

DESARROLLO DE UN MODELO CUANTITATIVO ESTRUCTURA-ACTIVIDAD (QSAR) BASADO EN ÍNDICES DE CONECTIVIDAD MOLECULAR, PARA ANTIHELMINTICOS DEL TIPO BENZIMIDAZOL

MIRIAM TELLO *
CLAUDIA C. CORREDOR *

compuestos en estudio. 6 nuevas moléculas, de un grupo de nueve analizadas, presentan buena actividad de acuerdo con este modelo.

RESUMEN

Se estableció una relación cuantitativa entre la actividad antihelmíntica de un grupo de benzimidazoles 2-metil carbamato 5(6) sustituidos (expresada como IC₅₀ o concentración micromolar requerida para inhibir el 50% de la polimerización de la tubulina) y su estructura química, la cual fué cuantificada por medio de índices de Chi (X) conectividad molecular, propuestos por Kier y Hall.

Para relacionar los valores experimentales de actividad antihelmíntica (IC₅₀) y los índices de conectividad molecular calculados (⁰X, ⁰X_v, ¹X, ¹X_v, ³X_p, ³X_{p_v}, ³X_c, ³X_{v_c}, ⁴X_p, ⁴X_{p_v}, ⁴X_{pc}, ⁴X_{pc_v}, ⁶X_p, ⁶X_{p_v}, ⁶X_{pc}, ⁶X_{pc_v}) se empleó análisis estadístico de regresión lineal simple y múltiple, con base en el cual se escogió el mejor modelo QSAR.

Se observó que la actividad antihelmíntica de 31 benzimidazoles, se relaciona linealmente con los índices de conectividad molecular del tipo ⁴X_{pc}, ⁶X_{pc_v}, ⁶X_p, lo cual explica la dependencia de la actividad con la longitud, el contenido de heteroátomos y la ramificación del sustituyente en la posición 5 del anillo benzimidazol.

El modelo propuesto permitió predecir la actividad de otros benzimidazoles, estructuralmente relacionados con los

SUMMARY

In the present work a quantitative relationship between the anthelmintic action and the chemical structure of a benzimidazols 2-methylcarbamate 5(6) substituted group was established, using linear regression analysis and statistical criteria for the selection of the best equation.

The chemical structure was quantified by the molecular connectivity method.

The regression analysis shows a high correlation between the activity of 31 benzimidazols, expressed as IC₅₀(micromolar concentration required for inhibiting the 50% of the polymerization of the tubuline) and the ⁴X_{pc}, ⁶X_{pc_v} and ⁶X_p indices.

The molecular connectivity, a theoretical parameter for quantification of the chemical structure, based on the graphos theory helps to explain the dependence of the activity on the substituting groups in the 5 position.

The mathematical model proposed helps to predict the activity of molecules structurally related.

Six new molecules of a group of nine showed good activity according to this model.

* Universidad Nacional, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia, A.A. 14490. Santafé de Bogotá. Colombia.

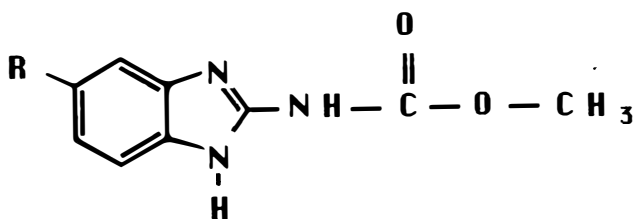
INTRODUCCION

Las enfermedades parasitarias producidas por helmintos, constituyen uno de los principales problemas de la salud pública de las regiones tropicales y subtropicales del mundo.

En Colombia, las helmintiasis constituyen una de las diez primeras causas de morbilidad, afectando en su mayoría a niños con edades comprendidas entre 1 a 14 años. (1)

Actualmente el tratamiento de las helmintiasis se realiza por medio de una amplia gama de medicamentos, entre los cuales se destacan los compuestos de tipo benzimidazol (tales como el albendazol, tiabendazol, flubenzazol, mebendazol, etc.), debido a su alta eficacia, amplio margen de seguridad y amplio espectro frente a parásitos gastrointestinales, pulmonares y hepáticos. (2,3).

La constante investigación de las moléculas de tipo benzimidazol (Bzs), permitió determinar las características estructurales básicas para obtener compuestos con potente actividad antihelmíntica. El prototipo óptimo consiste en un anillo benzimidazol sustituido en la posición 2 con un grupo metil carbamato, además de una sustitución en la posición 5 por otro grupo, que aumenta o disminuye la actividad del compuesto, dependiendo de factores tales como su tamaño, polaridad y arreglo espacial. [1] (4,5,6,7,8,9).



En este estudio se determinó la forma en que el sustituyente en la posición 5 afecta la actividad, cuantificando la estructura molecular y relacionando matemáticamente estos valores con datos experimentales de actividad antihelmíntica. Dicha metodología para la obtención de relaciones cuantitativas estructura-actividad, se conoce con la sigla QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship)

Se han propuesto diversos modelos QSAR para antihelmínticos benzimidazólicos, basados en la medida de propiedades fisicoquímicas (tales como el coeficiente de partición, potencial electrostático, etc), como parámetros repre-

sentativos de la estructura química, (7,8,9,10,11,12). Esto implica necesariamente la síntesis de los compuestos en estudio y la determinación de las propiedades involucradas.

En este trabajo, a diferencia de ellos, la estructura química se cuantificó por medio de los índices (X)Chi de conectividad molecular, propuestos por Kier y Hall, (13,14,15,16,17), los cuales permiten asignarle un valor numérico a la molécula a partir de su fórmula estructural, es decir de su topología.

Por ser la topología molecular un parámetro teórico, inherente a la descripción gráfica de una molécula, no se requirió sintetizar los compuestos, ni determinar propiedades fisicoquímicas, lo cual no solo redujo los costos y el tiempo de investigación, sino que además permitió incluir en el modelo un número grande de benzimidazoles.

Por otra parte, los valores de actividad IC_{50} , se relacionan directamente con el mecanismo de acción antihelmíntica, dado que los benzimidazoles, al unirse selectivamente a la tubulina, inhiben la polimerización de los microtúbulos y bloquean funciones celulares, como la formación de eje mitótico de la división celular, el mantenimiento de la forma de la célula, la motilidad celular, la secreción celular, la absorción de nutrientes y el transporte intracelular. (7).

El mecanismo de acción es similar en todos benzimidazoles y probenzimidazoles (como febantel, tiofanato y netobimbin), que inicialmente son metabolizados in vivo a benzimidazoles activos.

El microtúbulo se encuentra en un equilibrio dinámico (adición y sustracción de subunidades de tubulina), por lo que su estado de crecimiento está controlado por la velocidad de adición o pérdida de subunidades de tubulina. Un factor esencial para el proceso es la concentración de tubulina, debido a que se requiere una concentración mínima para que ocurra la polimerización. Esta concentración se altera por la presencia de benzimidazoles ya que enlazan las subunidades de tubulina e impiden la polimerización del microtúbulo. [7]

Las metodologías de investigación de la actividad inhibitoria de los microtúbulos emplean pruebas bioquímicas, con el fin de identificar la actividad y el sitio de acción. Una de estas técnicas se basa en la medida de la inhibición de la polimerización de la tubulina en presencia de una concentración dada del compuesto ensayado, proceso que puede monitorearse espectrofotométricamente (350-400 nm), por centrifugación y posterior determinación de la proteína o por cambios de viscosidad.

Dicha técnica permite determinar el valor de IC_{50} , la concentración requerida para inhibir el 50% de la polimeri-

zación de la tubulina, comparando con un control en donde no se presenta inhibición. Este valor se calcula a partir de la gráfica del porcentaje de inhibición de la polimerización vs la concentración del inhibidor, por la interpolación del valor del 50%.

PARTE EXPERIMENTAL

Para establecer el modelo cuantitativo que relaciona la estructura de los Bzs con su actividad antihelmíntica, se siguieron los siguientes pasos:

1. Búsqueda bibliográfica

Se realizó una búsqueda bibliográfica extensa, con el fin de encontrar datos numéricos de actividad antihelmíntica con las características necesarias para establecer un modelo cuantitativo, tales como la precisión, exactitud, confiabilidad y homogeneidad.

Los datos utilizados en este estudio, son los reportados por Lacey y Thomas [9,18], para la inhibición de la polimerización de la tubulina de cerebro de oveja y los reportados por Lacey,

Gill y Murray [7], para la inhibición del enlazamiento tubulina-(3H)MBZ en extracto crudo de tubulina de *Haemonchus contortus* en la etapa larvaria L3 (tablas 1 y 2)

2. Cálculo de los índices de conectividad molecular

Se calcularon diversos índices de conectividad molecular simple y de valencia (0X , ${}^0X^v$, 1X , ${}^1X^v$, 3Xp , ${}^3Xp^v$, 3Xc , ${}^3Xc^v$, 4Xp , ${}^4Xp^v$, 4Xpc , ${}^4Xpc^v$, 6Xp , ${}^6Xp^v$, 6Xpc , ${}^6Xpc^v$) de acuerdo con el algoritmo de Kier y Hall, [13,14,15,16,17] para aquellas moléculas incluidas en el modelo.

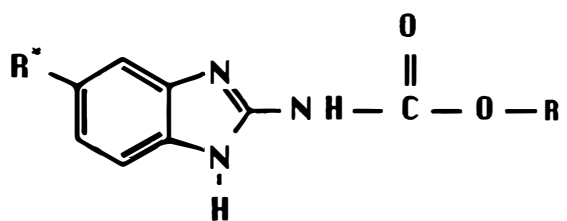


TABLA 1: Inhibición de la polimerización de tubulina de cerebro de oveja por benzimidazol-2il carbamatos 5-sustitutos

Compuesto	R* [abrev.]	IC50* [μM]	Compuesto	R* [abrev.]	IC50* [μM]
1	H(MBC)	71	17	COCHCH ₂ CH ₂ (CIBZ)	5.5
2	Cl	18	18	CH(CH ₃) ₂	16
3	Br	5.7	19	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃ (PBZ)	3.1
4	SCN	19	20	C(CH ₃) ₃	41
5	OCH ₂ CH ₃	7.4	21	OC ₆ H ₅	3.3
6	OCH ₂ CH ₂ CH ₃ (OBZ)	2.4	22	SC ₆ H ₅ (FBZ)	5.4
7	OCH(CH ₃) ₂	7.4	23	COC ₆ H ₅ (MBZ)	6.1
8	n-OC ₄ H ₉	3.3	24	COC ₆ H ₄ F (FLBZ)	3.5
9	iso-OC ₄ H ₉	3.1	25	CO-C ₄ H ₉ S (NDZ)	2.1
10	n-OC ₅ H ₁₁	2.8	26	SCH ₂ CH ₂ CH ₃ (ABZ)	6.9
11	n-OC ₆ H ₁₃	2.2	27	SOC ₆ H ₅ (R'=CH(CH ₃) ₂)	30
12	n-OC ₇ H ₁₅	2.1	28	OC ₆ H ₄ -3'-Cl	1.5
13	n-OC ₈ H ₁₇	3.2	29	OC ₆ H ₄ -3'-Br	1.1
14	CH ₃	16	30	OC ₆ H ₄ -4'-C ₆ H ₅	1.5
15	CH ₂ CH ₃	4.9	31	NH ₂ CO ₂ CH(CH ₃) ₂ [R'=tiazolil][CBZ]	64.2
16	CH ₂ CH ₂ CH ₃	2.2			

* Para todos los compuestos, excepto para los compuestos # 27 y 31, R' = CH₃

* IC₅₀ [uM]: es la concentración micromolar requerida para inhibir el 50% de la polimerización de la tulina de cerebro de oveja

TABLA 2: Inhibición del enlazamiento tubulina- ^3H MBZ en extracto crudo de tubulina de *haemonchus contortus* L3 por benzimidazolil-2-carbamatos 5-sustituídos

Compuesto	Fármaco	IC 50 *[MBZ]
1	Carbenazim	5.0
2	Parbendazol	0.30
3	Oxibendazol	0.30
4	Albendazol	0.21
5	Ricobendazol	2.3
6	Ciclobendazol	1.4
7	Mebendazol	0.19
8	Nocodazol	0.12
9	Flubendazol	0.17
10	Febendazol	0.18
11	Oxfendazol	5.5
12	Luxabendazol	0.30
13	Thiabendazol	5.5
14	Cambemazol	0.54

* IC 50 [MBZ]: concentración del compuesto requerida para inhibir el enlazamiento de (^3H) MBZ (1 μM) por preincubación del inhibidor y posterior adición de (^3H) MBZ al extracto crudo de tubulina de *Haemonchus contortus* L3[7].

Los valores δ^y empleados son:

Oxígeno: 6 y 5 si está unido a un hidrógeno (como en el caso de un alcohol)

Nitrógeno: 5 y 4 si está unido a un hidrógeno

Azufre -S- : 0.67

Azufre grupo sulfóxido (-SO-): 1.33

Azufre grupo sulfona (-SO $_2$ -): 2.67

Azufre grupo O-SO $_2$ -: 3.58

Flúor: -20

Cloro: 0.690

Bromo: 0.254

Para los halógenos y el azufre se emplean los valores δ^y obtenidos empíricamente [13].

Los valores de los índices calculados se reportan en las tablas 3, 4, 5 y 6

3. Obtención de la función de conectividad

Se realizó un análisis estadístico de regresión lineal simple y múltiple, con ayuda de un programa informático estadístico adecuado.

La mejor correlación se eligió con base en los siguientes criterios estadísticos:

- Mejor coeficiente de correlación (r)
- Menor número de índices implicados
- Menor valor del porcentaje de la varianza de los datos ($R^2 \times 100$)
- Menor desviación estándar de la regresión (S.D.)

Según estos criterios, se evaluaron diferentes modelos matemáticos con una sola variable independiente (cada uno de los índices calculados), expresando la actividad como IC $_{50}$, Log IC $_{50}$, 1/IC $_{50}$, ensayando la relación lineal, logarítmica, recíproca y multiplicativa, a un nivel de probabilidad del 95%.

Además se probó la significativa estadística de modelos de regresión lineal múltiple, empleando el método de paso a paso que permite escoger el mejor modelo entre un total de hasta 10 variables, probando la relación cuadrática, las variables elevadas al cuadrado o el inverso de las mismas, a un nivel de probabilidad del 95%

4. Análisis teórico de los índices de conectividad molecular

Se analizó la razón de la dependencia de la actividad con los índices implicados en las ecuaciones.

Este análisis permite concluir, de acuerdo con la información codificada por cada índice, qué características estructurales se requieren para observar potente actividad inhibitoria de la polimerización de los microtúbulos o inhibitoria del enlazamiento tubulina-(^3H)MBZ.

5. Predicción de la actividad de compuestos estructuralmente relacionados.

Como uno de los objetivos de este trabajo, se proponen varias moléculas estructuralmente relacionadas con los Bzs estudiados, con las características necesarias para una óptima actividad de acuerdo con estudios estructura-actividad, a las que se les predice una buena actividad, con base en los modelos desarrollados.

TABLA 3. Índices de conectividad molecular simple de benzimidazo-2-il carbamatos 5-sustituídos, inhibidores de la polimerización de la tubulina

*Compuesto	⁰ X	¹ X	³ Xp	³ Xc	⁴ Xp	⁴ Xpc	⁶ Xp	⁶ Xpc
1	9.9662	6.7920	4.7713	0.8261	3.7857	2.9671	1.7551	0.2980
2	10.8365	7.1859	5.1068	1.1148	4.0411	1.8235	2.0578	0.6535
3	10.8365	7.1859	5.1068	1.1148	4.0411	1.8435	2.0578	0.6535
4	12.2507	8.2239	5.6502	1.0302	4.3699	1.8739	2.4081	0.5975
5	12.2507	8.2239	5.6502	1.0302	4.5740	1.8739	2.4081	0.5975
6	12.9578	8.7239	5.9192	1.0302	4.6586	1.8739	2.5247	0.6995
7	13.1209	8.5797	5.7580	1.4385	4.7843	2.0885	2.6543	0.8115
8	13.6649	9.2239	6.1692	1.0302	4.8488	1.8739	2.6745	0.6696
9	13.8280	9.0797	6.1055	1.4385	4.7348	2.1679	2.6116	0.8332
10	14.3720	9.7239	6.4192	1.0302	5.0256	1.8793	2.7168	0.6696
11	15.0791	10.2239	6.6692	1.0302	5.2756	1.8793	2.8119	0.6696
12	15.7862	10.7239	6.9192	1.0302	5.5256	1.8793	2.9003	0.6696
13	16.4933	11.2239	7.1692	1.0302	5.7756	1.8793	2.9887	0.6696
14	10.8365	7.1859	5.1068	1.1148	4.0411	1.8435	2.0578	0.6535
15	11.5436	7.7239	5.5306	1.0302	4.2744	1.9391	2.2775	0.6174
16	12.2507	8.2239	5.6502	1.0302	4.5740	1.8793	2.4081	0.5975
17	13.4054	9.1690	6.7057	1.3519	5.2708	2.2311	2.7032	0.7058
18	12.4138	8.0965	5.3566	1.1595	4.4482	2.4916	1.9273	0.7106
19	12.9578	8.7239	5.9192	1.0302	4.6586	1.8793	2.5247	0.6696
20	13.3365	8.3972	6.0694	3.4912	4.5929	2.0911	2.3481	0.9586
21	14.6565	10.2415	7.3447	1.0302	6.0119	2.0236	3.1279	0.6937
22	14.6565	10.2415	7.3447	1.0302	6.0119	2.0236	3.1279	0.6937
23	15.5267	10.6690	8.0222	1.3519	6.3651	2.5280	3.2961	0.9136
24	16.3968	11.0629	8.4328	1.6406	6.0119	2.9363	3.6788	0.9770
25	14.8196	10.1690	7.7722	1.3519	5.9526	2.5280	3.1711	0.8351
26	12.9578	8.7239	5.9192	1.0302	4.6586	1.8793	2.5247	0.6695
27	17.1041	11.5249	8.1990	1.3519	7.7814	2.6417	3.3747	0.7694
28	15.5267	10.6354	7.6649	1.5230	6.2185	2.3944	3.4226	0.8339
29	15.5267	10.6354	7.6649	1.5230	6.2185	2.3944	3.4226	0.8339
30	18.6396	13.2078	9.4945	1.5677	8.0900	2.4950	4.1923	1.1130
31	14.8196	10.1142	6.8021	1.5677	5.4589	3.7282	3.3623	0.8206

* Los números de los compuestos corresponden a los Bzs listados en la tabla 1

TABLA 4. Índices de conectividad molecular de valencia de benzimidazo-2-il carbamatos 5-sustituidos, inhibidores de la polimerización de la tubulina.

*Compuesto	⁰ X ^v	¹ X ^v	³ X ^v _p	³ X ^v _c	⁴ X ^v	⁴ X ^v _{pc}	⁶ X ^v _p	⁶ X ^v _{pc}
1	7.5331	4.0911	1.7886	0.2342	1.1597	0.3812	0.3254	0.0384
2	8.6997	4.6037	2.1078	0.4349	1.3676	0.6927	0.4615	0.1728
3	9.4799	4.9938	2.3505	0.5650	1.5393	0.8979	0.5743	0.2599
4	9.6647	5.4770	2.6026	0.4379	1.7192	0.6974	0.6474	0.1945
5	9.6111	5.2016	2.1714	0.3023	1.4490	0.4976	0.4763	0.0932
6	10.3182	5.7016	2.3332	0.3023	1.5022	0.4976	0.5212	0.1273
7	10.4813	5.5963	2.2322	0.5380	1.5380	0.6067	0.5963	0.1648
8	10.0253	6.2016	2.6270	0.3023	1.6167	0.4976	0.5860	0.1173
9	11.1885	6.0575	2.4437	0.7106	1.5452	0.6643	0.5550	0.1895
10	11.7324	6.7016	2.8770	0.3023	1.8244	0.4976	0.6126	0.1173
11	12.4395	7.2016	3.1270	0.3023	2.0011	0.4976	0.6698	0.1173
12	13.1466	7.7016	3.3770	0.3023	2.1778	0.4976	0.7737	0.1173
13	3.8537	8.2016	3.6270	0.3023	2.3546	0.4976	0.8620	0.1173
14	8.4958	4.5017	2.0444	0.4009	1.3327	0.5558	0.4387	0.1500
15	9.2029	5.0624	2.3616	0.3521	1.4782	0.6210	0.5349	0.1401
16	9.9100	5.5624	2.4920	0.3521	1.7025	0.5865	0.6049	0.1334
17	10.3955	6.0610	2.8329	0.5208	1.8639	0.7205	0.6942	0.1064
18	10.0731	5.4451	2.2463	0.6192	1.3964	0.8404	0.4277	0.1989
19	10.6170	6.0624	2.7723	0.3521	1.7947	1.0879	0.6826	0.1924
20	10.9958	5.7517	2.7549	2.5676	1.6792	0.6083	0.5907	0.5398
21	10.4452	6.3207	2.8393	0.3704	1.8806	1.0463	0.5871	0.1670
22	12.1042	7.1341	3.8331	0.6415	2.7494	0.4976	1.1578	0.2531
23	11.7908	6.6165	3.1871	0.4520	2.1101	0.7160	0.7136	0.1684
24	11.4898	6.4153	3.0570	0.4147	2.0216	0.8307	0.6807	0.1320
25	11.8577	6.9774	3.7614	0.5450	2.4372	0.6892	0.8310	0.1472
26	11.1317	6.6836	3.5284	0.4379	2.2983	0.7013	0.9606	0.3439
27	13.7352	8.1157	3.9560	0.6118	2.7913	0.6462	1.0616	0.2442
28	11.9173	6.8333	3.3228	0.5710	2.0803	0.8674	0.6762	0.1735
29	13.1976	7.2234	3.3917	0.7011	2.2664	0.4976	0.7363	0.2168
30	14.6002	8.3920	3.8908	0.5370	2.7381	0.4765	0.8712	0.2123
31	12.3967	7.4151	3.2033	0.6179	2.4304	0.9013	0.5466	0.1808

* Los números de los compuestos corresponden a los Bzs listados en la tabla 1.

TABLA 5. Índices de conectividad molecular simple de benzimidazo-2-il carbamatos 5-sustituidos, inhibidores de la formación del enlace tubulina-[3H] MBZ

+Compuesto	⁰ X	¹ X	³ X	³ Xc	⁴ Xp	⁴ Xpc	⁶ Xp	⁶ Xpc
1	9.9662	6.7920	4.7713	0.8261	3.7857	2.9671	1.7551	0.2980
2	12.9578	8.7239	5.9192	1.0302	4.6586	1.8793	2.5247	0.6695
3	12.9578	8.7239	5.9192	1.0302	4.6586	1.8793	2.5247	0.6695
4	12.9578	8.7239	5.9192	1.0302	4.6586	1.8793	2.5247	0.6695
5	13.8281	9.1346	6.4340	1.2285	5.0505	1.8116	2.6567	0.7574
6	13.4054	9.1690	6.7057	1.3519	5.2708	2.2311	2.7032	0.7058
7	15.5267	10.6690	8.0222	1.3519	6.3651	2.5280	3.2961	0.9136
8	14.8196	10.1690	7.7722	1.3519	5.9526	2.5280	3.1711	0.8351
9	16.3970	11.0629	8.4328	1.6406	6.2140	2.9363	3.6788	0.9770
10	14.6565	10.2415	7.3447	1.0302	6.0119	2.0236	3.1279	0.6937
11	15.5267	10.6690	8.0222	1.3519	6.3651	1.9556	3.2961	0.9762
12	18.0267	11.9240	8.8890	1.8715	6.5168	2.8794	3.3647	1.5487
13	9.3805	6.9326	5.0107	0.6667	4.5927	2.2311	2.2674	0.5730
14	14.8196	10.1142	6.8021	1.5677	5.4589	3.7282	3.3623	0.8206

+ Los números de los compuestos corresponden a los Bzs listados en la tabla 2.

TABLA 6. Índices de conectividad molecular de valencia, de benzimidazo-2-il carbamatos 5-sustituidos, inhibidores de la formación del enlace tubulina-[3H] MBZ

+Compuesto	⁰ Xv	¹ Xv	³ Xvp	³ Xvc	⁴ Xvc	⁶ Xvp	⁶ Xvpc
1	7.5331	4.0911	1.7886	0.2342	1.1597	0.3254	0.0384
2	10.6170	6.0624	2.7723	0.3521	1.7947	0.6826	0.1924
3	10.3182	5.7016	2.3332	0.3023	1.5022	0.5212	0.1273
4	11.1317	6.6836	3.5284	0.4379	2.2983	0.9606	0.3439
5	11.1853	6.6095	3.3888	0.5040	2.2384	0.8375	0.2292
6	10.3955	6.0610	2.8329	0.5208	1.8639	0.6429	0.1064
7	11.7908	6.6165	3.1871	0.4520	2.1101	0.7136	0.1684
8	11.8577	6.9774	3.7614	0.5450	2.4372	0.8310	0.1472
9	11.4898	6.4154	3.0570	0.4147	2.0216	0.6807	0.1320
10	12.1042	7.1341	3.8331	0.6415	2.7494	1.1578	0.2531
11	12.1579	7.1335	3.8086	0.6118	2.5988	1.0168	0.2792
12	12.3348	6.8270	3.2135	0.4411	1.9332	0.7160	0.1868
13	8.0802	5.2057	2.5205	0.2572	1.9332	0.6112	0.1384
14	12.3967	7.4151	3.2033	0.6179	2.4344	0.5466	0.1808

+ Los números de los compuestos corresponden a los Bzs listados en la tabla 2.

RESULTADOS Y DISCUSION

1. IC50 vs Índices de conectividad molecular

La ecuación que mejor relaciona los datos de IC50 y los índices de conectividad para los 31 benzimidazoles estudiados es:

$$\text{Log IC}_{50} = 1,960 (0,574) {}^6X^{\text{pc}} + 0.893(0.116) {}^4X^{\text{pc}} - 0.564$$

$$(0.094) {}^6X^{\text{p}} \quad (\text{Ec. 1})$$

$$r = 0,950 \quad \text{SD} = 0,298 \quad F = 84,64 \quad n = 31 \quad (p < 0.05)$$

Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estandar calculada para cada parámetro.

Estos índices poseen información acerca de la longitud, el patrón de ramificación y el tipo de heteroátomos en el sustituyente.

El índice ${}^6X^{\text{p}}$ da información acerca de la longitud de los sustituyentes y del modelo de sustitución del anillo benzimidazol.

Kier y Hall observaron que existe un fragmento más del tipo ${}^6X^{\text{p}}$ en benzimidazoles 2,5 disustituídos, con relación a benzimidazoles 2,4 y 2,7 disustituídos, demostrando que el modelo de sustitución en las posiciones 2 y 5 es el más favorable para la actividad.

Este comportamiento lo refleja la ecuación propuesta, ya que en el caso en que los índices ${}^4X^{\text{pc}}$ y ${}^6X^{\text{pc}}$ son constantes, un aumento en el índice ${}^6X^{\text{p}}$ representa un aumento en la actividad.

En el caso de compuestos homólogos en donde aumenta progresivamente un átomo de carbono en la cadena del radical, el valor de los índices ${}^4X^{\text{pc}}$ y ${}^6X^{\text{pc}}$ es constante, por lo que la actividad depende del aporte del índice ${}^6X^{\text{p}}$.

Experimentalmente se observa que la actividad crece con un aumento en el número de átomos de carbono, lo que sugiere una dependencia con el carácter lipofílico del radical [17]. Sin embargo, no es de esperar que ésta crezca indefinidamente con el aumento consecutivo de átomos de carbono, sino que alcance un máximo con una lipofilia óptima a partir de la cual un aumento de átomos es desfavorable para la actividad.

En este caso, una contribución de 6 átomos de carbono en el sustituyente es ideal.

Por otra parte, la mejor actividad se observa en un rango de valores de ${}^4X^{\text{pc}}$ entre 1,8 y 2,5. Este valor lo puede aportar un anillo aromático, unido al anillo benzimidazol por un átomo como oxígeno o azufre, o por un grupo carbonilo o sulfonilo.

Una excesiva ramificación en radicales con menos de cuatro átomos de carbono, es desfavorable para la actividad, pues aumenta mucho el valor del índice ${}^4X^{\text{pc}}$, y es muy bajo el valor del índice ${}^6X^{\text{p}}$.

Por el aporte del índice ${}^6X^{\text{pc}}$, se debe esperar que no solo la longitud de la cadena de seis átomos sino además su ramificación y el heteroátomo que contenga, sean importantes para la actividad. La ecuación propuesta sugiere que deben combinarse los requisitos de ramificación, longitud y contenido de heteroátomos del sustituyente para que se observe una óptima actividad, conclusión que está confirmando lo observado cualitativamente en el análisis estructura-actividad.

2. IC50 [MBZ] vs Índices de conectividad molecular.

La ecuación que mejor relaciona los datos de IC50 [MBZ] y los índices de conectividad para el grupo de compuestos estudiados es:

$$\text{IC}_{50}[\text{MBZ}] = 12,488(1,985) - 1,024(0,179) {}^6X^{\text{v}} \quad (\text{Ec. 2})$$

$$r = 0,854 \quad \text{SD} = 0,974 \quad F = 32,479 \quad n = 14 \quad (p < 0.05)$$

Se observa que la actividad antihelmíntica de 14 Bzs, expresada como IC50[MBZ] correlaciona escasamente con el índice de conectividad ${}^6X^{\text{v}}$ debido a una falta de sensibilidad de la prueba bioquímica empleada para su determinación, ya que ésta tiende a agrupar todos los compuestos en un rango de concentración inhibitoria muy estrecho, que no permite diferenciar los compuestos.

3. Predicción de la actividad de compuestos estructuralmente relacionados

La modificación molecular es uno de los métodos más empleados en la búsqueda de nuevos fármacos, basado en la sustitución de determinados grupos dentro de un compuesto base o "cabeza de serie", que es el mínimo fragmento estructural del cual depende la actividad farmacológica observada.

El prototipo óptimo para la actividad o cabeza de serie en este estudio, es el benzimidazol 2-metilcarbamato; se proponen diferentes modificaciones en el radical de la posición 5, con el objeto de obtener nuevos compuestos con posible actividad antihelmíntica (figura 1)

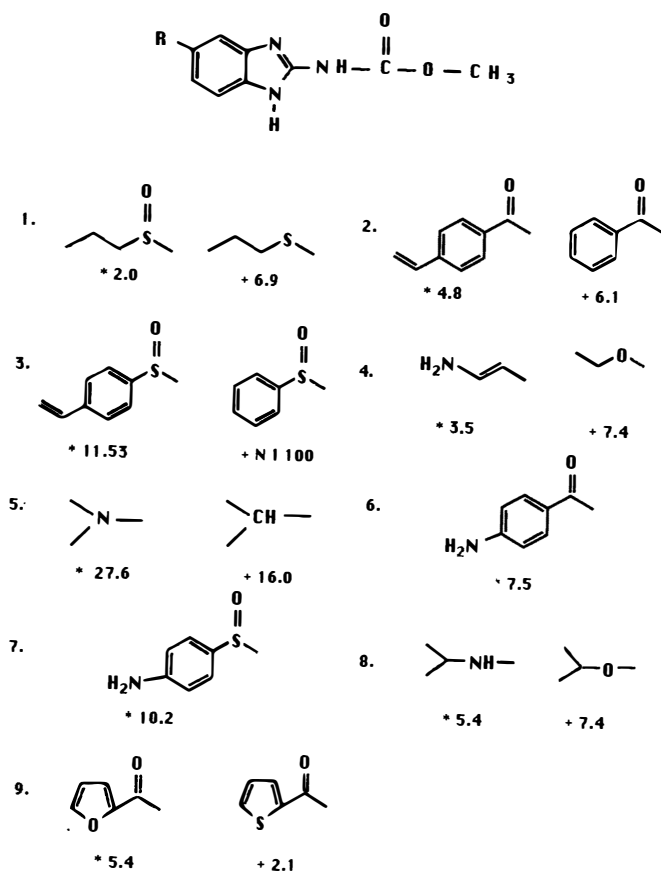


Figura 1.

* Valores de regresión de IC_{50} + Valores experimentales de IC_{50}

NI 100 no inhibe a una concentración de 100 mM

Para la modificación estructural en los radicales de la posición 5 del anillo Bz se tuvieron en cuenta dos criterios, la introducción de enlaces múltiples y el bioisosterismo de grupos moleculares. Con relación al primero, dos sustituyentes unidos por una cadena vinilénica o polivinilénica (incluyendo un anillo bencénico), se comportan desde el punto de vista de la distribución electrónica como si estuvieran unidos directamente, ya que los efectos electrónicos se pueden transmitir por solapamiento de las nubes electrónicas (p) (efecto mesomérico o de resonancia) [20].

La acción farmacológica de los Bz 2-metilcarbamatos podría estar ligada a un efecto electrónico del sustituyente en la posición 5, ya que compuestos como el mebendazol y el flubendazol, que pueden polarizar un carbonilo adyacente al anillo BZ por deslocalización electrónica presentan buena actividad. Este efecto puede transmitirse a través de la cadena vinílica en posición para del anillo bencénico unido al carbonilo.

Además, compuestos conteniendo radicales con una alta densidad electrónica tales como OC^6H^5 , SC^6H^5 , NDZ, presentan buena actividad.

Del mismo modo se proponen sustituciones por grupos donores de electrones en la posición para del anillo bencénico (tales como amino y metoxilo) ya que promueven la polarización de un grupo carbonilo adyacente, que se transmite por efecto mesomérico y que puede favorecer la unión al receptor. (19)

Por otra parte, el isosterismo es un concepto ampliamente utilizado en el diseño de fármacos, dada la semejanza en las propiedades químicas y físicas que presentan una serie de iones y moléculas con un mismo número de electrones de valencia o aquellos átomos o grupos de átomos idénticos en su capa electrónica externa. Se propone modificar el radical tiofeno por furano, un grupo metoxilo por uno amino y un grupo metilo por un nitrógeno.

Los resultados muestran que seis de las nuevas moléculas (1,2,3,4,7,8) propuestas presentan igual o mejor actividad que el prototipo.

La mejor actividad obtenida por regresión en estas moléculas, es la calculada para el albendazol sulfóxido (IC_{50} regresión=2.0), en efecto, el albendazol sulfóxido es el compuesto más potente de todos los Bzs hasta ahora ensayados (4,7), lo cual refleja la validez del modelo.

Las modificaciones realizadas estuvieron guiadas principalmente por criterios estéricos y electrónicos, efectos que se pueden medir y modificar con ayuda de la conectividad molecular. Sin embargo, es preciso como un paso posterior a esta investigación plantear otros tipos de modificaciones y estudiar estas mismas de acuerdo con otros criterios tales como propiedades fisicoquímicas de la molécula resultante, su toxicidad, metabolismo, etc. Es de anotarse que la baja exactitud del modelo para predecir la actividad de moléculas con un átomo de flúor, demuestra que el valor δ^v empírico (-20) o el valor obtenido de la expresión teórica ($\delta^v = 7$) no describe adecuadamente el efecto estérico y electrónico del flúor en la molécula, por lo que debe desarrollarse aún más los conceptos de conectividad molecular para obtenerse δ^v apropiado para este átomo.

CONCLUSIONES

La ecuación 1, que relaciona los datos IC_{50} vs los índices ${}^4\text{X}_{\text{pc}}$, ${}^6\text{X}_{\text{P}}$ y ${}^6\text{X}_{\text{pc}}$, predice una buena actividad para seis moléculas estructuralmente relacionadas con los Bzs objetos de estudio, constituyéndose en un modelo QSAR útil para proponer nuevas moléculas con posible actividad anti-helmíntica.

El estudio probó, con gran éxito, la capacidad de los índices de conectividad molecular para describir las estructuras de los Bzs incluidos, que son compuestos con una estructura química muy variada y compleja, conteniendo halógenos, heteroátomos, insaturaciones, anillos bencénicos, etc. Puesto que las variaciones estructurales de los diferentes Bzs se refieren en su mayoría a pequeñas modificaciones en la posición 5, sobre un prototipo óptimo, se espera que los datos de nuevas moléculas obtenidos, sean de gran aproximación y confiabilidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Registro diez primeras causas de consulta externa (sector oficial y mixto) Colombia 1982 a 1991. Sistema Nacional de Salud. Subsistema de informática. Ministerio de salud. Santafé de Bogotá.
2. D. BOTERO, M. RESTREPO, "Parasitosis Humanas", Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, 2a. Edición, 1992, p 3-21.
3. A. KOROLKOVAS "Essentials of Medicinal Chemistry" Wiley-interscience, 2a. Edición, New York 1988, p 599-628.
4. A.M. BERGOLD. A. KOROLKOVAS, *Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo* **28**, 79 (1992)
5. A. CUADRO, J. PEREZ-BUITRAGUEÑO, M. PASTOR-MAESO, et. Al. *Il farmaco* **47**, 477(1992).
6. A. SÁNCHEZ, R. M. RAVIÑA, L. SANTANA, et. Al. *Pharmazie*, **44**, 606 (1989)
7. E. LACEY. *Int. J. Parasitol*, **18**, 885 (1988).
8. C. CATIVELA, J.I. GARCÍA, A. MARÍN, *Il Farmaco* **44** 671(1989)
9. E. L. ACEY, T. WATSON. *Biochem. Pharmacol.* **34**, 3603 (1985).
10. R. O. MC CRACKEN, K. B. LIPKOWITZ *J. Parasitol.* **76**, 853 (1990)
11. R. O. MC CRACKEN, K. B. LIPKOWITZ *J. Parasitol.* **76**, 180 (1990).
12. R. O. MC CRACKEN, K. B. Lipkowitz, *J. Parasitol.* **77**, 998(1991).
13. L. KIER, L. HALL. "Molecular Connectivity in Structural Analysis" Research Studies Press, New York, 1986.
14. L. KIER, L. HALL. *J. Pharm. Sci.* **70**, 583(1981)
15. L. KIER, L. HALL. *J. Pharm. Sci.* **65**, 1806 (1976).
16. L. KIER. *J. Pharm. Sci.* **69**, 1034(1980).
17. L. KIER, L. HALL. *J. Pharm. Sci.* **67**, 1743 (1978).
18. E. LACEY, T. WATSON. *Biochem. Pharmacol.* **34**, 1073(1985).
19. C. AVENDAÑO "Introducción a la Química Farmacéutica" Editorial Interamericana. Mc Graw Hill, Madrid, 1993 p 47-100