



Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas  
Facultad de Química – Farmacia

# Trabajo de Diploma

*Efecto de la administración oral del 2-bromo-5-(2-bromo-2-nitrovinil) furano (G-1) sobre las ondas electrocardiográficas en perros sanos.*



| M2     | M3       | M4                  | M5 |
|--------|----------|---------------------|----|
| SCRIM  | Rows     | Observed classifica |    |
| ALYSIS | Columns  | Predicted classi    |    |
| oup    | Percent  | G_1 -1              |    |
|        | Correct  | p= 64550            |    |
| 10-1   | 98 36066 | 120                 |    |
| 2-1    | 98 50746 | 1                   |    |
| tel    | 98 41270 | 121                 |    |



| M10    | M11      |
|--------|----------|
| 93437  | 3 278143 |
| 78012  | 7 240182 |
| 32240  | 8 396457 |
| 172708 | 433614   |
| 71893  | 6 203025 |
| 618951 | 606422   |
| 2652   | 54 84846 |
| 77573  | 6 879970 |
| 97228  | 8 135289 |
| 2      | 456651   |



|        |       |                                                                   |                                         |
|--------|-------|-------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 23.000 | 7.500 | 61                                                                | Stepwise Analysis - Step 6 (Final Step) |
| 9.610  | 97    | Number of variables in the model: 6                               |                                         |
| 9.440  | 71    | Last variable entered: M1M2 F ( 1, 182) = 9.447397 p < .0024      |                                         |
| 7.140  | 71    | Wilks' Lambda: .2344645 approx. F ( 6, 182) = 29.02841 p < 0.0000 |                                         |
| 7.940  | 71    |                                                                   |                                         |
| 7.620  | 93    | Variables in the model                                            | Classification matrix                   |
| 10.860 | 89    | Variables not in the model                                        | Classification of cases                 |
| 8.800  | 24    | Distances between groups                                          | Squared Mahalanobis distances           |
| 30.000 | 8.660 | Summary of stepwise analysis                                      | Posterior probabilities                 |
| 12.000 | 2.640 | Canonical analysis & graphs                                       | Save classif/distances/probs            |
| 15.000 | 4.560 |                                                                   | A priori classification probabilities   |
| 26.000 | 7.400 |                                                                   |                                         |
| 23.000 | 7.400 |                                                                   |                                         |

|        |
|--------|
| OK     |
| Cancel |



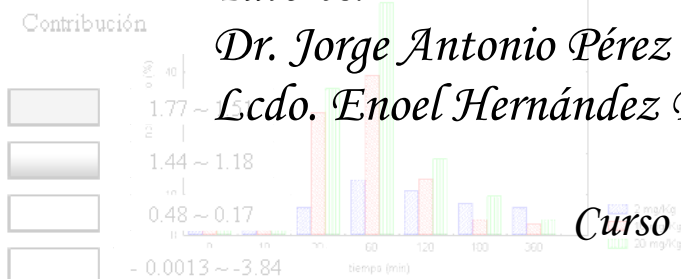
Autor: Tatiana Águila Delgado

Tutores:

Dr. Jorge Antonio Pérez Donato

Lcd. Enoel Hernández Barreto

Curso 2005-2006



## **Resumen**

El estudio se desarrolla en dos tiempos, el primero abarca la predicción teórica de la variación en el registro de los electrocardiogramas de la molécula 2-bromo-5-(2-bromo-2-nitro-vinil)-furano y el segundo se corresponde con la determinación de la variación de el registro de ECG en perros Beagles, mediante la utilización de un electrocardiógrafo se obtuvieron los registros y el efecto de diferentes dosificaciones orales.

En la evaluación teórica de la actividad potencial sobre los registros electrocardiográficos se empleó la metodología Toss Mode a partir de la modelación con moléculas que afectan el registro de ECG y moléculas inactivas. Mediante la utilización de un modelo discriminante obtenido para la predicción/evaluación de la actividad en general, evaluaron teóricamente dos prototipos de compuestos vinil-furánicos: G-0 y G-1, y otras moléculas obtenidas teóricamente, y relacionadas estructuralmente con estos. Se evaluó tanto la contribución a la actividad biológica como la contribución de enlaces mediante un análisis de isocontribución (IZA).

El efecto sobre el registro de ECG, se realizó empleando perros Beagles machos de 1 año de edad y la aplicación del 2-bromo-5-(2-bromo-2-nitro-vinil)-furano se efectuó por vía oral empleando dosis de 2, 10 y 20 mg/Kg de peso vivo. Los efectos sobre el registro del ECG se obtuvieron mediante registros electrocardiográficos realizando mediciones a los tiempos de 10; 20; 40, 60; 120; 180 y 360 minutos post-administración.

El trabajo concluye que existe correspondencia entre la predicción teórica y el efecto observado en los perros Beagles, no existiendo cambios en el ECG (D-II) para la onda P, QRS y T y si para el segmento R-R el cual se redujo y se recuperó de forma rítmica.

**ÍNDICE**

|                                                                                                                |          |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>1-Introducción</b>                                                                                          | <b>1</b> |
| <b>2- Revisión Bibliográfica</b>                                                                               | <b>4</b> |
| 2.1- Diseño de fármacos.                                                                                       | 4        |
| 2.1.1-Clasificación de los métodos de Diseño de Fármacos.                                                      | 4        |
| 2.1.2- Métodos Variacionales.                                                                                  | 4        |
| 2.1.3- Métodos QSAR.                                                                                           | 6        |
| 2.1.4- Métodos que emplean índices topológicos.                                                                | 8        |
| 2.1.5- Aplicaciones.                                                                                           | 10       |
| 2.1.6- ToSS-MoDe                                                                                               | 11       |
| 2.1.7- Momentos espectrales.                                                                                   | 12       |
| 2.1.8- Momentos espectrales ponderados.                                                                        | 13       |
| 2.1.2-El cálculo de las contribuciones de fragmentos a una propiedad.                                          | 14       |
| 2.1.2.1-El cálculo de las contribuciones lineales de los fragmentos.                                           | 14       |
| 2.1.2.2-La aditividad de las Contribuciones de fragmentos en presencia de interacciones, entre los fragmentos. | 15       |
| 2.1.2.3- Momentos espectrales locales.                                                                         | 18       |
| 2.1.2.4- El ToSS-MoDe como método QSAR.                                                                        | 20       |
| 2.2- Electrofisiología del corazón.                                                                            | 21       |
| 2.2.1- Anatomía del corazón.                                                                                   | 21       |
| 2.2.1.1- El corazón como bomba.                                                                                | 21       |
| 2.2.1.2- Contracción muscular del miocardio.                                                                   | 22       |
| 2.2.2- Sistema eléctrico del corazón.                                                                          | 23       |
| 2.2.2.1- Diagrama del sistema eléctrico.                                                                       | 23       |
| 2.2.3- Ritmicidad en la respuesta eléctrica del corazón.                                                       | 24       |
| 2.2.4- Fármacos que afectan la respuesta eléctrica del corazón.                                                | 28       |
| 2.2.5- Exámenes diagnósticos del corazón.                                                                      | 29       |

|                                                                                             |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.2.6- Características del ECG normal.                                                      | 33 |
| 2.2.6.1- Relación entre contracción de aurícula y ventrículo y onda del electrocardiograma. | 35 |
| 2.2.7- Métodos para obtener ECG.                                                            | 36 |
| 2.2.8- Derivaciones electrocardiográficas.                                                  | 37 |
| 2.2.8.1- Triangulo de Einthover.                                                            | 37 |
| 2.2.8.2- Derivaciones bipolares.                                                            | 39 |
| 2.2.8.3- Derivaciones precordiales.                                                         | 40 |
| 2.2.8.4- Derivaciones unipolares aumentadas de los miembros.                                | 41 |
| 2.2.9- Modelos biológicos.                                                                  | 42 |
| <b>3-Materiales y Métodos.</b>                                                              | 44 |
| 3.1-Modelación teórica.                                                                     | 44 |
| 3.2- Pruebas biológicas.                                                                    | 45 |
| <b>4-Resultados y Discusión.</b>                                                            | 47 |
| 4.1- Modelo estadístico.                                                                    | 47 |
| 4.2- Evaluación teórica del G-1 y estructuras relacionadas.                                 | 50 |
| 4.3- Análisis de la Contribución de Enlaces a la Actividad.                                 | 56 |
| 4.4- Evaluación experimental.                                                               | 60 |
| <b>5-Conclusiones.</b>                                                                      | 64 |
| <b>6- Bibliografía.</b>                                                                     | 65 |
| <b>7- Anexos.</b>                                                                           | 69 |

## **Introducción.**

Las enfermedades cardiovasculares son consideradas como la primera causa de defunción a nivel mundial, y provocan más casos de atención en las salas de urgencias y hospitales que las enfermedades infecciosas, incluido el SIDA, y el cáncer. Son responsables de la muerte de 12 millones de personas diarias en el mundo y se les considera la Epidemia del siglo XXI, siendo actualmente la primera causa de muerte global <sup>1</sup>. En Cuba también ocupan este lugar preponderante<sup>2</sup>, por lo que ocupa un lugar importante a nivel mundial el diseño y obtención de nuevos agentes cardiovasculares, así como el desarrollo de estudios que permitan aportar conclusiones de la seguridad de los fármacos en este importante sistema, conociéndose los riesgos o beneficios sobre el mismo.

Muchos de los fármacos hoy disponibles en la industria farmacéutica fueron caracterizados mediante técnicas de cribado (screening) convencionales, consistentes en evaluar en una batería lo mas amplia posible de ensayos biológicos el mayor número de sustancias tanto de origen natural como sintético, elegidas más o menos al azar. Con este procedimiento se consiguen identificar nuevos “cabezas de serie” que con modificaciones químicas subsiguientes tienden a producir análogos de esas estructuras con mayor actividad o una menor incidencia de efectos colaterales. Este método, al estar basado fundamentalmente en técnicas de ensayo y error, consume mucho tiempo y requiere grandes recursos económicos. El porcentaje de éxitos se ha estimado inferior a 1 por cada 10 000 compuestos sintetizados.

De ahí surgieron las siglas QSAR <sup>3,4</sup>, acrónimo de Quantitative Structure Activity Relationships, que es hoy día una palabra de uso corriente tanto en el proceso de diseño de nuevos fármacos, racionalización de las propiedades farmacológicas de una serie de sustancias, o predicción del potencial activo de moléculas con realidad física o teórica.

En los últimos años la utilización de estos métodos racionales se ha desarrollado notablemente y encuentran aplicación en ramas importantes de la ciencia moderna <sup>5-10</sup>.

En este sentido el estudiar la acción sobre el registro electrocardiográfico (ECG) de una molécula que tiene perspectivas terapéuticas, el 2-bromo-5-(2-bromo-2-nitro-vinil)-furano, permite aportar conocimientos sobre sus posibles efectos farmacológicos, toxicológicos o inocuos para el sistema cardiovascular (SCV).

Los nitro-vinilfuranos son compuestos ampliamente conocidos y dentro de ellos se encuentra el derivado furil etilénico 2-bromo-5-(2-bromo-2-nitro-vinil)-furano con demostrada acción bactericida-fungicida lo que constituye una novedad científica puesto que esta potente acción binaria solo es atribuible a mezclas de compuestos químicos y no se reporta por la literatura especializada.

La molécula 2-bromo-5-(2-bromo-2-nitro-vinil)-furano, exhibe como respaldo en cuanto a propiedad intelectual el haber sido patentada en Japón, Canadá, Australia, países de la Comunidad Económica Europea, y por haber obtenido Medalla de Oro otorgada por la Organización Mundial de la Propiedad Intelectual (OMPI).

Durante varios años de rigurosa investigación se han logrado desarrollar estudios químico-farmacéutico, microbiológico y toxicológico profundizando sobre todos en estos últimos para puntualizar la seguridad a su exposición, lo que permitió su registro para uso veterinario contra afecciones oftálmicas (*Queratofural*), así como su empleo como desinfectante en medios de cultivos de vitro plantas (*Vitrofural*) esta aplicación ha sido extendida por toda Cuba y otros países de Latinoamérica.

Sin embargo se conoce muy poco sobre sus efectos sobre el sistema cardiovascular, los cuales pudieran restringir el uso futuro de dicho fármaco en humanos. Por ello, con objeto de demostrar el efecto que tiene el 2-bromo-5-(2-bromo-2-nitro-vinil)-furano, se ensayaron, con la ayuda del diseño asistido por ordenador, diferentes fármacos para obtener un modelo teórico que permitiera predecir la posible influencia del mismo sobre las ondas electrocardiográficas, utilizando perros Beagles sanos como modelo animal, por lo que se usó una combinación de estudios “in silico-in vivo” para iniciar el estudio de los efectos cardiacos de este fármaco.

Los objetivos de nuestro trabajo son:

Generales:

- I. Realizar una modelación para la predicción teórica de los efectos sobre las ondas electrocardiográficas (variación segmento R-R, frecuencia de despolarizaciones/repolarizaciones).
- II. Desarrollar una corroboración experimental en perros sanos.

Específicos:

- Obtener una serie de entrenamiento de moléculas que modifiquen los registros electrocardiográficos por variación del segmento R-R (activas) y otras inactivas.
- Obtener un modelo para la predicción y / o evaluación teórica.
- Validar el modelo obtenido.
- Evaluar teóricamente el G-1, G-0 y moléculas obtenidas por fármaco-modulación que guardan semejanzas estructurales con estos prototipos.
- Utilizar una derivación electrocardiográfica DII para la obtención de registros de la actividad eléctrica cardíaca en perros sanos.

## Revisión Bibliográfica

### 2.1- DISEÑO DE FÁRMACOS.

#### 2.1.1 Clasificación de los métodos de Diseño de Fármacos.

Existen varias clasificaciones de los métodos de Diseño de Fármacos, ninguno de ellos lo suficientemente específico como para poder enmarcar sin ambigüedades todos los métodos que en esta rama se conocen en la actualidad.

En general los métodos usados en el diseño de fármaco se pueden enmarcar dentro de dos grandes grupos Métodos QSAR asistidos por computadora y Métodos Experimentales.

#### 2.1.2 Métodos Variacionales.

Se basa en la modificación de un compuesto líder o cabeza de serie de una manera racional con el objetivo de mejorar sus propiedades (11-13). Aunque la búsqueda de un compuesto líder se puede realizar por un sinnúmero de métodos, dos son los más utilizados:

Estudio de los productos activos presentes usados en medicina tradicional.

Estudios *de novo* de compuestos obtenidos tanto por vía natural como sintética o biotecnológica.

Ambos métodos, sobre todo el segundo, requieren de la existencia previa de una amplia batería de ensayos biológicos cuidadosamente diseñados que permitan determinar con rapidez y de manera inequívoca la actividad biológica de los nuevos compuestos. Los ensayos deben ser fáciles, rápidos de realizar y económicos por la gran cantidad de compuestos a evaluar. En el segundo caso los costos asociados a

este tipo de estudio hace que se vean limitados en número y espectro de acciones biológicas.

Posteriormente se pasa a la modulación de la estructura del compuesto líder con el objetivo de encontrar nuevos y mejores medicamentos. Esta técnica es conocida como Variación Molecular y tiene como finalidad:

1. Mejorar la potencia del líder.
2. Eliminar acciones secundarias no deseadas.
3. Potenciar acciones secundarias deseadas.
4. Eliminar o aminorar efectos tóxicos.
5. Separación de actividades (Multiacción).
6. Combinación de actividades.
7. Modificar la biodisponibilidad del fármaco.

Ejemplos:

a) Protección de sistemas multienzimáticos: el antibiótico Cefalotina (I) por desplazamiento del grupo acetoxi por piridina se obtuvo la Cefaloridina (II) (Ver Anexo *Figura1*) con similares propiedades antibacterianas y resistentes a las esterasas de los mamíferos.

b) Aumento de la selectividad de la acción. A partir de compuestos con actividad anticancerosa se sintetizaron muchos derivados uniendo el resto del compuesto a moléculas, como las que se muestran en la *Figura 2*, que fueran fácilmente identificables por los posibles substratos. Estas modificaciones además de lograr el efecto deseado, aumentaron la solubilidad del compuesto.

c) Modificación conducente a alterar la distribución. Permite alterar la distribución entre distintos compartimentos consiguiéndose la exclusión de algunos o la localización selectiva en otros. Son clásicos los estudios con la Atropina (VI) y sus sales de amonio (VII). (*Figura 3 del Anexo*). La cuaternización del nitrógeno impide atravesar la barrera hematoencefálica sin alterarse las acciones anticolinérgicas periféricas.

d) Simplificación de la estructura de la molécula. Se eliminan aquellas partes de la molécula que no sean estrictamente necesarias. (*Ver Anexos Figura 4*).

\* Levorfanol (VII). Pertenece a la primera generación de analgésicos relacionados con la morfina, su relación estructural con la morfina es bastante evidente.

\* Meperidina (VIII). Pertenece ya a la segunda generación, la molécula queda dramáticamente simplificada.

\* Metadona (IX). Relación con la morfina bastante lejana.

Todas estas modificaciones con el objetivo de lograr compuestos más simples, que mantengan la actividad analgésica y que no presenten propiedades de adición.

*Desventajas:* Como en esencia este método se basa en técnicas de prueba y error, consume mucho tiempo y requiere grandes recursos económicos. Además el porcentaje de éxito como se dijo anteriormente es inferior al 0.1%. (14,15)

### **2.1.3 Métodos QSAR.**

Los denominados modelos QSAR han agrupado históricamente a todas las técnicas que han intentado establecer modelos de comportamiento de compuestos o familias de ellos en cuanto a actividad biológica se refiere, a partir de datos de un número limitado de productos.

Se plantea que los métodos que relacionan la estructura química con la actividad biológica pueden dividirse en dos grandes categorías:

1. Topológico estadísticos: Sólo tienen en cuenta la estructura química plana de la molécula y se utilizan técnicas estadísticas o de reconocimiento de patrones para encontrar las QSAR.
2. Modelado Molecular: Se consideran las propiedades de las moléculas en tres dimensiones y son importantes:
  - Análisis Conformacional
  - Mecánica Cuántica
  - Campos de Fuerza
  - Termodinámica Estadística
  - Gráficos Moleculares Interactivos.

Estos últimos permiten la representación y manipulación de las moléculas en tres dimensiones lo que brinda una información esencial para comparar moléculas y estudiar la interacción entre ligandos y receptores macromoleculares.

Existen otras clasificaciones en la literatura (16,17), no obstante, como se dijo anteriormente, es difícil encontrar una clasificación lo suficientemente amplia dado la dificultad de englobar todos los métodos que de esta materia se conocen en la actualidad.

En esencia podemos decir que los métodos computacionales para el diseño de fármacos independientemente de su clasificación tienen en común el ahorro de tiempo y recursos lo cual es una ventaja con respecto a los métodos clásicos de prueba y error. La metodología de los mismos sigue, independientemente del modelo a utilizar, pasos comunes que se expresan en la *Figura 5 (Ver Anexos)*.

#### **2.1.4 Métodos que emplean índices topológicos.**

La Topología estudia las posiciones e interconexiones de los elementos dentro de un conjunto (21-24). Aplicada a las moléculas a dado lugar a la Topología Molecular. Desde este punto de vista no se aborda directamente el estudio de aspectos tales como: estructura tridimensional del compuesto, tipos de enlaces, ángulos de enlaces, ángulos diedro ni la naturaleza de los átomos enlazados, aunque no se puede descartar que un porcentaje significativo de esta información quede registrada subyacentemente en el tratamiento topológico de la estructura molecular, sólo importa la interconexión de los átomos entre sí.

Para esto la Topología Molecular representa a los átomos de una molécula por puntos y a los enlaces por segmentos, denominándolos vértices y aristas respectivamente, obteniéndose el grafo de la molécula, se numera aleatoriamente los átomos o vértices de la molécula y se construye la Matriz Topológica que en principio puede ser la que se muestra en la *Tabla 2* (Ver *Anexos*):

Luego emplea los llamados índices para caracterizar estructuralmente a un compuesto. Un índice topológico es aquel número derivado de una representación grafo-teórica que caracteriza a una molécula y que es independiente de la numeración de los elementos del grafo (invariante grafo-teórica) (21–24) Por tanto trata de expresar numéricamente, en una forma más o menos discriminante la información topológica acerca del tamaño y la forma de una estructura química dada.

La caracterización de una molécula a través de un índice topológico conlleva cierta pérdida de información ya que estamos tratando de representar un objeto tridimensional por un número simple. No obstante los índices topológicos contienen una sorprendente información estructural sobre las moléculas lo que los hace de gran utilidad en los fines prácticos de sus aplicaciones.

Una lista más completa de las propiedades que deben ser deseables para los índices topológicos fue propuesta por Randic (17) y es considerada por otros autores como de un nivel de sofisticación muy alto que deben alcanzar estos descriptores moleculares.

- Interpretación estructural directa.
- Buena correlación con al menos una propiedad.
- Buena discriminación entre isómeros.
- Localmente definidos.
- Generalizables a análogos superiores.
- Linealmente independientes.
- Simplicidad.
- No basados en propiedades físico-químicas.
- No trivialmente relacionados con otros índices.
- Eficiencia de construcción.
- Basados en conceptos estructurales familiares.
- Mostrar una dependencia correcta con el tamaño.
- Tener cambios graduales con cambios graduales en la estructura.

Una vez obtenido un índice (o varios) se establecen correlaciones entre ellos y diferentes propiedades moleculares para muestras de compuestos más o menos homogéneas; así se pueden obtener ecuaciones que relacionen tales propiedades con la estructura molecular caracterizada a través de los índices.

Si se calculan entonces los valores de los índices de nuevas moléculas, no utilizadas en la correlación, y se sustituyen en la ecuación; se podría predecir el valor de la propiedad correlacionada para ese nuevo compuesto el cual puede no tener aún existencia física.

### 2.1.5 Aplicaciones.

Las aplicaciones de los índices topológicos han estado dirigidas fundamentalmente hacia la predicción de propiedades biológicas y químico-físicas (QSAR y QSPR).

#### -QSPR:

Las propiedades que han recibido la mayor atención en los estudios de QSPR con el uso de índices topológicos es la temperatura de ebullición ( $t_e$ ). Esta propiedad se ha convertido en la más usada para comprobar la utilidad de los nuevos índices topológicos ya que la misma aparece reportada con bastante precisión para un gran número de compuestos orgánicos.

La ecuación más precisa para describir la temperatura de ebullición de los alcanos fue reportada en 1988 para todos los alcanos hasta nueve átomos de carbono (25):

$$t_e = -9.6(\pm 4.1) + 38.1(\pm 1.0)^1\chi - 49.0(\pm 19.3)^0\chi^{-1} + 5.7(\pm 0.3)^4\chi_{pc} - 94.5(\pm 9.8)\chi_t + 8.4(\pm 2.5)^6\chi_p.$$

$n = 74 \quad r = 0.9995 \quad s = 1.86 \quad F = 9030$

De todos los índices topológicos los que mayor número de aplicaciones han encontrado son los índices de conectividad molecular, siendo empleado para la modelación de propiedades como refracción molar, susceptibilidad diamagnética, calor de vaporización, densidad, propiedades cromatográficas, tensión superficial, etc (25,27).

#### -QSAR:

Sólo los índices de conectividad han sido aplicados intensivamente a los QSAR ya sean solos o combinados con parámetros o propiedades químico-físicas que están relacionados tradicionalmente con la actividad biológica de los compuestos orgánicos. Algunos de los resultados de varias correlaciones entre los índices de conectividad molecular y las propiedades biológicas reportados en la literatura (28-

30), son resumidos en la tabla 3. También se reporta la aplicación de otros índices en mayor o menor grado, pero nunca con la extensión de los índices de conectividad (31-33).

Los resultados expuestos anteriormente, entre otros, ponen de manifiesto el sorprendente grado de acierto conseguido en la búsqueda y selección de estructuras con actividades farmacológicas variadas. Además se han obtenido estructuras que pueden considerarse como nuevas cabezas de serie, lo que convierte al método en una herramienta de trabajo sumamente útil para la obtención de nuevos fármacos ya que:

- son más sencillos en su planteamiento teórico que métodos como la mecánica cuántica y la mecánica molecular
- de lo anterior se desprende que su interpretación estructural resulta más sencilla.
- consume mucho menos tiempo en cálculos que los métodos antes mencionados.
- su infraestructura informática es mucho más sencilla.

El método no obstante posee algunas limitaciones, que se derivan tanto de su carácter semiempírico como de su propia naturaleza, por ello se hace conveniente el refinamiento posterior de las estructuras diseñadas.

#### **2.1.1.6 ToSS MoDe**

El ToSSMoDe (siglas del inglés Topological SubStructural Molecular Design) es un método de diseño molecular con una base grafo-teórica. Por ser de corte fenomenológico necesita para llegar a relaciones cuantitativas el uso de datos muestrales, que son procesados estadísticamente. Esto lo convierte en un método

general, que no necesita del conocimiento de los mecanismos que intervienen en un proceso dado para describirlo. Aunque se debe reconocer que la dependencia de una muestra constituye su desventaja principal, ya que no siempre se dispone de ésta.

#### **2.1.1.7 Momentos espectrales ( $\mu_k$ ).**

El ToSSMoDe opera con la matriz de adyacencia entre enlaces ( $E$ ) en la molécula sin considerar los átomos de hidrógenos. Los descriptores usados por el método son el conjunto de los momentos espectrales de dicha matriz. El momento espectral de orden  $k$  se define como la traza de la  $k$ -ésima potencia de la matriz  $E$  y su símbolo es  $\mu_k$  (34). A su vez la traza se define como la suma de los valores de la diagonal principal. Lo anterior se puede expresar matemáticamente de la siguiente manera:

$$\mu_k = Tr(E^k) = \sum_{i=1}^m e_{ii}^k \quad (1)$$

Donde  $e_{ii}^k$  son los elementos de la diagonal principal de la matriz  $E^k$ . De la definición dada de  $E$  y  $\mu_k$  se observa que los momentos espectrales son números enteros positivos. Hay una pérdida de información a la hora de modelar con los  $\mu_k$  la estructura molecular ya que todas las aristas del grafo, que se usa para representar la molécula son iguales. Esto puede constituir una desventaja para resolver problemas, en que sea necesario considerar la presencia de heteroátomos.

Una ventaja de los  $\mu_k$  es que pueden expresarse como combinación lineal del número de veces que aparecen determinados fragmentos (subgrafo). Al igual que los conceptos de grafo y molécula, los conceptos de subgrafo y fragmento molecular se usan indistintamente en este trabajo. No obstante no debemos confundirlos ya que la molécula o una parte de esta son objetos reales, mientras que el grafo o el subgrafo son objetos matemáticos usados para representarlos. La expresión matemática

general de los  $\mu_k$  en función de los fragmentos puede ser escrita de la siguiente manera:

$$\mu_k = \sum_{i=1}^s {}^k C_i |F_i| \quad (2)$$

Donde al número  ${}^k C_i$  se le llama contribución del fragmento  $i$  al momento espectral de orden  $k$ ,  $|F_i|$  es el número de veces que aparece el fragmento  $i$  en el grafo molecular y  $s$  es el número de clases de fragmentos que contiene la molécula (34). Las expresiones para los primeros ocho  $\mu_k$  son planteadas en la *Tabla 4*, (ver anexos)

Los fragmentos referidos en la *Tabla 4* anterior se muestran en la *Figura # 6*. Como puede observarse a medida que aumenta el orden del  $\mu_k$  aumenta el número de fragmentos que contribuyen a él y se hace más compleja su interpretación en función de la estructura molecular. Puede observarse que los  $\mu_k$  de órdenes superiores tienen mayor tendencia a ser colineales. Vale aclarar que el hecho de que dos índices sean colineales no significa que registren exactamente la misma información estructural. Por otra parte los  $\mu_k$  de mayor orden son los que registran más información estructural.

#### **2.1.1.8 Momentos espectrales ponderados.**

Un intento de resolver el problema de la incapacidad de los momentos espectrales sin ponderar para diferenciar moléculas con heteroátomos consiste en ponderar las aristas del grafo. Esto se hace ponderando con determinados pesos ( $d_{ij}$ ) las aristas del grafo molecular. Entendemos por ponderar, asignarle a cada tipo de arista un valor o peso determinado. Mediante los  $d_{ij}$  se pueden introducir de manera natural propiedades estándar de los enlaces como son: la distancia, la polarizabilidad o el

dipolo estándar de enlace. Para calcular los  $\mu_k$  la ponderación se tiene en cuenta sustituyendo los valores de la diagonal principal por los  $d_{ij}$  correspondientes a cada tipo de arista en la matriz  $E$ . El uso de los  $d_{ij}$  aumenta notablemente las posibilidades y versatilidad del método. Se ha desarrollado por Estrada et al (35) las expresiones generales para momentos espectrales de la matriz de adyacencia entre aristas ponderada en la diagonal principal. Estas expresiones son análogas a las anteriores pero algo más complejas. Algunas de estas expresiones son:

$${}^d\mu_0 = |F_1| \quad (3)$$

$${}^d\mu_1 = \sum d_i \quad (4)$$

$${}^d\mu_2 = 2 |F_2| + \sum d_i^2 = \mu_2 + \sum d_i^2 \quad (5)$$

$${}^d\mu_3 = 6 |F_3| + \sum d_i^3 + 3 \sum F_2^i d_i = \mu_3 + \sum d_i^3 + 3 \sum F_2^i d_i \quad (6)$$

$${}^d\mu_4 = 2 |F_2| + 12 |F_3| + 24 |F_4| + \sum d_i^4 + 4 \sum F_2^i d_i^2 + 8 \sum F_3^i d_i + 4 \sum (d_i d_j)_r = \mu_4 + \sum d_i^4 + 4 \sum F_2^i d_i^2 + 8 \sum F_3^i d_i + 4 \sum (d_i d_j)_r \quad (7).$$

Son de interés a la hora de trabajar con propiedades biológicas los dipolos estándar de enlace. Este interés surge por la importancia que, conjuntamente con los puentes de hidrógeno, tienen las interacciones dipolares en los sistemas vivos.

### **2.1.2 El cálculo de las contribuciones de fragmentos a una propiedad.**

#### **2.1.2.1 El cálculo de las contribuciones lineales de los fragmentos.**

La idea de la aditividad lineal de los fragmentos puede expresarse de la siguiente forma: "la combinación lineal de las contribuciones de las partes es igual a la propiedad del todo ". Este principio en química farmacéutica está avalado por una gran experiencia práctica. Se ha demostrado que hay variaciones en las relaciones estructura actividad (REA), de los fármacos, por introducción o eliminación de grupos

funcionales. Fueron estas REA las que originaron en farmacología experimental y toxicología las teorías del grupo farmacóforo y toxicóforo respectivamente. Estas teorías están en concordancia con la existencia de distintas contribuciones, de los diferentes grupos, a una misma actividad. Una de las primeras evidencias cuantitativas de la aditividad lineal de las contribuciones a la propiedad la constituyó el éxito de los modelos de NOVO en química farmacéutica. Por otro lado las constantes de Hammett han demostrado, tanto en química física como en química biológica, la utilidad de un enfoque de tipo aditivo para estimar la influencia de los sustituyentes en la propiedad de la molécula.

Cuando se emplea el ToSSMoDe, se pueden calcular las contribuciones de los fragmentos, si los coeficientes son de primer orden y las relaciones cuantitativas estructura-actividad son lineales. Este es el caso de las obtenidas por regresión lineal multivariada, análisis discriminante y a través del método Piecewise. Para estos métodos se sigue el desarrollo algebraico que presentamos a continuación; dada la ecuación general obtenida por estos métodos:

$$P = \sum_{k=1}^n b_k \cdot \mu_k + b_0 \quad (8)$$

se expresan los  $\mu_k$  como combinación lineal del número de fragmentos de distintas clases en la molécula:

$$P = \sum_{k=1}^n b_k \cdot \left( \sum_{l=1}^m k c_l \cdot |F_l| \right) \quad (9)$$

reagrupando y extrayendo factor común se obtiene:

$$P = \sum_{l=1}^m \left( \sum_{k=1}^n b_k \cdot c_l \right) \cdot |F_l| \quad (10)$$

de donde se extraen los números  ${}^kC_l = \sum b_k$ .  ${}^kC_l$  que son las contribuciones de los fragmentos  $l$  a la propiedad  $P$ . Esta última es una expresión más general que la de NOVO debido a que no hay limitaciones en cuanto a las clases de fragmentos, a su vez esta ecuación refleja el principio de aditividad lineal de los fragmentos; siendo las  ${}^kC_l$  contribuciones constantes.

### ***2.1.2.2 La aditividad de las Contribuciones de fragmentos en presencia de interacciones, entre los fragmentos.***

En ocasiones, los modelos obtenidos para describir propiedades químico físicas, de series homólogas de compuestos, pierden su validez al tratar de generalizarlos fuera de la serie homóloga. Lo mismo ocurre con los modelos, para propiedades biológicas de fármacos que actúan por un mismo mecanismo, al tratar de generalizarlos para fármacos que actúen por otro mecanismo. Esto puede deberse a desviaciones de la aditividad lineal de las contribuciones. Las causas de estas desviaciones para propiedades biológicas en general son:

- \* dependencia no lineal del transporte y distribución sobre la lipofilidad
- \* diferente ruta metabólica
- \* distorsiones conformacionales
- \* múltiples modos o sitios de unión al receptor
- \* cambios en el mecanismo de acción.

Cuando se emplea el ToSSMoDe, se pueden calcular las contribuciones de los fragmentos, si los coeficientes son de segundo orden y las relaciones cuantitativas estructura actividad son lineales. Esto ocurre cuando usamos como variables, además de los  $\mu_k$ , productos de estos entre sí en un procesamiento estadístico empleando regresión lineal multivariada, análisis discriminante por regresión múltiple o Piece Wise. En estos casos pueden calcularse las contribuciones de los fragmentos según el siguiente desarrollo algebraico:

$$P = \sum_i^n b_i \cdot \mu_i + \sum_{s,t}^{q,r} b_{s,t} \cdot \mu_s \cdot \mu_t + b_0 \quad (11)$$

Se expresan los momentos espectrales como combinación lineal del número de fragmentos de distintas clases en la molécula:

$$P = \sum_{i=1}^n b_i \cdot \left( \sum_{l=1}^k c_l \cdot |F_l| \right) + \sum_{s,t}^{q,r} b_{s,t} \left( \sum_{o,p}^{x,y} c_o^s \cdot c_p^t \cdot |F_o| \cdot |F_p| \right) + b_0 \quad (12)$$

El primer término lo transformamos efectuando los productos, agrupando y extrayendo factor común:

$$P = \sum_{l=1}^k \left( \sum_{i=1}^n b_i \cdot c_l \right) \cdot |F_l| + \sum_{o,p}^{x,y} \left( \sum_{s,t}^{q,r} b_{s,t} \cdot c_o^s \cdot c_p^t \right) \cdot |F_o| \cdot |F_p| + b_0 \quad (13)$$

de la cual se obtienen las cantidades  ${}^pC_{op} = \sum b_{st} \cdot c_o^s \cdot c_p^t$  que representa la contribución de la interacción intramolecular de los fragmentos o y p a la propiedad.

En caso de que  $o = p$ , esto significa que el fragmento influye cuadráticamente en la propiedad. Lo anterior es válido para explicar propiedades en las que cada molécula por sí sola sea responsable de la propiedad. Para propiedades en las que todas las moléculas como conjunto, sean responsables de la propiedad el término  $|F_o| \cdot |F_p|$  no es más que el número de interacciones intermoleculares máximo posible entre los fragmentos o y p. En el caso de propiedades que dependan de la interacción de dos sustancias entre sí el término  $|F_o| \cdot |F_p|$  representaría el número de interacciones intermoleculares máximo posible entre los fragmentos o de una molécula y los fragmentos p de la otra.

Finalmente veremos que, si consideramos a la molécula como sistema de fragmentos, la ecuación:

$$P = \sum_{l=1}^k \left( \sum_{i=1}^n b_i \cdot {}^k c_l \right) \cdot |F_i| + \sum_{o,p}^{x,y} \left( \sum_{s,t}^{q,r} b_{st} \cdot {}^s c_o \cdot {}^t c_p \right) \cdot |F_o| \cdot |F_p| + b_0 \quad (14)$$

expresa que la propiedad depende de los aspectos aleatorios no considerados en el modelo ( $b_0$ ); de la contribución de cada elemento del sistema por sí mismo ( ${}^k C_l$ ) y de la interacción de los elementos del sistema entre sí ( ${}^p C_{s,t}$ ) y constituye una expresión más general del principio de aditividad.

En el caso particular en que todos los productos contengan a  $\mu_0 = m$  en la que  $m$  representa el número de aristas en el grafo o número de enlaces en la molécula, se mantiene  $\mu_0$  como  $m$ . Esto posibilita obtener una expresión de la contribución del fragmento en función del “tamaño” del grafo molecular:

$${}^p c_i = m \cdot \left( \sum_j b_j \cdot {}^j c_i \right) \quad (15)$$

que puede dar una idea física de que la contribución de ese fragmento a la propiedad depende del número de enlaces en la molécula. Un tratamiento análogo puede hacerse en caso de que sólo aparezcan productos con  ${}^d \mu_1 = \sum d_{ij}$ . Esto indicaría que la contribución del fragmento depende de la suma de los valores estándar de enlace de la molécula en que se encuentra.

### 2.1.2.3 Momentos espectrales locales.

En determinados problemas como son:

- \* estudio de fármacos, tóxicos o moléculas orgánicas con un esqueleto común, que es el responsable de la actividad en estudio, la cual puede ser químico física, biofarmacéutica, etc.
- \* estudio de reactividad sobre sitios específicos de una serie de moléculas.
- \* análisis de datos espectroscópicos IR, UV-VIS o RMN de fragmentos de la molécula.
- \* predicción de la fragmentación en espectrometría de masas.
- \* propiedades geométricas locales.
- \* discriminación de biodisposición de determinados grupos de la molécula.

y en general cualquier caso en que sea necesario estudiar no la molécula en su conjunto, sino las propiedades de determinados fragmentos de esta; pudiera ser necesario la definición de descriptores locales.

En el caso de los momentos espectrales se ha definido por el Estrada et al (33-35) unos análogos a los momentos espectrales totales que poseen análogas propiedades a las definidas anteriormente y se llaman momentos espectrales locales de la matriz de adyacencia de aristas  $\lambda_k (G, F_i)$  ó  ${}^d\lambda_k (G, F_i)$  los cuales pueden ser sobre la matriz de adyacencia de aristas del grafo molecular simple o ponderado y etiquetado. La definición de estos descriptores, invariantes grafo - teóricas para un fragmento (F) dado dentro de un grafo específico (G) es la siguiente:

$$\lambda_k (G, F_i) = \text{tr} (C_k) : C_k \subset E^k \quad (16)$$

$${}^d\lambda_k (G, F_i) = \text{tr} ({}^dC_k) : {}^dC_k \subset {}^dE^k \quad (17)$$

Donde  $C_k$  es una celda de la matriz  $k$ -ésima potencia de  $E$  ó  ${}^dE$  respectivamente que contiene a todos los  $e_{ii}$  elementos de la diagonal principal referidos a las aristas del fragmento de interés.

Cada momento espectral local tiene un significado particular, especialmente para los primeros valores de  $k$  contiene información sobre la estructura del fragmento en sí, para valores mayores, contiene información sobre el entorno del fragmento considerado dentro del grafo.

Por ejemplo:

$$\lambda_0(G, F_i) = {}^d\lambda_0(G, F_i) = m_i \quad (18)$$

Donde  $m_i$  es el número de aristas que contienen al fragmento  $F_i$ .

$${}^d\lambda_1(G, F_i) = \sum e_{ii} : e_{ii} \subset C_1 \quad (19)$$

Donde  $e_{ii}$  son los  $d_{ij}$  del fragmento en cuestión. En general puede escribirse los momentos espectrales locales como combinación lineal del número de veces que aparece los fragmentos que se solapan con  $F_i$  en el grafo  $G$ :

$$\lambda_k(G, F_i) = \sum {}^k c_{hi} |F_{hi}| \quad (20)$$

Donde  ${}^k c_{hi}$  es la contribución del fragmento  $h$  al momento espectral local  $k$  del fragmento  $i$ .

$|F_{hi}|$  es el número de veces que se solapan fragmentos de tipo  $h$  con el  $i$ .

Estos momentos espectrales pueden usarse para correlacionarlos con propiedades de los grupos químicos de las moléculas; obteniéndose para la regresión lineal una ecuación de la siguiente forma:

$$P = \sum b_k \lambda_k(G, F_i) + b_0 \quad (21)$$

que transformándose algebraicamente según:

$$P = \sum b_k ( \sum {}^k c_{hi} |F_{hi}| ) \quad (22)$$

$$P = \sum ( \sum b_k {}^k c_{hi} ) |F_{hi}| \quad (23)$$

se puede extraer el número  ${}^p c_{hi} = \sum b_k {}^k c_{hi}$  que es la contribución del fragmento  $h$  a la propiedad  $P$  del fragmento  $i$ .

#### **2.1.2.4 El TOSS MODE como método QSAR.**

Una vez descrito el basamento teórico del método diremos que su desarrollo práctico a la hora de aplicarlo al diseño molecular es análogo al de todos los métodos QSAR y sigue el esquema de la *Figura # 7*.

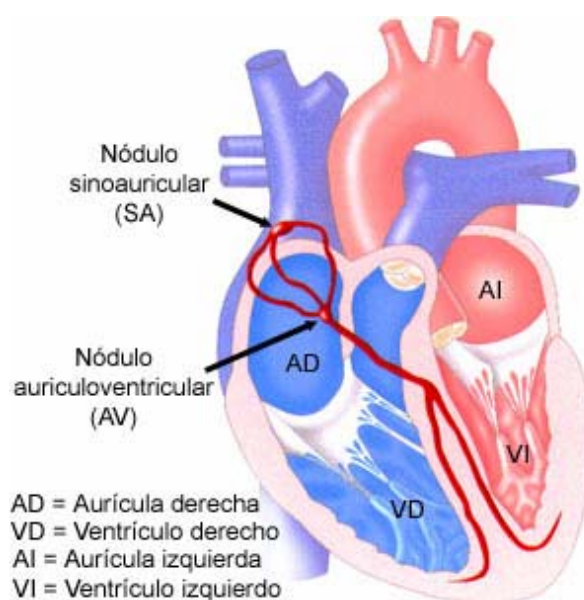
## **2.2 Electrofisiología del Corazón.**

### **2.2.1 Anatomía del corazón.**

#### **2.2.1.1 El corazón como bomba.**

El corazón está constituido por dos bombas separadas, una derecha que impulsa la sangre hacia los pulmones y una izquierda que impulsa la sangre por los órganos periféricos. Cada una de estas dos subunidades por separado es una bomba pulsátil de dos cavidades compuesta por una aurícula y un ventrículo, (*figura 8*).

El corazón esta compuesto por tres tipos fundamentales de músculo cardiaco: músculo auricular, músculo ventricular y fibras excitatorias y de conducción. La musculatura auricular y ventricular se contrae de manera muy semejante al músculo esquelético aunque la contracción es más prolongada mientras que las fibras excitatorias y de conducción se contraen débilmente porque contiene pocas fibrillas contráctiles, más bien, a causa de sus propiedades rítmicas y la rapidez de su conducción brinda un sistema trasmisor para la conducción rápida de la señal excitadora cardiaca por todo el órgano.



*Figura 8: Anatomía del corazón.*

### **2.2.1.2 Contracción muscular del miocardio:**

El músculo cardiaco se contrae de forma involuntaria como el músculo liso. En el corazón existen unas fibras especializadas que producen potenciales de acción espontáneamente, a una frecuencia de 60 por minuto aproximadamente. Estos potenciales de acción se propagan a las demás fibras a través de conexiones eléctricas que comunican a todas las fibras del corazón.

Cuando un potencial de acción pasa sobre la membrana del músculo cardíaco, se disemina también al interior de la fibra cardíaca a lo largo de la membrana de los túbulos T. Los potenciales de acción de estos últimos causan a su vez la liberación instantánea de iones Ca hacia el sarcoplasma del músculo desde las cisternas del retículo sarcoplasmático. En seguida, los iones Ca se difunden en otras pocas milésimas de segundo en las miofibrillas, en las que catalizan las reacciones químicas que promueven el deslizamiento de los filamentos de actina y miosina a lo largo de ellas; y este fenómeno conduce a su vez a la contracción muscular. Además de los iones Ca que son liberados hacia el sarcoplasma desde las cisternas del retículo sarcoplasmático, durante el potencial de acción se difunde también grandes cantidades de estos iones de los túbulos T al sarcoplasma. De hecho, sin este Ca adicional es probable que se reduzca considerablemente la fuerza de contracción del músculo cardíaco, porque las cisternas de esta fibras están peor desarrolladas que las del músculo esquelético y no almacenan suficiente Ca. La potencia de la contracción del músculo cardíaco depende en gran medida de la concentración de iones Ca en el líquido extracelular. El motivo es que los extremos de los túbulos T se abren directamente al exterior de las fibras del músculo cardíaco, y permite que el mismo líquido extracelular que se encuentra en el intersticio de este músculo se filtre a través de los túbulos T. En consecuencia, la cantidad de iones de Ca del sistema del túbulo T, lo mismo que la disponibilidad de iones Ca para producir la contracción muscular cardíaca, depende directamente de la concentración de iones Ca en el líquido extracelular. Al final de la meseta del potencial de acción de la entrada de iones Ca hacia el interior de la fibra muscular se interrumpe súbitamente y los iones Ca del sarcoplasma se ven impulsados con rapidez de nuevo tanto hacia el retículo sarcoplasmático como hacia los túbulos T. Como resultado se interrumpe la contracción hasta que ocurre un nuevo potencial de acción. (36)

### **2.2.2 Sistema Eléctrico del Corazón.**

Los impulsos eléctricos generados por el músculo cardíaco (el miocardio) estimulan la contracción del corazón. Esta señal eléctrica se origina en el nódulo sinusal (también llamado nódulo sinoatrial o nódulo SA), que es una pequeña masa de tejido especializado localizada en el atrio derecho del corazón. El nódulo SA también se denomina el «marcapasos natural» del corazón. El nódulo sinusal genera periódicamente un impulso eléctrico (de 60 a 100 veces por minuto en condiciones normales). Ese estímulo eléctrico viaja a través de las vías de conducción y hace que las cavidades del corazón se contraigan y bombeen la sangre hacia fuera. Los atrios derecho e izquierdo son estimulados en primer lugar, y se contraen durante un breve período de tiempo antes de que lo hagan los ventrículos derecho e izquierdo. El impulso eléctrico viaja desde el nódulo sinusal hasta el nódulo atrioventricular (nódulo AV), donde se retrasa un breve instante, y después continúa por las vías de conducción a través del haz de His hacia los ventrículos. El haz de His se divide en la rama derecha y en la rama izquierda, para proveer estímulo eléctrico a los dos ventrículos. En condiciones normales, mientras el impulso eléctrico se mueve por el corazón, éste se contrae entre 60 y 100 veces por minuto. Cada contracción representa un latido. Los atrios se contraen una fracción de segundo antes que los ventrículos para que la sangre que contienen se vacíe en los ventrículos antes de que éstos se contraigan. (37)

#### **2.2.2.1 Diagrama del sistema eléctrico.**

El nódulo sinoauricular (1) inicia un impulso eléctrico que recorre las aurículas derecha e izquierda (2), produciendo su contracción. Cuando el impulso eléctrico alcanza el nódulo auriculoventricular (3), es retardado ligeramente. El impulso, a continuación, viaja hacia el haz de His (4), que se divide en la rama derecha del fascículo de His para el ventrículo derecho (5) y la rama izquierda del mismo para el ventrículo izquierdo (5), como se puede apreciar en la *figura 9* (38).

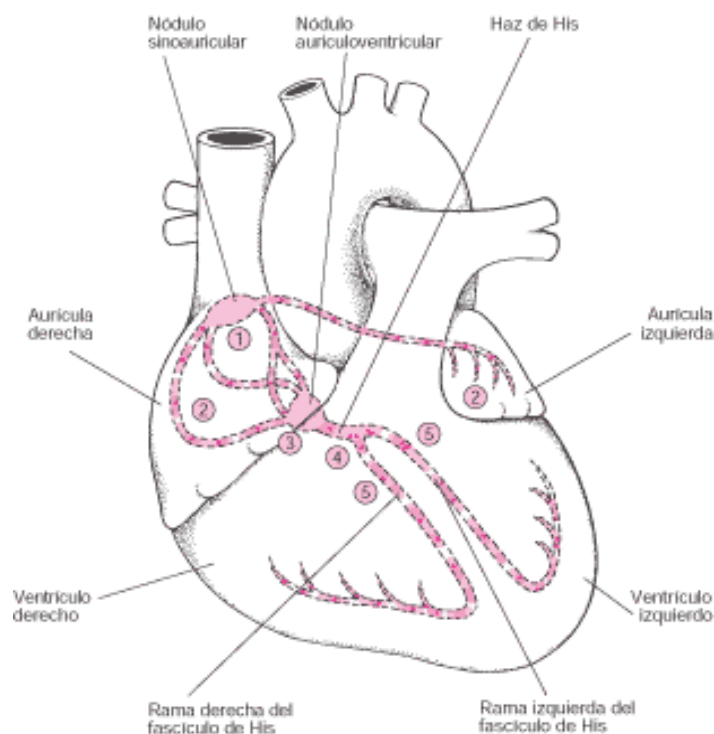


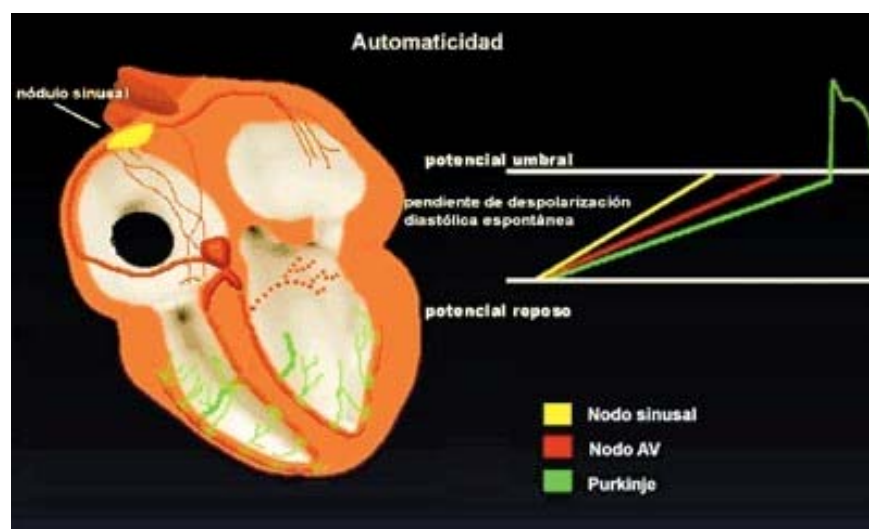
Figura 9: Diagrama del sistema eléctrico.

Aunque el nódulo SA envía impulsos eléctricos a una velocidad determinada, la frecuencia cardíaca podría variar según las demandas físicas o el nivel de estrés o debido a factores hormonales. (37)

### 2.2.3 Ritmicidad en la respuesta eléctrica del corazón

Revisaremos brevemente algunos conceptos generales de electrofisiología de las arritmias. Se define la automaticidad como la propiedad de algunas células cardíacas para generar de forma espontánea estímulos capaces de transmitirse a las células vecinas (Figura 10). Esta capacidad depende de la existencia de una pendiente de despolarización diastólica espontánea, que automáticamente alcanza el potencial umbral y genera un potencial de acción. En el corazón humano existen diversas estructuras cardíacas automáticas, pero en condiciones normales la

pendiente diastólica del nódulo sinusal es la más rápida, alcanza el potencial umbral y genera un potencial de acción que se transmite al resto de las células cardíacas, originando el ritmo sinusal normal.



*Figura 10: Automaticidad del corazón.*

La alteración del automatismo de las células cardíacas puede explicar la génesis de múltiples arritmias cardíacas. Podrían originarse al aumentar de forma anormal la pendiente de despolarización diastólica de células automáticas no sinusales, que al superar a la pendiente sinusal determinarían una arritmia rápida. Por otro lado, la depresión del automatismo sinusal determinaría que el ritmo cardíaco fuese generado por otra estructura automática, de forma habitual el nodo aurículo-ventricular, responsable de un ritmo de escape más lento que el sinusal.

Se define la excitabilidad (*figura11*) como la capacidad de las células cardíacas para responder a un estímulo efectivo, procedente de células automáticas, generando un potencial de acción tras el que existe un período refractario absoluto a cualquier

tipo de estímulo aplicado, seguido de uno relativo durante el cual los estímulos de gran magnitud pueden generar potenciales de acción capaces de propagarse a las células vecinas.

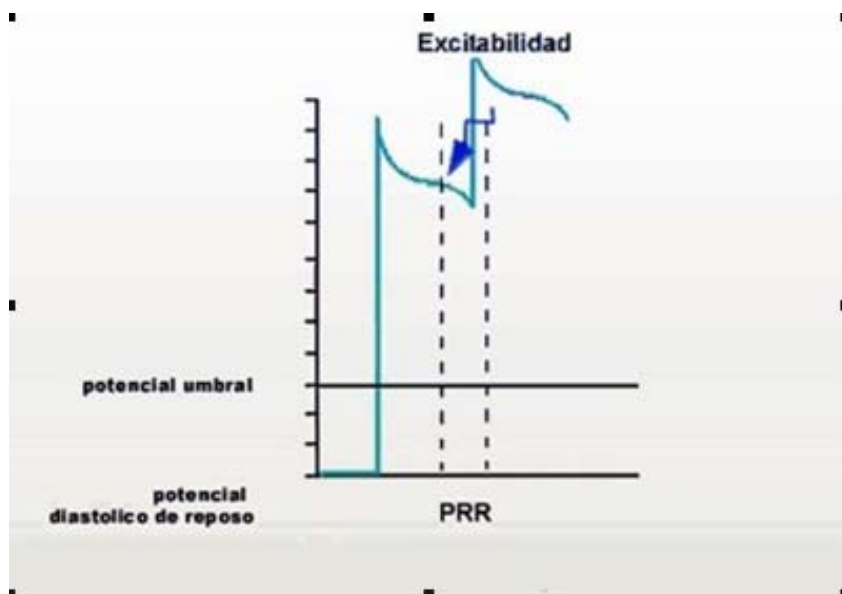


Figura11: Excitabilidad de las células cardíacas.

Tendríamos luego una fase de recuperación de la excitabilidad (*figura12*), en la que estímulos de magnitud umbral generan un nuevo potencial de acción. En esta fase existe un corto período, denominado supernormal (*figura13*), en el que podría generarse un potencial de acción con estímulos inferiores al umbral. Existen situaciones patológicas en las que pueden generarse postpotenciales responsables de un potencial de acción prematuro que, al propagarse por todo el corazón, determinaría la aparición de una arritmia (*figura14*).

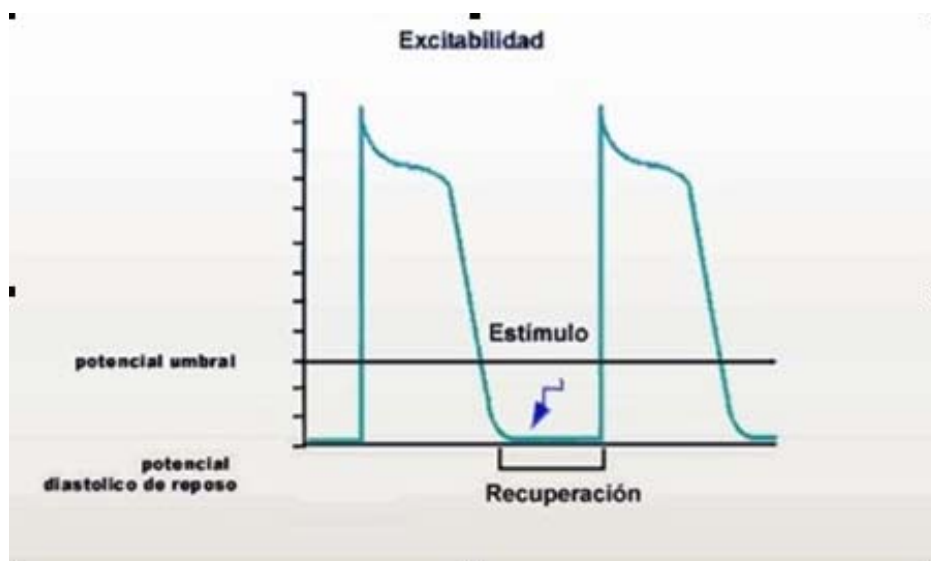


Figura 12: Recuperación de la excitabilidad.

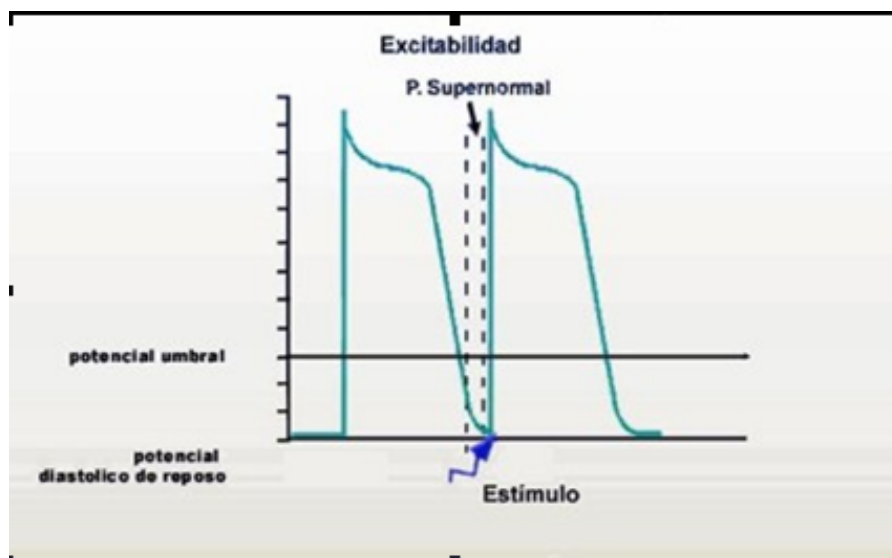
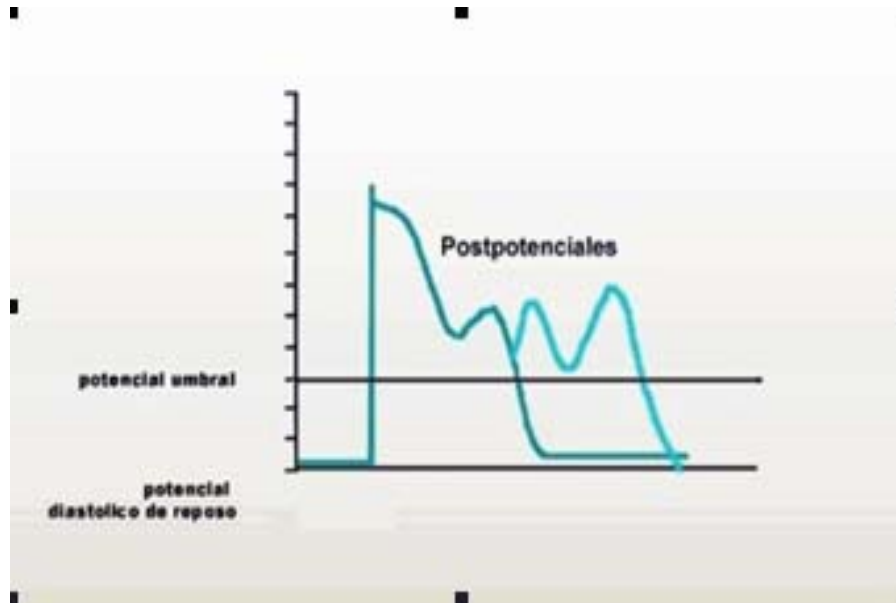


Figura 13: Periodo supernormal.



*Figura14: Postpotenciales responsables de un potencial de acción prematuro*

Podemos definir las arritmias cardíacas como todo ritmo diferente del sinusal normal. Las arritmias pueden causar problemas en las contracciones de las cavidades del corazón al:

- No permitir que las cavidades se llenen con la cantidad adecuada de sangre porque la señal eléctrica hace que el corazón bombee demasiado rápido.
- No permitir que se bombee una cantidad suficiente de sangre hacia el cuerpo porque la señal eléctrica hace que el corazón bombee demasiado despacio o de forma demasiado irregular.

#### **2.2.4 Fármacos que afectan la respuesta eléctrica del corazón**

Existe un amplio grupo de fármacos que actúan directamente sobre el corazón, provocando diversas acciones, muchos de ellos lo hacen sobre el miocardio corrigiendo las anomalías de un electrocardiograma normal, como es el caso de los antiarrítmicos, algunos intensifican la frecuencia cardíaca y paralelamente acortan la

distancia entre los complejos QRS, otros disminuyen el número de latidos por minuto por un efecto contrario; no todos actúan a igual concentración, ni por igual periodo de tiempo. En nuestro trabajo se utiliza una muestra representativa de aquellos que actúan sobre el corazón provocando una variación en el registro de los electrocardiogramas, ya sea disminuyendo o aumentando el número de despolarizaciones / repolarizaciones o contracciones cardíacas. La mayoría de estos fármacos poseen características estructurales diferentes y actúan por varios mecanismos de acción.

→ Compuestos que modulan los canales de  $\text{Na}^+$ , afectando a la mayoría de las células del corazón y mucho menos a las células de los nódulos. Ejemplo Lidocaína., Flecaimida.

→ Fármacos que actúan sobre los receptores Adrenérgicos cardíacos. Ejemplo Propranolol.

→ Grupo de compuestos con mecanismo de acción no esclarecido que incrementan el periodo refractario de forma importante.

→ Compuestos que modulan la disponibilidad de calcio. Antagonistas al bloquear la entrada del calcio son más eficaces sobre las células de los nódulos que sobre otras células. Ejemplo Verapamilo, Diltiacem; o aumento de las concentraciones del ion y efecto cronotrope e ionotrope positivo.

→ Inhibidores de la fosfodiesterasa 3. Ejemplo Amrinona, Milrinona

### **2.2.5 Exámenes diagnósticos del corazón**

Constantemente se descubren nuevos y avanzados exámenes y herramientas de diagnóstico para entender mejor la complejidad de las enfermedades, las lesiones, y las anomalías congénitas o adquiridas. A continuación enumeramos sólo algunos de los exámenes de diagnóstico que se han utilizado o se utilizan identificar mejor las enfermedades cardiovasculares y proceder a su estudio.

**Electrocardiograma (ECG o EKG)**

Un examen que registra la actividad eléctrica del corazón, muestra los ritmos anormales (arritmias o disritmias) y detecta lesiones del músculo cardíaco.

**Electrocardiograma de Promediación de Señales (SAE)**

Un examen muy parecido a un ECG pero que lleva más tiempo debido a que registra más información.

**Examen de estrés (generalmente con ECG; también llamado ECG en cinta de caminar o ECG de ejercicio)**

Un examen que se realiza mientras el sujeto camina en una cinta continua o pedalea en una bicicleta estática para monitorizar el corazón durante el ejercicio. También se monitoriza la respiración y los ritmos de presión de la sangre. El exámen de esfuerzo se puede usar para detectar la enfermedad coronaria y, o para determinar los niveles de ejercicio seguros tras un ataque al corazón o una cirugía del corazón.

**Ecocardiograma**

Un exámen no invasivo que utiliza ondas sonoras para estudiar el movimiento de las cavidades y las válvulas del corazón. Al pasar un transductor de ultrasonidos sobre el corazón, el eco de las ondas sonoras crea una imagen en el monitor.

**Ecocardiograma Transesofágico (TEE)**

Un examen en el que se hace pasar un pequeño transductor a través del esófago para obtener una imagen más clara de la estructura del corazón.

**Arteriografía Coronaria o Angiograma**

Con este procedimiento se toman rayos X tras inyectar un contraste en una arteria para localizar los estrechamientos, las oclusiones y otras anomalías de arterias específicas.

**Tomografía por emisión de positrones (PET)**

Un escáner nuclear con el que se obtiene información sobre el flujo de sangre a través de las arterias coronarias al músculo cardíaco.

**Escáner PET con F-18 FDG (Fluorodeoxiglucosa)**

Un escáner con glucosa que se hace algunas veces inmediatamente después del escáner PET para determinar si el músculo cardíaco tiene daños permanentes.

**Escáneres con Talio o Escáneres de Perfusión Miocárdica**

➤ **Escáner SPECT de Reposo con Talio o Escáner de Perfusión Miocárdica**

Un escáner nuclear que se realiza mientras el sujeto está en reposo y que puede descubrir zonas del músculo cardíaco que no están recibiendo suficiente sangre.

➤ **Escáner de Ejercicio con Talio o Escáner de Perfusión Miocárdica**

Un escáner nuclear que se realiza mientras el sujeto hace ejercicio y que puede descubrir zonas del músculo cardíaco que no están recibiendo suficiente sangre.

➤ **Escáner con Talio de Persantine o Escáner de Perfusión Miocárdica**

Un escáner nuclear que se realiza en sujetos que no pueden hacer ejercicio para descubrir zonas del músculo cardíaco que no están recibiendo suficiente sangre.

**Escáneres MUGA / Angiografía Radioisotópica (RNA)**

➤ **Escintigrafía Sanguínea Compartimentada en Reposo (RGBPS), MUGA en Reposo, o Angiografía Radioisotópica en Reposo**

Un escáner nuclear para ver cómo se mueve la pared del corazón y cuánta sangre se expulsa con cada latido que se realiza cuando el sujeto está en reposo.

➤

➤ **Escintigrafía Sanguínea Compartimentada de Ejercicio, MUGA de Ejercicio, o Angiografía Radioisotópica de Ejercicio**

Un escáner nuclear para ver cómo se mueve la pared del corazón y cuánta sangre se expulsa con cada latido que se realiza justo después de que el sujeto haya caminado en una cinta continua o pedaleado en una bicicleta estática.

**De Primer Paso en Reposo**

El escáner tomado mientras el sujeto está en reposo para medir el porcentaje de sangre que atraviesa el corazón con cada latido.

**De Primer Paso en Ejercicio**

El escáner tomado mientras el sujeto hace ejercicio para medir el porcentaje de sangre que atraviesa el corazón con cada latido.

**Monitor Holter**

Una máquina pequeña portátil de EKG que funciona con pilas y que el sujeto debe llevar durante un período de 24 ó 48 horas para registrar en una cinta los latidos de su corazón - durante las actividades normales. Al cabo de ese tiempo, el monitor se devuelve al consultorio del médico para que éste pueda leer y evaluar la cinta.

**Grabador de Eventos**

Una máquina pequeña portátil que funciona con pilas que el sujeto debe llevar para registrar su ECG durante un largo período de tiempo. Los sujetos podrían mantener la grabadora durante varias semanas. Cada vez que experimenta algún síntoma, el sujeto o su dueño (si es animal) presionan un botón en la grabadora para grabar una muestra de ECG. Esta muestra se debe transmitir lo antes posible al consultorio del médico a través de una conexión telefónica para su evaluación.

**Examen con Mesa Basculante**

Un examen realizado mientras el paciente está conectado a monitores de ECG y de presión de la sangre y sujeto con correas a una mesa que se inclina en diferentes

direcciones. Este exámen sirve para determinar si el paciente es propenso a bajadas bruscas de la presión de la sangre o a ritmos del pulso lentos.

### **Estudio Electrofisiológico**

Un examen en el que se sitúan catéteres eléctricos aislados dentro del corazón para estudiar el sistema eléctrico del corazón.

### **Cateterismo Cardíaco**

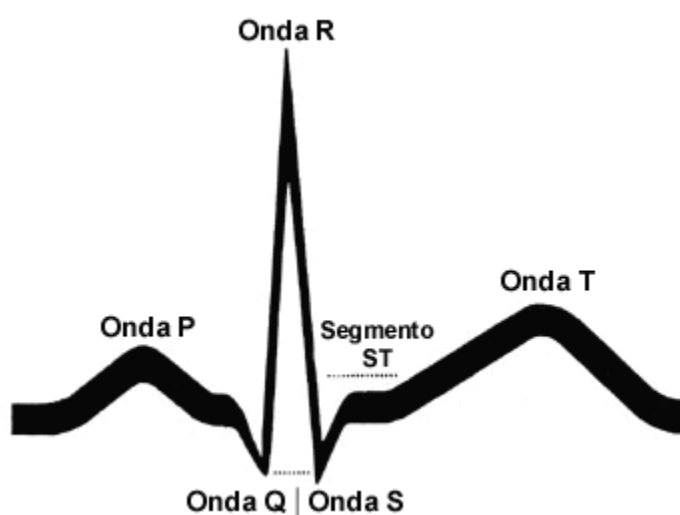
Un examen en el que un pequeño catéter (un tubo hueco) se hace avanzar a través de una vena o una arteria hacia el corazón. Un contraste yodado (un "tinte" líquido sin color) se administra a través del catéter, y se hacen rayos X en movimiento a medida que el tinte se desplaza hacia el corazón. Este examen global muestra lo siguiente: estrechamientos de las arterias, el tamaño externo del corazón, el tamaño de las cavidades internas, la capacidad de bombeo del corazón y la capacidad de las válvulas para abrirse y cerrarse, así como las medidas de las presiones que existen en el interior del corazón. (39)

### **2.2.6 Características del electrocardiograma normal**

El electrocardiograma (ECG) es un registro gráfico longitudinal que representa la actividad eléctrica del conjunto de la masa cardíaca durante su ciclo cardíaco y que se registra en la superficie corporal mediante la utilización de unos electrodos que se distribuyen de forma apropiada. En clínica, es uno de los sistemas de diagnóstico más utilizados. En la práctica deportiva, durante las pruebas de esfuerzo en laboratorio, su utilización es básica, no solo para poder detectar determinadas anomalías, sino porque es uno de los instrumentos que más seguridad aporta a los fisiólogos del ejercicio durante las pruebas hasta agotamiento. (40)

El electrocardiograma (ECG) normal esta formado por una onda P, un complejo QRS y una onda T. El complejo QRS en realidad incluye tres ondas la Q, la R y la S, (*Figura 15*). La onda P depende de corrientes eléctricas generadas cuando las aurículas se despolarizan antes de la contracción y el complejo QRS es producido por corrientes nacidas cuando los ventrículos se despolarizan antes de contraerse.

Así pues, la onda de despolarización se difunde por los ventrículos. Por lo mismo, tanto la onda P como los componentes del complejo QRS son ondas de despolarización. La onda T esta causada por corrientes nacidas cuando los ventrículos se recuperan del estado de repolarización. Este proceso ocurre en el músculo ventricular 0.25 a 0.35 de segundo después de la despolarización y esta onda se conoce como onda de repolarización. Así pues, el ECG esta formado por dos ondas, una repolarizante y una despolarizante. El ECG es una suma de la actividad cardiaca de todo el corazón. (37)



*Figura15: Esquema de un electrocardiograma normal.*

**Onda P:** Representa la activación eléctrica del atrio iniciada en el NSA. Por lo general es una onda de inscripción positiva, pero en ocasiones puede ser negativa, difásica, aplanada, con muesca o sencillamente puede no estar presente. La onda P, desde el punto de vista electrofisiológico, tiene dos componentes: el comienzo de la onda corresponde a la aurícula derecha, y el final de la misma corresponde a la izquierda. Estos componentes se encuentran "fusionados" expresándose en el gráfico como UNA sola onda: la onda P.

Cuando algo modifica la estructura y/o función de las aurículas, estos dos componentes (ahora modificados) suelen hacerse fácilmente evidenciables.

**Complejo QRS ventricular:** Representa la despolarización ventricular. Toda onda positiva de este complejo se le denomina onda R y si existe mas de una onda positiva dentro del complejo entonces es llamada R' (R prima). La onda negativa situada antes de la primera onda positiva del complejo QRS es llamada onda Q y la que se presenta después de la onda positiva del mismo es llamada onda S. Cuando estas ondas del complejo son pequeñas (menores de 5 mm) se designan como q, r, s, mientras que la aparición de voltajes mayores se designan como Q, R, S.

**Onda T.** Representa la repolarización de los ventrículos. Su registro puede ser positivo, negativo, difásico, en forma de bicúspide o plana.

**Onda U.** Se registra como una pequeña elevación de aspecto redondeado, que sigue a la onda T en ocasiones, principalmente en las derivaciones V<sub>3</sub> y V<sub>4</sub>. Se debe a algunos pospotenciales al principio de la diástole. Pudiera decirse que es una onda mas bien infrecuente (no es constante) que representa la activación tardía de algunos sectores del miocardio ventricular y que se relaciona con el metabolismo hidromineral en especial el Potasio. Suele mostrarse predominante en presencia de gasto cardiaco alto, empleo de insulina y digitálico o en cambios químicos asociados al Calcio y Magnesio. (41)

#### **2.2.6.1 Relación entre contracciones de aurícula y ventrículo y onda del electrocardiograma:**

Antes que pueda producirse la contracción del músculo, una onda de despolarización debe difundirse a todo lo largo del mismo para iniciar los procesos químicos de la contracción. La onda P resulta de la difusión de la onda de despolarización a través de las aurículas, y la onda QRS de difusión de la onda de

despolarización a través de los ventrículos. En consecuencia, la onda P ocurre al principio de la contracción de las aurículas, y la onda QRS tiene lugar al principio de la contracción de los ventrículos, que siguen contraídos hasta unas pocas milésimas de segundo después de producida la repolarización, o sea, hasta el final de la onda T. Las aurículas se repolarizan aproximadamente de 0.15 a 0.20 segundos después de la onda de despolarización; es precisamente ese el momento cuando se registra la onda QRS, y es esa la razón por la cual la onda T auricular es enmascarada y en muy pocas ocasiones se observa.

La onda de repolarización ventricular es la onda T del electrocardiograma normal. De ordinario el músculo ventricular empieza a repolarizarse en algunas fibras aproximadamente 0.20 segundos después de iniciarse la onda de repolarización, y completa su repolarización en todas las fibras 0.35 de segundos después de comenzar la repolarización. Así pues, el proceso de repolarización se extiende durante un tiempo largo, alrededor de 0.15 segundos. Por este motivo la onda T del electrocardiograma normal es una onda bastante prolongada, pero su voltaje es considerablemente menor que el del complejo QRS, en parte por su gran longitud.

(37)

### **2.2.7 Métodos para obtener electrocardiogramas**

#### *Registro de pluma.*

Estos escriben el ECG con una pluma directamente en una tira de papel que se desplaza. La pluma suele ser un tubo delgado unido en un extremo con un dispositivo de tinta; la parte que registra se halla conectada a un poderoso sistema electromagnético capaz de mover la pluma adelante y atrás con gran velocidad. Cuando el papel se mueve la pluma está controlada mediante amplificadores adecuados unidos a los electrodos electrocardiógrafos del paciente.

*Registro con osciloscopio.*

Los ECGs también pueden registrarse en la pantalla de un osciloscopio o fotografiarse en la pantalla. Sin embargo, como el osciloscopio tiene un costo elevado y como no es necesario registrar potenciales eléctricos de frecuencia elevada, no es muy empleado en investigaciones farmacológicas. (37)

*Registro con fisiógrafos acoplados a sistema de procesamiento de datos.*

Son los más novedosos y combinan los polígrafos o fisiógrafos clásicos con ordenadores mediante la utilización de softwares y paquetes estadísticos específicos para analizar e integrar los parámetros que se deseen estudiar de un electrocardiograma. En estos casos el equipo puede poseer registro de papel o conexión a un ordenador o ambos al mismo tiempo, eligiendo el usuario la forma a emplear para registrar los electrocardiogramas.

**2.2.8 Derivaciones electrocardiográficas****2.2.8.1 Triángulo de Einthoven**

Einthoven, premio Nóbel de Fisiología y Medicina e impulsor de la cardiología, elaboró una teoría que dio origen al surgimiento de las derivaciones. En términos concretos él planteó que siendo el corazón un órgano generador de corriente eléctrica y el cuerpo humano un buen conductor, podría construirse imaginariamente un triángulo, cuyos vértices estaban formados por los acromios y el pubis y sobre cuyos lados se proyectarían las fuerzas eléctricas emanadas del músculo cardíaco. Dado que el corazón se inclina dentro del pecho hacia la izquierda, y como los brazos y piernas son prolongaciones de sus respectivas raíces, en la práctica se emplean los miembros superiores y el inferior izquierdo para construir el triángulo (*figura16*). El electrodo que en la práctica se sitúa en la pierna derecha es indiferente o sea

inoperante y se emplea para obviar dificultades relacionadas con la línea eléctrica que sirve de conexión a los equipos en uso para la toma del ECG.

Las señales electrocardiográficas pueden ser medidas desde cualquier punto de la superficie del cuerpo, pero siempre se utilizan puntos convencionales con el objeto de uniformar los procedimientos de registro. El método más convencional para el registro del ECG emplea tres derivaciones estándar de Einthoven, que establecen que el corazón se comporta como un dipolo eléctrico situado en el centro de un triángulo equilátero, con tres ejes separados  $60^\circ$  uno del otro. Los lados del triángulo se denominan derivaciones DI, DII y DIII. Las leyes de Einthoven establecen que el vector suma de las proyecciones del vector cardíaco sobre el plano frontal en algún instante sobre los tres ejes del Triángulo de Einthoven es nulo. Empleando el Triángulo de Einthoven, se registra el potencial entre: 1.- Brazo derecho y el brazo izquierdo. 2.- Brazo derecho y la pierna izquierda. 3.- Brazo izquierdo y la pierna izquierda. La forma de onda obtenida en este tipo de registro se muestra en la figura siguiente. (41)

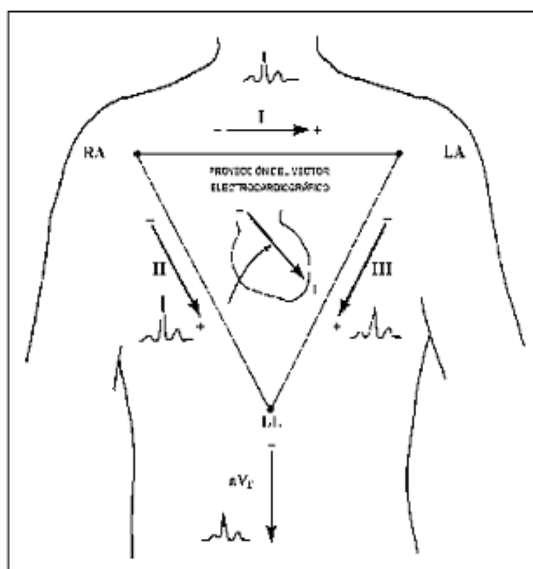
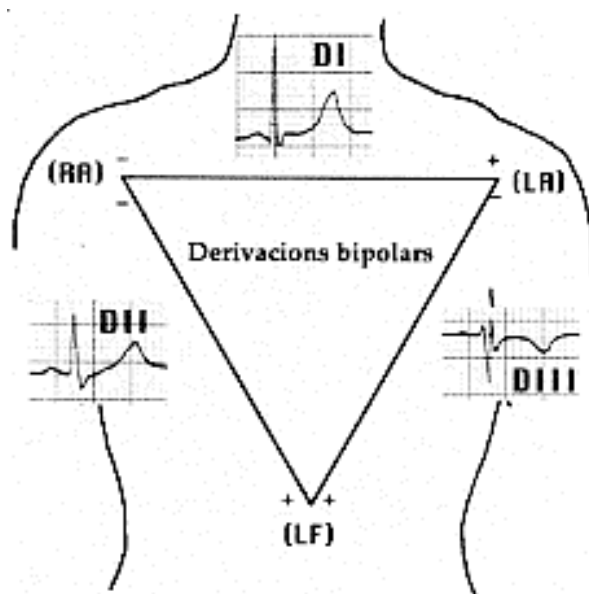


Figura16: Triangulo de Eindhoven.

### 2.2.8.2 Derivaciones bipolares

DI, DII i DIII registran las diferencias de potencial entre la extremidad superior izquierda (LA) y la extremidad superior derecha (RA), la extremidad inferior izquierda (LF) y la extremidad superior derecha (RA), y la extremidad inferior izquierda (LF) y la extremidad superior izquierda (LA) respectivamente. (*figura17*)

- ✓ DERIVACIÓN I: Al registrar la derivación 1 de las extremidades la terminal negativa del electrocardiógrafo se conecta al brazo derecho y la positiva al brazo izquierdo. En consecuencia, cuando el punto en que el brazo izquierdo se une al tórax, el electrocardiograma registra un desplazamiento positivo, o sea, por encima de la línea de voltaje cero. Cuando ocurre al revés, el electrocardiógrafo registra por debajo de la línea.
- ✓ DERIVACIÓN II: al registrar esta derivación la terminal negativa del electrocardiógrafo se conecta del brazo derecho y la terminal positiva a la pierna izquierda. Así cuando el brazo derecho es negativo con relación a la pierna izquierda el electrocardiógrafo registra positivamente.
- ✓ DERIVACION III: para registrar dicha derivación la Terminal negativa del electrocardiógrafo se une al brazo izquierdo y la Terminal positiva a la pierna izquierda. Esto significa que el electrocardiógrafo da un registro positivo cuando el brazo izquierdo es negativo con relacion a la pierna del mismo lado.

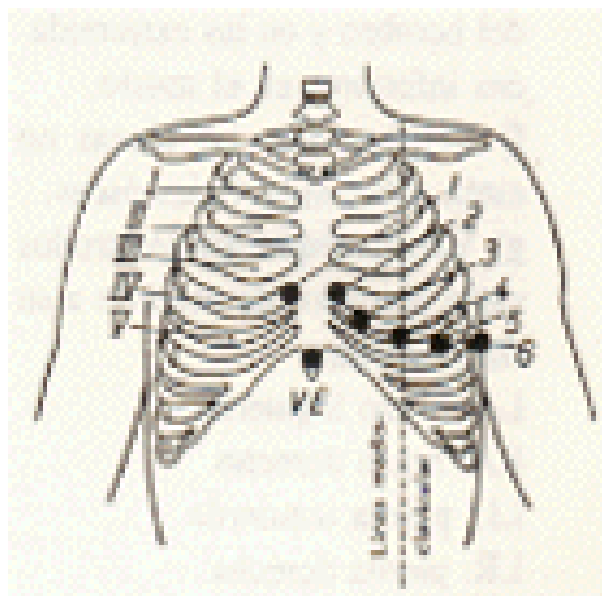


*Figuras 17: Derivación bipolares.*

ECG registrado a partir de las tres derivaciones bipolares de las extremidades: Los ECG producidos mediante las tres derivaciones son muy parecidas entre si, ya que todos registran ondas P positivas y ondas T positivas, y que la mayor parte del complejo QRS es positivo en cada uno de ellos. Es por ello que no tiene importancia significativa cual se utilizase para determinar arritmias. (42)

### **2.2.8.3 Derivaciones precordiales**

Se registra un electrocardiograma con un electrodo colocado en la cara anterior del torax encima del corazon, este se conecta a la terminal positiva del electrocardiógrafo y el electrodo negativo, denominado electrodo indiferente, se conecta a traves de resistencias electricas al brazo derecho, el izquierdo y la pierna izquierda simultáneamente. Generalmente se registran seis derivaciones toraccicas estandar a nivel de la pared anterior del torax, colocando el electrodo precordial en las derivaciones V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub>, V<sub>3</sub>, V<sub>4</sub>, V<sub>5</sub> y V<sub>6</sub>. (figura18).



*Figura18: Derivaciones precordiales.*

#### **2.2.8.4 Derivaciones unipolares aumentadas de los miembros**

Se obtienen conectando las tres extremidades a un punto denominado "central terminal" que a efectos prácticos se considera que tiene un potencial cero y sirve como electrodo indiferente o de referencia. Esto permite que al colocar el electrodo explorador en la extremidad superior derecha, la extremidad superior izquierda o la extremidad inferior izquierda, se puedan registrar los potenciales eléctricos en dicha extremidad. La letra "V" identifica a la derivación monpolar y las letras "R", "L" y "F" a las extremidades respectivas. Si se desconecta de la central terminal la extremidad en la que estamos realizando el registro, se obtiene un aumento de la amplitud y por este motivo se denomina a estas derivaciones aVR, aVL y aVF (*figura19*). (41)

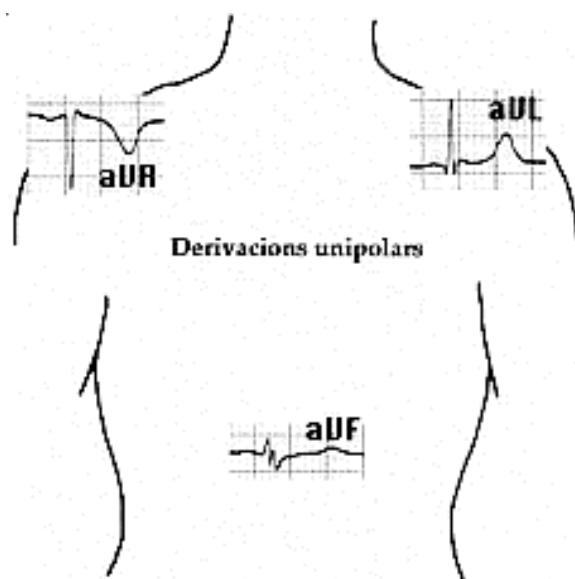


Figura 19: Derivaciones unipolares.

### 2.2.9 Modelos biológicos

En los estudios para la introducción de un nuevo medicamento o evaluar una nueva acción farmacológica de un fármaco conocido se sigue un protocolo para los ensayos clínicos el cual necesita de un ensayo preclínico que se realiza en animales experimentales. Generalmente para realizar estos estudios en el sistema cardíaco en general se utilizan diferentes especies como son hamsters, ratones, ratas, ovejas, perros, gatos, mandriles, caballos (43-46) y otros.

Los estudios en perros son bastante comunes y se llevan a cabo para diferentes finalidades y con diferentes razas, como boxers, dobermans, beagles, pastores alemanes y otros.

Para la investigación de enfermedades cardiacas es muy utilizado el monitoreo del ECG usando monitor Holter, el cual se pone en el animal para luego recoger el registro y que sea analizado. Dichas investigaciones se pueden realizar tanto en el hospital, el hogar o en perros de la calle (a los que se pueda acceder después) y se realizan generalmente en un periodo de 12 a 24, aunque puede ser mayor o menor, en dependencia de las necesidades del investigador.

Los animales utilizados para los estudios no tienen que estar enfermos precisamente, sino que es muy frecuente el empleo de animales sanos o aparentemente sanos para provocar cambios en ellos que permitan conocer más sobre ciertas enfermedades como arritmias cardiacas, deficiencias cardiacas, variaciones en el ritmo cardiaco y otras.

## ***Materiales y Métodos***

### ***3.1 Modelación teórica.***

Para la búsqueda de modelos de clasificación se procedió en primer lugar a la elaboración de una serie de entrenamiento, formada por compuestos que modificaban los registros electrocardiográficos (activos) y compuestos que no modificaban estos registros (inactivos). Posteriormente se empleó la aproximación Toss-Mode para el cálculo de los momentos espectrales de los grafos moleculares con hidrógeno suprimido basado en la matriz de adyacencia entre aristas del grafo, ponderada en la diagonal principal por momentos dipolos estándar de enlace, procediéndose de forma similar con una serie posterior externa. Para ello se utilizaron los momentos dipolo reportados para los enlaces de interés. (*Tabla # 4 en Anexos*)

Se especificó un orden máximo igual a quince (Maximun order =15), obteniéndose para cada molécula, de las 242 procesadas: (187 en la serie de entrenamiento y 55 en la de predicción), una matriz de 16 valores o variables (desde  $\mu_0$  hasta  $\mu_{15}$ ) que son los momentos espectrales obtenidos.

Estos resultados se exportaron al tabulador electrónico Microsoft Excel 2000 para Windows, donde se generaron 32 variables más al multiplicar  $\mu_0$  y  $\mu_1$  por cada uno de los momentos espectrales antes obtenidos, se añadió actividad sobre registro de ECG (Activ) como otra variable a la cual se le asignó valores de 1 para las estructuras activas, y -1 para las inactivas. De esta forma se totalizaron 48 variables.

La función discriminante fue obtenida con el software Statistical 6.0 utilizando para ello las variables relacionadas anteriormente, aplicando un análisis discriminante.

Todos los software fueron corridos sobre una computadora personal IBM Compatible *Pentium* a 2.66 GHz con 504 MB de memoria RAM.

### **3.2 Pruebas biológicas.**

#### *Animales utilizados.*

Para el estudio se emplearon perros Beagles de un año de edad, de 10 a 10.5 Kg de peso. Los animales utilizados estaban en perfecto estado higiénico sanitario, avalados por el certificado de salud emitido. Los perros fueron mantenidos en jaulas a temperatura ambiente y con adecuada alimentación.

#### *Preparación animal.*

Los animales empleados fueron adaptados a las condiciones experimentales durante 2 semanas con vistas a disminuir el estrés causado por la manipulación y el acoplamiento al electrocardiógrafo. Todos los animales fueron privados de alimentos 24 horas antes del estudio.

#### *Protocolo experimental.*

Se utilizaron 4 animales en el estudio de la siguiente forma: 1 control y 3 sometidos a la administración oral de G-1 empleando cápsulas entéricas de gelatina No. 2, en dosis de 2, 10 y 20 mg/Kg de peso vivo. El diseño consistió, en el caso de los animales que se le administró el fármaco, en la utilización de una dosis por animal, destacándose que el tiempo cero corresponde al momento previo a la administración, como se refleja en la *Tabla # 5*.

| Dosis mg/Kg | Tiempos de observación (min) |         |         |         |         |         |         |
|-------------|------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
|             | 0                            | 10      | 30      | 60      | 120     | 180     | 360     |
| 0 (control) | ECG, FC                      | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC |
| 2           | ECG, FC                      | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC |
| 10          | ECG, FC                      | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC |
| 20          | ECG, FC                      | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC | ECG, FC |

FC: frecuencia cardiaca.

ECG: Electrocardiograma.

*Tabla # 5: Determinación y tiempo de evaluación en las pruebas experimentales de G-1.*

Los electrocardiogramas se obtuvieron mediante un Electrocardiógrafo C-11 de fabricación inglesa y se empleó una derivación D-II electrocardiográfica para obtener los registros. La determinación de la frecuencia cardiaca se realizó mediante el uso del estetoscopio.

## **Resultados y Discusión.**

### **4.1 Modelo Estadístico.**

Con el objetivo de encontrar un modelo teórico que permita predecir la posible influencia sobre las ondas electrocardiográficas (registros) se diseñó una serie de entrenamiento representativa y aleatoria, en la cual la mayoría de los compuestos utilizados modifican registro de ECG acortando o alargando distancia entre complejos QRS.

En este análisis se trabajó con una matriz de 189 casos con 48 variables, donde Actv. es la variable independiente con valores fijos (1: grupo activo; -1: grupo inactivo). Se fijó una probabilidad de 0.5 para ambos grupos, obteniéndose un modelo aceptable al modelar con las variables  $\mu_4, \mu_0\mu_5, \mu_3, \mu_0\mu_0, \mu_5, \mu_0\mu_1$ , las cuales fueron seleccionadas por un método forward stepwise y cuya matriz de clasificación, niveles de significación de las variables, así como el aporte de cada una de ellas al modelo (R-Sqr) son satisfactorios (*Tablas # 7 y 8*). Se observa además que para el grupo de los activos (N=67) todos se clasifican correctamente y para el grupo de inactivos (N=122) 119 son bien clasificados y 3 (Azolocilina, Bromindione y Sunagrel) se incluyen en la serie de los activos con una probabilidad de 0.57, 0.86 y 0.78 respectivamente.

#### Matriz Clasificación

Fila: Clasificaciones Observadas

Columnas: Clasificaciones Predichas

|        | % correcto | G_1:-1 | G_2:1 |
|--------|------------|--------|-------|
| G_1:-1 | 97.5409851 | 119    | 3     |
| G_2:1  | 100        | 0      | 67    |
| Total  | 98.4126968 | 119    | 70    |

*Tabla # 6: Matriz de clasificación en la serie de entrenamiento.*

# Sumario Análisis de la Función Discriminante

6 pasos, N de variables en el modelo: 6; Grupos de Act. (1 -1)

Landa de Wilks': .23448 aprox. F (6,182)=99.028 p<0.0000

| Variables    | Landa de Wilks' | Landa parcial | F-remove (1,182) | p-niveles  | Tolerancia | 1-Tolerancia (R-Sqr.) |
|--------------|-----------------|---------------|------------------|------------|------------|-----------------------|
| $\mu_4$      | 0.54749006      | 0.4282901     | 242.945618       | 0          | 0.0006526  | 0.99934739            |
| $\mu_0\mu_5$ | 0.24725318      | 0.94835812    | 9.9106226        | 0.00192068 | 0.00990194 | 0.99009806            |
| $\mu_3$      | 0.3341473       | 0.70174015    | 77.3552628       | 1.0732E-15 | 0.00168008 | 0.99831992            |
| $\mu_0\mu_0$ | 0.41268361      | 0.56819451    | 138.312836       | 4.0723E-24 | 0.03163118 | 0.96836883            |
| $\mu_5$      | 0.38438538      | 0.61002469    | 116.348587       | 2.7465E-21 | 0.00207861 | 0.99792141            |
| $\mu_0\mu_1$ | 0.24981184      | 0.93864477    | 11.896574        | 0.00069879 | 0.01211374 | 0.98788625            |

*Tabla # 7: Niveles de significación de las variables utilizadas.*

Por lo que el modelo obtenido es válido; obteniéndose la función discriminante, la cual resultó ser:

$$A = -0.30163857\mu_4 + 0.0001577\mu_0\mu_5 + 0.56288686\mu_3 + 0.04481684\mu_0\mu_0 + 0.03222675\mu_5 - 0.0409704\mu_0\mu_1 \quad [1]$$

$$\lambda = 0.23448 \quad D^2 = 203.54 \quad D = 14.2668457 \quad F = 98.028$$

Donde  $\lambda$  es el estadístico de Wilks',  $D^2$  es el cuadrado de la distancia de Mahalanobis y F la razón de Fischer. La  $\lambda$  de Wilks' puede tomar valores entre 0 (discriminación perfecta) y 1 (no discrimina). La selección de los modelos se realizó en base a la calidad estadística de los mismos, los estadígrafos tenidos en cuenta para este fin fueron, en primer lugar la lambda de Wilks' que teniendo un valor de 0.23 nos permite hacer una mejor discriminación entre los fármacos usados, lo que se refleja en los porcentos de buena clasificación 97.5% para los inactivos y 100% para los activos y el

nivel de significación de las variables empleadas fue de 0.0019 para la menos significativa y un nivel de significación del modelo de 0.0000. De un conjunto de modelos obtenidos se seleccionaron solo aquellos cuyos valores de  $\lambda$  eran los mas pequeños posibles, ya que permite evaluar la hipótesis de que dos o mas grupos provienen de poblaciones con medias significativamente diferentes para un conjunto de variables. Debido a que valores pequeños de  $\lambda$  indican diferencias entre las medias de grupos, este se considera uno de los mejores criterios de comparación multivariada.

Otro criterio estadístico importante a la hora de decidir que modelo se debía seleccionar para realizar clasificaciones de calidad en el proceso de diseño de fármacos fue la distancia de Mahalanobis (D), la cual es una especie de distancia entre los centroides de cada uno de los supuestos grupos, por tanto su valor indicara, de una manera proporcional, la diferencia entre ambos, para grupos idealmente separados entre si la D como estimador insesgado de la F de Fisher debe ser mayor o igual a esta para demostrar significación estadística, ninguno de los modelos encontrados cumplió este requisito lo cual indica que no hay una separación total entre los grupos sino que existe cierta superposición.

Para la discriminación entre compuestos activos/inactivos estudiados aquí el modelo seleccionado clasifica correctamente el 100% de los activos (modifican el registro de ECG) y el 97.54% de los inactivos (no modifican los registros de ECG), para una clasificación total de 98.4%.

El por ciento de falsos activos e inactivos en la serie de entrenamiento es de 0 y 2.46 respectivamente. Los falsos activos son los compuestos inactivos que el modelo clasifica como activos y los falsos inactivos los activos clasificados como inactivos. En la *Tablas # 8 y 9 (Anexos)*, se dan los compuestos activos e inactivos respectivamente, clasificados por el modelo y su probabilidad posterior de clasificación.

Posteriormente se procesaron de forma similar que con la serie de entrenamiento las estructuras de 55 compuestos para conformar una serie de predicción externa con la cual validar el modelo estadístico obtenido. Estos compuestos utilizados en la serie de

predicción externa no fueron empleados en la serie de entrenamiento. Esta serie se introdujo en el modelo con igual número de variables y se predijo su actividad modificadora de registro de ECG, obteniéndose una predicción correcta en las dos subseries utilizadas, lo cual se muestra en las *Tablas # 10 y 11* (Anexos).

Matriz Clasificación

Fila: Clasificaciones Observadas

Columnas: Clasificaciones Predichas

|        | % correcto | G_1:-1 | G_2:1 |
|--------|------------|--------|-------|
| G_1:-1 | 81.81      | 9      | 2     |
| G_2:1  | 84.09      | 7      | 37    |
| Total  | 83.63      | 16     | 39    |

*Tabla # 12: Matriz de clasificación en la serie de predicción.*

Uno de los criterios más importantes para aceptar o no un modelo discriminante como el que se ofrece en este trabajo, esta basado en los resultados estadísticos de la serie de predicción externa. El análisis estadístico indica que nuestro modelo es apropiado porque presenta un 98.41% total de buena clasificación en la serie de entrenamiento y un 83.63% en la serie de predicción, como se aprecia en la *Tabla # 12*.

#### **4.2 Evaluación teórica del G-1 y estructuras relacionadas.**

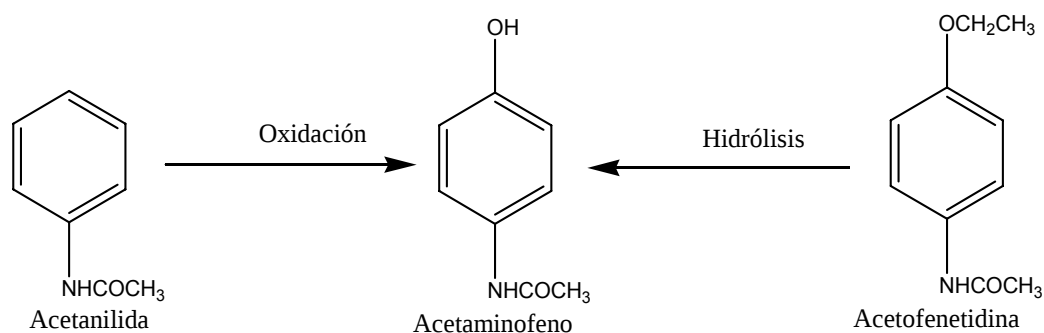
Con el objetivo de predecir la actividad potencial del G-1, G-0 y compuestos estructuralmente relacionados (obtenidos por farmacomodulación) los cuales se muestran en la (Anexos), se procedió a evaluar los mismos en el modelo seleccionado, obteniéndose los resultados de contribución y probabilidades de clasificación que se muestran en la *Tabla # 14*. Como se observa, el modelo predice con elevada probabilidad como activos al G-0, G-1 y varias estructuras relacionadas con estas.

El interés de la evaluación de moléculas obtenidas teóricamente, es la alta probabilidad de las mismas de influir en las ondas electrocardiográficas y la similitud que guardan con los prototipos G-0, G-1.

*Tabla14: Clasificación de moléculas relacionadas estructuralmente con el G-0, G-1.*

| Estructura | Probabilidad de clasificación |            | Contribución |
|------------|-------------------------------|------------|--------------|
|            | G_2: 1                        | G_1:-1     |              |
| G-0        | 0.957191586                   | 0.0428084  | 3.107291984  |
| G-1        | 0.966140568                   | 0.03385946 | 3.351076988  |
| E 2        | 0.999999762                   | 2.1419E-07 | 15.3564951   |
| E 3        | 0.999490857                   | 0.00050915 | 7.582269752  |
| E 4        | 0.043925438                   | 0.95607454 | -3.080356861 |
| E 5        | 0.999999762                   | 2.1419E-07 | 15.3564951   |
| E 6        | 0.999999821                   | 1.6007E-07 | 15.64771731  |
| E 7        | 0.776603103                   | 0.22339691 | 1.24614308   |
| E 8        | 1                             | 1.9563E-08 | 17.74952319  |
| E 9        | 0.999427795                   | 0.00057222 | 7.465417349  |
| E10        | 0.998678029                   | 0.0013219  | 6.627347902  |
| E11        | 0.999994516                   | 5.5056E-06 | 12.11        |

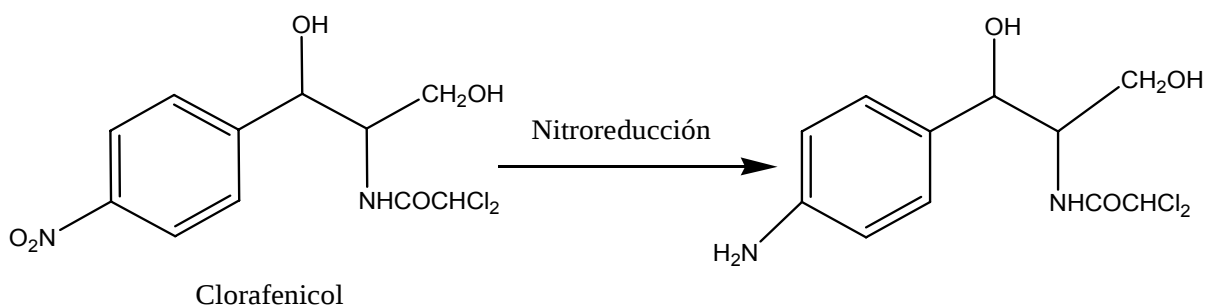
El estudio de contribución a la actividad biológica de estructuras relacionadas estructuralmente con los prototipos mencionados surge al considerar que numerosos fármacos se ven modificados por medio del metabolismo orgánico a metabolitos activos, hay varios ejemplos de ello, como la acetanilida y la acetofenetidina que se transforman en el organismo a acetaminofeno, el cual es en realidad el fármaco activo, tal como se muestra en la *Figura # 20*.



*Figura # 20: Ejemplo de efecto del metabolismo de los fármacos en el organismo.*

En el caso de compuestos vinil furánicos y otros obtenidos por fármaco-modulación, que guardan relación con el G-1 (y G-0), debido a que potencialmente puede modificarse rindiendo metabolitos potencialmente activos (lo cual es desconocido actualmente).

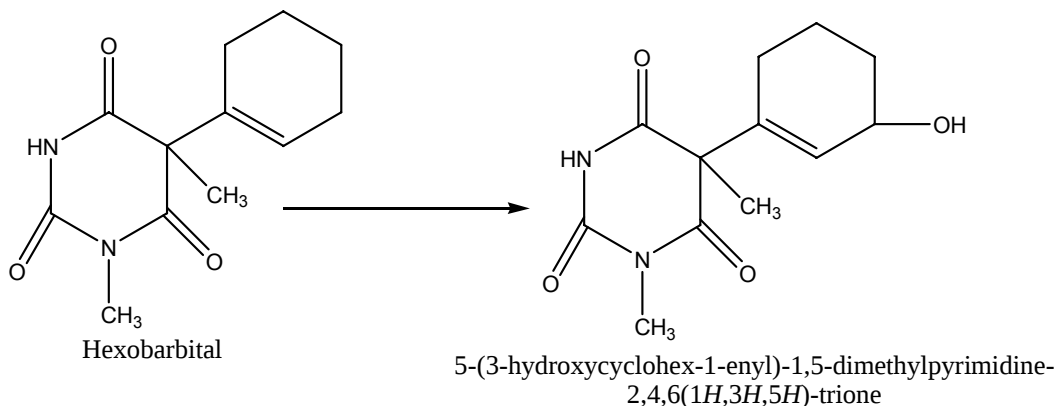
Por ejemplo, el grupo nitro puede experimentar nitro-reducción, como pudiera teóricamente ocurrir para generar las estructuras E2, E5, E6, E8, E9 y E10. Un ejemplo de reacciones transformativas de este tipo ocurre en el cloranfenicol (*Figura # 21*).



*Figura # 21: Ejemplo de modificación por nitro-reducción.*

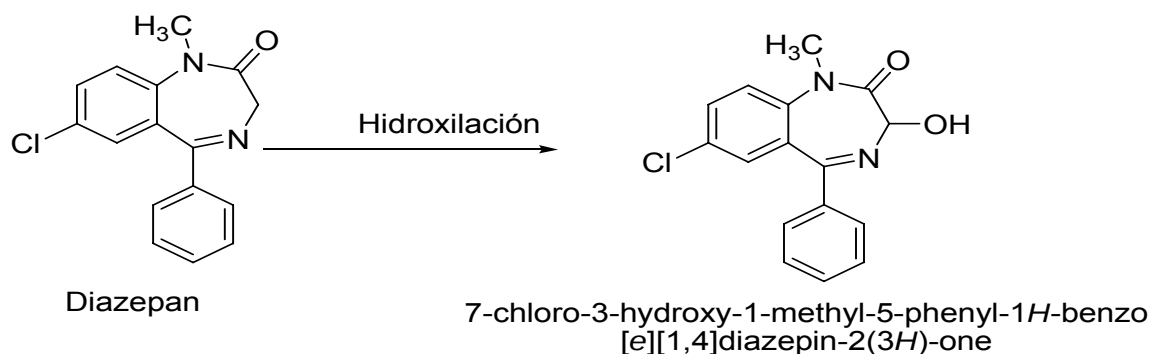
También puede producirse hidroxilación enzimática la cual puede verificarse en sistemas alifáticos (*Figura # 22*), aromáticos (*Figura # 23*) y otros, de esta forma se pudieran obtener las estructuras E6 y E10. Un ejemplo de reacción de hidroxilación es la siguiente:

### Hidroxilación alifática



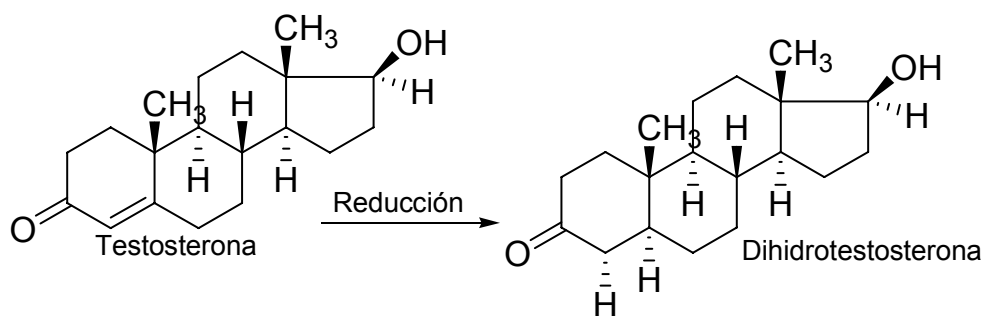
*Figura # 22: Ejemplo de hidroxilación alifática.*

### Hidroxilación aromática



*Figura # 23: Ejemplo de hidroxilación aromática.*

Otra de las modificaciones que pudieran sufrir los prototipos utilizados o las propias moléculas obtenidas por fármaco-modulación es la reducción de olefinas, debido a la acción de enzimas dihidro-reductasas resultando de esta reducción teóricamente las estructuras E3, E5, E6; E8, E9 y E10. Un compuesto en el cual se evidencia este tipo de modificación es la testosterona, hormona sexual masculina con actividad anabólica y androgénica (*Figura # 24*).

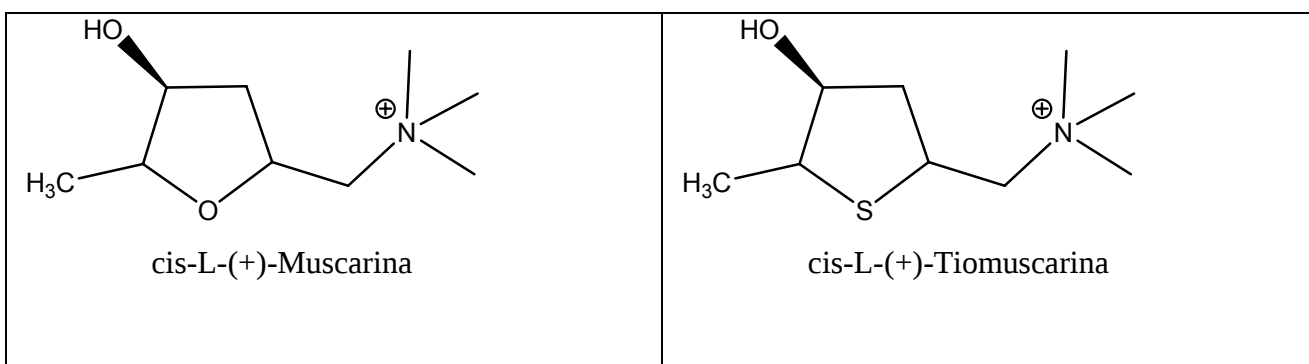


*Figura # 24: Ejemplo de reducción oleofílica.*

Al observar los resultados mostrados en la Tabla # 14 vemos como la probabilidad de ser activas es elevada para las estructuras relacionadas (E1-E2) esto indica que resulta posible tanto la actividad del G-0, G1 como de otras que resultan de la modificación de estos prototipos. No obstante la contribución a la actividad varía entre estas moléculas, así tenemos que las de mayor contribución a la actividad (mayor probabilidad de ser activas) E2, E5, E6 y E8, de menor contribución E3, E7, E9 y E10, así mismo notamos como el primer grupo en su conjunto posee una contribución media mayor que el segundo grupo, el cual solo posee un 36% de contribución media a la actividad respecto al primero.

De esta forma la molécula obtenida por fármaco-modulación a partir del G-0 donde se ha sustituido solamente el grupo nitrógeno por amino (E2) muestra una contribución y probabilidad de clasificación activas mayor que este, lo cual sugiere que la presencia de un grupo amino favorece la posibilidad de un tipo de interacción con receptores biológicos (por ejemplo posibilidad de formación de puentes de hidrógeno con grupos adecuados del receptor) que no sea posible con un grupo nitrógeno; de igual forma otras estructuras con diferencias más marcadas respecto al G-0 pero que incluyen la sustitución por amino, poseen contribuciones positivas mayores que el G-0, tal es el caso de: E5, E6, E8, E9 y E10 esto resulta razonable si tenemos en cuenta además que muchas estructuras que modifican los registros electrocardiográficos son aminas alifáticas con diversas sustituciones, de ahí la relación positiva observada. Por otra parte notaremos como la sustitución de O por S en el furano para obtener tiofeno, sin otra modificación, representada en E4, afecta negativamente la contribución a la actividad

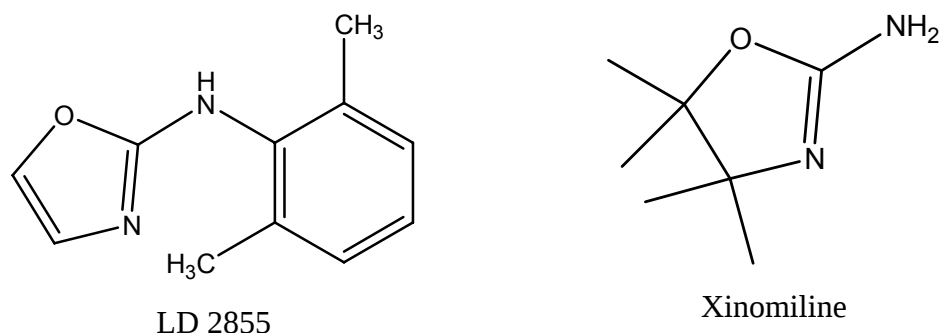
biológica. La explicación al resultado anterior pudiera estar relacionada con la capacidad del hetero-átomo en cuestión de formar interacciones por puentes de hidrógeno, pues el oxígeno posee mayor capacidad para este tipo de interacciones que el azufre. Un ejemplo similar pero en sistemas alifáticos lo encontramos en la actividad sobre los receptores muscarínicos de la *cis*-L-(+)-muscarina y la *cis*-L-(+)-tiomuscarina, siendo esta última menos potente, debido a la débil capacidad del S para establecer puentes de hidrógeno, que en este caso son importantes para la interacción con los receptores muscarínicos (*Figura # 25*).



*Figura # 25: Ejemplo de diferencia de actividad sobre los receptores muscarínicos.*

Otro fármaco encontrado en la bibliografía con actividad colinérgica Furfuril-trimetil-amonio (Furamon) donde el oxígeno del sistema furánico establece interacciones por puentes de hidrógeno con grupos adecuados del receptor muscarínico, las características de dieno del furano y la poca disponibilidad del par electrónico del oxígeno para aumentar la aromaticidad del sistema favorecen la disponibilidad para la formación de interacciones de este tipo. Estos ejemplos muestran como pueden influir estos cambios en las respuestas farmacológicas, si bien en este caso se trata de la actividad agonista colinérgica, pudiera ocurrir de manera similar en los diversos receptores que pueden relacionarse con la modificación de las características de un electrocardiograma. Por otra parte la sustitución por hidroxilo en carbono  $\beta$  respecto al  $\text{NH}_2$  como se observa en E6 y E10 también rinde contribuciones mayores que las observadas para el G-0 y G-1 respectivamente, esto es consistente con el hecho de que muchos derivados de etanolaminas provocan variaciones en los registros electrocardiográficos.

De este análisis se puede concluir que, aunque en la evaluación teórica de los prototipos de referencia (G-0, G-1) se obtienen predicciones positivas, la modulación estructural de estos, sobre todo aumentando la similitud con aminas e hidroxilaminas endógenas (ej: norepinefrina y epinefrina) aumenta la probabilidad de modificar las ondas o registros electrocardiográficos; de hecho se encontraron varios fármacos con sistemas heterocíclicos que modifican la actividad cardiaca (*Figura # 26*).



*Figura # 26: Estructuras con sistemas heterocíclicos (oxigenados) activos sobre el sistema cardiovascular.*

#### **4.3 Análisis de la Contribución de Enlaces a la Actividad:**

Posteriormente se procedió al cálculo de la contribución de enlaces a la actividad electrocardiográfica, calculando el momento espectral local para cada enlace de las moléculas en estudio y evaluándolo en el modelo general según la ecuación [2].

$$C(e) = \sum a_i \cdot C_0^l |F_0^e| + \frac{a_{k,l}}{2} \sum \left[ \left( \sum C_p^k |F_p^e| \right) \cdot \left( \sum C_0^l |F_l| \right) + \left( \sum C_0^l |F_0^e| \right) \cdot \left( \sum C_p^l |F_p| \right) \right] \quad [2]$$

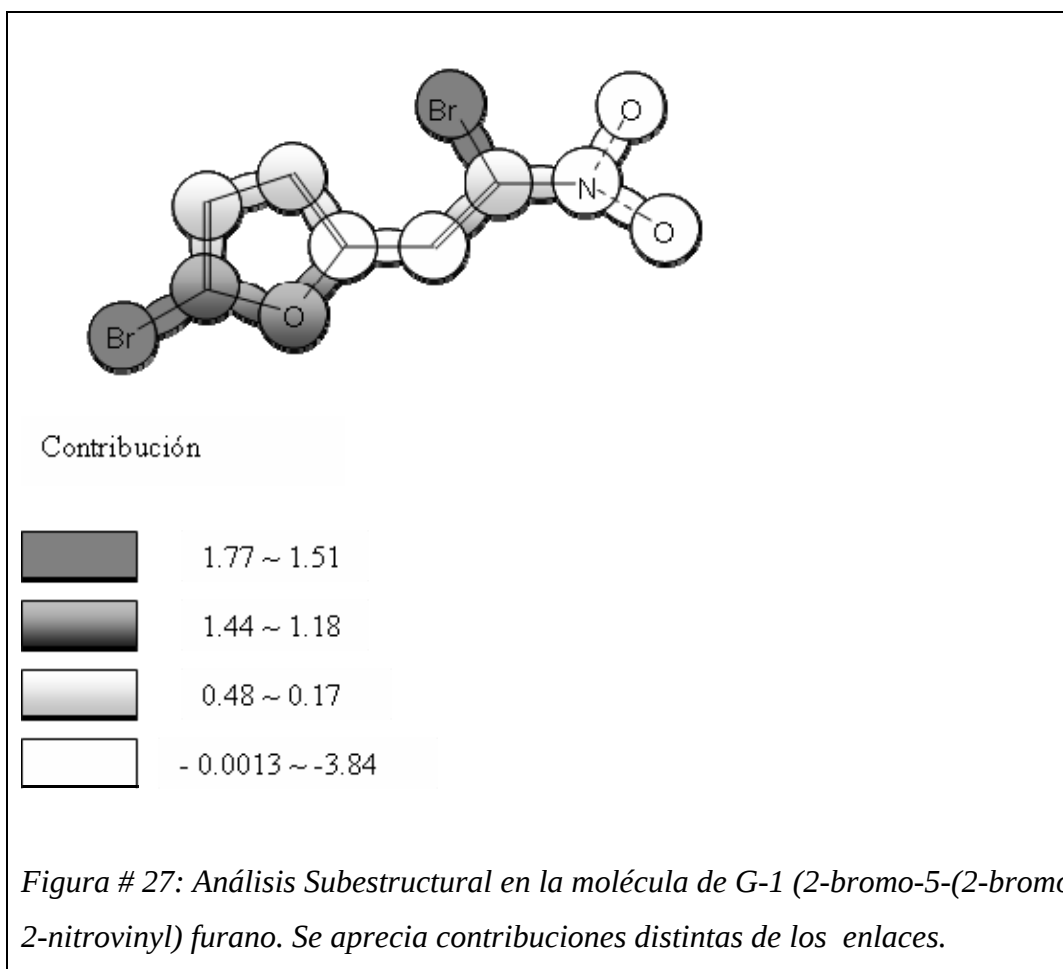
Donde  $C(e)$  es la contribución de enlaces a la propiedad,  $a_i$  es el peso estadístico del  $i$ -ésimo momento espectral en el modelo de clasificación,  $C_0^i$  es la contribución del fragmento de clase  $o$  al  $i$ -ésimo momento espectral,  $a_{k,l}$  son los pesos estadísticos en el

modelo de clasificación de la interacción entre el k-ésimo y el l-ésimo momento espectral, en los términos de tipo  $C_0^i$  la C se refiere a la palabra contribución del fragmento de la clase o al i-ésimo momento espectral, análogamente se interpreta los términos de  $C_p^k$  y  $C_0^l$ . En los términos del tipo  $|F_0^e|$  el módulo indica el número de veces que aparece el fragmento de clase o,  $F_0$ , en el enlace e. los términos del tipo  $|F_0|$  expresan el número de veces que aparece el fragmento de clase o, en la molécula y m es el número de enlaces.

Como se aprecia en el análisis efectuado en la molécula de G-1 podemos diferenciar zonas de isocontribución positivas y negativas. De acuerdo al análisis discriminante efectuado y al uso de la función discriminante para arribar a estos resultados, la obtención de zonas de mayor o menor contribución debe interpretarse como el grado de implicación en enlaces o fragmentos (función aditiva de los enlaces) en la interacción con receptores biológicos, así las zonas de mayor contribución tienen una probabilidad elevada de ser grupos farmacóforos o regiones cuyas interacciones con los receptores o biofases biológicas es más fuerte o tiende a estabilizar en mayor medida el complejo fármaco-receptor (CFR). Los enlaces de contribución negativa bien pueden ser grupos transporte, zonas de contribución despreciable a la estabilidad del complejo CFR o regiones subestructurales que dificultan el acercamiento, interacción y estabilidad con los receptores biológicos, por lo que una contribución negativa no debe interpretarse (según resultado matemático) como zonas de contribución “únicamente” negativa a la expresión de la actividad biológica, pues es bien conocido que las zonas transporte juegan un papel importante en la capacidad del fármaco para llegar al sitio de acción.

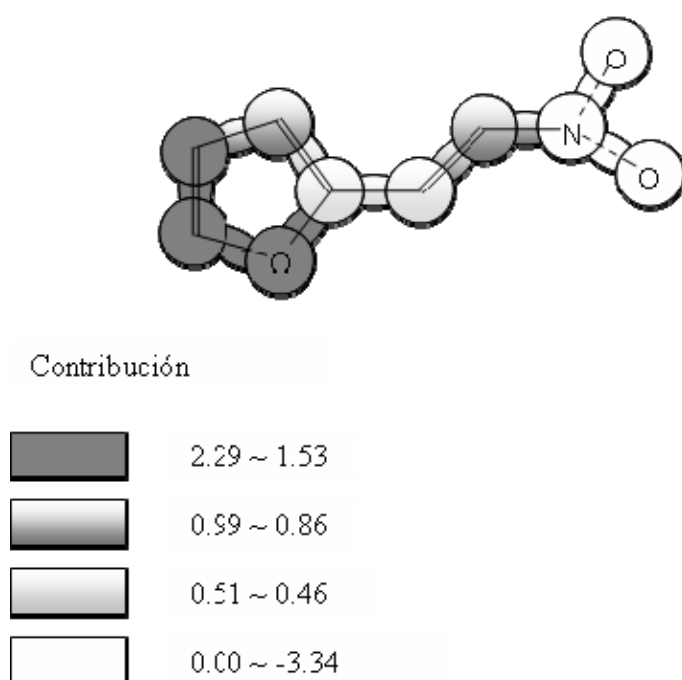
Los resultados obtenidos al realizar el análisis IZA (análisis de isocontribución) se corresponden con los resultados discutidos en la evaluación teórica de la actividad del G-0, G-1 y moléculas obtenidas por fármaco-modulación. En el G-1 se observa que los enlaces de mayor contribución son los C-O, C-Br, siguiendo con un peso menor los C=C del sistema furánico y vinílico respectivamente, mientras que los enlaces N-O en general no mostraron una contribución positiva, esto está en concordancia con las predicciones

positivas para moléculas donde se sustituían los grupos nitro de sistemas vinil-furánicos utilizados como prototipos de modulación.



En la *Figura # 27* se aprecia además una posible implicación distinta de varias regiones subestructurales en la interacción con los receptores biológicos, así los enlaces C-O-C poseen una contribución elevada, si tenemos en cuenta que dado el carácter electronegativo mayor del oxígeno estos enlaces están polarizados enriqueciendo la densidad electrónica del oxígeno y aumentando la disponibilidad de pares de electrónicos no enlazados (n) para la formación de puentes de hidrógeno con el receptor en correspondencia con los resultados discutidos en **epígrafe 4.2**. Otras zonas de menor

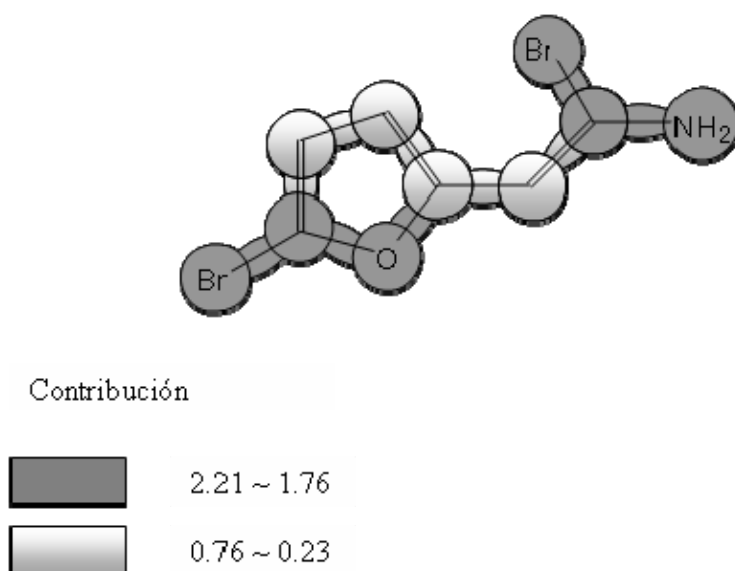
contribución (enlace Csp<sup>2</sup> furano-Csp<sup>2</sup> vinílico) pueden contribuir con interacciones débiles en la formación del complejo fármaco receptor, por lo que la importancia de éstos enlaces o regiones es pequeña si la comparamos con el caso anterior debido a la naturaleza mas débil de las interacciones que pueden originarse (electrostáticas, Van der Walls, hidrófobas).



*Figura # 28: Análisis Subestructural en la molécula de G-0 (2-(2-nitrovinyl) furano. Se aprecia contribuciones distintas de los enlaces.*

Por otra parte observamos como la contribución de los enlaces O-N-O es negativa, de ahí que la sustitución del nitro por amina rinde teóricamente compuestos activos, esto justifica además que el enlace C-N contribuya positivamente a la actividad como se observa en el análisis efectuado en G-0 y E-11 (*Figuras # 28 y # 29*). La influencia positiva del bromo, que aumenta la actividad potencial calculada para el G-1

respecto al G-0, puede estar sustentada si tenemos en cuenta que el bromo al ser un hetero-átomo de gran volumen, es polarizable y puede favorecer la interacción con el receptor por medio de fuerzas electrostáticas, además aporta lipofilia al sistema molecular pudiendo intervenir en la capacidad del fármaco para llegar al sitio de acción; este análisis se sustenta en el hecho de que la contribución de los enlaces C-Br es elevada en todos los casos, y a que la evaluación teórica de G-1, E8 y E11 como posible modificadores de los registros electrocardiográficos da resultados positivos.

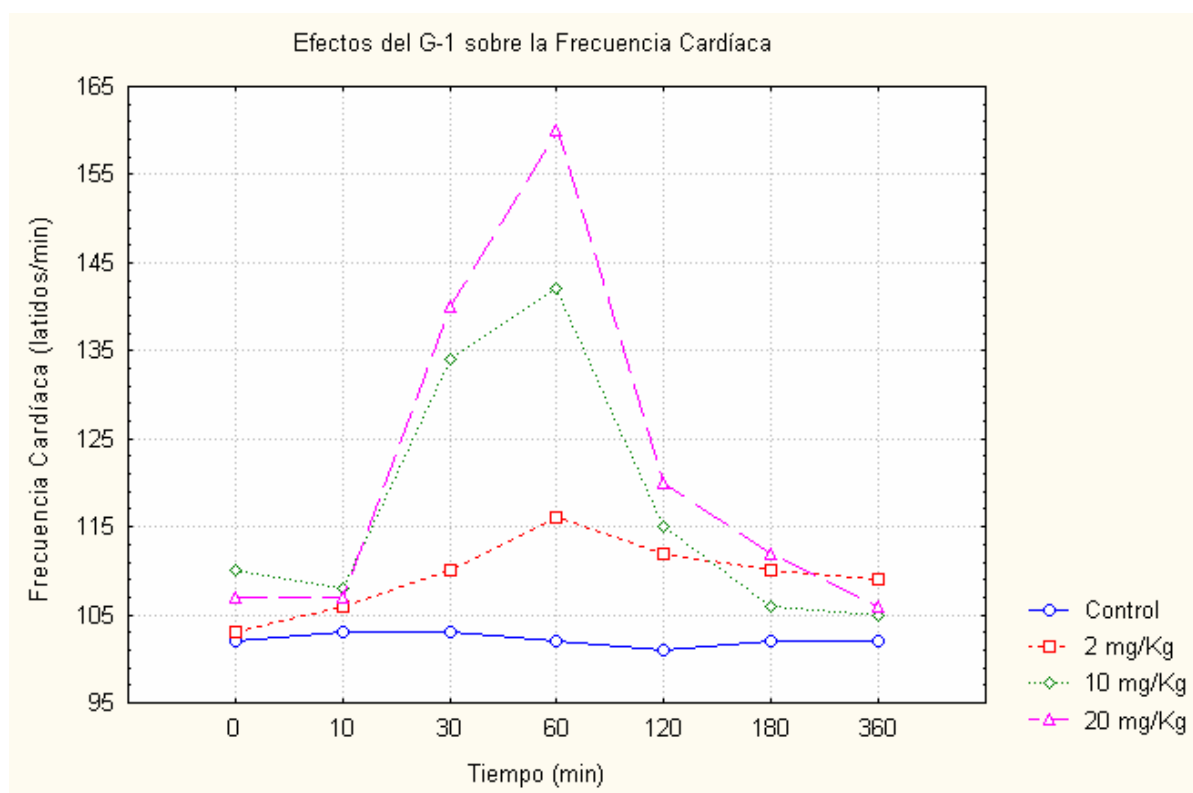


*Figura # 29: Análisis Sub-estructural en la molécula de E11  
1-bromo-2-(5-bromofuran-2-yl) ethenamine.*

#### **4.4 Evaluación experimental:**

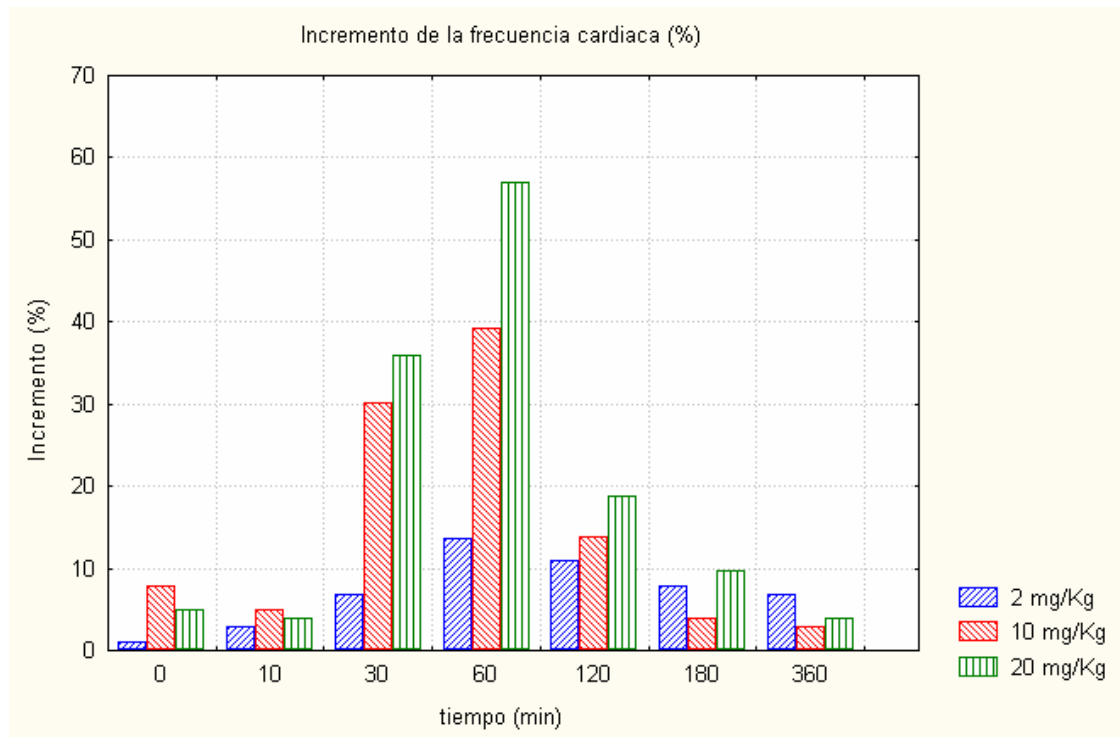
Como resultado de la medición de la frecuencia cardiaca (FC), se puede observar un aumentó considerablemente de la FC a partir de los 20 min, siendo su pico máximo a los 60 min postaplicación, evidenciándose un aumento de la respuesta con el incremento

de la dosis y recuperándose el ritmo normal a las 3 h, siendo la dosis de 20 mg/Kg de peso la que provoca mayor respuesta, como se refleja en la *Figura # 30* y en la *Tabla # 15* de Anexos.



*Figura # 30: Efecto del G-1 sobre la Frecuencia Cardíaca.*

De esta forma el incremento de la frecuencia cardiaca a los 60 min respecto al control experimenta un crecimiento, según las dosis utilizadas, de la siguiente manera: 2mg/Kg (13.7%), 10 mg/Kg (39.2%) y 20 mg/Kg (56.9%) en los animales de experimentación según se observa en la *Figura # 31* y la *Tabla # 16* de Anexos.

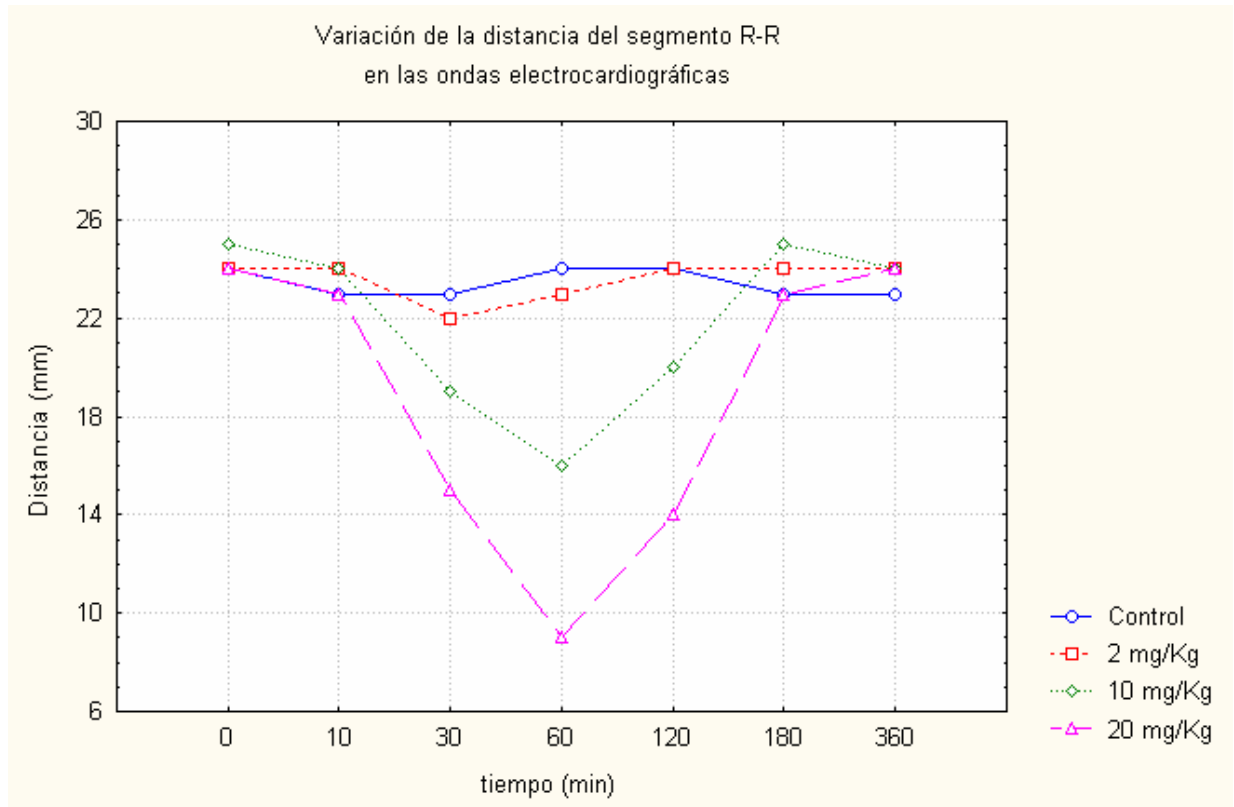


*Figura # 31: Incremento de la Frecuencia Cardiaca*

Esta variación de la frecuencia cardiaca es consistente con los resultados obtenidos en la modificación de las ondas electrocardiográficas provocadas por las diferentes dosis de G-1 en los animales de experimentación, así los mayores incrementos de la frecuencia cardiaca (60 min) en todos los animales tratados, se corresponden con los valores menores en la distancia registrada del segmento R-R (distancia entre las ondas R de los complejos QRS) lo que indica un numero mas elevado de ciclos despolarizaciones/repolarizaciones del miocardio y consecuentemente un mayor numero de contracciones cardiacas.

Se pudo comprobar que no existió cambios en el electrocardiograma para las características de las ondas: P, QRS y T y si para el segmento R-R el cual se redujo pasados 10 min aproximadamente (valor mínimo a los 60 min) y se recuperó de forma

rítmica posteriormente, como puede apreciarse en la *Figura # 32* y *Tabla #17* de Anexos.



*Figura # 32: Variación de la distancia del segmento R-R como resultado de la aplicación de diferentes dosis orales de G-1.*

### Conclusiones.

En el trabajo se aplicó una aproximación ToSS-MoDE empleando una técnica de análisis discriminante a una muestra amplia y representativa de compuestos cardiovasculares que modifican los registros electrocardiográficos así como compuestos que no actúan a este nivel obteniéndose como resultado:

1. Se realizó una modelación para la predicción teórica de la variación de las ondas electrocardiográficas (variación longitud segmento R-R; ciclo despolarizaciones/repolarizaciones), obteniéndose una serie de entrenamiento de conjunto que muestra actividad sobre los registros electrocardiográficos y otros inactivos.
2. Se obtuvo un modelo que permite la predicción y/o evaluación teórica de la variación del segmento R-R en las ondas electrocardiográficas, el que fue validado por los porcentos de buena clasificación obtenidos, el uso de una serie externa de predicción y varios estadígrafos.
3. Se utilizó el modelo obtenido para evaluar teóricamente el G-1, G-0 y varias moléculas obtenidas por fármaco-modulación teórica que guardan relación con los prototipos mencionados.
4. Se desarrolló una corroboración experimental a perros Beagles sanos, utilizando la derivación electrocardiográfica DII para la obtención de registros de la actividad eléctrica cardíaca, encontrándose un efecto positivo del G-1 en la disminución del segmento R-R y aumento (dosis-dependiente) de la frecuencia cardíaca.

**Bibliografía.**

1. Informe de la Organización Mundial de la Salud. 2003.
2. "Enfermedades cardiovasculares en Cuba: determinantes para una epidemia y desafíos para la prevención y control", Pedro O. Ordúñez García, Richard S. Cooper, Alfredo D. Espinosa Brito, Marcos D. Iraola Ferrer, José L. Bernal Muñoz y Yanelis La Rosa Linares; Rev Cubana Salud Pública 2005; 31(4).
3. Gago, F. Métodos computacionales de modelado molecular y diseño de fármacos. P-254-256.
4. Kubinyi, H., In Hansch, C., Sammes, P. G., Taylor, J. B. and Ramdsen, C. A. (Eds.) Comprehensive Medicinal Chemistry. Vol. 4. Quantitative Drug Design, Pergamon, pp. 589-643. (1990).
5. De Julian-Ortiz, J.V. (2001) Virtual Darwinian drug design: QSAR inverse problem, virtual combinatorial chemistry, and computational screening. Comb. Chem. High Throughput Screening, 4, 295-310.
6. Gao, H. (2001) Application of BCUT metrics and genetic algorithm in binary QSAR analysis. Journal of Chemical Information and Computer Sciences, 41, 402-407.
7. Tropsha, A., & Zhang, W.F. (2001) Identification of the descriptor pharmacophores using variable selection QSAR: Applications to database mining. Current Pharmaceutical Design, 7, 599-612.
8. Ivanciuc, O., Ivanciuc, T., & Balaban, A.T. (2002) Quantitative structure-property relationship evaluation of structural descriptors derived from the distance and reverse Wiener matrices. Internet Electronic Journal of Molecular Design [online computer file], 1, 467-487.
9. Livingstone, D.J., Greenwood, R., Rees, R., & Smith, M.D. (2002) Modelling mutagenicity using properties calculated by computational chemistry. SAR and QSAR in Environmental Research, 13, 21-33.

10. Tounge, B.A., Pfahler, L.B., & Reynolds, C.H. (2002) Chemical information based scaling of molecular descriptors: A universal chemical scale for library design and analysis. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 42, 879-884.
11. Font, A., Monte, V., *Métodos variacionales*. (Monografía). Ed. Farmaindustria. 1994.
12. Cramer III, R. D., Patterson, D. E. and Bunce, J. D. *J. Am. Chem. Soc.*, 110 (1988) 5959.
13. Kellogg, G., Kier, L. B., Gaillard, P. and Hall, L., *J. Comput.-Aided Mol. Design*, 10 (1997) 513.
14. Kubinyi, H., In Hansch, C., Sammes, P. G., Taylor, J. B. and Ramdsen, C. A. (Eds.) *Comprehensive Medicinal Chemistry*. Vol. 4. Quantitative Drug Design, Pergamon, 1990. pp. 589-643.
15. Klein D. J., *Int. J. Quantum Chem.: Quantum Chem. Symp.*, 20 (1986) 153.
16. Gálvez, J., García R. *Diseño de fármacos por conectividad molecular*. (Monografía). p.355-384 Ed. Farmaindustria. Madrid (1994).
17. Randic, M., *J. Math.Chem.* 7 155 (1991).
18. Kubinyi, H. *The Free Wilson Method and its Relationship to the Extratermodinamic Approach in Comprehensive Med. Chem.* C. Hansch Editor, Pergamon Pres Oxford Vol. 4 pag. 589. (1990).
19. Estrada, E., *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 36 (1996) 844.
20. Estrada, E., *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 37 (1997) 320.
21. Estrada, E., *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 38 (1998) 27.
22. Estrada, E., *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 35 (1995) 31.
23. Ivanciuc, O. (2003) Design of topological indices. Part 27. Szeged matrix for vertex- and edge-weighted molecular graphs as a source of structural descriptors for QSAR models. *Revue Roumaine de Chimie*, 47, 479-492.
24. Osawa, E., Musso, H. *Top. stereochem*, 13 117 (1982).
25. Osawa, E., Musso *Angew.Chem Inter. Ed. Engl.* 22,1 (1983).

26. Kier LB. *Acta Pharm. Jugosl.* 36, 171 (1986.)
27. Kier LB. *QSAR.* 5, 7 (1986).
28. Kier LB. *QSAR.* 5, 1 (1986).
29. Gutiérrez, Y.; Estrada, E.; Rodríguez, L. and Muñoz, I. TOSS-MODE ver. 2.5 for Windows. Central University of Las Villas, Santa Clara, Cuba, (1995).
30. Rodríguez, L., Estrada, E., Gutiérrez, Y. Topological Substructure Molecular Design. UCLV (1997).
31. Estrada, E. "Edge adjacency relationships and a novel topological index related to molecular volume" *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 35:31-33 (1995).
32. Estrada, E. "Edge adjacency relationships in molecular graphs containing heteroatoms: a new topological index related to molar volume" *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 35:701-707 (1995).
33. Estrada, E. "Spectral moments of the edge adjacency matrix in molecular graphs. 1. Definition and applications to the prediction of physical properties of alkanes" *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 36:844-849 (1996).
34. Estrada, E. "Generalized spectral moments of the iterated line graph sequence. A novel approach to QSPR studies" *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 39:90-95 (1999).
35. Estrada, E. "Spectral moments of the edge adjacency matrix in molecular graphs. 2. Molecules containing heteroatoms and QSAR applications" *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 37:320-328 (1997).
36. Estrada, RE. *Spectral Moment of edge adjacency matrix.* No. I, *J. Chem. Inf. and Comp. Sci.* 36,1-32 (1995).
37. Estrada, RE. *Spectral Moment of edge adjacency matrix.* No. II, *J. Chem. Inf. and Comp. Sci.* 36,1-32 (1996).
38. Estrada, RE. *Spectral Moment local of edge adjacency matrix.* No. III, *J. Chem. Inf. and Comp. Sci.* 36,1-32 (1998).

39. [www.tmc.edu/thi/anato\\_sp.html](http://www.tmc.edu/thi/anato_sp.html) junio de 2004
40. Tratado de fisiología medica Arthur.C GUYTON 1990 7<sup>ma</sup> edición.
41. [www.healthsystem.virginia.edu/UVAHealth/adult\\_cardiac\\_sp/electric.cfm](http://www.healthsystem.virginia.edu/UVAHealth/adult_cardiac_sp/electric.cfm)  
9 de marzo 2004
42. [www.texasheartinstitute.org/HIC/Anatomy\\_Esp/anato/rtis](http://www.texasheartinstitute.org/HIC/Anatomy_Esp/anato/rtis). mayo 2001
43. [www.cardiologos.org/electro/acardiacas.html](http://www.cardiologos.org/electro/acardiacas.html)
44. M. Negwer, (Ed), *Organic-Chemical Drugs and their Synonyms*;  
Akademie-Verlag, Berlin, 1987.
45. Base de Medicamento. Colegios Oficiales De España.
46. Chapman and Hall EPD, *The Index Merck on CD-Rom v 12:1*, 1996.
47. Farmacología Humana. Jesús Florez 3<sup>ra</sup> Edición
48. [www.chemfinder.com](http://www.chemfinder.com)
49. [www.uvhsc.utath.edu/healthinfo/spanish/cardiacdiagtest.html](http://www.uvhsc.utath.edu/healthinfo/spanish/cardiacdiagtest.html) mayo 2001
50. [www.urg.es/~jhuertas/evaluacion\\_fisiologica/ECG](http://www.urg.es/~jhuertas/evaluacion_fisiologica/ECG) 2001
51. [www.uchospital.edu/online-library](http://www.uchospital.edu/online-library) mayo 2001
52. [www.Harvardapparatus.com](http://www.Harvardapparatus.com)
53. [www.ilustrados.com](http://www.ilustrados.com) Roberto Francisco Corredera Guerra.
54. [www.iddc5r.ersma.net](http://www.iddc5r.ersma.net) Alberto Aranda Pallero 1-11-05.
55. [www.cryonet.org](http://www.cryonet.org) 15 Jun 1994 H. Sternberg, P.E. Segall y H.D. Waitz.
56. <http://lib.bioinfo.pl> agosto 2005 Jean-Paul Petrie.
57. <http://lib.bioinfo.pl> 2004 Oct Alan W Spier, Kathryn M Meurs.
58. <http://lib.bioinfo.pl> 2004 Jan IR M Marchant-Forde, D J Marlin, J N  
Marchant-Forde.
59. <http://lib.bioinfo.pl> E Zucca, F Ferrucci, V Di Fabio, C Croci, E Ferro.
60. Barcelona, 'Química-Farmacéutica' (1998).
61. W.O.Foyé, "Principios de Química-Farmacéutica" (1985)

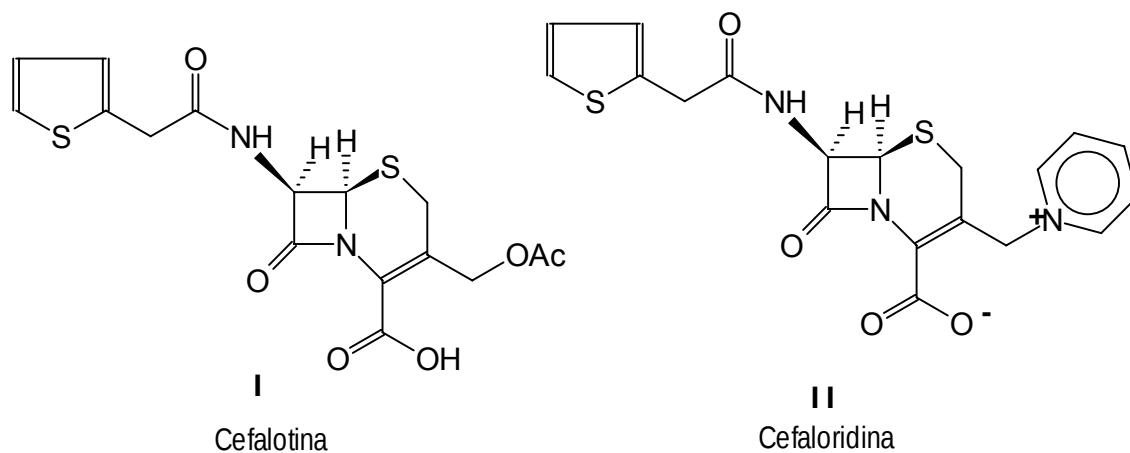


Figura 1: Estructuras de la Cefalotina y Cefaloridina. Ejemplos de protección de sistemas multienzimáticos.

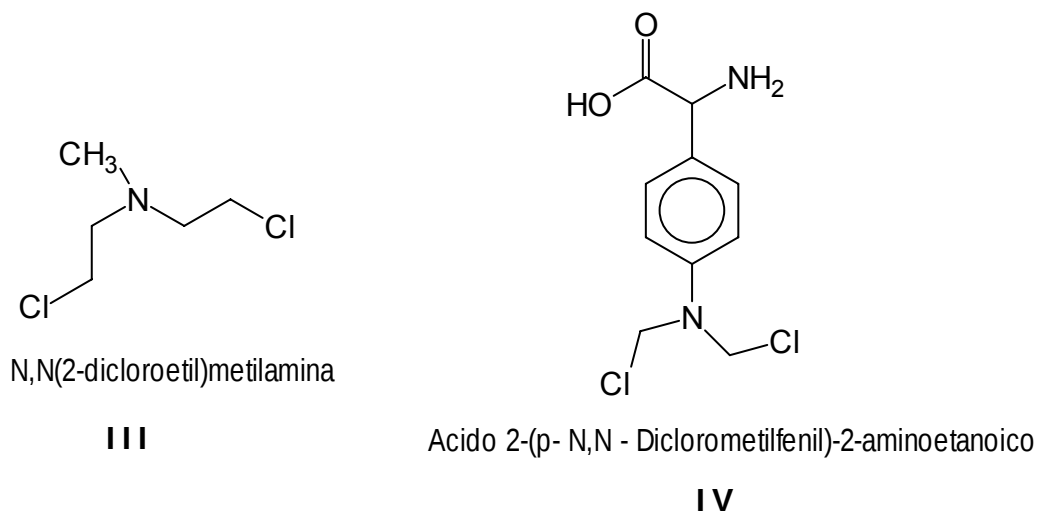


Figura2: Ejemplos de transformaciones para lograr aumento de la selectividad de la acción.

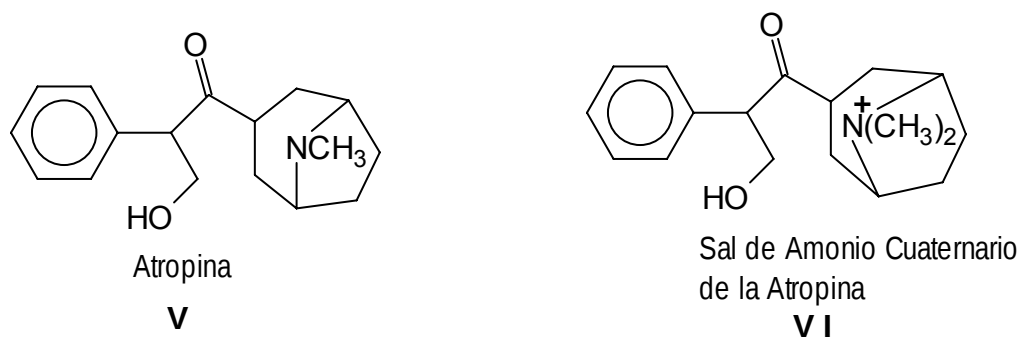


Figura 3: Estructura de la Atropina y de una sal de amonio cuaternario. Ejemplo de modificación destinada a modificar la distribución.

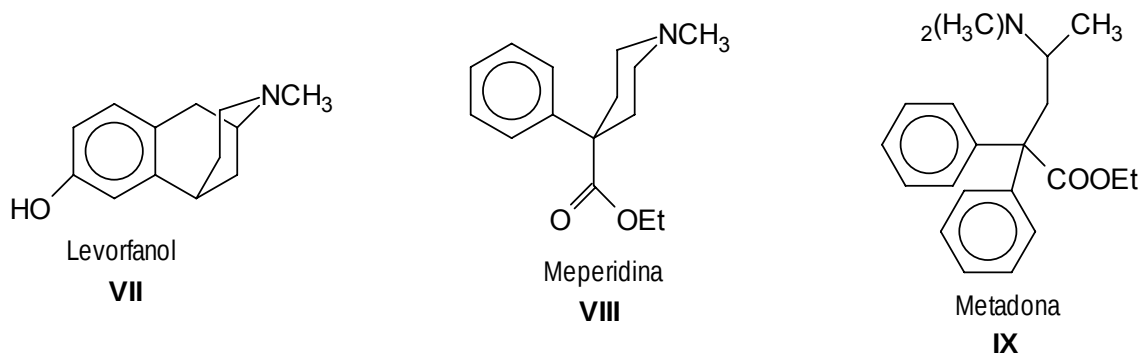


Figura 4: Estructuras del Levorfanol, Meperidina y Metadona. Ejemplo de simplificación de la estructura molecular.

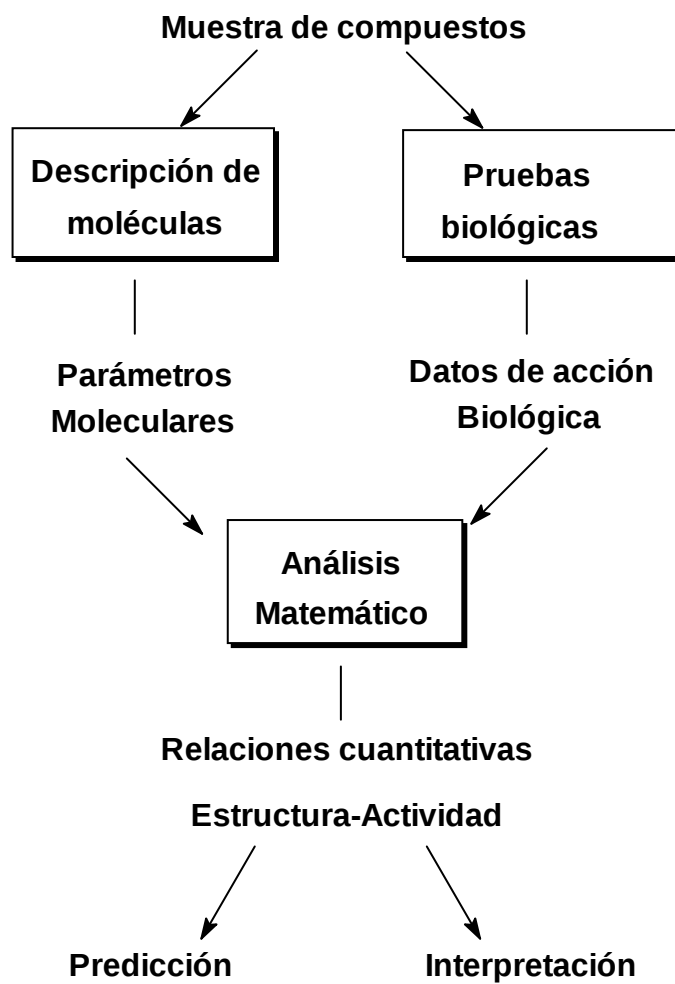


Figura 5: Etapas generales de un método QSAR

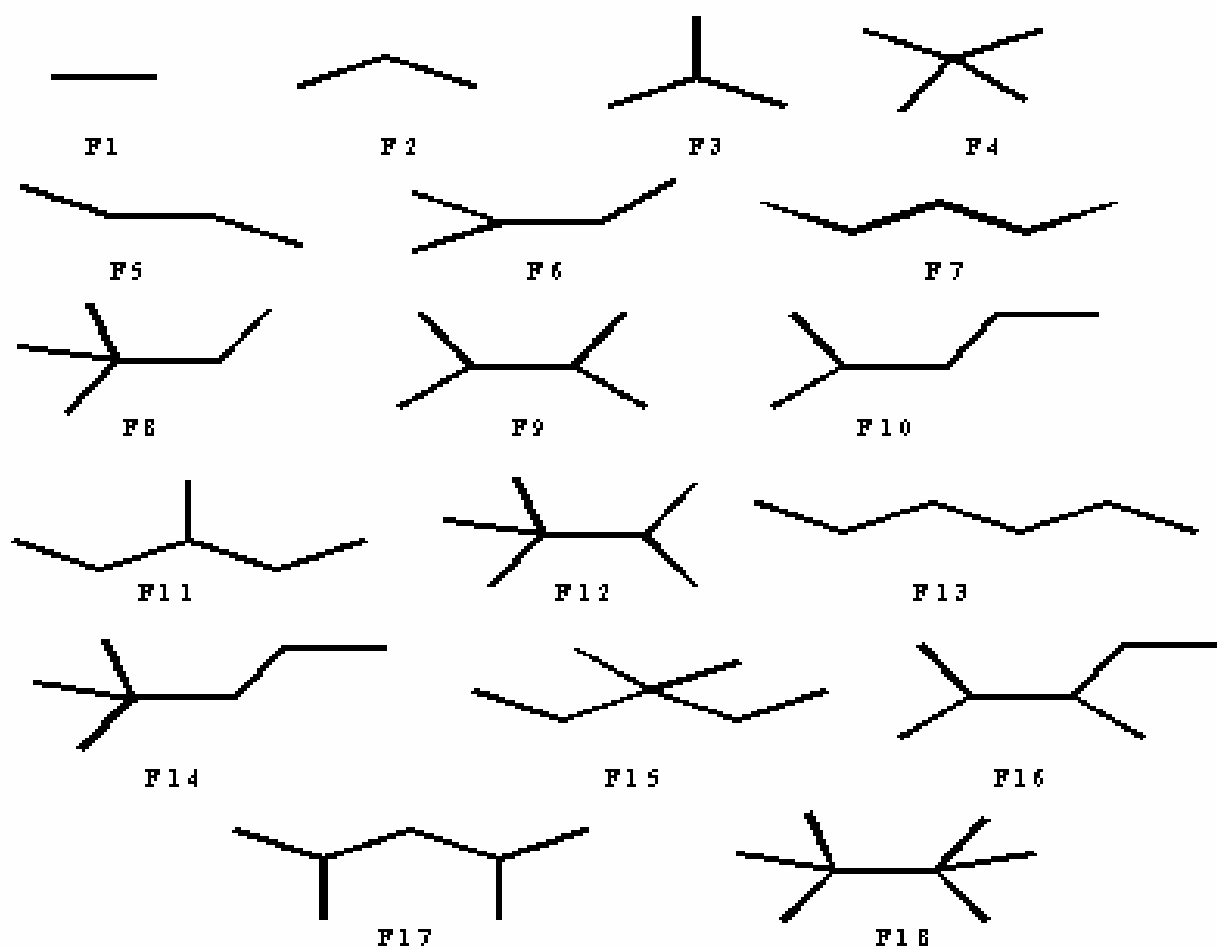


Figura 6. Fragmentos a los que se refieren en la tabla 3.

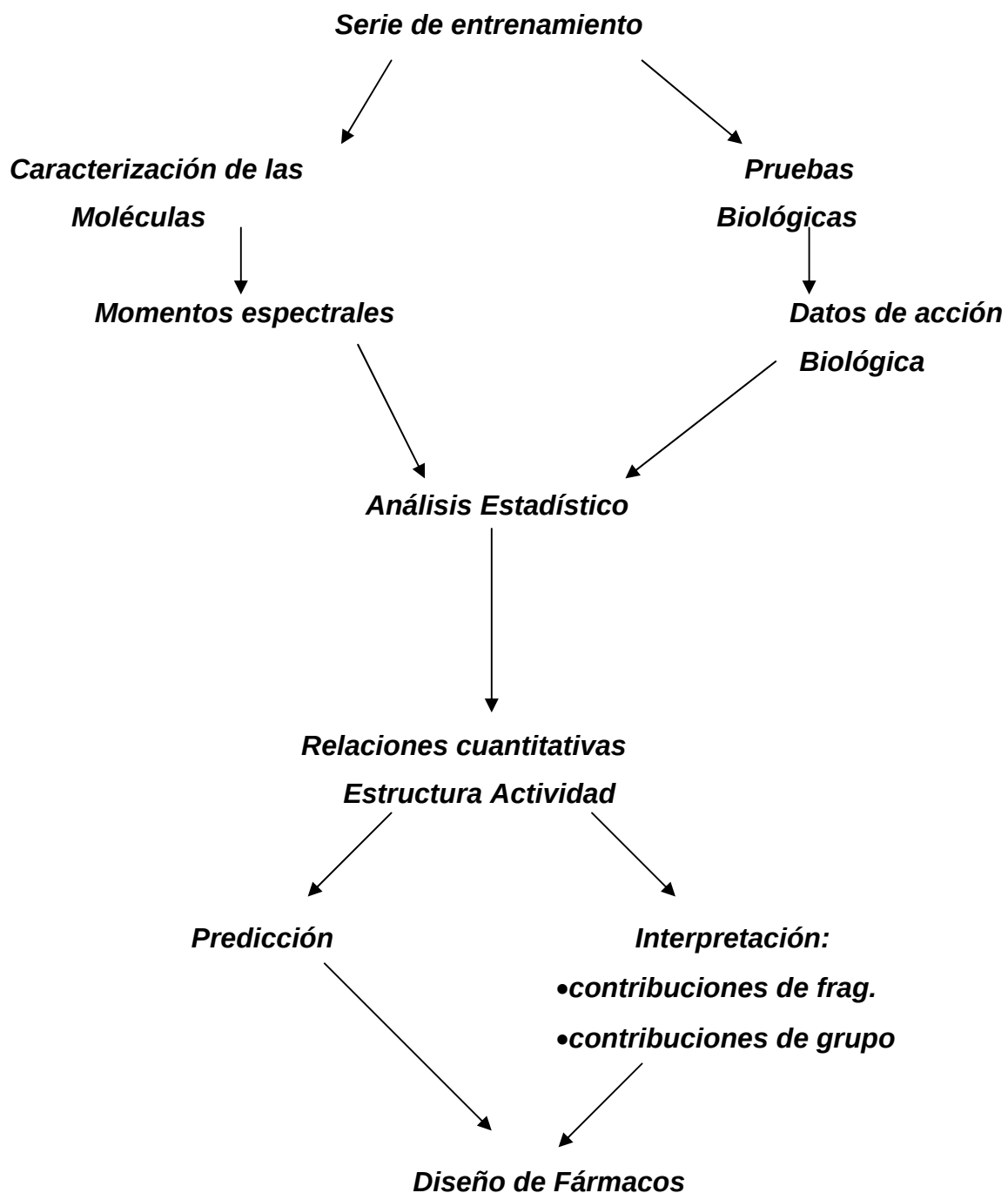
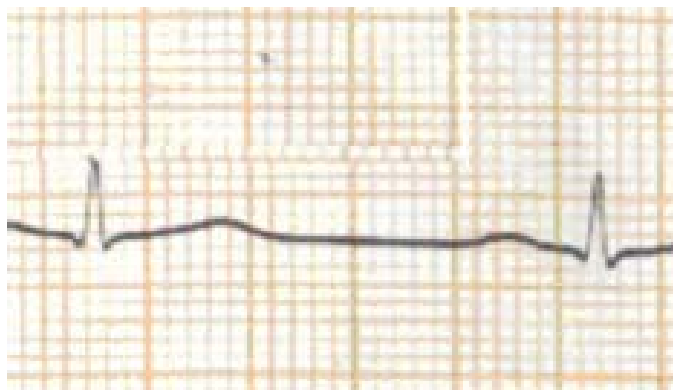
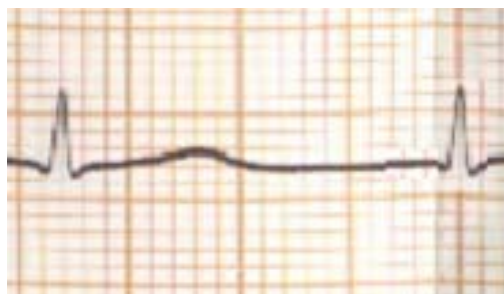


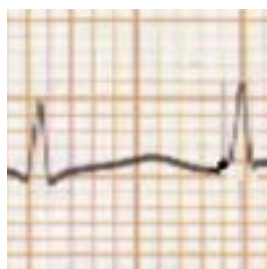
Figura 7: Procedimiento de Trabajo en el diseño empleando una metodología TOSS –MODE.



*Figura # 32: Electrocardiograma de dosis 2 mg/Kg*



*Figura #33: Electrocardiograma de dosis 10 mg/Kg*



*Figura # 34: Electrocardiograma de dosis 20 mg/Kg*

Tabla 1: Clasificación de la matriz topológica

| Nombre                   | Símbolo      | Definición                                                        |
|--------------------------|--------------|-------------------------------------------------------------------|
| Adyacencia de vértices   | $A=[a_{ij}]$ | $a_{ij} = 1$ ssi $i$ adyacente a $j$<br>$a_{ij} = 0$ de otro modo |
| Adyacencia de aristas    | $E=[e_{ij}]$ | $e_{ij} = 1$ ssi $i$ adyacente a $j$<br>$e_{ij} = 0$ de otro modo |
| Distancia entre vértices | $D=[d_{ij}]$ | $d_{ij} = d_{ji}$ ssi $i \neq j$<br>$d_{ij} = 0$ de otro modo     |

Tabla 2: Resumen de las aplicaciones de los índices topológicos a los estudios QSAR.

| Propiedad                           | clase de compuesto            | r     |
|-------------------------------------|-------------------------------|-------|
| Presión anestésica                  | gases                         | 0.966 |
| Potencia anestésica                 | éteres                        | 0.986 |
| Actividad edulcorante               | nitroanilinas                 | 0.953 |
| Factores de bioconcentración        | contaminantes org.            | 0.97  |
| Coeficientes de adsorción en suelos | contaminantes org.            | 0.99  |
| Propiedad                           | clase de compuesto            | r     |
| Toxicidad de Hongos                 | Varios                        | 0.965 |
| Conversión de citocromos            | Fenoles                       | 0.914 |
| Inhibición de <i>A. niger</i>       | Alcoholes bencílicos          | 0.937 |
| Toxicidad en moscas                 | Fosfatos                      | 0.975 |
| Actividad antimicrobiana            | Éteres                        | 0.957 |
| Actividad antiviral                 | Bencimidazoles                | 0.95  |
| Clasificación de esteroides         | Esteroides                    | -     |
| Acción hipnótica                    | Barbituratos                  | 0.926 |
| Actividad antimicrobiana            | Halogenuros de alquil fenoles | 0.975 |

*Tabla 3: Coeficientes de la combinación lineal de los  $\mu_k$  en función del número de fragmentos.*

| Coeficientes de la<br>combinación lineal | $\mu_0$ | $\mu_2$ | $\mu_3$ | $\mu_4$ | $\mu_5$ | $\mu_6$ | $\mu_7$ | $\mu_8$ |
|------------------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| $ F_1 $                                  | 1       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       |
| $ F_2 $                                  | 0       | 2       | 0       | 2       | 0       | 2       | 0       | 2       |
| $ F_3 $                                  | 0       | 0       | 6       | 12      | 30      | 60      | 126     | 252     |
| $ F_4 $                                  | 0       | 0       | 0       | 24      | 120     | 480     | 1680    | 5544    |
| $ F_5 $                                  | 0       | 0       | 0       | 4       | 0       | 12      | 0       | 28      |
| $ F_6 $                                  | 0       | 0       | 0       | 0       | 10      | 24      | 84      | 200     |
| $ F_7 $                                  | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 6       | 0       | 32      |
| $ F_8 $                                  | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 36      | 210     | 1008    |
| $ F_9 $                                  | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 24      | 112     | 464     |
| $ F_{10} $                               | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 14      | 32      |
| $ F_{11} $                               | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 14      | 40      |
| $ F_{12} $                               | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 84      | 672     |
| $ F_{13} $                               | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 8       |
| $ F_{14} $                               | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 48      |
| $ F_{15} $                               | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 46      |
| $ F_{16} $                               | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 112     |
| $ F_{17} $                               | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 536     |
| $ F_{18} $                               | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 0       | 284     |

Tabla 4: Momentos dipolo utilizados.

| Enlaces             | Momentos<br>Dipolo |
|---------------------|--------------------|
| C-F                 | 1.51               |
| C-Cl                | 1.56               |
| C-Br                | 1.48               |
| C-I                 | 1.29               |
| C-N                 | 0.4                |
| C=N                 | 0.9                |
| C≡N                 | 3.6                |
| C-O                 | 0.86               |
| C=O                 | 2.4                |
| C-S                 | 2.95               |
| C=S                 | 2.8                |
| N-O                 | 0.3                |
| N→O                 | 3.2                |
| N=O                 | 2.0                |
| S→O                 | 2.5                |
| $C_{sp^3}-C_{sp^2}$ | 0.68               |
| $C_{sp^3}-C_{sp^1}$ | 1.48               |
| $C_{sp^3}-C_{sp^2}$ | 1.15               |

*Tabla 8: Compuestos activos empleados en la serie de entrenamiento.  
Clasificación y probabilidad posterior.*

| Compuestos            | Observed<br>Classif. | G_1:-1<br>p=.50000 | G_2:1<br>p=.50000 |
|-----------------------|----------------------|--------------------|-------------------|
| acebutolol            | G_2:1                | 0.007141           | 0.992859          |
| Adenosina             | G_2:1                | 0.000317           | 0.999683          |
| amiodarona            | G_2:1                | 0.155217           | 0.844783          |
| amrinona              | G_2:1                | 0.00266            | 0.99734           |
| Amodipino             | G_2:1                | 0.004538           | 0.995462          |
| apridina              | G_2:1                | 0.013932           | 0.986068          |
| Atenolol              | G_2:1                | 0.000159           | 0.999841          |
| atorvastatina         | G_2:1                | 7.41E-05           | 0.999926          |
| Bepidil               | G_2:1                | 0.000118           | 0.999882          |
| Bisopropol            | G_2:1                | 7.65E-08           | 1                 |
| buflomedil            | G_2:1                | 0.050794           | 0.949206          |
| bunolol               | G_2:1                | 0.040061           | 0.959939          |
| cartelol              | G_2:1                | 0.006308           | 0.993692          |
| carvedilol            | G_2:1                | 0.00722            | 0.99278           |
| celiprolol            | G_2:1                | 0.001924           | 0.998076          |
| cilostazol            | G_2:1                | 0.058249           | 0.941751          |
| clorofentermina       | G_2:1                | 0.000342           | 0.999658          |
| dicloro isoproterenol | G_2:1                | 0.000236           | 0.999764          |
| disopiramida          | G_2:1                | 0.045653           | 0.954347          |
| dobutamina            | G_2:1                | 0.005358           | 0.994642          |
| dopamina              | G_2:1                | 3.17E-05           | 0.999968          |
| doxazosin             | G_2:1                | 6.1E-05            | 0.999939          |
| epinefrina            | G_2:1                | 8.21E-05           | 0.999918          |
| esmolol               | G_2:1                | 8.23E-05           | 0.999918          |
| etilnoradrenalina     | G_2:1                | 0.000762           | 0.999238          |
| felodipino            | G_2:1                | 0.429745           | 0.570255          |
| fenilefrina           | G_2:1                | 3.38E-05           | 0.999966          |
| fenilpropanolamina    | G_2:1                | 3.91E-05           | 0.999961          |
| Fenmetracina          | G_2:1                | 0.000231           | 0.999769          |
| Fentermina            | G_2:1                | 9.19E-05           | 0.999908          |
| flestolol             | G_2:1                | 0.076924           | 0.923076          |
| Ibopamina             | G_2:1                | 0.000956           | 0.999044          |
| Isoprenalina          | G_2:1                | 6.92E-05           | 0.999931          |
| isoxupina             | G_2:1                | 0.001854           | 0.998146          |
| isradipino            | G_2:1                | 0.000222           | 0.999778          |
| labetolol             | G_2:1                | 0.17663            | 0.82337           |
| lacidipine            | G_2:1                | 0.001379           | 0.998621          |
| Lemisartan            | G_2:1                | 3.07E-05           | 0.999969          |

---

|                  |       |          |          |
|------------------|-------|----------|----------|
| levosimedan      | G_2:1 | 0.009315 | 0.990685 |
| lidocaina        | G_2:1 | 0.002313 | 0.997687 |
| mefentermina     | G_2:1 | 0.000194 | 0.999806 |
| Mepindolol       | G_2:1 | 0.001083 | 0.998917 |
| metanfetamina    | G_2:1 | 1.38E-05 | 0.999986 |
| metaraminol      | G_2:1 | 7.67E-05 | 0.999923 |
| metilfenidato    | G_2:1 | 0.103382 | 0.896618 |
| Metoprolol       | G_2:1 | 3.95E-06 | 0.999996 |
| Metoxamina       | G_2:1 | 0.000161 | 0.999839 |
| metoxifentermina | G_2:1 | 0.000164 | 0.999836 |
| Mexiletina       | G_2:1 | 2.07E-05 | 0.999979 |
| Mibefradilo      | G_2:1 | 3.56E-05 | 0.999964 |
| nadolol          | G_2:1 | 0.000142 | 0.999858 |
| Nafazolina       | G_2:1 | 0.118148 | 0.881853 |
| Nicardipino      | G_2:1 | 0.018146 | 0.981854 |
| nilidrina        | G_2:1 | 0.007756 | 0.992244 |
| Nimodipina       | G_2:1 | 0.207921 | 0.792079 |
| norepinefrina    | G_2:1 | 0.000102 | 0.999898 |
| Oxprenolol       | G_2:1 | 2.05E-06 | 0.999998 |
| Penbutolol       | G_2:1 | 0.001481 | 0.998519 |
| pindolol         | G_2:1 | 0.000966 | 0.999034 |
| practolol        | G_2:1 | 0.000234 | 0.999766 |
| procainamida     | G_2:1 | 0.00226  | 0.99774  |
| propafenona      | G_2:1 | 0.000337 | 0.999663 |
| propranolol      | G_2:1 | 0.016321 | 0.983679 |
| proretalol       | G_2:1 | 0.033943 | 0.966057 |
| quinidina        | G_2:1 | 0.064626 | 0.935374 |
| reserpina        | G_2:1 | 5.52E-07 | 0.999999 |
| tocainida        | G_2:1 | 0.000135 | 0.999865 |

*Tabla 9: Compuestos inactivos empleados en la serie de entrenamiento. Clasificación y probabilidad posterior. Las clasificaciones incorrectas son marcadas con (\*). G\_1:1(Activas) G\_2:-1(Inactivas)*

| Compuestos                      | Observed<br>Classif. | G_1:-1<br>p=.50000 | G_2:1<br>p=.50000 |
|---------------------------------|----------------------|--------------------|-------------------|
| penicilina G                    | G_1:-1               | 0.999962           | 3.82E-05          |
| penicilina V                    | G_1:-1               | 0.99981            | 0.000191          |
| Feneticilina                    | G_1:-1               | 0.999425           | 0.000575          |
| Propicilina                     | G_1:-1               | 0.99928            | 0.00072           |
| Fenbenicilina                   | G_1:-1               | 0.990978           | 0.009022          |
| Nafcilina                       | G_1:-1               | 0.999983           | 1.67E-05          |
| Oxacilina                       | G_1:-1               | 0.99994            | 6.04E-05          |
| Cloxacilina                     | G_1:-1               | 0.999955           | 4.55E-05          |
| Dicloxacilina                   | G_1:-1               | 0.999965           | 3.52E-05          |
| Flucloxacilina                  | G_1:-1               | 0.999962           | 3.83E-05          |
| Mecilinamo                      | G_1:-1               | 0.997415           | 0.002585          |
| Ampicilina                      | G_1:-1               | 0.999921           | 7.86E-05          |
| Epicilina                       | G_1:-1               | 0.987415           | 0.012585          |
| Amoxicilina                     | G_1:-1               | 0.999864           | 0.000136          |
| Azidocilina                     | G_1:-1               | 0.999544           | 0.000456          |
| Metampicilina                   | G_1:-1               | 0.999777           | 0.000223          |
| Hetacilina                      | G_1:-1               | 0.99967            | 0.00033           |
| Carbenicilina                   | G_1:-1               | 0.999982           | 1.8E-05           |
| BL- P 1654                      | G_1:-1               | 0.988774           | 0.011226          |
| Azolocilina                     | G_1:-1               | 0.42816*           | 0.57184           |
| Quinacilina                     | G_1:-1               | 0.998668           | 0.001332          |
| Cefalotina                      | G_1:-1               | 1                  | 3.87E-07          |
| Cefaloglicina                   | G_1:-1               | 0.999783           | 0.000217          |
| Cefazoflur                      | G_1:-1               | 1                  | 1.78E-07          |
| Cefamandol                      | G_1:-1               | 0.999891           | 0.000109          |
| BL- S 539                       | G_1:-1               | 0.850379           | 0.149622          |
| Cefalexina                      | G_1:-1               | 0.999641           | 0.000359          |
| Cefradina                       | G_1:-1               | 0.945036           | 0.054964          |
| Cefacetrilo                     | G_1:-1               | 0.999994           | 6.37E-06          |
| Cefapirina                      | G_1:-1               | 0.999992           | 8.06E-06          |
| Cefazolina                      | G_1:-1               | 0.999985           | 1.5E-05           |
| cloromicetina                   | G_1:-1               | 0.999694           | 0.000306          |
| Tetraciclina                    | G_1:-1               | 0.999689           | 0.000311          |
| Oxitetraciclina                 | G_1:-1               | 0.999422           | 0.000578          |
| 6-desmetil-7-cloro-tetraciclina | G_1:-1               | 0.999625           | 0.000375          |
| 1,3-idandiona                   | G_1:-1               | 0.989312           | 0.010688          |
| 4-hidroxycumarina               | G_1:-1               | 1                  | 2.68E-07          |
| Bishidroxycumarinat             | G_1:-1               | 0.942113           | 0.057887          |
| Bromindione                     | G_1:-1               | 0.143432*          | 0.856568          |

---

|                        |        |           |          |
|------------------------|--------|-----------|----------|
| Diabarone              | G_1:-1 | 0.999444  | 0.000556 |
| Fenindione             | G_1:-1 | 0.99949   | 0.00051  |
| Fluindarol             | G_1:-1 | 0.775112  | 0.224888 |
| Fluindione             | G_1:-1 | 0.998882  | 0.001118 |
| Fluindarol             | G_1:-1 | 0.998914  | 0.001086 |
| Anisindione            | G_1:-1 | 0.999514  | 0.000486 |
| Clorindione            | G_1:-1 | 0.999994  | 5.58E-06 |
| Isovalerylindandione   | G_1:-1 | 0.998323  | 0.001677 |
| Omeffin                | G_1:-1 | 0.999553  | 0.000447 |
| Oxycoumarin            | G_1:-1 | 0.980304  | 0.019696 |
| Phenprocoumon          | G_1:-1 | 0.999723  | 0.000277 |
| Pivalylindandione      | G_1:-1 | 0.991647  | 0.008353 |
| Xylocoumarol           | G_1:-1 | 0.982962  | 0.017038 |
| Ciclocoumarol          | G_1:-1 | 0.99044   | 0.00956  |
| Difenadiona            | G_1:-1 | 0.998965  | 0.001035 |
| Acenocoumarol          | G_1:-1 | 0.994908  | 0.005092 |
| Fenprocumona           | G_1:-1 | 0.999556  | 0.000444 |
| Warfarina              | G_1:-1 | 0.999996  | 3.93E-06 |
| Biscumacetato de etilo | G_1:-1 | 0.982962  | 0.017038 |
| Cumaclor               | G_1:-1 | 0.9968    | 0.0032   |
| Iwarfarin              | G_1:-1 | 0.994376  | 0.005624 |
| N.H.C.                 | G_1:-1 | 0.998368  | 0.001632 |
| Naphthylin             | G_1:-1 | 0.997495  | 0.002505 |
| AH 19 437              | G_1:-1 | 0.999995  | 4.64E-06 |
| AIA                    | G_1:-1 | 1         | 2.51E-08 |
| Carbacyclin            | G_1:-1 | 0.757989  | 0.242011 |
| Clocoumarol            | G_1:-1 | 0.999558  | 0.000442 |
| Coumetarol             | G_1:-1 | 0.886783  | 0.113217 |
| DPPA                   | G_1:-1 | 0.995947  | 0.004053 |
| Midazogrel             | G_1:-1 | 0.987698  | 0.012302 |
| Motapizone             | G_1:-1 | 0.549737  | 0.450263 |
| MY-5445                | G_1:-1 | 0.788092  | 0.211908 |
| Picotamide tartrate    | G_1:-1 | 0.992855  | 0.007145 |
| Pirmagrel              | G_1:-1 | 0.990433  | 0.009567 |
| SCH 221                | G_1:-1 | 0.999321  | 0.000679 |
| Sulfinpyrazone         | G_1:-1 | 0.998897  | 0.001103 |
| Sunagrel               | G_1:-1 | 0.221662* | 0.778338 |
| TEI-4120               | G_1:-1 | 0.997122  | 0.002878 |
| Thioxycoumarine        | G_1:-1 | 0.723739  | 0.276261 |
| Ticloumarol            | G_1:-1 | 0.993635  | 0.006365 |
| Trifenagrel            | G_1:-1 | 0.999997  | 3.3E-06  |
| Y-590                  | G_1:-1 | 0.9998    | 0.0002   |
| KF 4939                | G_1:-1 | 0.898792  | 0.101208 |
| Albocycline            | G_1:-1 | 0.992391  | 0.007609 |
| Ambuticin              | G_1:-1 | 0.999964  | 3.59E-05 |
| antibiotic A-26771-C   | G_1:-1 | 0.910728  | 0.089272 |

---

|                     |        |          |          |
|---------------------|--------|----------|----------|
| azotomycin          | G_1:-1 | 0.991759 | 0.008241 |
| borrelidin          | G_1:-1 | 0.999145 | 0.000855 |
| democonazole        | G_1:-1 | 0.966835 | 0.033165 |
| Furaltadore         | G_1:-1 | 0.999869 | 0.000131 |
| ICI 153066          | G_1:-1 | 0.992492 | 0.007508 |
| imicillin           | G_1:-1 | 0.999687 | 0.000313 |
| mefuralazine        | G_1:-1 | 0.999999 | 1.15E-06 |
| naftilfine          | G_1:-1 | 0.999996 | 4.49E-06 |
| Nifurethazone       | G_1:-1 | 0.999771 | 0.000229 |
| Prodigiosin         | G_1:-1 | 0.989763 | 0.010237 |
| Tiogin              | G_1:-1 | 0.999999 | 8.7E-07  |
| venturividin b      | G_1:-1 | 0.991854 | 0.008146 |
| Mycosid             | G_1:-1 | 0.999643 | 0.000357 |
| Dibromosalicylamide | G_1:-1 | 0.999353 | 0.000647 |
| Chlorphenacemide    | G_1:-1 | 0.990767 | 0.009233 |
| Anromide            | G_1:-1 | 0.995954 | 0.004046 |
| SL7 5102            | G_1:-1 | 0.999341 | 0.000659 |
| Aphendion           | G_1:-1 | 0.999858 | 0.000142 |
| Nomifenzine maleate | G_1:-1 | 0.997801 | 0.002199 |
| Etoloximide         | G_1:-1 | 0.887567 | 0.112433 |
| Zofemizole          | G_1:-1 | 0.994143 | 0.005857 |
| Clonixin            | G_1:-1 | 1        | 2.76E-08 |
| Orpanoxin           | G_1:-1 | 0.999268 | 0.000732 |
| Obuprofen           | G_1:-1 | 0.999603 | 0.000397 |
| GOBAB               | G_1:-1 | 0.979829 | 0.020171 |
| Fenclofenac         | G_1:-1 | 0.972653 | 0.027347 |
| Acid flufenamic     | G_1:-1 | 0.999926 | 7.38E-05 |
| Ag-307              | G_1:-1 | 0.890159 | 0.109841 |
| Clofurac            | G_1:-1 | 0.999408 | 0.000592 |
| Fenclorac           | G_1:-1 | 0.998601 | 0.001399 |
| Quazoline           | G_1:-1 | 0.963997 | 0.036003 |
| Clofezone           | G_1:-1 | 0.954839 | 0.045161 |
| Bucolone            | G_1:-1 | 0.999971 | 2.94E-05 |
| Furcloprofen        | G_1:-1 | 0.996274 | 0.003726 |
| Acid clamidoxic     | G_1:-1 | 0.639297 | 0.360703 |

*Tabla 10: Compuestos activos empleados en la serie de predicción. Clasificación y probabilidad posterior. Las clasificaciones incorrectas son marcadas con (\*).  
G\_1:1(Activas) G\_2:-1(Inactivas)*

| Compuestos       | Observed<br>Classif. | G_1:-1<br>p=.50000 | G_2:1<br>p=.50000 |
|------------------|----------------------|--------------------|-------------------|
| alprenolol       | G_1: 1               | 5.37E-06           | 0.999995          |
| Anfetamina       | G_1: 1               | 8E-06              | 0.999992          |
| Betaxolol        | G_1: 1               | 1.27E-08           | 1                 |
| bucindolol       | G_1: 1               | 0.763175*          | 0.236825          |
| ciclopentamina   | G_1: 1               | 2.99E-05           | 0.99997           |
| efedrina         | G_1: 1               | 6.27E-05           | 0.999937          |
| flecainida       | G_1: 1               | 0.787663*          | 0.212337          |
| metilhexanoamina | G_1: 1               | 5.29E-08           | 1                 |
| Fenoxazoline     | G_1: 1               | 0.31085            | 0.68915           |
| Metaterol        | G_1: 1               | 0.042808           | 0.957192          |
| Doxaminol        | G_1: 1               | 0.009514           | 0.990486          |

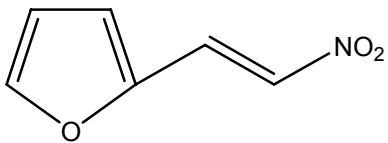
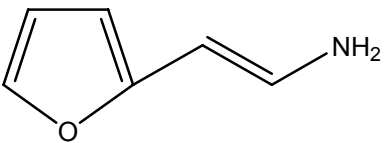
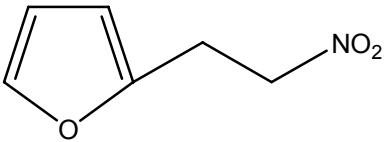
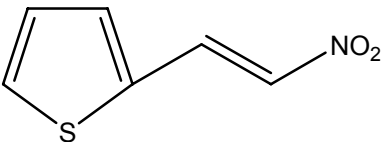
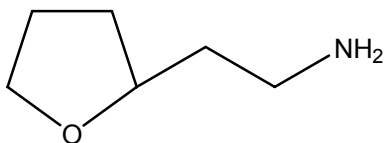
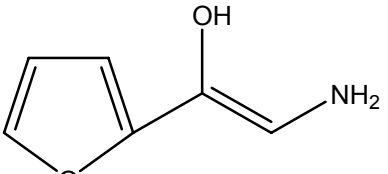
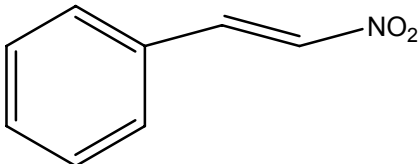
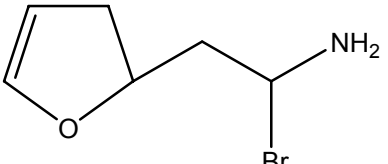
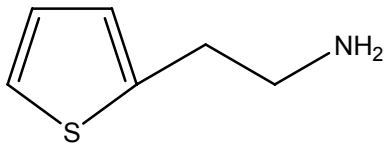
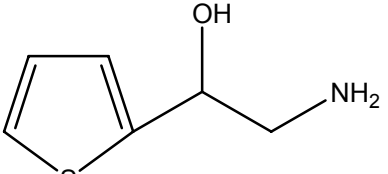
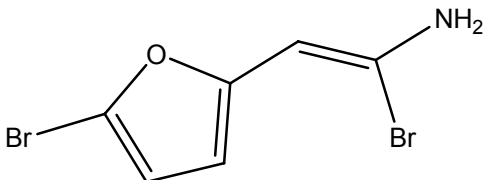
*Tabla 11: Compuestos inactivos empleados en la serie de predicción. Clasificación y probabilidad posterior. Las clasificaciones incorrectas son marcadas con (\*). G\_1:1(Activas) G\_2:-1(Inactivas)*

| Compuestos              | Observed<br>Classif. | G_1:-1<br>p=.50000 | G_2:1<br>p=.50000 |
|-------------------------|----------------------|--------------------|-------------------|
| Acido acetil salicilico | G_1:-1               | 1                  | 1.51E-08          |
| ACIDO SALICILICO        | G_1:-1               | 1                  | 2.47E-08          |
| Furegrelate             | G_1:-1               | 0.7515             | 0.2485            |
| laverdamycin            | G_1:-1               | 0.416325           | 0.583675*         |
| Nidroxyzone             | G_1:-1               | 0.592362           | 0.407638          |
| Nidroxyzone             | G_1:-1               | 0.592362           | 0.407638          |
| omoconazole             | G_1:-1               | 0.753053           | 0.246947          |
| Terconazole             | G_1:-1               | 0.830662           | 0.169338          |
| tolnaftato              | G_1:-1               | 0.994252           | 0.005748          |
| Valcovazole             | G_1:-1               | 0.763341           | 0.236659          |
| Basedol                 | G_1:-1               | 0.930325           | 0.069675          |
| Metipirox               | G_1:-1               | 0.979127           | 0.020873          |
| Chlorphenesin           | G_1:-1               | 0.92869            | 0.07131           |
| Metofurone              | G_1:-1               | 0.733669           | 0.266331          |
| Furaguanidine           | G_1:-1               | 0.2285             | 0.7715*           |
| Diamide                 | G_1:-1               | 0.984491           | 0.015509          |
| Furazonal               | G_1:-1               | 0.569399           | 0.430601          |
| Brodimoprim             | G_1:-1               | 0.999972           | 2.84E-05          |
| Selectan                | G_1:-1               | 0.297733           | 0.702267*         |
| Brosotamide             | G_1:-1               | 0.997753           | 0.002247          |
| SO6-18                  | G_1:-1               | 0.396025           | 0.603975*         |
| Mephenitoin             | G_1:-1               | 0.99375            | 0.00625           |
| Ethosuximide            | G_1:-1               | 0.978967           | 0.021033          |
| Aproclozide             | G_1:-1               | 0.999944           | 5.57E-05          |
| Phelazine               | G_1:-1               | 0.924959           | 0.075041          |
| D-phenylalamine         | G_1:-1               | 0.566123           | 0.433877          |
| Rofelodine              | G_1:-1               | 0.414666           | 0.585334*         |
| Diclonixin              | G_1:-1               | 0.640619           | 0.359381          |
| Brofezil                | G_1:-1               | 0.990551           | 0.009449          |
| M1704                   | G_1:-1               | 0.990551           | 0.009449          |
| Furofenac               | G_1:-1               | 0.969778           | 0.030222          |
| Acid Clophenamic        | G_1:-1               | 0.436375           | 0.563625*         |
| Pirprofen               | G_1:-1               | 0.632012           | 0.367988          |
| Acid meclofenamic       | G_1:-1               | 0.800041           | 0.199959          |
| Abbott-29590            | G_1:-1               | 0.675738           | 0.324262          |
| Acid tiaprofenic        | G_1:-1               | 0.32315            | 0.67685*          |
| Zonaprofen              | G_1:-1               | 0.853635           | 0.146365          |
| Paxamate                | G_1:-1               | 0.824145           | 0.175855          |

---

|                   |        |          |          |
|-------------------|--------|----------|----------|
| KB 1043           | G_1:-1 | 0.55764  | 0.44236  |
| Clopirac          | G_1:-1 | 0.792217 | 0.207783 |
| Acid nixylic      | G_1:-1 | 0.548949 | 0.451051 |
| Zexofenac         | G_1:-1 | 0.996367 | 0.003633 |
| Methoxypropriocin | G_1:-1 | 0.974783 | 0.025217 |
| Naproxol          | G_1:-1 | 0.803557 | 0.196443 |
| Fenamidofuril     | G_1:-1 | 0.686944 | 0.313056 |

Tabla # 13: Compuestos estructuralmente relacionados con el G-1 y G-0.

|                                                                                            |                                                                                              |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| <br>G-0   | <br>E 2    |
| <br>E 3   | <br>E 4    |
| <br>E 5   | <br>E 6    |
| <br>E 7 | <br>E 8  |
| <br>E 9 | <br>E 10 |
| <br>E11 |                                                                                              |

*Tabla 15: Frecuencia Cardíaca por minuto*

| Dosis mg/Kg | Tiempos de observación |     |     |     |     |     |     |
|-------------|------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|             | 0                      | 10  | 30  | 60  | 120 | 180 | 360 |
| Control (0) | 102                    | 103 | 103 | 102 | 101 | 102 | 102 |
| 2           | 103                    | 106 | 110 | 116 | 112 | 110 | 109 |
| 10          | 110                    | 108 | 134 | 142 | 115 | 106 | 105 |
| 20          | 107                    | 107 | 140 | 160 | 120 | 112 | 106 |

*Tabla 16: Registro en milímetros del intervalo de frecuencia en ECG*

| Dosis mg/Kg | Tiempos de observación |    |    |    |    |    |    |
|-------------|------------------------|----|----|----|----|----|----|
|             | 0                      | 10 | 30 | 1h | 2h | 3h | 6h |
| Control (0) | 24                     | 23 | 23 | 24 | 24 | 23 | 23 |
| 2           | 24                     | 24 | 22 | 23 | 24 | 24 | 24 |
| 10          | 25                     | 24 | 19 | 16 | 20 | 25 | 24 |
| 20          | 24                     | 23 | 15 | 9  | 14 | 23 | 24 |

*Tabla 17: Porcentaje de incremento de la frecuencia cardíaca*

| Dosis mg/Kg | Tiempos de observación |     |      |      |      |     |     |
|-------------|------------------------|-----|------|------|------|-----|-----|
|             | 0                      | 10  | 30   | 1h   | 2h   | 3h  | 6h  |
| Control (0) | 102                    | 103 | 103  | 102  | 101  | 102 | 102 |
| 2           | 1                      | 2.9 | 6.8  | 13.7 | 10.9 | 7.8 | 6.9 |
| 10          | 7.8                    | 4.9 | 30.1 | 39.2 | 13.9 | 3.9 | 2.9 |
| 20          | 4.9                    | 3.9 | 35.9 | 56.9 | 18.8 | 9.8 | 3.9 |