

Estudio de relación estructura química actividad antimalárica de compuestos quinoidales obtenidos por síntesis

D. Caro¹, M. Flórez¹, R. Gaitán¹, E. Martínez^{2,3},
R. Baldiris⁴ y R. Vivas-Reyes^{2*}

¹Grupo de Productos Naturales, Universidad de Cartagena. Facultad de Ciencias Farmacéuticas. ²Grupo de Química Cuántica y Teórica. Programa de química Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Universidad de Cartagena. ³Grupo de investigación CIPTec, Programa Ingeniería Industrial. Fundación Universitaria Tecnológico Comfenalco. Cartagena. Colombia. ⁴Grupo de Microbiología Clínica y Ambiental. Universidad de Cartagena, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Programa de Biología. Campus de San Pablo. Cartagena-Colombia

Study of relationship chemical structure antimalarial activity of quinoidal compounds obtained by synthesis

Estudi de la relació estructura química-activitat antimalàrica de compostos quinoidals obtinguts per síntesi

RECEIVED: 17 MAY 2016; REVISED: 25 NOVEMBER 2016; ACCEPTED: 25 NOVEMBER 2016

SUMMARY

16 compounds were selected which exhibit anti-malarial activity. From these molecules, 3D-QSAR CoMFA and CoMSIA models were obtained through the SYBYL 8.0 program. For which they were used own programs of the computational chemistry, such as Sybyl X 2.0 and GaussView4.1 among others.

We obtained robust models, using the training sets and test 13 and 3 molecules respectively. The results were statistically significant for the models obtained. The CoMSIA model yielded a q^2 of 0.605, an r^2 of 0.852 and an unvalidated r^2 of 0.807. These statistical calculations showed that these models were able to perform predictions of activity for this type of compounds.

From the CoMSIA model obtained, it was possible to design 6 new molecular structures that proved to be theoretically much more active than their precursors.

Keywords: 3D-QSAR; CoMFA; CoMSIA; Malaria; quinoidal molecules.

RESUMEN

Se seleccionaron 16 compuestos los cuales presentan actividad antimalárica. A partir de estas moléculas se obtuvieron modelos 3D-QSAR CoMFA y CoMSIA a través del programa SYBYL 8.0. Para las cuales se utilizaron programas propios de la química computa-

cional, talas como el Sybyl X 2.0 y GaussView4.1 entre otros.

Se obtuvo unos modelos robustos, utilizando los conjuntos de entrenamientos y prueba 13 y 3 moléculas respectivamente. Los resultados fueron estadísticamente significativos para los modelos obtenidos. El modelo CoMSIA arrojó un q^2 de 0.605, un r^2 de 0.852 y un r^2 no validado de 0.807. Mediante estos cálculos estadísticos se demostró que estos modelos eran aptos para realizar predicciones de actividad para este tipo de compuestos.

A partir del modelo CoMSIA obtenido, fue posible diseñar 6 nuevas estructuras moleculares que demostraron ser teóricamente mucho más activas que sus precursoras.

Palabras clave: 3D-QSAR; CoMFA; CoMSIA; malaria; moléculas quinoidales

RESUM

Es van seleccionar 16 compostos els quals presenten activitat antimalàrica. A partir d'aquestes molècules es van obtenir models 3D-QSAR, CoMFA i CoMSIA mitjançant el programa SYBYL 8.0. Es van utilitzar programes propis de la química computacional, tals com el Sybyl X 2.0 i GaussView 4.1 entre d'altres.

*Corresponding author: rvivasr@unicartagena.edu.co

Es van obtenir uns models robustos, utilitzant els conjunts d'entrenaments i prova 13 i 3 molècules, respectivament. Els resultats van ser estadísticament significatius per als models obtinguts. El model CoMSIA va donar un q^2 de 0,605, un r^2 de 0,852 i un r^2 no validat de 0,807. Mitjançant aquests càlculs estadístics es va demostrar que aquests models eren aptes per a realitzar prediccions d'activitat per a aquest tipus de compostos.

A partir del model CoMSIA obtingut, va ser possible dissenyar 6 noves estructures moleculars que van demostrar ser teòricament molt més actives que les seves precursors.

Paraules clau: 3D-QSAR; CoMFA; CoMSIA; malària; molècules quinoidals.

INTRODUCCIÓN

La malaria es una enfermedad tropical importante, que mata a aproximadamente a dos millones de personas cada año¹. La búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas para su tratamiento han sido prioritarias en la lucha por el control de esta enfermedad, debido a que el comportamiento epidemiológico de la enfermedad en las últimas décadas ha ido en claro ascenso².

Aunque el tratamiento terapéutico indicado para la malaria existe y es bastante efectivo, el difícil acceso que tiene la población que más padece la enfermedad, los tratamientos incompletos y la gran capacidad de mutación que tiene el microorganismo, ha conducido a que estos en su gran mayoría ya no sean tan efectivos para todas las cepas de *Plasmodium sp*³. Debido al aumento de la resistencia del parásito a muchos de los medicamentos antimaláricos, se hace evidente la necesidad de buscar alternativas terapéuticas, ojalá con diferentes mecanismos de acción, para así garantizar la eficacia del medicamento⁴.

La eficacia de un fármaco dependerá en gran medida de la rigurosidad de su diseño, es por ello que en la búsqueda de nuevos prototipos, una alternativa de uso actual es el diseño de fármacos asistidos por computadores, estrategia que ofrece un abanico amplio de posibilidades para lograr este objetivo y que se ha convertido en una de las alternativas de ahorro de tiempo y dinero, incrementando las posibilidades de obtener un mejor prototipo en comparación con los métodos tradicionales, por tal motivo, los métodos computacionales se han constituido en herramientas de gran utilidad; a través de ellos, es posible obtener información valiosa que soportaría la búsqueda racional de nuevos agentes con mejor actividad terapéutica.

En este sentido algunas moléculas de naturaleza quinoidal han sido probadas como potentes agentes antipalúdicos, e incluso algunas con el núcleo

quinoidal, como la molécula de atovaquona^{1,5,6}. Este estudio tiene como objetivo mostrar qué tipo de propiedades moleculares influyen en la actividad biológica de una serie constituida por 16 compuestos quinoidales, para lo cual se utilizó un conjunto de programas propios de la química computacional que permiten la visualización tridimensional molecular, a través de la cual, se pueden realizar rotaciones, traslaciones, operaciones de superposición de estructuras y variaciones sistemáticas de los ligandos, que nos ayudaron a detectar aquellas regiones moleculares que son indispensables para la actividad (ver Tablas 1 y 2). Los estudios de Relación Cuantitativa Estructura Actividad Tridimensional (3D-QSAR) fue la alternativa a utilizar en el presente estudio, debido a que nos ayudó a entender, cómo influyen las propiedades moleculares y su estructura sobre la actividad biológica⁷.

METODOLOGÍA

Los datos de actividad inhibitoria *in vitro* (IC_{50}) y los compuestos quinoidales ensayados fueron suministrados por el Grupo de Productos Naturales de la Universidad de Cartagena^{2,8}. Se trabajó con 16 moléculas quinoidales sintetizadas (Tab.1 y 2) de las cuales 3 de ellas se excluyeron del estudio para la posterior validación del modelo. Para explicar la metodología empleada, seguimos la serie de pasos que se describen a continuación:

Conformación molecular y alineamiento

Las moléculas fueron ejecutadas usando el programa Gaussian 03⁹ junto con el funcional de la densidad B3LYP^{10,11}, y la base de cálculo 6-31G*¹², con el objetivo de obtener, un mínimo de energía para cada una de las moléculas en estudio, lo que permitió obtener estructuras con una conformación estable y adecuada para el posterior alineamiento. Después de esto, se llevaron a cabo los estudios de modelamiento molecular utilizando el paquete de programas Sybyl 8.0¹³.

Diseño de los modelos CoMFA (Análisis Comparativo de Campos Moleculares) y CoMSIA (Análisis Comparativo de Semejanza Molecular)

Uno de los parámetros más relevantes en los 3D-QSAR es el alineamiento relativo de todas las moléculas a otra conformación comparable, así como orientación similar en el espacio¹⁴. Para el alineamiento se escogió el compuesto más activo **RC12**, de esta estructura, se seleccionó nueve átomos como fragmento común para la superposición en todas las moléculas de estudio, como se observa en la Figura 1. Dicho paso, se realizó por el método DATABASE ALIGNMENT del programa Sybyl 8.0.

Tabla 1. Derivados Quinoidales utilizadas en la realización del nuestro modelo (Conjunto de Entrenamiento).

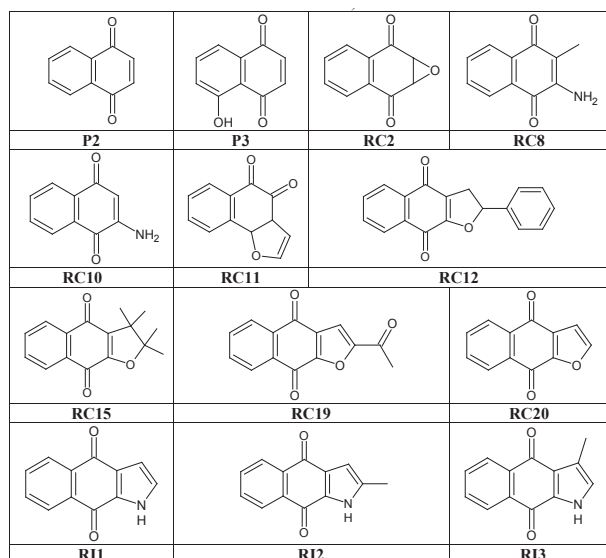


Tabla 2. Derivados Quinoidales tomados para la validación del modelo (Conjunto de Prueba).

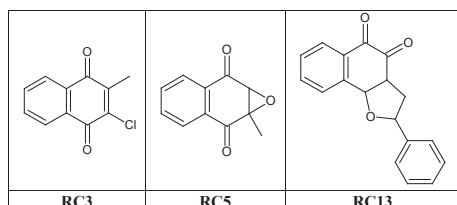
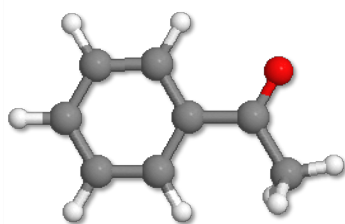


Figura 1. Estructura común de las moléculas de estudio para el alineamiento.



Luego se realizaron los cálculos para obtener los modelos CoMFA y CoMSIA (15), con el fin encontrar la relación cuantitativa estructura actividad de esta serie de 16 moléculas quinoidales. Se seleccionaron varios ensayos al azar, para conformar el conjunto de entrenamiento, teniendo en cuenta que fueran representativas de los rangos de pIC_{50} presentes en el conjunto de moléculas objeto de estudio y basándonos en el q^2 que arrojaba el análisis *Leave-one-out* (LOO)¹⁵, el conjunto molecular que nos arrojó el mejor q^2 fue el conjunto de entrenamiento escogido, ya que, el valor de q^2 fue superior a 0.5 considerado según nuestra bibliografía como un buen modelo predictivo.

Para el análisis CoMFA y CoMSIA, las moléculas resultantes del alineamiento, fueron colocadas en una caja tridimensional, de manera tal, que el conjunto entero se incluyera. Los campos de energía estéricos y

electrostáticos para el CoMFA y los hidrofóbicos, además de los 2 campos anteriormente mencionados para el CoMSIA, se calcularon aplicando el campo de fuerza estándar de Sybyl 8.0. Los campos CoMFA y CoMSIA que se generaron, sirvieron como variables independientes y el $(-\log IC_{50})$ como una variable dependiente en el análisis de regresión PLS, cuando se dedujo el modelo 3D-QSAR¹⁶. Normalmente, la validación cruzada es utilizada para chequear la capacidad predictiva del modelo, para examinar esta aptitud, se calculó el rendimiento del modelo usando la técnica de validación cruzada *Leave-one-out* (LOO). En esta etapa la opción "*column filtering*" se tomó con un valor de 2.0 kcal/mol¹⁷, de tal manera que omitiera aquellos puntos cuyas variaciones en la energía estuvieran por debajo de este umbral y así aumentar la reproducibilidad del método. El número óptimo de componentes usado para derivar el modelo no validado está definido como el número que permite el más alto valor para el r^2 de la validación cruzada, así como el más bajo error estándar de predicción (SEP)¹⁸; este número fue dos. Para obtener el límite de confianza estadística, se llevó a cabo un análisis PLS usando 100 grupos de *bootstrapping*¹⁸.

La primera condición que debe cumplirse para utilizar un resultado de modelos QSAR es la validez del modelo QSAR. Para verificar esto, se siguieron los cinco principios de la OCDE para validar los modelos QSAR y de los criterios de validación interna y externa de nuestro modelo. Para esto último las moléculas que se diseñen serán tomadas como un conjunto externo y de esta manera hacer la validación externa.

Diseño de nuevas moléculas basado en el modelo CoMSIA

En esta fase se tomó como base la molécula más activa (RC12), se le realizaron una serie de modificaciones con la idea de encontrar moléculas que pudiesen tener una actividad mayor que esta. Dichas modificaciones, se basaron en el modelo CoMSIA obtenido¹⁹.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las técnicas CoMFA y CoMSIA fueron empleados para derivar el modelo 3D-QSAR en los derivados quinoidales sintetizados que poseen actividad antimalarica. El logaritmo negativo de la actividad biológica, expresada como pIC_{50} , se utilizó como variable dependiente en los cálculos estadísticos que se realizaron(15). Las moléculas más estables obtenidas de la optimización mediante el método B3LYP/6-31G* fueron utilizadas para este estudio. Todos los compuestos fueron alineados por el método DATABASE ALIGNMENT (fig.2). Los modelos CoMFA y CoMSIA fueron obtenidos usando 13 moléculas para un conjunto de entrenamiento, mientras que para el conjunto de prueba se usaron las 3 moléculas que fueron utilizadas para la validación externa. El poder predictivo del modelo 3D-QSAR, derivado del conjunto de compuestos quinoidales, fue evaluado por la predicción de la actividad biológica de las moléculas del conjunto de prueba

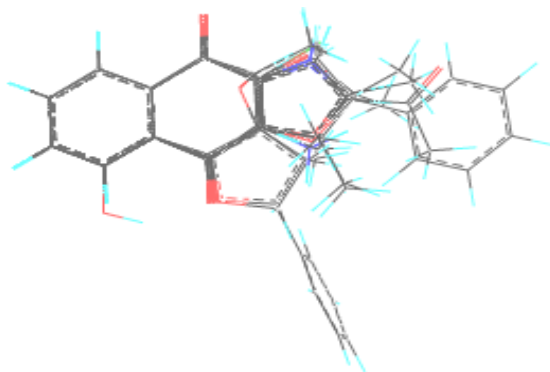


Figura 2. Alineamiento Espacial de las Moléculas de Estudio.

Los cálculos CoMSIA son mostrados en las Tablas 3 y 4 donde se aprecian las actividades experimentales, predichas y los residuales resultantes de la diferencia de las 2 actividades antes mencionadas, notemos que no se encontraron valores atípicos conocidos como outliers, ya que, ningún residual superó + 1 unidad logarítmica. Lo mismo se observa en la **fig.3** en donde se muestra que los valores encontrados poseen una buena correlación arrojándonos un valor de $R^2=0.806$.

Los contornos generados por el método CoMFA, es decir, los campos estéricos y electrostáticos, se analizaron igual a los campos generados por el CoMSIA, debido a que estos contornos son muy similares pero el algoritmo utilizado por el CoMSIA abarca más campos que el CoMFA y en este sentido es más completo, ya que, además de estos campos, CoMSIA, incluye en sus cálculos el campo hidrofóbico que, como veremos más adelante, influye de manera importante en la actividad.

Tabla 3. Actividades Antimalárica de las moléculas de estudio Modelo CoMSIA expresada como CI50 (μM) (Conjunto de Entrenamiento).

Compuesto	Actividad biológica(A.B)	A.B. Predicha	Residual
P2	3.50	3.82	-0.32
P3	4.57	3.82	0.75
RC2	3.76	3.97	-0.21
RC3	4.07	4.48	0.41
RC5	3.74	4.26	-0.52
RC8	4.93	4.46	0.47
RC10	3.55	4.23	-0.68
RC11	3.88	3.94	-0.06
RC12	5.96	6.22	-0.26
RC13	4.44	4.38	0.06
RC15	5.18	5.35	-0.17
RC19	5.85	5.80	0.05
RC20	5.68	5.28	0.40
RI1	3.64	3.82	-0.18
RI2	3.62	3.89	-0.27
RI3	4.85	4.34	-0.51

En estos métodos utilizados, los resultados se presentan como mapas de contorno (Fig.4), estos correlacionan los cambios en la actividad biológica con los campos moleculares. En la Fig.4a observamos los 3

campos generados con CoMSIA junto con la molécula más activa (RC12). Los campos estéricos están representados por los colores verde y amarillo (Fig.4b), el color verde indica las regiones de la molécula en donde grupos estéricamente abultados favorecerían la actividad, mientras que, en el amarillo estos grupos desfavorecerían la actividad. En la Fig.4c se muestran el campo electrostático representado por el color azul, en donde favorecerían la actividad grupos electrodonadores. Por último, el campo hidrofóbico (Fig.4d), representado por los colores magenta y naranja, donde, en la región magenta, interacciones hidrofóbicas favorecerían la actividad y en la región naranja dichas interacciones desfavorecerían la actividad.

Es importante aclarar que el ensayo para determinar la actividad biológica fue aplicado a la mezcla racémica de los derivados quinoidales enantioméricos. Para la realización de nuestro modelo, se escogió el enantiómero R de la molécula RC12 (Tab.5) asumiendo para este la actividad biológica, ya que, realizando los mismos cálculos con el enantiómero S obteníamos el mismo modelo (Tab.6). Esto se corroboró calculando la actividad predicha del enantiómero S en el modelo realizado con este, el valor arrojado fue 6.19, casi igual a la actividad predicha del R cuyo valor fue 6.22. Lo anterior reveló que en nuestro modelo la estereoquímica de este carbono quiral no es fundamental para la actividad biológica, obteniéndose para cada uno modelos muy similares al trabajarlos por separado y asumiendo para cada uno la actividad biológica de la mezcla racémica.

Tabla 4. Actividades Antimalárica de las moléculas de estudio Modelo CoMSIA expresada como CI50 (μM) (Conjunto de Prueba).

Compuesto	Actividad biológica(A.B)	A.B. Predicha	Residual
RC3	4.07	4.48	0.41
RC5	3.74	4.26	-0.52
RC13	4.44	4.38	0.06

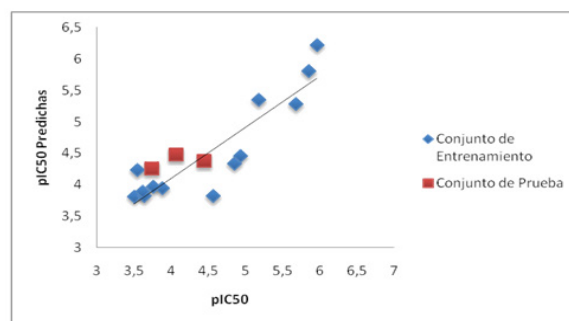


Figura 3. Gráfica de la actividad biológica vs predicha por el modelo CoMSIA.

Lo mismo sucede al predecir las actividades de las moléculas RC5 y RC13 que también poseen carbonos quirales, ya que, RC5 2S3R posee una actividad predicha de 4.18 muy similar a la del 2R3S de valor 4.26, que está incluida en el conjunto de prueba. El enantió-

mero S de la RC13 se le calculó la actividad predicha dando un valor de 4.35 y el del R es 4.38 perteneciente también al conjunto de prueba.

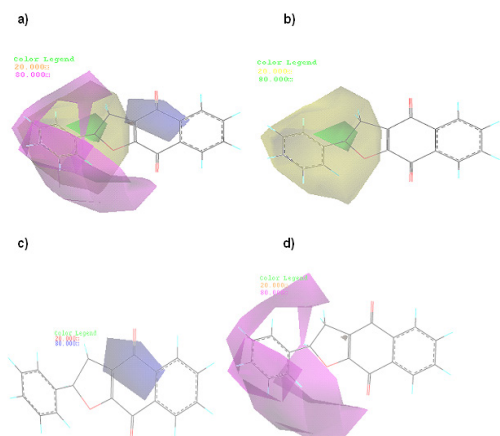


Figura 4. Campos Moleculares CoMSIA junto con la molécula más activa (RC12). a) Campo Estérico- Electroestático- Hidrofóbico, b) Campo Estérico y c) Campo Electroestático y d) Campo Hidrofóbico.

Tabla 5. Resumen de los resultados CoMSIA el enantiómero R de la RC12.

Cálculo	Valor
R ² Validación cruzada (q ²)	0,605
R ² Validación cruzada (r ²)	0,644
Número de componentes	2
R ² no validado	0,807
Error estándar de estimación	0,440
Valor de F	20,900
R ² _{bs} para 100 corridas de bootstrapping	0,869
Desviación estándar	0,069
Probabilidad de que R ² =0	0
CONTRIBUCIONES	
Mapa Estérico	17,9%
Mapa Electroestático	45,2%
Mapa Hidrofóbico	36,9%

Tabla 6. Resumen de los resultados CoMSIA para el enantiómero S de la RC12.

Cálculo	Valor
R ² Validación cruzada (q ²)	0,598
R ² Validación cruzada (r ²)	0,629
Número de componentes	2
R ² no validado	0,815
Error estándar de estimación	0,371
Valor de F	21,006
R ² _{bs} para 100 corridas de bootstrapping	0,873
Desviación estándar	0,065
Probabilidad de que R ² =0	0
CONTRIBUCIONES	
Mapa Estérico	19,5%
Mapa Electroestático	42,5%
Mapa Hidrofóbico	38%

El modelo CoMSIA obtenido, se aprecia en la **Tab.5**, el campo electrostático es el que contribuye en mayor proporción a la actividad biológica, es decir, que sustituciones moleculares de este tipo, en la parte de la molécula en donde se ubica dicho campo, afectarían de manera

directa la actividad. Como se aprecia en la Fig.4c, este campo se ubica solamente en el grupo carbonilo que se encuentra en posición 4 de la molécula más activa (RC12). Al realizar modificaciones al oxígeno(O) de este grupo carbonilo por grupos electrodonadores, aumenta la actividad de la molécula (Tab.7). Es por esto que, se concluye que el poliedro azul está asociado a grupos electrodonadores, ya que, cuando se presenta una sustitución del O por S (azufre) o por el grupo NH₂ (amino) se cumple el siguiente orden de aumento de actividad: O<S< NH₂. Por el contrario, al reemplazar por elementos menos electrodonadores que él O, como el Cl (cloro) o F (flúor), disminuye la actividad, ya que, estos elementos tienden a retener mucho más los electrones, disminuyéndose de esta manera las interacciones electrostáticas que ellos puedan tener con el campo.

Tabla 7. Cambios en el campo electrostático ubicado en el carbono 4 de la molécula más activa (RC12).

Cambio	Por	Actividad
Oxígeno del Grupo Carbóilo	Fluor	6,06
	Cloro	6,07
	Grupo Amido	6,08
	Azufre	6,23
	Grupo Amino	6,29

Igual que CoMFA, CoMSIA también calcula un campo estérico (**fig.4b**) que en proporción es mucho menor que el calculado con CoMFA (**Tab.5**) pero se ubica de igual manera espacial que en el modelo CoMFA, a pesar de esta baja proporción, modificaciones de este tipo afectan significativamente la actividad de las moléculas. Esto se evidencia al observar la **Tab.8**, en donde se realizaron sustituciones en el H (hidrogeno) del C (carbono) 2 de la molécula RC12. Como vemos, el aumento de la cadena carbonada de los sustituyentes, favorece la actividad, debido a que se aproximan al campo estéricamente favorable (poliedro verde), además, se observa que sustituyentes con el mismo número de carbonos pero de cadenas ramificadas incrementan mucho mas la actividad, ya que, abarcan de manera más amplia el poliedro verde.

Tabla 8. Cambios en el campo estérico en el hidrogeno del carbono quiral de la molécula más activa (RC12).

Cambio	Por	Actividad
Hidrogeno	Metil	6,29
	Etil	6,42
	Propil	6,43
	Isopropil	6,47
	Butil	6,45
	Terc-butil	6,56
	Sec-butil	6,57
	Ciclohexano	6,49
	Metilciclohexano	6,53
	Fenil	6,35
	Bencil	6,36

CoMSIA, además de calcular el campo estérico y electrostático, nos ilustra otro campo, el hidrofóbico (**fig.4d**), que nos ayuda a comprender mejor el comportamiento espacial de estas moléculas, tanto así,

que modificaciones de este tipo, en las moléculas estudiadas, influyen más en la actividad que el campo estérico. La **Tab.9**, nos ilustra las sustituciones que se realizaron al grupo fenil del C2 de la molécula más activa (RC12) para observar cambios en la actividad, ya que, este sustituyente se encuentra sumergido completamente en el poliedro magenta, que indica zonas en donde se favorece la actividad con interacciones tipo hidrofóbicas.

Tabla 9. Cambios en el campo hidrofóbico en el carbono quiral (2) de la molécula más activa (RC12).

Cambio	Por	Actividad
Grupo Fenil	Hidrogeno	5,55
	Metil	5,89
	Etil	6,07
	Propil	6,17
	Isopropil	6,21
	Butil	6,21
	Sec-butil	6,31
	Terc-butil	6,35
	Bencil	6,22
	Metilciclohexano	6,30
Ciclohexano	6,40	

El análisis de las diferentes actividades que presentan las moléculas que hacen parte de nuestro estudio, se realizó con base a 3 parámetros de evaluación:

- Grupos con estructuras similares entre sí
- Similitud de los grupos comparada con RC12
- Ubicación de las estructuras del grupo en los campos CoMSIA

Comencemos con las moléculas RC19 y RC20 (**fig.5**) que, a diferencia de la RC12, no poseen sustituyentes ubicados en el campo hidrofóbico favorable, razón por la cual, presentan menor actividad que la RC12. Ahora, en lo que se refiere a la diferencia de actividad entre ellas, RC19 posee un grupo acetilo completamente sumergido en el poliedro verde (estérico favorable), mientras que, RC20 en vez de este grupo posee un H que es menos voluminoso y por esto disminuye la interacción con este campo reflejándose en la actividad (**fig.6**).

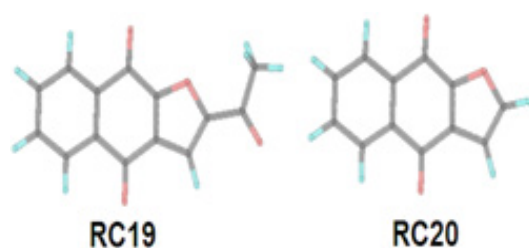


Figura 5. Estructuras de las moléculas RC19 y RC20.

En lo que se refiere a diferencia de actividades entre las moléculas RC15 y RC12, se explica utilizando el campo hidrofóbico, ya que RC12 posee un grupo fenil que favorece más las interacciones con este campo que los 2 grupos metil que posee RC15. Sumado a esto

RC15 tiene dos grupos metilo orientados hacia la zona estéricamente desfavorable (amarilla) (**Fig.7 y 8**).

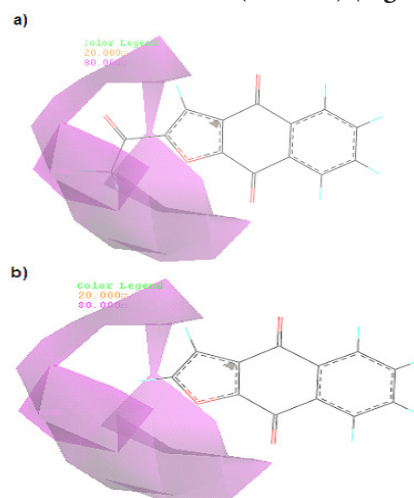


Figura 6. Campos Hidrofóbicos de las moléculas RC19 y RC20. a) Campo Hidrofóbico de la RC19 y b) Campo Hidrofóbico de la RC20.

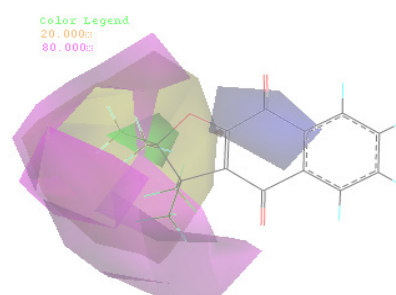


Figura 7. Campos moleculares CoMSIA junto con la molécula RC15.

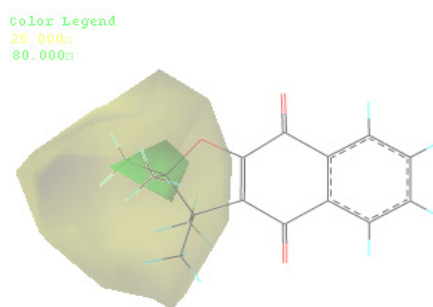


Figura 8. Campo Estérico de la molécula RC15.

Ahora, comparando RI1, RI2 y RI3 (**fig.9**) con RC12, ninguna de ellas posee grupos dentro del poliedro magenta como RC12. En cuanto a la diferencia de actividades entre ellas, RI3 posee un grupo metilo dentro del campo hidrofóbico favorable (**fig. 10**) que las otras dos no poseen, además de esto, RI2 (**fig. 11**) posee un grupo metilo en la zona amarilla en donde se requiere grupos que no sean abultados, como el H que posee RI1, por esta razón la RI2 es la de más baja actividad dentro de este grupo.

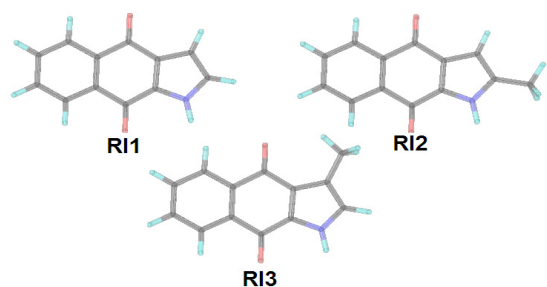


Figura 9. Estructuras de las moléculas RI1, RI2 y RI3.

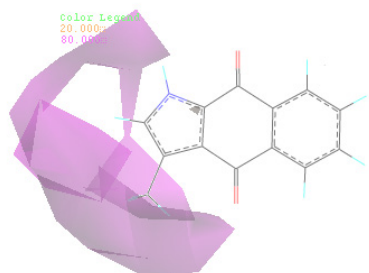


Figura 10. Campo Hidrofóbico de la molécula RI3.

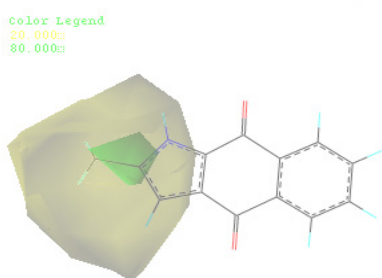


Figura 11. Campo Estérico de la molécula RI2.

Las moléculas RC8 y RC10 (**fig. 12**) al no poseer en su estructura el anillo furano que posee la RC12, se les dificulta orientar sustituyentes hacia los campos estéricos e hidrofóbicos. Sin embargo, RC8 (**fig. 13**) posee un grupo metilo en posición 3 orientado hacia el campo estérico favorable, siendo más activa que RC10 que no lo posee.

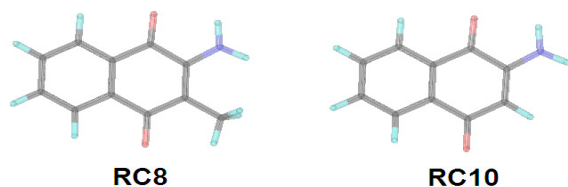


Figura 12. Estructuras de las moléculas RC8 y RC10.

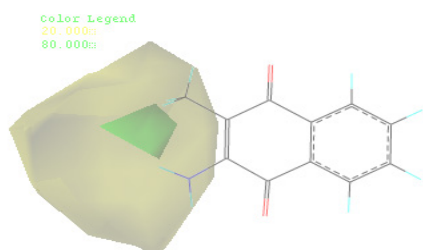


Figura 13. Campo Estérico de la molécula RC8.

La molécula RC11 (**fig. 14**) presenta baja actividad con respecto a la molécula más activa, RC12, debido a que en vez del grupo fenil que posee esta última, tiene un H que es menos hidrofóbico.

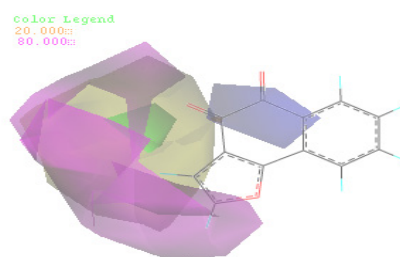


Figura 14. Campos moleculares de la RC11.

Por último, comparando la molécula más activa, RC12, con la menos activa del estudio, P2 (**fig. 15**), notamos la ausencia del anillo furano en la P2, llevando a que tampoco tenga sustituyentes dentro de los campos estéricos e hidrofóbicos para favorecer aún más la actividad (**fig. 16**).

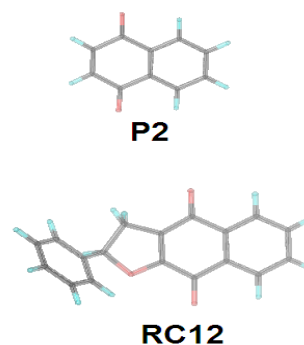


Figura 15. Estructuras de las moléculas P2 y RC12.

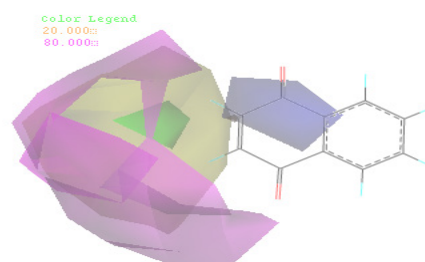


Figura 16. Campos moleculares CoMSIA junto con la molécula P2.

Diseño de nuevas moléculas basados en el modelo CoMSIA.

En este estudio se diseñaron otras 6 nuevas estructuras moleculares, haciendo cambios en forma manual a la molécula más activa, basados en el modelo CoMSIA teniendo en cuenta cuáles eran tipos de sustituyentes que favorecerían o no la actividad de los derivados sintetizados. Las 6 estructuras diseñadas tienen actividades predichas bastante altas. Los cambios principales que se realizaron a nivel de los sustituyentes en el carbono 2 y en oxígeno del carbono 4 de la molécula más activa (**ver Tablas 7-10**). A los

diseños obtenidos a partir de la molécula con actividad más baja, se le realizaron las sustituciones de la siguiente manera:

- Modificaciones realizadas al hidrogeno del Carbono quiral de la molécula más activa se le aplicaron al hidrogeno del Carbono 3 (cambios estéricos).
- Modificaciones realizadas al grupo fenil del Carbono quiral de la molécula más activa se le aplicaron al hidrogeno del Carbono 2 (cambios hidrofóbicos).

A pesar de que el sustituyente Sec-Butil arrojó el valor más alto para cambios estéricos, se hicieron las siguientes modificaciones a la molécula más activa para obtener el mejor sustituyente que contribuiría al mejor diseño (**ver Tabla 11**). Dichas modificaciones se realizaron reemplazando el oxígeno del grupo carbonilo que se encuentra en posición 4 de la molécula más activa por un grupo amino y el grupo fenil que se encuentra en el carbono quiral de la misma molécula por un ciclohexano, ya que estos, fueron los grupos que más incrementaron más la actividad en esas posiciones.

Tabla 10. Modificaciones realizadas después de reemplazar el oxígeno del carbono 4 y el fenilo del carbono 2 de la molécula más activa (RC12).

Cambio	Por	Actividad
Hidrogeno	Fenil	5,60
	Butil	6,71
	Ciclohexano	6,74
	Isopropil	6,75
	Sec-butil	6,78
	Bencil	6,79
	Terc-butil	6,80
	Metilciclohexano	6,91

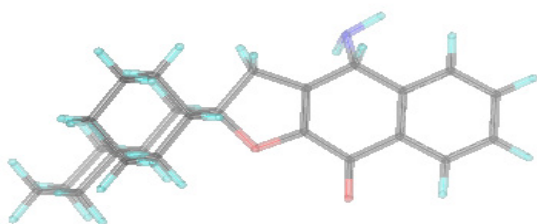


Figura 17. Diseño más activo a partir de la molécula más activa RC12.

Después de realizados todo lo anterior se concluyó que las modificaciones a realizar para el diseño de las nuevas moléculas son los siguientes:

- Campo Estérico: Metilciclohexano
- Campo Hidrofóbico: Ciclohexano
- Campo Electroestático: Grupo Amino

Las moléculas que se sometieron a los siguientes cambios fueron: P2, RI2 (catalogadas según los ensayos como de baja actividad), P3, RI3 (catalogadas según los ensayos como de media actividad), y RC19 (catalogadas según los ensayos como de alta actividad), esto con el fin de aumentar la actividad.

Dichos cambios se encuentran consignados **en la Tabla 11**.

Las moléculas diseñadas al ser moléculas completamente nuevas, se utilizaron para realizar la validación externa de nuestro modelo, los resultados mostrados en la tabla 11, indica que las estructuras diseñadas tienen actividades predichas bastante parecidas cercanas a las moléculas de partida, lo cual indica que nuestro modelo tiene una buena capacidad predictiva, haciéndolo un modelo útil para predecir la actividad biológica de moléculas estructuralmente parecidas a derivados quinoidales.

Tabla 11. Modificaciones realizadas para generar los diseños de las nuevas moléculas con base a los campos CoMSIA generados por el modelo).

Molécula	Cambios en el C2 Estérico favorable	Cambios en el C3 Hidrofóbico favorable	Actividad biológica
P2	H por Metilciclohexano	H por Ciclohexano	4,95
RI2	H del metil por Metilciclohexano	H por Ciclohexano	4,74
P3	H por Metilciclohexano	H por Ciclohexano	5,31
RI3	H por Metilciclohexano	Metil por Ciclohexano	4,90
RC19	COCH ₃ por Metilciclohexano	H por Ciclohexano	6,08

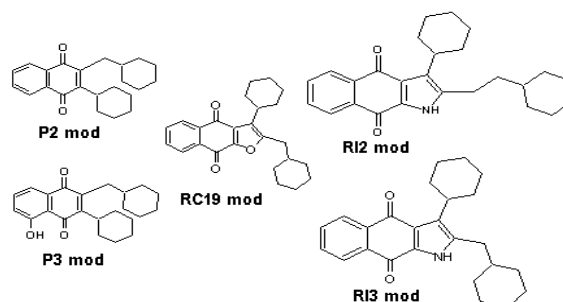


Figura 19. Diseños obtenidos a partir del modelo CoMSIA.

CONCLUSIONES

Se obtuvo un modelo confiable en cuanto a su capacidad predictiva 3D-QSAR utilizando el método CoMSIA, con un valor de $q^2 = 0.605$, construidos con dieciséis (16) derivados quinoidales y sus respectivas CI50 de actividad antimalarica.

A partir del modelo CoMSIA obtenido, se diseñaron 6 nuevas estructuras moleculares que demostraron ser mucho más activas que sus precursoras. Un punto importante a resaltar es que en el modelo obtenido no es posible diferenciar entre un enantiómeros S y un R, obteniéndose resultados muy similares al trabajarlos por separado, podemos llegar a suponer que la actividad no es enantioselectiva para este sustituyente específico, depende en este caso particular, de la química del carbonilo ubicado en el carbono de RC12 y no de la estereoquímica del Carbono 2 de la misma molécula.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kapadia, G.J.; Azuine, M.A.; Balasubramanian, V.; Sridhar, R. Aminonaphthoquinones--a novel class of compounds with potent antimalarial activity against *Plasmodium falciparum*. *Pharmacol Res.* **2001**, *43*, 363-367.
2. Gaitan, R.; Jaraba, S.; Alvarez, W.; Argüello, E. Obtencion de analogos de productos naturales y evaluacion de la actividad antimalarica frente a *Plasmodium falciparum*. *Scientia et Técnica.* **2007**, *33*, 5-12.
3. Färnert, A.; Lindberg, J.; Gil, P.; Swedberg, G.; Berqvist, Y.; Thapar, M.M.; et al. Evidence of *Plasmodium falciparum* malaria resistant to atovaquone and proguanil hydrochloride: case reports. *BMJ.* **2003**; *326*, 628-629.
4. Kouznetsov, V.V.; Gomez-Barrio, A. Recent developments in the design and synthesis of hybrid molecules based on aminoquinoline ring and their antiplasmodial evaluation. *Eur J Med Chem.* **2009**, *44*, 3091-3113.
5. Overbosch, D.; Schilthuis, H.; Bienzle, U.; Behrens, R.H.; Kain, K.C.; Clarke, P.D.; et al. Atovaquone-proguanil versus mefloquine for malaria prophylaxis in nonimmune travelers: results from a randomized, double-blind study. *Clin Infect Dis.* **2001**, *33*, 1015-1021.
6. © L-P. Atovaquone and Proguanil. [pdf] Fort Hood: CRDAMC Health Library; 2005 [cited 2009 9 de mayo]; Available from: <http://healthlibrary.epnet.com/GetContent.aspx?token=c5987b1e-add7-403a-b817-b3e-fe6109265&chunkiid=118977>.
7. Soo Jin Bang SJC. Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA) and Comparative Molecular Similarity Index Analysis (CoMSIA) Study of Mutagen X. *Bull Korean Chem Soc.* **2004**, *25*, 1525-1530.
8. Gaitan, R.; Jaraba, S.; Alvarez, W.; Méndez, J. Moleculas de tipo furanonanaftoquinonas con potencial actividad farmacológica en el tratamiento de la malaria evidenciado en ensayo antiplasmodial y cálculos computacionales. *Salud UIS.* **2009**, *40*, 143-145.
9. Inc G. Gaussian 09, Revision B.02. Pittsburgh **2009**.
10. Becke ADJ. *Chem Phys* **98**. 1993:5648.
11. C. Lee WY, R.G. Parr. *Phys Rev B* **37**. 1998:785.
12. W.J. Hehre RD, J.A. Pople, J. *Phys* **56**. 1972:2257.
13. Du, J.; Qin, J.; Liu, H.; Yao, X. 3D-QSAR and molecular docking studies of selective agonists for the thyroid hormone receptor beta. *J Mol Graph Model.* **2008**, *27*, 95-104.
14. Puntambekar, D.S.; Giridhar, R.; Yadav, M.R. 3D-QSAR CoMFA/CoMSIA studies on 5-aryl-2,2-dialkyl-4-phenyl-3(2H)-furanone derivatives, as selective COX-2 inhibitors. *Acta Pharm.* **2006**, *56*, 157-174.
15. Escalona, J.C.; Carrasco, R.; Padrón, J. A. Introducción al Diseño de Fármacos. La Habana: Laboratorio de Química Computacional y Teórica; **2005**. Available from: www.fq.uh.cu/investig/lqct/imagenes2/disenio.pdf
16. Gueto, C.; Torres, J.; Vivas-Reyes, R. CoMFA, LeapFrog and blind docking studies on sulfonanilide derivatives acting as selective aromatase expression regulators. *Eur J Med Chem.* **2009**, *44*, 445-3451.
17. Ikey Yildiz-Oren BT-G, Ozlem Temiz-Arpaci, Ismail Yalcin, Esin Aki-Sener Quantitative structure-activity relationships using Comparative Molecular Field Analysis studies on 2-(p-substituted benzyl)-5-(substituted carbonylamino) benzoxazoles as antibacterial agents against *Staphylococcus aureus* *Asian J Chem.* **2004**, *16*, 1359-1366.
18. Gueto C, Ruiz JL, Torres JE, Mendez J, Vivas-Reyes R. Three-dimensional quantitative structure-activity relationship studies on novel series of benzotriazine based compounds acting as Src inhibitors using CoMFA and CoMSIA. *Bioorg Med Chem.* **2008**, *16*, 2439-2447.
19. Amador, L. R. D.; Vivas, R. Diseño teorico de inhibidores de metaloproteinasa de matriz tipo 9 (MMP9). Cartagena: Universidad de Cartagena; **2009**.