	-Me	-H	1.6990
23	-H	-NH ₂	-H	-H	0.2366
24	-H	-H	-Et	-H	1.3188

TABLA 5.2

Test de Student para las variables de la
Ecuación (5.1).

Variable	t
e_{0III}	-9.27 (P<0.0005)
e_{0IV}	-5.56 (p<0.0005)
$D_5(H-2)$	4.71 (p<0.0005)
$E_{S_6(H-2)}$	7.44 (p<0.0005)
$N_{S_1(L+1)}$	-2.38 (p<0.025)
$D_6(H-1)$	-2.43 (p<0.025)

TABLA 5.3

Cuadrados de los coeficientes de correlación
entre las variables de la Ecuación (5.1).

	e O_{III}	e O_{IV}	N $S_1(L+1)$	$D_5(H-2)$	$D_6(H-1)$
e O_{IV}	0.04				
N $S_1(L+1)$	0.003	0.0003			
$D_5(H-2)$	0.03	0.008	0.14		
$D_6(H-1)$	0.01	0.04	0.03	0.10	
E $S_6(H)$	0.08	0.01	0.08	0.04	0.04

TABLA 5.4

Test de Student para las variables de la
Ecuación (5.2)

Variable	t
e_{0III}	-10.03 (p<0.0005)
e_{0IV}	- 4.12 (p<0.0005)
$D_5(H-2)$	4.85 (p<0.0005)
$E_{S_6(H)}$	6.35 (p<0.0005)
$E_{S_6(H-1)}$	3.01 (p<0.005)
Q_7	2.84 (p≈0.005)

TABLA 5.5

Cuadrados de los coeficientes de correlación
entre las variables de la Ecuación (5.2).

	e_{0III}	e_{0IV}	$D_5(H-2)$	$E_{S_6(H-1)}$	$E_{S_6(H)}$
e_{0IV}	0.04				
$D_5(H-2)$	0.03	0.01			
$E_{S_6(H-1)}$	0.01	0.08	0.34		
$E_{S_6(H)}$	0.07	0.01	0.01	0.05	
Q_7	0.17	0.07	0.04	0.01	0.26

TABLA 5.6

Test de Student para las variables de la
Ecuación (5.3)

Variable	t
^e O _{III}	-8.44 (p<0.0005)
^E S ₆ (H)	6.63 (p<0.0005)
^e O _{IV}	-3.15 (p<0.005)
D ₁₂ (H)	-3.29 (p<0.005)
^E S ₁₀ (H-2)	-2.24 (p<0.025)

TABLA 5.7

Cuadrados de los coeficientes de correlación
entre las variables de la Ecuación (5.3).

	e_{0III}	e_{0IV}	$E_{S_6(H)}$	$E_{S_{10}(H-2)}$
e_{0IV}	0.04			
$E_{S_6(H)}$	0.07	0.01		
$E_{S_{10}(H-2)}$	0.001	0.0002	0.35	
$D_{12}(H)$	0.01	0.23	0.26	0.03

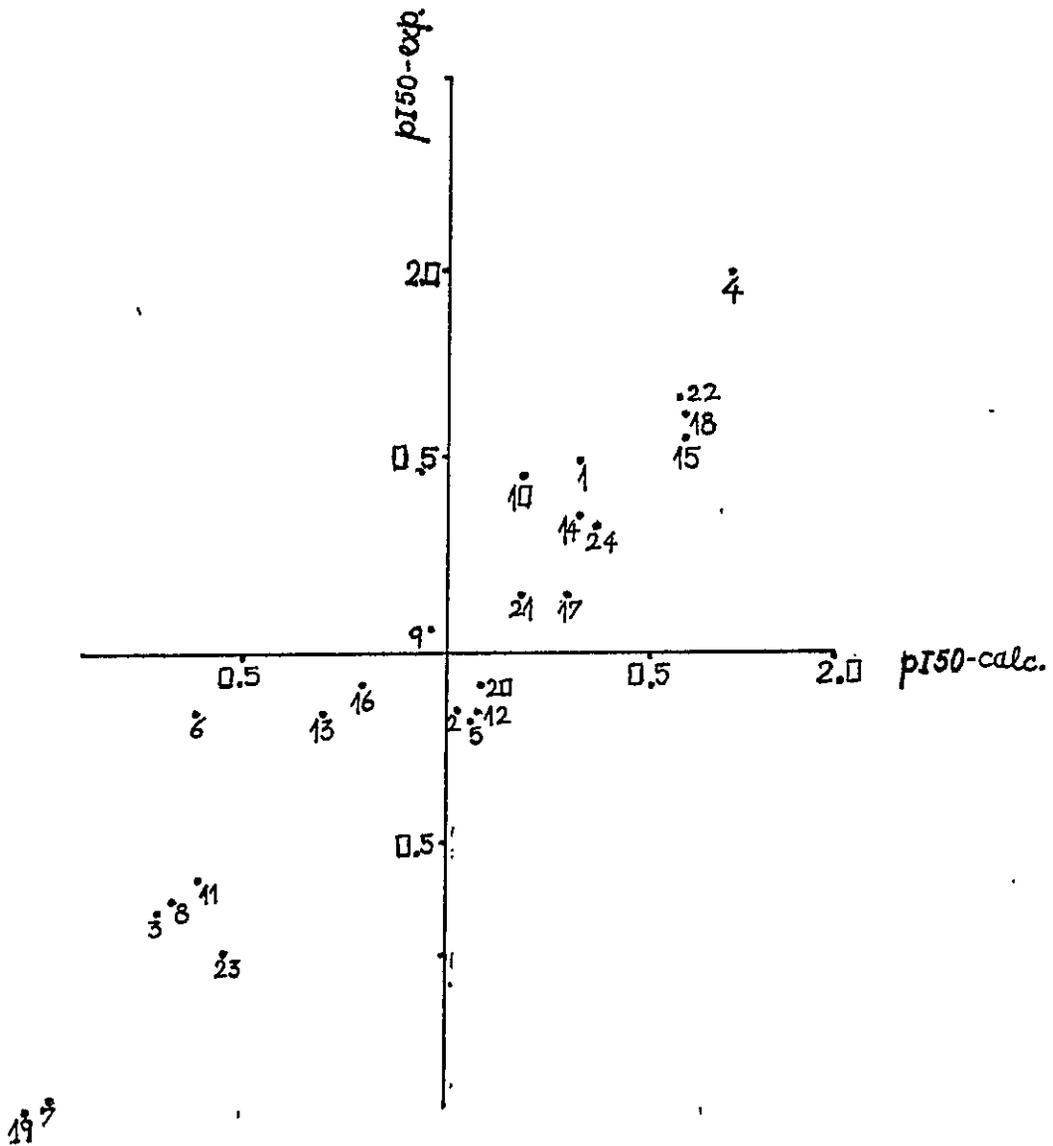
TABLA 5.8
 Valores experimentales y calculados para pl_{50}
 con la ecuación (5.2) para $\epsilon = 5$.

Molécula	pl_{50} Exp. ^a	pl_{50} Calc. ^b
01	1.5376	1.3372
02	0.8539	1.0203
03	0.3279	0.3113
04	2.0000	1.7573
05	0.8239	1.0414
06	0.8539	0.3808
07	-0.2553	-0.0859
08	0.3188	0.3363
09	0.9586	1.0662
10	1.4685	1.1934
11	0.3979	0.6080
12	0.8239	1.0757
13	0.8239	0.7166
14	1.3665	1.3371
15	1.5528	1.6169
16	0.9208	0.8445
17	1.1549	1.2963
18	1.6198	1.6169
19	0.2007	-0.0237
20	0.9208	1.0799
21	1.1427	1.1650
22	1.6990	1.5952
23	0.2366	0.4792
24	1.3188	1.3918

a. Referencias 143, 145 y 148.

b. Según Ec. (5.2)

FIGURA 5.2



pI50exp./pI50calc. con Ec. 5.2

CAPITULO VI.

ANALISIS DE LA INTERACCION DE ALGUNAS APOMORFINAS CON RECEPTORES DOPAMINERGICOS

VI.1) RECEPTORES DOPAMINERGICOS.

Las dos estructuras del sistema nervioso central (SCN) más ricas en dopamina (DA) son el núcleo caudado y el globo pálido. Otros núcleos dopaminérgicos están situados en el hipotálamo; el sistema tuberoinfundibular. En el sistema nervioso autónomo, la DA se encuentra en ciertos ganglios y también está presente en todas las terminaciones simpáticas, sin embargo sólo está presente en concentraciones mínimas en la médula suprarrenal.

La DA reduce la rigidez asociada a trastornos motores extrapiramidales y posee una acción hiperkinética a dosis elevadas. Aunque no hay dudas con respecto al importante rol del sistema dopaminérgico nigroestriado en la función motora, el sistema tuberoinfundibular parece ejercer una función diferente que está relacionada con el control hipotalámico sobre la hipófisis.

El sistema dopaminérgico puede ser modulado farmacológicamente conduciendo a una inhibición o a una estimulación, ya sea en la formación de DA, en su metabolización, en su recaptación por la neurona presináptica y/o su captación o suplantación en los receptores dopaminérgicos postsinápticos.

Con respecto a su metabolización, la DA citoplasmática es destruida por la MAO, mientras que toda la DA

extracelular no fijada a los receptores es metilada por acción de la catecol o-metil transferasa (COMT).

El uso de técnicas de fijación de agonistas o antagonistas marcados con radionúcleos, ha brindado nueva información sobre la farmacología de los receptores dopaminérgicos (RD). Desde 1978 han sido usados dos ligandos en pruebas de fijación, la [³H]-DA (dopamina tritiada) como agonista y [³H]-haloperidol como antagonista /152/. Se ha encontrado que la DA estimula la producción de c-AMP (adenosín monofosfato cíclico) en ciertas áreas neurales, activando la adenilciclase, enzima que cataliza la conversión de ATP en c-AMP /153/. Esto ha permitido reconocer dos tipos de RD relacionados con la actividad de la adenilciclase. Los D₁, ligados a la producción de c-AMP y los D₂ independientes de esta acción. El antagonista haloperidol es relativamente específico para el receptor D₂ a pesar de que se sabe posee una alta afinidad por el receptor σ /154/. Otros agonistas como DA, apomorfina, N-propilapomorfina son reconocidos por los receptores D₁ y D₂. Aunque el enlace de antagonistas al receptor D₂ sigue la ley de acción de masas, el enlace de agonistas es más complejo ya que ambos receptores están en diferentes estados de afinidad por estas moléculas. Posteriormente se demostró que las afinidades de agonistas y antagonistas a receptores D₂ predecían mejor la mayoría de los efectos neuro-bioquímicos dopaminérgicos. Esto dejó transitoriamente al receptor D₁ sin una función clara, y se llegó hasta dudar de

su existencia /155/. En todo caso, hoy en día es claro que muchas de las funciones asociadas a receptores D_2 pueden también ser obtenidas por drogas que actúen sobre receptores D_1 /156/. Aunque esta clasificación D_1/D_2 es todavía la más aceptada, recientes investigaciones ponen de manifiesto que este esquema no es adecuado para explicar algunos resultados experimentales relacionados con la acción de la DA.

Estudios con radioligandos como el antagonista específico de DA, el [3H]-SCH23390 y otros, apoyan la hipótesis de la existencia de un receptor D_1 no acoplado a la actividad de la adenilatociclasa /157-159/. El fallido intento de demostrar una actividad de adenilatociclasa por estimulación dopaminérgica en la amígdala, a pesar de la alta densidad de sitios de enlace marcados por [3H]-SCH23390 es una de las pruebas invocadas /160/. Sin embargo, aunque estudios bioquímicos y electrofisiológicos no se explican por la presencia de un receptor D_1 único, permiten postular la existencia de al menos dos tipos de receptores D_1 , uno ligado a la estimulación de la adenilatociclasa y otro no ligado a esta.

Con respecto al receptor D_2 , su heterogeneidad ha sido demostrada mediante estudios con radioligandos /161-163/. Además existen indicios experimentales de la presencia de otros subtipos D_1 y D_2 en el sistema nervioso periférico /164-166/.

Otros estudios de interacciones de sitios radiomarcados por [3H]-antagonistas y [3H]-agonistas han

servido para reconocer zonas cerebrales donde se ubican posibles receptores dopaminérgicos. Los agonistas radiomarcados han servido para identificar sitios específicos de enlace diferentes de los receptores dopaminérgicos D₁ y D₂ los que han sido denominados D₃ (Ref. 152, pág.261).

VI.2) APOMORFINAS.

Las apomorfinas (AP) son derivados de la morfina con semejanzas estructurales a la DA. Rápidamente luego de su administración intravenosa se producen náuseas y vómitos. Cloruro de AP ha sido administrado via subcutánea en dosis de 70 µg/kg en niños para inducir emésis en casos de envenenamiento agudo. Esta práctica es considerada peligrosa existiendo el riesgo de convulsiones y shock y en general no es recomendada /167/. Por otra parte, AP ha sido administrada satisfactoriamente en inyección subcutánea en dosis de 0,5 a 2 mg a pacientes con mal de Parkinson, observándose una respuesta rápida y que duró de 1 a 2 horas /168/. También ha sido utilizada en el tratamiento del síndrome de abstinencia en alcohólicos (práctica aún utilizada en nuestro país), aunque se han obtenido mejores resultados con mesilato de bromocriptina /169/. Otra aplicación de las AP ha sido en el tratamiento de la esquizofrenia por su relación con la secreción de la hormona del crecimiento (GH) /170,171/. La hipótesis de relación entre la transmisión dopaminérgica y la esquizofrenia /172,173/, ha conducido a un estudio intensivo del rol de la

DA en la secreción de GH debido a que los pacientes que presentan esta enfermedad presentan niveles anormales de esta hormona.

La AP es un potente agonista con una alta actividad intrínseca hacia el receptor D_2 , en contraste con su actividad como agonista parcial en el receptor D_1 . En cultivos de células hipofisarias, las AP inhiben la secreción de GH, lo que indica que el efecto estimulador de las AP no ocurre a nivel de la hipófisis. Estudios clínicos señalan un efecto de las AP sobre receptores dopaminérgicos dentro del eje hipotalámico hipofisario (EHH) que no están ligados a la actividad de la adenilatociclase y que se ubican total o parcialmente fuera de la barrera hematoencefálica /174,175/. La atropina (inhibidor de la ACH) antagoniza la respuesta secretora de la GH a la AP, lo que indica que su efecto requiere la intervención de neuronas colinérgicas /176/. Otros estudios con bloqueadores de esta respuesta, principalmente neurolépticos, indican que los receptores de DA que participan en esta acción son farmacológicamente diferentes de aquellos que median en las funciones extrapiramidales /171/.

Por otra parte, se ha encontrado que la sustitución de la cadena lateral N-metilo de la AP por otros grupos tiene un profundo efecto sobre su afinidad por el receptor dopaminérgico y por ende en su actividad biológica /177/.

En este trabajo se seleccionaron 9 moléculas de la familia de las AP en su forma neutra y protonada en el átomo

de nitrógeno (Figura 6.1). Para ellas se llevó a cabo un análisis de regresión múltiple frente a sus respectivas constantes de afinidad por receptores de DA medidas "in vitro" utilizando [³H]-SCH23390 para receptores D₁, [³H]-espiperona para receptores D₂ y ADTN para sitios agonistas D₁ /178/. La SCH-23390 es una benzazepina que ha mostrado ser un antagonista selectivo del receptor D₁, y cuya afinidad por receptores D₂ es más de 100 veces menor /179,180/. Actualmente es el radioligando óptimo para receptores D₁. La espiperona es una butirofenona que tiene una alta afinidad por receptores D₂, siendo muy utilizada por su selectividad D₂ >> D₁ siendo el mejor antagonista selectivo de estos receptores, aunque también presenta alta afinidad por receptores serotoninérgicos que deben ser enmascarados por bloqueadores específicos para lograr una buena marcación de receptores D₂ /181/. El ADTN es un agonista de receptores D₁ de selectividad relativa igual a la AP.

Las moléculas escogidas junto a sus constantes de afinidad aparecen listadas en la Tabla 6.1.

VI.3) RESULTADOS Y DISCUSION.

Las únicas ecuaciones que fueron significativas estadísticamente se refieren a la forma protonada de las moléculas escogidas interactuando con receptores D₁. Las ecuaciones obtenidas para la forma neutra tuvieron índices muy poco significativos por lo que fueron desechadas. Igual hecho ocurrió con aquellas deducidas para la interacción con

receptores D_2 y con sitios agonistas, tanto en forma protonada como neutra.

01) Para una interacción en el vacío ($\epsilon = 1$).

Se obtuvo:

$$\log K_i = -1,6435 - 325,5289 S_9^E(H-1) - 14,0638 S_{16}^N(L+2) \quad (6.1)$$

con $R = 0,86$ y $SD = 0,18$ presentando una significancia de aproximadamente un 65 %. La varianza $F(2,3) = 5,52$ ($p < 0,1$), la que está mostrando una probabilidad relativamente grande de encontrar la ecuación por azar. Los resultados del test de Student para las variables de la ecuación (6.1) se presentan en la Tabla 6.2. El cuadrado del coeficiente de correlación interna entre las variables fue de 0,001. Los valores de los índices estadísticos para esta ecuación muestran que la ecuación es poco significativa para predecir valores de la constante de afinidad para las AP en su interacción con receptores D_1 .

02) Para una interacción en un medio poco polar ($\epsilon = 5$).

$$\log K_i = 90.8623 + 65.4487 S_5^E(H-1) \quad (6.2)$$

con $R = 0.88$ y $SD = 0.14$ lo que indica una significancia de aproximadamente un 77 %. La varianza es $F(1,3) = 17.58$ ($p < 0.0025$) y el valor t para la variable fue de 4.19 con ($p < 0.005$). Esta ecuación se perfila como bastante más significativa que la anterior. Los valores predichos de K para esta ecuación se presentan en la Tabla 6.3 y en la Figura 6.2 se grafican los valores experimentales frente a los calculados.

03) Interacción con alta polaridad del medio ($\epsilon = 30$).

Se obtuvo:

$$\log K_i = -916.8149 + 2012.4545B_{12} \quad (6.3)$$

con $R = 0.87$ y $SD = 0.15$ lo que representa una significatividad de aproximadamente un 65 %. La varianza $F(1,3) = 15.29$ ($p < 0.05$) y el valor t de la variable fue de 3.91 ($p < 0.01$). Los índices muestran a esta ecuación como mejor que la primera pero menos significativa que la segunda que resultó ser la mejor.

Las ecuaciones más significativas fueron aquellas para la forma protonada y de esas la mejor fue para una interacción en un medio de baja polaridad. Recordemos que un valor pequeño para K_i representa una alta asociación de la droga con el receptor, según:

$$K_i = \frac{[D][R]}{[DR]}$$

En la ecuación 6.2 se observa que un valor pequeño para K_i se obtendría con un valor bajo de la $S_5^E(H-1)$, lo que indicaría una fuerte transferencia de carga a través del OM (H-1) del átomo 5. Esto concuerda con publicaciones respecto a que la región crítica de la AP en la interacción está en el anillo hidroxilado /183/. Siendo así, no aparecerían como significativos los PO de sustituyentes en el átomo de N en la ecuación. Sin embargo, observando los valores de K_i en la Tabla 6.1, sus variaciones indican sin duda que la sustitución en el átomo de N influyen en el valor de la constante. Se aprecia en la tabla que al aumentar la

polaridad del sustituyente disminuye la cantidad de complejo formado, lo que supone que en el sitio receptor existiría una región hidrofóbica que interaccionaría con el sustituyente facilitando la formación de complejo droga-receptor en los casos de sustituyentes apolares, considerando que a pH fisiológico estas moléculas existirían en forma protonada.

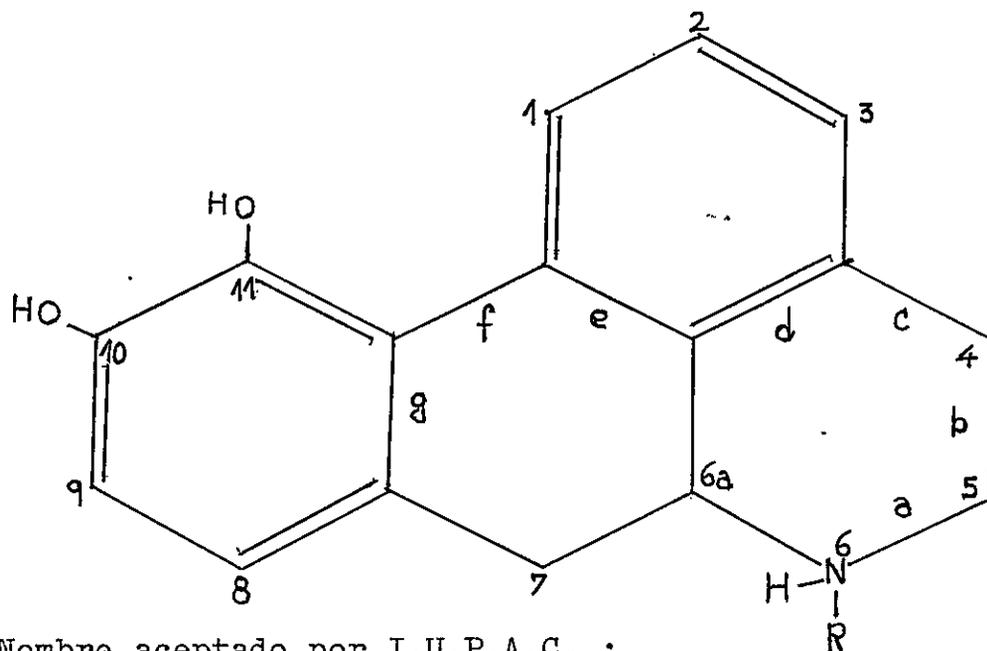
Con respecto a si la AP es agonista para sitios D_1 o D_2 existen referencias avalando ambos casos /179,182/, por lo que es necesario explicar la no obtención de buenas ecuaciones para la interacción de las AP con el receptor D_2 . Una primera explicación es que los valores de afinidad registrados no correspondan a la interacción AP- D_2 . Ello puede deberse a dos causas como:

a. El ligando utilizado tiene afinidad por otras estructuras. Acotaremos al respecto que el haloperidol, que tiene una alta afinidad y selectividad por los receptores D_2 , tiene una afinidad más alta por los receptores sigma, hecho de reciente descubrimiento /154/.

b. Los receptores D_2 pueden unirse a las AP en estados conformacionales de distinta afinidad.

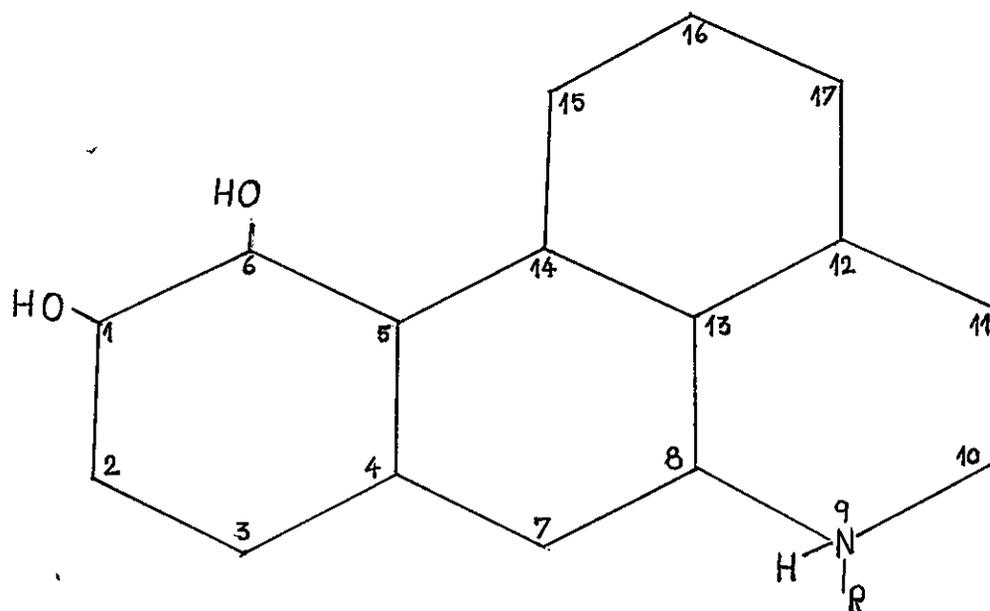
c. Hay más de un tipo de receptor D_2 por los cuales las AP tienen distinta afinidad.

FIGURA 6.1



Nombre aceptado por I.U.P.A.C. :

10,11-Dihidroxi-5,6,6a,7-tetrahidro-4H-dibenzo [d,e:g]quinolina.



Numeración utilizada en el cálculo CNDO/2.

TABLA 6.1
 APOMORFINAS ESCOGIDAS JUNTO A SUS CONSTANTES DE
 AFINIDAD (nM) POR RECEPTORES D₁, D₂ Y SITIOS AGONISTAS.

Molécula	N-R	log K _{D1}	log K _{D2}	log K _A
1.	H	2.5911	3.0755	0.9912
2.	Me	2.3802	1.0453	0.5682
3.	Et	2.0934	-0.6576	-0.6383
4.	n-Pr	2.5315	-0.0969	0.1761
5.	i-Pr	>10000	2.9518	2.2989
6.	i-Bu	>10000	2.6902	2.5623
7.	cicl-PrMe	2.8633	-0.3665	1.1303
8.	CH ₂ CH=CH ₂	2.7889	-0.6198	0.6232
9.	CH ₂ CH ₂ OH	>10000	3.1644	1.1106

a. Referencia 179.

TABLA 6.2

Test de Student para las variables de la
Ecuación (6.1).

Variable	t
E S ₉ (H-1)	-2.79 p < 0.05
N S ₁₆ (L+2)	-1.90 p < 0.1

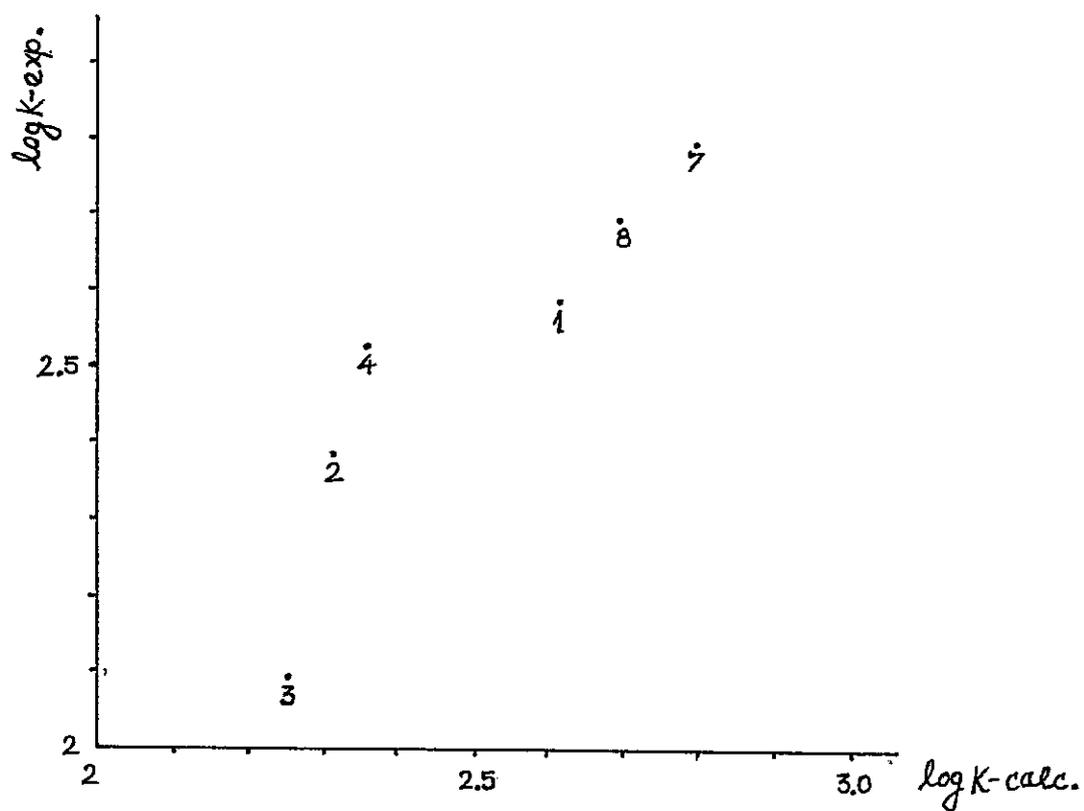
TABLA 6.3

VALORES EXPERIMENTALES Y CALCULADOS DE LA CONSTANTE
DE AFINIDAD DE LAS AP HACIA RECEPTORES D₁ (E=1).

Molécula:	log K Exp. ^a	log K Calc. ^b	log K Calc. ^c	log K Calc. ^d
1.	2.5911	2.4588	2.6207	2.6518
2.	2.3802	2.3204	2.3380	2.3444
3.	2.0934	2.3599	2.2659	2.1542
4.	2.5315	2.4223	2.3612	2.4506
7.	2.8633	2.8879	2.8926	2.8896
8.	2.7889	2.7994	2.7698	2.7579

a. Ref.179 b. Ecuación 6.1 c. Ecuación 6.2 d. Ecuación 6.3

FIGURA 6.2



log Kexp./log Kcalc.con Ec. 6.2

CONCLUSIONES GENERALES.

En este trabajo se ha obtenido un conjunto de valores estándares que describen la influencia del sustituyente sobre el porcentaje de moléculas que alcanzan la orientación correcta para interactuar con el receptor. Las aplicaciones de este conjunto muestran más allá de toda duda razonable su utilidad. El hecho de que en uno de los estudios llevados a cabo en esta Tesis (Apomorfina, Cap. VI), las ecuaciones obtenidas no incluyeran parámetros orientacionales a pesar de que los sustituyentes seleccionados son de gran tamaño y libertad conformacional, indica que su aparición en determinadas ecuaciones no corresponde a un artefacto de cálculo.

Es necesario hacer algunos comentarios sobre las aproximaciones empleadas en la obtención de este conjunto de Parámetros Orientacionales.

1. La estequiometría considerada en el formalismo es de 1:1. Es claro que cualquier otra estequiometría habría tenido como único resultado la aparición de constantes.

2. Cancelación de las funciones de partición traslacional del receptor y del complejo droga-receptor. Ello es razonable, no solo debido a que el tamaño del receptor (macromolécula) hará que una droga unida a él no haga variar mucho la masa total, sino también al hecho de que el receptor está asociado a estructuras macromoleculares rígidas. Por ello se espera que las velocidades

traslacionales de estos sistemas sean nulas o muy cercanas a cero. Lo mismo puede ser dicho para la función de partición rotacional.

3. La consideración de que la función de partición vibracional es aproximadamente igual a 1, está en acuerdo con los resultados experimentales /80/.

4. El tratamiento clásico de la función de partición rotacional está en acuerdo con las relativamente altas temperaturas de los sistemas biológicos.

5. La expansión en serie (2.36) es crucial en la obtención de este conjunto de parámetros. Allí hemos hecho dos suposiciones:

5.1. La contribución del sustituyente a cada una de las componentes de los momentos de inercia en torno a los ejes principales de rotación es menor que la contribución respectiva del esqueleto común. Esto hace necesario que en las aplicaciones específicas del método se tomen las precauciones para que ello ocurra.

5.2. La consideración de sólo el primer término de la serie 2.36. Ello exige que la serie converja rápidamente, lo que es coherente con el punto 5.1.

6. La no inclusión de algunos términos de la Ec. 2.68. Como ya hemos dicho anteriormente, ello es necesario a fin de obtener un término invariante ante la rotación que unifique los sistemas coordinados de cada molécula. No se realizó un estudio cuantitativo de dichos términos, y la justificación de esta aproximación yace por el momento en

lós resultados obtenidos.

Se mencionó que estos estudios consideran la interacción del receptor con un esqueleto común. Puede darse el caso, no habiendo ninguna razón para no considerarlo, de que algún sustituyente interactuara directamente con el receptor. Este hecho conllevaría la necesidad de modificar la expresión para la energía de interacción sin afectar los valores del conjunto de parámetros. Esta posible interacción podría quizás ser la fuente de algunos resultados tales como los de las apomorfina y los opiáceos /74/.

Por otro lado, nos parece que la interpretación propuesta para estos parámetros es correcta, ya que en el medio en que ocurre la interacción existe una conversión de energía rotacional a traslacional, proceso en el cual la conformación del sustituyente debe tener ciertamente alguna influencia /183/.

También hay que mencionar que el formalismo desarrollado supone implícitamente la existencia de un sustituyente por molécula. Se puede demostrar que si hubiese más de uno, ellos podrían haber sido tratados como un todo en las ecuaciones 2.34 a 2.36, pudiéndose desacoplar su efecto en la ecuación 2.62. Eso sí, hay que tomar en cuenta la restricción mencionada en el punto 5.1.

Está claro que en la práctica, en una población de moléculas idénticas un determinado sustituyente puede adoptar una o varias conformaciones de acuerdo a la temperatura. Si la distribución de conformaciones es

discreta, un posible refinamiento de este conjunto de valores consistiría en una ponderación porcentual de los diversos valores del PO para cada una de las conformaciones a una temperatura dada.

El valor mismo del PO está influenciado por el número de átomos del sustituyente, su masa y su distribución espacial, por lo que se pueden dar diversas combinaciones. Desde el punto de vista clásico, si consideramos dos moléculas inmersas en el mismo medio y que difieren sólo en el valor del PO, es claro que si hay cambios en la velocidad rotacional debido a choques con otras moléculas, aquella molécula que tiene el sustituyente con mayor PO será menos afectada.

La importancia biológica de los sistemas a los cuales se ha aplicado este método está clara. Los resultados obtenidos son una contribución al mejor conocimiento de la forma en que dichas especies interaccionan con sus sitios receptores. Es interesante el hecho de que en las apomorfinas y β -carbolinas, las mejores ecuaciones sean aquellas que corresponden a un medio poco polarizable, hecho concordante con estimaciones de la permitividad en proteínas /105/.

También es importante que en el caso de las apomorfinas, las mejores ecuaciones hayan sido obtenidas para la forma protonada, lo que también concuerda con datos experimentales /184/.

Finalmente, de este estudio emerge la necesidad de dividir el llamado "efecto estérico" en dos tipos:

1. "Efectos orientacionales", que serían aquellos que ocurren a distancias en donde el recubrimiento de las distribuciones de carga de las moléculas interactuantes puede ser despreciado. En esta región las fuerzas determinantes son de naturaleza electrostática, con el agregado de que la molécula de droga será afectada por interacciones de corto alcance con el medio.

2. El "Efecto estérico" propiamente tal, que aparece en la zona donde se forma el complejo droga-receptor. Sin entrar en un análisis detallado, este efecto puede ser considerado de naturaleza eminentemente electrónica y relacionado a la complementariedad de las distribuciones de carga. Si en esta etapa el sustituyente tuviese alguna influencia sobre el efecto estérico, ella sería debida a la presencia o ausencia en él de una densidad de carga complementaria a la del receptor, o a una influencia sobre la distribución de la densidad electrónica del esqueleto común. Este efecto influirá en la distancia de equilibrio y en la forma del potencial intermolecular.

APENDICE I.
EFECTO DEL SOLVENTE.

Considerando que la molécula de droga en su desplazamiento hacia el receptor lo hace disuelta en un medio líquido, la solvatación de la molécula va a generar una energía adicional que debe ser considerada, producto de su interacción con el solvente. Esta energía debe incluirse en la formulación del operador H en el esquema SCF, por lo que un correcto tratamiento de ella conduciría a índices de reactividad de mejor calidad.

I.1) EFECTO DIELECTRICO Y SOLVATACION.

El solvente actúa como una barrera entre las partículas de soluto, debilitando las fuerzas que las mantienen unidas. Clásicamente, si se consideran dos iones de carga Z^+ y Z^- , la fuerza de atracción viene dada por la ley de Coulomb :

$$f(r) = \frac{e^2 Z^+ Z^-}{(\epsilon/\epsilon_0) 4\pi\epsilon_0 r^2} \quad (I.1)$$

donde r es la distancia de separación entre los iones, ϵ_0 es la constante de permitividad del vacío, ϵ es una constante característica de cada medio y para cada temperatura que se denomina permitividad del medio y (ϵ/ϵ_0) es lo que tradicionalmente se ha llamado constante dieléctrica y representa la disminución de las fuerzas de atracción entre

las cargas motivada por la presencia del medio. En el electromagnetismo clásico un cuerpo no conductor, o dieléctrico, que disminuye la fuerza de interacción entre dos cargas, se dice que ejerce un efecto dieléctrico.

Otro aspecto importante de destacar en torno al solvente es la tendencia de las moléculas de este a interactuar con, o solvatar, las partículas de soluto. Existen pruebas de que las partículas de soluto en solución acuosa están asociadas con las moléculas de agua, por lo que se dice que están solvatadas o hidratadas. Estas asociaciones pueden ser con diferente número de moléculas de agua y tienen lugar con diferentes energías, y además las especies solvatadas subsisten durante muy variados períodos de tiempo. Las moléculas de agua pueden considerarse como dipolos que se disponen alrededor de las partículas de soluto. Interrogantes tales como cuántas moléculas de agua rodean inmediatamente la partícula de soluto en la que se denomina primera capa de solvatación, y como la afectan en su reactividad, están aún en estudio.

I.2) MODELOS DEL EFECTO DE SOLVENTE.

Existen tres modelos para tratar este efecto. El primero denominado modelo de continuo /185-187/, considera al soluto localizado en una cavidad inmersa en un medio dieléctrico polarizable continuo sin estructura definida. Las interacciones soluto-solvente son tratadas por medio de la teoría del campo de reacción /188/, para luego ser

incluida en el formalismo mecano-cuántico escogido. El segundo es el modelo de super-molécula, en el cual el medio es representado explícitamente por un número finito de moléculas de solvente /189/. El tercero es una combinación de los dos primeros, y se le denomina el modelo de continuo-supermolécula /190/. En este apartado se presentará el modelo de continuo, ya que produce buenos valores de energía de solvatación además de su relativamente simple formulación matemática y aplicaciones /191/.

Los modelos de continuo se basan en que a grandes distancias de separación entre soluto y solvente, es posible reemplazar las sumas de interacciones moleculares sobre las moléculas de solvente por integrales. Además es posible la incorporación de efectos de temperatura /192/. El problema fue tratado por primera vez por M. Born /185/, quién consideró una carga puntual localizada en el centro de una cavidad esférica rodeada por un medio continuo caracterizado por la constante dieléctrica del solvente. Este modelo ha sido perfeccionado en tres aspectos. Primero fue considerada la interacción del medio solvente con momentos eléctricos de mayor orden. Dentro de este esquema se encuentra el modelo de Osanger /186/, en el cual la molécula de soluto es representada por un dipolo permanente y el solvente por un conjunto de dipolos permanentes. También está el modelo de Kirkwood /187/, quién utiliza la expansión multipolar para la distribución de carga dentro de la cavidad ocupada por la carga puntual de soluto. Un segundo nivel de afinamiento se

produjo al considerar la forma de la cavidad, debido a que los modelos de cavidad esférica están restringidos a sistemas que posean la misma simetría. Esto condujo al estudio de cavidades esferoidales conteniendo un conjunto de cargas sujetas a polarización dipolar /193/. Luego, además de incluir la energía dipolar /194-196/, fueron consideradas cavidades con otras geometrías /197-200/. La tercera mejora fue introducida al considerar efectos dieléctricos no lineales /201/, ya que en las vecindades de un ión existen múltiples campos eléctricos no homogéneos provenientes del movimiento de moléculas de solvente. Esto fue tratado modificando la ecuación de Born al introducir funciones matemáticas en las cuales la permitividad dieléctrica del medio varía con la distancia /202-206/. Concretamente, la forma más simple de considerar estos efectos es la representación del medio como un continuo dividido en cavidades esféricas concéntricas caracterizadas por diferentes constantes dieléctricas /207-209/. Recientemente ha sido propuesto un formalismo químico-cuántico dentro del esquema SCF que incluye efectos dieléctricos locales según la partición de Beveridge y Schnuelle /207/, el cual ha presentado buenos resultados para las energías de solvatación de Li^+ , Na^+ y F^- en solución acuosa /210-211/.

1.3) TRATAMIENTO QUIMICO-CUANTICO DEL EFECTO DEL SOLVENTE.

La consideración de la energía de solvatación influirá en la formulación del operador de Fock efectivo utilizado en el esquema SCF. Esto es particularmente importante cuando el soluto es una molécula o un ión molecular. Lo usual es tomar una generalización de la fórmula de Born :

$$E_{\text{solv}} = - \frac{1}{2} \left[1 - \frac{1}{\epsilon} \right] \frac{Q_0^2}{a} \quad (1.2)$$

donde $\epsilon = \epsilon_m/\epsilon_0$, con ϵ_m la constante dieléctrica del medio y ϵ_0 la constante dieléctrica del soluto aislado. Q_0 es la carga neta de la cavidad esférica ocupada por el soluto y a el radio de la esfera. Se supone que la energía de solvatación se genera a partir de una suma de contribuciones atómicas más contribuciones de interacción interatómicas. Luego, a partir de la ecuación 1.2, que vale para un ión monoatómico, se generaliza a moléculas. Sea $E(1,P)$ la energía total del soluto aislado calculada mediante un tratamiento SCF. La energía total de este sistema en solución $E(\epsilon,P)$ se escribe en función de la constante dieléctrica del medio y de P , la matriz de población de Mulliken :

$$E(\epsilon,P) = E(1,P) + E_S(\epsilon,P) \quad (1.3)$$

El operador de Fock para el soluto representa el potencial promedio actuante sobre cada electrón del soluto solvatado y se trata como una suma de potenciales tipo estándar, $F(1,P)$

para el soluto aislado y el potencial del campo de reacción $V_R(\epsilon)$ debido al solvente. Este último proviene de considerar la polarización del medio inducida por la presencia del soluto. Esto genera una distribución de cargas de polarización en el solvente, que pueden determinarse a partir del potencial electrostático $V(\epsilon)$ producido por el ión solvatado :

$$V(\epsilon) = \frac{Q_0}{a \epsilon} \quad (1.4)$$

Este potencial puede suponerse proveniente de la interacción entre las cargas del soluto Q_0 y de polarización $Q^{pol}(\epsilon)$ en el vacío :

$$V(\epsilon) = \frac{Q_0 + Q^{pol}(\epsilon)}{a} \quad (1.5)$$

De estas dos últimas ecuaciones se obtiene una expresión para la carga de polarización :

$$Q^{pol}(\epsilon) = - \left[1 - \frac{1}{\epsilon} \right] Q_0 \quad (1.6)$$

El potencial del campo de reacción viene dado por /212/ como:

$$V_R(\epsilon) = \frac{Q^{pol}}{a} = - \left[1 - \frac{1}{\epsilon} \right] \frac{Q_0}{a} \quad (1.7)$$

Entonces el operador $F(E,P)$:

$$F(E,P) = - \frac{d E(E,P)}{d Q_A} = - \left[\frac{d E(1,P)}{d Q_A} + \frac{d E_S(E,P)}{d Q_A} \right] \quad (1.8)$$

$$F(E,P) = F(1,P) + V_R(E,P) \quad (1.9)$$

En el caso de un soluto molecular es válida la ecuación (1.8) si la carga neta del ión Q_A es reemplazada por la carga neta de cada átomo $Q_A(P)$ en su estado de valencia. La energía de solvatación se escribe como :

$$E_S(E) = \varphi Q_A V_R(E) = - \varphi \left[1 - \frac{1}{\epsilon} \right] \frac{Q_A^2}{a} \quad (1.10)$$

donde φ es un parámetro que transforma $E_S(E)$ en la energía de interacción soluto-solvente ($\varphi=1$), o en la energía libre de solvatación ($\varphi=1/2$) /213/. Combinando ecuaciones (1.3) y (1.10) se llega a :

$$- \frac{d E_S(E)}{d Q_A} = - 2 \varphi \left[1 - \frac{1}{\epsilon} \right] \frac{Q_A}{a} = 2 \varphi V_R(E) \quad (1.11)$$

Se aprecia que la corrección al operador de Fock en (1.8) corresponde al potencial del campo de reacción cuando $\varphi=1/2$. O sea, se obtiene un operador de Fock adecuado cuando se toma en cuenta la energía de polarización del solvente. La utilización de esta expresión como corrección al operador de Fock ha conducido a buenas concordancias con resultados experimentales /211/.

La partición del solvente en regiones caracterizadas por distintos valores de permitividad dieléctrica ha constituido una forma simple y efectiva de modelar el efecto del solvente. Conceptualmente la energía de solvatación en este esquema se considera como el trabajo reversible necesario para transferir isotérmicamente un conjunto de cargas no polarizables desde el vacío a las cavidades polarizables del solvente. El proceso de inserción induce una polarización del medio que se contrapone al soluto generando un potencial de reacción $V_R(\epsilon)$. Por ejemplo para soluciones acuosas, se acepta la existencia de tres zonas principales para el solvente. La primera corresponde a la primera capa de solvatación en la cual las moléculas de agua están perfectamente orientadas, lo cual disminuye fuertemente la permitividad del medio. Esta capa tiene un grosor aproximado de un diámetro molecular. La segunda capa tiene un grosor de uno a tres diámetros moleculares, y aquí la constante dieléctrica aumenta bruscamente hasta su valor macroscópico. La tercera capa es la zona que corresponde a todo el resto de solvente que rodea la segunda capa. La incorporación de este modelo a formalismos mecanico-cuánticos constituye una manera fácil de tomar en cuenta el efecto del solvente, especialmente para moléculas grandes. Sin embargo, cuando el tamaño molecular aumenta, existe un incremento en la energía de cavitación y por ende en las desviaciones de los valores experimentales. Para evaluar esta contribución se pueden emplear cálculos de Monte-Carlo

/214/, la teoría de las partículas a escala (Scaled Particle Theory) /215/ o mediciones de tensión superficial /216-217/. Por otro lado, los modelos de continuo son válidos sólo cuando están presentes fuerzas de Coulomb. Si además deben considerarse interacciones de corto alcance un mejor modelo combina el de continuo con el de supermolécula.

En el cálculo de los índices de reactividad para la molécula en estudio se especifica en los datos de entrada el valor de ϵ para el medio. Usualmente se realizan estos con valores de 1, 5 y 30 como se ha hecho en este trabajo, representando el vacío, un medio débilmente polar y un medio de polaridad media, respectivamente.

APENDICE II. METODO CNDO/2.

Por razones de extensión se supondrá que el lector posee conocimiento de elementos básicos de química-cuántica. De no ser así ver la referencia 218.

II.1) ECUACIONES BASICAS.

1.- La aproximación ZDO (Recubrimiento Diferencial Nulo) se emplea para todos los productos de orbitales de dos centros en las integrales de recubrimiento y bielectrónicas.

$$S_{\mu A \nu B} = \delta_{\mu \nu} \delta_{AB}$$

y

$$(\mu_A \nu_B | C \sigma D) = (\mu_A \mu_A | \lambda C \lambda D) \delta_{AB} \delta_{CD} \delta_{\mu \nu} \delta_{\lambda \sigma}$$

En este método todas las integrales de tres y cuatro centros bielectrónicas se aproximan a cero, y de las restantes mono y bicéntricas bielectrónicas se retienen sólo las de Coulomb, $(\mu_A \mu_A | \mu_A \mu_A)$ y $(\mu_A \mu_A | \nu_B \nu_B)$.

2.- De aquellas integrales bicéntricas bielectrónicas que no se anulan por virtud de la aproximación ZDO, son independientes del tipo de orbital

$$(\mu_A \mu_A | \mu_A \mu_A) = \Gamma_{AA}$$

$$(\mu_A \mu_A | \mu_B \mu_B) = \Gamma_{AB}$$

donde la integral Γ dependerá solamente de la naturaleza de los átomos.

3.- La aproximación ZDO es adoptada para las integrales $(\mu_A | \nu_B | \nu_A)$ que contribuyen a los elementos de matriz $H^C_{\mu A \nu A}$ del Hamiltoniano nuclear. Estas son independientes del tipo

de orbital atómico.

4.- Los elementos de matriz del Hamiltoniano nuclear $H^C_{\mu\nu AB}$ ($A=B$) son iguales a $\beta_{\mu\nu AB}$, donde las β son parámetros empíricos.

Los elementos de matriz para el operador de Hartree-Fock son :

$$F_{\mu A \mu A} = U_{\mu A \mu A} + P_{AA} \Gamma_{AA} - 1/2 P_{\mu A \mu A} \Gamma_{AA} + \sum_{B=A} (P_{BB} \Gamma_{AB} - V_{AB})$$

$$F_{\mu A \nu A} = U_{\mu A \nu A} - 1/2 P_{\mu A \nu A} \Gamma_{AA} \quad \text{para } \mu = \nu$$

$$F_{\mu A \nu B} = \beta_{\mu A \nu B} - 1/2 P_{\mu A \nu B} \Gamma_{AB} \quad \text{para } A = B$$

Si los orbitales base corresponden a orbitales no hibridados entonces $U_{\mu A \nu A} = 0$. Los elementos de matriz contienen las siguientes cantidades a calcular $U_{\mu A \mu A}$, $\beta_{\mu A \nu B}$, Γ_{AA} , Γ_{AB} y V_{AB} .

11.2) PARAMETRIZACION.

Cada método semi-empírico dentro del esquema SCF puede caracterizarse mediante las siguientes cantidades :

- A) La base de orbitales atómicos.
- B) La determinación de los parámetros $U_{\mu A \mu A}$.
- C) La determinación de integrales monocéntricas bielectrónicas.
- D) El cálculo o aproximación para las integrales de Coulomb bielectrónicas Γ_{AB} .
- E) El cálculo o aproximación de las integrales de resonancia $\beta_{\mu A \nu B}$.

F) La aproximación de la energía de repulsión nuclear C_{AB} .

En el caso del método CNDO/2 :

A) La base de orbitales atómicos consiste en orbitales de Slater. Con la excepción del átomo de H cuya carga nuclear efectiva se supone 1.2 en vez de 1.0.

B) Los parámetros atómicos $U_{\mu A \mu A}$ para orbitales 2s y 2p se determinan utilizando potenciales de ionización y afinidades electrónicas. Aquellos para 3s3s, 3p3p y 3d3d para átomos desde Na hasta el Cl, se determinan similarmente /218,219/.

C) Las integrales monocéntricas

$$\Gamma_{AA} = (\varphi_A^s \varphi_A^s | \varphi_A^s \varphi_A^s)$$

donde φ_A denota el orbital ns del átomo A definido según la base de orbitales atómicos, se calculan según fórmulas analíticas dadas en /220/.

D) Las integrales bicéntricas bielectrónicas Γ_{AB} se calculan teóricamente según /220/.

E) Para elementos del primer período Pople ha deducido constantes numéricas por optimización entre energías de orbitales CNDO y aquellas obtenidas mediante cálculos ab initio. Para elementos del segundo período estas integrales han sido determinadas utilizando el correspondiente parámetro β_C^0 para el carbono y suponiendo que :

$$\beta_A^0 = \beta_C^0 \frac{U_{3s3s}(A) + U_{3p3p}(A)}{U_{2s2s}(C) + U_{2p2p}(C)}$$

F) La repulsión internuclear es aproximada como la repulsión de Coulomb para cargas puntuales.

Además, en el método CNDO/2 el parámetro V_{AB} se aproxima según el esquema de Goeppert-Mayer-Sklar, el cual permite expresar las integrales $(\mu_A | V_B | \nu_A)$ en términos de integrales bielectrónicas conocidas. Se supone además que los orbitales involucrados son los orbitales n_s de la capa de valencia del átomo B,

$$(\mu_A | V_B | \nu_A) = Z_B (\mu_A \mu_A | \epsilon_B \epsilon_B) \xi_{\mu\nu} = Z_B \Gamma_{AB} \xi_{\mu\nu},$$

con Z_B representando la carga del "core" del átomo B.

REFERENCIAS.

1. R.Franke: Theoretical Drug Design Methods. W.Th.Nauta y R.F.Rekker Eds.Elsevier,Amsterdam, 1984. p.12
2. E.J.Ariëns: Drug Design, Vol.1, Academic Press, New York, 1971, p.1
3. A.Korolkovas: Essentials of Molecular Pharmacology. Wiley, New York, 1970
4. C.Hansch: Structure Activity Relationships. C.J.Cavallito Ed., Pergamon, Oxford,1971.
5. R.Franke y P.Oehme: Quantitative Structure Analysis, Akademie-Verlag, Berlin, 1978.
6. J.K.Seydel: Strategy in drug design, J.A.Keverling, Ed., Elsevier ,Amsterdam, 1982. p.179
7. E.J.Ariëns, A.J.Beld, J.F.Rodrigues de Miranda y A.M.Simonis: The receptors: a comprehensive treatise, R.D.O'Brien, Ed., Plenum Press, New York, 1980. p.34
8. G.A. van Os, A.M.Simonis y E.J.Ariëns en: Medicinal Chemistry, E.J.Ariens, Ed., Academic Press, New York 1964, p.7
9. E.J.Ariëns y A.M.Simonis: Medicinal Chemistry, E.J.Ariens, Ed., Academic Press, New York, 1964. p.179
10. H.Weinstein, S.Maayani, S.Srebrenik, S.Cohen y M.Sokolovsky: Mol.Pharmacol. 9, 820 (1973).
11. H.Weinstein, S.Srebrenik, R.Pauncz, S, Maayani, S.Cohen y M.Sokolovsky: Chemical and Biochemical Reactivity. E.Bergmann y B.Pullman, Eds., D.Reidl, Dordrecht, 1974. p. 493
12. W.P.Purcell, G.E.Bass y J.M.Clayton: Strategy of Drug Design. Wiley, New York, 1973.
13. J.E.Leffler y E.Grunwald: Rates and Equilibria of Organic Reactions. Wiley, New York, 1963.
14. C.Tanford: The Hydrophobic Effect:formation of micelles and biological membranes, Wiley Interscience, New York, 1980. p.1-4
15. Y.C.Martin: Quantitative Drug Design, Marcel Dekker, New York, 1978. p.49
16. Van Nostrand's Scientific Encyclopedia, D.Van Nostrand, New

York, 1958.

17. G.W.Castellan: Physical Chemistry, Addison-Wesley, New York, 1967.
18. R.W.Taft: Steric Effects in Organic Chemistry, M.S.Newman Ed., Wiley, New York, 1956.
19. L.P.Hammett: J.Am.Chem.Soc., 59, 66 (1937)
20. L.P.Hammett: Trans.Farad.Soc., 34, 156 (1938)
21. C.K.Hancock, E.A.Meyers y B.J.Yager: J.Am.Chem.Soc., 83, 4211 (1961)
22. C.K.Hancock y C.P.Falls: J.Am.Chem.Soc., 83, 4214 (1961)
23. C.K.Hancock: J.Org.Chem., 30, 1174 (1965)
24. C.K.Hancock: J.Org.Chem., 38, 4239 (1973)
25. H.Mager, P.P.Mager y A.Barth: Tetrahedron 35, 1953 (1979)
26. G.Van den Berg, T.Bultsma, R.F.Rekker y W.Th.Nauta : Eur.J.Med.Chem. 10,242 (1975)
27. J.A.MacPhee, A.Panaye y J.E.Dubois : Tetrahedron 34, 3553 (1978)
28. J.E.Dubois, J.A.MacPhee y A.Panaye: Tetrahedron Lett. 4099 (1978)
29. J.A.MacPhee, A.Panaye y J.E.Dubois: J.Org.Chem., 45, 1164 (1980)
30. S.H.Unger y C.Hansch: Progr.Phys.Org.Chem., 12, 91 (1976)
31. E.Kutter y C.Hansch : J.Med.Chem., 12, 647 (1969)
32. E.Kutter y C.Hansch : Arch.Biochem.Biophys., 135, 126 (1969)
33. R.Fujita, C.Takayama y M.Nakajima: J.Org.Chem., 38, 1653 (1973)
34. M.A.H.Fahmy, T.R.Fukuto, R.L.Metcalf y R.L.Holmstedt: J.Agr.Food Chem., 21, 585 (1973)
35. M.Charton : J.Am.Chem.Soc., 91, 615 (1969)
36. M.Charton : J.Am.Chem.Soc., 97, 1552 (1975)
37. M.Charton : Design of Biopharmaceutical Properties through Prodrugs and Analogs, E.B.Rocke, Ed., American Pharmaceutical

- Association, Washington D.C., 1977, p.228.
38. M.Charton : Progr.Org.Chem., 8, 235 (1971)
 39. J.K.Seydel y K.J.Schaper: Chemische Struktur und biologische Aktivitat von Wirkstoffen, Verlag Chemie, Weinheim, 1979
 40. C.Hansch y A.J.Leo : Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology, Wiley, New York, 1979
 41. C.Hansch, A.J.Leo, S.H.Unger, K.H.Kim, D.Nikaitani y E.J.Lien : J.Med.Chem., 16, 1207 (1973)
 42. A.Verloop, W.Hoogenstraaten y J.Tipker, en E.J.Ariens, Ed.: Drug Design, Vol.VII, Academic Press, New York, 1976, p.165
 43. A.T.Balaban, A.Chiriac, I.Motoc y Z.Simon : Lecture notes in Chemistry, Vol.15, Springer-Verlag, Berlin, 1980.
 44. Z.Simon y Z.Szabadai: Studia Biophysica, 39, 123 (1973)
 45. Z.Simon: Studia Biophysica, 51, 49 (1975)
 46. Z.Simon, A.Chiriac, I.Motoc, S.Holban, D.Ciubotariu y Z.Szabadai : Studia Biophysica, 55, 217 (1976)
 47. Z.Simon: Angew.Chem., 86, 802 (1974)
 48. Z.Simon : Quantum Biochemistry and Specific Interactions. Abacus, Turnbridge Wells, 1976.
 49. Z.Simon, I.I.Badilescu y T.Racovitan: J.Theor.Biol.: 66, 485 (1977)
 50. Z.Simon, M.Mracec, A.Maurer, S.Policec y C.Dragulescu: Rev.Roum.Biochem., 14, 117 (1977)
 51. Z.Simon : Studia Biophysica, 62, 167 (1977)
 52. Z.Simon:Chemical Structure-Biological Activity Relationships, J.Knoll y F.Darvas, Eds., Akademiai Kiadó, Budapest, 1980, p.101
 53. A.T.Balaban, A.Chiriac, I.Motoc y Z.Simon : Steric Fit in Quantitative Structure-Activity Relations, Lecture notes in Chemistry, Vol.15, Springer Verlag, Berlin,(1980).
 54. A.J.Hopfinger : J.Am.Chem.Soc., 102, 7196 (1980)
 55. A.J.Hopfinger: Arch.Biochem.Biophys., 206, 153 (1981)
 56. C.Battershell, D.Malhotra y A.J.Hopfinger: J.Med.Chem., 24, 812 (1981)

57. A.J.Hopfinger : J.Med.Chem., 24, 818 (1981)
58. J.E.Amoore, G.Palmieri y E.Wanke: Nature, 216, 1084 (1967)
59. J.E.Amoore, G.Palmieri, E.Wanke y M.S.Blum : Science, 165, 1266 (1969)
60. J.E.Amoore : Ann.N.Y.Acad.Sci., 116, 457 (1964)
61. J.E.Amoore: Nature, 214, 1095 (1967)
62. R.M.Hyde y B.Roth : Strategy in Drug Design, J.A.Keverling Buisman Ed., Elsevier-Amsterdam, 1982. p.385
63. P.A.Lehmann, J.F.Rodrigues de Miranda y E.J.Ariens: Fortschr. Arzneimittelforsch, 20, 101 (1976)
64. J.F.Rodrigues de Miranda, P.A.Lehmann y E.J.Ariens: Fortschr.Arzneimittelforsch., 20, 126 (1976)
65. P.A.Lehmann: Chemical Structure-Biological Activity Relationships, J.Knoll y F.Darvas, Eds., Akademiai Kiadó, Budapest, 1980, p.285
66. M.Yoshimoto y C.Hansch : J.Org.Chem., 41, 2269 (1976)
67. Y.C.Martin : Drug Design, Vol.VIII, E.J.Ariens, Ed., Academic Press, New York, 1979, p.1
68. E.J.Lien, J.F.Rodrigues de Miranda y E.J.Ariens: Mol.Pharmacol., 12, 598 (1976)
69. R.Constanciel: Theor.Chim.Acta, 54, 123 (1980)
70. R.Contreras y J.S.Gómez-Jeria: J.Phys.Chem., 88, 1905 (1984)
71. F.Avbelj y D.Hadzi : QSAR and Strategies in the Design of Bioactive Compounds, J.K.Seydel Ed., Verlag Chemie, Weinheim 1985. p 87.
72. M.Charton y I.Motoc en: Topics in Current Chemistry 114, Springer-Verlag Berlin, 1983. p.4
73. J.T.Penniston, L.Beckett, D.L.Bentley y C.Hansch : Mol.Pharmacol., 5, 333-341 (1969).
74. J.S.Gómez-Jeria, D.Morales Lagos y J.C.Saavedra Aguilar: Int.J.Quant.Chem. 28, 421 (1986).
75. J.S.Gómez-Jeria y D.Morales Lagos: J.Pharm.Sci. 73,1725 (1984)

76. J.S.Gómez-Jeria, D.Morales Lagos, B.Cassels y J.C.Saavedra Aguilar: Quant.Struct.Act.Relat. 5, 153 (1986)
77. J.S.Gómez-Jeria y P.Sotomayor: J.Mol.Struct., 166, 493 (1988).
78. J.S.Gómez-Jeria, B.Cassels y J.C.Saavedra Aguilar: Eur.J.Med.Chem., 22, 433 (1987).
79. G.L.Pratt: Gas Kinetics. Wiley and Sons Ltd., 1974. p.226.
80. J.H.Knox : Molecular Thermodynamics. Wiley Interscience, New York, 1971. p.132.
81. S.Glasstone : Theoretical Chemistry. D.Van Nostrand Inc., New York, 1950. p.386.
82. J.B.Marion : Classical Dynamics of particles and Systems, Academic Press, New York, 1965. p.380.
83. H.Van De Waterbeemd y B.Testa : The Prametrization of Lipophilicity and other Structural Properties in Drug Design, B.Testa, Ed., Academic Press, New York, 1987. p. 85-125; idem, Journal of Computer-Aided Molecular Design, 3, 111-132 (1989).
84. L.B.Kier : Quant.Struct.-Act.Relatsh., 5, 1-7, 7-12 (1986).
85. I.Moriguchi, Y.Kanada y K.Komatsu : Chem.Pharm.Bull., 24, 1799 (1976).
86. G.Klopman : Chemical Reactivity and Reactions Paths, G.Klopman, Ed., Wiley, New York, 1974. p.55-165.
87. F.Peradejordi, A.N.Martin y A.Cammarata : J.Pharm.Sci., 60, 576 (1971).
88. J.N.Murrel y G.Shaw: J.Chem.Phys. 46, 1768 (1967).
89. J.I.Musher y A.T.Amos: Phys.Rev. 164, 31 (1967).
90. R.Eisenschitz y F.London: Z.Phys. 60, 491 (1930).
91. J.O.Hirschfelder: Chem.Phys.Lett. 1, 363 (1967).
92. A.van der Avoird: J.Chem.Phys. 47, 3649 (1967).
93. J.O.Hirschfelder y R.Silbey: J.Chem.Phys. 45, 2188 (1966).
94. J.A.Pople y D.L.Beveridge : Approximate Molecular Orbital Theory, McGraw-Hill, New York, 1970.

95. J.C.Slater : Quantum Theory of Molecules and Solids, Vol.4, The SCF Theory of Molecules and Solids, McGraw Hill-New York, 1974.
96. I.G.Csizmadia : Prog.Theoret.Org.Chem. Vol.1: Theory and Practice of MO Claculations on Organic Molecules, Elsevier-Amsterdam, 1976.
97. J.A.Pople, D.P.Santry y G.A.Segal: J.Chem.Phys., 43, 129 (1965).
98. J.A.Pople y G.A.Segal : J.Chem.Phys., 43, 136 (1965).
99. J.A.Pople y G.A.Segal : J.Chem.Phys., 44, 3289 (1966).
100. J.Del Bene y H.Jaffé : J.Chem.Phys., 48, 1807 (1968).
101. J.Del Bene y H.Jaffé : J.Chem.Phys., 49, 122 (1968).
102. J.Del Bene y H.Jaffé : J.Chem.Phys., 50, 1126 (1969).
103. R.J.Boyd y M.A.Whitehead : J.Chem.Soc., Dalton Trans., 73, 78, 81 (1972).
104. J.S.Gómez-Jeria y D.Morales Lagos: J.Phys.Chem.94, 9790 (1990).
105. R.Pethig: Dielectric and Electronic Properties of Biological Materials, Wiley, New York, 1979.
106. E.J.Ariens, A.N.Simonis y J.van Rossum : Drug Receptor Interaction on One Rceptor System, Medicinal Chemistry Vol.3, Molecular Pharmacology, Academic Press-New York, 1964. p.153.
107. A.Haber y R.P.Runyon : General Statistics, Addison-Wesley, New York, 1973.
108. M.J.N.Birdsall, E.C.Hulme y J.S.Stockton: Trends Pharmacol. Sci.(Suppl), 1, 4 (1984).
109. H.I.Yamamura, M.Watson y W.Roeske:CNS Receptors: From Molecular P'harmacology to Behavior, P.Mandel y F.V.DeFeudis, Raven Press, New York (1983)
110. L.Potter, D.D.Flynn, H.E.Hanchett, D.L.Kalinoski, J.Luber-Narod y D.C.Mash : Trends.Pharmacol.Sci.(suppl), 1, 22 (1984).
111. G.R.Luthin y B.B.Wolfe : Mol.Pharmacol. 26, 164 (1984).
112. G.Schrader : Angew. Chemie. 62 (1952).
113. W.Aldrige : Chem.and Ind.473, 1954.

114. D.H.Adams y V.P.Whittaker: Biochim. Biophys. Acta, 4, 543 (1950).
115. I.B.Wilson y F.Bergmann : J.Biol.Chem. 185, 479 (1950).
116. I.B.Wilson, F.Bergmann y D.Nachmansohn : J.Biol.Chem. 186, 781 (1950).
117. I.B.Wilson : Biochim. Biophys. Acta 7, 520 (1951).
118. I.B.Wilson : J.Biol.Chem. 190, 111 (1951).
119. I.B.Wilson : J.Biol.Chem.199, 113 (1952).
120. R.L.Metcalf : Bull.Wld.Hlth.Org. 44, 45 (1971).
121. T.Nishioka, T.Fujita, K.Kamoshita y M.Nakajima : Pesticide Biochem. Physiol., 7, 107 (1977).
122. C.Hansch y E.W.Deutsch : Biochim.Biophys.Acta 126, 117 (1966).
123. B.Hetnarski y R.D.O'Brien : Pestic.Biochem.Physiol. 2, 132 (1972).
124. B.Hernatski y R.D.O'Brien: Biochemistry 12, 3883 (1973).
125. B.Hernatski y R.D.O'Brien: J.Agr.Food Chem., 23, 709 (1975).
126. J.P.Johnstone : Biochem.Pharmacol. 17, 1285 (1968).
127. F.M.Achee, S.Gabay y K.F.Tipton : Prog.Neurobiol. 8, 325 (1977).
128. R.M.Denny, R.R.Fritz, N.T.Patel, S.G.Widen y C.W.Abell : Mol.Pharmacol. 24, 60 (1983).
129. C.J.Fowler y K.F.Tipton : J.Pharm.Pharmacol. 36, 1112 (1984)
130. P.Levitt, J.E.Pintar y X.O.Breakfield: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79, 6385 (1982).
131. D.V.Sheehan, J.Ballenger y G.Jacoban : Arch.Gen.Psychiatry 37, 51 (1980).
132. M.A.Jenike, O.S.Surman, N.H.Cassem, P.Zusky y W.H.Anderson : J. Clin. Psychiatry 44, 131 (1983).
133. M.R.Liebowitz, A.J.Fyer, J.M.Gorman, R.Campeas y A.Levin : J. Clin. Psychopharmacol. 6, 93 (1986).
134. A.Zametkin, J.L.Rapoport, D.L.Murphy, M.Linnoila y D.Ismod : Arch. Gen. Psychiatry 42, 962 (1985).

135. A.Kayser, D.S.Robinson, A.Nies y D.Howard : Am.J.Psychiatry 142, 486 (1985).
136. D.S.Robinson, A.Kayser, J.Corcella, D.Laux, K.Yingling y D.Howard : Psychopharmacol.Bull. 21, 562 (1985).
137. F.Quitkin, A.Rifkin y D.F.Klein : Arch.Gen.Psychiatry 36, 749 (1979)
138. P.Tyrer : Br. J. Psychiatry 128, 354 (1976).
139. P.J.McGrath, F.Quitkin, W.Harrison y J.W.Stewart : Am.J.Psychiatry 14, 288 (1984).
140. D.L.Murphy, R.M.Cohen, N.A.Garrick, L.J.Siever y I.C.Campbell : Neurobiology of Mood Disorders, R.M.Post y J.C.Ballenger Eds., William & Wilkins, Baltimore, 1984. p710.
141. M.R.Liebowitz y D.F.Klein : Affective Disorders, H.S.Akiskal Ed., W.B.Saunders-Philadelphia, 1979. p555
142. D.S.Robinson y N.M.Kurtz : MAO Inhibiting Drugs : Pharmacologic and Therapeutic Issues en Psycopharmacology: The Third Generation of Progress, H.Y.Meltzer Ed., Raven Press, New York. 1987. p1301
143. B.T.Ho, W.M.McIsaac, K.E.Walker y V.Estevez : J.Pharm.Sci. 57, 269 (1968).
144. B.T.Ho, W.M.McIsaac y K.E.Walker : J.Pharm.Sci. 57, 136 (1968).
145. B.T.Ho, W.M.McIsaac, L.W.Tansey y K.E.Walker : J.Pharm.Sci. 58, 219 (1969).
146. B.T.Ho, W.M.McIsaac y L.W.Tansey : J.Pharm.Sci. 58, 998 (1969).
147. B.T.Ho, G.E.Fritchie, P.M.Kralik, L.W.Tansey, K.E.Walker y W.M.McIsaac : J.Pharm.Sci., 58, 1423 (1969).
148. B.T.Ho, K.Li, K.E.Walker, L.W.Tansey, P.M.Kralik y W.M.McIsaac : J.Pharm.Sci. 59, 1445 (1970).
149. B.T.Ho, P.M.Gardner y K.E.Walker : J.Pharm.Sci. 62, 36 (1973).
150. B.T.Ho, P.M.Gardner, S.F.Pong y K.E.Walker : Experientia 29, 527 (1973).
151. F.Tomás y J.M.Aulló : J.Pharm.Sci. 68, 772 (1979).

152. I.Creese : Biochemical Properties of CNS Dopamine Receptors; Psychopharmacology-The third generation of progress, Herbert Y.Meltzer Ed., Raven Press- New York 1987. p.257.
153. J.W.Kebabian, G.L.Petzold y P.Greengard: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79, 2145 (1972).
154. J.C.Saavedra, J.S.Gómez Jeria y D.Morales:Rev.Chil.Neuro-Psiquiat. 27, 41 (1989).
155. P.M.Laduron : Dopamine Receptors, Am.Chem.Soc.Symp.Series 224, J.W.Kebabian y C.Kaiser Eds., Am.Chem.Soc.Press, Washington DC, 1983. p.22-28.
156. G.R.Breese y I.Creese : Neurobiology of Central D₁ Dopamine Receptors, Plenum Press, New York 1986.
157. J.Hyttel : 7ht Symposium on Medicinal Chemistry, R.Dahlbaum y J.L.G.Nielsson Eds., Swedish Pharmaceutical Press, 1984. p.426
158. P.H.Anderson y C.Braestrup : J.Neurochem. 47, 1822 (1986).
159. P.A.Johansen y F.J.White : Soc.Neurosci.Abstr.377, 7 (1988).
160. T.M.Dawson, D.R.Gehlert, R.T.McCabe, A.Barnett y J.K.Wamsley: J.Neurosci. 6, 2352 (1986).
161. C.Kohler, L.Haglund, S.O.Ogren y T.Angeby : J.Neural Transm. 52, 163 (1981).
162. S.Bischoff, H.Bittiger, A.Delini-Stula y R.Ortamn : Eur.J.Pharmacol. 79, 225 (1981).
163. P.McGonigle, M.B.Wax y P.B.Molinoff :Invest.Ophthalmol.Vis. Sci. 29, 687 (1988).
164. A.Hilditch y G.M.Drew : Trends.Pharmacol.Sci. 6, 396 (1985).
165. C.C.Felder, P.A.Jose y J.Axelrod : J.Pharmacol.Exp.Ther. 248, 171 (1989).
166. P.H.Andersen, J.A.Gingrich, M.D.Bates, A.Dearry, P.Falardeau, S.E.Senogles y M.G.Caron: Trendsarmacol. Sci. 11, 231 (1990).
167. F.J. de Castro et al.: Clin.Toxicol., 12, 65 (1978).
168. J.Braham et al.:Br.Med.J., 3, 768 (1970).
169. Martindale : The Extra Pharmacopeia-29 Edition, James E.F. Reynolds, Ed., Pharmaceutical Press, London, 1989.

170. S.Lal, C.E.de la Vega, T.L.Sourkes y H.G.Friesen : Lancet. 2, 661 (1972).
171. S.Lal, y N.P.V.Nair : Psychoneuroendocrine Dysfunction, N.S.Shah y A.G.Donald Eds., Plenum Publishing Co., New York 1984. p. 485-501.
172. H.Y.Meltzer y S.M.Stahl : Schizophr.Bull. 2, 19-76 (1976).
173. P.Seeman, C.Ulpian, C.Bergeron, P.Riederer, K.Jellinger, E.Gabriel, G.P.Reynolds y W.W.Tourtellote : Science 225, 728-773 (1984).
174. S.Lal, N.P.V.Nair, H.I.Iskandar, P.Etienne, P.L.Wood, G.Schwartz y H.Guyda : J.Neural.Transm. 54, 75 (1982).
175. G.M.Brown, H.Vergahegan, T.B.Van Wimersma Greidanus y J.Brugmans : Clin.Endocrinol. 15, 275 (1981).
176. F.F.Caseneuve, L.Villanueva, J.A.Cabranes, J.Cavezas-Cerrato y A.Fernandez Cruz : J.Clin.Endocrinol.Metab. 59, 526 (1984).
177. J.L.Neumeyer, G.W.Arana, V.J.Ram y R.J.Baldessarini : Acta Pharm.Suec., 2(Supl.), 11-24 (1983).
178. G.Yigong, J.R.Vishnu, A.Campbell, N.S.Kula, J.R.Baldessarini y J.L.Neumeyer: J.Med.Chem. 33, 39 (1990).
179. A.J.Cross, R.D.Marshall, J.A.Johnson y F.Owen: Neuropharmacol., 22, 1327 (1983).
180. J.Hyttel : Neuropharmacology 23, 1395 (1984).
181. M.W.Hamblin, S.E.Leff y I.Creese : Biochem.Pharmacol. 33, 877 (1984).
182. D.T.Manallack y P.M.Beart : J.Pharm.Pharmacol., 40, 422 (1988)
183. R.D.Levine y R.B.Bernstein: Molecular Reaction Dynamics and Chemical Reactivity, Oxford University Press, New York, 1987.
184. D.D.Miller, M.Harrold, R.A.Wallace, L.J.Wallace y N.J.Uretsky : Trends Pharmacol. Sci., 9, 282 (1988).
187. M.Born : Z.Phys. 1, 45 (1920).
188. L.Osanger : J.Am.Chem.Soc. 58, 1486 (1936).
189. J.G.Kirkwood : J.Chem.Phys. 1, 351 (1934).

190. C.J.Bottcher : Theory of Dielectric Polarization, Elsevier Amsterdam, Vol.I, 1973.
191. A.Pullman : Quantum Theory of Chemical Reactions, Vol. II, R.Daudel, A.Pullman, L.Salem y A.Veillard Eds., Reidel, Dordrecht, Holland, 1981. p 1-24.
192. G.W.Schnuelle y D.L.Berveridge : J.Phys.Chem., 79, 2566 (1975).
193. P.Claverie, J.P.Daudey, J.Langlet, B.Pullman, D.Piazzola y M.J.Huron : J.Phys.Chem., 82, 405 (1978).
194. R.Constanciel y R.Contreras : Theor.Chim.Acta 65, 1 (1984)
193. J.G.Kirkwood y F.H.Westheimer : J.Chem.Phys. 6, 506 (1934).
194. T.H.Schälte : Physica 15, 437 (1949).
195. J.A.Abbott y H.C.Bolton : Trans.Faraday Soc. 48, 422 (1952).
196. F.J.Buckley : J.Res.Natl.Bur.Stand. 61, 325 (1958).
197. M.J.Huron y P.Cleverie : J.Phys.Chem. 76, 2123 (1972); 78, 1853 (1974).
198. J.L.Pascual-Ahuir, E.Sillia, J.Tomasi y R.Bonacorsi : J.Comput.Chem. 8, 778 (1987).
199. R.Contreras y J.S.Gómez-Jeria : J.Phys.Chem. 88, 1905 (1984).
200. W.Orttung : J.Am.Chem.Soc. 100, 4369 (1978).
201. T.Krupkowski, G.P.Jones y M.Davis : Trans.Farad.Soc. 70, 1348 (1974)
202. E.Glueckauf : Trans.Faraday Soc. 60, 572 (1964)
203. P.J.Stiles : Aust.J.Chem. 33, 1389 (1980).
204. T.Abe : J.Phys.Chem. 90, 713 (1986)
205. S.Ehrenson : J.Phys.Chem. 91, 1868 (1987)
206. M.Bucher, T.L.Porter : J.Phys.Chem. 90, 3406 (1986)
207. D.L.Berveridge y G.W.Schnuelle : J.Phys.Chem. 79, 2562 (1975)
208. M.H.Abraham, J.Liszi, L.Meszáros : J.Chem.Phys. 70, 2491 (1979)

209. M.H.Abraham, J.Liszi : J.Chem.Soc.,Faraday Trans. 1, 1604 (1978)
210. R.Constanciel y R.Contreras : C.R.Hebd.Seances Acad.Sci. 296, 417 (1983)
211. R.Contreras y A.Aizman : Int.Quant.Chem. 27, 293 (1985)
212. E.Glueckauf : Trans.Faraday Soc. 60, 1637 (1964)
213. G.P.Morris y P.T.Cummings : Mol.Phys. 29, 1653 (1982)
214. V.G.Dashevsky y G.N.Sarkisov : Mol.Phys. 27, 1271 (1974)
215. R.A.Pierotti : Chem.Rev. 76, 717 (1976)
216. S.Kondo : J.Chem.Phys. 25, 662 (1956)
217. J.H.Saylor : J.Phys.Chem. 62, 1334 (1958)
218. J.Sadlej : Semi-Empirical Methods of Quantum Chemistry, PWN-Polish Scientific Publishers, 1979.
219. D.P.Santry y G.A.Segal : J.Chem.Phys. 47, 158 (1967).
220. C.C.Roothan : J.Chem.Phys. 19, 1445 (1951).