

PREDICCIÓN DE LA ACTIVIDAD EN LA SÍNTESIS DE NUEVOS MEDICAMENTOS (*)

Dr. ARTURO MOSQUEIRA TORIBIO
(Jefe General de Farmacia. Madrid)

Es un hecho que ha llegado a ser *tópico* que el número de nuevas moléculas introducidas en terapéutica va siendo menor a lo largo de estos últimos años.

Los años hasta 1950 se han caracterizado por un aporte masivo de nuevos medicamentos, las *sulfamidas* se desarrollaron en los años 30, los *esteroides* entre los años 30 y 40, los *antibióticos* —de origen natural o sintéticos entre los 40 y 50—. Los avances disminuyeron en los años 60, el número de nuevas entidades (S.C.H.E.) aprobados por la F.D.A. bajó a 45 en 1960 a 14 en 1971. (De Haen Ann. Rev. New Drugs 19 Ed. 1973 y New Drugs Analysis U.S.A. X 1969-1973.)

La fase de aprobación de una especialidad farmacéutica, se ha incrementado según Ellenhorn en U.S.A. de 6 a 12 meses en 1962 a 40 en 1972. Fuera de los EE.UU. se ha incrementado asimismo de 6 meses como promedio de 1962, de 16 ó 24 meses en 1972. Los costos de desarrollo de una nueva especialidad, para algunos medicamentos ha aumentado en 1,2 millones de dólares en 1962 a 11,2 millones en 1972.

Los gastos de investigación (R + D) en U.S.A. fueron de 50 millones (Statement before the subcommittee Health. Senate and Public Welfare 16 agosto 1974 y Pharmaceutical Manufacturers Association 1973). Al final de esta década se espera se duplique el gasto de R + D (Ellenhorn). El número de empresas que pueden soportar estos gastos va disminuyendo y por ello también el número de empresas que introducen nuevos medicamentos cada año, disminuye asimismo.

Por ello las grandes compañías internacionales están haciendo y harán con más intensidad en lo sucesivo, la *investigación clínica*, en países fuera de los EE.UU. (sobre todo en países subdesarrollados) a más bajo precio y aprovechando los talentos de los investigadores nativos, consiguiendo además la *aprobación* en países extranjeros como ensayo para obtener la aprobación del F.D.A. Por ello se están instalando centros de R + D fuera de los EE.UU., sin embargo se encuentran con la limitación de conseguir buenos investigadores en estos países (Round y World. Research by Pharmaceutical Companies Lancet, 1, 877, 1973).

(*) Conferencia extraordinaria. Sesión del 16-III-76.

Según el informe del Comité U.S.A. para el desarrollo económico de la Industria Química, Sección de Farmacia (1972, pág. 33), varios países han desarrollado *cooperativas de investigación* para hacer frente a la mayor competitividad. Estas cooperativas son especialmente importantes en *Italia*, y deben ser contempladas con interés en nuestro país, que con una cifra de negocios de 75.000 millones, la atomización de la manufacturación produce también una atomización en la investigación, que impide conseguir resultados valorables internacionalmente.

En todo caso, desde hace unos años se ha observado una disminución en el número de nuevos medicamentos introducidos debido fundamentalmente a los *costes de investigación* y a los *ensayos clínicos* y *pruebas de seguridad* (Pelzman, American Enterprise Institute for Public Policy Research, Washington, 1974), por ello para los próximos cinco años se prevé una *mayor presión de Marketing sobre productos conocidos que la aparición de novedades de éxito*. En este sentido la política de *patentes* es importante; en nuestro país la patente se refiere al método de *obtención*, no al producto, y la *carga de prueba*, debe ser, hasta ahora, aportada por el propietario de la patente, el régimen de patentes en el campo internacional es según Ellenhorn una *jungla costosa y complicada*. Las batallas por las patentes son cada vez más encarnizadas y caras (Growing U.S.

News and World Report, 77, 58, julio 1974). En 1984, 177 de los 200 *principales* productos, que reúne un mercado de 1.400 millones de dólares, habrán perdido su protección. Actualmente ciertas compañías multinacionales, según Sheiber de la compañía Shields, citado por Ellenhorn (Wall Street Journal, 90, junio, 25, 1974) presentan ciertos puntos *vulnerables* en gran parte producidos por problemas de patentes.

Este es el *marco en que la I.F. se mueve*, los problemas son de gran entidad, tanto económica como tecnológica.

Los productos activos resultan, salvo en los casos no frecuentes que son logrados por puro azar, por la aplicación de datos derivados de un mejor conocimiento de los *mecanismos* biológicos, en definitiva resultantes de un proceso de investigación fundamental en los terrenos de la biología, fisiología y por supuesto de los procesos bioquímicos.

En todo caso la mecánica de creación de nuevos medicamentos, consiste en términos generales en obtener una *serie de derivados* a partir de un *núcleo* molecular activo conseguido bien por síntesis o procedente de productos naturales.

A partir de un núcleo activo, la obtención de derivados de síntesis comprende un problema central que es la posibilidad de preparación de moléculas *especialmente diseñadas*, para que modifiquen un proceso biológico. La última aspiración sería la *predicción de la actividad bioló-*

gica de la molécula antes de su síntesis, para reducir el coste y el tiempo necesario para realizar los trabajos de obtención y el Screening farmacológico. Todas las respuestas biológicas de un medicamento son de una manera u otra (*Cavallito, Structure-Activity Relationships*), el resultado de la interacción entre un compuesto *orgánico*, usualmente de *P.M. bajo y una macromolécula*, que puede estar aislada como una *encia* o formar parte de un conjunto, tal como una membrana.

Según un ejemplo citado por Hansch, al inyectar 2 mg de una droga de P.M. alrededor de 200, a un ratón de 20 g de peso, teniendo en cuenta que el animal está constituido, primordialmente por macromoléculas de P.M. 200.000 y que el 90 % de su peso es agua, que puede ser considerada exclusivamente como disolvente, la cuestión queda reducida, en definitiva, a la interacción de 10^{18} molécula de droga y 10^{19} macromolécula. Por otra parte estas macromoléculas están organizadas en un gran número de sistemas que tienen su propia entidad (*células, órganos, etc.*). El número de permutaciones y combinaciones de interacciones posibles está fuera de los límites de la concepción humana y es totalmente impredecible.

Sin embargo, existen unas líneas de acción válidas para poder establecer unos principios que de forma aproximativa señalen un camino para la comprensión de los fenómenos de interacción medicamento /

organismo y la predicción de la actividad de una molécula antes de ser sintetizada.

Hace tiempo se han iniciado intentos para establecer una relación estructura / actividad. En 1869 Crum Brown y Fraser publicaron lo que puede considerarse el primer estudio de este tipo (*Trans. Roy Soc.*, 25, 151, 1868-1869), estudiaron compuestos tales como la morfina, codeína, tebaína, estricnina, brucina y nicotina, observando como modificaciones mínimas en la estructura producían cambios notables en la acción biológica.

Richet en 1893 (*C. R. Soc. Biol.*, 45, 775, 1893), estudiando la toxicidad de un grupo de aldehídos, cetonas, éteres y alcoholes encontró que su grado de actividad estaba en relación inversa con su solubilidad en agua. Este ha sido el primer trabajo que relacionó una constante básica con la actividad de un medicamento. Posteriormente, aplicando los trabajos de Richet, Meyer (*Arch., Exp. Pathol., Pharmkol.*, 42, 109, 1899) y Overton (*Z. Physykol. Chem.*, 22, 189, 1897), relacionaron la solubilidad en lípidos de compuestos con acción anestésica, con su actividad; sus trabajos establecieron relaciones, actualmente válidas, entre el coeficiente de partición aceite / H₂O y la actividad anestésica.

Todas estas relaciones parecen apuntar a hechos generales que condicionan la actividad biológica y que se relacionan, bien con la estructura del medicamento o con algunas

de sus propiedades físicas (solubilidad, etc.).

Se pueden considerar tres líneas de trabajo en el diseño de nuevas moléculas activas, una representada por los métodos L.F.E.R. que utiliza parámetros de orden físico en una serie de derivados partiendo de un núcleo inicial, emplean fundamentalmente el *coeficiente de partición* octanol / H₂O y la *constante de Hammett* y otros parámetros fisicoquímicos y estéricos y obtiene, más o menos empíricamente, unas relaciones entre la actividad y estas propiedades, en una serie de compuestos derivados de una molécula generatriz. Otra línea de acción la representa el cálculo por *M.O. de una serie* de propiedades estructurales, densidad electrónica, niveles de energía, conformación molecular, etc., en estos cálculos puede deducirse en mecanismo de acción medicamentos / receptor y diseñar estructuras no sintetizadas previamente que tengan una actividad predecible.

La tercera línea de acción viene representada por los actuales métodos de Novo, que se fundan en la aditividad en la acción de diferentes sustituyentes de una serie de compuestos derivados de una molécula «Leader».

En cuanto a la primera línea de acción, viene representada por la expresión de Hansch.

Hansch basa en los trabajos de Overton y conociendo la importancia del coeficiente de partición en el transporte de la molécula activa

hasta el lugar de acción y la interacción química con el receptor y utilizando la expresión de Hammett incluyendo parámetros de orden fisicoquímico (J. Am. Chem. Soc., 86, 1616, 1964 y 85, 2817, 1963 y Acc. Chem. Res., 2, 232, 1969), la expresión comprende tres procesos fundamentales:

1. El movimiento de la molécula activa desde el punto de aplicación al lugar donde va a ejercer su acción.
2. Interacción física o química con el receptor.
3. Influencias estéricas medicamento / receptor.

Estos procesos son diferentes, en tiempo y espacio, pues el medicamento antes de llegar al punto donde va a actuar, ha de pasar por una serie de compartimentos contruidos fundamentalmente por fases acuosas y lipídicas, este hecho fue tenido en cuenta por Meyer y Overton y se ha incorporado al modelo de Hansch.

En la primitiva expresión de Hansch se relaciona la concentración molar de la molécula activa con el coeficiente de partición definido como la diferencia entre los logaritmos de los coeficientes de partición octanol / H₂O de los compuestos sustituidos y no sustituidos de una serie determinada, y la constante de Hammett. Existe una relación entre los parámetros de partición utilizados empíricamente por Hansch y

las energías de superdeslocalización calculadas por métodos cuánticos y las densidades de carga.

La correlación fue establecida por Roger y Cammarata entre los índices de densidades de carga ϵQ_r , las energías de superdeslocalización ϵS_r y el logaritmo de los coeficientes de partición ($\ln P$) para diferentes moléculas. Q_r representaría la solubilidad en agua debido a un mecanismo de intercambio dipolar y contribuye negativamente al proceso, el segundo factor representaría la posibilidad de formar un enlace a través de un proceso de transferencia de carga y contribuye positivamente al proceso de absorción.

En la interacción química droga-receptor determinada en este sistema por la expresión de Hammett, encontró en 1935, que para muchas reacciones se puede expresar el efecto polar de un sustituyente sobre la velocidad de reacción por:

$$\ln \frac{k}{k_0} = \sigma \rho,$$

donde k_0 es la velocidad de la reacción del compuesto no sustituido, σ es una constante que depende del sustituyente y ρ otra constante que depende de la reacción. Hammett partiendo de las constantes de disociación de los ácidos benzoicos sustituidos en agua a 25°C como valores patrón para determinar el valor ρ ($= 1$). La correlación tiene aplicación para más de 100 sustituyentes en unas 400 reacciones.

Como el logaritmo de la velocidad de reacción (logaritmo K_r) es proporcional a la energía libre de activación ($\Delta F^\ddagger$), la ecuación puede expresarse también en forma que representa una relación lineal de la energía libre. Por ello la ecuación de Hansch y otras derivadas de ellas se consideran dentro de un grupo llamado Lineal Free Energie Related (L.F.E.R.).

Un valor positivo de σ indica que el sustituyente es más receptor de electrones que el hidrógeno, puesto que el ácido benzoico sustituido correspondiente es más fuerte que el ácido benzoico. Un valor negativo de σ indica que el sustituyente es un receptor de electrones más débil que el hidrógeno.

Hansch y colaboradores posteriormente (Arch. Bioch. Biophys., 128, 719, 1968), han utilizado parámetros estéricos y los valores de π y σ obteniendo una correlación significativa.

Purcell, Bass y Clayton resumen, en su libro Strategy of Drug Design (Intecience, 1973, págs. 43-45) los parámetros hidrofóbicos, estéricos y electrónicos así como los índices de Mecánica Cuántica utilizados en los modelos L.F.E.R.

En todo caso, la acción de una molécula biológicamente activa viene determinada (y podría determinarse si se conocieran todas las variables que influyen en el sistema) por su configuración y el tipo de interacción con el receptor.

La interacción droga-receptor tie-

ne lugar a través de distintos tipos de unión electrostática, momentos dipolares, enlaces de hidrógeno, fuerzas de dispersión o enlaces hidrofóbicos.

Sin embargo, no es posible utilizar los principios de la Mecánica Clásica, pues no son aplicables a la estructura subatómica; es necesario entonces establecer una correlación entre los sistemas clásicos que siguen a la Mecánica Hamiltoniana y a los sistemas subatómicos que siguen la Mecánica Cuántica. Si se estableciera inequívocadamente esta correlación, podrían describirse las interacciones medicamento - receptor en términos cuánticos, como otro sistema dinámico cualquiera. El sistema dinámico de un sistema clásico, viene determinado por su posición —definida por sus coordenadas— y su velocidad fijada por las de tiempo, tenemos, en resumen, un sistema Hamiltoniano en la Mecánica Clásica.

Si la acción de la molécula activa es función de su configuración y de la interacción con el receptor, es decir, de unas coordenadas de posición, de energía y eventualmente, derivadas de aquellas coordenadas con respecto al tiempo.

En la mecánica cuántica pueden adoptarse dos formaciones: la de Heisenberg o la de Schrodinger. Esta última parte del concepto de onda / corpúsculo.

En la Mecánica Clásica, un sistema Hamiltoniano en su forma más reducida, viene expresado por una

función en la que la energía total es la suma de las energías cinética y potencial; usando la noción de momento: masa por velocidad y reemplazando este momento por un operador diferencial en el que interviene la constante de Plank, la ecuación se convierte en un operador; si este operador se hace actuar sobre la *función de onda* se obtiene la ecuación de *Schrodinger*.

Cuando se intenta resolver la ecuación de Schrodinger para *átomos más complejos*, no es posible obtener soluciones exactas, es necesario, pues, utilizar métodos aproximados para resolver la ecuación de Schrodinger, para átomos con *Z* electrones. Así en el método del campo autoconsistente de *Hatree* se transforma el problema de *Z electrones* en *Z problemas de un electrón*. Y en la expresión de *Slater* se considera que los electrones internos *apantallan* al núcleo y el electrón exterior puede tratarse como el de un Hidrogenoide.

Para sistemas aún más complejos, como las moléculas biológicamente activas, tampoco la ecuación de Schrodinger puede ser resuelta exactamente, por lo que hay que recurrir a métodos aproximados.

Hay dos fundamentales: el de *orbitales moleculares* y el de *electrón valencia*.

El método de orbitales moleculares es conceptualmente más *riguroso y sencillo*, aunque a veces conduce a expresiones matemáticas demasiado complejos, en cambio, el de

E.V. es más intuitivo y permite, además, introducir simplificaciones en los cálculos, basadas en conocimientos químicos.

El método de orbitales moleculares fue expuesto por Huckel, por primera vez, supone, que los orbitales de los electrones se *extienden sobre toda la molécula* y están sujetos a los potenciales de todos los núcleos y los potenciales de los otros electrones.

Los orbitales moleculares se obtienen entonces en forma de *combinaciones lineales* de los orbitales atómicos.

Los *coeficientes* que afectan a cada orbital atómico en esta combinación lineal, han de escogerse de modo que hagan *mínima la energía*, de acuerdo con el conocido principio de variaciones.

La función de onda de la molécula, viene expresada por un sistema de ecuaciones con las *incógnitas* que representan los coeficientes correspondientes a los orbitales atómicos y la *energía total*.

Las soluciones diferentes a cero pueden ser obtenidas en forma de un *determinante de segundo grado*.

En el determinante secular figura un término: *integral de Coulomb*, que representa la energía necesaria para separar al *electrón del orbital* y otro término, llamado *integral resonancia*, que representa la energía de *interacción* de los orbitales atómicos. Otro término del determinante es la *integral de solapamiento*.

Precisamente la *consideración* o

no de la *integral de solapamiento*, define en buena medida los diferentes métodos de cálculo de orbitales moleculares propuestos.

La teoría de Huckel corresponde al tratamiento *más sencillo* del método de orbitales moleculares. Sus *simplificaciones*, sin embargo, la hacen poco adecuada para obtener soluciones válidas a los problemas concretos. Se han propuesto métodos más sofisticados, que proporcionan mejores aproximaciones. Pero por otra parte, la evaluación de todas las integrales implicadas, hacen difícil el cálculo, incluso, utilizando computadoras rápidas.

Los métodos que toman en consideración en mayor o menor cuantía la *integral de solapamiento*, han sido desarrollados por *Pariser y Parr, Pople, Santry y Segal* en trabajos publicados en *Journal Chemistry Physycs* y en *Transations Faraday Society*, desde 1953 hasta 1965.

El primer trabajo fue publicado por *Pariser y Parr* y por *Pople* en 1953, constituye el método más simplificado *Z.D.O. (Zero Diferencial Overlap)*, según la nomenclatura anglosajona). Posteriormente, en 1965, *Pople, Santry y Segal*, publicaron un trabajo muy importante describiendo el *Completo Neglect of Diferential Overlap (C.N.D.O.)* el más riguroso o *Neglect of Diatomic Diferential Overlap (N.D.D.O.)* y el *Intermedia Neglect of Diferential Overlap (I.N.D.O.)*, que consideran en distintos niveles los valores de la *integral de solapamiento*. Siendo los

más sofisticados el *N.D.D.O.* y *N.E.M.O.* y el más simple el *C.N.D.O.*

En trabajos publicados por *Hoffman* se expuso la (*Extended Huckel Theory*) *E.H.T.*, como una extensión lógica del Método de Huckel que permite el tratamiento de electrones π y σ .

En todo caso el método como el Huckel, por ejemplo, que consideran sólo los electrones π cuentan, como dice L. Kier, sólo la mitad de la historia. Por el contrario los métodos que consideran todos los electrones de valencia (*E.H.T.*, *I.N.D.O.*, *N.E.M.O.*), han significado un avance notable sobre todo en lo que se refiere al análisis conformacional de las moléculas de interés biológico.

Hoyland hace una revisión muy completa de los métodos (*E.H.T.*, *I.N.D.O.*, *N.E.M.O.*, etc.) en el Simposium, del Centro de Investigación del Matelle Seattle.

Hasta ahora el método *E.H.T.* parece ser el método más *adecuado* para el *cálculo de estructuras*.

A la vista de los resultados escogidos, no parece fácil decidirse por uno u otro con carácter general. Los más sofisticados parecen dar mejores resultados, aunque de alguno de ellos (*N.E.M.O.* por ejemplo) se hayan publicado menos trabajos. Parece, en todo caso, necesario continuar con la elaboración de sistemas de computación que reflejen más exactamente las propiedades encontradas experimentalmente.

La *transferencia de carga* muy importante en los sistemas medica-

mento-receptor, se produce por la transferencia de un electrón desde una molécula *donadora* a otra aceptora. El *donador* posee un electrón o un par de electrones *débilmente* unidos y el aceptor debe ser *receptivo a la donación*.

Se han estudiado en términos de Mecánica Cuántica, la acción de diversos medicamentos. Entre los procesos que implican una transferencia de carga, se han estudiado los *alucinógenos* por Snyder y Merrill, 1965. Se ha demostrado una correlación entre el valor del nivel de más *alta energía* y la potencia *alucinógena* de los derivados *Metilfenetillamina* y en los de *triptamina*.

Se observa que la *Mescalina* y el *L.S.D.* son las moléculas de *mayor energía* y, al mismo tiempo, las de mayor potencia alucinogénica.

Se puede suponer que en un agente alucinógeno sería un *donador de electrones* que en algún punto produce una transferencia de carga con un aceptor biológico.

Los agentes *antimaláricos* han sido estudiados por Singer y Purcell (*J. Med. Cehm.*, 1969).

Se ha observado que el espectro de la Cloroquina se altera en presencia del ácido Dexosiribonucleico y existe la evidencia de que el grupo *2-amino de la Guanina* es el lugar específico de unión. Se ha sugerido que existe una unión electrostática entre el grupo *7-cloro de la Cloroquina* y el *2-amino de la Guanina*. Se produce así un *complejo con el Dexosiribonucleico del Plasmodium*,

bloqueándose su síntesis y produciéndose una *disrupción del código genético*.

Los *analgésicos locales* han sido estudiados, desde el punto de vista de su estructura electrónica por Yoneda y Nitta, 1965, los cálculos se han efectuado utilizando la teoría de Huckel. Empleando la energía de estabilización que viene dada en función de la transferencia de carga y la integral de solapamiento, parece producirse una transferencia de carga entre el anestésico y la vit. B₁. En un trabajo publicado en Science, 1954, Karreman, Isenberg y Szent-Gyorgy, han indicado que los mecanismos de *transferencia de carga*, juegan un papel importante en el efecto de la *Clorpromacina*, un tranquilizante mayor.

Estos autores calcularon la energía en los niveles más alto y más bajo, para la *Clorpromacina*, sugiriendo así la casi espontánea tendencia de *donación de un electrón*. Nash y Allison (Biochem. Pharmacol., 1963), indican que la *Clorpromacina* forma un complejo por *transferencia de carga* con un *acceptor adecuado*, lo que permite una aproximación de la cadena lateral de la *Promacina* a un puente de Hidrógeno del receptor.

Un tema muy debatido desde hace tiempo, ha sido la actividad biológica de los Hidrocarburos carcinogénicos. Han sido estudiados por Pullman y Pullman (C. R. Soc. Biol., 1945). Pullman y Pullman establecieron la existencia de *dos regiones*

en la molécula de los Hidrocarburos policíclicos. La región *olefinica K* y la *transanular L*.

La región *K* presenta una menor *energía de localización* frente a la región *L* que es mayor. Entonces se supone que la aparición de la actividad carcinogénica está ligada a la existencia de la región activa *K* y que si la molécula contiene la *región L*, se disminuye o anula esta actividad.

El mecanismo implicado en la acción carcinogénica, sería según Pullman, a través de un *enlace covalente en la región K*.

Pullman y Pullman habían indicado, que no existe relación entre la carcinogenesis y la transferencia de carga, sin embargo, Mason (Nature, 1958) opina, que la actividad carcinogénica depende precisamente de la *transferencia de carga* entre el Hidrocarburo y una proteína.

Suny, más recientemente, en 1965, ha realizado un estudio estadístico para relacionar la capacidad de transferencia de carga y la *carcinogénesis* y de diversos hidrocarburos. Concluye contrariamente a Pullman, que existe una *relación entre ambas propiedades*.

Los derivados del 5-nitrofurano se han utilizado y se siguen utilizando como agentes antibacterianos. Gonedá y Witia, en 1964, emplean en el estudio de su actividad, el *índice de reactividad nucleófila*. Parece ser que existe una relación: la actividad de estos compuestos aumenta hasta un máximo y a conti-

nuación disminuye en relación con el valor de dicho índice. Esto ocurre en otros agentes quimioterápicos como los Nolílos de pinilina y quinolina, cuando el índice de reactividad nucleófila es de mando alto se consume reaccionando con otras soluciones.

Los *anticonvulsionantes* derivados de las hidantoínas, barbituratos, oxazolidín 2-4 dionas y glutarimidas, han sido estudiados por *Andrews* (J. Med. Chem., 1964) utilizando el método C.N.D.O. y E.H.T. Las conclusiones de *Andrews* no parecen establecer una correlación entre la actividad biológica y la posibilidad de *unión Hidrógeno con el aceptor*. En el caso de los barbitúricos se ha supuesto que la actividad sería debida a una *transferencia con el coenzima flavín-adenín dinucleótido*.

Topp (J. Med. Chem., 1974) estudia por el método C.N.D.O. la actividad antibacteriana de las *penicilinas* y *cefalosporinas*, la inhibición del crecimiento bacteriano se verifica, al parecer, por un mecanismo que comprende dos etapas: la unión reversible de la *droga al enzima*, seguida de la *acilación de éste por el grupo β lactámico*. El método C.N.D.O. permite calcular la estructura electrónica, la fuerza del enlace y la reactividad de las penicilinas y cefalosporinas. La mayor actividad de las penicilinas se debería a un enlace *más sólido con el enzima*. La inactividad de las 2Δ cefalosporinas sería debida a la resistencia de estas moléculas al ataque vía tiol.

Las *relaciones espaciales entre el medicamento y el receptor*, son primordiales para comprender la acción de las moléculas biológicamente activas. Además, el *conocimiento de la distribución* de la carga electrónica y la estereoquímica del medicamento, permite llegar a deducir, en cierto modo, la *topología del receptor*.

Los métodos que tienen en cuenta todos los electrones de valencia, *singularmente el E.H.T.*, conduce a una buena relación entre la energía total y la geometría de la molécula. El E.H.T. es un método especialmente adecuado para predecir los ángulos de enlace.

Se establece una relación entre el ángulo de enlace y la energía total, en virtud de las desigualdades de Allen y Russell (J. Chem. Phys., 1967), representando precisamente el ángulo que corresponde a la energía mínima, inclina la conformación preferida.

Kier (Tetraedron Letters, 1967), estudia la conformación de la *3-fenil-sidnona*. Los *trabajos de Hill*, utilizando la *teoría de Huckel simple* no dieron resultado concordantes en la predicción de la estructura de las sidnonas. *Kier*, en su trabajo, calcula la energía total de las 3-fenil sidnona, con dos heteroátomos diferentes, cada uno en un estado de valencia. Los ángulos de enlace, que se obtienen en los trabajos de *Barmighausen* (Acta, Crys., 1953), utilizando la difracción de

HUBERMICINA

INFANTIL



Profilaxis y tratamiento de las infecciones víricas y bacterianas de la infancia

FORMULA 50 mg Gamma Globulina

300.000 U.I. Penicilina G. Sódica

1/4 gramo Sulfato de Estreptomicina P. V. P.: 84,20 ptas.

INDICACIONES:

Infecciones producidas por gérmenes sensibles a la penicilina y estreptomicina. Entre otras, bronconeumonías, amigdalitis, sinusitis, otitis, mastoiditis, bacteriemias, colicistitis, profilaxis y terapéutica pre y postoperatoria, etc.

La globulina gamma supone un incremento del potencial inmunitario y posee un efecto sinérgico con los antibióticos de su fórmula.

CONTRAINDICACIONES:

Alergia conocida a sus componentes.

EFFECTOS SECUNDARIOS:

Reacciones alérgicas inmediatas o retardadas, pueden aparecer en raras ocasiones, así como afectación del VIII par craneal.

INCOMPATIBILIDADES:

Por la presencia de estreptomicina no debe asociarse, en general, a otros antibióticos del grupo de los aminoglicosídicos o medicamentos ototóxicos y nefrotóxicos.

DOSIFICACION:

En general, dos frascos diarios por vía intramuscular, siempre bajo control y criterio facultativo.

FABRICA Y LABORATORIO
DE PRODUCTOS BIOLOGICOS
Y FARMACEUTICOS



Berlín, 38, 40 y 42
Telf. 230 72 00
Barcelona 15 - España

GAMMA GLOBULINA HUBBER ANTIALERGICA

LIOFILIZADA - INYECTABLE

PAUTA DE ADMINISTRACION (por rigurosa vía intramuscular)

Terapéutica de ataque. La administración de GAMMA GLOBULINA HUBBER ANTIALERGICA constituye una terapéutica sustitutiva y preventiva. Su eficacia se hace aparente al desaparecer, espaciarse o suavizarse, los episodios alérgicos después de su empleo en series de acuerdo con la siguiente normativa:

Adultos: 1 vial cada 4-6 días durante 2 meses.

Niños: 1 vial cada 8-10 días durante 2 meses.

Terapéutica de mantenimiento. Considerando que los pacientes con fenómenos alérgicos presentan una histaminopexia crónica o periódicamente deficitaria, es necesario realizar un aporte cíclico de GAMMA GLOBULINA HUBBER ANTIALERGICA, particularmente:

3-4 meses después de la terapéutica de ataque, efectuando un ciclo de 1 mes.

Un mes antes, aproximadamente, de la aparición de los episodios de agudización estacionales, se aconseja iniciar un ciclo de tratamiento mantenido durante el mes.

Compatibilidades. GAMMA GLOBULINA HUBBER ANTIALERGICA es compatible con la terapéutica desensibilizante, cuyos efectos completa y refuerza.

La terapéutica con GAMMA GLOBULINA HUBBER ANTIALERGICA es compatible con corticoides, antibióticos e inhibidores de la liberación de histaminas, permitiendo, a menudo, reducir las dosis de todos ellos.

Incompatibilidades. No administrar por vía endovenosa. No existen incompatibilidades conocidas.

Contraindicaciones. No existen.

Tolerancia. GAMMA GLOBULINA HUBBER ANTIALERGICA, por ser un producto biológico homólogo, no ofrece intolerancias.

Efectos secundarios. Puede dar lugar, en pacientes sensibles y en raras ocasiones, a un ligero dolor local que cede espontáneamente. También se han presentado, de forma esporádica, ligeras reacciones febriles de corta duración.

PRESENTACION Y FORMULA

Frasco con tapón perforable conteniendo 500 mg de globulina gamma con poder histaminopéxico, en forma liofilizada. Adjunto ampolla con disolvente especial. Se acompaña jeringuilla y aguja, estériles, para un solo uso. P.V.P. 731,20 Ptas.

LABORATORIOS HUBBER, S. A.

Fábrica y Laboratorio de Productos Biológicos y Farmacéuticos
Berlín, 38-48 - Tel. *321 72 00 - Barcelona-15 (España)

rayos X, dan un ángulo de $27,6^\circ$ entre los dos anillos.

Los cálculos de Kier indican que la energía mínima corresponde a un ángulo de 27° con una excelente concordancia con los valores encontrados experimentalmente (Barminghausen) por difracción de rayos X.

Kier, en Pharmacol., 1967, estudia también la conformación de *acetilcolina*, *muscarina* y *muscarona*. Desde hace tiempo se ha tratado de determinar la estructura espacial del receptor colinérgico. El problema es, que la acetilcolina no tiene una estructura rígida en un sentido clásico, por ello, se ha intentado partir de la estructura de la *muscarina*, para llegar a conocer la topología del receptor colinérgico.

Canepa, Paulin y Jorun (Nature, 1966), proponen para la *acetilcolina* y para la *muscarina*, estructuras que presentan una asombrosa analogía en cuanto a la distribución de los heteroátomos y la conformación espacial. Utilizando la difracción de rayos X, Kier utilizando el método E.N.T. calcula el ángulo de conformación preferida.

Los resultados para la *muscarina*, indican un ángulo de mínimo energía de 180° , en completa concordancia con los resultados de Jellinek, por difracción de rayos X. Las distancias interatómicas obtenidas, coinciden asimismo sensiblemente con los resultados experimentales.

Las tres moléculas son potentes colinérgicos muscarínicos y la coincidencia entre los valores encontra-

dos por aplicación del E.H.T. y los métodos de difracción por rayos X, hacen verosímil la estructura propuesta por Kier, para el receptor colinérgico muscarínico, con unas distancias interatómicas de 5,6, 2,8 y 3,2 Å.

Kier, también estudia en J. Pharm. Sc., 1968, la conformación de la *serotonina*.

La distancia internitrógeno es de 5,84 Å, según los cálculos obtenidos por el método E.H.T., y la distancia entre el nitrógeno cuaternario y el oxígeno es de 6,96 Å.

Los *antiinflamatorios corticoides* y *no corticoides*, han sido estudiados por Kier en J. Med. Chem., 1968; calcula la conformación de la cadena lateral en C 17 de la progesterona, corticoesterona y cortisol a los sistemas interatómicos. Whithouse (J. Pharmacol., 1968) calcula la estructura del 5-metoxi 2-metil indol acético, producto procedente del metabolismo de la indometacina.

Los resultados obtenidos, utilizando la teoría de orbitales moleculares han sido, hasta ahora, esperanzadores, aunque los métodos empleados exijan una revisión, en muchos casos. El método E.H.T., no es fácil que pueda ser mejorado, a causa de diferencias fundamentales en las hipótesis básicas del método, sin embargo, ha prestado y seguirá prestando muy buenos servicios en la determinación de las estructuras.

Los métodos más sofisticados del campo autoconsistente, I.N.D.O. y N.E.M.O., con bases teóricas más

sólidas, darán en el futuro mayores posibilidades si se consigue una parametrización más adecuada.

El método de orbitales moleculares, debe salvar las limitaciones del cálculo, impuestas por la complejidad matemática de los datos a utilizar y entonces significará un camino, para llegar al mejor conocimiento de los mecanismos en que están implicados los medicamentos.

En este punto es interesante el Simposium celebrado en 1972, en el Laboratorio de Investigación de I.B.M., San José, California, sobre los métodos de Computación para grandes moléculas, bajo la dirección de Herman Mc. Lean y Nesbet, donde se establece una cooperación, *entre especialistas en sistema de computación*, físicos y bioquímicos, para la resolución de problemas que afectan a todos estos campos de actividad.

En el IFE se están formando personas que relacionadas con los problemas farmacológicos adquieren una formación matemática suficiente para poder crear una escuela en colaboración con las Facultades de Física y Farmacia.

La tercera línea de acción viene representada por el llamado modelo de Novo, basado en el modelo de Free-Wilson, introducido en 1964 (*J. Med. Chem.*, 7, 395, 1964), que representa un enfoque diferente del problema; es un *modelo aditivo*, que no exige tan laborioso cálculo de parámetros, pero que proporciona *mejor información* sobre el mecanis-

mo de la reacción biológica y no puede ser utilizado para compuestos que *contengan sustituyentes no incluidos* en el análisis inicial de la serie.

La hipótesis básica del modelo es que *la actividad de cada molécula puede ser expresada como la suma de las contribuciones de cada particular sustituyente de esta molécula más una constante*, así en una molécula con sustituyentes A y B, cuya contribución de la actividad de la molécula pueda expresarse por S(A) y S(B), respectivamente la actividad observada puede ser definida por:

$$\text{Actividad} = S(A) + S(B) + K,$$

siendo K una constante.

En una molécula tal como un núcleo con 3 posiciones A, B, C, en la que cada una puede llevar 3 sustituyentes:

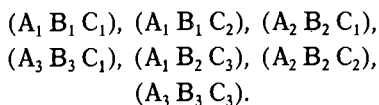
$$A = A_1, A_2, A_3;$$

$$B = B_1, B_2, B_3;$$

$$C = C_1, C_2, C_3;$$

existen 27 posibles análogos ($3 \times 3 \times 3$). En este modelo no es necesario experimentar la actividad biológica (D.L.50, E.D.50, etc.), en cada uno de los 27 compuestos análogos; *estableciendo subgrupos de modo que cada subgrupo contenga al menos dos veces cada sustituyente*, pueden elegirse para ser evaluados experimentalmente 7 moléculas puede predecirse la actividad para las 20 moléculas remanentes.

Por ejemplo, puede elegirse para ser evaluados experimentalmente 7 moléculas expresadas por:



Si las actividades observadas para cada subgrupo son B_1, B_2 , entonces los correspondientes sistemas de ecuaciones serán:

$$\begin{aligned} S(A_1) + S(B_1) + S(C_1) + &= \beta_1 \\ S(A_1) + S(B_1) + S(C_2) + &= \beta_2 \\ S(A_2) + S(B_2) + S(C_1) + &= \beta_3 \\ S(A_2) + S(B_2) + S(C_2) + &= \beta_4 \\ S(A_3) + S(B_3) + S(C_3) + &= \beta_5 \\ S(A_3) + S(B_3) + S(C_1) + &= \beta_6 \\ S(A_1) + S(B_2) + S(C_3) + &= \beta_7 \\ 3 S(A_1) + S(A_2) + S(A_3) &= \beta_0 \\ 2 S(B_1) + S(B_2) + S(B_3) &= \beta_0 \\ 3 S(C_1) + S(C_2) + S(C_3) &= \beta_0 \end{aligned}$$

Siendo $A(A_1)$ la contribución del sustituyente A_1 , y

$$= \frac{\frac{7 B_1}{1}}{7},$$

es decir, el promedio de la actividad total ($B_1 + B_2 + \dots, B_3$).

Resolviendo este sistema de ecuaciones, se obtienen los valores para

$$S(A_1), S(A_2) \dots, S(C_3).$$

Entonces utilizando estos valores puede predecirse la actividad para las 20 moléculas remanentes; por ejemplo la actividad de la molécula no ensayada ($A_2 B_3 C_1$) puede ser obtenida como:

$$B = S(A_2) + S(B_3) + S(C_1).$$

Cuanto mayor sea el número de sustituyentes que se consideren para cada locación o segmento de la molécula, mayor es la economía que proporciona este modelo.

Free y Wilson en su trabajo original analiza la actividad de 10 antibióticos del grupo de las tetraciclinas y la actividad analgésica de 29 indaminas (*J. Med. Chem.*, 7, 395, 1964), obteniendo buenas correlaciones. Purcell, posteriormente (*Bioch. Biophys. Acta*, 105, 201, 1965) usa el modelo de Free y Wilson para calcular la actividad inhibidora *butiril colinesterasa* de 12 derivados de 3 carbamoil piperidina, y sobre la base de sus resultados predice la actividad de 26 nuevos derivados relacionados; 4 años después fue sintetizado uno de estos derivados predichos, la 10-decil-A (*N*-etil carbamoil) piperidina, la actividad calculada I_{50} (molaridad que produce el 50 % de inhibición) era de $0,78 \cdot 10^{-5} M$. Este resultado ha sido en realidad el primer éxito del modelo Novo.

Chu, Feldmann y Saphiro y col. han publicado en *J. Med. Chem.*, junio de 1975, pág. 539, una aplicación del método Free Wilson para la predicción de la actividad antitumoral en diversas estructuras, utilizando métodos de computación tales como el método del más «próximo vecino» (Nilsson y Learning Machines. Mc. Graw Hill, 1965), que resuelve el programa de la determinación de distancia entre puntos en un espacio n dimensional o el método de Isenhour y Jurs (*Anal.*

Chem., 43-20, 1971) y de Foley (IEEE Tans. Inf. Theor., 18, 618, 1972); consideran una molécula como un punto en un espacio n dimensional y en el que cada dimensión representa una unidad de subestructura presente en la molécula estudiada. El valor para cada dimensión en cada molécula estudiada es el número de veces que está representada esta unidad subestructural en la molécula. Si la primera dimensión es un grupo amino, el valor de esta dimensión será el número de grupos amino presentes en la molécula.

Es necesario que cada grupo sea perfectamente reconocido y clasificable y que sea posible computarse, tal como los incluidos en el *Chemical Abstract Service* (CAS), que comprende 2,7 millones de compuestos registrados. Chu y colaboradores definen tres tipos de unidades subestructurales.

El primero o *fragmento atómico central* es el fragmento básico utilizado en el sistema CAS, este fragmento es definido por un átomo (hidrógeno excluido) y los átomos adyacentes y sus enlaces correspondientes.

La segunda unidad subestructural se produce por el hecho del cambio de la actividad biológica en función del número de carbonos que separan dos heteroátomos. Así en derivados de fenotiacina si $n = 2$ tiene actividad antihistamínica y si $n = 3$ tranquilizante.

En otro caso, si $n = 10$ en un compuesto bis-amonio cuaternario, la actividad es ganglionar y si $n = 6$ inhibidor ganglionar; entonces el término sería como el camino desde un heteroátomo a otro.

La tercera unidad corresponde a las cualidades de los anillos de la molécula.

Un propósito de esta unidad subestructural es poner de manifiesto anillos embebidos en la estructura total.

Chu, Feldman y Saphiro codifican 421 unidades subestructurales (161 fragmentos atómicos, 129 heteropath y 131 fragmentos anulares) y encuentran nuevas estructuras de acción antitumoral cuya actividad puede ser predecible antes de ser sintetizadas.

En todo caso no basta con obtener una molécula activa. Las necesarias pruebas de eficiencia impuestas por la administración hacen que, sobre todo en la farmacología clínica y en el exhaustivo ensayo clínico se origine la principal dificultad para poner en el mercado una nueva molécula activa. En el último informe de la OMS, de 1975, núm. 563 elaborado por el grupo científico reunido del 14 al 18 de octubre de 1974 se especifica el conjunto de pruebas necesarias. La farmacocinética, la biodisponibilidad, las pruebas de seguridad y las clínicas determinan el último juicio para reducir el tiempo y el espacio en la síntesis de nuevas moléculas.