





Universidad CEU Cardenal Herrera

Departamento de Farmacia



Desarrollo de un modelo matemático topológico a partir de quinolonas para predecir actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). Búsqueda y obtención de nuevos antibacterianos

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

D. Jose Ignacio Bueso Bordils

Dirigida por:

Dr. D. Pedro A. Alemán López

Dr. D. Gerardo M. Antón Fos

Dra. D<sup>a</sup>. M. Teresa Pérez Gracia

VALENCIA

2016





Universidad  
Cardenal  
Herrera  
CEU

**D. PEDRO A. ALEMÁN LÓPEZ**, Profesor Agregado de Química Orgánica del Departamento de Farmacia de la Universidad CEU Cardenal Herrera, **D. GERARDO M. ANTÓN FOS**, Profesor Agregado de Química Física del Departamento de Farmacia de la Universidad CEU Cardenal Herrera y **Dña. M<sup>a</sup> TERESA PÉREZ GRACIA**, Catedrática de Microbiología del Departamento de Farmacia de la Universidad CEU Cardenal Herrera,

INFORMAN:

Que la Tesis Doctoral presentada bajo el título “**DESARROLLO DE UN MODELO MATEMÁTICO TOPOLÓGICO A PARTIR DE QUINOLONAS PARA PREDECIR ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA FRENTE A *Staphylococcus aureus* RESISTENTE A METICILINA (SARM). BÚSQUEDA Y OBTENCIÓN DE NUEVOS ANTIBACTERIANOS**” ha sido realizada por **D. JOSE IGNACIO BUESO BORDILS** bajo nuestra dirección y autorizamos su presentación para optar al Grado de Doctor en Farmacia.

Y para que así conste, firmamos el presente en Moncada (Valencia) a 20 de mayo de 2016.

Dr. Pedro A. Alemán López   Dr. Gerardo M. Antón Fos   Dra. M<sup>a</sup> Teresa Pérez Gracia



Este trabajo ha sido financiado por los proyectos de investigación PRUCH 06/39 y PRUCH 07/02 de la Universidad CEU Cardenal Herrera y por el proyecto BC/ICB-Santander 06/12 del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad CEU Cardenal Herrera.





**A mis padres, Vicente y Rosa, por su amor inagotable. Sólo puedo daros las gracias.**

**A mi mujer, Marisa, por estar siempre a mi lado.**



## AGRADECIMIENTOS

Quisiera, en primer lugar, y de un modo muy especial, expresar mi agradecimiento a mis directores:

Al Dr. Pedro Alemán López, gracias por haber sabido transmitirme tu compromiso por las cosas bien hechas. Sin tu meticulosidad y sacrificio, este trabajo no podría haberse llevado a cabo.

Al Dr. Gerardo Antón Fos, por las enseñanzas recibidas, dirigiendo mis primeros pasos en el campo de la Topología Molecular.

A la Dra. Teresa Pérez Gracia, por su inestimable ayuda y colaboración en el apartado de ensayos microbiológicos.

Gracias a mis compañeros del departamento de Farmacia y al equipo de laboratorios de la Universidad CEU Cardenal Herrera, por su apoyo y por el excelente trato que siempre me han dado. Un pedacito de este trabajo también os corresponde.

A las empresas Inibsa Hospital SLU, Galenicum Health SL, Menadiona SL y Syngenta AG, por cederme, sin compromiso alguno, muestras de los compuestos utilizados en los ensayos microbiológicos.

A mis amigos, especialmente a Paco, Isma y Carlos, por aportarme tantos buenos momentos de alegría y desconexión.

A toda mi familia, especialmente a mis abuelos, Paco y Rosa, a mi hermano, Vicente, a mi cuñado, Toño, a mis tíos, Francis, Damián, Carmen, Joaquín, Victoria y María Teresa, a todos mis primos, a mis suegros, Antonio y Marisa, y por supuesto a mis padres, Vicente y Rosa, por ser uno de mis grandes apoyos.

A mi mujer, Marisa, por compartir mi vida y mis preocupaciones. Por quererme.

Quisiera agradecer a la Universidad CEU Cardenal Herrera y a su Instituto de Ciencias Biomédicas por haberme apoyado económicamente en la realización de este trabajo de investigación.



**ABREVIATURAS**

<b>AC-II</b>	Anhidrasa carbónica II
<b>ADMET</b>	Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>AINEs</b>	Antiinflamatorios no esteroideos
<b>ALD</b>	Análisis lineal discriminante
<b>APH</b>	Aceptores de puente de hidrógeno
<b>Arg</b>	Arginina
<b>ARN</b>	Ácido ribonucleico
<b>ASP</b>	Área de superficie polar
<b>ATP</b>	Adenosín trifosfato
<b>BMDP</b>	BioMedicine Department Program
<b>C</b>	Concentración plasmática de fármaco
<b>CAS</b>	Chemical Abstracts Service
<b>CCF</b>	Cromatografía en capa fina
<b>CECT</b>	Colección Española de Cultivos Tipo
<b>CI<sub>50</sub></b>	Concentración inhibitoria media
<b>CL<sub>50</sub></b>	Concentración letal media
<b>CMB</b>	Concentración mínima bactericida
<b>CMC</b>	Comprehensive Medicinal Chemistry
<b>CMI</b>	Concentración mínima inhibitoria
<b>CMI<sub>50</sub></b>	Concentración mínima inhibitoria 50
<b>CMI<sub>90</sub></b>	Concentración mínima inhibitoria 90
<b>DDF</b>	Diagrama de distribución farmacológica
<b>DL<sub>50</sub></b>	Dosis letal media
<b>DMAP</b>	4-dimetilaminopiridina
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DPH</b>	Dadores de puente de hidrógeno
<b>E</b>	Expectancia
<b>E<sub>a</sub></b>	Expectancia de actividad
<b>EE</b>	Error estándar
<b>EEE</b>	Error estándar de estimación
<b>E<sub>i</sub></b>	Expectancia de inactividad

<b>ER</b>	Enlaces rotables
<b>F</b>	Parámetro de Fisher-Snedecor
<b>FD</b>	Función discriminante
<b>Glu</b>	Ácido glutámico
<b>Gly</b>	Glicina
<b>GyrA</b>	Subunidad A de la ADN girasa
<b>GyrB</b>	Subunidad B de la ADN girasa
<b>HCP</b>	Hidrocloruro de ciprofloxacino monohidrato
<b>IGRs</b>	Reguladores del crecimiento del insecto ( <i>Insect growth regulators</i> )
<b>IR</b>	Infrarrojo
<b>K<sub>m</sub></b>	Constante de Michaelis-Menten
<b>K<sub>1</sub></b>	Constante de asociación
<b>MAO</b>	Monoamino oxidasa
<b>MPF</b>	Mesilato de pefloxacino dihidrato
<b>P</b>	Coefficiente de partición
<b>p</b>	Significación estadística
<b>ParC</b>	Subunidad C de la topoisomerasa IV
<b>ParE</b>	Subunidad E de la topoisomerasa IV
<b>PM</b>	Peso molecular
<b>PRESS</b>	Suma de los residuales al cuadrado
<b>Q</b>	Cantidad de fármaco en el organismo
<b>QPAR</b>	Relación cuantitativa propiedad-actividad ( <i>Quantitative Property-Activity Relationship</i> )
<b>QRDR</b>	Región determinante de la resistencia a quinolonas ( <i>Quinolone resistance-determining region</i> )
<b>QSAR</b>	Relación cuantitativa estructura-actividad ( <i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i> )
<b>QSPR</b>	Relación cuantitativa estructura-propiedad ( <i>Quantitative Structure-Property Relationship</i> )
<b>r</b>	Coefficiente de correlación múltiple
<b>r<sup>2</sup></b>	Coefficiente de determinación lineal
<b>REOS</b>	<i>Rapid Elimination Of Swill</i>
<b>RMN</b>	Resonancia magnética nuclear
<b>SARM</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina
<b>SD</b>	Desviación estándar

<b>SD<sub>i</sub></b>	Suma de distancias del vértice i
<b>SNAr</b>	Sustitución nucleófila aromática
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>subsp.</b>	Subespecie
<b>TRM</b>	Tiempo de residencia medio
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>VD</b>	Volumen de distribución
<b>VIH</b>	Virus de la inmunodeficiencia humana
<b>vo</b>	Vía oral





## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	9
ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS .....	13
1. Quinolonas.....	15
1.1. Antecedentes históricos.....	17
1.2. Clasificación.....	20
1.3. Mecanismo de acción .....	31
1.3.1. Topoisomerasas de tipo I .....	32
1.3.2. Topoisomerasas de tipo II .....	33
1.3.3. Complejo ternario ADN-topoisomerasa-quinolona .....	35
1.3.4. Preferencia de diana terapéutica .....	39
1.3.5. Acción bacteriostática y bactericida.....	40
1.4. Mecanismos de resistencia .....	43
1.5. Relación entre la estructura y la actividad (REA) .....	48
2. Conectividad molecular .....	65
2.1. Teoría de grafos .....	67
2.1.1. Grafos químicos .....	71
2.2. Matriz topológica .....	74
2.3. Índices topológicos .....	78
2.4. Relaciones cuantitativas estructura actividad/propiedad .....	103
2.5. Ejemplos de aplicación de los índices topológicos a los métodos QSAR/QSPR.....	109
3. Química combinatoria y cribado farmacológico virtuales: aplicación al diseño de fármacos.....	117
3.1. Química combinatoria virtual.....	117
3.2. Cribado virtual aplicado al diseño de fármacos .....	121
3.2.1. Pre-filtrado.....	122
3.2.2. Cribado basado en el ligando .....	124
3.2.3. Cribado basado en el receptor.....	129
CAPÍTULO 1 .....	133
Obtención de ecuaciones de predicción QSAR/QSPR .....	135
1. Análisis bibliográfico .....	135
2. Caracterización topológica de las quinolonas .....	137

3. Desarrollo de las ecuaciones de predicción .....	140
4. Funciones de predicción seleccionadas .....	149
4.1. Tiempo de residencia medio (vía oral): $MRT_{po}$ .....	149
4.2. Volumen de distribución: $V_d$ .....	150
4.3. $CMI_{50}$ <i>Haemophilus influenzae</i> : $CMI_{50}Hinf$ .....	151
4.4. $CMI_{50}$ <i>Staphylococcus epidermidis</i> : $CMI_{50}Sep$ .....	153
4.5. $CMI_{50}$ <i>Streptococcus pyogenes</i> : $CMI_{50}Spy$ .....	154
4.6. $CMI_{50}$ <i>Staphylococcus aureus</i> : $CMI_{50}Sa$ .....	155
4.7. $CMI_{50}$ <i>Proteus vulgaris</i> : $CMI_{50}Pv$ .....	157
4.8. $CMI_{50}$ <i>Bacteroides fragilis</i> : $CMI_{50}Bf$ .....	158
4.9. $CMI_{50}$ <i>Escherichia coli</i> : $CMI_{50}Ec$ .....	159
4.10. $CMI_{90}$ <i>Moraxella catarrhalis</i> : $CMI_{90}Mc$ .....	161
4.11. $CMI_{90}$ <i>Escherichia coli</i> : $CMI_{90}Ec$ .....	162
4.12. $CMI_{90}$ <i>Proteus mirabilis</i> : $CMI_{90}Pm$ .....	163
4.13. $CMI_{90}$ <i>Streptococcus pyogenes</i> : $CMI_{90}Spy$ .....	165
4.14. $CMI_{90}$ <i>Haemophilus influenzae</i> : $CMI_{90}Hinf$ .....	166
4.15. $CMI_{90}$ <i>Clostridium perfringens</i> : $CMI_{90}Cp$ .....	167
4.16. $CMI_{90}$ <i>Klebsiella pneumoniae</i> : $CMI_{90}Kp$ .....	169
5. Discusión.....	171
6. Conclusiones.....	174
CAPÍTULO 2.....	175
Obtención del modelo discriminante de actividad frente a <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a metilicina (SARM) .....	177
1. Introducción .....	177
1.1. Análisis lineal discriminante (ALD) .....	177
1.2. Diagrama de distribución farmacológica (DDF).....	179
1.3. Obtención de un modelo topológico.....	181
1.4. Desarrollo de los modelos discriminantes de actividad .....	182
1.4.1. Caracterización topológica de los compuestos .....	182
1.4.2. Desarrollo de las funciones discriminantes .....	183
2. Modelo discriminante de actividad antibacteriana general.....	185
2.1. Análisis lineal discriminante .....	185
2.2. Cribado virtual de actividad antibacteriana .....	200
3. Modelo discriminante de actividad frente a SARM .....	202
3.1. Explicación de las REA clásicas con el modelo topológico.....	210

3.2. Actividad histórica de las quinolonas frente a bacterias Gram positivas según el modelo.....	213
3.3. Cribado virtual .....	215
4. Búsqueda de antibacterianos con actividad frente a SARM .....	216
5. Conclusiones .....	219
CAPÍTULO 3.....	221
Búsqueda de nuevas quinolonas antibacterianas activas frente a SARM ...	223
1. Química combinatoria virtual .....	223
2. Cribado farmacológico virtual.....	227
3. Conclusiones .....	234
CAPÍTULO 4.....	235
Síntesis.....	237
1. Síntesis de quinolonas activas teóricas .....	237
1.1. Asignación de RMN <sup>1</sup> H y <sup>13</sup> C de 7 <sub>DMAP</sub> .....	244
2. Conclusiones .....	252
3. Procedimientos experimentales .....	253
3.1. Método B. Obtención de 1a7I8a a partir de 1a7 <sub>Cl</sub> 8a.....	254
3.2. Procedimiento para la obtención de quinolonas a partir de 1a7a8a.....	255
3.3. Procedimiento para la obtención de ciprofloxacino.....	258
4. Espectro de las Quinolonas.....	259
CAPÍTULO 5.....	281
Ensayos microbiológicos .....	283
1. Microorganismo .....	283
1.1. Características generales de SARM.....	284
2. Selección de los compuestos comerciales a ensayar .....	286
3. Determinación de las condiciones experimentales de los compuestos a ensayar	288
4. Procedimiento experimental .....	290
4.1. Disolución de los compuestos en el medio de cultivo.....	290
4.1.1. Compuestos disueltos en disoluciones acuosas. Quinolonas y mitomicina C .....	290
4.1.2. Compuestos disueltos en DMSO. Lamotrigina, teflutrina y λ-cihalotrina.....	290
4.2. Actividad antibacteriana .....	291
4.2.1. Preparación del cultivo bacteriano .....	291
4.2.2. Determinación de la CMI .....	291

*Índice*

4.2.3. Determinación de la CMB .....	293
4.2.4. Ensayos con resazurina .....	296
5. Resultados de actividad antibacteriana.....	299
6. Discusión.....	300
7. Conclusiones.....	304
ANEXOS.....	305
Anexo I.....	307
Anexo II.....	349
Anexo III.....	355
Anexo IV.....	365

# **INTRODUCCIÓN**



La síntesis de quimioterápicos artificiales y el descubrimiento y mejora de los antibióticos han supuesto en este siglo una auténtica revolución farmacológica en el tratamiento de las enfermedades infecciosas. Sin embargo, la extrema versatilidad y adaptabilidad de los microorganismos ha impedido disminuir la prevalencia de las enfermedades infecciosas, debido a que muchas bacterias han ido desarrollando mecanismos que las protegen frente a muchos fármacos.<sup>1</sup>

En la actualidad, existe una creciente preocupación por la disminución de la eficacia de los agentes antimicrobianos y un aumento en la prevalencia de nuevos y antiguos patógenos bacterianos.<sup>2</sup> Los aumentos en la tasa de resistencia a los antibióticos están resultando en tasas de mortalidad más elevadas, y un mayor coste sanitario.<sup>3</sup> Por todo ello, es necesario conocer la sensibilidad de los principales microorganismos y estar continuamente alerta ante la aparición de cepas resistentes que pudieran condicionar un fracaso del tratamiento.<sup>4</sup>

---

1 Yeh RF, Jain R, Palmer HR. 49th ICAAC annual meeting: optimization of anti-infective use in the clinical setting. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.*, **2009**; *7(10)*: 1167-72.

2 Jones RN. The emergent needs for basic research, education and surveillance of antimicrobial resistance. Problems facing the report from the American Society for Microbiology task force on antibiotic resistance. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **1996**; *25(4)*: 153-61.

3 Archibald LK, Jarvis WR. Health care-associated infection outbreak investigations by the centers for disease control and prevention, 1946-2005. *Am. J. Epidemiol.*, **2011**; *174(11 Suppl.)*: S47-64.

4 García-Rodríguez JA, Casal M, Rodríguez F, Grupo de Estudio de Sensibilidad Antibiótica. Evolución de la resistencia antibiótica de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Bacteroides fragilis* (1997-2001). *Rev. Esp. Quimioterap.*, **2003**; *16(4)*: 421-7.

En concreto, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) es causa importante de infecciones, tanto de origen comunitario como hospitalario, y representa un importante problema clínico y de salud pública debido a las reducidas opciones de tratamiento, a la inminente resistencia a la vancomicina y al elevado número de fracasos terapéuticos.<sup>5</sup> El interés actual del estudio de este patógeno se debe a su elevada frecuencia y por representar, una de las principales causas de brotes de infección nosocomial en nuestro país. La prevalencia de SARM en hospitales ha ido aumentando desde un 1,5 % en 1986 a un 29,2 % en 2006,<sup>6</sup> convirtiendo determinadas áreas hospitalarias, sobre todo las consideradas de alto riesgo (como las Unidades de Cuidados Intensivos), en zonas endémicas para este tipo de infección. Además, la prevalencia extrahospitalaria de estas cepas resistentes también ha sufrido un incremento significativo del 0,25 % en 2004 al 8,8 % en 2012.<sup>7</sup>

La variabilidad de *S. aureus*, la rápida respuesta adaptativa frente a cambios del medio, y su continua adquisición de mutaciones genéticas asociadas con la resistencia antibiótica, han hecho de éste un residente habitual del hábitat hospitalario, donde origina problemas de multirresistencia. Aunque el término “resistencia a meticilina” incluye resistencia a derivados  $\beta$ -lactámicos, las cepas SARM presentan, en general, resistencia múltiple a varios grupos de antibióticos. A través de diversos mecanismos, estas bacterias presentan resistencia al cloranfenicol, tetraciclinas, macrólidos, lincosaminas, aminoglucósidos e, incluso, quinolonas, describiéndose cada vez con mayor frecuencia brotes de SARM sensibles sólo a los glucopéptidos.<sup>8</sup>

Dado el problema que entraña en la terapia antibacteriana la aparición de resistencias a los tratamientos con los antibacterianos clásicos, es necesario ampliar el arsenal terapéutico de cualquier grupo de agentes antibacterianos.

---

5 Lomaestro BM. Vancomycin dosing and monitoring 2 years after the guidelines. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.*, **2011**; *9(6)*: 657-67.

6 Vindel A, Cuevas O, Cercenado E, Marcos C, Bautista V, Castellares C, Trincado P, Boquete T, Pérez-Vázquez M, Buza E. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Spain: Molecular Epidemiology and Utility of Different Typing Methods. *J. Clin. Microbiol.*, **2009**; *47(6)*: 1620-7.

7 Vindel A, Trincado P, Cuevas O, Ballesteros C, Bouza E, Cercenado E. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Spain: 2004-12. *J. Antimicrob. Chemother.*, **2012**; *69(11)*: 2913-9.

8 Lowy FD. How *Staphylococcus aureus* adapts to its host. *N. Engl. J. Med.*, **2011**; *364(21)*: 1987-90.



Afortunadamente, la búsqueda de nuevos fármacos en la lucha contra las enfermedades infecciosas ha sufrido un extraordinario avance desde la segunda mitad del siglo pasado. Hasta aproximadamente la década de los cincuenta, las sustancias con actividad farmacológica se obtenían realizando ensayos experimentales, siguiendo el método de ensayo y error, sobre multitud de compuestos de origen natural o sintético, buscando una determinada actividad. Una vez detectado el denominado cabeza de serie, se realizaban modificaciones estructurales con el objetivo de mejorar sus propiedades.<sup>9</sup>

Éste era un proceso largo y económicamente costoso, lo que provocó la puesta a punto de métodos que relacionaran cuantitativamente la estructura química con la actividad farmacológica. Son los llamados métodos QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship),<sup>10</sup> y han servido de base para el diseño de nuevas moléculas con una determinada actividad.

La gran ventaja de estos métodos QSAR es que son capaces de predecir la actividad farmacológica de un compuesto sin la necesidad de obtenerlo o sintetizarlo previamente. Esto ha hecho que la llamada Química Computacional y la Química Combinatoria Virtual hayan tenido un gran auge en los últimos años.<sup>11</sup>

De entre las diversas metodologías QSAR, nuestro equipo utiliza el llamado Método de Conectividad Molecular, desarrollado por Kier y Hall a mediados de los años setenta,<sup>12</sup> derivado de un método QSAR. Por este método, a partir de la estructura de una molécula, se obtienen una serie de descriptores numéricos llamados índices topológicos, que la identifican. De esta forma, si se dispone de datos experimentales de una determinada propiedad fisicoquímica o farmacológica para un grupo de compuestos, podemos calcular sus índices topológicos y regresionarlos frente a la propiedad deseada, pudiendo obtener funciones matemáticas de conectividad, capaces de predecir cuantitativamente el

---

9 Li JW, Vederas JC. Drug discovery and natural products: end of an era or an endless frontier? *Science*, **2009**; *325*(5937): 161-5.

10 Karelson M. *Molecular Descriptors in QSAR/QSPR*; John Wiley & Sons: New York, **2000**.

11 López-Vallejo F, Caulfield T, Martínez-Mayorga K, Giulianotti MA, Nefzi A, Houghten RA, Medina-Franco JL. Integrating virtual screening and combinatorial chemistry for accelerated drug discovery. *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, **2011**; *14*(6): 475-87.

12 Kier LB, Hall LH. *Molecular Connectivity in Chemistry and Drug Research*; Academic Press: New York, **1976**.

valor de esa propiedad para otros compuestos no utilizados en dicho estudio, sin la necesidad de sintetizarlos. Esta sistemática para predecir cuantitativamente los valores de las propiedades moleculares ha sido la forma tradicional de utilización del método de Conectividad Molecular.<sup>13</sup>

Del mismo modo, se pueden utilizar estos índices para clasificar a un compuesto como activo o no activo frente a una determinada actividad farmacológica. Para ello, basta con seleccionar un grupo de compuestos que tengan en común una determinada actividad y otro que carezca de ella. Haciendo uso de técnicas de reconocimiento de patrón tales como el análisis lineal discriminante,<sup>14</sup> redes neuronales,<sup>15</sup> análisis factorial o análisis de componentes principales, y seleccionando adecuadamente los descriptores topológicos a utilizar, se pueden combinar entre sí para encontrar modelos matemático-topológicos capaces de identificar dicha acción, convirtiéndose en una poderosa herramienta para la búsqueda y diseño de nuevos compuestos con dicha actividad farmacológica.

En este contexto, la presente tesis pretende la obtención de un modelo matemático-topológico capaz de predecir actividad antibacteriana frente a bacterias SARM. Para ello, se ha seleccionado el grupo de las quinolonas antibacterianas, ya que es un grupo conocido y extenso que nos permitirá recopilar numerosos datos, dando lugar a una mayor precisión del modelo predictivo. Es más, su gran actividad antibacteriana y su amplio espectro de acción le confieren variadas aplicaciones terapéuticas.

Asimismo, el interés del grupo terapéutico elegido se pone de manifiesto en el elevado número de publicaciones aparecidas desde el año 2007, más de 8000 artículos según PubMed y más de 2000 según el ISI Web of Knowledge. Por otro lado, la eficacia del método topológico también ha sido demostrada, al haber sido aplicado con éxito en distintos grupos terapéuticos como hipoglucemiantes

---

13 García-Doménech R, Gálvez J, de Julián-Ortiz JV, Pogliani L. Some new trends in chemical graph theory. *Chem. Rev.*, **2008**; *108*(3): 1127-69.

14 Maldonado FH. El análisis multivariante en la investigación con antimicrobianos. *Rev. Esp. Quimioterap.*, **2007**; *20*(3): 300-9.

15 Baskin II, Palyulin VA, Zefirov NS. Neural networks in building QSAR models. *Methods Mol. Biol.*, **2008**; *458*: 137-58.

orales,<sup>16</sup> antiinflamatorios,<sup>17</sup> antimaláricos,<sup>18</sup> antihistamínicos<sup>19</sup> y antibacterianos.<sup>20</sup>

---

16 Calabuig C, Antón-Fos GM, Gálvez J, García-Doménech R. New hypoglycaemic agents selected by molecular topology. *Int. J. Pharm.*, **2004**; *278(1)*: 111-8.

17 Gálvez-Llompert M, Zanni R, García-Doménech R. Modeling natural anti-inflammatory compounds by molecular topology. *Int. J. Mol. Sci.*, **2011**; *12(12)*: 9481-503.

18 García-Doménech R, López-Peña W, Sánchez-Perdomo Y, Sanders JR, Sierra-Araujo MM, Zapata C, Gálvez J. Application of molecular topology to the prediction of the antimalarial activity of a group of uracil-based acyclic and deoxyuridine compounds. *Int. J. Pharm.*, **2008**; *363(1)*: 78-84.

19 Duart MJ, García-Doménech R, Gálvez J, Alemán PA, Martín-Algarra RV, Antón-Fos GM. Application of a mathematical topological pattern of antihistaminic activity for the selection of new drug candidates and pharmacology assays. *J. Med. Chem.*, **2006**; *49(12)*: 3667-73.

20 Mut-Ronda S, Salabert-Salvador MT, Duart MJ, Antón-Fos GM. Search compounds with antimicrobial activity by applying molecular topology to selected quinolones. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2003**; *13(16)*: 2699-702.



## **OBJETIVOS**



Los objetivos de la presente tesis doctoral serán:

- Obtener un modelo de predicción cuantitativa de propiedades farmacocinéticas (tiempo de residencia medio y volumen de distribución) y de CMI's (concentraciones mínimas inhibitorias) frente a: *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Bacteroides fragilis*, *Escherichia coli*, *Moraxella catarrhalis*, *Proteus mirabilis*, *Clostridium perfringens*, *Klebsiella pneumoniae*.
- Obtener un modelo discriminante de actividad frente a SARM.
- Encontrar moléculas teóricamente activas de entre las más de 6000 moléculas modelizadas a partir de "The Index Merck 13th Edition".
- Encontrar nuevas quinolonas antibacterianas utilizando como herramientas la Química Combinatoria Virtual y el Cribado Farmacológico Virtual.
- Verificar el modelo de predicción, ensayando la actividad de algunas de las moléculas encontradas como teóricamente activas.



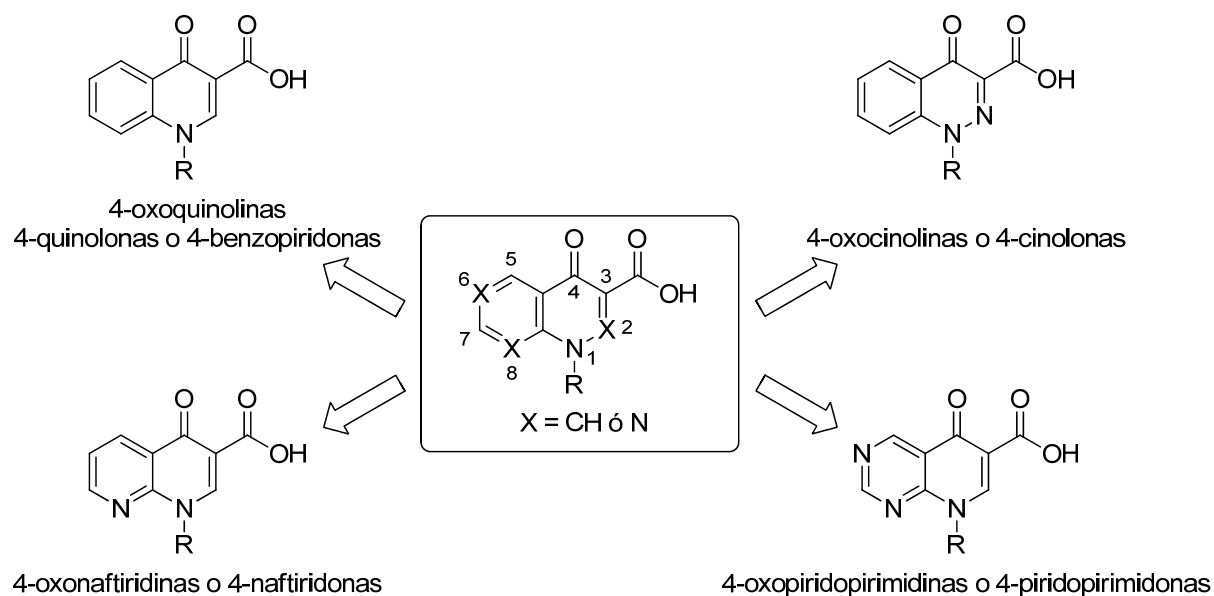


**ANTECEDENTES  
BIBLIOGRÁFICOS**



## 1. QUINOLONAS

Con el nombre de quinolonas se conoce a un grupo de compuestos antimicrobianos sintéticos de acción bactericida que derivan de una estructura básica idéntica, formada por un anillo de tipo 1,4-dihidropiridina o 1,4-dihidropiridacina, con un ácido carboxílico en posición 3 y un sustituyente oxo en posición 4; condensado con un segundo anillo aromático, bencénico o de otro tipo (**Figura A.1**).



**Figura A.1.** Estructura general de las quinolonas y los grupos que derivan de ella.

Esta estructura general ha dado lugar al desarrollo de cuatro grupos diferentes desde un punto de vista puramente químico, según el número y la posición de los átomos de nitrógeno de la molécula (**Figura A.1**):

- 4-oxoquinolinas, 4-quinolonas o 4-benzopiridonas: contienen un único átomo de nitrógeno en la posición 1. Es, con mucho, el núcleo más frecuente.
- 4-oxonaftiridinas o 4-naftiridonas: contienen un átomo de nitrógeno en las posiciones 1 y 8.
- 4-oxocinolininas o 4-cinolonas: contienen un átomo de nitrógeno en las posiciones 1 y 2.
- 4-oxopiridopirimidinas o 4-piridopirimidonas: contienen un átomo de nitrógeno en las posiciones 1, 6 y 8.

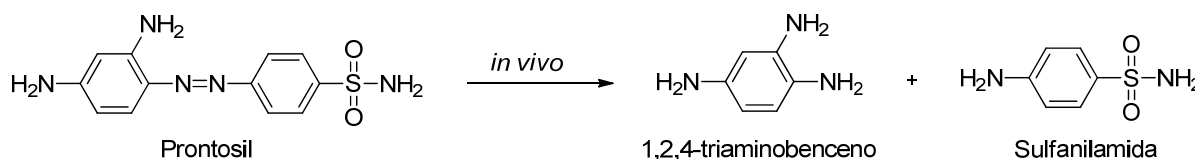
Son, por tanto, un grupo de moléculas químicamente muy heterogéneas, pero que se comportan como bioisómeros.<sup>21</sup> No obstante, las 4-cinolonas y las 4-piridopirimidonas no se han desarrollado ya que la presencia del átomo de nitrógeno en las posiciones 2 ó 6 ha dado lugar a derivados menos activos. Las únicas estructuras de estos tipos de quinolonas que hemos encontrado con aplicación en clínica han sido cinoxacino, ácido piromídico y ácido pipemídico.

---

<sup>21</sup> Gutiérrez-Zufiaurre N. Relación entre estructura, actividad y efectos adversos de las quinolonas. *Rev. Esp. Quimioterap.*, **2004**; *17*(3): 232-43.

## 1.1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La quimioterapia antimicrobiana comenzó en el año 1910 con la obtención, por parte de P. Ehrlich, del salvarsán, un potente fármaco arsenical contra la sífilis.<sup>22</sup> En 1932, Gerhard Domagk, un farmacólogo alemán que trabajaba en el Instituto Bayer de Patología y Bacteriología, con la idea de que los colorantes utilizados para observar las bacterias al microscopio podrían tener la capacidad de destruirlas por su capacidad para fijarse a la pared bacteriana, descubrió que un colorante azoico (denominado prontosil) curaba infecciones causadas por estreptococos en ratones. Su propia hija moribunda sobrevivió a una infección estreptocócica después de que le inyectara este colorante. Más tarde, Daniel Bovert, un científico suizo, demostró que esta molécula estaba compuesta por dos partes: el 1,2,4-triaminobenceno, responsable de la coloración; y la sulfonamida, el compuesto activo que se producía *in vivo* al metabolizar el colorante (**Esquema A.1**). Domagk fue galardonado con el Premio Nobel de Medicina en 1939.<sup>23</sup>



**Esquema A.1.** Reducción metabólica del grupo azo del prontosil para dar la sulfanilamida.

Tras el descubrimiento de la penicilina en 1928 por Fleming, todo hacía presagiar que el fin de las enfermedades infecciosas estaba próximo, compartiendo médicos y profanos el mismo júbilo e idénticas ilusiones. Sin embargo, pronto se dieron alertas de lo que estaba por venir. Ya el propio Fleming había alzado una voz de precaución, conector de que las dosis insuficientes o los tratamientos interrumpidos de la penicilina favorecían el desarrollo de variantes de gérmenes sobre los que la penicilina no podía actuar. Fleming creía que el fenómeno de la autoprescripción de los antibióticos iría en detrimento de su eficacia.<sup>24</sup>

Las resistencias se producen por mutaciones espontáneas o por transferencia horizontal de genes de resistencia. En grandes poblaciones

<sup>22</sup> <http://pubs.acs.org/cen/coverstory/83/8325/8325salvarsan.html> (última entrada 7 de septiembre de 2015)

<sup>23</sup> Khardori N. Antibiotics-past, present, and future. *Med. Clin. North Am.*, **2006**; *90*(6): 1049-76.

<sup>24</sup> Belloso W. Historia de los antibióticos. *Rev. Hosp. Ital. B. Aires*, **2009**; *29*(2): 102-11.

bacterianas, pequeñas subpoblaciones de bacterias resistentes son seleccionadas y amplificadas por el tratamiento antibiótico, que mata a las bacterias susceptibles. El proceso de selección ha estado en marcha desde el comienzo de la era de los antimicrobianos y ha contribuido a aumentar la reserva genética resistente en la microbiota, en los hospitales, en la comunidad y en el entorno general. A través del uso indiscriminado, la ignorancia y la complacencia, este valioso recurso está siendo desperdiciado y las consecuencias se están convirtiendo en cada vez más aparentes.<sup>25</sup>

Durante las últimas décadas se han producido grandes cambios, tanto en los tipos de infecciones observadas como en la susceptibilidad y resistencia de los gérmenes, lo que ha producido una incesante búsqueda de alternativas terapéuticas cada vez más efectivas. Sin duda alguna, la terapéutica antimicrobiana se ha visto fortalecida con la aparición de las quinolonas, que se están volviendo cada vez más populares con la disminución de la eficacia de otros agentes a causa de las resistencias bacterianas. De hecho, una de las atractivas prestaciones de las quinolonas es su habilidad para matar bacterias rápidamente, una capacidad que varía ampliamente entre los diversos derivados. Por ejemplo, las quinolonas difieren en cuanto al ritmo y a la magnitud de su citotoxicidad, a la necesidad de metabolismo aeróbico para eliminar las bacterias, y al efecto de los inhibidores de la síntesis de proteínas en la letalidad de la quinolona.<sup>26</sup>

Por tanto, no es sorprendente que sea el grupo de agentes antibacterianos sintéticos que más éxito ha tenido clínica y económicamente, el cual añade a su baja toxicidad (salvo excepciones), un amplio espectro de actividad, una gran potencia bactericida, eficacia tanto por vía oral como parenteral, baja tasa de resistencias y facilidad de síntesis.<sup>27</sup> Por consiguiente, desde un lento comienzo como un grupo modesto de desinfectantes del tracto urinario, se han patentado más de diez mil moléculas pertenecientes a esta clase, convirtiéndose en un gran grupo de agentes antiinfecciosos con múltiples usos clínicos. No sólo han sido muy

---

25 Alvan G, Edlund C, Heddini A. The global need for effective antibiotics-A summary of plenary presentations. *Drug Resist. Updat.*, **2011**; *14*(2): 70-6.

26 Drlica K, Malik M, Kerns RJ, Zhao X. Quinolone-mediated bacterial death. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2008**; *52*(2): 385-92.

27 Mitscher LA. Bacterial topoisomerase inhibitors: quinolone and pyridone antibacterial agents. *Chem. Rev.*, **2005**; *105*(2): 559-92.

utilizadas, sino también intensamente estudiadas, y probablemente han añadido más a nuestro conocimiento de la ciencia antimicrobiana que cualquier otra clase de antibióticos o quimioterápicos. Pese a que algunos autores han separado las quinolonas en grupos según su uso clínico,<sup>28</sup> su clasificación en generaciones en base a su espectro de actividad ha sido más generalizada.<sup>29</sup>

---

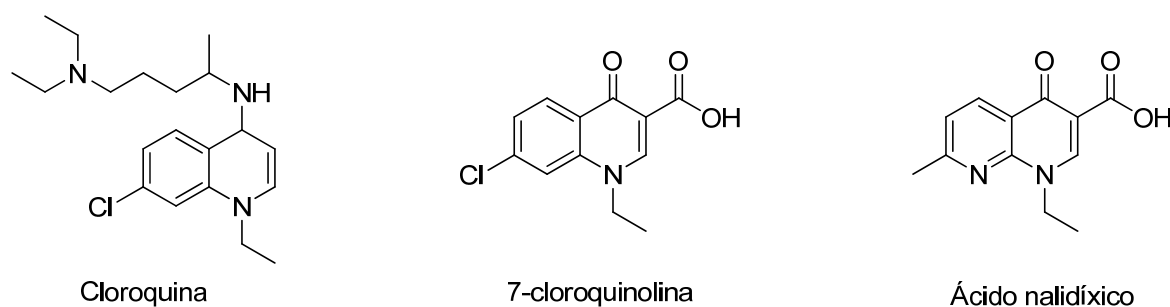
28 Andersson MI, MacGowan AP. The quinolones: decades of development and use. *J. Antimicrob. Chemother.*, **2003**; *51(Suppl. 1)*: 1-11.

29 Ball P. Quinolone generations: natural history or natural selection? *J. Antimicrob. Chemother.* **2000**; *46(Suppl. T1)*: 17-24.

## 1.2. CLASIFICACIÓN

En el año 1949, Price obtuvo de la degradación de alcaloides una molécula sin actividad biológica a la que denominó quinolona; era el ácido 1-metil-4-quinolona-3-carboxílico. En los años siguientes se fueron sintetizando otras nuevas, y así, en 1960, Barton llegó a recopilar 80 moléculas con estructura similar. Demostraron actividad contra bacterias Gram negativas, pero su potencia y espectro no eran lo suficientemente significativas como para ser usadas terapéuticamente.<sup>30</sup>

La primera de las moléculas en utilizarse en clínica fue descubierta en 1962 por G. Lesher y colaboradores, quienes, durante la purificación del antimalárico cloroquina a partir de la lejía madre, encontraron la 7-cloroquinolina, un subproducto con actividad antimicrobiana. Partiendo de este cabeza de serie se obtuvo el ácido nalidíxico<sup>27</sup> (**Figura A.2**).



**Figura A.2.** Estructuras del ácido nalidíxico y sus predecesores.

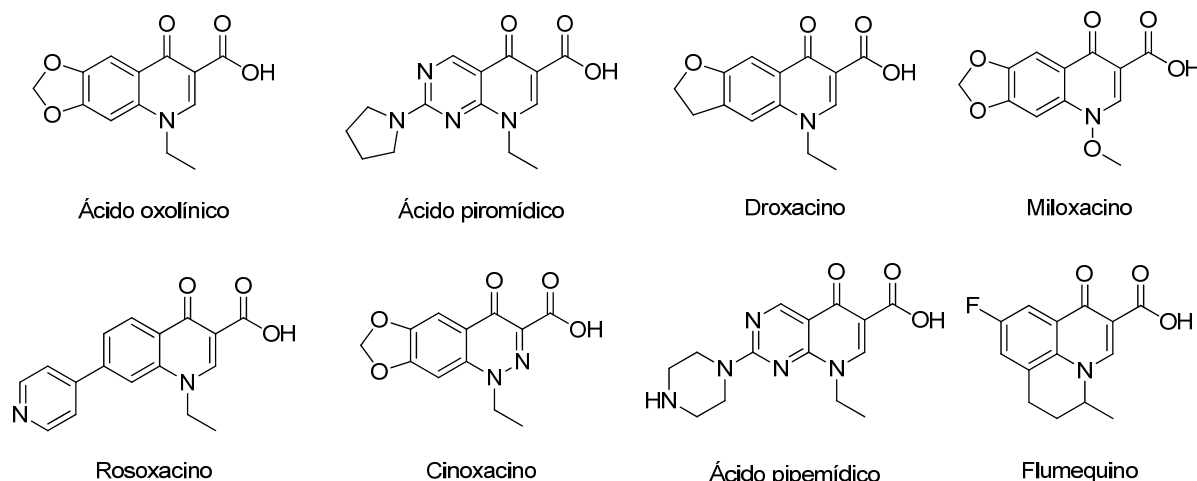
Pese a la buena tolerancia y la facilidad de síntesis del ácido nalidíxico, su uso ha sido restringido al tratamiento de algunas infecciones urinarias por su tendencia a seleccionar resistencias y a concentrarse principalmente en orina.<sup>27</sup>

A partir de este descubrimiento se desarrollaron derivados con estructuras similares, con una actividad aún moderada frente a bacterias Gram negativas, pero que resultaron muy valiosas en infecciones urinarias no complicadas, como la cistitis. Entre ellos se encuentran los ácidos oxolínico y piromídico, y el droxacino, miloxacino, rosoxacino y cinoxacino<sup>27</sup> (**Figura A.3**). En 1975 apareció el ácido pipemídico (**Figura A.3**), la primera quinolona con anillo piperacínico, con actividad, espectro y farmacocinética favorables, que permitían administrar

<sup>30</sup> Barton N, Crowther AF, Hepworth W, Richardson DN, Driver GW. *British Patent n° 830-2, 1960.*



dosis más reducidas. La aparición de resistencias bacterianas durante el tratamiento y efectos secundarios también eran menores.<sup>31</sup> Un año después se descubrió el flumequino (**Figura A.3**), que al incorporar un átomo de flúor en la posición 6 del anillo base, conseguía amplificar su espectro dentro de las enterobacterias, incluyendo algunas cepas resistentes al ácido nalidíxico (con actividad útil en casos de gonorrea no complicada) y mejorar ligeramente la actividad frente a bacterias Gram positivas.<sup>32</sup>



**Figura A.3.** Estructura química de varias quinolonas clásicas o de primera generación.

Estas primeras quinolonas, denominadas quinolonas clásicas o de primera generación, dada su principal indicación, se englobaron dentro de los llamados antisépticos urinarios. Fueron empleadas clínicamente sin gran repercusión hasta finales de los años 70, pero recuperaron la atención durante la década de los 80 para el tratamiento de diarrea e infecciones urinarias tras el desarrollo de resistencias en *Shigella spp.* y *Escherichia coli* a otras clases de antibióticos utilizados en aquel entonces.<sup>33</sup> Estos hechos motivaron el comienzo de una campaña activa de síntesis química para refinar las relaciones estructura-actividad, con el objetivo de mejorar la actividad mientras se optimizaban las propiedades farmacocinéticas y se reducían la toxicidad y las interacciones con otros fármacos, llevando a la consolidación de un nuevo grupo: las quinolonas de segunda generación o fluoroquinolonas.

31 Shimizu M, Nakamura S, Takase Y, Kurobe N. Pipemidic acid: absorption, distribution, and excretion. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1975**; *7(4)*: 441-6.

32 Rohlffing SR, Gerster JF, Kvam DC. Bioevaluation of the antibacterial flumequine for urinary tract use. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **1976**; *10(1)*: 20-4.

33 Van Bambeke F, Michot JM, Van Eldere J, Tulkens PM. Quinolones in 2005: an update. *Clin. Microbiol. Infect.*, **2005**; *11(4)*: 256-80.

Las fluoroquinolonas pertenecen principalmente a los grupos de las 4-benzopiridonas o de las 4-naftiridonas. Se diferencian de las quinolonas clásicas en dos características comunes a todas ellas: la presencia de un átomo de flúor en posición 6 y un anillo piperacínico o pirrolidínico sustituido en la posición 7 del núcleo quinolónico. Estos sustituyentes, efectivamente, les confieren algunas propiedades que las diferencian de las quinolonas clásicas, como un espectro de acción más amplio, mejor actividad antimicrobiana, mejores propiedades farmacocinéticas (mejor absorción oral, mayor penetración intracelular, baja unión a proteínas plasmáticas, larga semivida de eliminación) y menor aparición de resistencias.<sup>34</sup>

La primera quinolona de segunda generación que se patentó, en 1978, fue el norfloxacin, (**Figura A.4**) cuya potencia mejorada frente a Gram negativos se encontraba ya en el rango de los antibióticos naturales, además de poseer una semivida más larga (3-4 h) y menor unión a proteínas (50 %) que sus antecesores.<sup>35</sup> Tanto el norfloxacin como su análogo *N*-metilado, el pefloxacin, no lograron encontrar mayor uso fuera del tracto genitourinario debido a los bajos niveles en sangre y la limitada potencia frente a Gram positivos.<sup>27</sup>

Poco después se introdujo el ciprofloxacino (**Figura A.4**), siendo durante muchos años la fluoroquinolona más potente frente a bacterias Gram negativas y la más ampliamente utilizada.<sup>33</sup> También lo hizo el ofloxacino, así como su esteroisómero más activo, el levofloxacino (**Figura A.4**), que es el doble de activo que su mezcla racémica pero sin cambios en el espectro.<sup>27</sup> Dentro de este grupo se encuentran, entre otros: amifloxacino, irloxacino, enrofloxacino y enoxacin<sup>36</sup> (**Figura A.4**). Esta generación de quinolonas presenta una actividad mucho mayor frente a Gram negativos aerobios (incluida *Pseudomonas aeruginosa*) y algunos patógenos Gram positivos importantes. A ello se suman perfiles toxicológicos más favorables y una buena absorción a través del tracto gastrointestinal.<sup>34</sup> Por sus buenas propiedades, las quinolonas de segunda

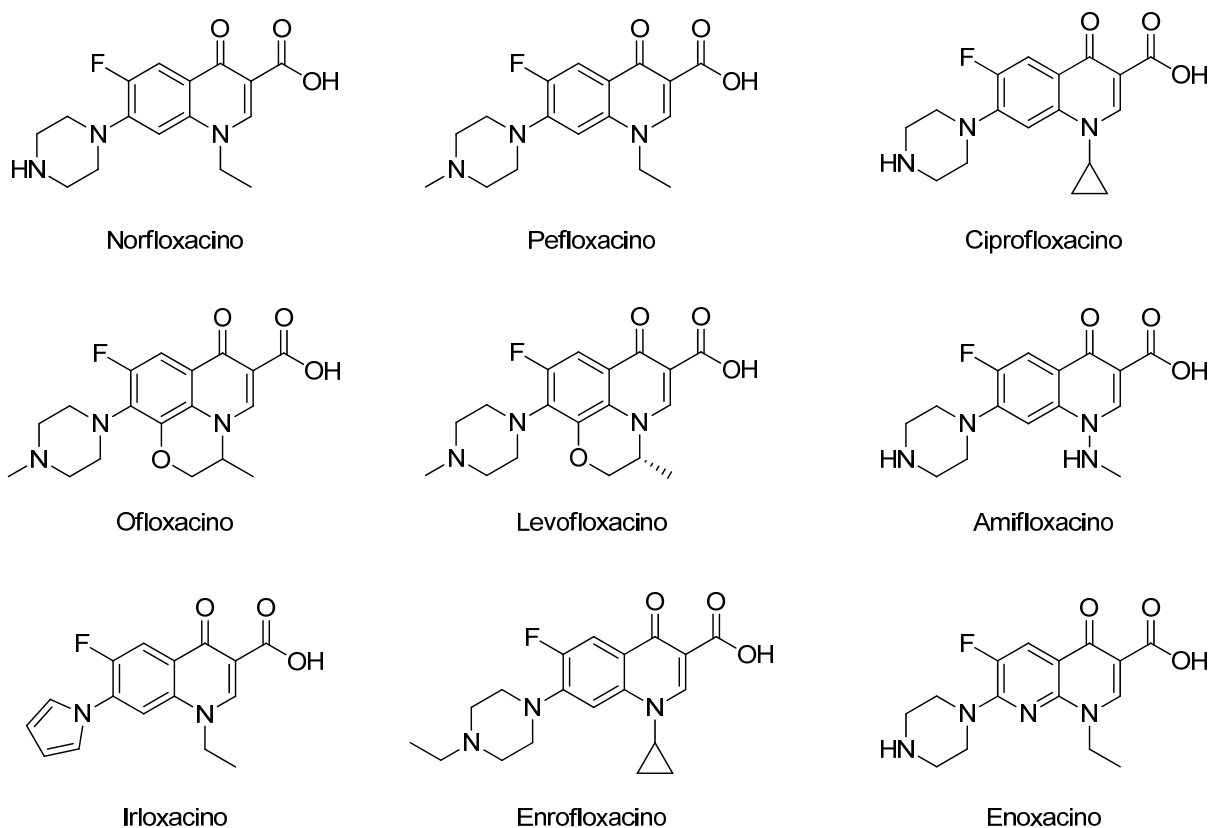
---

34 Emami S, Shafiee A, Foroumadi A. Structural features of new quinolones and relationship to antibacterial activity against gram-positive bacteria. *Mini Rev. Med. Chem.*, **2006**; *6*(4): 375-86.

35 Emmerson AM, Jones AM. The quinolones: decades of development and use. *J. Antimicrob. Chemother.*, **2003**; (*51 Suppl. 1*): 13-20.

36 Wolfson JS, Hooper DC. Fluoroquinolone antimicrobial agents. *Clin. Microbiol. Rev.*, **1989**; *2*(4): 378-424.

generación han sido probablemente los antimicrobianos más importantes en la quimioterapia antibacteriana durante las décadas de los ochenta y noventa. Se aprobó su uso en una amplia variedad de indicaciones clínicas, incluyendo infecciones gastrointestinales, infecciones de piel, osteomielitis, infecciones urinarias más complicadas, infecciones intraabdominales, oftálmicas y algunas enfermedades de transmisión sexual. Sin embargo, las concentraciones en suero y en muchos tejidos son bajas, su actividad frente a *Streptococcus pneumoniae* es demasiado marginal para indicar su uso en infecciones del tracto respiratorio y la aparición de resistencias pronto redujeron su potencial frente a *Staphylococcus aureus*.<sup>27</sup>



**Figura A.4.** Estructura química de las primeras fluoroquinolonas o quinolonas de segunda generación.

En la década de los 90 se aprobaron varias quinolonas en su mayoría bi o trifluoradas. Son las quinolonas de tercera generación, que presentan una mayor complejidad estructural que las predecesoras. Una de las primeras modificaciones fue la introducción de un grupo amino en la posición 5, que provocó un incremento de la actividad general frente a Gram positivos.<sup>34</sup> Esto puede observarse en el esparfloxacin (**Figura A.5**), que también cuenta con átomos de

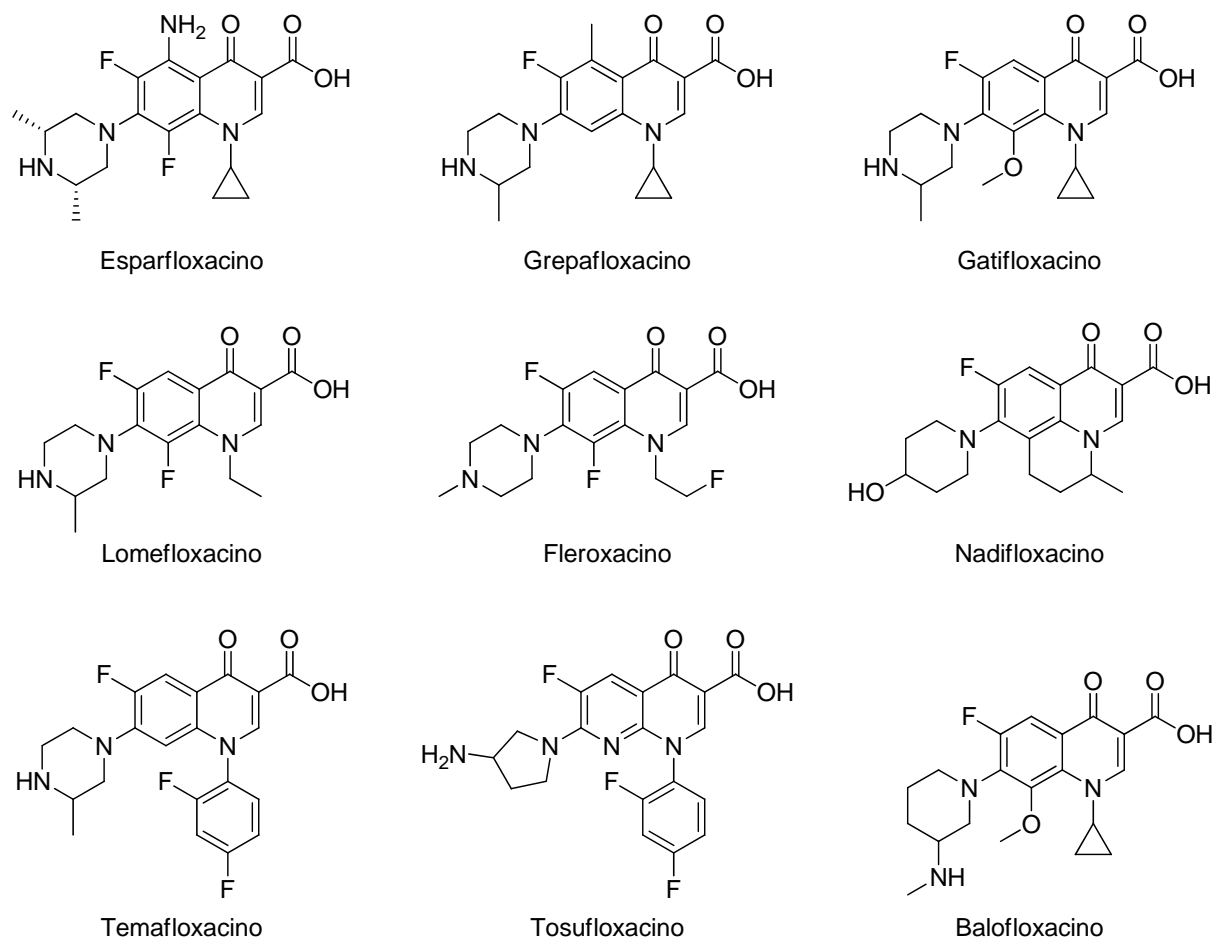
flúor en las posiciones 6 y 8 y un anillo piperacínico alquilado en posición 7. El grepafloxacino (**Figura A.5**) también está sustituido en la posición 5, pero por un grupo metilo. No obstante, ambos fueron retirados o restringidos debido a su cardiotoxicidad.<sup>37</sup> Se observó una reducción en la selección de resistencias y una mejora adicional en la actividad frente a Gram positivos y anaerobios al introducir un grupo metoxi en la posición 8, como es el caso del gatifloxacino (**Figura A.5**), activo frente a neumococo resistente a la penicilina.<sup>34</sup>

Todas ellas presentan ventajas en su biodisponibilidad respecto a las quinolonas de segunda generación, ya que las sustituciones en los anillos en la posición 7 les confieren una mayor lipofilia, resultando en semividas de eliminación más prolongadas y una mayor penetración tisular. Se utilizaron sobre todo en enfermedades del tracto respiratorio inferior y en casos de neumonía comunitaria debido a su actividad frente a patógenos típicos del tracto respiratorio como *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* y *Moraxella catarrhalis*. Se incluyen en este grupo: lomefloxacino, tosufloxacino, temafloxacino, nadifloxacino, fleroxacino y balofloxacino<sup>38</sup> (**Figura A.5**).

---

37 Owens RC. QT prolongation with antimicrobial agents: understanding the significance. *Drugs*, **2004**; *64*(10): 1091-124.

38 O'Donnell JA, Gelone SP. The newer fluoroquinolones. *Infect. Dis. Clin. North Am.*, **2004**; *18*(3): 691-716.



**Figura A.5.** Estructura química de varias quinolonas de tercera generación.

El grupo de las quinolonas de cuarta generación incluye compuestos que presentan una potencia similar a las de tercera generación frente a microorganismos Gram positivos y Gram negativos, pero son más potentes y actúan frente a un mayor número de patógenos anaerobios.<sup>39</sup>

Algunos compuestos tienen un anillo pirrolidínico en la posición 7, que le otorga una buena actividad frente a Gram positivos. Sin embargo, dicho sustituyente se asocia con una baja solubilidad acuosa y una baja biodisponibilidad oral, por lo que su actividad *in vivo* podría verse comprometida. Se introdujeron grupos metilo en dicho anillo para superar tales adversidades fisicoquímicas. El gemifloxacin (**Figura A.6**) es un buen ejemplo de las ventajas y desventajas asociadas al anillo pirrolidínico en posición 7.<sup>40</sup>

39 Callegan MC, Novosad BD, Ramadan RT, Wiskur B, Moyer AL. Rate of bacterial eradication by ophthalmic solutions of fourth-generation fluoroquinolones. *Adv. Ther.*, **2009**; *26(4)*: 447-54.  
40 Lowe MN, Lamb HM. Gemifloxacin. *Drugs*, **2000**; *59(5)*: 1137-47.

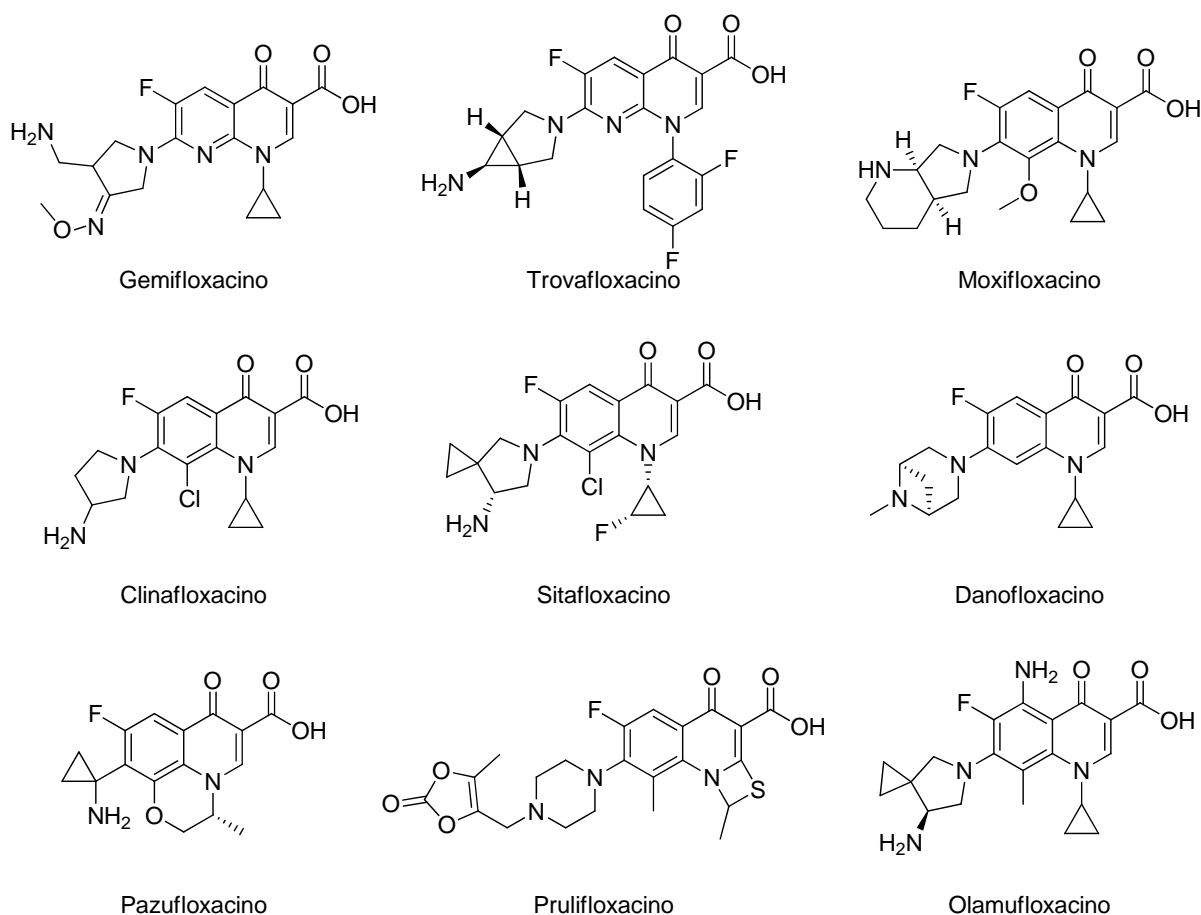
La incorporación de azabiciclos en la posición 7 dio lugar a la aparición de agentes, como trovafloxacino y moxifloxacino, (**Figura A.6**) con una actividad frente a Gram positivos significativa, marcada lipofilia y semividas de más de 10 horas. Aunque el trovafloxacino fue retirada del mercado por casos de seria hepatotoxicidad,<sup>33</sup> el moxifloxacino presenta un perfil toxicológico satisfactorio.<sup>41</sup>

En general, estas quinolonas tienen buena actividad frente a patógenos intracelulares, penetran muy bien en las células fagocíticas y en un amplio rango de tejidos y son muy bien toleradas, pudiendo usarse para el tratamiento de infecciones sistémicas en dosis diarias. Parecen destinadas a ocupar un lugar importante en terapéutica antiinfecciosa, fundamentalmente en procesos graves o producidos por bacterias con resistencia a otros antimicrobianos, como las productoras de  $\beta$ -lactamasas. Pertenecen a este grupo: clinafloxacino, sitafloxacino, danofloxacino, pazufloxacino, prulifloxacino y olamufloxacino<sup>42</sup> (**Figura A.6**).

---

41 Iannini PB, Kubin R, Reiter C, Tillotson. Reassuring safety profile of moxifloxacin. *Clin. Infect. Dis.*, **2001**; *32*(7): 1112-4.

42 Talan DA. Clinical perspectives on new antimicrobials: focus on fluoroquinolones. *Clin. Infect. Dis.*, **2001**; *32*(Suppl. 1): S64-71.



**Figura A.6.** Estructura química de varias quinolonas de cuarta generación.

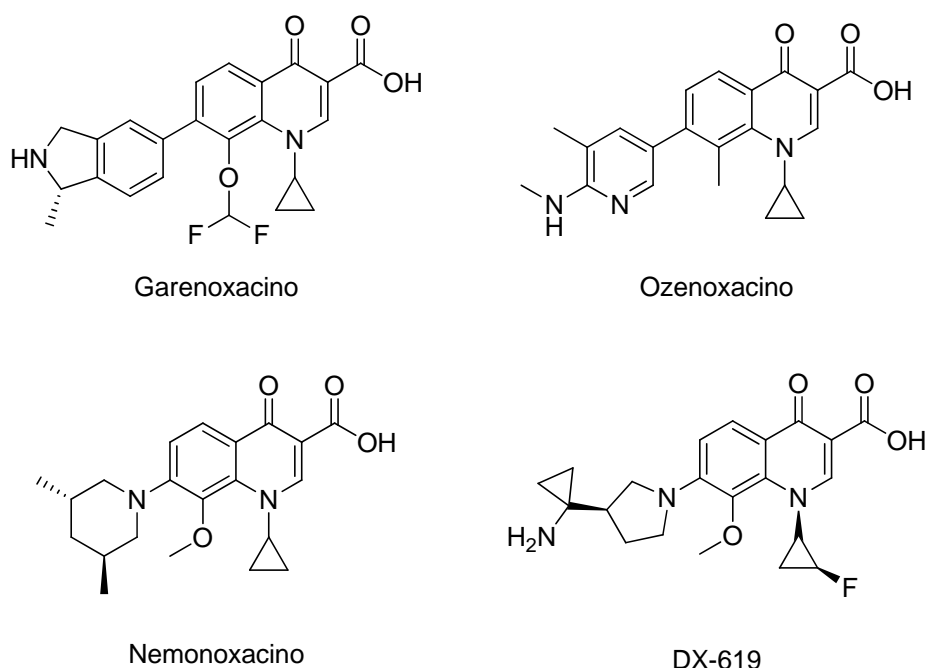
En los últimos años se ha sintetizado una nueva clase de quinolonas, ya que la optimización de los sustituyentes en las demás posiciones ha permitido la supresión del átomo de flúor en la posición 6, con lo que se consiguen evitar posibles efectos tóxicos (parece reducir los problemas de foto y genotoxicidad), sin disminuir necesariamente su actividad.<sup>43</sup> Estos nuevos antimicrobianos son las llamadas 6-desfluoroquinolonas, que debido a su elevada afinidad por las topoisomerasas de tipo II, han mostrado una elevada actividad intrínseca frente a la mayoría de los microorganismos Gram negativos, Gram positivos, anaerobios y un reducido potencial de selección de resistencias.<sup>44</sup> La primera molécula de este grupo fue el garenoxacino, inicialmente conocido como BMS-284756 (**Figura A.7**), que posee un grupo difluorometoxi en lugar de un metoxi en la posición 8. Exhibe un amplio espectro frente a Gram negativos y positivos, incluyendo patógenos del tracto respiratorio. Presenta gran potencia frente a la mayor parte

43 Boteva AA, Krasnykh OP. The methods of synthesis, modification, and biological activity of 4-quinolones. *Chem. Heterocycl. Compd.*, **2009**; 45(7): 757-85.

44 Fujikawa K, Chiba M, Tanaka M, Sato K. *In vitro* antibacterial activity of DX-619, a novel des-fluoro(6) quinolone. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2005**; 49(7): 3040-5.

de los anaerobios, superando la actividad del moxifloxacino (**Figura A.6**), y frente a la mayoría de los microorganismos intracelulares como *Chlamydia spp.*, *Mycoplasma spp.*, y *Ureaplasma spp.*, frente a microorganismos resistentes como *Streptococcus pneumoniae* multi-resistente, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, enterococos resistentes a vancomicina, y también frente a *Neisseria gonorrhoeae* y *Borrelia burgdorferi*.<sup>45</sup>

Otras 6-desfluoroquinolonas, como el ozenoxacino, concebido para tratar el impétigo y otras afecciones dermatológicas infecciosas, y el nemonoxacino, para tratar infecciones de pie diabético y neumonía adquirida en la comunidad, se encuentran en fase clínica III,<sup>46</sup> mientras que el compuesto DX-619 se encuentra en fase clínica I como formulación intravenosa monodosis.<sup>47</sup> Se muestran sus estructuras químicas en la siguiente figura.



**Figura A.7.** Estructura química de varias 6-desfluoroquinolonas.

Los laboratorios Abbott describieron análogos tetracíclicos derivados de la nafitiridona, los cuales, a diferencia de las típicas quinolonas sustituidas en la

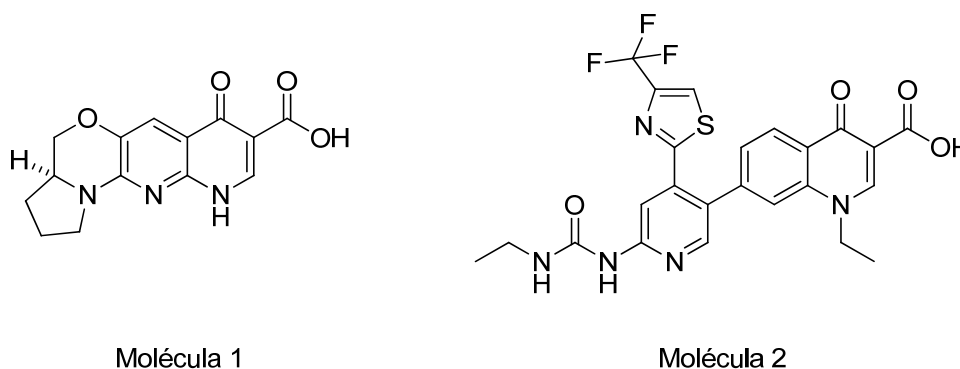
45 Fung-Tome JC, Minassian B, Kolek B, Huczko E, Aleksunes L, Stickle T, Washo T, Gradelski E, Valera L, Bonner DP. Antibacterial spectrum of a novel des-fluoro(6) quinolone, BMS-284756. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2000**; *44*(12): 3351-6.

46 <http://www.clinicaltrials.gov> (última entrada 1 de abril de 2016)

47 Imamura Y, Murayama N, Okudaira N, Kurihara A, Inoue K, Yuasa H, Izumi T, Kusuhara H, Sugiyama Y. Effect of the fluoroquinolone antibacterial agent DX-619 on the apparent formation and renal clearances of 6 $\beta$ -hydroxycortisol, an endogenous probe for CYP3A4 inhibition, in healthy subjects. *Pharm. Res.*, **2013**; *30*(2): 447-57.



posición N-1, actúan principalmente mediante inhibición de la traducción genética bacteriana, que aportó una muy buena actividad antibacteriana. El compuesto más activo de la serie, una 6-desfluoroquinolona, (**Molécula 1, Figura A.8**) demostró actividad frente a *Streptococcus pneumoniae* resistente a quinolonas. Los laboratorios Astra-Zeneca, por su parte, describieron compuestos que inhibían a la GyrB-ATPasa de *Staphylococcus aureus*, aunque sólo revelaron una limitada actividad. No obstante, una 6-desfluoroquinolona de la serie (**Molécula 2, Figura A.8**) demostró actividad frente a *S. pneumoniae*.<sup>48</sup>



**Figura A.8.** Estructura química de 6-desfluoroquinolonas descubiertas recientemente.

El perfil farmacocinético que presentan las quinolonas, así como su elevada actividad antibacteriana y su amplio espectro de acción, hace que sus indicaciones terapéuticas sean muy variadas. De hecho, las quinolonas actualmente se utilizan en el tratamiento de gran número de infecciones, tanto en el ámbito hospitalario como en la práctica clínica ambulatoria.<sup>49</sup> Sin embargo, como norma general, el empleo de estos antimicrobianos debería restringirse a aquellas situaciones en las que el microorganismo presente multirresistencia, la infección se localice en tejidos poco asequibles a otros fármacos o existan contraindicaciones para utilizar otros antibacterianos. Sólo mediante el seguimiento de estos criterios será posible frenar la aparición indiscriminada de mutantes poco sensibles o resistentes y de esta manera, seguir incluyendo a estos quimioterápicos, a lo largo del tiempo, entre los antibacterianos de amplio

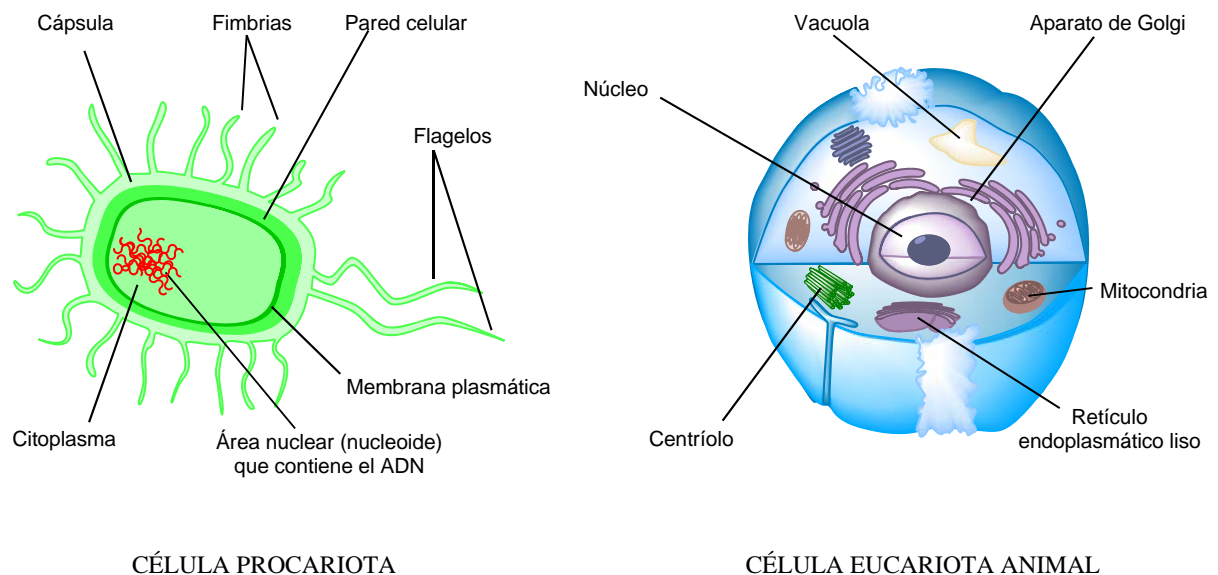
48 Wiles JA, Bradbury BJ, Pucci MJ. New quinolone antibiotics: a survey of the literature from 2005 to 2010. *Expert Opin. Ther. Pat.*, **2010**; *20(10)*: 1295-319.

49 Rotschafer JC, Ullman MA, Sullivan CJ. Optimal use of fluoroquinolones in the intensive care unit setting. *Crit. Care Clin.*, **2011**; *27(1)*: 95-106.

espectro, reservándolos, por las grandes ventajas que aportan, como alternativa a muchas terapias parenterales.<sup>33</sup>

### 1.3. MECANISMO DE ACCIÓN

La información genética de las células, tanto procariotas como eucariotas, está contenida en el ADN (ácido desoxirribonucleico). En las células eucariotas, éste se encuentra formando los cromosomas, que se encuentran en una zona específica y claramente definida llamada núcleo. En las células procariotas, al carecer de dicha estructura, el material genético se encuentra disperso en el citoplasma, reunido en una zona denominada nucleoide (**Figura A.9**). El ADN bacteriano es una doble molécula helicoidal con forma circular en su estado natural, aunque suele presentar un aspecto retorcido, a modo de banda elástica, lo que se conoce como superenrollamiento.<sup>50</sup>

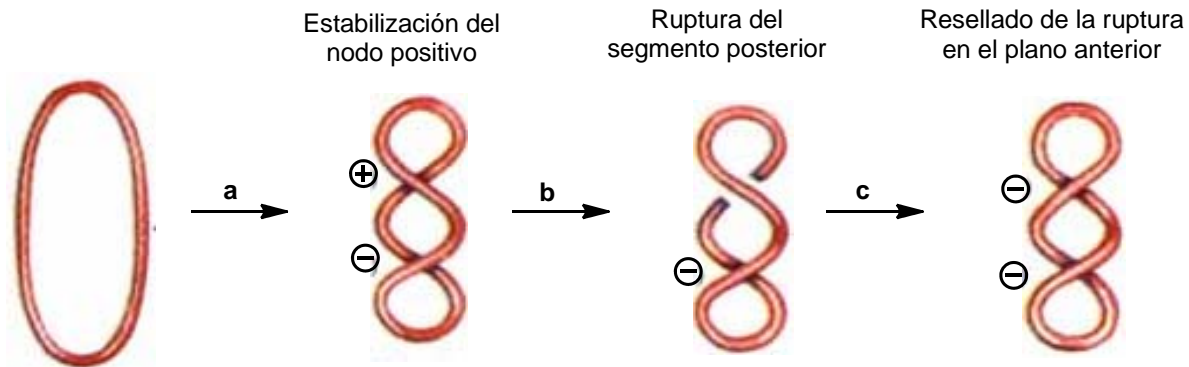


**Figura A.9.** Representación de una célula procariota y una célula eucariota animal.

El superenrollamiento es esencial para la condensación del ADN bacteriano. Esta estructura debe ser desenrollada de forma transitoria para permitir diferentes funciones como replicación, transcripción y reparación del ADN. El superenrollamiento del ADN está controlado por un grupo de enzimas llamadas topoisomerasas, que controlan y modifican el estado topológico del ADN, que es la variación del número de vueltas con que cada una de las cadenas de la doble hélice del ADN se trenza con su homóloga, mediante rupturas transitorias y posterior sellado de las hebras (**Esquema A.2**). Existen dos tipos de topoisomerasas, dependiendo de si actúan en una hebra (tipo I,

<sup>50</sup> Drlica K, Hiasa H, Kerns R, Malik M, Mustaev A, Zhao X. Quinolones: action and resistance updated. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2009; 9(11): 981-98.

topoisomerasas I y III) o en ambas (tipo II, topoisomerasas II y IV) del ADN. Se sabe que las quinolonas actúan sobre las topoisomerasas de tipo II.<sup>27</sup>



**Esquema A.2.** Superenrollamiento negativo del ADN bacteriano. Paso a: dos regiones de una molécula de ADN se superponen creándose un nodo positivo, y espontáneamente en otro lugar de la molécula se crea un nodo negativo de forma compensatoria. Paso b: la girasa (topoisomerasa de tipo II) corta ambas hebras de un segmento de ADN, el otro segmento pasa a través del corte, el cual se vuelve a sellar (paso c), generando dos nodos negativos (superenrollamiento negativo).<sup>51</sup>

### 1.3.1. TOPOISOMERASAS DE TIPO I

Las topoisomerasas de tipo I son enzimas monoméricas capaces de catalizar la relajación del superenrollamiento negativo del ADN al producir cortes transitorios en una de las hebras del ADN en ausencia de ATP (adenosín trifosfato). En células de mamíferos las topoisomerasas de este tipo resultan esenciales para el crecimiento y la división celular *in vivo*.<sup>52</sup>

- La topoisomerasa I fue la primera en descubrirse en *E. coli*. Inicialmente conocida como proteína omega, está implicada en la eficacia de la replicación y transcripción del ADN.<sup>53</sup>
- La topoisomerasa III puede actuar como ARN (ácido ribonucleico) topoisomerasa, catalizando la interconversión del ARN circular y anudado; por ello se cree que esta topoisomerasa juega un papel importante en la

<sup>51</sup> Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry 4<sup>th</sup> edition*; WH Freeman & Co.: New York, 2005.

<sup>52</sup> Li W, Wang C. Mammalian DNA topoisomerase III $\alpha$  is essential in early embryogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95(3): 1010-3.

<sup>53</sup> Di Nardo S, Voelkel KA, Sternglanz R, Reynolds AE, Wright A. *Escherichia coli* DNA topoisomerase I mutants have compensatory mutations in DNA gyrase genes. *Cell*, 1982; 31(1): 43-51.

topología molecular del ARN. Además, ayuda a las helicasas de la familia RecQ en ciertos procesos de reparación.<sup>54</sup>

Los inhibidores de las topoisomerasas de tipo I no han llegado a ser muy significativos en terapia antimicrobiana, ya que la pérdida de estas enzimas puede compensarse por alteración en los genes de las topoisomerasas de tipo II. No obstante, sí han tenido relevancia en la terapia anticancerígena, como es el caso de la camptotecina, un inhibidor de la topoisomerasa I eucariótica.<sup>50</sup>

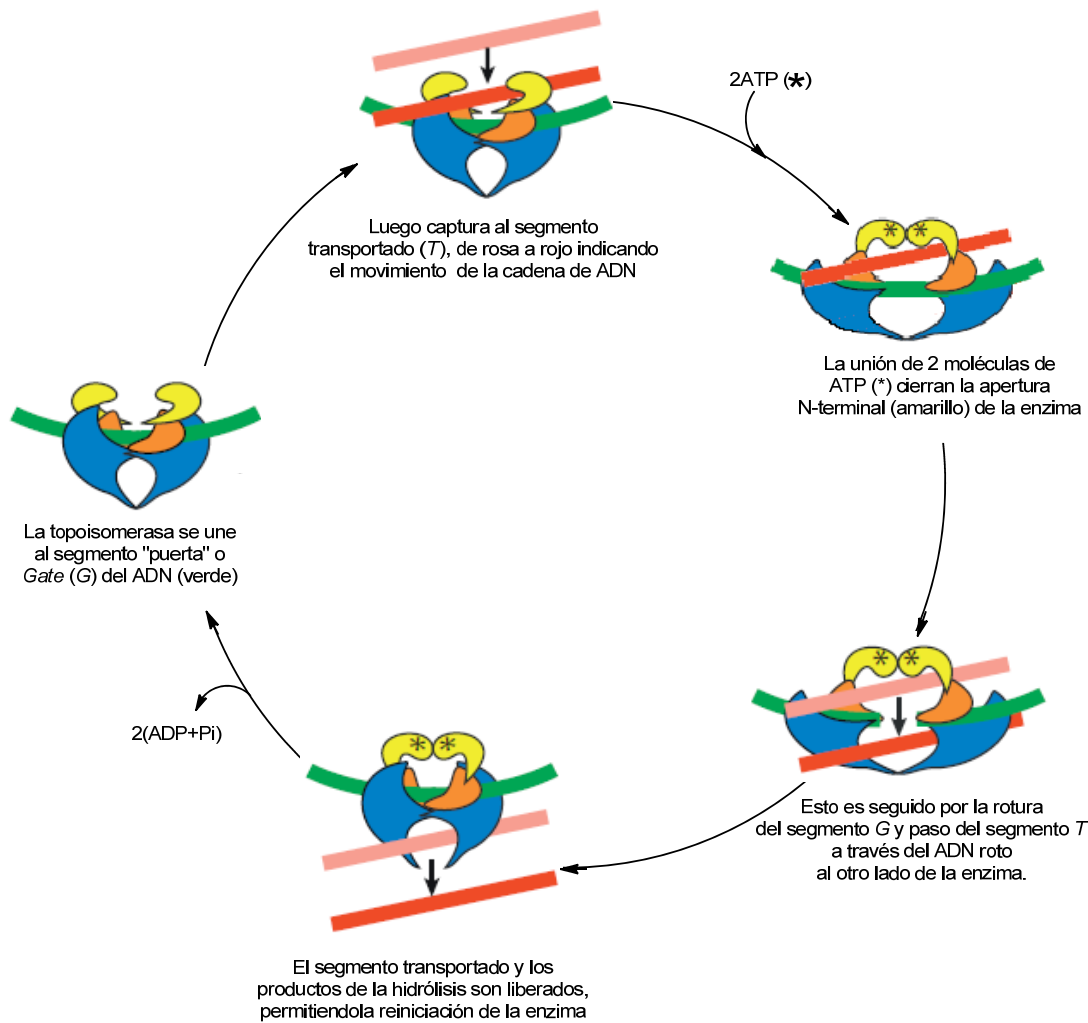
### 1.3.2. TOPOISOMERASAS DE TIPO II

Las topoisomerasas de tipo II son enzimas tetraméricas que cortan de manera transitoria las dos hebras en sitios específicos del ADN. Su mecanismo de acción se resume en el **Esquema A.3**.

- La topoisomerasa II o ADN girasa está formada por dos monómeros A (GyrA) en la parte inferior y dos monómeros B (GyrB) en la parte superior. La topoisomerasa II produce un superenrollamiento de la molécula y posteriormente sella dicha ruptura, catalizando el superenrollamiento negativo del ADN, esencial para la relajación del estrés torsional acumulado durante la replicación. Existe una secuencia de 7 aminoácidos, Glu-Arg-Arg-Gly-Gly-Lys-Arg, denominado *GyrA-box*, que es exclusiva de la región C-terminal de los GyrA. Una eliminación o sustitución por alanina en esta secuencia anula la habilidad de la girasa de envolverse sobre sí misma y catalizar el superenrollamiento del ADN, ya que se vio que mutantes con estas modificaciones perdían su capacidad de formar superenrollamientos negativos (**Figura A.10**). Así pues, dicha secuencia parece crucial para la singular actividad de la girasa.<sup>50</sup>

---

54 Hickson ID. RecQ helicasas: caretakers of the genome. *Nat. Rev. Cancer*, 2003; 3(3): 169-78.

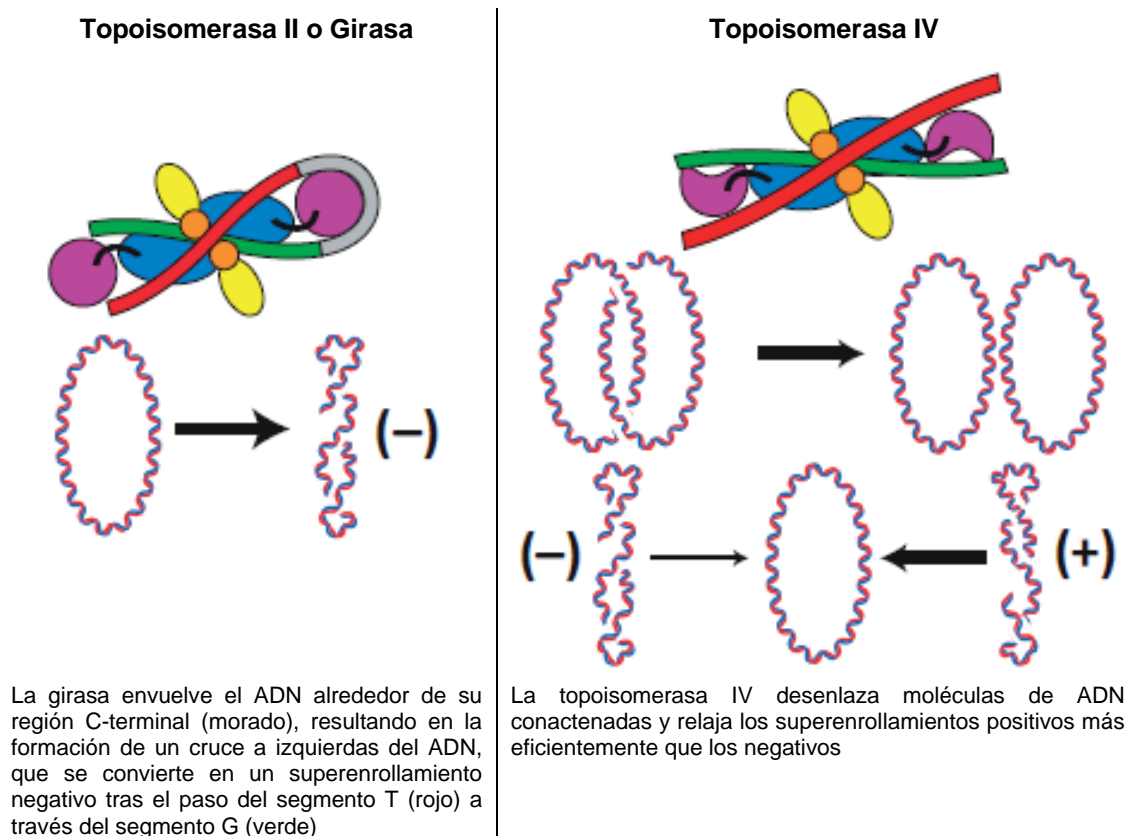


**Esquema A.3.** Mecanismo de acción de las topoisomerasas de tipo II.<sup>55</sup>

- La topoisomerasa IV está formada por dos monómeros C (ParC) y E (ParE). Los monómeros C son homólogos a los A de la girasa en aproximadamente un 36 %, mientras que los monómeros E lo son a los B en un 40 %.<sup>27</sup> Su mecanismo de acción difiere del de la girasa en que la molécula de ADN no se envuelve alrededor de la topoisomerasa IV. Esta enzima relaja los superenrollamientos del ADN (contrarrestando la acción de la girasa) y separa de forma transitoria la doble hebra durante la transcripción, facilitando la segregación de las moléculas hijas de ADN en las células hijas, completando así la división celular (**Figura A.10**). Algunos microorganismos como *Mycobacterium* spp., *Campylobacter* spp., *Corynebacterium* spp. y *Helicobacter pylori* no poseen topoisomerasa IV, y

<sup>55</sup> Neuman KC. Evolutionary twist on topoisomerases: conversion of gyrase to topoisomerase IV. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2010; 107(52): 22363-4.

se observó que la ADN girasa en *Mycobacterium smegmatis* adopta ambas funciones.<sup>56</sup> La función especializada de la topoisomerasa IV y la mayor distribución y conservación de las proteínas GyrA frente a las ParC entre los distintos microorganismos, hace suponer que estas últimas son derivadas de las primeras, y que la topoisomerasa IV evolucionó a partir de la girasa.<sup>57</sup>



**Figura A.10.** Disposición de las topoisomerasas de tipo II con respecto al ADN (vista superior) y sus distintas funciones.<sup>55</sup>

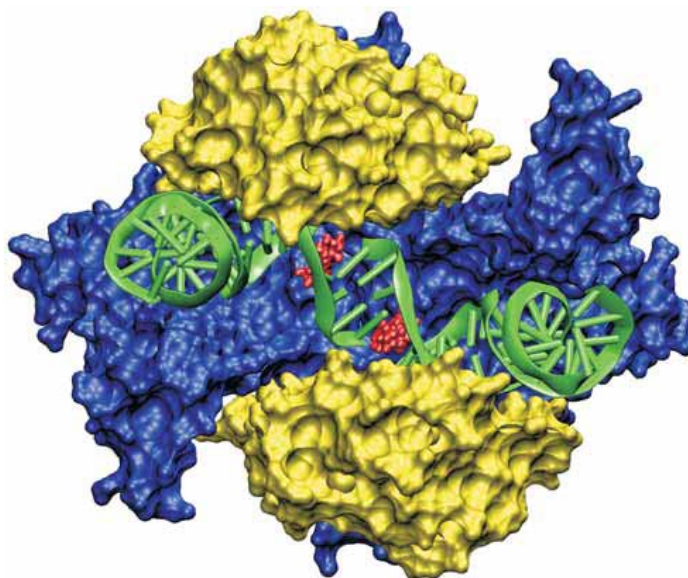
### 1.3.3. COMPLEJO TERNARIO ADN-TOPOISOMERASA-QUINOLONA

Las dianas intracelulares de las quinolonas son las topoisomerasas de tipo II. Por ello, a este grupo terapéutico se le engloba bajo la denominación de “inhibidores de la topoisomerasa.” Estos compuestos, generalmente, no inhiben las topoisomerasas de tipo II de células humanas, debido a las diferencias estructurales, ya que en humanos están formadas únicamente por dos

56 Manjunatha UH, Dalal M, Chatterji M, Radha DR, Visweswariah SS, Nagaraja V. Functional characterisation of mycobacterial DNA gyrase: an efficient decatenase. *Nucleic Acids Res.*, **2002**; *30(10)*: 2144-53.

57 Corbett KD, Schoeffler AJ, Thomsen ND, Berger JM. The C-terminal domain of DNA gyrase A adopts a DNA bending  $\beta$ -pending wheel. *J. Mol. Biol.*, **2005**; *351(3)*: 545-61.

subunidades en lugar de cuatro, que hace que su sensibilidad a quinolonas sea de 100 a 1000 veces menor. Las quinolonas atrapan a las topoisomerasas en el ADN, creando un complejo ternario ADN-topoisomerasa-quinolona (**Figura A.11**) con forma de “burbuja” monohebra, que impide el resellado de los extremos libres del ADN por parte de estas enzimas y el acceso de las horquillas de replicación a los cortes atrapados en esta “burbuja”.<sup>27</sup>



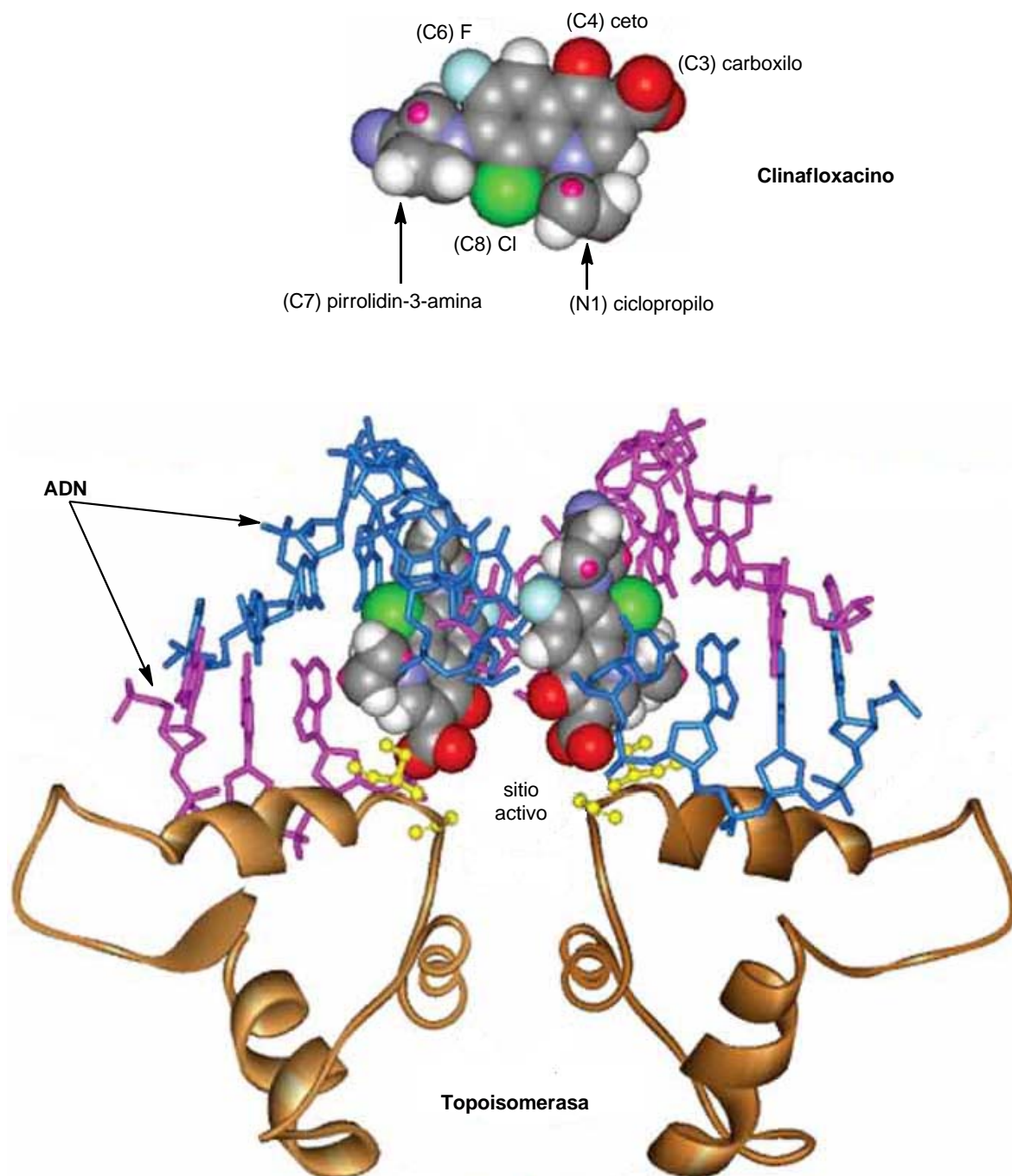
**Figura A.11.** Estructura del complejo topoisomerasa IV-moxifloxacino-ADN. Se muestran las subunidades ParC y ParE de la topoisomerasa, en azul y amarillo, respectivamente, el segmento G del ADN en verde y la quinolona en rojo.<sup>58</sup>

La estructura del complejo ternario, obtenida por cristalografía de rayos X, ha permitido demostrar que dos moléculas de quinolona se intercalan en el hueco producido por la rotura de ADN. Los sustituyentes en posición 7 de la quinolona interactúan con las bases nitrogenadas del ADN, mientras que los grupos carboxilo y ceto en posiciones 3 y 4 de la quinolona apuntan hacia el sitio activo de la topoisomerasa<sup>59</sup> (**Figura A.12**).

58 Laponogov I, Sohi MK, Veselkov DA, Pan XS, Sawhney R, Thompson AW, McAuley KE, Fisher LM, Sanderson MR. Structural insight into the quinolone-DNA cleavage complex of type IIA topoisomerases. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **2009**; *16*(6): 667-9.

59 Malik M, Marks KR, Mustaev A, Zhao X, Chavda K, Kerns RJ, Drlica K. Fluoroquinolone and quinazolinone activities against wild-type and gyrase mutant strains of *Mycobacterium smegmatis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2011**; *55*(5): 2335-43.

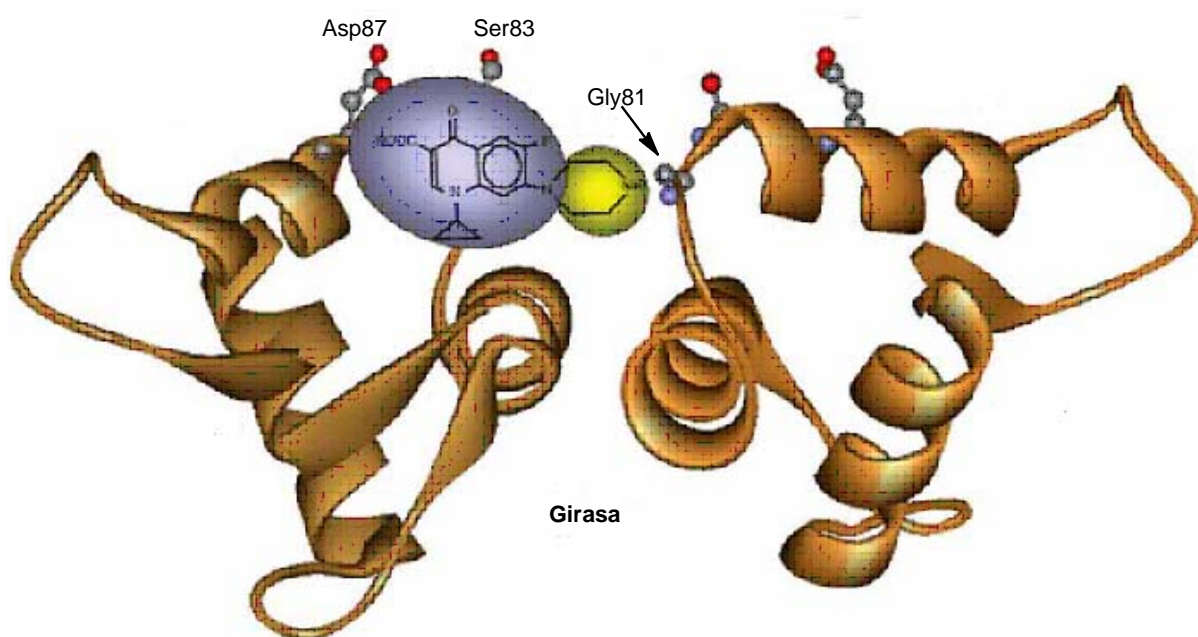




**Figura A.12.** Representación en esferas del clinafloxacino y su orientación dentro del complejo ternario ADN-topoisomerasa-quinolona.<sup>50</sup>

No obstante, se ha demostrado que existe más de un paso en el proceso de unión de las quinolonas al complejo ADN-topoisomerasa, ya que se observó la unión de estos fármacos a mutantes de la girasa y de la topoisomerasa IV con incapacidad de cortar el ADN, por tanto, antes de que se produjera la rotura del segmento *G* de ADN, por lo que el modelo anterior no sería válido. En este caso, se piensa que las quinolonas se orientan en algún momento del proceso de unión

al complejo ADN-topoisomerasa con el extremo distal del anillo en posición 7 orientado hacia el sitio activo de GyrA o ParC. De acuerdo con esta hipótesis, los grupos ceto y carboxilo de la quinolona se unirían cerca de los aminoácidos en posiciones 83 y 87 respectivamente en la girasa (80 y 84 en la topoisomerasa IV), donde se suelen producir sustituciones que inducen las resistencias más graves,<sup>50</sup> aunque no se ha podido corroborar esta hipótesis ya que las técnicas de cristalografía disponibles actualmente no han permitido el aislamiento de este complejo (**Figura A.13**).

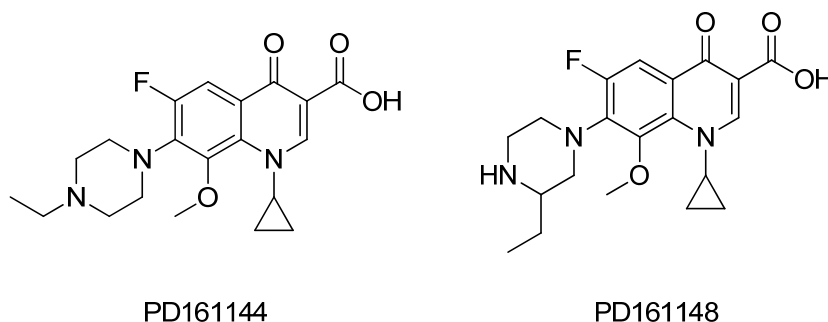


**Figura A.13.** Modelo teórico de la orientación de las quinolonas en su unión con la girasa.<sup>50</sup>

De esta forma, las quinolonas sustituidas en posición 7 con un anillo de piperacina orientarían el nitrógeno en 4 de este anillo a la glicina en posición 81 de la girasa. Esto explica porqué una mutación que sustituye el aminoácido Gly81 por Asp81 cerca del sitio activo de GyrA en *E. coli* le proporciona resistencia al ciprofloxacino (**Figura A.4**) pero no al ácido nalidíxico (**Figura A.2**), carente de anillo en la posición 7.<sup>60</sup> También se observó que una cepa de *Mycobacterium smegmatis* con una sustitución del aminoácido Gly81 por Cys81 en el sitio activo de GyrA presenta menos susceptibilidad a quinolonas que contienen un etilo

<sup>60</sup> Cambau E, Bordon F, Collatz E, Gutmann L. Novel *gyrA* point mutation in a strain of *Escherichia coli* resistant to fluoroquinolones but not to nalidixic acid. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1993; 37(6): 1247-52.

adornado al N distal del anillo en posición 7 (PD161144) que si el etilo se encuentra en otro lugar del anillo (PD161148)<sup>61</sup> (**Figura A.14**).



**Figura A.14.** Estructura química de dos fluoroquinolonas con distintos sustituyentes en posición 7.

#### 1.3.4. PREFERENCIA DE DIANA TERAPÉUTICA

Las dos dianas moleculares de las quinolonas, la girasa y la topoisomerasa IV, son parcialmente homólogas, y muchas de sus interacciones químicas con estos fármacos se asemejan. Sin embargo, la respuesta que se desencadena es diferente según la preferencia por la enzima a la que se unan, puesto que ambas enzimas tienen funciones distintas en la célula bacteriana.<sup>27</sup>

Generalmente se acepta que la diana principal en bacterias Gram negativas es la girasa, mientras que en Gram positivas suele ser la topoisomerasa IV.<sup>62</sup> Sin embargo, algunas quinolonas en determinados microorganismos no siguen esta tendencia general, desapareciendo o invirtiéndose esta selectividad enzimática. Por ejemplo, el gatifloxacino, que se une preferentemente a la topoisomerasa IV en *S. aureus*, tiene como diana la girasa en *S. pneumoniae*.<sup>26</sup>

Se piensa que es la posición 7 de la quinolona la que determina la preferencia de diana. Por ejemplo, la diana intracelular del ciprofloxacino en *S. pneumoniae* cambia de la topoisomerasa IV a la girasa por la adición de un grupo bencenosulfonilamido al anillo piperacínico en esta posición<sup>63</sup> (**Figura A.29**).

61 Sindelar G, Zhao X, Liew A, Dong Y, Zhou J, Domagala J, Drlica K. Mutant prevention concentration as a measure of fluoroquinolone potency against *Mycobacteria*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2000**; 44(12): 3337-43.

62 Higgins PG, Fluit AC, Schmitz FJ. Fluoroquinolones: structure and target sites. *Curr. Drug Targets*, **2003**; 4(2): 181-90.

63 Alovero FL, Pan XS, Morris JE, Manzo RH, Fisher LM. Engineering the specificity of antibacterial fluoroquinolones: benzenesulfonamide modifications at C-7 of ciprofloxacin change its primary target in *Streptococcus pneumoniae* from topoisomerase IV to gyrase. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **2000**; 44(2): 320-5.

Aparentemente, modificaciones en la posición 8 también alteran la diana inicial de las quinolonas. La presencia de un hidrógeno (ciprofloxacino, **Figura A.4**) o un anillo fusionado (levofloxacino, **Figura A.4**) en esta posición lleva a una mayor actividad frente a la topoisomerasa IV, mientras que un flúor (esparfloxacino, **Figura A.5**) cambia la diana principal a la girasa. También el clinafloxacino (**Figura A.6**), una 8-cloroquinolona, tiene una mayor capacidad de atacar a ambas topoisomerasas.<sup>33</sup> Un descubrimiento aún más ventajoso para el mecanismo de acción dual fue el del grupo metoxi (moxifloxacino, **Figura A.6**), que desplazó al cloro (causante de fototoxicidad) en esta posición.<sup>50</sup>

Teniendo en cuenta estos hallazgos, las nuevas quinolonas son diseñadas de modo que presenten un mecanismo de acción dual mediante el cual inhiban a ambas enzimas, una actividad mejorada frente a patógenos Gram positivos y Gram negativos, y una disminución en la selección de resistencias. Esta combinación de propiedades es muy significativa, puesto que si una quinolona puede atacar a ambas enzimas de forma simultánea, la bacteria atacada necesitará dos mutaciones, una en cada diana, para volverse resistente.<sup>50</sup>

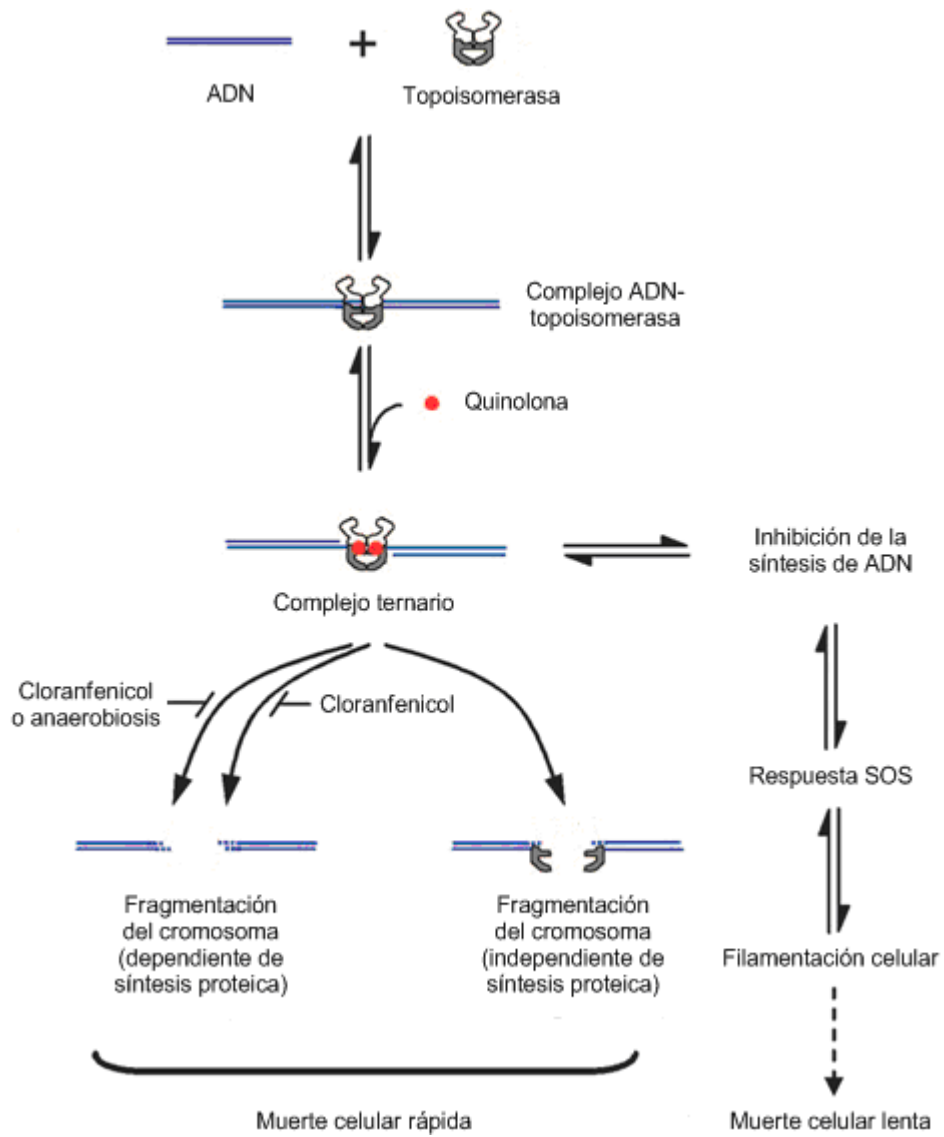
### 1.3.5. ACCIÓN BACTERIOSTÁTICA Y BACTERICIDA

Las quinolonas, al formar complejo con el ADN y la topoisomerasa, impiden el cierre de los cortes producidos en el ADN, por lo que se inhibe la síntesis del ADN mediante bloqueo de las horquillas de replicación. Éste es un proceso rápido y reversible que provoca el cese del crecimiento bacteriano y la inducción de la respuesta SOS, un proceso de autoprotección que paraliza la división celular, protegiendo la supervivencia de la bacteria (fenómeno que se puede medir por el aumento de producción de  $\beta$ -galactosidasa).<sup>50</sup> Uno de los genes inducidos es *sfiA*, que codifica un inhibidor de la división celular que activa la producción de estructuras largas y filamentosas, contribuyendo a aumentar la letalidad de las quinolonas, puesto que el grado de filamentación es máximo a las concentraciones de fármaco que provocan mayor muerte celular, y los mutantes *sfiA* que reducen la filamentación están asociados a una menor tasa de muerte celular. De todos modos, la filamentación dependiente de *sfiA* es reversible.

Siendo así, parece improbable que la filamentación sea una causa directa de muerte celular rápida.<sup>26</sup>

A dosis elevadas de antibiótico se produce una rotura irreparable de la doble hélice de ADN, que resulta ser letal debido a la liberación de fragmentos de ADN al medio celular. Atendiendo a los factores fisiológicos que se requieren en las quinolonas para que éstas ejerzan su acción bactericida, se definieron dos vías para este proceso: una dependiente y otra independiente de la síntesis proteica, que varían según la quinolona y el microorganismo considerados.<sup>50</sup>

La primera vía, común a todas las quinolonas, requiere, para actuar, que la bacteria esté multiplicándose y que presente síntesis de ARN y proteínas. Ésta es la única vía que se manifiesta en las quinolonas clásicas. La segunda vía no requiere que se produzca síntesis de proteínas en la bacteria para ejercer su efecto bactericida. La existencia de esta última vía se basa en que la administración de fluoroquinolonas en presencia de sustancias inhibidoras de la síntesis proteica (cloranfenicol) y en condiciones anaerobias, apenas alteran su efecto bactericida. Sin embargo, el norfloxacinó requiere que haya síntesis de proteínas para actuar, pero no necesita que la bacteria se esté multiplicando, puesto que en condiciones anaerobias su letalidad permanece prácticamente inalterada. La posesión de más de una vía puede explicar el hecho de que las fluoroquinolonas sean más potentes que las quinolonas clásicas, que sólo actúan a través de la vía dependiente de la síntesis proteica<sup>26</sup> (**Esquema A.4**).



Esquema A.4. Representación de la acción de las quinolonas.<sup>26</sup>

#### 1.4. MECANISMOS DE RESISTENCIA

Comparados con los niveles de resistencia de otras clases de agentes antiinfecciosos, los de las quinolonas son relativamente bajos, aunque están incrementando en los últimos años. Su uso inapropiado o la co-selección de bacterias resistentes con el uso de otros antimicrobianos son factores desencadenantes de este incremento,<sup>64</sup> pero no son los únicos causantes. El uso de antibióticos en ganadería o agricultura, con fines terapéuticos o como promotores de crecimiento, selecciona igualmente resistencias que posteriormente pueden diseminarse al ser humano.<sup>27</sup>

Como se ha explicado anteriormente, para ejercer su efecto citotóxico, las quinolonas deben penetrar en el interior de la bacteria y alcanzar su diana celular (ADN girasa o topoisomerasa IV) para inducir la muerte de la célula.<sup>65</sup> Por ello, en principio, las resistencias a las quinolonas pueden deberse a mutaciones que afecten cualquier paso de este proceso (**Figura A.15**). Así, los mecanismos de resistencia bacteriana a las quinolonas pueden agruparse en tres categorías, que pueden manifestarse solas o en combinación; si bien parece que *in vivo* el aumento en el grado de resistencia a quinolonas es producto de varios mecanismos simultáneos.<sup>50</sup>

- *Resistencias por disminución de concentración intracelular del fármaco*

El acceso de las quinolonas a la célula bacteriana es mediado por difusión pasiva. El paso a través de membrana afecta al porcentaje de quinolona no ionizada. Las nuevas quinolonas, al ser más hidrófilas, pasan en parte por las porinas y en parte por la membrana, pues las clásicas sólo lo hacían a través de membrana. El peptidoglicano no presenta prácticamente dificultad de paso a las quinolonas.<sup>26</sup> En algunas bacterias, se han registrado mutaciones que llevan a un descenso en el número de porinas. En tales casos, la penetración celular de las quinolonas hidrófilas se reduce a la mitad.<sup>66</sup> Estas modificaciones se originan por

---

64 Gould CV, Fishman NO, Nachamkin I, Lautenbach E. Chloramphenicol resistance in vancomycin-resistant enterococcal bacteremia: impact of prior fluoroquinolone use?. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, **2004**; *25*(2): 138-45.

65 Madurga S, Sanchez-Céspedes J, Belda I, Vila J, Giralt E. Mechanism of binding of fluoroquinolones to the quinolone resistance-determining region of DNA gyrase: towards an understanding of the molecular basis of quinolone resistance. *Chem. Bio. Chem.*, **2008**; *9*(13): 2081-6.

66 Nikaido H. The role of outer membrane and efflux pumps in the resistance of gram-negative bacteria. Can we improve drug access?. *Drug Resist. Updat.*, **1998**; *1*(2): 93-8.

alteraciones de los genes que codifican los canales de las porinas, lo que reduce la entrada del quimioterápico en la bacteria. Los cambios en la sensibilidad a las quinolonas suelen acompañarse de una reducida sensibilidad a otras clases de antibióticos (sobre todo carbapenemas). Estos mutantes muestran un nivel de resistencia bajo ya que la entrada de fármaco no es completamente bloqueada, de modo que la aparición de resistencias clínicamente significativas suele ocurrir en combinación con otros mecanismos de resistencia.<sup>33</sup>

En otros casos se ha demostrado que algunos transportadores endógenos activos, esenciales en la fisiología general de la bacteria, expulsan quinolonas desde el medio intracelular al extracelular. Éstos se encuentran en la membrana interna, periplasma y membrana externa. La sobreexpresión de estas proteínas de secreción se ha documentado en numerosas cepas bacterianas. Este proceso de expulsión es importante, ya que puede permitir que las bacterias sobrevivan durante un corto período de tiempo y desarrollen resistencias por medio de mutaciones en los lugares clave de los genes de las dianas de las quinolonas. Los sustituyentes voluminosos en la posición 7 de la quinolona provocan una reducción en el transporte de quinolonas por las proteínas de secreción.<sup>33</sup>

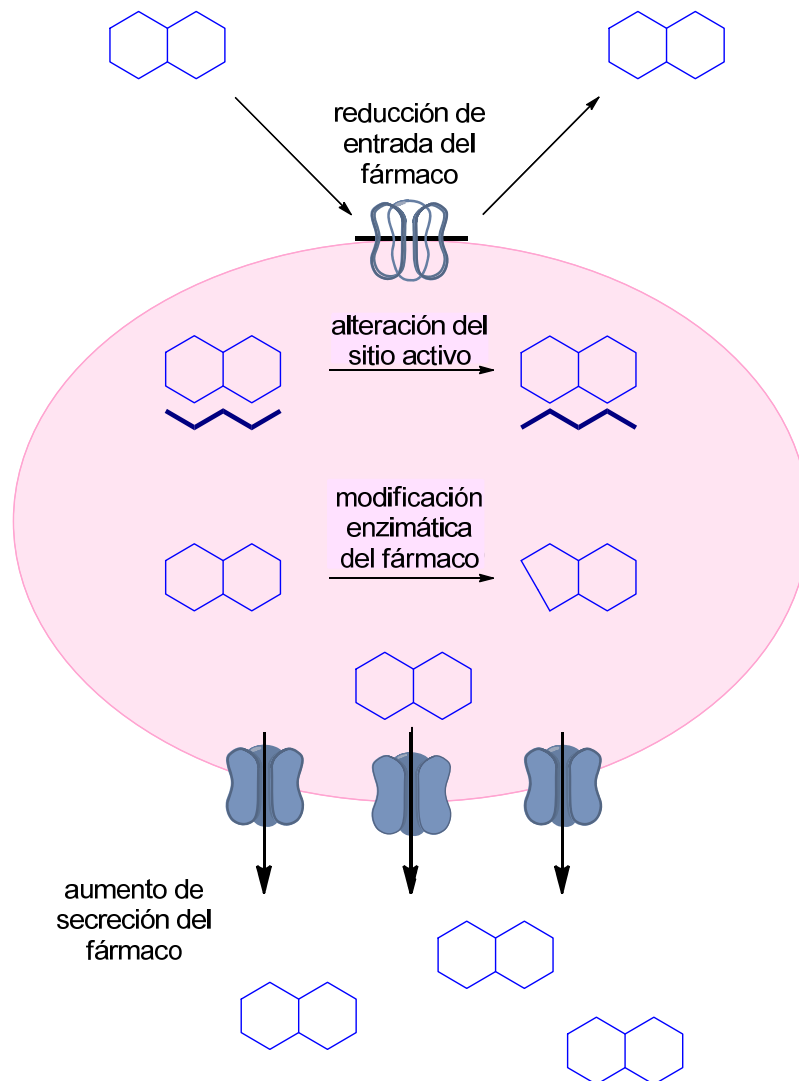
- *Resistencias por alteración del sitio activo*

Las mutaciones en las topoisomerasas suelen darse en una región concreta que se denomina QRDR, *región determinante de la resistencia a quinolonas* (del inglés "Quinolone Resistance-Determining Region"), que corresponde al dominio unido al ADN durante el funcionamiento de la enzima. El resultado de estas mutaciones es una reducida afinidad de las topoisomerasas por el fármaco,<sup>33</sup> aunque este efecto puede variar entre especies bacterianas. Estas alteraciones suelen cursar con la sustitución de un aminoácido polar por uno no polar en la enzima, interfiriendo con el anclaje de la quinolona.<sup>27</sup> Las mutaciones en GyrA y ParC por sí solas son suficientes para causar una resistencia significativa, mientras que las encontradas en GyrB y ParE amplifican este efecto siempre que los primeros hayan sido previamente alterados.<sup>50</sup>



- *Resistencias por modificación enzimática del fármaco*

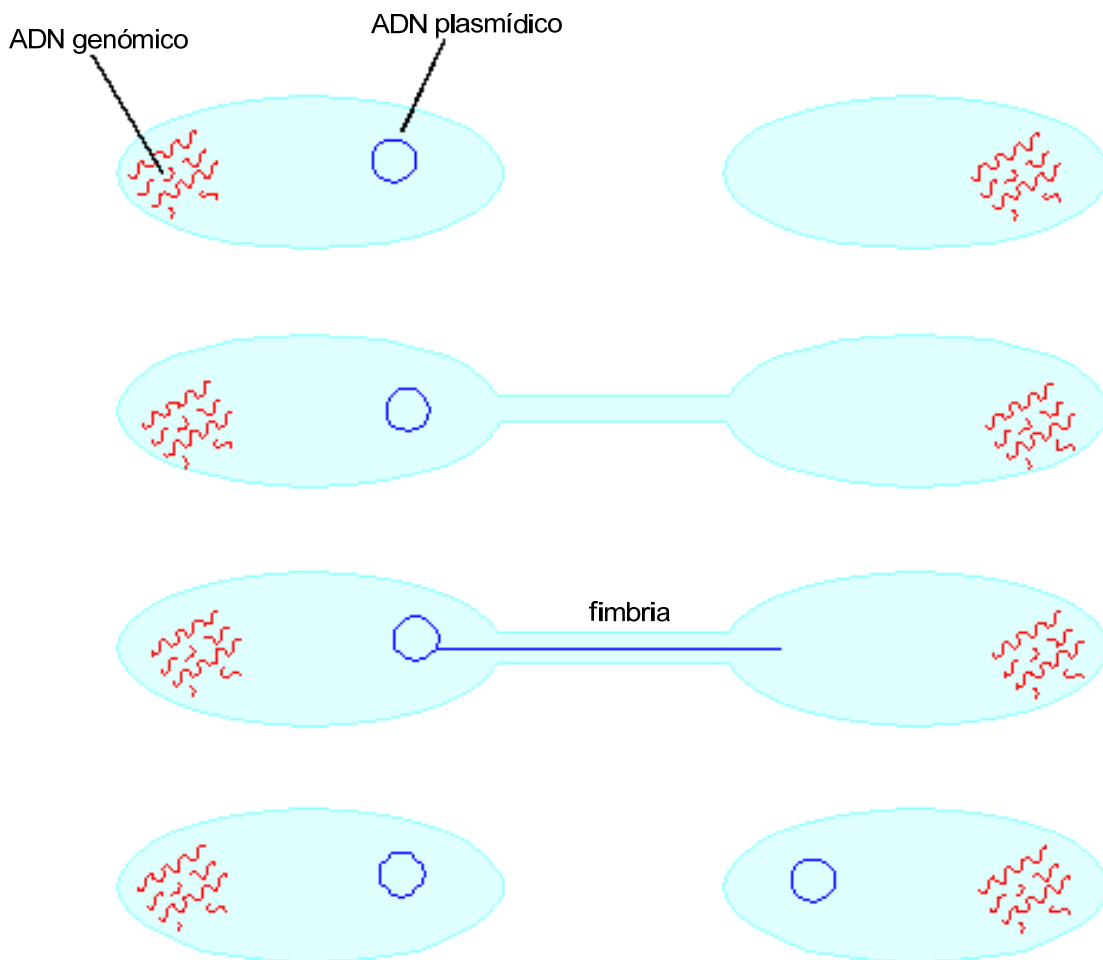
Se descubrió la existencia de la enzima Aac (6')-Ib-cr, que inactiva compuestos como el ciprofloxacino al acetilar el átomo de nitrógeno libre del anillo piperacínico en la posición 7. No obstante, no ejerce efecto alguno sobre quinolonas que carecen de nitrógeno libre en dicho anillo.<sup>50</sup>



**Figura A.15.** *Mecanismos de resistencia a quinolonas.*

La mayoría de las mutaciones se hallan en segmentos definidos de los genes que codifican a la ADN girasa (*gyrA* y *gyrB*) y a la topoisomerasa IV (*parC* y *parE*). Dichas mutaciones son probablemente el resultado de errores de transcripción acaecidos durante la replicación cromosómica, hecho que ocurre cada  $10^6$  ó  $10^9$  bacterias en cepas salvajes.<sup>33</sup>

No obstante, se han identificado tres formas de resistencia mediada por plásmidos. Los plásmidos son elementos genéticos que se autorreplican independientemente del cromosoma bacteriano, están constituidos de ADN de doble cadena, son circulares y su tamaño varía entre  $10^3$  a  $10^6$  pares de bases (**Figura A.16**). No contienen genes esenciales pero sí le confieren habilidades útiles a las bacterias en circunstancias específicas, como por ejemplo, resistencia a antimicrobianos.<sup>67</sup>



**Figura A.16.** Tras establecerse el puente de conjugación entre ambas bacterias, el ADN plasmídico es cortado y copiado mientras se transfiere a la bacteria receptora.

En la primera forma de resistencia mediada por plásmidos está implicada la proteína Qnr (218 aminoácidos), que interfiere con el anclaje de la quinolona al complejo ternario. La unión de Qnr a las dos enzimas es específica y no requiere la presencia de quinolona, ADN o ATP. Esta proteína también inhibe la actividad

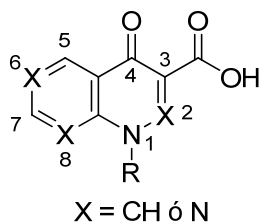
<sup>67</sup> Sanders CC. Mechanisms responsible for cross-resistance and dichotomous resistance among the quinolones. *Clin. Infect. Dis.* 2001; 32(Suppl. 1): S1-8.

de superenrollamiento de la girasa y altera la unión ADN-girasa. La segunda implica la enzima Aac (6')-Ib-cr, mencionada anteriormente. La tercera y menos común implica a una bomba de secreción codificada por el gen *qepA*. La CMI de quinolonas hidrófilas, como norfloxacino y ciprofloxacino, es diez veces mayor en bacterias con plásmidos que en aquellas carentes de ellos.<sup>50</sup>

Este tipo de resistencias son doblemente amenazadoras para la eficacia de las quinolonas. Primero, porque los plásmidos pueden transmitir resistencia a múltiples antimicrobianos, permitiendo que la resistencia a quinolonas sea seleccionada por el uso de otra clase de antibióticos, y viceversa. Segundo, porque los plásmidos pueden introducir determinantes de resistencia en bacterias con mucha mayor frecuencia que la que se da debido a mutaciones espontáneas. La consecuencia es que las infecciones causadas por patógenos con plásmidos resistentes necesitan ser tratados con una concentración de fármaco elevada.<sup>50</sup>

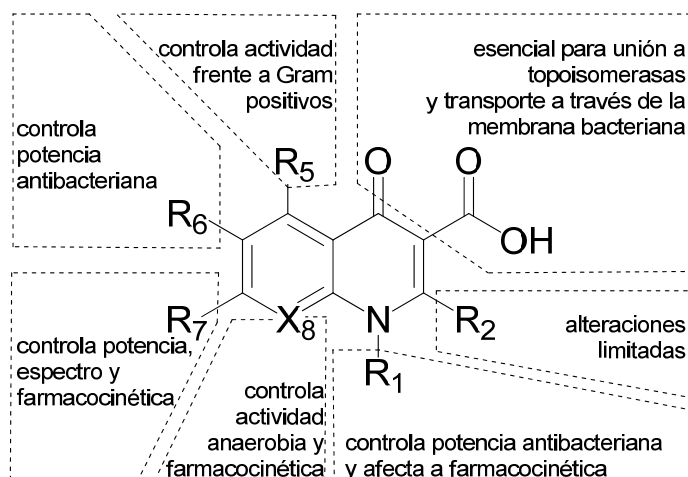
### 1.5. RELACIÓN ENTRE LA ESTRUCTURA Y LA ACTIVIDAD (REA)

Como se ha indicado anteriormente, el nombre de quinolonas incluye cuatro grupos estructurales diferentes (**Figura A.1**), derivados de la estructura general que se muestra en la siguiente figura.



**Figura A.17.** Estructura general de las quinolonas.

El desarrollo de estos antimicrobianos se ha visto favorecido por la posibilidad de realizar sustituciones en todas sus posiciones, salvo la 3 y la 4 que, como veremos más adelante, son constantes. Todas estas modificaciones dan lugar a variaciones en la selectividad y eficacia de las quinolonas frente a los distintos microorganismos y a modificaciones en las propiedades farmacocinéticas, la toxicidad y las interacciones con otros fármacos (**Figura A.18**). Aunque algunas propiedades antibacterianas se pueden asociar con algunos sustituyentes, hay que pensar que la molécula actúa en conjunto y que la adecuada sustitución en una posición, puede venir determinada por la presencia o no de un determinado grupo en otra.<sup>21</sup>

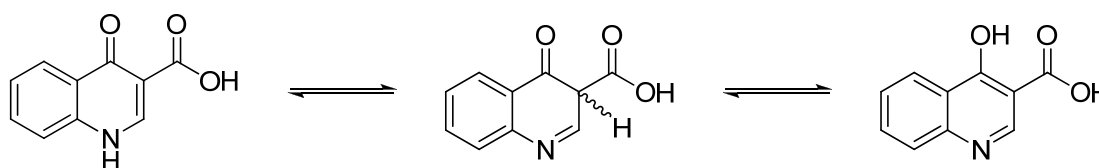


**Figura A.18.** Influencia de los diferentes sustituyentes sobre la actividad, farmacocinética y toxicidad de las quinolonas.<sup>68</sup>

68 Domagala JM. Structure-activity and structure-side-effect relationships for the quinolone antibacterials. *J. Antimicrob. Chemother.*, 1994; 33(4): 685-706.

- *Sustituciones en la posición 1*

El carácter hidrofóbico de las sustituciones en la valencia libre del nitrógeno de la posición 1 es esencial para la actividad antimicrobiana, las características farmacocinéticas, el control de la interferencia con el metabolismo de las xantinas y la genotoxicidad de la quinolona.<sup>21</sup> Además, como se comentará más adelante, la ausencia de sustituyente en esta posición posibilita la tautomerización de las quinolonas afectando a su capacidad de unión con su diana biológica a través de los sustituyentes en 3 y 4 (**Figura A.19**).



**Figura A.19.** Formas tautómeras de una quinolona sin sustituyente en 1.

Las primeras quinolonas presentaban grupos alifáticos no ramificados, pequeños y polares, de los que el etilo (ácido nalidíxico y ácido pipemídico, **Figuras A.2** y **A.3**, respectivamente) resultó el más útil. Otras etilquinolonas son norfloxacin, pefloxacin y enoxacin (**Figura A.4**). Posteriormente, la adición de grupos más voluminosos dio lugar a un aumento de la actividad antimicrobiana.<sup>21</sup>

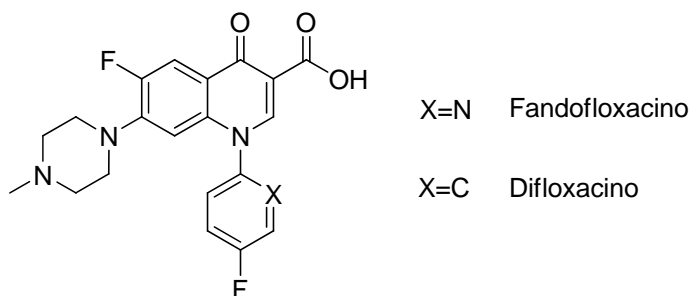
El grupo ciclopropilo, materializado por primera vez en el ciprofloxacino (**Figura A.4**) es considerado la modificación de elección frente a Gram negativos. La mayoría de las quinolonas desarrolladas presenta este sustituyente. Tanto el etilo como el ciclopropilo producen un aumento en la interferencia con el metabolismo de las xantinas. El sitafloxacino (**Figura A.6**) posee un flúor unido al ciclopropilo, que no es más activo pero sí menos genotóxico que su análogo no fluorado.<sup>69</sup>

Otras como tosufloxacino, temafloxacino (**Figura A.5**) y trovafloxacino (**Figura A.6**) presentan un 2,4-difluorofenilo que mejora la farmacocinética y la actividad frente a anaerobios y Gram positivos, sobre todo frente a *Streptococcus pneumoniae*, debido a que este grupo desempeña un papel importante en la

<sup>69</sup> Domagala JM, Hagen SE. Structure-activity relationships of the quinolone antibacterials in the new millenium: some things change and some do not (págs. 3-18). En: Hooper DC, Rubinstein E, eds. *Quinolone Antimicrobial Agents 3<sup>rd</sup> edition*; ASM Press: Washington DC, 2003.

expresión del efecto postantibiótico y el efecto bactericida. Además, junto con el fluoroetilo (floxacin, **Figura A.5**), disminuye el grado de interferencia con el metabolismo de las xantinas en un 10-25 % en comparación con el ciclopropilo o el etilo.<sup>21</sup> Desafortunadamente, los agentes con el grupo 2,4-difluorofenil en esta posición vienen acompañados de neurotoxicidades poco comunes pero severas, que fueron difíciles de detectar en los ensayos clínicos.<sup>69</sup>

En un intento por mejorar este sustituyente, se dio con un derivado que contenía una fluoropiridina en esta posición, el fandofloxacin (**Figura A.20**), que aunque poseía una actividad *in vitro* mucho menor que el ofloxacin, se acercaba a su actividad *in vivo*, lo que da una idea de las excelentes propiedades farmacocinéticas de este grupo. Un antecesor benéfico de este compuesto, el difloxacin, tiene una actividad *in vivo* similar al ciprofloxacino y ofloxacin. Ambos compuestos demuestran una farmacocinética similar en estudios monodosis en humanos. Por ejemplo, tras la administración de 200 mg de fármaco, la semivida del fandofloxacin fue de 20,6 h, casi idéntica a las 21,6 h del difloxacin.<sup>69</sup>



**Figura A.20.** Estructuras de fandofloxacin y difloxacin.

Finalmente, la presencia de un *terc*-butilo asociado con un metoxi en C-8, aumenta la actividad frente a las micobacterias,<sup>69</sup> y especialmente activo *in vitro* frente a Gram positivos, pero no es muy estable en soluciones ácidas, de modo que ningún ejemplo llegó a probarse en la clínica.<sup>27</sup>

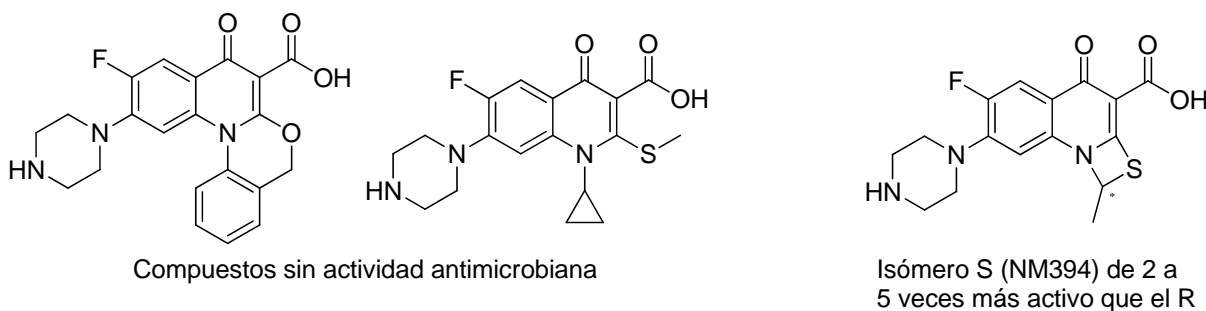
La presencia de un ciclopropilo implica moléculas con mayor citotoxicidad, seguida de aquellas que presentan un *terc*-butilo, un 2,4-difluorofenilo y finalmente un grupo etilo.<sup>21</sup> Sin embargo la presencia de otros radicales en otras posiciones va a influir en los efectos de esta sustitución. Los problemas de

toxicidad con respecto al 2,4-difluorofenilo, aunque inexplicados, prácticamente han eliminado los derivados que lo contienen como agentes antibacterianos potenciales. Así pues, el ciclopropilo (fluorado o no) se mantiene como el sustituyente de elección.<sup>69</sup>

▪ *Sustituciones en la posición 2*

Esta posición está íntimamente ligada al lugar de unión al complejo ADN-enzima por su proximidad a las posiciones 3 y 4. Puesto que la presencia de sustituyentes voluminosos inhibiría el acceso al lugar de unión, se intentó introducir sustituyentes de pequeño volumen, dando compuestos inactivos (**Figura A.21**). Es posible que la base de este fenómeno sea el hecho de que los grupos carboxilo y oxo en posiciones 3 y 4, respectivamente, necesiten ser coplanares para unirse de forma efectiva al complejo. El déficit estérico que presumiblemente provoca las sustituciones en esta posición pudo superarse en parte con la introducción de anillos que conectaran C-2 y N-1.<sup>27</sup> Intentos por introducir un oxígeno en C-2 como parte de este nuevo anillo heterocíclico resultaron en análogos inactivos<sup>69</sup> (**Figura A.21**).

Los únicos sustituyentes con cierto éxito han sido anillos que contienen azufre, como en el compuesto NM394 (**Figura A.21**). Como cabía esperar, la quiralidad del grupo metilo en el anillo N-1/C-2 es importante, siendo el isómero (S) de 2 a 5 veces más activo *in vitro*, aunque su eficacia *in vivo* fue baja. Por estas razones, estos compuestos sirven para poco más que mera curiosidad. Finalmente se ha concluido que el carbono unido a hidrógeno es la mejor opción y es la que presentan la práctica totalidad de las quinolonas.<sup>69</sup>

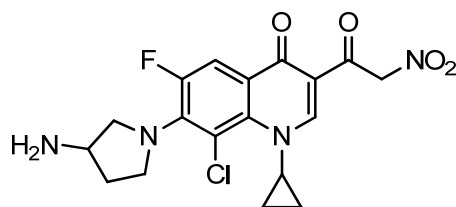


**Figura A.21.** *Quinolonas sustituidas en posición 2.*

- *Sustituciones en las posiciones 3 y 4*

Los sustituyentes en las posiciones 3 y 4 deben ser un grupo carboxilo y un grupo oxo, respectivamente, puesto que son esenciales para el transporte al interior de la bacteria y para la unión con las topoisomerasas. Es el lugar en el que las quinolonas se unen mediante puentes de hidrógeno al complejo ADN-enzima. A su vez, estos dos grupos son los responsables de la disminución en la absorción oral cuando se administran junto con fármacos o alimentos que contienen iones calcio, magnesio, aluminio o hierro, ya que forman complejos estables con ellos, pudiendo conducir a fracasos en el tratamiento.<sup>21</sup>

La necesidad de que ambos sustituyentes se encuentren siempre en el mismo plano ofrece uno de los principales motivos para la alquilación del nitrógeno en posición 1. De no ser así, el anillo 4-piridona enoliza principalmente a la forma 4-hidroxipiridina (**Figura A.19**), y los análogos de este tipo producen la muerte de células eucariotas.<sup>27</sup> No obstante, aisladamente, sí se ha encontrado algún derivado con cambios en la posición 3 por otros grupos ácidos como el nitroacetilo (**Figura A.22**), que exhiben una excelente actividad *in vitro* frente a *S. aureus* (0,025 mg/l) y *E. coli* (0,013 mg/l).<sup>69</sup>



**Figura A.22.** Estructura química de una 3-nitroacetilquinolona.

- *Sustituciones en la posición 5*

Los sustituyentes en esta posición, al igual que en la posición 2, influyen alterando el impedimento estérico de la molécula, afectando a su actividad.<sup>21</sup> Los grupos pequeños y polares son bien tolerados e incrementan la potencia. Sólo los grupos -CH<sub>3</sub>, -OH y -NH<sub>2</sub>, en orden creciente, han demostrado mayor actividad *in vitro* que el hidrógeno. Por el contrario, la presencia de grupos voluminosos, halógenos y el grupo metoxilo, disminuyen notablemente la actividad intrínseca de la molécula, posiblemente por interacción con las posiciones 3 y 4.<sup>69</sup> Sin embargo, la influencia del sustituyente de esta posición depende en gran parte de



las sustituciones en 1, 7 y 8.<sup>34</sup> Además, los sustituyentes halogenados contribuyen significativamente a aumentar la fototoxicidad.<sup>27</sup> Según la naturaleza del sustituyente, la fototoxicidad se ordena de la siguiente manera: halógenos > metilo > hidrógeno > amino.<sup>21</sup> Por otro lado, los sustituyentes amino y metilo en esta posición también se han relacionado con genotoxicidad.<sup>69</sup>

▪ *Sustituciones en la posición 6*

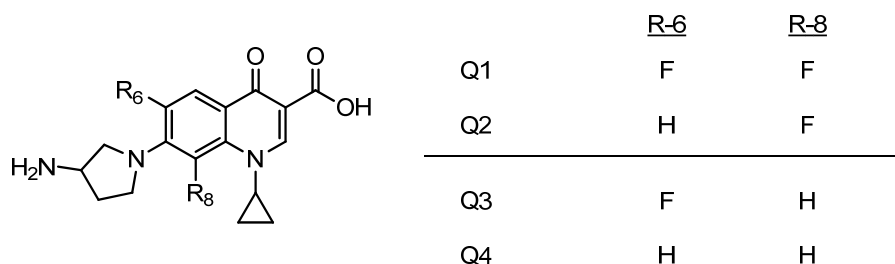
Los primeros sustituyentes en esta posición se limitaban a un puente metilendioxi con el carbono 7, como en el ácido oxolínico, miloxacino y cinoxacino (**Figura A.3**); un hidrógeno, como en el ácido nalidíxico (**Figura A.3**) y rosoxacino (**Figura A.3**); y un nitrógeno en vez de carbono, que impide la sustitución en esta posición, como en los ácidos pipemídico y piromídico (**Figura A.3**). El flumequino (**Figura A.3**) fue el primer compuesto en contar con un átomo de flúor (poseedor de singulares parámetros electrónicos, lipofílicos y estéricos),<sup>70</sup> y sentó las bases sobre cómo las modificaciones estructurales podían mejorar la actividad frente a Gram positivos. Este simple cambio mejoró la inhibición de la girasa en enoxacino y norfloxacino (**Figura A.4**) de 15 a 18 veces, la penetración celular de 3 a 4 veces y redujo de 10 a 100 veces la CMI con respecto a sus derivados 6-hidrogenados.<sup>69</sup> No obstante, todo indica que el átomo de flúor en esta posición tiene cierta influencia sobre la genotoxicidad y efectos adversos sobre el sistema nervioso central (SNC) observados en algunas fluoroquinolonas.<sup>27</sup>

En 1992, Ledoussal et al. advirtieron que no era necesaria la presencia del flúor en posición 6.<sup>71</sup> Para ello, sintetizaron y estudiaron la actividad *in vitro* de cuatro quinolonas que estructuralmente sólo se diferenciaban en el número de átomos de flúor y en su posición (**Figura A.23, Q1-Q4**). Observaron que la quinolona más potente **Q1**, con dos átomos de flúor en las posiciones 6 y 8, apenas perdía actividad cuando se eliminaba este átomo de la posición 6 (**Q2**). Sin embargo, cuando se partía de una quinolona, algo menos potente que la **Q1**, con tan sólo un átomo de flúor en la posición 6 (**Q3**), la eliminación del mismo (**Q4**)

70 Filler R, Saha R. Fluorine in medicinal chemistry: a century of progress and a 60-year retrospective of selected highlights. *Future Med. Chem.*, **2009**; *1(5)*: 777-91.

71 Ledoussal B, Bouzard D, Coroneos E. Potent non-6-fluoro-substituted quinolone antibacterials: synthesis and biological activity. *J. Med. Chem.*, **1992**; *35(1)*: 198-200.

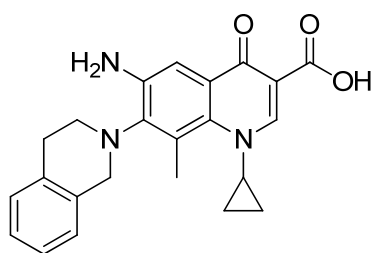
iba acompañada de una gran pérdida de actividad, rompiéndose con la creencia de que el átomo de flúor en posición 6 era esencial para un amplio espectro:



Actividad Q1 > Actividad Q3 || Actividad Q1 ≈ Actividad Q2 || Actividad Q3 > Actividad Q4

**Figura A.23.** Estudio sobre la influencia del flúor en posición 6.

Armados con estos nuevos datos, varios grupos reevaluaron las relaciones estructura-actividad de nuevas 6-desfluoroquinolonas. En un primer acercamiento, Cecchetti et al. examinaron una serie de 6-aminoquinolonas. La optimización en las posiciones 5, 7 y 8 resultó en la tetrahidroisoquinolona MF 1537<sup>72</sup> (**Figura A.24**), con una actividad frente a Gram positivos de 8 a 62 veces mayor que el ciprofloxacino (**Figura 1.4**), aunque su actividad frente a Gram negativos fue menos interesante. No obstante, cuando fue probado *in vivo*, no mejoró la farmacocinética (fue menos activo de lo que cabría esperar por su CMI), pero sí redujo los efectos adversos sobre el SNC producidos en ratones en comparación con su análogo 6-hidrogenado.<sup>69</sup>

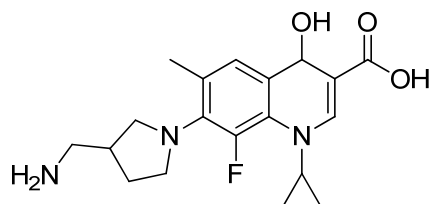


**Figura A.24.** Estructura química de la tetrahidroisoquinolona MF 1537.

Otros estudios reemplazaron el flúor por metilo en la posición 6. El mejor compuesto de esta serie fue la quinolona LB 20226 (**Figura A.25**), que era más activa que el ciprofloxacino frente a organismos Gram positivos, pero también

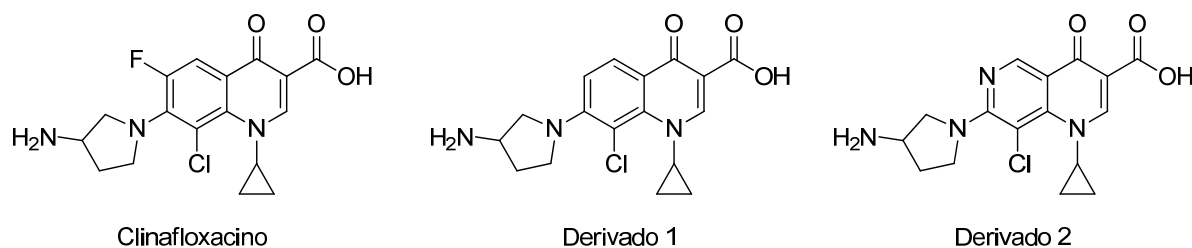
<sup>72</sup> Cecchetti V, Clementi S, Cruciani G, Fravolini A, Pagella PG, Savino A, Tabarrini O. 6-Aminoquinolones: a new class of quinolone antibacterials? *J. Med. Chem.* 1995; 38(6): 973-82.

contenía una aminometilpirrolidina en posición 7, asociada a problemas de genotoxicidad.<sup>69</sup>



**Figura A.25.** Estructura química de la 6-metilquinolona LB 20226.

Ledoussal et al. observaron que la eliminación del flúor en 6 del clinafloxacino dio lugar a un compuesto (**Figura A.26**, Derivado 1) con actividad similar, incluso a nivel enzimático.<sup>73</sup> Sin embargo, cuando Sabatini et al. sustituyeron el carbono de la posición 6 por nitrógeno, se produjo una gran pérdida de actividad<sup>74</sup> (**Figura A.26**, Derivado 2).



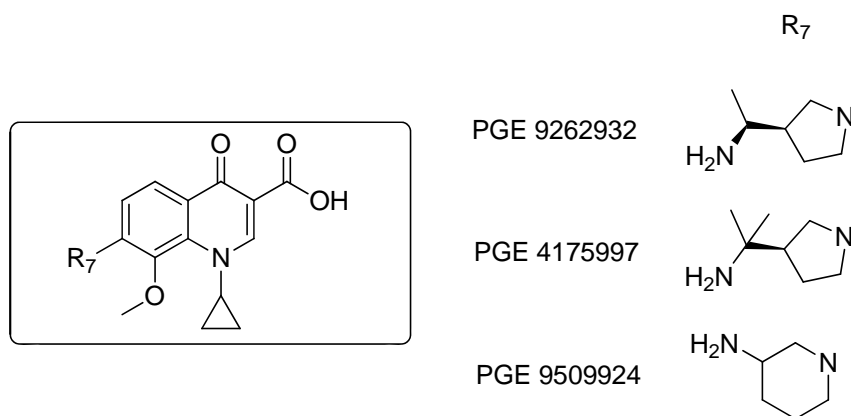
Actividad Clinafloxacino  $\approx$  Actividad Derivado 1  $\gg$  Actividad Derivado 2

**Figura A.26.** Comparación de la actividad por cambios en la posición 6 del clinafloxacino.

Varios grupos decidieron mantener el hidrógeno en posición 6 y efectuar cambios en la posición 8. Descubrieron que los sustituyentes -F, -Cl, -CH<sub>3</sub> y -OCH<sub>3</sub> eran igual de efectivos *in vitro*, pero el grupo metoxi demostró la mayor selectividad por la girasa bacteriana con respecto a la topoisomerasa eucariota. Destacaron 3 compuestos (**Figura A.27**) muy activos frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) y *Streptococcus pneumoniae* resistente al ciprofloxacino, manteniendo una actividad relevante frente a Gram negativos.<sup>69</sup> La supresión del flúor no redujo el espectro de estos compuestos<sup>21</sup> y bajó el nivel de genotoxicidad con respecto a sus análogos fluorados *in vivo*.<sup>34</sup>

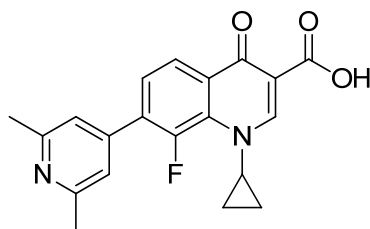
<sup>73</sup> Ledoussal B, Almstead JIK, Gray JL, Hu EX, Roychoudhury. Discovery, structure-activity relationships and unique properties of non-fluorinated quinolones (NFQs). *Anti-Infective Agents*, **2003**; *2(1)*: 13-25.

<sup>74</sup> Sabatini S, Cecchetti V, Tabarrini O, Fravolini A. 8-Methyl-7-substituted-1,6-naphthyridine-3-carboxylic acids as new 6-desfluoroquinolone antibacterials. *J. Heterocycl. Chem.*, **1999**; *36(4)*: 953-7.



**Figura A.27.** Estructura química de tres 8-metoxi-6-desfluoroquinolonas con buena actividad antibacteriana.

En 1995, Reuman et al. demostraron que se podía conectar grupos aromáticos al núcleo quinolónico para dar compuestos extremadamente activos frente a organismos Gram positivos. No se observaron cambios en la potencia del compuesto al desplazar el flúor de la posición 6 a la 8<sup>75</sup> (**Figura A.28**).



**Figura A.28.** 6-Desfluoroquinolona con sustituyente aromático en 7 descrita por Reuman.

De acuerdo con este descubrimiento, Toyama et al. eligieron un grupo aromático para su candidato clínico, T-3811, más tarde conocido como garenoxacino (**Figura A.7**), que no mostró diferencia de actividad frente a *E. coli* y *S. aureus*, pero sí una mayor especificidad con la topoisomerasa IV de *E. coli* y menor con la topoisomerasa II humana que su análogo 6-fluorado.<sup>27</sup> Cuando se varió entre los sustituyentes -H, -CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>3</sub> y -OCHF<sub>2</sub> en posición 8, el grupo metilo exhibió la mayor potencia, pero se eligió el grupo difluorometoxi por exhibir las mejores propiedades farmacocinéticas en animales, así como menor efecto sobre el SNC y menor toxicidad aguda. Este dato es importante porque se había observado que la presencia de sustituyentes aromáticos en posición 7

75 Reuman M, Daum SJ, Singh B, Wentland MP, Perni RB, Pennock P, Carabateas PM, Gruett MD, Saindane MT, Dorff PH, Coughlin SA, Sedlock DM, Rake JB, Leshner GY. Synthesis and antibacterial activity of some novel 1-Substituted 1,4-dihydro-4-oxo-7-pyridinyl-3-quinolinecarboxylic acids. Potent antistaphylococcal agents. *J. Med. Chem.*, 1995; 38(14): 2531-40.

aumentaba el riesgo de genotoxicidad. *In vitro*, su CMI<sub>90</sub> fue 32 veces menor frente a SARM que el ciprofloxacino y la mitad que el trovafloxacino (**Figura A.6**) frente al resto de Gram positivos,<sup>69</sup> siendo la quinolona comercializada más activa frente a estafilococo sensible y resistente a la meticilina (más incluso que ciprofloxacino, levofloxacino y moxifloxacino).<sup>76</sup>

▪ *Sustituciones en la posición 7*

Los sustituyentes en la posición 7 (la más versátil de todas) interactúan directamente con el complejo ADN-enzima y están asociados con propiedades como el espectro antibacteriano, la farmacocinética, las interacciones con los receptores GABA y el metabolismo de las xantinas y los efectos secundarios.<sup>21</sup>

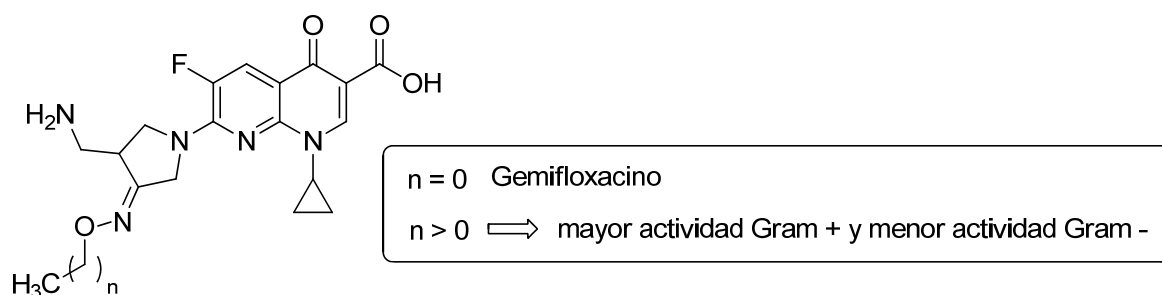
Las primeras quinolonas contaban con un grupo metilo en el caso del ácido nalidíxico (**Figura A.3**) o un puente metilendioxi con el carbono 6 en el ácido oxolínico (**Figura A.3**). Los sustituyentes más comunes de esta posición son grupos heterocíclicos nitrogenados, particularmente la piperacina y la aminopirrolidina. En general, la presencia de una piperacina (norfloxacino, levofloxacino, ciprofloxacino, **Figura A.4**) mejora la actividad frente a bacterias Gram negativas, mientras que la de una aminopirrolidina (clinafloxacino, sitafloxacino, **Figura A.6**) está asociada con mejora de la actividad frente a Gram positivos. La adición de un grupo metilo al anillo de piperacina o aminopirrolidina, al aumentar la lipofilia y basicidad de la molécula, parecen mejorar la penetración celular, así como la actividad frente a Gram positivos,<sup>34</sup> y determina una semivida de eliminación más prolongada.<sup>21</sup>

En base a este descubrimiento, se empezó a realizar distintas sustituciones en estos anillos. La adición de un ciclopropilo al anillo 3-aminopirrolidínico dio lugar al olamufloxacino (**Figura A.6**), que poseía una actividad *in vitro* similar al esparfloxacino (**Figura A.5**) frente a organismos Gram negativos y superior frente a Gram positivos.<sup>69</sup>

---

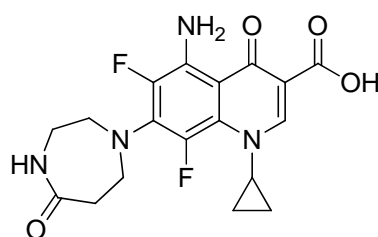
76 Fritsche TR, Sader HS, Jones RN. LEADER surveillance program results for 2006: an activity and spectrum analysis of linezolid using clinical isolates from the United States (50 medical centers). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 2007; 58(1): 19-26.

El gemifloxacino (**Figura A.6**) es un excelente ejemplo de las continuas modificaciones de anillo de pirrolidina. La metiloxima ( $\text{CH}_3\text{-O=N-}$ ) adherida a la pirrolidina aumenta de 2 a 8 veces su potencia antibacteriana. También afecta dramáticamente parámetros farmacocinéticos como el área bajo la curva y la concentración máxima en suero. En efecto, su biodisponibilidad es del 95 %, mientras que la de su análogo carente de metiloxima es del 10 %.<sup>69</sup> También se ha observado menor toxicidad en comparación con otras quinolonas comercializadas. Al aumentar la longitud de la cadena en este grupo, también lo hace la actividad frente a Gram positivos, en detrimento de la existente frente a Gram negativos<sup>34</sup> (**Figura A.29**).



**Figura A.29.** Serie homóloga al gemifloxacino, al aumentar el número de carbonos de la alquinoxima mejora la actividad frente a bacterias Gram + y empeora frente a las Gram -.

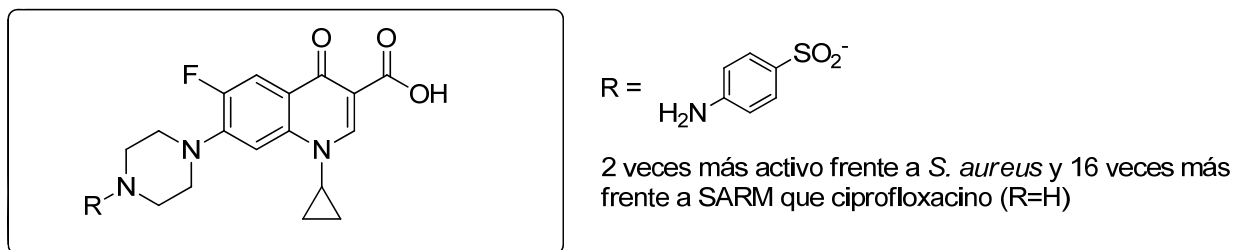
El mismo patrón de actividad se observa cuando se sustituye el anillo de 6 miembros por uno de 7 como es la perhidrodiazepinona (**Figura A.30**), al menos en análogos del esparfloxacino<sup>69</sup> (**Figura A.5**).



**Figura A.30.** Quinolona con anillo de perhidrodiazepinona en posición 7.

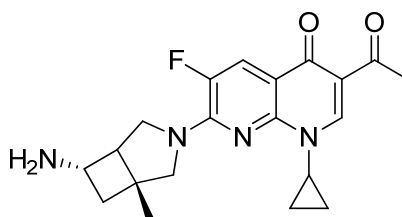
La adición de un sustituyente aminofenilsulfonil sobre en nitrógeno distal del anillo piperacínico dio lugar a un compuesto el doble de activo frente a *S. aureus* y 16 veces más frente a SARM, que su análogo ciprofloxacino con el N distal no sustituido<sup>69</sup> (**Figura A.31**), gracias a los efectos estéricos y electrónicos de dicho grupo. Estudios avanzados en *S. pneumoniae* demostraron que la

bencenosulfonamida, además de afectar la actividad frente a Gram positivos, alteraba la preferencia de diana de la topoisomerasa IV a la girasa.<sup>63</sup>



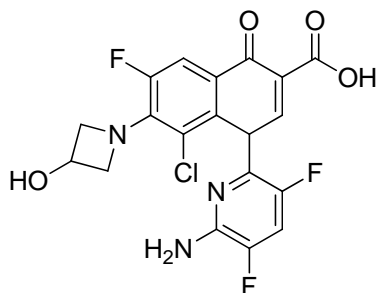
**Figura A.31.** Derivado *N*-aminofenilsulfonil del ciprofloxacino.

También se ha añadido en esta posición un segundo anillo fusionado a la pirrolidina (moxifloxacino, trovafloxacino, **Figura A.6**), mejorando la actividad frente a Gram positivos.<sup>21</sup> En concreto, el moxifloxacino (inicialmente conocido como BAY-12-8039) posee una actividad anti Gram positivos de 4 a 16 veces y una actividad anti Gram negativos entre 2 y 3 veces mayor que el ciprofloxacino. La farmacocinética también es excelente, pues sólo requiere monodosis diarias en humanos para ejercer su acción. Otro ejemplo es el del compuesto CFC-222 (**Figura A.32**), que es de 2 a 16 veces más activo que el ciprofloxacino frente a Gram positivos, pero de 2 a 4 veces menos activo frente a Gram negativos. Demostró una buena semivida en ratones, 6 h, en comparación con las 1,5 h del ciprofloxacino.<sup>69</sup>



**Figura A.32.** Estructura química de la fluoroquinolona CFC-222.

El delafloxacino, inicialmente conocido como ABT-492, difiere de otros miembros de su clase por dos características químicas: una 6-amino-3,5-difluoropiridina en la posición 1 y su anillo azetidínico en posición 7. Muestra una extraordinaria actividad frente a cocos Gram positivos sensibles y resistentes, y actualmente está en fase clínica III para tratar infecciones dérmicas y neumonía adquirida en la comunidad y gonorrea sin complicaciones<sup>46</sup> (**Figura A.33**).



**Figura A.33.** Estructura química del delafloxacin.

Generalmente, la presencia de sustituyentes voluminosos en esta posición es bien tolerada porque parece dotarle de protección frente a la resistencia mediada por bombas de eflujo, posiblemente como resultado del aumento de hidrofobia de la molécula.<sup>21</sup> Además, el aumento de masa molecular de este sustituyente no parece suponer un impedimento en la penetración celular.<sup>34</sup> También disminuirá la probabilidad de selección de mutaciones y aumentará la actividad frente a anaerobios.<sup>21</sup> Otro fenómeno relacionado con el sustituyente en la posición 7, como ocurre con la posición 8, es que va a influir en determinar la diana principal de la quinolona (girasa o topoisomerasa IV).<sup>27</sup>

La acción de las quinolonas sobre el SNC se ha relacionado con la interacción de éstas, especialmente desde la posición 7, con los receptores GABA y las xantinas. Las quinolonas que más antagonizan son las que presentan sustituyentes de menor tamaño en C-7: aminopirrolidinas (tosufloxacin, **Figura A.5**) y piperacinas (ciprofloxacino, norfloxacino, **Figura A.4**), mientras que las quinolonas con sustituyentes más voluminosos tienen menor antagonismo con el GABA.<sup>21</sup> Este efecto antagónico depende también de la penetración en el tejido nervioso y probablemente esté ligado al grado de lipofilia de los distintos sustituyentes.<sup>27</sup> Otro de los efectos relacionados con esta posición es la interferencia con algunos antiinflamatorios no esteroideos y sus metabolitos. Las quinolonas que presentan una piperacina en C-7 muestran mayor interacción con estos fármacos, mientras que aquellas con una cadena alquilada en el anillo piperacínico y un anillo aminopirrolidinil muestran una interacción mínima. Los sustituyentes en C-7 también confieren genotoxicidad a la molécula, de tal forma



que el anillo aminopirrodinil es más citotóxico que el anillo piperacinil, y éstos más que los anillos con alguna sustitución en su estructura.<sup>21</sup>

▪ *Sustituciones en la posición 8*

Los sustituyentes en la posición 8 controlan la biodisponibilidad oral, el espectro antibacteriano y también van a influir en la configuración estérica de la molécula, lo cual puede implicar un cambio en su afinidad por una u otra topoisomerasa, probablemente debido a que el cambio del impedimento estérico afecta al acceso del antimicrobiano a la enzima o a los lugares de unión del ADN.<sup>27</sup>

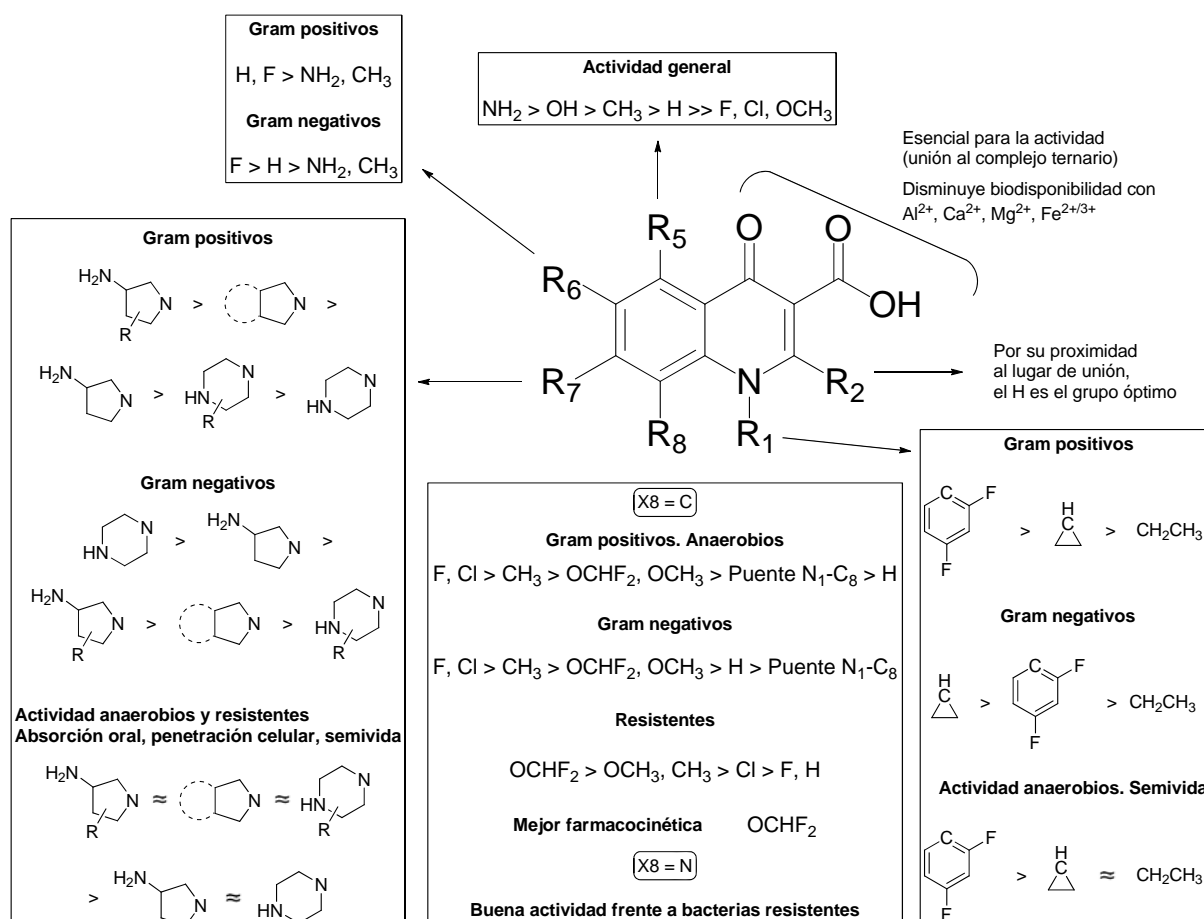
Muchas quinolonas cuentan con un hidrógeno en esta posición (norfloxacino, ciprofloxacino, **Figura A.4**). La creación de un anillo al cerrar un puente entre N1 y C8 resultó en la reducida rotación del grupo etilo en N1 y en la introducción de un carbono quiral. Cabe destacar el caso del ofloxacino y su esteroisómero más activo, el levofloxacino (**Figura A.4**). La reducción de movilidad del sustituyente en N1 realizó notablemente la actividad frente a Gram positivos, pese a que hay una pérdida parcial de actividad frente a Gram negativos.<sup>27</sup>

Un flúor o un cloro en esta posición son los sustituyentes más favorables en términos de actividad antibacteriana, especialmente frente a cocos Gram positivos y bacterias anaerobias, pero generan fototoxicidad y genotoxicidad.<sup>27</sup> Estudios más recientes se han centrado en los grupos metilo y metoxi, que mantienen una buena actividad antibacteriana sin los problemas de toxicidad, y al igual que un nitrógeno en posición 8, han demostrado limitar la probabilidad de selección de mutantes resistentes.<sup>77</sup> El grupo hidroxilo, por su carácter ácido, prácticamente eliminó la actividad antibacteriana, y grupos más voluminosos (-OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, -OCH<sub>2</sub>F, -OCF<sub>3</sub>) fueron de 2 a 4 veces menos activos que el grupo metoxi, a excepción de -OCHF<sub>2</sub>, que fue equipotente.<sup>69</sup>

---

<sup>77</sup> Dougherty TJ, Beaulieu D, Barrett JF. Novel quinolones and the impact on resistance. *Drug Discov. Today*, 2001; 6(10): 529-36.

Los cambios en la posición 8 también van a estar relacionados con la interferencia con el metabolismo de las xantinas, y fundamentalmente con la fototoxicidad y genotoxicidad. Las naftiridonas, como es el caso del enoxacino (**Figura A.4**), tosufloxacino (**Figura A.5**), trovafloxacino y gemifloxacino (**Figura A.6**), esta sustitución es la peor en lo que a interacciones con otros fármacos se refiere, ya que interfiere en el metabolismo de las xantinas. Sin embargo, un grupo voluminoso en posición 7 puede compensar esta tendencia. La mayor toxicidad se ha demostrado en quinolonas que tienen un grupo halogenado en esta posición (especialmente flúor), disminuyendo notablemente con otros sustituyentes.<sup>21</sup>



**Figura A.34.** Influencia de la estructura química sobre la actividad antibacteriana y las propiedades farmacocinéticas.<sup>68</sup>

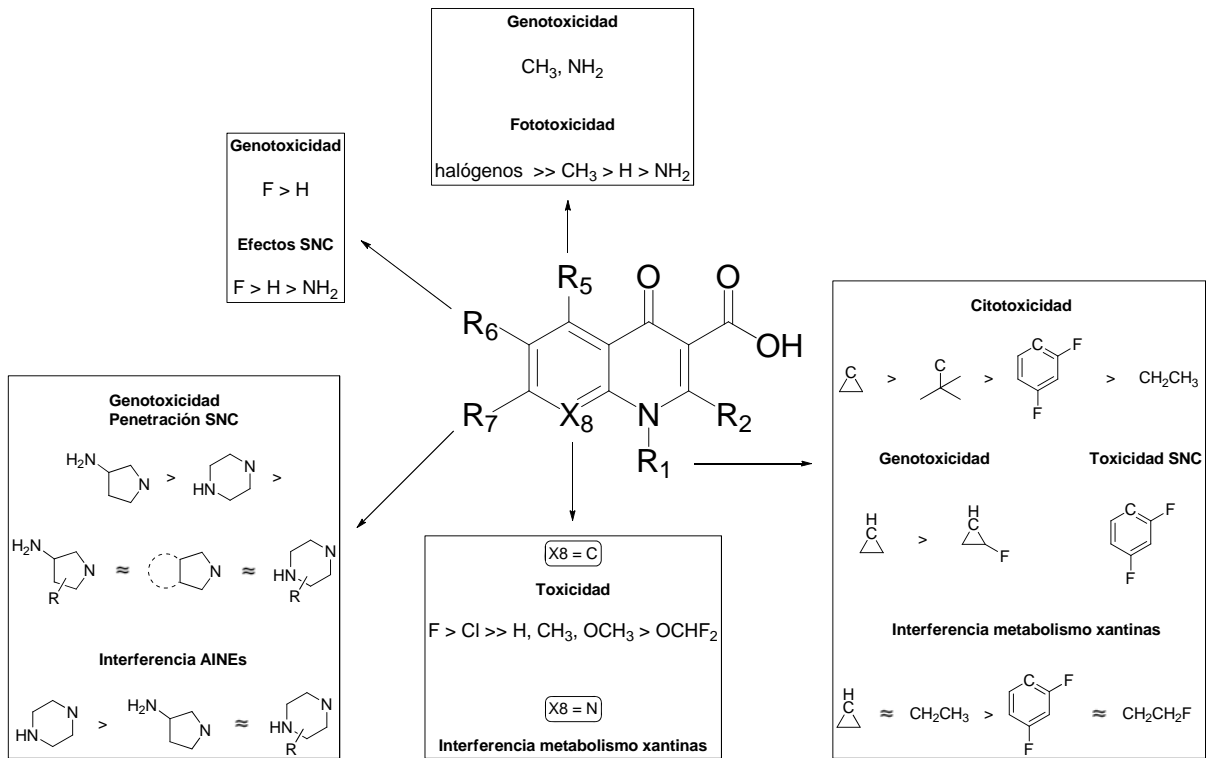


Figura A.35. Influencia de la estructura química sobre la toxicidad y las interacciones.



## 2. CONECTIVIDAD MOLECULAR

Las matemáticas poseen un amplísimo registro de aplicaciones biomédicas interesantes: crecimiento y propagación de tumores, neurociencia computacional, diseño de dispositivos implantables y mecanismos de administración de fármacos, genética, tomografía por ordenador, sistemas expertos (inteligencia artificial), análisis clínicos y epidemiología, por mencionar sólo algunas.<sup>78</sup>

Los métodos convencionales de diseño molecular emplean variables físicas, como energías, cargas, momentos; o variables geométricas, como distancias interatómicas y ángulos de enlace para describir la estructura molecular.

Por otro lado se encuentra la topología, aquella parte del análisis matemático que estudia las posiciones e interconexiones de los elementos dentro de un conjunto. Aplicada a las moléculas da origen a la disciplina llamada Topología o Conectividad Molecular, que analiza las posiciones e interconexiones de los átomos dentro de una molécula, dando información estructural referente a la longitud, las ramificaciones, conexión entre átomos, forma, instauraciones... en definitiva, al ensamblaje topológico o conectividad de la molécula.<sup>79</sup>

---

<sup>78</sup> Amigó JM, Gálvez J, Villar VM. A review on molecular topology: applying graph theory to drug discovery and design. *Naturwissenschaften*, **2009**; *96*(7): 749-61.

<sup>79</sup> Rouvray DH. Predicting chemistry from topology. *Sci. Am.*, **1986**; *255*(3): 40-7.

Un aspecto importante a considerar y que demuestra la necesidad de relacionar de alguna manera la estructura química con la actividad, es la rapidez con la que hoy día se accede a la información científica. Dentro del área de la química, se calcula que existen una gran cantidad de compuestos químicos catalogados (podemos hablar de millones) de los que se desconoce la aplicación química que pudieran tener y, por supuesto, no se sabe nada de la posible actividad farmacológica de todos ellos. Posiblemente este hecho pudiera deberse a un factor económico, ya que los ensayos, tanto químicos como farmacológicos, son caros debido tanto a la cualificación y especialización del personal que los realiza como al instrumental que se necesita.<sup>80</sup>

Por tanto, muchas investigaciones en la actualidad se centran en intentar determinar las aplicaciones de esos compuestos químicos, siendo para ello necesario encontrar una herramienta que sea capaz de relacionar de alguna manera la estructura química con una determinada propiedad, y que además sea lo suficientemente rápida y potente para poder comprobar toda esa información.

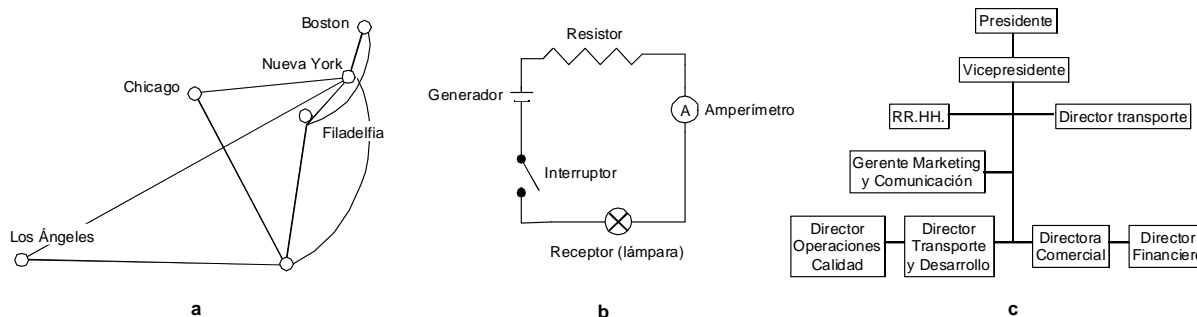
Siguiendo este método de trabajo, la Topología Molecular emplea los índices de conectividad, también llamados “índices topológicos”, con el objetivo de caracterizar cuantitativamente la estructura de un compuesto. Una vez definidos uno o varios índices, se establecen correlaciones entre ellos y diferentes propiedades físicas, químicas o biológicas de grupos de compuestos más o menos homogéneos, para así obtener ecuaciones que relacionen tales propiedades con la estructura. Estas ecuaciones se conocen como funciones de conectividad, que son el objetivo de la Conectividad Molecular.<sup>9</sup>

---

80 Gallop MA, Barrett RW, Dower WJ, Fodor SP, Gordon EM. Applications of combinatorial technologies to drug discovery. 1. Background and peptide combinatorial libraries. *J. Med. Chem.*, **1994**; 37(9): 1233-51.

## 2.1. TEORÍA DE GRAFOS

El origen de la palabra grafo proviene de la lengua griega y su significado etimológico es "trazar". La llamada teoría de grafos es una disciplina matemática creada por L. Euler<sup>81</sup> en el siglo XVIII, y desarrollada por F. Flavitzky<sup>82</sup> y A. Cayley<sup>83</sup> en el siglo XIX, que en el siglo XX se convirtió en herramienta fundamental en toda área de la ciencia y tecnología donde la conectividad desempeñaba un papel importante, como es el caso de las redes de transporte y comunicación, el diseño de circuitos eléctricos, la sincronización de osciladores que interactúan con distintas topologías, el análisis de redes sociales, etc<sup>84</sup> (**Figura A.36**).



**Figura A.36.** Grafo de una red de transporte aéreo (a), de un circuito eléctrico (b) y de una red social (c).

La teoría de grafos trata la forma en que determinados objetos se conectan unos con otros. Un grafo  $G$  es un par  $G = (V, E)$ , donde  $V$  es un conjunto de vértices y  $E$  es un conjunto de pares de vértices denotados por  $(i, j)$ . La ventaja de usar grafos es que éstos pueden mostrarse como esquemas gráficos donde los pares del conjunto  $E$  se exhiben como un eje que conecta dos vértices, pertenecientes al conjunto  $V$ . Lo que representa ese eje que conecta ambos vértices dependerá de lo que se quiera representar o modelar mediante un grafo<sup>85</sup> (**Figura A.37**).

\* Los antecedentes bibliográficos que se reseñan en este apartado no representan una recapitulación exhaustiva de la teoría de grafos y sus aplicaciones, recogiendo únicamente la información que se ha considerado más significativa, particularmente aquella que guarda relación con posterior aplicación en química.

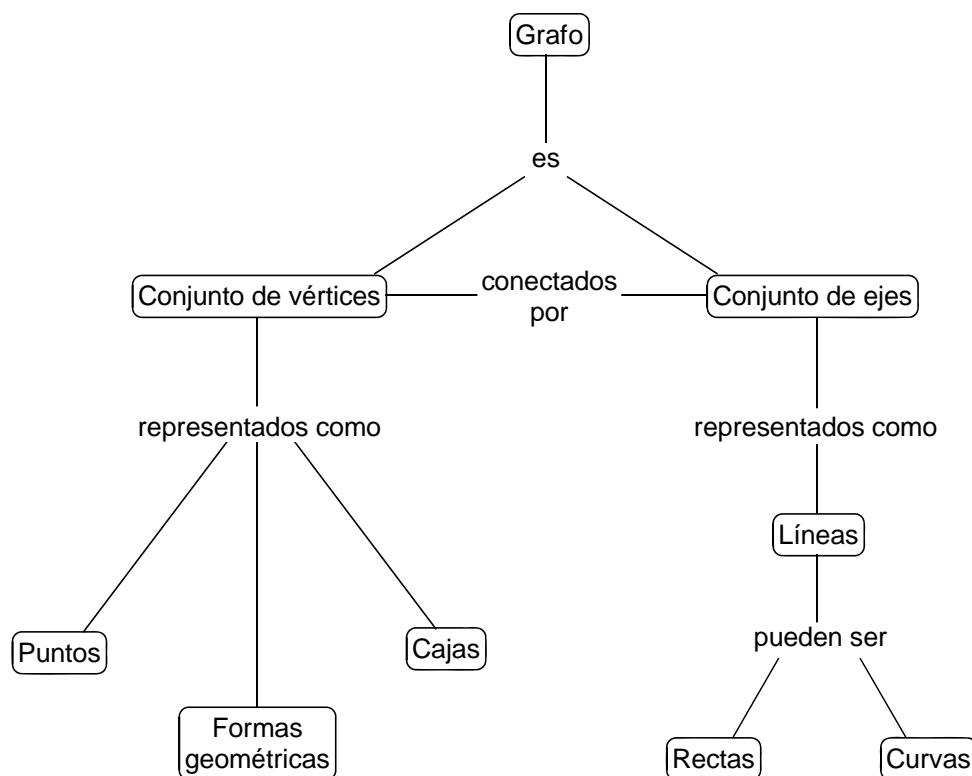
81 Euler L. *Solutio problematis ad geometriam situs pertinentis*. *Commentarii Academiae Scientiarum Imperialis Petropolitanae*, **1736**; 8: 128-40.

82 Flavitzky F. Bemerkung zu der Abhandlung des Herrn Hugo Schiff: "Zur Statistik chemischer Verbindungen". *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, **1876**; 9(1): 267.

83 Cayley A. A theorem on trees. *Quart. J. Pure Appl. Math.*, **1889**; 23: 376- 378.

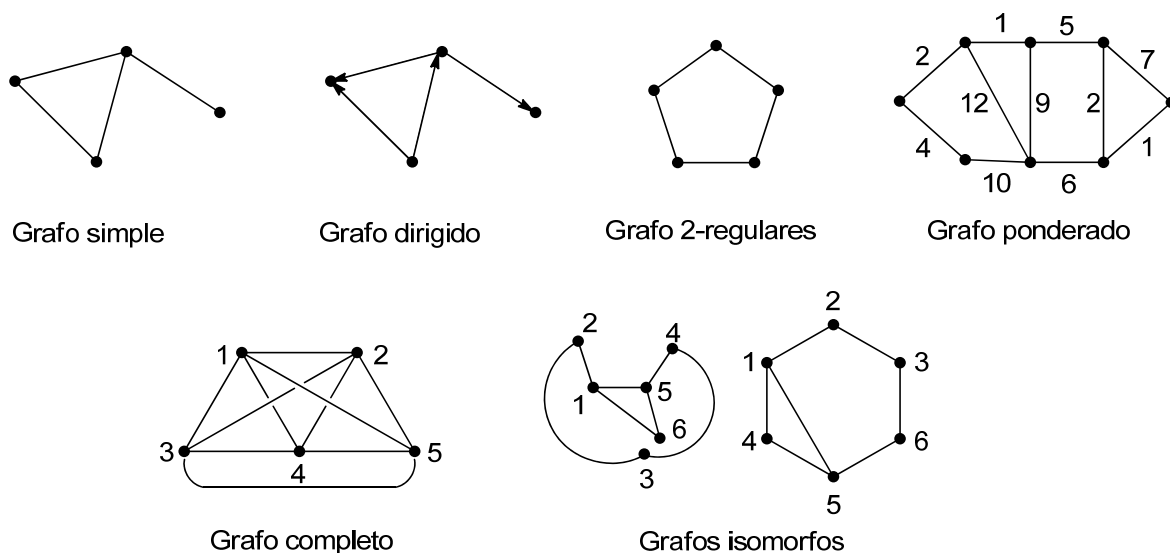
84 Newman MEJ. *Networks: an introduction*; Oxford University Press: Oxford, **2010**.

85 Bollobás B. *Modern Graph Theory*; Springer: New York, **1998**.



**Figura A.37.** Explicación del grafo mediante un mapa conceptual (un tipo de grafo).

Se pueden encontrar distintos tipos de grafos, como simples, dirigidos, regulares, ponderados, completos e isomorfos (**Figura A. 38**).<sup>85</sup>

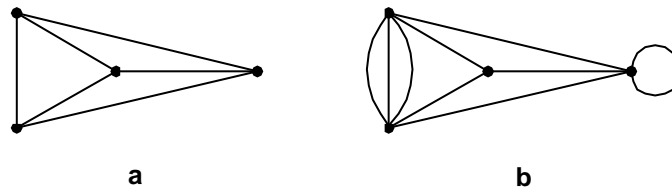


**Figura A.38.** Ejemplos de distintos tipos de grafos.

Si los vértices y/o ejes de un grafo tienen asignado algún tipo de identificación, se dice que es un grafo etiquetado (**Figura A.36**). Si esta identificación se basa en una ordenación numérica, se habla de grafo numerado.<sup>85</sup>



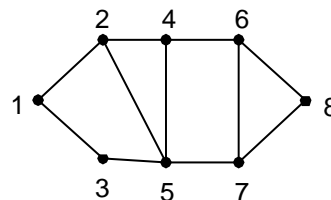
En algunos casos, los grafos no bastan para modelar ciertas situaciones en las cuales se requiere la existencia de múltiples ejes entre pares de vértices o de ejes que conectan un vértice consigo mismo, denominados lazos o bucles. En estos casos se utilizan los llamados pseudografos (**Figura A.39**).



**Figura A.39.** Ejemplo de grafo simple (a) y un posible pseudografo derivado de él (b).

Además, en esta disciplina, se suelen emplear los siguientes términos:

- **Adyacencia, orden y tamaño:** en un grafo, dos vértices  $i$  y  $j$  son adyacentes si  $(i, j)$  pertenecen a  $E$ . De la misma forma, dos ejes  $(i, j)$  y  $(k, l)$  que pertenecen a  $E$  son adyacentes entre sí, si tienen un vértice en común, es decir, si  $j = k$  o bien si  $i = l$ . Por ejemplo, en la siguiente figura, los vértices  $(1, 2)$  y  $(2, 4)$  son adyacentes, mientras que  $(1, 2)$  y  $(3, 5)$  no lo son. El orden de un grafo es el número de vértices que contienen y el tamaño de un grafo es el número de ejes<sup>86</sup>.



$$V = \{1,2,3,4,5,6,7,8\}$$

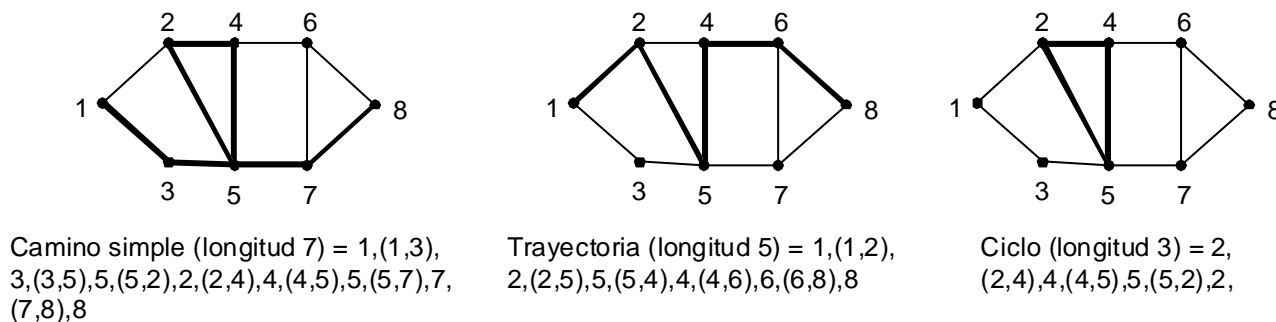
$$E = \{(1,2),(1,3),(2,4),(2,5),(3,5),(4,5),(4,6),(5,7),(6,7),(6,8),(7,8)\}$$

**Figura A.40.** Ejemplo de grafo de orden 8 y tamaño 11.

- **Caminos y Trayectorias:** un camino dentro de un grafo es una sucesión alterna de vértices y ejes, la que recorren los vértices a través de sus ejes adyacentes, de forma que empieza y acaba con un vértice. Si los ejes que posee el camino aparecen una sola vez, se dice que es un camino simple. Si los que aparecen una sola vez en el camino son los vértices, se trata de una trayectoria, así que, toda trayectoria es un camino simple. El camino cerrado es similar a un camino simple con la particularidad de que los

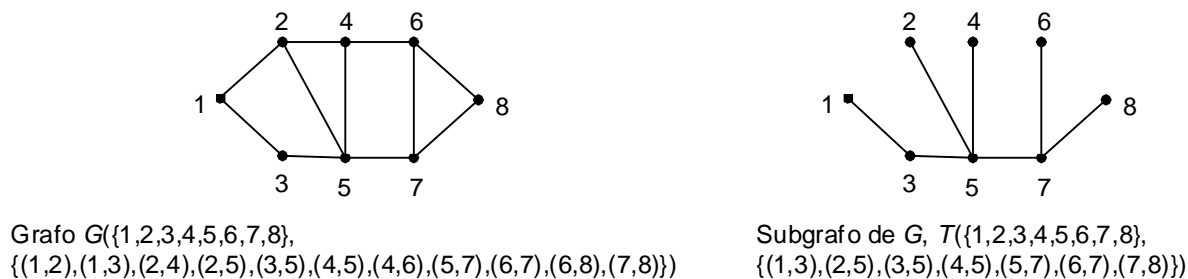
<sup>86</sup> West DB. *Introduction to Graph Theory*; Prentice Hall, Upper Saddle River: New Jersey, 2001.

vértices de inicio y final son el mismo. Un camino cerrado se denomina ciclo si todos los vértices (excepto los extremos) son distintos. La longitud de un camino es el número de ejes que hay en él. La distancia entre dos vértices es el número de ejes entre ellos por el camino más corto (**Figura A.41**).



**Figura A.41.** Conceptos básicos de los grafos.

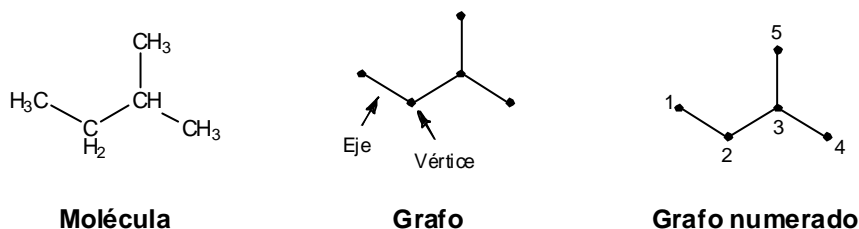
- **Subgrafos:** un árbol es un tipo de subgrafo acíclico y se denota por  $T = (V, E')$ . De forma general, un grafo  $G' = (V, E')$  es un subgrafo de  $G = (V, E)$  si  $V$  es un subconjunto de  $V$  y  $E'$  es un subconjunto de  $E$ . Si  $T$  es un árbol de  $n$  vértices, el número de ejes será  $n-1$ . Los vértices de grado 1 que pertenecen al árbol se denominan hojas y el vértice desde donde se crea el árbol se llama raíz. Por ejemplo, los vértices 1 y 3 son hoja y raíz, respectivamente, del árbol que se muestra en la siguiente figura. Por otro lado, un árbol con el máximo número de hojas dado su número de ejes y vértices es una estrella. Es decir, posee  $n-1$  vértices de grado 1 y un vértice central de grado  $n-1$ . En la aplicación de los grafos a algunas disciplinas, como la química, también se contemplan los ciclos, árboles, estrellas y trayectorias como tipos de subgrafo<sup>86</sup> (**Figura A.42**).



**Figura A.42.** Grafo y ejemplo de un posible subgrafo tipo árbol.

### 2.1.1. GRAFOS QUÍMICOS

La teoría de grafos se puede aplicar al campo de la química representando las moléculas mediante grafos en los que los vértices corresponden a los átomos, y los ejes a los enlaces, eliminándose los átomos de hidrógeno. De esta manera, se obtiene el denominado grafo de hidrógenos suprimidos, el cual se numera de manera arbitraria<sup>87</sup> (**Figura A.43**). Un grafo es esencialmente una relación sobre vértices y ejes; no una representación física de la molécula. El concepto de dimensión en la teoría de grafos no tiene el mismo significado que en física. Así pues, la longitud de un grafo (número de ejes que lo componen) no obedecerá la métrica euclídea.



**Figura A.43.** Representación de la estructura química del isopentano como grafo.

Claramente, los dobles enlaces o pares de electrones solitarios no pueden describirse por un grafo, de modo que también se han utilizado pseudografos para representar moléculas químicas. Como se ha explicado anteriormente, un pseudografo puede contener ejes múltiples entre pares de vértices y autoconexiones o bucles, que son ejes que parten de un vértice y vuelven al mismo (**Figura A.39**).

Por tanto, el grado de un átomo  $i$  en un grafo químico ( $\delta_i$ ) reflejará el número de electrones  $\sigma$  conectados a él, excluyendo los átomos de hidrógeno ( $h$ ), según la fórmula<sup>7</sup>:

$$\delta_i = \sigma_i - h_i$$

El grado de valencia de un átomo  $i$  en un pseudografo químico ( $\delta^v_i$ ) tendrá en cuenta todos los electrones de valencia a los que se une, incluyendo los de tipo  $\pi$  y los desapareados ( $n$ ), excluyendo los átomos de hidrógeno ( $h$ ), según la fórmula<sup>7</sup>:

<sup>87</sup> Balaban AT. Applications of graph theory in chemistry. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1985**; 25(3): 334-43.

$$\delta_i = \sigma_i + \pi_i + n_i - h_i$$

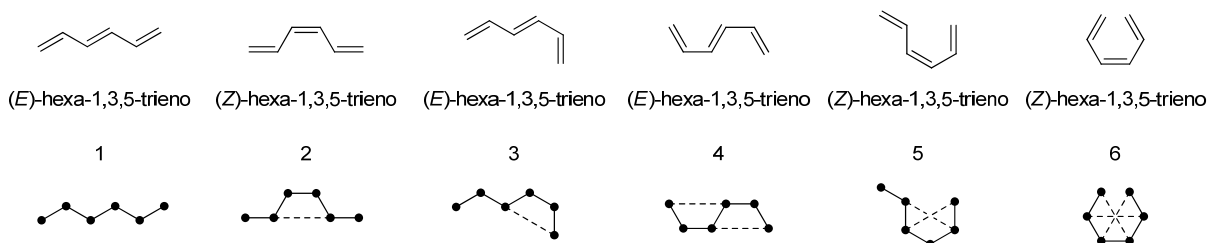
En la **figura A.44** se representan el grafo y pseudografo químico del 1,2-difluoroetileno. Nótese que el grafo puede codificar otras moléculas como butano, dicloroetano, butadieno... y el pseudografo, aunque más selectivo que el anterior, puede codificar cualquier 1,2-dihaloetileno.



**Figura A.44.** Grafo químico (a) y pseudografo químico (b) del 1,2-difluoroetileno.

El grado de los vértices del grafo de la figura anterior es 2 para los vértices interiores y 1 para los distales, mientras que en el pseudografo se hablaría de grado de valencia, que sería de 3 para los interiores y 7 para los distales.

Una característica de los grafos y pseudografos químicos es su imposibilidad para diferenciar entre isómeros espaciales, especialmente entre los isómeros *cis* y *trans* en torno a un doble enlace. Este inconveniente se ha salvado parcialmente con la introducción del concepto de anillos virtuales,<sup>88</sup> descrito por primera vez en los distintos grafos isomorfos del hexatrieno, que al aumentar en 1 el grado de dos átomos/vértices en posición *cis* y al conectar éstos por un enlace ficticio, se forman anillos de 4 miembros (**Figura A.45**).



**Figura A.45.** Seis isómeros del hexatrieno y sus correspondientes grafos (los anillos virtuales están representados por líneas de puntos).<sup>88</sup>

Se consideran los grafos como objetos bidimensionales aunque hay una importante información implícita en el conjunto de enlaces contenidos en un grafo químico sobre la estructura tridimensional. De hecho, grafos que solo contienen metilenos (-CH<sub>2</sub>-) claramente describen una molécula cíclica, mientras

<sup>88</sup> Pogliani L. On a graph theoretical characterization of *cis/trans* isomers. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1994**; *34*(4): 801-4.

que aquellos grafos con carbonos cuaternarios ( $>C<$ ) o terciarios ( $-CH<$ ) describirán una molécula con cierto grado de ramificación. Además, como se verá más adelante, con el tratamiento adecuado de un grafo químico se podrían obtener datos tridimensionales de la molécula que representa, tales como ángulo diedro, volumen, área de superficie molecular, quiralidad, etc. (ver apartado **2.5**).

## 2.2. MATRIZ TOPOLÓGICA

El tratamiento matemático de un grafo químico se realiza a través de la denominada matriz topológica. El primero en demostrar que una estructura química podía ser representada por una matriz fue el matemático J. J. Sylvester. Describió un grafo químico como una matriz de dos dimensiones, que daba información acerca de qué átomos/vértices están unidos entre sí dentro de la misma molécula/graf, y la denominó matriz de adyacencia.<sup>89</sup>

Existen diversos tipos de matrices dependiendo del tratamiento que se le dé al grafo. Las matrices más sencillas son la de adyacencia y la de distancia. Ambas matrices son cuadradas de  $n$  filas por  $n$  columnas ( $n$  corresponde al número de vértices del grafo) y simétricas en su diagonal principal, en la que cada término ( $a$  para la de adyacencia y  $d$  para la de distancia) tendrá un valor según la conexión (matriz de adyacencia) o según la proximidad (matriz de distancia) entre los dos vértices (**Figura A.46**).

vértice	1	2	3	4	5	
1	$a_{1,1}$	$a_{1,2}$	$a_{1,3}$	$a_{1,4}$	$a_{1,5}$	
2	$a_{2,1}$	$a_{2,2}$	$a_{2,3}$	$a_{2,4}$	$a_{2,5}$	
3	$a_{3,1}$	$a_{3,2}$	$a_{3,3}$	$a_{3,4}$	$a_{3,5}$	
4	$a_{4,1}$	$a_{4,2}$	$a_{4,3}$	$a_{4,4}$	$a_{4,5}$	
5	$a_{5,1}$	$a_{5,2}$	$a_{5,3}$	$a_{5,4}$	$a_{5,5}$	

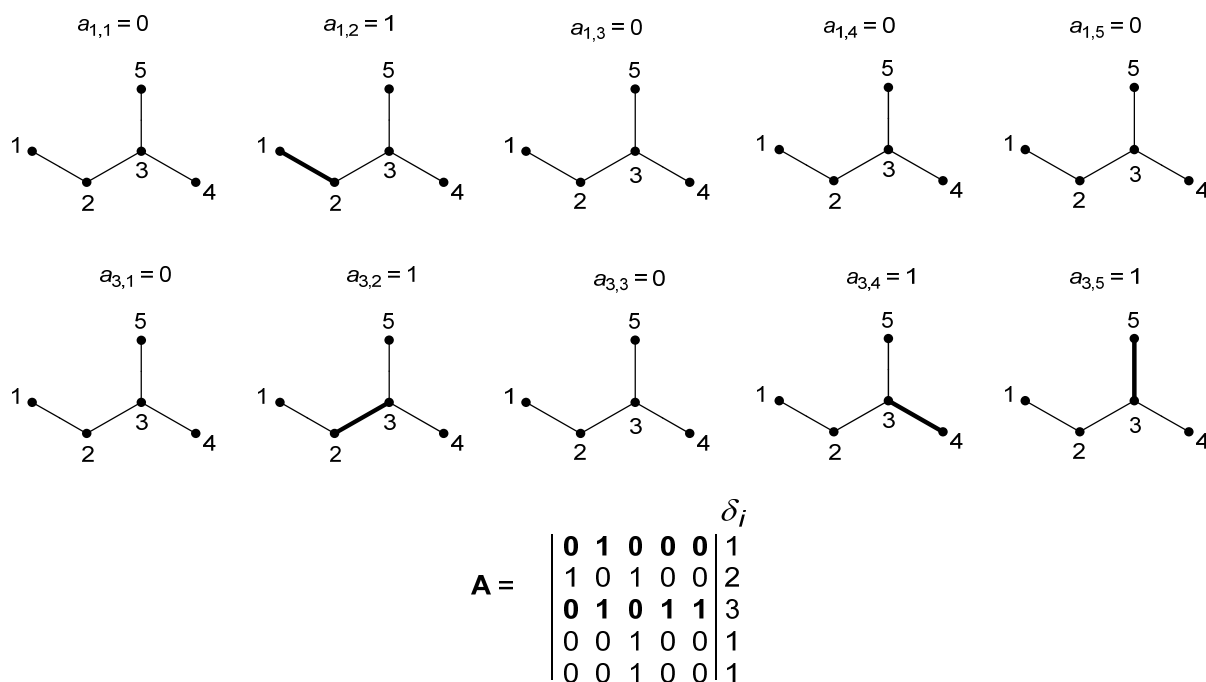
donde

$$\begin{aligned}
 a_{1,2} &= a_{2,1} \\
 a_{1,3} &= a_{3,1} \\
 a_{1,4} &= a_{4,1} \\
 a_{1,5} &= a_{5,1} \\
 a_{2,3} &= a_{3,2} \\
 a_{2,4} &= a_{4,2} \\
 a_{2,5} &= a_{5,2} \\
 a_{3,4} &= a_{4,3} \\
 a_{3,5} &= a_{5,3} \\
 a_{4,5} &= a_{5,4}
 \end{aligned}$$

**Figura A.46.** Matriz de Adyacencia  $A$  de un grafo de 5 vértices.

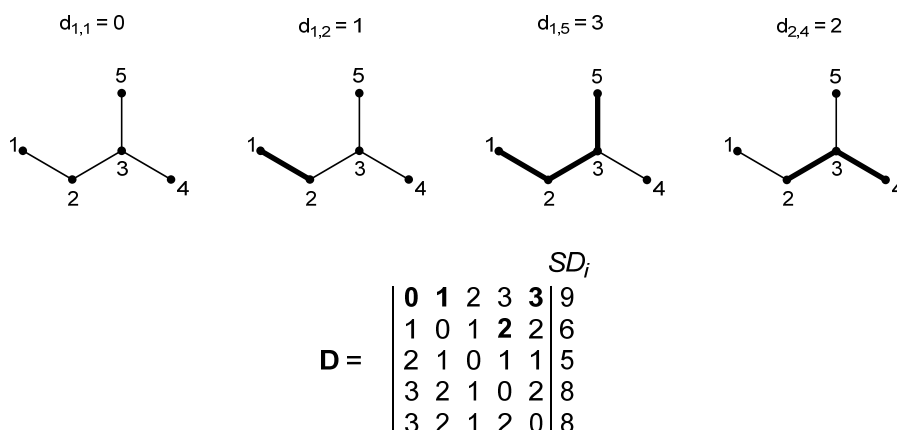
Partiremos del grafo numerado del isopentano para explicar la construcción de su matriz de adyacencia  $A$ . Dado que este grafo posee 5 vértices, su matriz topológica será de 5 filas y 5 columnas. Si dos vértices  $i$  y  $j$  son adyacentes, su término correspondiente  $a_{ij}$  en la matriz tendrá el valor 1, mientras que si no existe eje entre estos vértices, su término correspondiente en la matriz tendrá el valor 0. El grado topológico de cada vértice,  $\delta_i$ , equivale a la suma de los valores que hay en cada fila o columna, o lo que es lo mismo, el número de ejes que llegan a él (**Figura A.47**).

<sup>89</sup> Sylvester JJ. On an application of the new atomic theory. *Amer. J. Math.*, 1878; 1(1): 64-104.



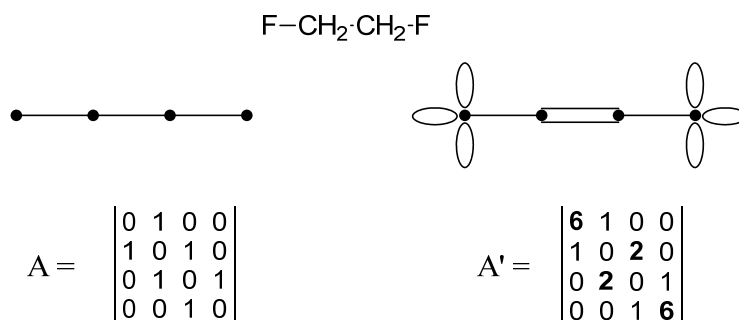
**Figura A.47.** Matriz de adyacencia  $A$  del isopentano y ejemplos para el cálculo de algunos de sus términos.

En la matriz de distancia  $D$ , cada término  $d_{ij}$  tendrá el valor de mínima distancia topológica entre ambos vértices. Así pues, esta matriz describe la relación de proximidad entre pares de átomos/vértices dentro de una molécula/grafó. La suma de las distancias topológicas entre un vértice  $i$  y todos los demás vértices del grafo se denomina la “suma de distancias” de cada vértice  $i$  ( $SD_i$ ), que equivale a la suma de los valores que hay en cada fila o columna,<sup>78</sup> como puede comprobarse en la siguiente figura.



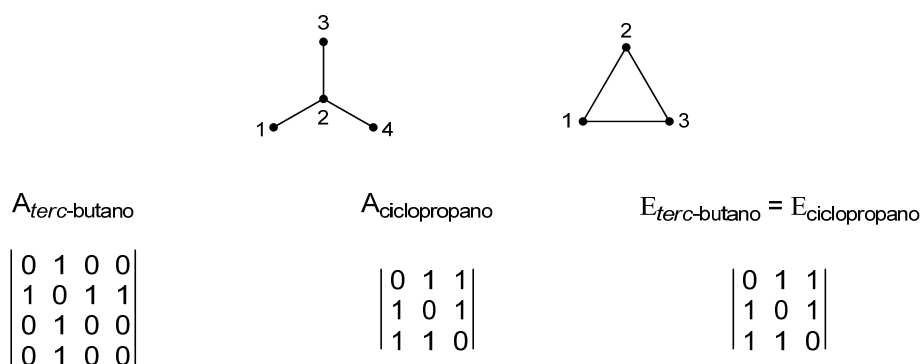
**Figura A.48.** Matriz de distancia  $D$  del isopentano y ejemplos para el cálculo de algunos sus términos.

En el caso de pseudografos, el procedimiento para la construcción de matrices es similar, salvo que al contar las autoconexiones como doble y las conexiones múltiples, dependiendo del carácter del enlace, también se cuentan como el doble o triple, su correspondiente matriz de adyacencia no será simétrica en su diagonal principal. Sin embargo, su matriz de distancia será idéntica a la del grafo. Como ejemplo se representan la matriz A del grafo y la matriz A' del pseudografo del 1,2-difluoroetileno (**Figura A.49**).



**Figura A.49.** Matrices del grafo y pseudografo del 1,2-difluoroetileno.

También puede construirse la matriz de adyacencia de ejes, en la que cada valor dentro de la matriz será uno si los correspondientes ejes son adyacentes o cero si no es así. Cabe destacar que mientras que la matriz de adyacencia A de vértices describe de forma única a un grafo (salvo que éste sea isomorfo de otro), la matriz de adyacencia de ejes E no es tan específica, pues existen grafos no isomórficos que comparten dicha matriz<sup>90</sup> (**Figura A.50**).



**Figura A.50.** Grafos del terc-butano y del ciclopropano y sus correspondientes matrices de adyacencia (A). Ambos grafos poseen idéntica matriz de adyacencia de ejes (E).

<sup>90</sup> Ivanciuc O, Ivanciuc T, Duidea MV. Molecular graph matrices and derived structural descriptors. *SAR QSAR Environ. Res.*, 1997; 7(1-4): 63-87.



Otras matrices utilizadas en Topología Molecular incluyen la matriz de distancias inversas,<sup>91</sup> la matriz detour,<sup>92</sup> la matriz de resistencia,<sup>93</sup> etc.

La matriz topológica es la primera expresión matemática que relaciona la estructura química con una descripción numérica. Su importancia en los estudios estructura-actividad radica en que, con los algoritmos adecuados, se originan una serie de valores característicos del grafo del que proceden, denominados índices topológicos.<sup>94</sup> Estos índices son, por tanto, descriptores numéricos de la estructura molecular. Todeschini y Consonni definieron el descriptor molecular como resultado de un procedimiento lógico-matemático, que transforma la información química, codificada dentro de una representación simbólica de una molécula, en números útiles.<sup>95</sup>

---

91 Ivanciuc O, Balaban TS, Balaban AT. Design of topological indices. Part 4. Reciprocal distance matrix, related local vertex invariants and topological indices. *J. Math. Chem.*, **1993**; *12*(1): 309-18.

92 Trinajstić N, Nikolić S, Lucić B, Amić D, Mihalić Z. The detour matrix in chemistry. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1997**; *37*(4): 631-8.

93 Klein DJ, Randić M. Resistance distance. *J. Math. Chem.*, **1993**; *12*(1): 81-95.

94 Randić M, Trinajstić T. Notes on some less known early contributions to chemical graph theory. *Croat. Chem. Acta*, **1994**; *67*: 1-35.

95 Todeschini R, Consonni V. *Handbook of Molecular Descriptors*; Wiley-VCH: Weinheim, **2000**.

### **2.3. ÍNDICES TOPOLÓGICOS**

Una estructura molecular puede entenderse como la suma de sus características topológicas, geométricas y electrónicas. La topología molecular se refiere sobre el número y tipo de átomos en una molécula y sobre la manera que están conectados entre ellos. La geometría molecular se define como la disposición de los átomos en el espacio tridimensional, y se caracteriza por tres parámetros estructurales, que son longitud de enlace, ángulo de enlace y ángulo diedro. Por último, a través de la función de onda molecular se puede conocer la distribución y propiedades electrónicas de una molécula. Estas tres características moleculares están íntimamente relacionadas entre sí. Así pues, algunos patrones topológicos son responsables de algunos factores geométricos de una molécula, y determinan la mayor parte de sus parámetros electrónicos.<sup>88</sup>

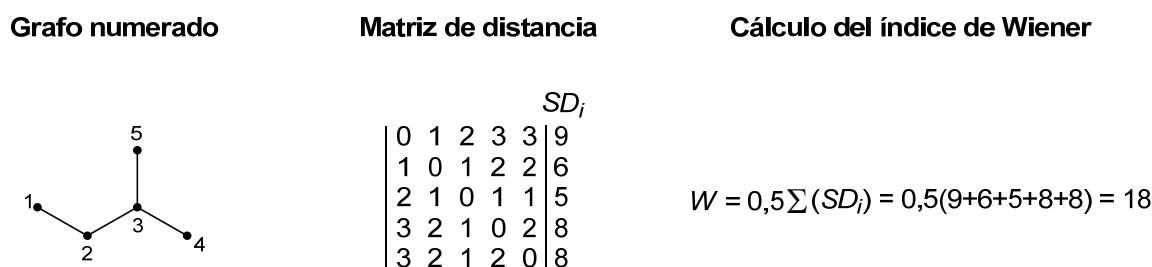
A partir de un grafo químico se obtienen sus diferentes matrices topológicas y el posterior tratamiento matemático de las mismas darán lugar a sus índices topológicos. Estos índices son cantidades numéricas basadas en ciertos rasgos topológicos de un grafo químico, que pretenden expresar numéricamente, de forma directa, la información topológica contenida para un compuesto dado. Estos índices se definen como invariantes del grafo, es decir, son independientes de la numeración de los vértices.

La utilidad de los índices topológicos radica en que de la misma forma que se pueden encontrar relaciones entre la estructura química y las diversas propiedades fisicoquímicas y farmacológicas, como se tratará más adelante, también se pueden encontrar relaciones entre los índices topológicos y dichas propiedades.<sup>95</sup>

Muchos investigadores han tenido como objetivo la obtención de diferentes índices topológicos a partir de las correspondientes matrices. Se han descrito muchos índices topológicos desde finales de la década de los cuarenta. Se presentan a continuación, a modo de ejemplo, el cálculo de algunos de los índices que se han utilizado en este trabajo.

▪ *Índice de Wiener*

Este índice se basa en el concepto topológico de distancia, entendida como el número de ejes entre dos vértices de un grafo por el camino más corto. Fue uno de los primeros y más simples índices topológicos, propuesto por Wiener en 1947, que se representa por  $W$  y se define como el número total de ejes entre todos los vértices del grafo químico.<sup>96</sup> Para su cálculo se construye la matriz de distancia  $D$ , de la cual se obtiene la suma de distancias ( $SD_i$ ) para cada vértice  $i$  (**Figura A.51**). Pertenece a los índices topológicos de primera generación, que son números enteros obtenidos por las operaciones realizadas en cada vértice de uno en uno. Este índice caracteriza el grado de compactación de una molécula, siendo mayor para las cadenas largas y menor para los compuestos ramificados.<sup>7</sup> A pesar de su simplicidad, este índice se relaciona muy bien con algunas propiedades físicas como, por ejemplo, el punto de ebullición de la serie de los alcanos (metano, etano, propano...<sup>78</sup>



**Figura A.51.** Cálculo del índice de Wiener para el isopentano.

En general, los índices topológicos de primera generación se caracterizan por una degeneración alta, es decir, el mismo valor del índice puede corresponder a numerosos grafos. Entre ellos cabe destacar los de Gordon-Scantlebury,<sup>97</sup> Hosoya,<sup>98</sup> Zagreb<sup>99</sup> y Merrifield-Simmons.<sup>100</sup>

<sup>96</sup> Wiener H. Structural determination of paraffin boiling points. *J. Am. Chem. Soc.*, **1947**; *69*(1): 17-20.

<sup>97</sup> Gordon M, Scantlebury GR. Non-random polycondensation: statistical theory of the substitution effect. *Trans. Faraday Soc.*, **1964**; *60*: 604-21.

<sup>98</sup> Hosoya H. A newly proposed quantity characterizing the topological nature of structural isomers of saturated hydrocarbons. *Bull. Chem. Soc. Japan*, **1971**; *44*(9): 2332-9.

<sup>99</sup> Gutman I, Trinajstić N. Graph theory and molecular orbitals. Total  $\phi$ -electron energy of alternant hydrocarbons. *Chem. Phys. Lett.*, **1972**; *17*(4): 535-8.

<sup>100</sup> Gutman I. Topological properties of benzenoid systems. Merrifield-Simmons indices and independence polynomials of unbranched catafusenes. *Rev. Roum. Chim.*, **1991**; *36*: 379-88.

Los índices topológicos de segunda generación, en cambio, son números reales obtenidos por operaciones sofisticadas que implican más de un vértice a la vez,<sup>7</sup> de los que se explicarán a continuación algunos de los utilizados.

▪ *Índice de conectividad de Randić*

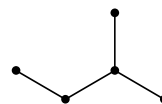
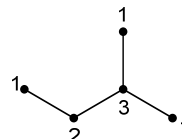
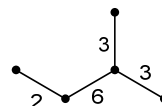
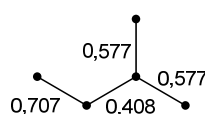
El índice de Randić,<sup>101</sup>  $\chi_R$ , es un típico índice de segunda generación, introducido por este profesor de la Universidad de Drake en 1975, para caracterizar la ramificación de un grafo. Se define como la suma de los inversos de las raíces cuadradas de los productos de los grados ( $\delta$ ) de los dos vértices adyacentes que limitan cada eje, para todos los ejes del grafo:

$$\chi_R = \sum (\delta_i \cdot \delta_j)^{-1/2}$$

Cada término de la suma, denominado conectividad de enlace, representa la accesibilidad de un enlace concreto en lo que a interacciones intermoleculares se refiere. Cuanto mayor es la ramificación del grafo menor es el valor de  $\chi_R$ . Este índice, el primer índice de conectividad propuesto hasta ese momento, supuso una mejora con respecto al de Wiener en su correlación con los puntos de ebullición de los alcanos.<sup>101</sup> Posteriormente fue generalizado por Kier y Hall y renombrado como  ${}^1\chi$ . A continuación se muestra un cálculo detallado del índice de Randić para el isopentano.

---

101 Randić M. On characterization of molecular branching. *J. Am. Chem. Soc.*, **1975**; *97*(23): 6609-15.

**1. Grafo:****2. Grado de cada vértice:****3. Producto de los grados de los vértices adyacentes:****4. Inverso de la raíz cuadrada para cada número:**

$$\chi_R = \sum (\delta_i \cdot \delta_j)^{-0,5} = 0,707 + 2(0,577) + 0,408 = 2,270$$

**Figura A.52.** Cálculo del índice de Randić para el grafo del isopentano.

- *Índices de conectividad de Kier-Hall*

A diferencia del índice de ramificación  $\chi_R$ , que considera un único grafo por molécula, Kier y Hall generalizaron los índices de conectividad ( ${}^m\chi_t$ ) para todos los posibles subgrafos de distintos órdenes y tipos, entendiendo como subgrafo cualquier parte de un grafo constituido por uno o varios de sus ejes interconectados (**Figura A.53**).

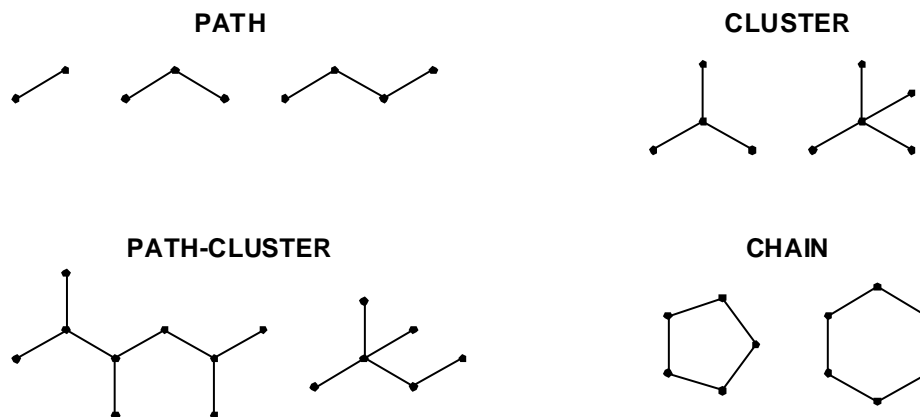
El orden de un subgrafo es el número de ejes que contiene (representado por la letra  $m$ ). Conviene recordar que para estos índices se parte de grafos simples, y que por tanto se consideran los enlaces múltiples como simples.<sup>102</sup>

Los subgrafos se clasifican en cuatro tipos (representado por la letra  $t$ ):

1. *Tipo PATH* ( $t = p$ ): subgrafos en los que el grado de sus vértices es menor o igual a 2, y ninguno de ellos se repite en la secuencia.
2. *Tipo CLUSTER* ( $t = c$ ): subgrafos que tienen por lo menos algún vértice con grado 3 ó 4, y ninguno con grado 2.

<sup>102</sup> Kier LB, Hall LH. The meaning of molecular connectivity: a bimolecular accessibility model. *Croat. Chem. Acta.*, **2003**; *75*(2): 371-82.

3. *Tipo PATH-CLUSTER* ( $t = pc$ ): es una combinación de los dos anteriores, es decir, subgrafos acíclicos que incluyen vértices con grado 1, 2, 3 y 4.
4. *Tipo CHAIN* ( $t = ch$ ): secuencia cíclica de vértices con grado 2 ó superior.



**Figura A.53.** Tipos de subgrafos en Conectividad Molecular.

Estos términos, utilizados en el contexto de la conectividad molecular, equivalen respectivamente a los subgrafos de tipo trayectoria, estrella, árbol y ciclo utilizados tradicionalmente.

Los índices de conectividad  ${}^m\chi_t$  corresponden en cada caso a la suma de todos los subgrafos de tipo  $t$  y orden  $m$ , según la expresión:

$${}^m\chi_t = \sum_{j=1}^{n_m} {}^mS_j$$

donde  $n_m$  es el número de subgrafos de tipo  $t$  y de orden  $m$ .

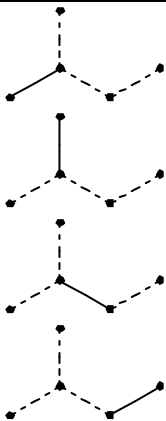
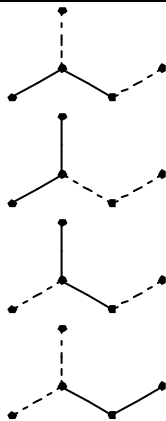
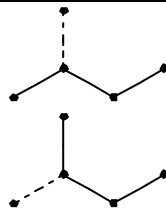
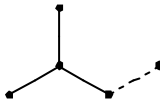
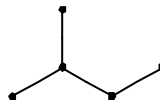
Los términos  ${}^mS_j$  de cada subgrafo se definen como el inverso de la raíz cuadrada del producto de los grados de los vértices integrantes del subgrafo:

$${}^mS_j = \left[ \prod_{i=1}^{m+1} (\delta_i) \right]^{-1/2}$$

donde  $j$  define cada uno de los subgrafos. El número de grados a multiplicar,  $\delta_i$ , depende del tipo de subgrafo: los subgrafos de tipo CHAIN están definidos por  $m$  vértices como máximo, mientras que los restantes tipos están definidos por  $m+1$  vértices, siendo  $m$  el orden del subgrafo (**Tabla A.1**). Es decir, los índices de conectividad se obtienen como sumatorio, para todos los subgrafos de un mismo

orden y tipo, de la inversa de la raíz cuadrada del producto de los grados de los vértices adyacentes que forman parte de cada subgrafo.

**Tabla A.1.** Tipos de subgrafos para el isopentano (trazos continuos).

Término	Orden 1	Orden 2	Orden 3	Orden 4
<b>PATH</b>				
<b>CLUSTER</b>				
<b>PATH-CLUSTER</b>				

A continuación se presenta detalladamente el cálculo y significado de cada uno de estos índices:

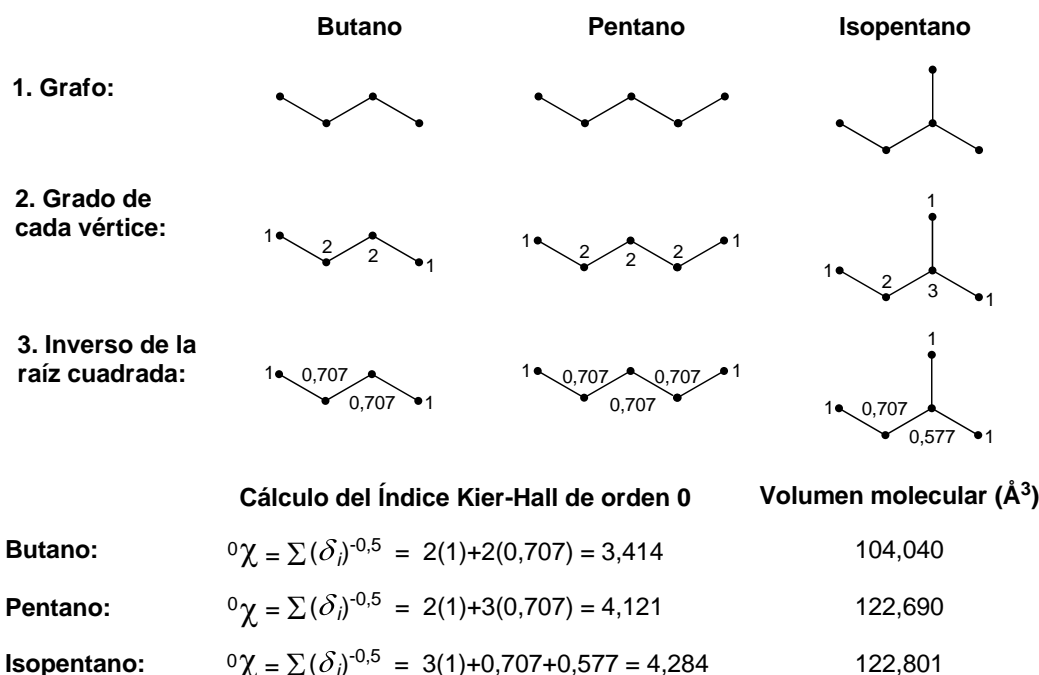
**Índice Kier-Hall de orden cero ( ${}^0\chi$ ):** un subgrafo de orden cero consiste en un vértice aislado, es decir, sin ejes. Por lo tanto,  ${}^0\chi$  es la suma del inverso de la raíz cuadrada de los grados de todos los vértices del grafo:

$${}^0\chi = \sum_{i=1}^{m+1} (\delta_i)^{-1/2}$$

Hay un solo tipo de vértice, representado por su grado  $\delta_i$ , por lo tanto, hay un solo tipo de subgrafo de esta clase.

Para series homólogas, este índice aumenta  $2^{-1/2} = 0,707$  por la adición de cada grupo metileno (como puede observarse al comparar los índices del butano y del pentano en la **figura A.54**). En su cálculo no se utilizan relaciones de adyacencia, siendo una simple medida del número y tipo de puntos de enlace de una molécula. Como se desprende de su misma formulación, da una idea del

tamaño de la molécula dependiendo del número de átomos de carbono. También resulta interesante que el volumen molecular aumente con el grado de ramificación del mismo modo en que lo hace este índice.<sup>103</sup> En la siguiente figura se muestra, de forma esquemática, el cálculo de este índice para los alcanos butano, pentano e isopentano, y el valor de sus volúmenes moleculares, donde se observa una relación directa aproximada entre el valor del índice y el volumen molecular.



**Figura A.54.** Cálculo del índice  ${}^0\chi$  para el grafo del butano, pentano e isopentano y sus volúmenes moleculares.<sup>103</sup>

**Índice Kier-Hall primer orden ( ${}^1\chi$ ):** es la suma, para todos los subgrafos de orden 1, de la inversa de la raíz cuadrada del producto de los grados de sus vértices. Hay un solo tipo de eje, por lo tanto, hay un solo tipo de subgrafo de orden uno, el tipo PATH:

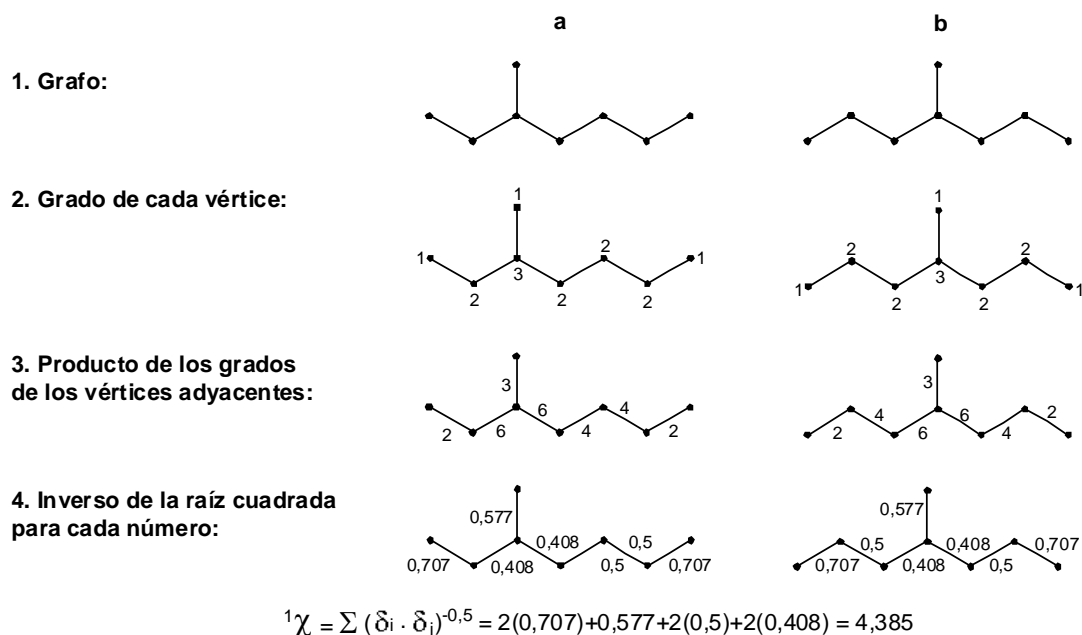
$${}^1\chi = \sum_{s=1}^n (\delta_i \cdot \delta_j)_s^{-1/2}$$

donde el número de enlaces del grafo es  $n$  (cada enlace viene determinado por los vértices  $i$  y  $j$ ) y  $s$  identifica un subgrafo en particular.

103 Gálvez J. Prediction of molecular volume and surface of alkanes by molecular topology. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **2003**; *43(4)*: 1231-9.



El área de superficie molecular disminuye a medida que aumenta el grado de ramificación, del mismo modo en que lo hace este índice.<sup>103</sup> Además, posee mayor capacidad para distinguir entre isómeros puesto que tiene en cuenta la relación de adyacencia entre vértices vecinos, aunque no puede considerarse como un descriptor unívoco. Por ejemplo, para el 3-metilheptano y el 4-metilheptano tiene valores idénticos, como puede apreciarse en la siguiente figura.



**Figura A.55.** Cálculo del índice  ${}^1\chi$  para el grafo del 3-metilheptano (a) y del 4-metilheptano (b).

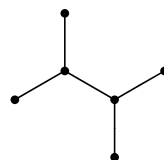
**Índice Kier-Hall de segundo orden ( ${}^2\chi$ ):** los subgrafos de este tipo siguen conteniendo ejes adyacentes de un único tipo, el tipo PATH. Cada término contiene la inversa de la raíz cuadrada del producto de los grados de los tres vértices ( $i, j, k$ ) que definen cada subgrafo de orden dos, es decir:

$${}^2\chi = \sum_{s=1}^n (\delta_i \cdot \delta_j \cdot \delta_k)^{-1/2}_s$$

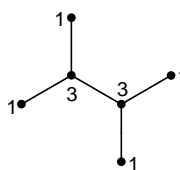
donde  $n$  es el número de subgrafos de orden dos y  $s$  identifica un subgrafo en particular.

Este índice describe la presencia de ramificaciones.<sup>104</sup> En los alcanos no se han detectado redundancias en los valores de  ${}^2\chi$ , y esto parece que puede generalizarse para todas las moléculas orgánicas.<sup>105</sup> También se ha considerado un buen descriptor de la relación volumen/superficie molecular.<sup>103</sup> En la siguiente figura se realiza una descomposición del 2,3-dimetilbutano en subgrafos de orden 2 y el cálculo de su índice  ${}^2\chi$  para facilitar la comprensión del lector.

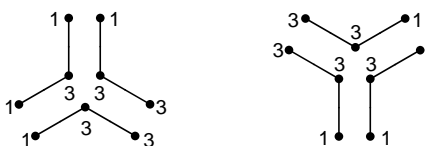
**1. Grafo:**



**2. Grado de cada vértice:**



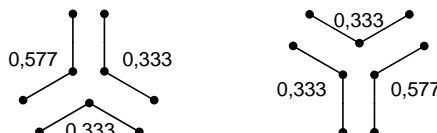
**3. Descomposición en subgrafos de orden 2:**



**4. Producto de los grados de los vértices que componen el subgrafo:**



**5. Inverso de la raíz cuadrada para cada número:**



$${}^2\chi = \sum (\delta_i \cdot \delta_j \cdot \delta_k)^{-0,5} = 4(0,577) + 4(0,333) = 2,486$$

**Figura A.56.** Cálculo del índice  ${}^2\chi$  para el grafo del 2,3-dimetilbutano.

**Índices Kier-Hall de tercer orden ( ${}^3\chi_p$ ,  ${}^3\chi_c$ ,  ${}^3\chi_{ch}$ ):** los índices de tercer orden engloban tres tipos de subgrafos, PATH, CLUSTER y CHAIN, respectivamente, y se calculan de la siguiente forma:

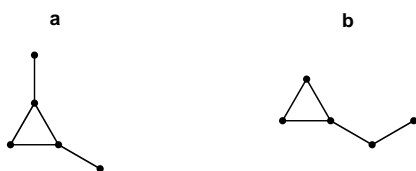
$${}^3\chi_t = \sum_{s=1}^n (\delta_i \cdot \delta_j \cdot \delta_k \cdot \delta_l)^{-1/2}$$

104 Kier LB, Murray WJ, Hall LH. Molecular connectivity. 4. Relationships to biological activities. *J. Med. Chem.*, **1975**; *18*(12): 1272-4.

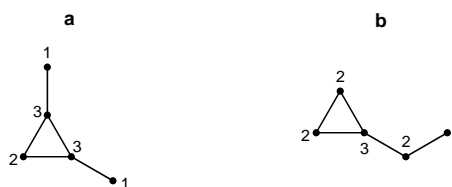
105 Jain DVS, Singh S, Gombar V. Correlations between topological features and physicochemical properties of molecules. *Proc. Indian Acad. Sci.*, **1984**; *93*(6): 927-45.

donde  $n$  es el número de subgrafos de orden tres de cada tipo  $t$ , y  $s$  designa a un subgrafo en particular, formado por los tres ejes entre los tres ( $i, j$  y  $k$  para el índice  ${}^3\chi_{ch}$ ) o cuatro vértices ( $i, j, k$  y  $l$  para los índices  ${}^3\chi_p$  y  ${}^3\chi_c$ ). Estos índices reflejan el grado de ramificación del subgrafo. El índice  ${}^3\chi_{ch}$  claramente detecta las sustituciones en ciclopropilos. El índice  ${}^3\chi_p$  puede distinguir las distintas ramificaciones entre isómeros.<sup>104</sup> Además, contiene información sobre la relación volumen/superficie molecular.<sup>103</sup> Para el índice  ${}^3\chi_c$ , que refleja el grado de ramificación general del grafo, no se han detectado redundancias en alcanos.<sup>105</sup> A continuación se comparan el 1,2-dimetilciclopropano y el etilciclopropano.

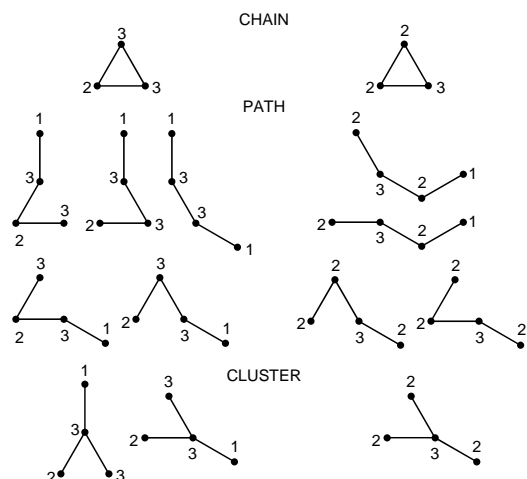
1. Grafo:



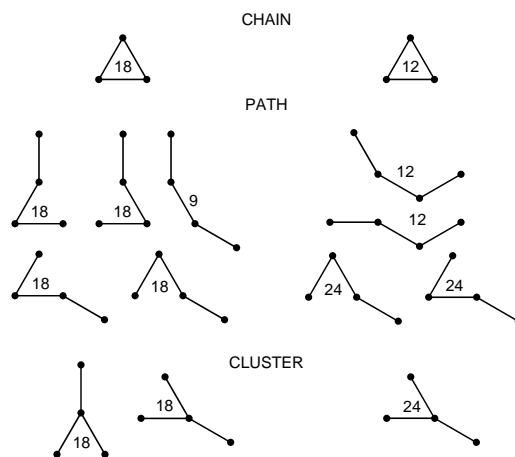
2. Grado de cada vértice:



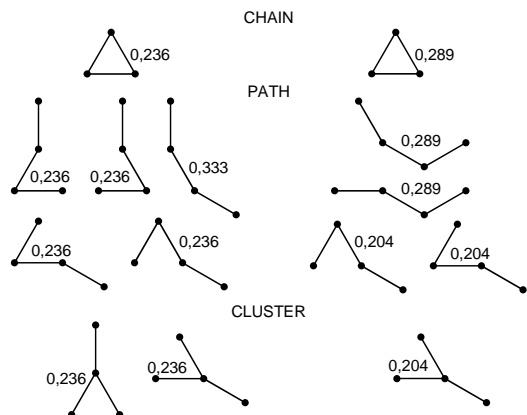
3. Descomposición en subgrafos de orden 3:



4. Producto de los grados de los vértices que componen el subgrafo:



5. Inverso de la raíz cuadrada para cada número:



(a)

$${}^3\chi_{ch} = \sum (\delta_i \cdot \delta_j \cdot \delta_k)^{-0.5} = 0,236$$

$${}^3\chi_p = \sum (\delta_i \cdot \delta_j \cdot \delta_k \cdot \delta_l)^{-0.5} = 0,333 + 4(0,236) = 1,276$$

$${}^3\chi_c = \sum (\delta_i \cdot \delta_j \cdot \delta_k \cdot \delta_l)^{-0.5} = 2(0,236) = 0,471$$

(b)

$${}^3\chi_{ch} = \sum (\delta_i \cdot \delta_j \cdot \delta_k)^{-0.5} = 0,289$$

$${}^3\chi_p = \sum (\delta_i \cdot \delta_j \cdot \delta_k \cdot \delta_l)^{-0.5} = 2(0,289) + 2(0,204) = 0,986$$

$${}^3\chi_c = \sum (\delta_i \cdot \delta_j \cdot \delta_k \cdot \delta_l)^{-0.5} = 0,204$$

Figura A.57. Cálculo de los índices  ${}^3\chi_p$ ,  ${}^3\chi_c$  y  ${}^3\chi_{ch}$  para el grafo del 1,2-dimetilciclopropano (a) y del etilciclopropano (b).

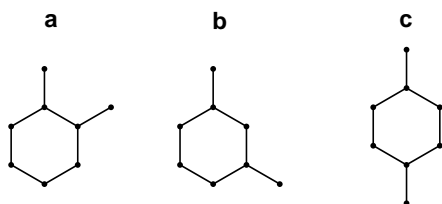
**Índices Kier-Hall de cuarto orden ( ${}^4\chi_p$ ,  ${}^4\chi_c$ ,  ${}^4\chi_{pc}$ ,  ${}^4\chi_{ch}$ ):** los índices de cuarto orden engloban todos los tipos de subgrafos: PATH, CLUSTER, PATH-CLUSTER y CHAIN, y se calculan:

$${}^4\chi_t = \sum_{s=1}^n (\delta_i \cdot \delta_j \cdot \delta_k \cdot \delta_l \cdot \delta_p)_s^{-1/2}$$

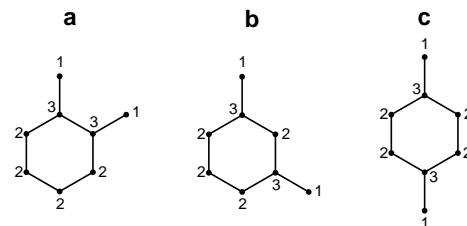
donde  $n$  es el número de subgrafos de cada tipo  $t$ , con cuatro ejes y cuatro ( $i, j, k$  y  $l$  para el índice  ${}^4\chi_{ch}$ ) o cinco vértices ( $i, j, k, l$  y  $p$  para el resto), y  $s$  designa un subgrafo en particular.

Del término que conocemos más datos es el  ${}^4\chi_{pc}$ , quizá porque es el término que refleja las características estructurales más importantes para el comportamiento de las moléculas orgánicas. Este índice aporta información sobre el número de sustituyentes en cicloalcanos, el modo de sustitución y la longitud de los sustituyentes superiores a tres enlaces. Aparece siempre que existe un punto de ramificación en una cadena o anillo, aumentando su valor con el número y grado de las ramificaciones. Cada sustituyente en un anillo contribuye por lo menos con dos términos a este índice.<sup>102</sup> Como ejemplo, se detalla a continuación el cálculo de dicho índice para *o*, *m* y *p*-xileno (**Figura A.58**), que variará según la posición relativa de los grupos metilo en el benceno.

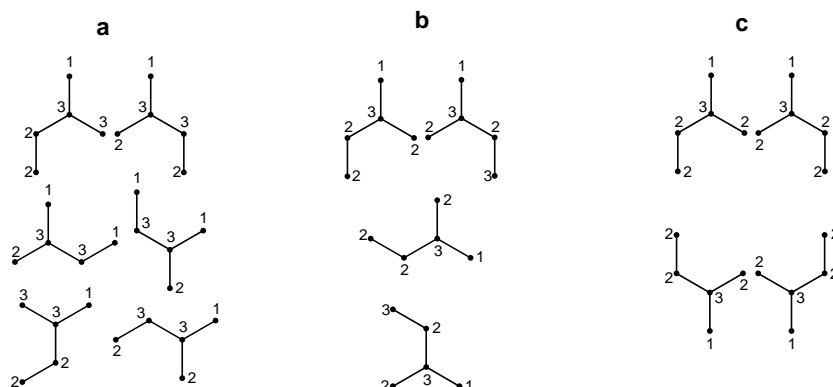
1. Grafo:



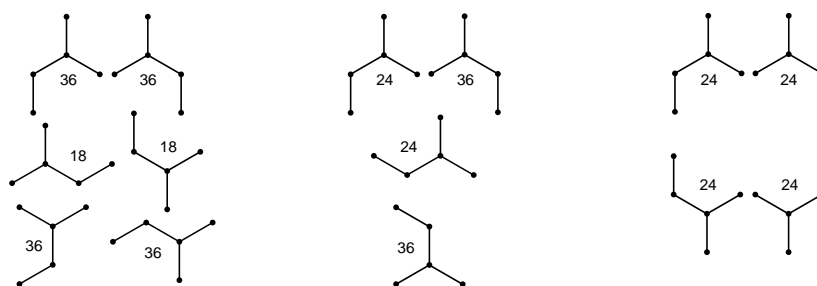
2. Grado de cada vértice:



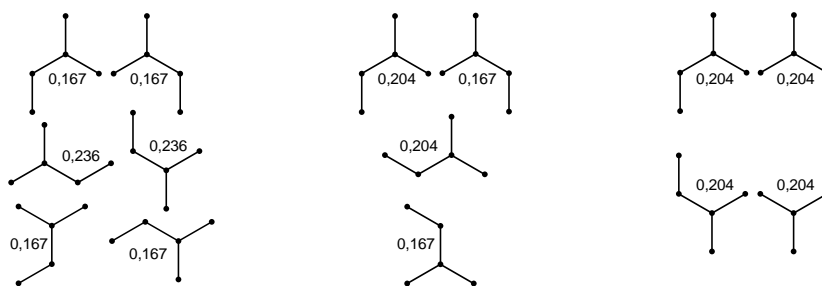
3. Descomposición en subgrafos tipo PATH-CLUSTER de orden 4:



4. Producto de los grados de los vértices que componen el subgrafo:



5. Inverso de la raíz cuadrada para cada número:



(a)  ${}^4\chi_{pc} = \sum(\delta_i \cdot \delta_j \cdot \delta_k \cdot \delta_l \cdot \delta_p)^{-0,5} = 2(0,236) + 4(0,167) = 1,138$

(b)  ${}^4\chi_{pc} = \sum(\delta_i \cdot \delta_j \cdot \delta_k \cdot \delta_l \cdot \delta_p)^{-0,5} = 2(0,204) + 2(0,167) = 0,742$

(c)  ${}^4\chi_{pc} = \sum(\delta_i \cdot \delta_j \cdot \delta_k \cdot \delta_l \cdot \delta_p)^{-0,5} = 4(0,204) = 0,816$

Figura A.58. Cálculo del índice  ${}^4\chi_{pc}$  para el grafo del orto-xileno (a), del meta-xileno (b) y del para-xileno (c).

**Índices Kier-Hall de orden superior:** el cálculo se realiza de forma análoga a los anteriores, si generalizamos para orden  $m$ , esto es, subgrafos con  $m$  enlaces:

$${}^m\chi_t = \sum_{i=1}^n \left\{ \left[ \prod_{i=1}^{m+1} (\delta_i) \right]^{-1/2} \right\}_s$$

donde  $n$  es el número de subgrafos de tipo  $t$  de orden  $m$  con  $m$  (para índices  ${}^m\chi_{ch}$ ) o  $m+1$  vértices (para el resto de índices),  $\delta_i$  es el grado de cada vértice y  $s$  designa un subgrafo en particular.

Puesto que muchas propiedades fisicoquímicas, tales como la densidad, refractividad molar, reactividad química, efectos catalíticos, etc., dependen del volumen o superficie molecular, se puede concluir que la interpretación de estos índices ofrece una visión significativa en la predicción de muchas propiedades experimentales.<sup>103</sup> Además, la serie completa de índices de Kier y Hall es una caracterización topológica única de la estructura química, es decir, son específicos de ella y no se repiten en su conjunto en ninguna otra.<sup>102</sup>

- *Índices de conectividad de valencia*

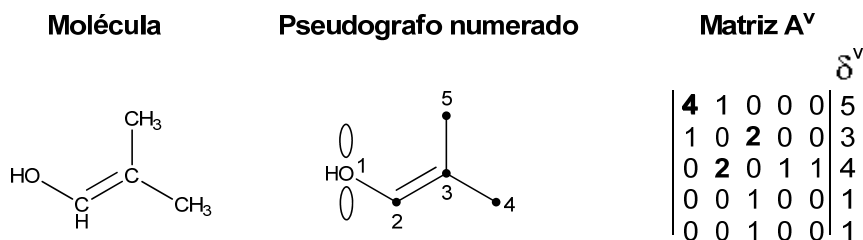
En los primeros estudios de conectividad, se utilizaban grafos químicos para obtener los índices topológicos, de manera que los dobles o triples enlaces se consideraban enlaces simples, y la contribución de los heteroátomos como el oxígeno y el nitrógeno se consideraba idéntica a la del carbono. Esto conduce a valores iguales de  ${}^m\chi_t$  para isómeros distintos tales como el 2-metil-1-propen-1-ol y el isopentano.

Para evitar este hecho, se definieron los índices de conectividad de valencia ( ${}^m\chi^v_t$ ),<sup>106</sup> válidos para pseudografos químicos, en los que se sustituye el grado topológico  $\delta$  por el grado de valencia topológica ( $\delta^v$ ), manteniendo los hidrógenos unidos a los heteroátomos para poder contabilizarlos aunque sin considerarlos como vértices. Se sustituye la matriz de adyacencia  $A$  por la matriz  $A^v$ , cuyos elementos son idénticos a los de la matriz original, salvo en la diferenciación entre enlaces simples, dobles o triples, y en la diagonal principal,

---

106 Kier LB, Hall LH. Molecular connectivity VII: specific treatment of heteroatoms. *J. Pharm. Sci.*, **1976**; 65(12): 1806-9.

que en la matriz  $A$  son ceros y en la  $A^v$  se contabilizan los electrones desapareados (**Figura A.59**).



**Figura A.59.** Transformación del 2-metil-1-propen-1-ol en una matriz  $A^v$ .

En el caso de los alcanos, el valor de los índices de conectividad de valencia coincide con el de los índices de Kier y Hall, puesto que la molécula no contiene ningún heteroátomo ni doble o triple enlace.

A partir de los índices  ${}^m\chi_t^v$  y  ${}^m\chi_t$ , Kier y Hall derivaron las diferencias ( ${}^mD_t$ ) y el cociente ( ${}^mC_t$ ) de éstos para el mismo orden y tipo. Las diferencias ( ${}^m\chi_t - {}^m\chi_t^v$ ) evalúan el momento dipolar de la molécula, mientras que los cocientes ( ${}^m\chi_t / {}^m\chi_t^v$ ) tienen en cuenta las densidades de carga con las que contribuye cada subgrafo, y representan una medida de la polarizabilidad de la molécula.<sup>102</sup>

- *Índices topológicos geométricos*

Factores tales como la forma y superficie de la molécula pueden condicionar la actividad farmacológica. De hecho, algunas propiedades físicas, fisicoquímicas e incluso biológicas dependen del tamaño molecular. Por ello se introducen los llamados índices topológicos geométricos, que se calculan a partir de la matriz de adyacencia y tienen en cuenta hechos estructurales simples complementarios a los índices anteriormente citados.<sup>107</sup> Los más representativos son:

N: número de vértices en el grafo.

R: número de ramificaciones del grafo. Se obtiene sumando el número de vértices de grado tres y cuatro.

PR0: número de vértices a los que se unen otros cuatro.

<sup>107</sup> Gálvez J, García-Domenech R, de Julián-Ortiz JV, Soler R. Topological approach to drug design. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1995; 35(2): 272-84.

PR1: número de pares de ramificaciones adyacentes (separadas por un solo eje).

PR2: número de pares de ramificaciones separadas por 2 ejes.

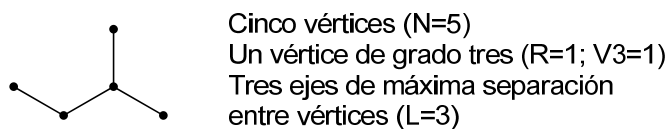
PR3: número de pares de ramificaciones separadas por tres ejes.

L: número de ejes que unen los vértices más separados entre sí por el camino más corto. Representa la longitud del grafo.

V3: número de vértices con grado tres.

V4: número de vértices con grado cuatro.

Para el ejemplo del isopentano:



**Figura A.60.** Índices topológicos geométricos significativos para el grafo del isopentano.

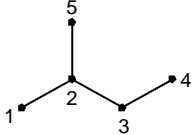
- *Índices topológicos de carga*

La distribución de cargas en la molécula juega un papel importante en algunas propiedades biológicas y farmacológicas, que puede ser evaluado a través de parámetros fisicoquímicos tales como el momento dipolar y la polarizabilidad electrónica. Por ello se hace necesario disponer de índices topológicos que posean información electrónica, como las diferencias y cocientes entre índices de valencia y no valencia descritos anteriormente y los índices topológicos de carga. Estos últimos se representan como  $G_k$  y  $J_k$ , y describen la distribución de la carga global en la molécula a través de la evaluación de la transferencia de carga entre pares de átomos.<sup>108</sup>

Para el cálculo de estos índices se hace uso de la matriz M, que es el producto de la matriz de adyacencia A por la matriz Q (**Figura A.61**). La matriz Q es la matriz de distancias inversas al cuadrado. Ésta tiene como elementos  $q_{ij}$  el valor de la inversa del cuadrado de la distancia topológica (número de ejes) que separan el vértice  $i$  del  $j$ . Este valor será cero cuando  $i = j$ .

<sup>108</sup> Gálvez J, García-Domenech R, Salabert MT, Soler R. Charge Indexes. New topological descriptors. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1994; 34(3): 520-5.





$$A = \begin{vmatrix} 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 1 & 0 & 1 \\ 0 & 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \end{vmatrix}$$

$$Q = \begin{vmatrix} 0 & 1 & 1/4 & 1/9 & 1/4 \\ 1 & 0 & 1 & 1/4 & 1 \\ 1/4 & 1 & 0 & 1 & 1/4 \\ 1/9 & 1/4 & 1 & 0 & 1/9 \\ 1/4 & 1 & 1/4 & 1/9 & 0 \end{vmatrix}$$

$$M = A \cdot Q = \begin{vmatrix} 1 & 0 & 1 & 1/4 & 1 \\ 1/2 & 3 & 1/2 & 11/9 & 1/2 \\ 10/9 & 1/4 & 2 & 1/4 & 10/9 \\ 1/4 & 1 & 0 & 1 & 1/4 \\ 1 & 0 & 1 & 1/4 & 1 \end{vmatrix}$$

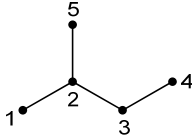
**Figura A.61.** Cálculo de la matriz  $M$  para el grafo numerado del isopentano.

Se definen los términos de carga  $TC$  como  $TC_{ij} = m_{ij} - m_{ji}$ , donde  $m$  representa cada uno de los elementos de la matriz  $M$ .

Para  $i = j$  el término  $m_{ij}$  representa el grado topológico del vértice, que coincide con el valor de los elementos de la diagonal principal de la matriz  $M$ .

Para  $i \neq j$  el término  $TC_{ij}$  representa una medida de la carga neta transferida desde el átomo  $j$  al  $i$ . Por ello, cuando este término toma valor negativo será el átomo  $i$  el que transfiere carga al  $j$ .

En el caso del isopentano:



$$M = \begin{vmatrix} 1 & 0 & 1 & 1/4 & 1 \\ 1/2 & 3 & 1/2 & 11/9 & 1/2 \\ 10/9 & 1/4 & 2 & 1/4 & 10/9 \\ 1/4 & 1 & 0 & 1 & 1/4 \\ 1 & 0 & 1 & 1/4 & 1 \end{vmatrix}$$

$$TC_{1,2} = m_{1,2} - m_{2,1} = 0 - 1/2 = -1/2$$

$$TC_{1,3} = m_{1,3} - m_{3,1} = 1 - 10/9 = -1/9$$

$$TC_{1,4} = m_{1,4} - m_{4,1} = 1/4 - 1/4 = 0$$

$$TC_{1,5} = m_{1,5} - m_{5,1} = 1 - 1 = 0$$

$$TC_{2,3} = m_{2,3} - m_{3,2} = 1/2 - 1/4 = 1/4$$

$$TC_{2,4} = m_{2,4} - m_{4,2} = 11/9 - 1 = 2/9$$

$$TC_{2,5} = m_{2,5} - m_{5,2} = 1/2 - 0 = 1/2$$

$$TC_{3,4} = m_{3,4} - m_{4,3} = 1/4 - 0 = 1/4$$

$$TC_{3,5} = m_{3,5} - m_{5,3} = 10/9 - 1 = 1/9$$

$$TC_{4,5} = m_{4,5} - m_{5,4} = 1/4 - 1/4 = 0$$

$$TC_{1,1} = TC_{2,2} = TC_{3,3} = TC_{4,4} = TC_{5,5} = 0$$

**Figura A.62.** Cálculo de los términos de carga ( $TC$ ) para el grafo numerado del isopentano.

Se define el índice  $G_k$  (índice de carga  $G$  para un orden  $k$ ) como la suma en valor absoluto de los términos  $TC_{ij}$  definidos para los vértices  $i$  y  $j$  situados a una distancia  $d_{ij}$  igual a  $k$ :

$$G_k = \sum_{j=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N |TC_{ij}| \delta(k, d_{ij})$$

donde  $k$  es un valor prefijado de distancia entre los vértices  $i$  y  $j$ ;  $\delta$  representa el símbolo delta de Kronecker ( $\delta(k, d_{ij}) = 1$  si  $k = d_{ij}$ ;  $\delta(k, d_{ij}) = 0$  si  $k \neq d_{ij}$ );  $N$  es el número de vértices del grafo; y  $d_{ij}$  es la distancia existente entre los vértices  $i$  y  $j$ . Estos nuevos índices evalúan el total de la carga transferida entre los átomos situados a una distancia topológica  $k$ . Para una molécula lineal existirán  $N-1$  valores para  $G_k$  (desde  $G_1$  hasta  $G_{N-1}$ ).

Se define el índice  $J_k$  como:

$$J_k = \frac{G_k}{(N-1)}$$

donde  $N$  es el número de átomos. Este índice representa el valor de carga transferida por cada enlace, siendo el número de enlaces  $N-1$  para compuestos no cíclicos.

Para el ejemplo del isopentano:

$$G_1 = |TC_{1,2}| + |TC_{2,3}| + |TC_{2,5}| + |TC_{3,4}| = 0,5 + 0,25 + 0,5 + 0,25 = 1,5$$

$$G_2 = |TC_{1,3}| + |TC_{1,5}| + |TC_{2,4}| + |TC_{3,5}| = 0,111 + 0 + 0,222 + 0,111 = 0,444$$

$$G_3 = |TC_{1,4}| + |TC_{4,5}| = 0 + 0 = 0$$

$$J_1 = G_1 / 4 = 0,375$$

$$J_2 = G_2 / 4 = 0,111$$

$$J_3 = 0$$

Del mismo modo que se definen los índices de conectividad de valencia, también se definen los índices de carga de valencia,  $G_k^v$  y  $J_k^v$ , sustituyendo la matriz de adyacencia  $A$  por la  $A^v$ .

- *Índices electrotopológicos atómicos*

Kier y Hall, basándose en el hecho que cada átomo dentro del grafo molecular posee un estado electrónico, que varía influenciado por el resto de átomos de la molécula, introdujeron los índices electrotopológicos atómicos.<sup>109</sup>

El estado electrotopológico varía de una molécula a otra dependiendo de las características estructurales de la misma, siendo el valor de este índice mayor para átomos muy electronegativos o terminales, y menor para átomos que se sitúan en la parte más interna de la molécula o cerca de átomos altamente electronegativos. Estos índices son una medida de la accesibilidad electrónica del átomo y puede interpretarse como la probabilidad de interacción con otra molécula. No obstante, no pueden considerarse como descriptores electrónicos puros, sino que describen la polarizabilidad atómica y la accesibilidad estérica.<sup>91</sup> Se calcula de la siguiente manera:

$$S_i = I_i + \Delta I$$

donde  $I$  es el estado electrotopológico intrínseco del átomo y viene determinado por:

$$I = \frac{\delta^v + 1}{\delta}$$

siendo  $\delta^v$  y  $\delta$  la valencia (para heteroátomos) y grado (para átomos de carbono) topológicos, respectivamente. El valor intrínseco es mayor para átomos electronegativos, especialmente aquellos con pocos enlaces sencillos dentro del grafo molecular.<sup>102</sup> En la siguiente tabla se enumeran los distintos tipos de átomos con sus respectivos valores de estado electrotopológico intrínseco:

---

109 Kier LB, Hall LH. The E-state as an extended free valence. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1997**; 37(3): 548-52.

**Tabla A.2.** Relación de los tipos de átomos o grupos funcionales (Grupo) con sus correspondientes valores de estado electrotopológico intrínseco ( $I$ ).<sup>95</sup>

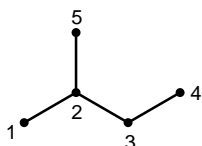
Grupo	$I$	Grupo	$I$	Grupo	$I$
>C<	1,250	-O-	3,500	-SH	3,222
>CH-	1,333	≡CH, -NH <sub>2</sub>	4,000	-S-	1,833
-CH <sub>2</sub> -	1,500	=NH	5,000	=S	3,667
>C=	1,667	≡N, -OH	6,000	-Cl	4,111
-CH <sub>3</sub> , =CH-, >N-	2,000	=O	7,000	-Br	2,750
≡C-, -NH-	2,500	-F	8,000	-I	2,120
=CH <sub>2</sub> , =N-	3,000				

El término  $\Delta I$  viene definido por:

$$\Delta I = \sum \frac{I_i - I_j}{r_{ij}^2}$$

donde  $I_i$  y  $I_j$  son los estados electrotopológicos de los átomos  $i$  y  $j$  (siendo  $i \neq j$ ), cuya resta representa un gradiente de electronegatividad, y  $r_{ij}^2$  es el cuadrado del número de vértices entre el átomo  $i$  y el átomo  $j$ , ambos incluidos.

Para cada tipo de átomo se puede calcular el índice electrotopológico de tipo suma,  $S$ , en el que se suman todos los valores  $S_i$  de un mismo tipo de átomo. Por ejemplo, el índice electrotopológico que describe los metilos de una molécula se representa como  $S_{(CH_3)}$ , siendo  $S_{(>N)}$  el índice que describiría los nitrógenos terciarios de la molécula (**Figura A.63**).



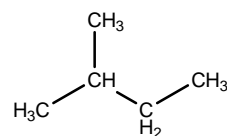
$$S_1 = I_1 + \Delta I_{1-2} + \Delta I_{1-3} + \Delta I_{1-4} + \Delta I_{1-5}$$

$$S_2 = I_2 + \Delta I_{2-1} + \Delta I_{2-3} + \Delta I_{2-4} + \Delta I_{2-5}$$

$$S_3 = I_3 + \Delta I_{3-1} + \Delta I_{3-2} + \Delta I_{3-4} + \Delta I_{3-5}$$

$$S_4 = I_4 + \Delta I_{4-1} + \Delta I_{4-2} + \Delta I_{4-3} + \Delta I_{4-5}$$

$$S_5 = I_5 + \Delta I_{5-1} + \Delta I_{5-2} + \Delta I_{5-3} + \Delta I_{5-4}$$



$$S_1 = 2 + 0,167 + 0,056 + 0 + 0 = 2,222$$

$$S_2 = 1,333 - 0,167 - 0,042 - 0,074 - 0,167 = 0,884$$

$$S_3 = 1,5 - 0,056 + 0,042 - 0,125 - 0,056 = 1,306$$

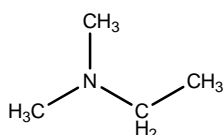
$$S_4 = 2 + 0 + 0,074 + 0,125 + 0 = 2,199$$

$$S_5 = 2 + 0 + 0,167 + 0,056 + 0 = 2,222$$

$$S_{(-CH3)} = S_1 + S_4 + S_5 = 6,643$$

$$S_{(-CH2-)} = S_3 = 1,306$$

$$S_{(>CH-)} = S_2 = 0,884$$



$$S_1 = 2 + 0 + 0,056 + 0 + 0 = 2,056$$

$$S_2 = 2 + 0 + 0,125 + 0 + 0 = 2,125$$

$$S_3 = 1,5 - 0,056 - 0,125 - 0,125 - 0,056 = 0,763$$

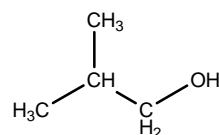
$$S_4 = 2 + 0 + 0 + 0,125 + 0 = 2,125$$

$$S_5 = 2 + 0 + 0 + 0,056 + 0 = 2,056$$

$$S_{(-CH3)} = S_1 + S_4 + S_5 = 6,236$$

$$S_{(-CH2-)} = S_3 = 1,139$$

$$S_{(>N-)} = S_2 = 2,125$$



$$S_1 = 2 + 0,167 + 0,056 - 0,25 + 0 = 1,972$$

$$S_2 = 1,333 - 0,167 - 0,042 - 0,519 - 0,167 = 0,440$$

$$S_3 = 1,5 - 0,056 + 0,042 - 1,125 - 0,056 = 0,306$$

$$S_4 = 6 + 0,25 + 0,519 + 1,125 + 0,25 = 8,144$$

$$S_5 = 2 + 0 + 0,167 + 0,056 - 0,25 = 1,972$$

$$S_{(-CH3)} = S_1 + S_5 = 3,944$$

$$S_{(-CH2-)} = S_3 = 0,306$$

$$S_{(>CH-)} = S_2 = 0,440$$

$$S_{(-OH)} = S_4 = 8,144$$

**Figura A.63.** Cálculo de los tres índices electrotopológicos atómicos posibles del isopentano.

Nótese que, teniendo en cuenta toda la molécula, cuando la suma de las diferencias del estado electrotopológico intrínseco para un tipo de átomo equivale a cero ( $\sum \Delta I_i = 0$ ), el índice topológico de tipo suma de ese tipo de átomo equivale a la suma del estado electrotopológico intrínseco de ese tipo de átomo ( $\sum S_i = \sum I_i$ ), lo que denota que la suma de los potenciales de interacción en todos los átomos de la molécula es igual a cero. Esto corresponde a un principio de equiparación de electronegatividad y significa que la suma de los estados electrotopológicos en la

molécula depende sólo del número y tipo de átomos, no de sus interacciones mutuas.<sup>95</sup>

- *Índices basados en la teoría de la información*

Shannon y cols., en 1949, postularon que el contenido medio de información de un sistema con  $N$  elementos distribuidos en  $K$  clases equivalentes,  $N_1, N_2, \dots, N_K$ , (donde  $N_K$  es el número de elementos en la clase  $K$ ) es una medida de la diversidad de elementos en un conjunto.<sup>110</sup> Si los elementos del conjunto son diferentes entre ellos (no hay relaciones de equivalencia conocidas), habrá  $K = N$  clases distintas. Cuando todos los elementos del conjunto pertenecen a la misma clase equivalente,  $K = 1$ . A partir de estos datos puede construirse una distribución de probabilidad  $P \{P_1, P_2, \dots, P_K\}$  tal que:

$$\text{Shannon } I = -\sum_i P_i \log_2 P_i \quad \text{donde:} \quad P_i = \frac{N_i}{N}$$

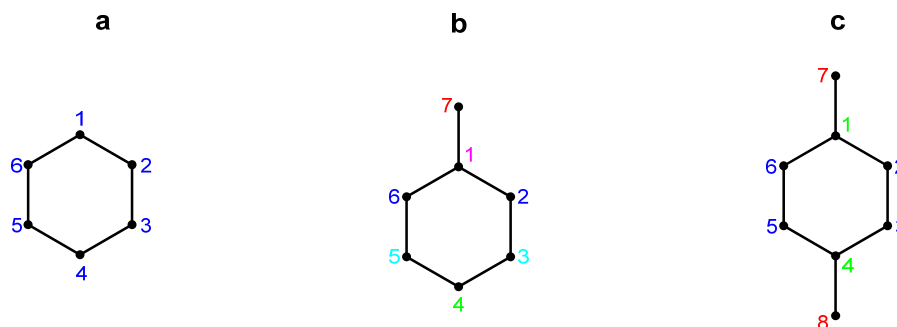
siendo  $P_i$ , la probabilidad de seleccionar un elemento de la clase equivalente  $i$  al azar,  $N_i$  el número de elementos en una determinada clase equivalente y  $N$  el número total de elementos.

Este índice, basado en la teoría de la información, puede aplicarse a una molécula con el fin de cuantificar su diversidad atómica. Los vértices de su grafo químico son indistinguibles si al permutarse se siguen preservando sus relaciones de adyacencia. Si se agrupan los vértices topológicamente indistinguibles en clases, el tamaño relativo de éstas induce una distribución de probabilidad a partir de la cual se calcula el índice. Por ejemplo, el grafo del ciclohexano es totalmente simétrico, donde todos los vértices son topológicamente indistinguibles (**Figura A.64a**). Sin embargo, si tenemos en cuenta el del metilciclohexano, sólo los vértices en posiciones 2 y 6, y en posiciones 3 y 5 son indistinguibles entre sí (**Figura A.64b**). Para el grafo del 1,4-dimetilciclohexano, los cuatro vértices en posiciones 2, 3, 5, y 6, los vértices 1 y 4, y los vértices 7 y 8

---

<sup>110</sup> Shannon CE, Weaver W. *The Mathematical Theory of Communication*; University of Illinois Press: Urbana, 1949.

son indistinguibles entre sí (**Figura A.64c**). Así, debido a su limitada simetría, el grafo del metilciclohexano tiene el índice más alto.<sup>111</sup>



(a)  $ShannonI = -1 \cdot \log_2(1) = 0$

(b)  $ShannonI = -3[(1/7) \cdot \log_2(1/7)] - [2(2/7) \cdot \log_2(2/7)] = 2,236$

(c)  $ShannonI = -(4/8) \cdot \log_2(1/2) - [2(2/8) \cdot \log_2(1/4)] = 1,5$

**Figura A.64.** Separación por colores de conjuntos de vértices indistinguibles y cálculo del índice ShannonI para cada grafo.

▪ *Índices de forma molecular*

Los índices topológicos de forma Kappa<sup>112</sup> son la base de un método de cuantificación de la estructura molecular, en la cual las características de la forma de un grafo químico de  $n$  vértices se engloban en tres índices ( ${}^1\kappa$ ,  ${}^2\kappa$  y  ${}^3\kappa$ ), que derivan del número de subgrafos tipo PATH de orden 1, 2 y 3, respectivamente. Se definen como:

$${}^1\kappa = n(n-1)^2/({}^1P)^2$$

$${}^2\kappa = (n-1)(n-2)^2/({}^2P)^2$$

$${}^3\kappa = (n-3)(n-2)^2/({}^3P)^2 \text{ [para } n \text{ pares; } n > 3]$$

$${}^3\kappa = (n-1)(n-3)^2/({}^3P)^2 \text{ [para } n \text{ impares; } n > 3]$$

donde:

${}^1P$  = número de subgrafos tipo PATH en el grafo de orden 1

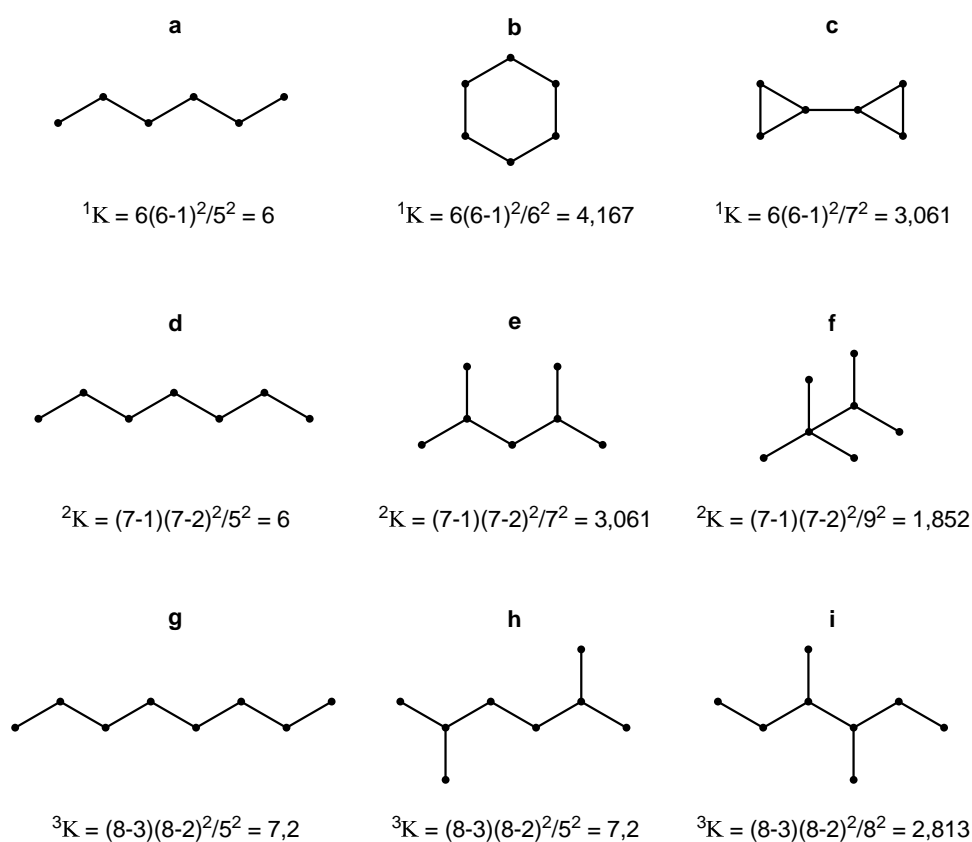
${}^2P$  = número de subgrafos tipo PATH en el grafo de orden 2

${}^3P$  = número de subgrafos tipo PATH en el grafo de orden 3

<sup>111</sup> Vogt M, Wassermann AM, Bajorath J. Application of information-theoretic concepts in chemoinformatics. *Information*, **2010**; 1(2): 60-73.

<sup>112</sup> Kier LB. A shapes index from molecular graphs. *Quant. Struct.-Act. Relat.*, **1985**; 4(3): 109-16.

El índice  ${}^1\kappa$  codifica información acerca de la complejidad estructural, donde los grafos acíclicos toman el valor máximo de  $n$ , y va disminuyendo conforme aumenta el número de ciclos (**Figura A.65a-c**). El índice  ${}^2\kappa$  codifica información acerca de la densidad espacial de los átomos dentro de la molécula. Los grafos lineales toman el valor máximo de  $n-1$ , disminuyendo conforme aumenta el número y grado de ramificaciones (**Figura A.65d-f**). El índice  ${}^3\kappa$  codifica información acerca de la centralidad de las ramificaciones. Su valor es mayor cuando el grafo no tiene ramificaciones o cuando éstas se sitúan en sus extremos<sup>95</sup> (**Figura A.65g-i**).



**Figura A.65.** Cálculo de los índices Kappa para una serie de grafos.

Para tener en cuenta las diferentes contribuciones de forma y estados de hibridación de los heteroátomos, se propusieron los siguientes índices de forma  $\alpha$ -modificados:<sup>113</sup>

$${}^1\kappa_\alpha = n + \alpha(n + \alpha - 1)^2 / ({}^1P + \alpha)^2$$

$${}^2\kappa_\alpha = (n + \alpha - 1)(n + \alpha - 2)^2 / ({}^2P + \alpha)^2$$

113 Kier LB. Distinguishing atom differences in a molecular graph shape index. *Quant. Struct.-Act. Relat.*, **1986**; 5(1): 7-12.



$${}^3\kappa_\alpha = (n+\alpha-3)(n+\alpha-2)^2/({}^3P+\alpha)^2 \text{ [para } n \text{ pares; } n>3]$$

$${}^3\kappa_\alpha = (n+\alpha-1)(n+\alpha-3)^2/({}^3P+\alpha)^2 \text{ [para } n \text{ impares; } n>3]$$

donde  $\alpha$  es un parámetro derivado de la relación entre los radios covalentes ( $R$ ) de un átomo  $i$  y de un átomo de carbono  $sp^3$ :

$$\alpha = \Sigma[(R_i/R_{C_{sp^3}})-1]$$

Los únicos valores de  $\alpha$  distintos de cero son aportados por heteroátomos o átomos de carbono con un estado de hibridación distinto de  $sp^3$  (**Tabla A.3**).

**Tabla A.3.** Relación de diversos átomos con distintos estados de hibridación y sus valores de radio covalente ( $R$ ) y parámetro  $\alpha$ .<sup>95</sup>

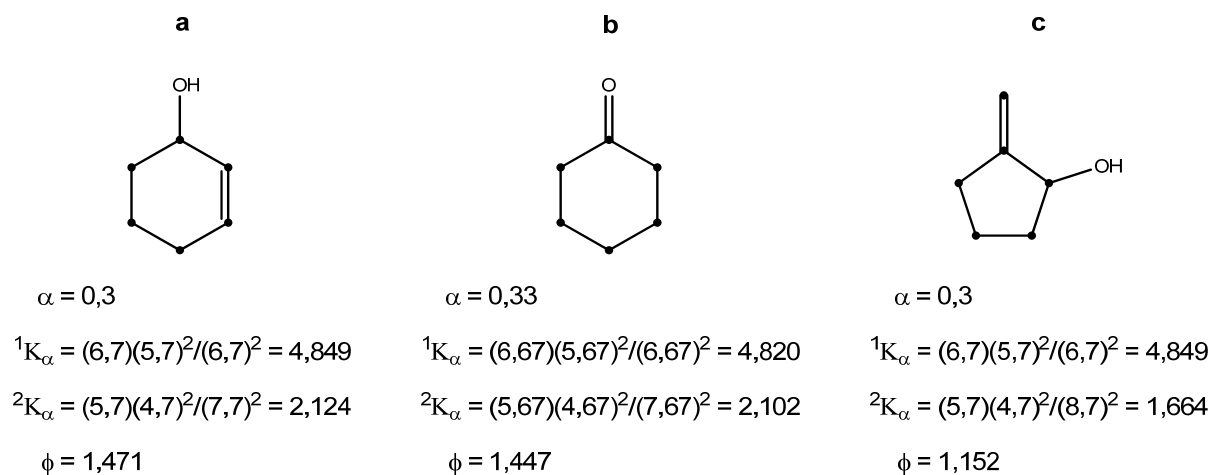
Átomo	$R(\text{Å})$	$\alpha$	Átomo	$R(\text{Å})$	$\alpha$
$C_{sp^3}$	0,77	0	$P_{sp^3}$	1,10	0,43
$C_{sp^2}$	0,67	-0,13	$P_{sp^2}$	1,00	0,30
$C_{sp}$	0,60	-0,22	$S_{sp^3}$	1,04	0,35
$N_{sp^3}$	0,74	-0,04	$S_{sp^2}$	0,94	0,22
$N_{sp^2}$	0,62	-0,20	F	0,72	-0,07
$N_{sp}$	0,55	-0,29	Cl	0,99	0,29
$O_{sp^3}$	0,74	-0,04	Br	1,14	0,48
$O_{sp^2}$	0,62	-0,20	I	1,33	0,73

El índice *Phia* ( $\Phi$ ), derivado de  ${}^1\kappa_\alpha$  y  ${}^2\kappa_\alpha$ , está relacionado con el número de enlaces giratorios, y por tanto, con la flexibilidad molecular, aumentando su valor al incrementar esta propiedad.<sup>114</sup> Se define como:

$$\Phi = ({}^1\kappa_\alpha \cdot {}^2\kappa_\alpha) / n$$

donde  $n$  es el número de vértices del pseudografo, lo que permite la comparación entre isómeros (**Figura A.66**).

<sup>114</sup> Kier LB. An index of molecular flexibility from kappa shape attributes. *Quant. Struct.-Act. Relat.*, 1989; 8(3): 221-4.



**Figura A.66.** Cálculo de los índices  ${}^1K_\alpha$ ,  ${}^2K_\alpha$  y  $\Phi$  para los pseudografos de los isómeros ciclohex-2-enol (a), ciclohexanona (b) y 2-metilciclopentanol (c).

▪ *Otros índices*

SumI: suma del valor de estado intrínseco  $I^{109}$

Sumdel I: suma del valor de  $\Delta I^{109}$

Platt F: suma de los grados de los ejes  $(\sum \delta_E)^{115}$

Knotp: diferencia entre los índices  ${}^3\chi_c$  y  ${}^4\chi_{pc}$

Knotpv: diferencia entre los índices  ${}^3\chi^v_c$  y  ${}^4\chi^v_{pc}$

Nclass: número de tipos de vértices topológicamente equivalentes

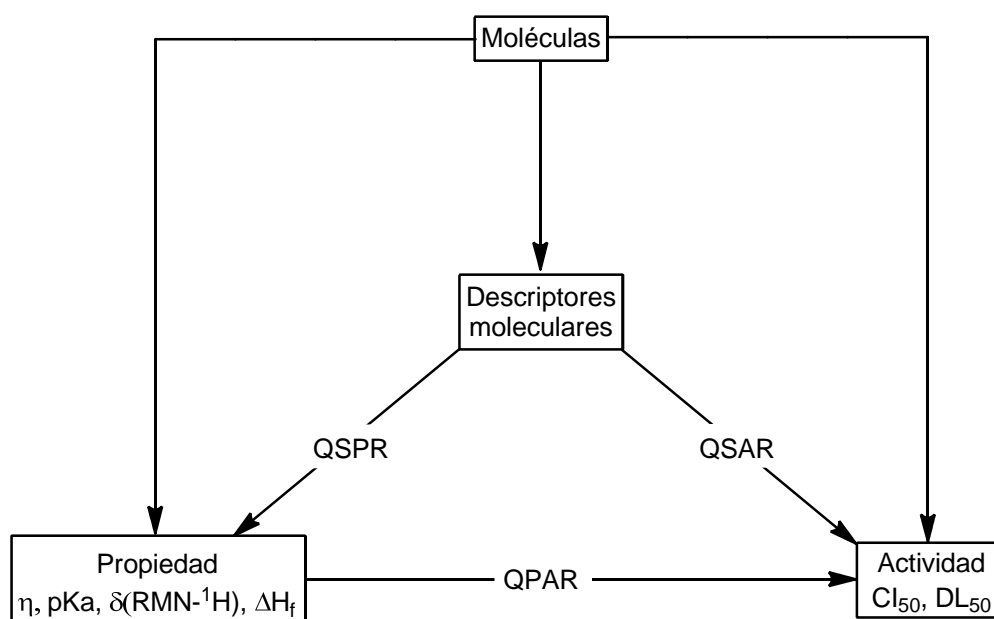
Numhbd: número de átomos dadores de hidrógeno

Numhba: número de átomos aceptores de hidrógeno

115 Platt JR. Influence of neighbor bonds on additive bond properties in paraffins. *J. Chem. Phys.*, **1947**; 15(6): 419-20.

## 2.4. RELACIONES CUANTITATIVAS ESTRUCTURA ACTIVIDAD/PROPIEDAD

El objetivo de los métodos QSAR/QSPR es obtener relaciones cuantitativas entre la estructura de una molécula y su actividad (*Quantitative Structure-Activity Relationships*) o propiedad (*Quantitative Structure-Property Relationships*). Las relaciones entre la estructura química y las diversas propiedades fisicoquímicas y actividades farmacológicas se pueden obtener mediante el uso de descriptores moleculares. También se han estudiado las relaciones entre una propiedad física y una actividad farmacológica (QPAR, *Quantitative Property-Activity Relationships*), como la citotoxicidad o la potencia de los anestésicos locales y el coeficiente de partición octanol/agua, así como entre la longitud de cadena o la tensión superficial y la narcosis. En estos casos, el cálculo de los descriptores moleculares no es necesario.<sup>95</sup> (**Esquema A.5**).



**Esquema A.5.** Relaciones de una molécula con una propiedad y/o actividad estudiada y sus descriptores moleculares. La propiedad puede ser alguna medida de la reactividad química (p.e. pKa), una propiedad física (p.e. viscosidad), una característica espectroscópica de una molécula (desplazamiento químico  $[\delta]$  de protones en el espectro de RMN) o una función termodinámica (p.e.  $\Delta H_f$ ), mientras que la actividad puede ser la  $\text{CI}_{50}$  (concentración inhibitoria media) o la  $\text{DL}_{50}$  (dosis letal media).<sup>95</sup>

Los descriptores moleculares son una serie de parámetros que a través de valores numéricos representan una información estructural, electrónica, o estérica, así como una determinada propiedad fisicoquímica de las moléculas en estudio. Se clasifican en:

- Descriptores fisicoquímicos: pueden determinarse experimentalmente o mediante el uso de métodos teóricos y computacionales.
- Descriptores topológicos: describen la conectividad de la molécula.
- Descriptores mecanocuánticos: determinados mediante el cálculo de las densidades de carga localizadas en cada átomo.
- Descriptores geométricos: se derivan de la estructura molecular.

No todos los descriptores pertenecen a una única categoría. Por ejemplo, los índices topográficos se derivan usando la información sobre la topología y la geometría de las moléculas. Los índices electrotopológicos se basan en la topología y la distribución de carga. Éstos se pueden clasificar como descriptores moleculares combinados.<sup>95</sup>

Es razonable el hecho de que compuestos con una estructura similar deban poseer también una actividad semejante, o al menos puntos comunes en las partes responsables de la actividad. El punto de partida en un estudio QSAR implica la existencia de un cabeza de serie, que se define como un producto que muestra actividad en relación con el objetivo terapéutico buscado. En la búsqueda de un cabeza de serie se pueden emplear productos activos presentes en fármacos utilizados en la medicina tradicional o nuevos compuestos derivados de la síntesis química.<sup>116</sup>

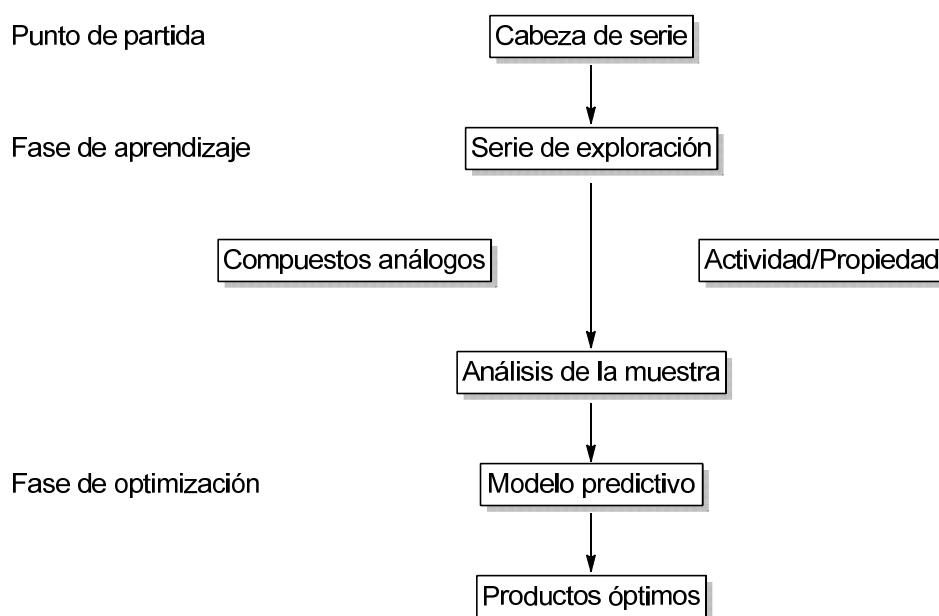
Una vez encontrado y definido el cabeza de serie se hace necesario crear una serie de exploración con el objetivo de encontrar nuevos y mejores medicamentos con mayor actividad y biodisponibilidad, menor toxicidad y mínimas reacciones secundarias. En el diseño de la serie de exploración se define el alcance de la variación estructural de los compuestos análogos y se seleccionan los descriptores que los caracterizarán. Es frecuente encontrar puntos singulares o *outliers*, compuestos de características especiales, normalmente derivados con grupos cargados o muy voluminosos con comportamientos biológicos atípicos (no son absorbidos, son tóxicos, inactivos...), responsables en gran parte de la

---

<sup>116</sup> Pastor M, Álvarez-Builla J. Técnicas QSAR en diseño de fármacos. *An. Real Acad. Farm.*, 1992; Monografía I. Diseño de medicamentos: 69-92.

varianza de un descriptor, por lo que no suele ser recomendable incluirlos en la serie.<sup>116</sup>

Una vez descritas las moléculas, se puede utilizar una gran variedad de técnicas para el análisis de datos experimentales en combinación con los descriptores moleculares. La elección del método para el tratamiento de datos es en gran medida independiente de los descriptores aplicados. Esta flexibilidad los hace especialmente atractivos y eficaces para la construcción de modelos predictivos de propiedades físicas, químicas y biomédicas de compuestos (se explicarán a continuación). Una vez obtenido un buen modelo predictivo es posible seleccionar los compuestos con actividad óptima dentro de la serie<sup>116</sup> (**Esquema A.6**).



**Esquema A.6.** Pasos comunes en la metodología QSAR/QSPR.<sup>116</sup>

A mediados de la década de 1960, Hansch y Fujita diseñaron el modelo paramétrico,<sup>117</sup> en el que se correlaciona la actividad biológica de series de productos con sus propiedades fisicoquímicas. El modelo paramétrico postula que la actividad de un fármaco en los sistemas biológicos, en los que intervienen fenómenos de absorción, distribución, interacción con biomoléculas..., es una función cuantificable (aunque no siempre sea sencilla ni evidente) de sus

<sup>117</sup> Hansch C, Maloney PP, Fujita T, Muir RM. Correlation of biological activity of phenoxyacetic acids with Hammett substituent constants and partition coefficients. *Nature*, **1962**; *194(4824)*: 178-80.

características fisicoquímicas, una explicación matemática recogida en la siguiente ecuación:

$$A = a + bx_h + cx_e + dx_s$$

donde  $A$  es la actividad;  $a$ ,  $b$ ,  $c$  y  $d$  son los coeficientes de regresión; y los parámetros  $x_h$ ,  $x_e$ ,  $x_s$  representan respectivamente descriptores hidrofóbicos, electrónicos o estéricos de los sustituyentes (p.e. constante  $\sigma$  de Hammett, constante  $\pi$  de Hansch, constante  $E_s$  de Taft, etc).<sup>118</sup>

El método más simple para obtener estas relaciones cuantitativas es el análisis de regresión multilínea por mínimos cuadrados entre la actividad medida experimentalmente (variable dependiente) y el conjunto de descriptores moleculares (variables independientes), que se eligen mediante un algoritmo que los combina de forma óptima, ya que a cada paso del proceso elige al descriptor con mejor coeficiente de correlación y lo introduce en la ecuación, o elimina a los menos significativos, repitiendo el proceso hasta alcanzar la mejor ecuación.

No obstante, hay que tener siempre presente que las predicciones realizadas a partir de una función de regresión lineal no son fiables si entre la propiedad y los descriptores seleccionados no hay un alto grado de correlación lineal. Además, debe analizarse su calidad estadística y cuanto mayor sea ésta, más fiable y exacta será la predicción. También es recomendable que se mantenga el número de descriptores muy por debajo de los datos experimentales, para evitar así las posibles correlaciones fortuitas, de forma que la relación óptima entre ellos sea aquella que consiga una mejor predicción con el mínimo número de descriptores posible, para evitar al máximo la variación aleatoria.<sup>119</sup>

Las relaciones estructura-actividad que propone este modelo permiten buscar los productos más activos entre un conjunto de derivados de una molécula cabeza de serie o pertenecientes a la misma familia, debido sobre todo a que se utilizan descriptores de los sustituyentes y no de la estructura global.

---

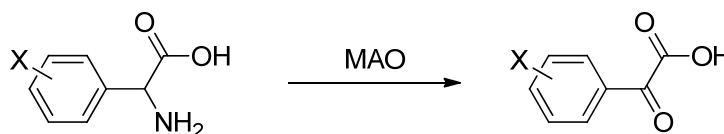
118 Hansch C, Leo A. *Substituent Constants for Correlation Analysis in Chemistry and Biology*; Wiley: New York, 1979.

119 Hawkins DM. The problem of overfitting. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 2004; 44(1): 1-12.

Como ejemplo de análisis QSAR, la siguiente ecuación<sup>120</sup> relaciona cuantitativamente la actividad de una enzima extraída de riñón de cordero con actividad de monoamino oxidasa (MAO) frente a fenilglicinas diversamente sustituidas en *meta* y *para*:

$$\log(1/K_m) = 2,3 + 0,3\pi_x + 0,6\sigma_x + 0,21Es_x$$

Como puede observarse, la afinidad de la enzima por el sustrato, deducida por la constante de Michaelis-Menten ( $K_m$ ), depende de los parámetros  $\pi$ ,  $\sigma$  y  $Es$ . La influencia de los parámetros de lipofilia y estéricos ( $\pi$  y  $Es$ ) es pequeña, siendo el parámetro electrónico  $\sigma$  el que más influye. Su coeficiente positivo indica que los sustituyentes atrayentes de electrones deben facilitar esta reacción metabólica (**Esquema A.7**).



**Esquema A.7.** Transformación de fenilglicinas sustituidas en *meta* y *para* frente a una MAO.<sup>120</sup>

En la misma década de los sesenta, Free y Wilson desarrollaron el modelo *de novo*, en el que usaban una serie de compuestos con un núcleo común, observando las contribuciones aditivas a la actividad o propiedad en función de la presencia de diferentes sustituyentes característicos de cada producto. Este método consiste en variar al compuesto líder con modificaciones limitadas tanto en extensión (la molécula debe mantener las características iniciales) como en número (posiciones a modificar).<sup>121</sup>

Este modelo es mucho menos usado que el anterior. Utiliza como parámetros de la ecuación unos indicadores que tienen el valor de la unidad si está presente una determinada característica estructural o cero si está ausente dicha característica. El mayor interés de este modelo radica en su utilización conjunta con el de Hansch-Fujita, usando ecuaciones que utilicen al mismo tiempo descriptores fisicoquímicos con indicadores.<sup>116</sup>

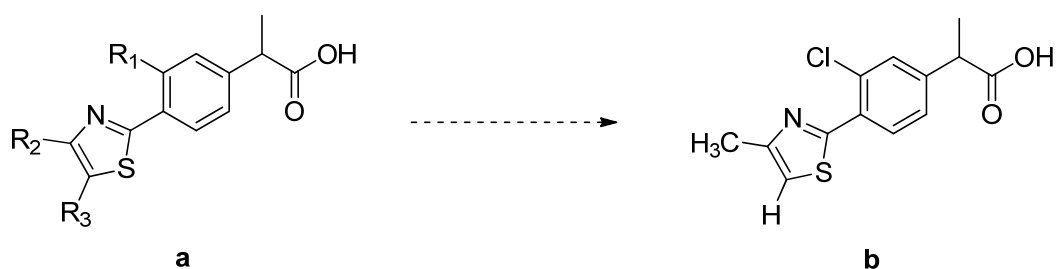
120 Gupta SP. QSAR studies on enzyme inhibitors. *Chem. Rev.* **1987**; *87*(5): 1183-253.

121 Free SM, Wilson JW. A mathematical contribution to structure-activity studies. *J. Med. Chem.*, **1964**; *7*(4): 395-9.

Un ejemplo de este tipo de estudios, donde se combinan parámetros propios de ambos modelos, es la optimización de una serie de inhibidores de ciclooxigenasa realizada por Hadjipavlou-Litina <sup>122</sup> (**Figura A.67a**). La ecuación obtenida fue la siguiente:

$$pCI_{50} = 6,11 + 1,03\pi_{R1} - 4,48\sigma_{R2} - 0,86\Delta L_{R2} + 0,44\pi_{R2,3} - 0,40\Delta L_{R3} - 1,48I_{R2=isoPr}$$

Los sustituyentes óptimos han de ser lipófilos (ya que los parámetros  $\pi$  para todos los sustituyentes tienen coeficiente positivo) aunque pequeños, ya que los coeficientes de  $\Delta L$  son negativos.  $\Delta L$  es la diferencia de longitud en que sobresale el sustituyente de la molécula global con respecto al átomo de hidrógeno. Se introdujo un indicador para hacer notar que un sustituyente isopropilo en posición 2 hace disminuir la afinidad por la ciclooxigenasa. En la **Figura A.67b** se representa uno de los mejores compuestos de esta serie.



**Figura A.67.** Optimización de inhibidores de la ciclooxigenasa.<sup>122</sup>

Tanto el modelo de Hansch-Fujita como el de Free-Wilson son considerados como métodos de estudio de QSAR/QSPR clásicos o tradicionales. Actualmente, los métodos de cuantificación utilizan diversos procedimientos que incluyen descriptores de toda la molécula, así como propiedades que no están cuantificadas numéricamente, es decir, que presentan valores discretos de un parámetro determinado.

El tratamiento estadístico de estos descriptores es variado.<sup>123</sup> En el presente trabajo se utilizarán tanto la regresión multilínea, mencionada anteriormente, como el análisis lineal discriminante. Este último consiste en desarrollar un gran conjunto de compuestos bien caracterizado en términos de

<sup>122</sup> Hadjipavlou-Litina D. Quantitative structure-activity relationship (QSAR) studies on non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). *Curr. Med. Chem.* **2000**; *7*(4): 375-88.

<sup>123</sup> Tropsha A. Best practices for QSAR model development, validation, and exploitation. *Mol. Inform.*, **2010**; *29*(6-7): 476-88.



actividad o propiedad, clasificándose en grupos tales como dulce/amargo, activo/inactivo, alto/medio/bajo o depresivo/estimulante. Una vez establecidos los grupos, una serie de algoritmos selecciona las variables que tienen mayor influencia en la actividad en cuestión. La capacidad predictiva luego se examina con un conjunto de compuestos de prueba.<sup>95</sup> Estos métodos estadísticos se tratarán con mayor profundidad en los capítulos 1 y 2, respectivamente.

Dentro de los estudios QSAR/QSPR, pese a que pueda parecer contradictorio, se incluyen otros tratamientos estadísticos de los datos no relacionados con la actividad o propiedad de un compuesto. Es el caso del análisis *cluster*, en el que se realizan huellas moleculares de todos los compuestos de la muestra, que se agruparán por la semejanza entre ellos según los valores de similitud que se le exijan<sup>123</sup> (se verá con más detalle en el siguiente apartado).

Durante los últimos años se ha observado un gran rebrote de índices topológicos y modelos QSAR/QSPR, así como una notable mejora en los métodos para la identificación del farmacóforo, descriptores de superficie, volumen y carga molecular y cantidades quimicocuánticas. Además, se ha desarrollado una tendencia por la que se amplían los índices topológicos tradicionales hacia una representación tridimensional de la molécula.<sup>123</sup>

## 2.5. EJEMPLOS DE APLICACIÓN DE LOS ÍNDICES TOPOLÓGICOS A LOS MÉTODOS QSAR/QSPR

A continuación se describen varios ejemplos aplicados a la predicción de propiedades físicas, químicas y actividades biológicas.

En 2003, Gálvez utilizó los índices de conectividad de Kier-Hall, que interpretan la accesibilidad molecular como sumatorio de la accesibilidad de cada átomo, para derivar funciones predictivas del volumen y área superficial en una serie de alcanos.<sup>103</sup> Demostró que el volumen molecular ( $V$ ) aumenta con el grado de ramificación, del mismo modo que lo hace el índice  ${}^0\chi$ :

$$V = 35,893 + 20,7715{}^0\chi$$

No obstante, al disminuir el grado de ramificación de los alcanos, aumentaba su área superficial ( $S$ ), así como el índice  ${}^1\chi$ :

$$S = 66,5863 + 33,7143^1\chi$$

Los índices  $^2\chi$  y  $^3\chi_p$  ofrecieron una buena medida del ratio volumen/área superficial (V/S):

$$V/S = 0,7229 + 0,059^2\chi + 0,0028^3\chi_p$$

Estas propiedades físicas simples tienen una gran importancia en la predicción e interpretación de propiedades fisicoquímicas más complejas como la refractividad molar, la reactividad química, efectos catalíticos o la densidad ( $\rho$ ), de la cual Kier ya estableció una ecuación utilizando los índices  $^1\chi$  y  $^3\chi_p$ :

$$\rho = 0,7348 + 0,003^3\chi_p - 0,2927^1\chi$$

Kier demostró que alcanos con una mayor densidad tenían valores de  $^1\chi$  y  $^3\chi_p$  más altos.<sup>124</sup>

En otro estudio, Estrada et al. calcularon una característica geométrica, el ángulo dihedro ( $\phi$ ), existente entre dos anillos fenilo de un conjunto de derivados bifenílicos (**Tabla A.4**), mediante el uso de índices topológicos.<sup>125</sup> Los valores de este ángulo, determinados experimentalmente mediante espectroscopía de fotoelectrones o calculados por campos de fuerza y mecánica molecular, fueron posteriormente predichos por los momentos de espectro locales ( $\mu$ ). Éstos se definen como la suma de los valores en la diagonal de las diferentes potencias de la matriz de adyacencia de ejes correspondiente a un determinado fragmento molecular, que en este caso es el enlace central que une a los dos fenilos. En términos matemáticos se define como:

$$\mu_k = (f) = \sum(e_{ij})^k$$

donde  $f$  es un determinado fragmento de la molécula y  $(e_{ij})^k$  son los valores en la diagonal a la potencia  $k$  de la matriz de adyacencia de ejes. La mejor ecuación obtenida mediante análisis de regresión lineal fue la siguiente:

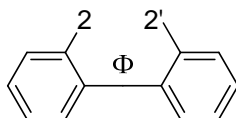
$$\phi = 89,639 - 2,0503\mu_6 + 0,2070\mu_8$$

124 Kier LB, Murray WJ, Randic M, Hall LH. Molecular connectivity V: connectivity series concept applied to density. *J. Pharm. Sci.*, **1976**; *65*(8): 1226-30.

125 Estrada E, Molina E, Perdomo-López I. Can 3D structural parameters be predicted from 2D (topological) molecular descriptors? *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **2001**; *41*(4): 1015-21.

Estrada et al. demostraron que se pueden utilizar índices topológicos bidimensionales para calcular directamente parámetros estructurales tridimensionales de moléculas.<sup>125</sup>

**Tabla A.4.** Relación de algunos 2,2'-alquilbifenilos (Comp) con sus correspondientes ángulos dihedro, el real ( $\phi$ ) y el calculado ( $\phi_{\text{calc}}$ ).<sup>125</sup>



Comp	$\phi$	$\phi_{\text{calc}}$	Comp	$\phi$	$\phi_{\text{calc}}$
2-CH <sub>3</sub> , 2'-sec-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	51,84	52,56	2-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> , 2'-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	50,12	50,28
2-CH <sub>3</sub> , 2'-iso-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	47,55	47,36	2-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> , 2'-iso-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	50,93	50,49
2-CH <sub>3</sub> , 2'-(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	52,47	52,76	2-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> , 2'-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	49,75	50,28
2-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , 2'-iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	55,69	55,06	2-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> , 2'-iso-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	49,42	50,28
2-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , 2'-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	49,93	50,07	2-iso-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> , 2'-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	50,84	50,49
2-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , 2'-iso-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	50,71	50,28	2-iso-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> , 2'-iso-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	50,36	50,49
2-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , 2'-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	49,88	50,07	2-sec-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	35,01	34,36
2-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> , 2'-iso-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	49,44	50,07	2-tert-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	43,00	43,08
2-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> , 2'-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub>	49,83	50,28	2-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> , 2'-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	50,48	50,28
2-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> , 2'-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	49,88	50,28	2-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> , 2'-iso-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	49,42	50,28
2-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> , 2'-iso-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	49,45	50,28	2-iso-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> , 2'-iso-C <sub>5</sub> H <sub>11</sub>	49,98	50,28
2-iso-C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>	34,01	34,16	2-CH(C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> )C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	34,07	34,57

Por otro lado, nuestro grupo de investigación fue pionero en la aplicación de la topología molecular a la química analítica llevando a cabo ecuaciones capaces de predecir si un compuesto va a poder ser analizado por procedimientos analíticos basados en la quimioluminiscencia<sup>126-132</sup> o en la fluorescencia.<sup>133</sup>

126 Lahuerta Zamora L, Fuster-Mestre Y, Duart MJ, Antón-Fos GM, García-Domenech R, Gálvez J, Martínez Calatayud J. Prediction of the chemiluminescence behaviour of pharmaceuticals and pesticides. *Anal. Chem.*, **2001**; *73*(17): 4301-6.

127 Duart MJ, Antón-Fos GM, Lahuerta Zamora L, Martínez Calatayud J. Use of QSAR methods for predicting the chemiluminescent behaviour of organic compounds upon reaction with potassium permanganate in an acid medium. *Talanta*, **2009**; *79*(3): 905-10.

128 Gómez-Taylor Corominas B, Antón-Fos GM, García-Mateo JV, Lahuerta Zamora L, Martínez Calatayud, J. Prediction of the chemiluminescent behaviour of phenols and polyphenols. *Talanta*, **2003**; *60*(2-3): 623-8.

129 Polo Martí E, Catalá Icardo M, Lahuerta Zamora L, Antón-Fos GM, Martínez Calatayud J. Theoretical prediction of the chemiluminescence behaviour of the ergot alkaloids. Direct FIA-chemiluminescent determination of ergotamine tartrate *Anal. Chim. Acta*, **2004**; *527*(2): 177-86.

130 Catalá-Icardo M, Lahuerta Zamora L, Antón-Fos GM, Martínez Calatayud J, Duart MJ. Molecular connectivity as a new and relevant tool to predict the analytical behaviour. A survey on chemiluminescence and chromatography. *Trends Analyt. Chem.*, **2005**; *24*(8): 782-91.

131 Czescik A, López Malo D, Duart MJ, Lahuerta Zamora L, Antón-Fos GM, Martínez Calatayud J. Photo-induced chemiluminescence-based determination of diphenamid by using a multicommutated flow system. *Talanta*, **2007**; *73*(4), 718-25.

132 Sahuquillo Ricart I, Antón-Fos GM, Duart MJ, García Mateo JV, Lahuerta Zamora L, Martínez Calatayud J. Theoretical prediction of the photoinduced chemiluminescence of pesticides. *Talanta*, **2007**; *72* (2): 378-86.

133 Albert-García R, Antón-Fos GM, Duart MJ, Lahuerta Zamora L, Martínez Calatayud J. Theoretical prediction of the native fluorescence of pharmaceuticals. *Talanta*, **2009**; *79*(2): 412-8.

Esta novedosa línea se inició en 2001 cuando se obtuvo una ecuación capaz de predecir quimioluminiscencia en una gran variedad de fármacos y pesticidas.<sup>126</sup> Se obtuvo, mediante el uso de índices topológicos, una función discriminante (FD) que clasificaba como activos los compuestos que presentaban dicha capacidad (FD>0) y como inactivos los que carecían de ella (FD<0). La ecuación fue la siguiente:

$$FD = -0,20 - 87,98^7\chi_{ch} - 276,12^7\chi^v_{ch} + 1,224SsCHd - 35,38J_{3^v} + 66,81J_{4^v}$$

De los 41 compuestos que dicha ecuación predijo como activos, se demostró experimentalmente que, efectivamente, 38 de ellos poseían actividad quimioluminiscente (92,7 % de acierto). Este resultado confirmó a la conectividad molecular como una buena herramienta para predecir quimioluminiscencia.

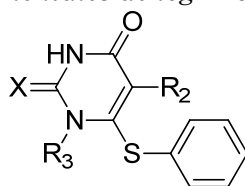
En 2006, Afantitis et al. utilizaron de forma combinada constantes fisicoquímicas e índices topológicos y estructurales para hallar una relación entre una serie de 80 análogos (**Tabla A.5**) y su actividad frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) mediante un análisis de regresión multilínea.<sup>134</sup> La ecuación estadísticamente más significativa fue la siguiente:

$$\log 1/c = -6,81 + 67,10^4\chi^N_p - 0,529N_{OH-R_3} + 0,618HOMO + 0,366CLogP$$

El grado de correlación fue muy alto ( $r^2 = 0,904$ ) y los resultados de predicción fueron muy acertados, como puede apreciarse en la siguiente tabla:

---

<sup>134</sup> Afantitis A, Melagraki G, Sarimveis H, Koutentis PA, Markopoulous J, Igglessi-Mrkopoulou O. A novel simple QSAR model for the prediction of anti-HIV activity using multiple regression analysis. *Mol. Divers.*, **2006**; *10(3)*: 405-14.

**Tabla A.5.** Relación de los compuestos utilizados como validación de la ecuación, con los valores teóricos y experimentales de  $\log 1/c$ .<sup>134</sup>

Nº comp.	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	X	Valor exp.	Valor teor.
5	3-Et	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	O	5,57	5,234
8	3-F	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	O	5,48	4,973
10	3-Br	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	O	5,24	5,236
17	3,5-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	S	6,66	6,295
20	3-CN	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	O	5,00	4,782
22	H	Et	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	S	6,96	5,742
27	3,5-(Cl) <sub>2</sub>	Et	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	S	7,37	7,235
29	H	Pr	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	O	5,47	5,465
35	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	O	5,15	4,632
39	H	CH=CHPh	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	O	5,22	5,553
43	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ac	O	5,17	4,491
66	H	CH <sub>3</sub>	Bu	O	5,92	5,748
69	H	Et	CH <sub>2</sub> O-c-Hex	S	5,79	5,755
73	H	Et	CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Ph	S	7,04	6,985

El mismo grupo utilizó índices topológicos de información para hallar una relación entre una serie de sulfonamidas aromáticas *para*-sustituidas y su actividad inhibitoria frente a la AC-II (anhidrasa carbónica II), expresada como la constante de asociación ( $K_1$ ) en nanomoles, mediante un análisis de regresión multilínea.<sup>135</sup> La ecuación estadísticamente más significativa fue la siguiente:

$$\log K_1 = -6,81 + 67,10^1 \chi_{inf} - 1,00^0 \chi_{inf}^0 + 0,71^1 \chi_{inf}^1 - 0,85 N_{rings}$$

donde  $^1\chi_{inf}$ ,  $^0\chi_{inf}$  y  $^1\chi_{inf}^1$  son índices asociados a la simetría de las moléculas, mientras que  $N_{rings}$  corresponde al número de anillos en la molécula. Esta ecuación presentaba una buena correlación lineal ( $r = 0,8534$ ).

<sup>135</sup> Melagraki G, Afantitis A, Sarimveis H, Igglessi-Mrkopoulou O, Supuran CT. QSAR study on *para*-substituted aromatic sulfonamides as carbonic anhydrase II inhibitors using topological information indices. *Bioorg. Med. Chem.*, **2006**; *14*(4): 1108-14.

Duart et al. utilizaron conjuntamente el análisis de regresión múltiple y el análisis discriminante para producir un modelo de predicción de actividad antihistamínica.<sup>136</sup> Se obtuvieron estas tres ecuaciones:

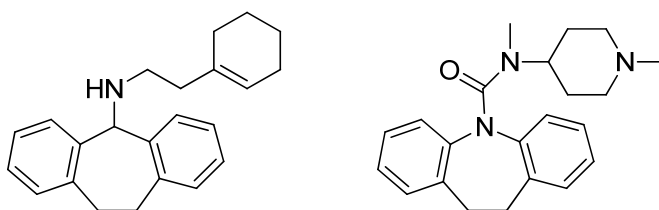
$$t_{iw} = 67,19 - 32,94I_{Shannon} - 0,72SumI + 1,73Sum\Delta I$$

$$FD_1 = 12,65 + 7,20^1\chi^v_c + 0,25G^v_1 - 47,96J_1 - 22,98J^v_3 - 4,89D^4\chi_{pc} - 0,36L$$

$$FD_2 = -2,77 + 2,13S_{dss}C + 1,37S_{aa}CH - 0,68S_{ds}N + 0,90S_{sss}N - 0,10S_sOH - 0,18S_dO$$

La primera ecuación ( $t_{iw}$ ) mide el tiempo que tarda en suprimirse la reacción de roncha y enrojecimiento inducida por histamina. Se observó que los compuestos activos tardaban menos de 10 horas en producir tal efecto. De forma que cuando un compuesto tenía un  $t_{iw}$  entre 0 y 10 se consideraba activo respecto de esta ecuación. El modelo estableció que sólo las moléculas calculadas como activas en las tres ecuaciones ( $0 < t_{iw} < 10$ ,  $0 < FD_1 < 9$  y  $1.5 < FD_2 < 10.5$ ) se consideraron como tales. De este modo, se logró clasificar correctamente el 65 % de una serie de compuestos antihistamínicos, pero con una clasificación correcta del 100 % para compuestos inactivos.

Posteriormente, este modelo topológico fue utilizado para encontrar nuevos antihistamínicos mediante la realización de una biblioteca combinatoria virtual.<sup>137</sup> Se sintetizaron siete compuestos, de los que seis fueron activos *in vivo*, y dos de ellos más que la terfenadina, que se utilizó como fármaco de referencia (**Figura A.68**).



**Figura A.68.** Nuevos antihistamínicos más activos que la terfenadina diseñados por Antón et al.<sup>137</sup>

Este modelo también se aplicó a bases de datos de miles de compuestos formadas por fármacos y reactivos químicos.<sup>19</sup> Además, se incluyó una ecuación

136 Duart MJ, García-Domenech R, Antón-Fos GM, Gálvez J. Optimization of a mathematical topological pattern for the prediction of antihistaminic activity. *J. Comput. Aid. Mol. Des.* **2001**;15(6): 561-72.

137 Duart MJ, Antón-Fos GM, Alemán PA, Gay-Roig JB, González-Rosende ME, Gálvez J, García-Domenech R. New potential antihistaminic compounds. Virtual combinatorial chemistry, computational screening, real synthesis, and pharmacological evaluation. *J. Med. Chem.*, **2005**; 48(4): 1260-4.

capaz de predecir sedación, seleccionando aquellos compuestos con actividad antihistamínica teórica y sin efectos sedantes. De estos, se ensayaron ocho compuestos *in vivo*, todos fueron activos, y tres de ellos exhibieron mayor actividad que la terfenadina.

En 2005, Gálvez et al. estudiaron la actividad de insecticidas generales y de reguladores de crecimiento del insecto (IGRs) contra *Anopheles* y *Culex*, vectores de *Plasmodium falciparum*. La actividad insecticida se expresó de diversa manera dependiendo del grupo: para los insecticidas generales, la actividad fue expresada como “dosis del ingrediente activo” (g/m<sup>2</sup>). Para los análogos de hormonas, la toxicidad fue expresada como CL<sub>50</sub>, que se define como la concentración letal que causa la inhibición del 50 % del desarrollo de las larvas hasta mosquitos adultos, expresada en ppm.<sup>138</sup>

La función topológica de predicción de dosis seleccionada para el grupo de insecticidas fue:

$$\text{Log Dosis} = -0,517 + 0,542G_1 - 0,318G_2 - 1,014PR_0$$

mientras que la función topológica de predicción de dosis seleccionada para el grupo de IGRs fue:

$$\text{Log Tox} = -2,632 + 14,991Jv_3 - 0,239V_4$$

Se obtuvo un modelo discriminante de actividad antimalárica capaz de clasificar correctamente el 96 % de los compuestos estudiados, demostrando que el uso de índices topológicos rinde buenos resultados en la predicción de actividad de insecticidas contra vectores de la malaria.

En 2002, García-Domenech et al. realizaron una búsqueda de cabezas de serie con actividad antifúngica. Para ello, mediante el análisis lineal discriminante, se creó un modelo topológico que incluía dos funciones discriminantes de esta actividad, a partir de dos grupos (activos e inactivos):<sup>139</sup>

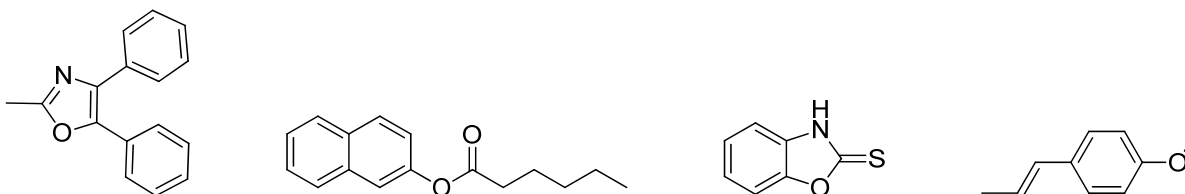
$$FD_1 = 10,631 - 1,455^4\chi_{pc} + 1000G^{v_2} - 0,620G_2 - 6,912\Delta^1\chi - 18,134C^2\chi + 7,385\Delta^4\chi_p + 7,573C^4\chi_{pc} - 0,864PR_1 + 0,269V_3$$

138 Gálvez J, de Julián-Ortiz JV, García-Domenech R. Diseño y desarrollo de nuevos fármacos contra la malaria. *Enf. Emerg.*, **2005**; 7(1): 44-51.

139 García-Domenech R, Catalá-Gregori A, Calabuig C, Antón-Fos G, del Castillo L, Gálvez J. Predicting antifungal activity: a computational screening using topological descriptors. *Internet Electron. J. Mol. Des.*, **2002**; 1(7): 339-50.

$$FD_2 = 1,511 + 1,673S^T(aaaC) - 1,835S^T(aNH\alpha) + 0,747S^T(=N-) + 1,152S^T(=S) + 0,195 S^T(Cl) - 0,076W - 1,045Numhbd$$

Se decidió minimizar el riesgo de seleccionar falsos positivos, de modo que para que un compuesto fuera considerado activo debía serlo en ambas funciones. Esto bajó la precisión en la predicción de activos hasta un 66,7 %, con la ventaja de aumentar la de inactivos hasta un 98,1 %. Dicho modelo fue validado comprobando que compuestos no utilizados en la elaboración de estas funciones poseían actividad, verificándolo mediante búsqueda bibliográfica o ensayándolo experimentalmente en caso de no encontrar confirmación en la bibliografía. Se ensayaron cuatro compuestos y todos ellos manifestaron actividad frente a las tres especies: *Candida albicans*, *C. glabrata* y *Saccharomyces cerevisiae* (**Figura A.69**).



**Figura A.69.** Nuevos antifúngicos diseñados por García-Domenech et al.<sup>139</sup>

Se ha aplicado este método en el desarrollo de otros modelos topológicos capaces de predecir actividad antihistamínica,<sup>140</sup> efecto sedante,<sup>141</sup> toxicidad,<sup>142</sup> actividad antibacteriana<sup>143</sup> y actividad antitumoral.<sup>144</sup>

140 Duart MJ, Antón-Fos GM, de Julián-Ortiz JV, Gozalbes R, Gálvez J, García-Domenech R. Use of molecular topology for the prediction of physico-chemical, pharmacokinetic and toxicological properties of a group of antihistaminic drugs. *Int. J. Pharm.*, **2002**; *246(1-2)*: 111-9.

141 Duart MJ, Antón-Fos GM, Gálvez J, García-Domenech R. Use of molecular topology for the prediction of the sedative effect of a group of antihistaminic drugs. *Chem. Ind. J.*, **2003**; *1(1)*: 67-75.

142 García-Domenech R, de Julián-Ortiz JV, Duart MJ, García-Torrecillas JM, Antón-Fos GM, Ríos-Santamarina I, de Gregorio-Alapont C, Gálvez J. Search of a topological pattern to evaluate toxicity of heterogenous compounds. *SAR QSAR Environ. Res.*, **2001**; *12(1-2)*: 237-54.

143 Mut-Ronda S, Salabert-Salvador MT, Antón-Fos GM. Predicción de propiedades antimicrobianas de un grupo de quinolonas mediante topología molecular. *Anal. Real Acad. Farm.*, **2001**; *67(2)*: 305-18.

144 Zanni R, Galvez-Llompert M, Morell C, Rodríguez-Henche N, Díaz-Laviada I, Recio-Iglesias MC, Garcia-Domenech R, Galvez J. Novel cancer chemotherapy hits by molecular topology: dual Akt and Beta-catenin inhibitors. *PLoS One*, **2015**; *10(4)*: e0124244.



### 3. QUÍMICA COMBINATORIA Y CRIBADO FARMACOLÓGICO VIRTUALES: APLICACIÓN AL DISEÑO DE FÁRMACOS

#### 3.1. QUÍMICA COMBINATORIA VIRTUAL

Antiguamente, las colecciones de compuestos químicos disponibles para ensayos biológicos se obtenían a partir de colecciones propias, consistentes en un gran número de compuestos acumulados durante muchos años, mediante la purificación e identificación de ingredientes biológicamente activos, procedentes de productos naturales, marinos, fermentativos, etc.<sup>145</sup> Los recientes avances que se han producido en biología molecular y en automatización han posibilitado el desarrollo de procedimientos de ensayo biológico eficaces y rápidos que han afectado muy positivamente a la industria farmacéutica y al proceso de descubrimiento de fármacos.<sup>146</sup>

Tradicionalmente, el desarrollo de fármacos incluía la síntesis individual y evaluación biológica de cientos a miles de compuestos orgánicos con intención de resaltar su actividad biológica, selectividad y biodisponibilidad, así como su baja toxicidad. Por término medio, este proceso de descubrimiento de nuevos fármacos supone, además de un elevado coste económico, varios años de duración antes de

---

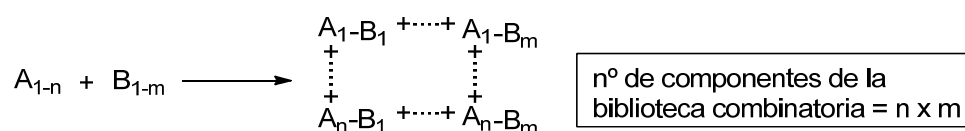
145 Cho SJ, Zheng W, Tropsha A. Rational combinatorial library design. 2. Rational design of targeted combinatorial peptide libraries using chemical similarity probe and the inverse QSAR approaches. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **1998**; *38*(2): 259-68.

146 Treherne JM, Parry DM, Selway CN. Keeping ahead of the flow. *DDW*, **2011**; *Summer*: 25-9.

encontrar, con suerte, un fármaco con características adecuadas para impulsar su comercialización.<sup>147</sup> Por lo tanto, la síntesis química de nuevos compuestos ha llegado a ser el paso limitante en el proceso de búsqueda o de optimización de cabezas de serie para el desarrollo de nuevos fármacos. Esta necesidad de grandes bibliotecas químicas dio lugar al nacimiento de los métodos de síntesis de alta eficacia y química combinatoria.<sup>148</sup>

La química combinatoria virtual consiste en realizar una simulación por ordenador de la síntesis de nuevas estructuras químicas, que constituirán las bibliotecas virtuales. Se basa en el mismo principio que la real, es decir, a partir de unos pocos elementos constitutivos o “building blocks” se puede generar un gran número de compuestos distintos a la vez. La diferencia radica en que, en este caso, todo este proceso se lleva a cabo a través de un ordenador.<sup>149</sup>

El principio básico de la química combinatoria es preparar bibliotecas de un gran número de compuestos para, a continuación, identificar los componentes útiles. Existen varias formas de construir bibliotecas combinatorias virtuales, una es especificando las partes de las moléculas que se acoplan en un determinado tipo de reacción química. Este enfoque imita bastante fielmente los pasos implicados en la síntesis real (**Esquema A.8**).



**Esquema A.8.** Generación de una biblioteca combinatoria por reacción entre n reactivos de tipo A y n reactivos de tipo B.

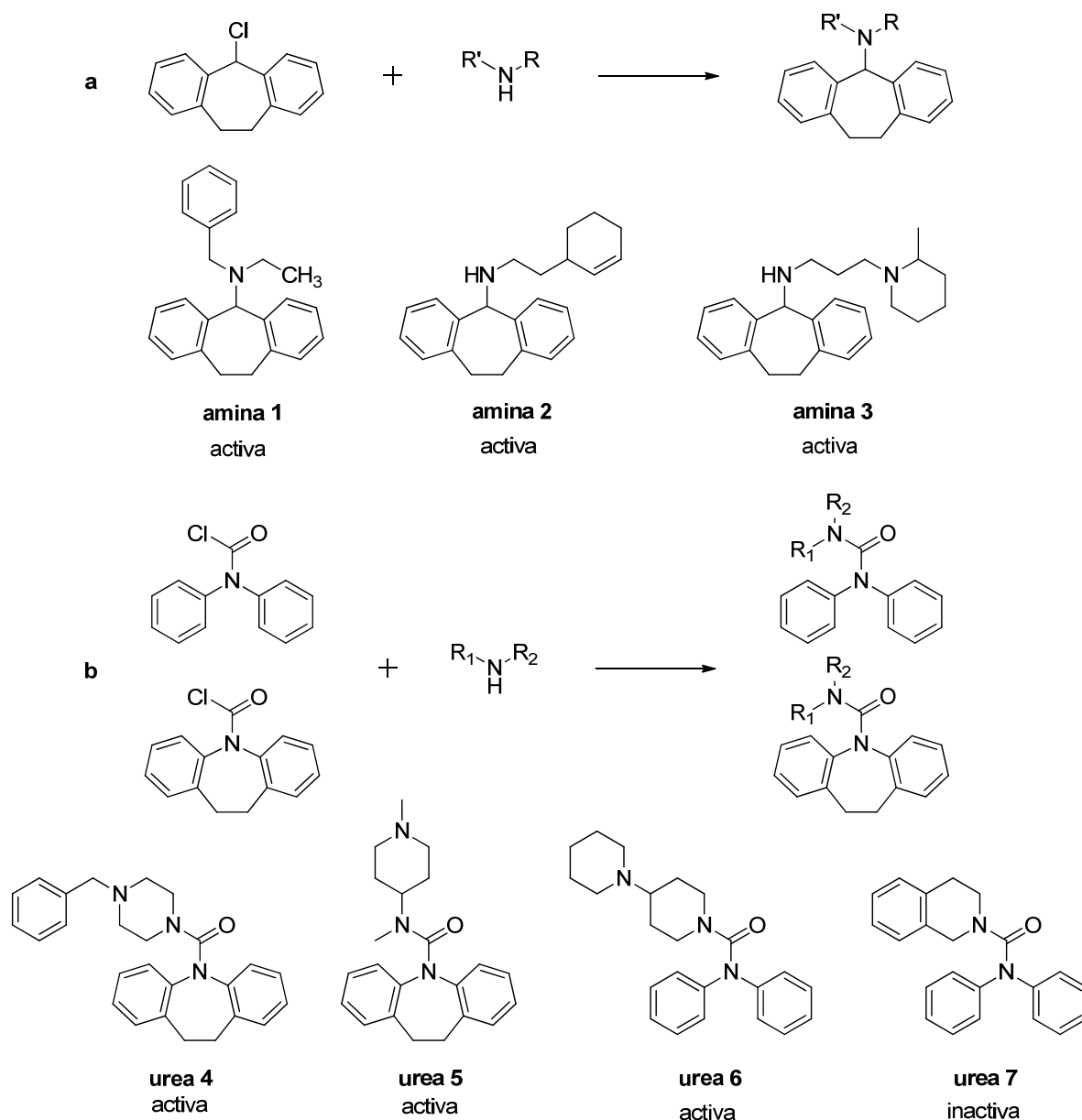
Siguiendo esta metodología, Duart et al. crearon dos bases de datos: una que contenía aminas derivadas de la urea, y otra que contenía cloruros de alquilo y cloruros de carbamoilo. Uniendo los componentes de ambas bases de datos se creó una biblioteca virtual de 9000 compuestos, de los que un modelo topológico de predicción de actividad antihistamínica (anti-H1) clasificó 236 como

147 Garrett MD, Workman P. Discovering novel chemotherapeutic drugs for the third millennium. *Eur. J. Cancer*, **1999**; *35(14)*: 2010-30.

148 Guido RV, Oliva G, Andricopulo AD. Modern drug discovery technologies: opportunities and challenges in lead discovery. *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, **2011**; *14(10)*: 830-9.

149 Messeguer A, Cortés N. Combinatorial chemistry in cancer research. *Clin. Transl. Oncol.*, **2007**; *9(2)*: 83-92.

potencialmente activos. Se sintetizaron 7 compuestos de forma real, de los que 6 demostraron actividad anti H1 *in vivo*<sup>137</sup> (**Figura A.70**).

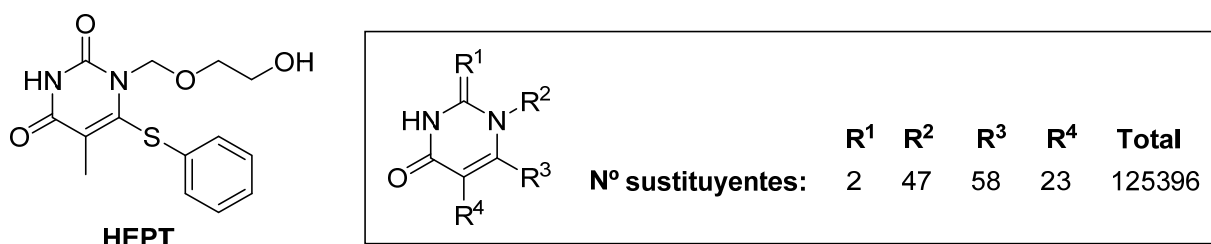


**Figura A.70.** Obtención de nuevos anti-H1 por condensación de diferentes aminas con 5-clorodibenzosuberano (a) o con cloruros de carbamilo (b).

Otro modo de construir bibliotecas combinatorias virtuales se basa en la existencia de un esqueleto común con sitios variables etiquetados como grupos  $R_1, R_2, \dots, R_n$ , donde cada uno está asociado a una lista de posibles sustituyentes (**Figura A.71**). Esta forma sería la más adecuada para aquellos casos en que

existan varias rutas sintéticas para obtener un núcleo común.<sup>150</sup> Este último tipo de biblioteca combinatoria está directamente enfocada en una diana específica, clase estructural o farmacóforo, definido este último término por Gund como “un conjunto de características estructurales en una molécula que es reconocida por el sitio de unión del receptor y que la hacen responsable de su actividad biológica.”<sup>151</sup> Este tipo de biblioteca combinatoria se centra en la exploración de un área específica del espacio químico con tanto detalle como sea posible, dando lugar a un pequeño número de compuestos estructuralmente relacionados, basados en un receptor o familia conocidos.

Así, Pascual et al. utilizaron la estructura básica de HEPT, un potente inhibidor de la transcriptasa inversa del VIH-1, en la que había cuatro puntos de variación (**Figura A.71**), para crear una biblioteca virtual de 125396 compuestos, de los que se sintetizaron 180 incluyendo HEPT, teniendo 22 de ellos una actividad similar o mayor a éste.<sup>152</sup>



**Figura A.71.** Estructura química de HEPT y resumen de la biblioteca combinatoria virtual construida en base a su estructura básica.

150 Krier M, Araújo-Júnior JX, Schmitt M, Duranton J, Justiano-Basaran H, Lugnier C, Bourguignon JJ, Rognan D. Design of small-sized libraries by combinatorial assembly of linkers and functional groups to a given scaffold: application to the structure-based optimization of a phosphodiesterase 4 inhibitor. *J. Med. Chem.*, **2005**; *48*(11): 3816-22.

151 Gund P. Three-dimensional pharmacophoric pattern searching. *Prog. Mol. Subcell. Biol.*, **1977**; *5*: 117-43.

152 Pascual R, Mateu M, Gasteiger J, Borrell JI, Teixidó J. Design and synthesis of a combinatorial library of HEPT analogues: comparison of selection methodologies and inspection of the actually covered chemical space. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **2003**; *43*(1): 199-207.

### 3.2. CRIBADO VIRTUAL APLICADO AL DISEÑO DE FÁRMACOS

En principio, la química combinatoria parecía la manera más racional de explorar el espacio químico a través de la preparación de grandes colecciones de compuestos, que junto a la aplicación de técnicas de cribado de alta eficacia (ensayos masivos) generarían más fármacos en potencia (*drug candidates*). No obstante, pese a que la estrategia de ensayar experimentalmente todos los posibles candidatos frente a todas las posibles dianas resultó *a priori* atractiva, lo cierto es que la tasa de descubrimiento de cabezas de serie no fue la esperada. La mayor problemática de este método se debe a la existencia de un gran número de falsos positivos que interfieren con los ensayos biológicos, de compuestos poco selectivos y de interferencias causadas por los tintes fluorescentes utilizados para “marcar” los compuestos en los ensayos masivos, de forma que pocos han sido los fármacos obtenidos a través de este método.<sup>153</sup>

Es en este punto, donde las técnicas de diseño de fármacos asistidas por ordenador empiezan a cobrar importancia. Esto coincide con el desarrollo teórico de las técnicas de modelización molecular. La contribución computacional se basa principalmente en optimizar y refinar los compuestos a partir de la información extraída de la estructura de complejos cristalinos con la estructura del receptor diana. Aparecieron así las técnicas de cribado o *screening* virtual con la finalidad de seleccionar e identificar aquellas moléculas biológicamente activas.<sup>153</sup> Su principal objetivo es la reducción del enorme tamaño de una biblioteca virtual a un número más manejable de moléculas, que posean una mayor probabilidad de convertirse en candidatos a fármacos. Así, sólo serán sintetizadas y ensayadas, de forma real, aquellas moléculas que hayan mostrado mejores propiedades farmacológicas teóricas.<sup>154</sup>

Estas técnicas requieren inevitablemente que se conozca la actividad de algunos compuestos, o bien, la estructura de la diana biológica.<sup>153</sup> La búsqueda de nuevos cabezas de serie mediante cribado virtual sobre una biblioteca de compuestos propia, puede generar una mayor y más uniforme fuente de

---

<sup>153</sup> Rabal O, Borrel JI, Teixidó J. Cribado virtual: aproximaciones y técnicas. *Afinidad*, **2007**; *64(529)*: 329-45.

<sup>154</sup> De Laet A, Hehenkamp JJ, Wife RL. Finding drug candidates in virtual and lost/emerging chemistry. *J. Heterocycl. Chem.*, **2000**; *37(3)*: 669-74.

diversidad química de estos compuestos, que luego pueden optimizarse a través de las relaciones estructura actividad.<sup>155</sup>

Sin embargo, más que una alternativa, el cribado virtual supone un complemento al de alta eficacia y un criterio para la priorización de la síntesis y la adquisición de bibliotecas químicas. Los candidatos a fármacos determinados por el cribado de alta eficacia son reales, aunque no contribuyen a ampliar el conocimiento acerca del modo de interacción con su diana farmacológica. Por otra parte, el cribado virtual propone candidatos que ni siquiera tienen porqué ser fácilmente accesibles sintéticamente, y sí que pueden aportar información acerca del modo de interacción fármaco-diana. Además, estas técnicas son relativamente baratas, rápidas y permiten considerar un número de compuestos virtuales del orden de billones, cifra prohibitiva experimentalmente.<sup>153</sup>

### 3.2.1. PRE-FILTRADO

En bibliotecas grandes (mayor de  $10^6$  compuestos) se suele realizar un filtrado general previo al proceso de cribado virtual, inespecífico de la diana biológica, para eliminar aquellas estructuras que posean propiedades de no-fármaco. Es decir, consideran si la molécula es relevante biológicamente en cuanto a los grupos funcionales que presenta y sus propiedades físicas (*drug-likeness*).<sup>153</sup> El primero que observó esto fue Lipinski en 1997, y describió la llamada regla de los cinco,<sup>156,157</sup> que establece que una molécula tendrá una absorción oral adecuada si tiene: un peso molecular  $\leq 500$  g/mol, ya que las moléculas de mayor peso penetran poco en la membrana celular por transporte pasivo, requiriendo transporte activo; la lipofilia expresada como el logaritmo del coeficiente de partición,  $\log P \leq 5$ ; un número de grupos dadores de enlace de hidrógeno (átomos de N u O con uno o más H)  $\leq 5$ ; y un número de grupos aceptores de enlace de hidrógeno (átomos de N u O)  $\leq 10$ , ya que moléculas con

---

155 Xiang M, Cao Y, Fan W, Chen L, Mo Y. Computer-aided drug design: lead discovery and optimization. *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, **2012**; *15*(4): 328-37.

156 Lipinski, C.A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **1997**, *23*: 3-25

157 Lipinski CA. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discov. Today. Technol.*, **2004**; *1*(4): 337-41.

gran cantidad de éstos sufren unión con agua y se dificulta el transporte en la bicapa lipídica.

Posteriormente, otros autores incluyeron otros requerimientos similares como el número de enlaces rotables (que suele aumentar con el peso molecular) y el área de superficie polar para que exista una alta probabilidad de biodisponibilidad oral.<sup>158</sup> Otros descriptores también utilizados son el número de átomos y la carga electrónica de la molécula. Pueden observarse los valores detallados de cada filtro en la **Tabla A.6**. Como puede comprobarse, Oprea hace una distinción entre los posibles fármacos (f) y los cabezas de serie (cs).<sup>159</sup>

**Tabla A.6.** Distintos filtros de propiedades físico-químicas utilizados en bibliotecas virtuales de candidatos a fármacos.<sup>159</sup>

Filtro	PM <sup>a</sup>	APH <sup>c</sup>	DPH <sup>d</sup>	Log P	ASP <sup>b</sup> (Å <sup>2</sup> )	ER	Nº átomos	Carga
Lipinski	≤ 500	0-10	0-5	≤ 5				
Ghose	160-480			-0,4 a 5,6			20-70	
Oprea (f)		2-9	0-2			2-8		
Egan				-1 a 5,8	≤ 130			
Walters	200-500	0-10	0-5		≤ 120	0-8	20-70	-2 a +2
Oprea (cs)	≤ 450	0-8	0-5	-3,5 a 4,5				
Veber					≤ 140	0-10		
REOS	200-500	0-10	0-5	-5 a 5		0-8		-2 a +2

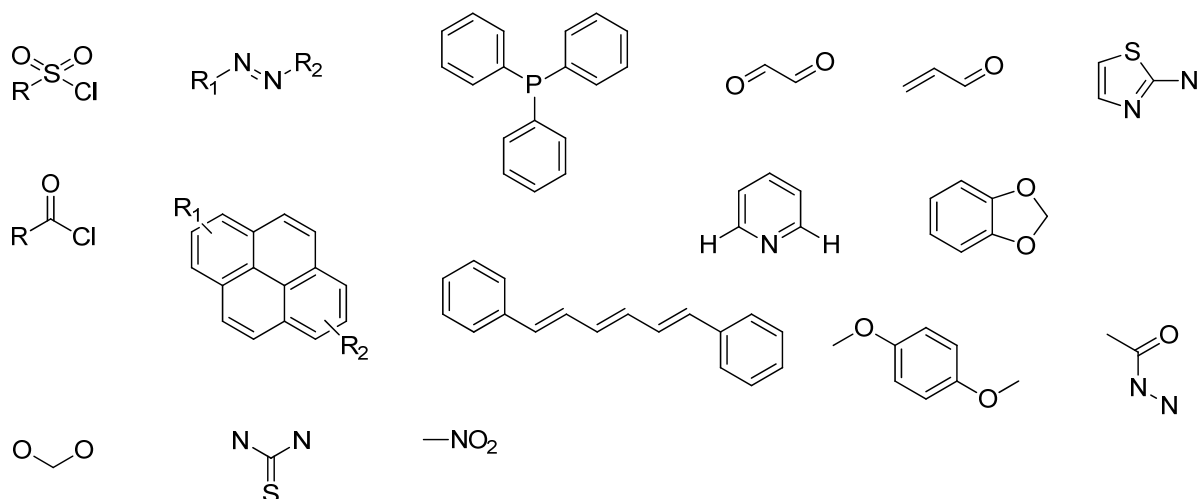
a: Peso molecular. b: Área de superficie polar. c: Aceptores de puente de hidrógeno. d: Dadores de puente de hidrógeno. e: Enlaces rotables.

También existen filtros que eliminan grupos funcionales tóxicos o demasiado inestables, como los incluidos en el programa REOS (*Rapid Elimination Of Swill*) y descriptores de forma (como la elipticidad de la estructura molecular), que detectan cadenas hidrocarbonadas no sustituidas y altamente flexibles o exceso de anillos<sup>160</sup> (**Figura A.72**).

158 Veber DF, Johnson SR, Cheng HY, Smith BR, Ward KW, Kopple KD. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *J. Med. Chem.*, **2002**; *45*(12): 2615-23.

159 Huggins DJ, Venkitaraman AR, Spring DR. Rational methods for the selection of diverse screening compounds. *ACS Chem. Biol.*, **2011**; *6*(3): 208-17.

160 Singh N, Sun H, Chaudhury S, Abdulhameed MD, Wallqvist A, Tawa G. A physicochemical descriptor-based scoring scheme for effective and rapid filtering of kinase-like chemical space. *J. Cheminform.*, **2012**; *4*(1): 4.



**Figura A.72.** Ejemplos de grupos funcionales que suelen eliminarse de las bibliotecas virtuales debido a su reactividad o interferencias producidas en los ensayos.

La inclusión de la predicción de propiedades ADMET (Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad), como son la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica, predicción del metabolismo mediado por el citocromo P450, unión a la albúmina, solubilidad en agua y en dimetilsulfóxido (DMSO)..., son factores que cada vez se incluyen más en las etapas previas del cribado virtual, en un intento por optimizar simultáneamente la potencia y farmacocinética.<sup>153</sup>

Una vez se realiza este pre-filtrado, el posterior cribado virtual se divide en dos tipos: el cribado basado en la estructura del ligando y el cribado basado en la estructura del receptor. Mientras que el primer tipo se basa en el uso de compuestos activos como referencia, enfocándose en el análisis comparativo de otros compuestos con grupos funcionales distintos, en el segundo se predicen la afinidad y geometría de interacciones ligando-receptor.<sup>161</sup>

### 3.2.2. CRIBADO BASADO EN EL LIGANDO

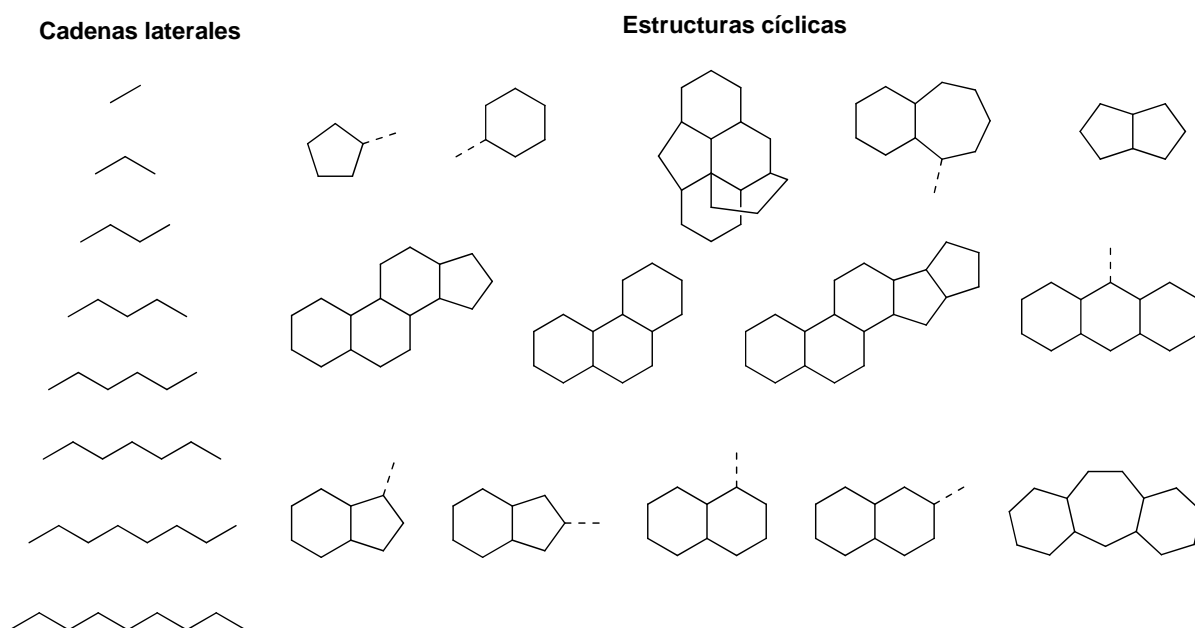
Cuando la estructura del receptor es desconocida, los cabezas de serie biológicamente más activos se detectan mediante búsqueda de similitudes estructurales, topológicas o farmacóforas. Esta aproximación se justifica a partir del principio de similitud de Maggiora, que postula que moléculas estructuralmente relacionadas deberían mostrar actividades biológicas similares.

161 Vyas V, Jain A, Jain A, Gupta A. Virtual screening: a fast tool for drug design. *Sci. Pharm.*, 2008; 76(3): 333-60.



Estas comparaciones se llevan a cabo extrayendo rasgos químicos comunes de las estructuras de un conjunto de compuestos activos conocidos.<sup>153</sup>

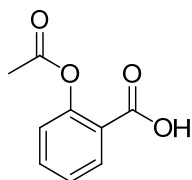
En la primera búsqueda de similitud estructural realizada se observó que a partir de 14 tipos de estructuras cíclicas (con 8 puntos de enlace posibles) y 8 cadenas laterales (**Figura A.73**), podían derivarse más de la mitad de los fármacos contenidos en la base de datos CMC (*Comprehensive Medicinal Chemistry*).<sup>162</sup>



**Figura A.73.** Representación de las estructuras más comunes en fármacos. Las líneas discontinuas indican los lugares donde las cadenas laterales pueden unirse.<sup>162</sup>

El cribado por similitud de huellas (*fingerprints*) moleculares es un método que utiliza descriptores binarios, en los que la presencia o ausencia de una propiedad estructural (por ejemplo, un grupo funcional o enlace) o de una determinada subestructura se representa por un conjunto de bits como “uno” o un “cero”, respectivamente. Este método requiere la existencia de una base de datos o diccionario de fragmentos supuestamente apropiados para la clase de moléculas considerada. La longitud de la huella será igual al número de fragmentos contenidos en el diccionario<sup>153</sup> (**Figura A.74**).

<sup>162</sup> Bemis GW, Murcko MA. The properties of known drugs. 1. Molecular frameworks. *J. Med. Chem.*, **1996**; 39(15): 2887-93.



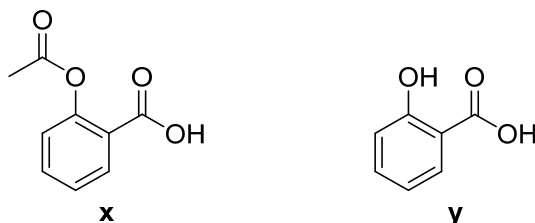
Diccionario de fragmentos:								
Huella molecular:	1	1	0	1	1	0	1	0

**Figura A.74.** Ejemplo de la representación binaria de una molécula

Para estimar la similitud de dos moléculas se utilizan diversas funciones, pudiéndose utilizar distintos coeficientes como los de Euclides, Jaccard, Manhattan o Tanimoto, siendo este último el más popular y ampliamente utilizado,<sup>163</sup> que computa la similitud entre dos huellas moleculares  $x$  e  $y$ , según la ecuación:

$$\frac{c}{(a+b+c)}$$

donde  $a$  es el número de bits en  $x$  e  $y$ ,  $b$  es el número de bits sólo en  $x$  y  $c$  es el número de bits sólo en  $y$ , siendo el valor mínimo y máximo para este coeficiente de 0 y 1, respectivamente (**Figura A.75**).



Diccionario de fragmentos:								
Huella Molecular de $x$ :	1	1	0	1	1	0	1	0
Huella Molecular de $y$ :	1	1	0	1	0	0	0	0

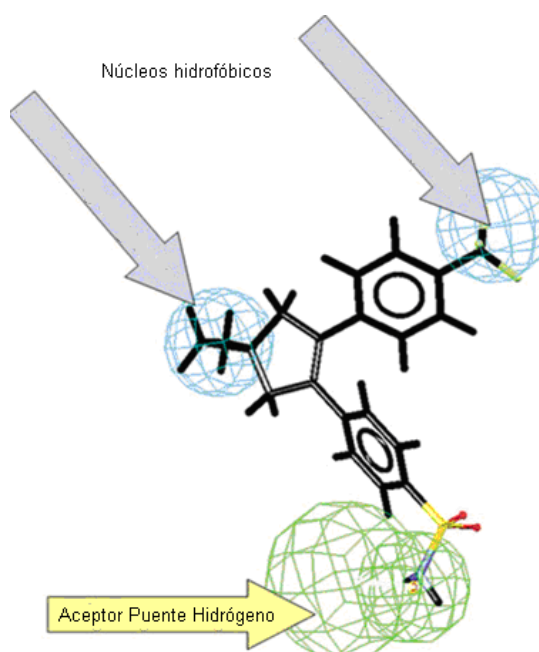
$$\left. \begin{array}{l} a = \text{n}^\circ \text{ de bits en } x \text{ e } y = 3 \\ b = \text{n}^\circ \text{ de bits en } x, \text{ pero no en } y = 2 \\ c = \text{n}^\circ \text{ de bits en } y, \text{ pero no en } x = 0 \end{array} \right\} \text{Coeficiente Tanimoto} = \frac{a}{(a+b+c)} = \frac{3}{3+2+0} = 0,6$$

**Figura A.75.** Cálculo del coeficiente de similitud de Tanimoto entre dos moléculas.<sup>164</sup>

163 Reddy AS, Pati SP, Kumar PP, Pradeep HN, Sastry GN. Virtual screening in drug discovery-a computational perspective. *Curr. Protein Pept. Sci.*, **2007**; 8(4): 329-51.

164 Van Drie JH, Lajiness MS. Approaches to virtual library design. *Drug Discov. Today*, **1998**; 3(6): 274-83.

La identificación de modelos farmacofóricos es otra de las técnicas utilizadas para el diseño de bibliotecas virtuales. La derivación de modelos farmacofóricos parte de la aproximación del activo análogo (*active analog approach*), cuyo objetivo primario es la identificación del ordenamiento 2D/3D de los sitios de interacción claves con un receptor a partir de una serie de compuestos activos. Normalmente, el proceso para derivar un modelo farmacofórico parte del alineamiento de estas moléculas activas para superponer e identificar todos los grupos farmacofóricos conservados entre ellas y así obtener la configuración espacial de las características químicas clave, responsables de la interacción con el receptor. Los grupos farmacofóricos comúnmente utilizados son átomos con carga positiva y negativa, dadores y aceptores de puentes de hidrógeno y átomos con carácter hidrofóbico. Una vez se obtiene dicho modelo (**Figura A.76**), se puede utilizar para buscar en bases de datos otras moléculas que contengan el mismo farmacóforo, para explicar relaciones de estructura-actividad o como punto de partida para el diseño de nuevas moléculas potencialmente activas.<sup>165</sup>



**Figura A.76.** Modelo farmacofórico típico. Las esferas delimitan zonas del espacio que contienen los grupos funcionales de los tipos farmacofóricos indicados.<sup>166</sup>

<sup>165</sup> Yang SY. Pharmacophore modeling and applications in drug discovery: challenges and recent advances. *Drug Discov. Today*, 2010; 15(11-2): 444-50.

<sup>166</sup> Horvath D. Pharmacophore-based virtual screening. *Methods Mol. Biol.*, 2011; 672: 261-98.

Otro enfoque es el uso de relaciones cuantitativas estructura-actividad, cuyos primeros estudios fueron desarrollados por Hansch y Leo en la década de los sesenta.<sup>167,168</sup> Éstas permiten relacionar las propiedades estructurales cuantitativas (pares atómicos agrupados según tipo de átomo y enlace, relaciones geométricas entre átomos, contabilización de grupos funcionales determinados...) de una serie de compuestos con su actividad. Mientras que los descriptores 2D consideran la disposición topológica de los átomos y enlaces, con los descriptores 3D las distancias se miden en el espacio euclídeo y se tienen en cuenta las distintas conformaciones de la molécula.<sup>169</sup>

Generalmente, los métodos basados en descriptores 2D son más eficaces en la identificación de moléculas activas.<sup>170</sup> Es más, se ha demostrado que un conjunto cuidadosamente construido de descriptores topológicos y propiedades bidimensionales puede tomar en cuenta algunas características tridimensionales.<sup>171</sup> Es el caso de los índices modificados de conectividad molecular, índices del grupo Zagreb, conectividad extendida, conectividad global e índices de carga topológica. Estos descriptores utilizan un término adicional llamado “corrección quirál”, que es añadido a los átomos asimétricos. De esta forma, pueden discriminar entre estereoisómeros, proporcionando una habilidad predictiva igual o superior a los modelos generados por los descriptores 3D.<sup>172</sup> Estos hallazgos, combinados con la ventaja de velocidad de los descriptores 2D (no necesitan realizar análisis conformacional), han resultado en un renovado interés por su uso como herramienta en el cribado virtual.<sup>170</sup>

Se observó que algunas moléculas con bioactividad similar a la de referencia, pero con distinto esqueleto molecular, raramente eran detectadas por las anteriores técnicas. Este fenómeno se denomina *scaffold hopping* (salto de

---

167 Hansch C, Kutter E, Leo A. Homolytic constants in the correlation of chloramphenicol structure with activity. *J. Med. Chem.*, **1969**; *12*(5): 746-9.

168 Leo A, Hansch C, Church C. Comparison of parameters currently used in the study of astructure-activity relationships. *J. Med. Chem.*, **1969**; *12*(5): 766-71.

169 Hert J, Willett P, Wilton DJ, Acklin P, Azzaoui K, Jacoby E, Schuffenhauer A. New methods for ligand-based virtual screening: use of data fusion and machine learning to enhance the effectiveness of similarity searching. *J. Chem. Inf. Model.*, **2006**; *46*(2): 462-70.

170 Yu N, Bakken GA. Efficient exploration of large combinatorial chemistry spaces by monomer-based similarity searching. *J. Chem. Inf. Model.*, **2009**; *49*(4): 745-55.

171 Yang GF, Huang X. Development of quantitative structure-activity relationships and its application in rational drug design. *Curr. Pharm. Des.*, **2006**; *12*(35): 4601-11.

172 Golbraikh A, Tropsha A. QSAR modeling using chirality descriptors derived from molecular topology. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **2003**; *43*(1): 144-54.

cabeza de serie). Es en estos casos cuando este último procedimiento se torna especialmente útil, ya que busca similitudes en propiedades químicas, farmacológicas y biológicas.<sup>173</sup>

### 3.2.3. CRIBADO BASADO EN EL RECEPTOR

La idea de diseñar compuestos a partir de su complementariedad con la estructura del receptor surge a mediados de los 70 y se generaliza en los 80, como respuesta a la cantidad de estructuras cristalinas de complejos y proteínas resueltas disponibles gracias a los avances en la cristalización de proteínas, la difracción de rayos-X y la resonancia magnética nuclear (RMN). El *Protein Data Bank* alberga en la actualidad más de 70000 estructuras, aunque muchas de ellas corresponden a diversas formas cristalinas de una misma macromolécula, con lo que el número de plegamientos diferentes es mucho menor.<sup>174</sup>

La estructura del receptor se usa para explorar el espacio químico identificando ligandos de bases de datos de compuestos orgánicos, mediante técnicas de acoplamiento o *docking*, o bien para diseñar compuestos *de novo* que encajen en el sitio de unión de la proteína.<sup>175</sup> Idealmente, el sitio de unión (a una enzima u otra macromolécula) tendrá forma de bolsillo o será una protuberancia con probables donantes y receptores de hidrógeno, unas determinadas características hidrofóbicas, y unas superficies de adherencia molecular concretas.<sup>176</sup>

Las técnicas de *docking* se basan en la identificación del modo de unión ligando-receptor, es decir, la exploración y predicción de las distintas conformaciones y orientaciones que las moléculas ligando adoptan en el sitio de unión del receptor<sup>177</sup> (**Figura A.77**).

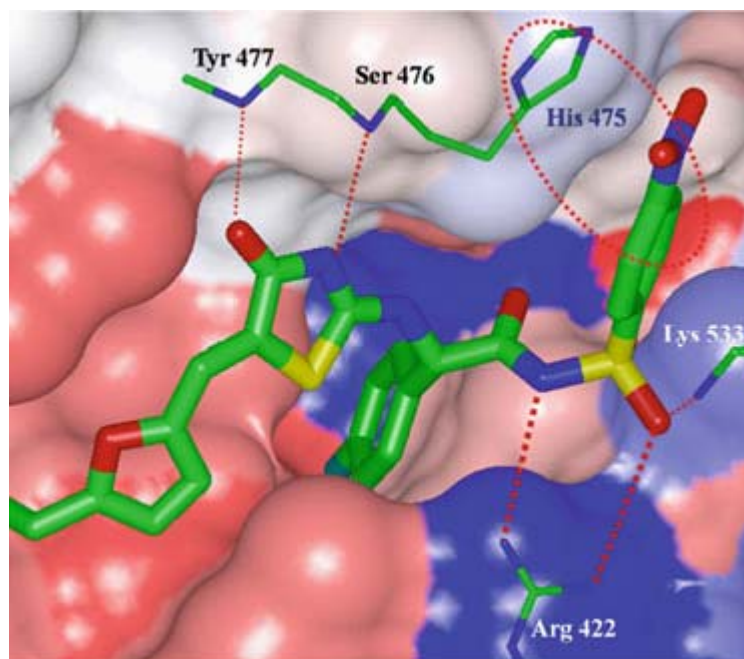
173 Renner S, Schneider G. Scaffold-hopping potential of ligand-based similarity concepts. *Chem. Med. Chem.*, **2006**; *1*(2): 181-5.

174 Singh H, Chauhan JS, Gromiha MM, Raghava GP. ccPDB: compilation and creation of data sets from Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res.*, **2012**; *40(Database issue)*: D486-9.

175 Kuntz ID, Blaney JM, Oatley SJ, Langridge R, Ferrin TE. A geometric approach to macromolecule-ligand interactions. *J. Mol. Biol.*, **1982**; *161*(2): 269-88.

176 Anderson AC. The process of structure-based drug design. *Chem. Biol.*, **2003**; *10*(9): 787-97.

177 Taylor RD, Jewsbury PJ, Essex JW. A review of protein-small molecule docking methods. *J. Comput. Aided Mol. Des.*, **2002**; *16*(3): 151-66.



**Figura A.77.** Interacciones predichas por el programa GOLD de una tiazol-sulfonamida con el sitio alostérico de la polimerasa del virus de la hepatitis C (VHC).<sup>178</sup>

Posteriormente, se evalúa la actividad potencial de estos compuestos a partir de la energía de interacción. Se necesitarán funciones de puntuación (*scoring functions*) altamente discriminantes y fiables para analizar los resultados de forma automatizada. Estas funciones tienen dos cometidos: en primer lugar, clasificar las distintas conformaciones de un ligando en el sitio de unión, seleccionando aquellas con estados energéticos más bajos. Este aspecto es esencial para detectar la conformación que mejor se aproxime a la experimental. Seguidamente, se clasificarán los distintos ligandos en base a su afinidad con el receptor, un paso vital en el proceso de cribado virtual.<sup>179</sup>

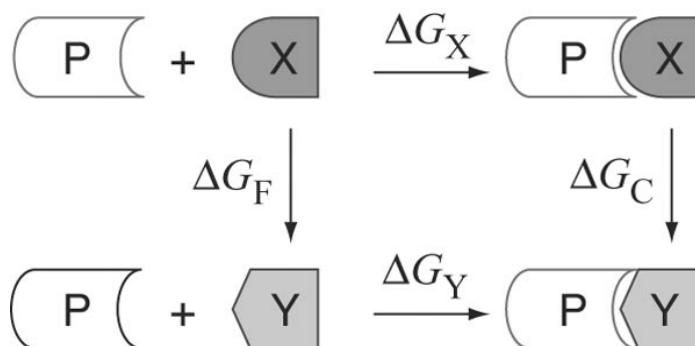
Existen funciones de puntuación basadas en los campos de fuerza, que cuantifican la energía de interacción entre ligando y receptor y la energía interna del ligando. Factores como los efectos hidrofóbicos, fuerzas de van der Waals, puentes de hidrógeno e interacciones electrostáticas y estéricas se suman para evaluar la fuerza de unión del ligando.<sup>180</sup>

178 Yan S, Selliah R. Structure-based library design in efficient discovery of novel inhibitors. *Methods Mol. Biol.*, **2011**; 685: 175-90.

179 Huang SY, Grinter SZ, Zou X. Scoring functions and their evaluation methods for protein–ligand docking: recent advances and future directions. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2010**; 12(40): 12899-908.

180 Halperin I, Ma B, Wolfson H, Nussinov R. Principles of docking: an overview of search algorithms and a guide to scoring functions. *Proteins*, **2002**; 47(4): 409-43.

Las llamadas funciones empíricas aproximan datos experimentales mediante una suma de varios términos independientes para describir cambios de energía libre, haciendo uso del análisis de regresión para obtener los coeficientes de dichos términos. Cada término puede representar cualquier propiedad fisicoquímica relevante en el proceso de acoplamiento. La **figura A.78** muestra un ciclo termodinámico en la que se calcula el cambio de energía libre entre dos procesos,  $\Delta G_X$  y  $\Delta G_Y$  (unión de dos ligandos distintos,  $X$  e  $Y$ , a la proteína  $P$ ) a partir de la introducción de mutaciones que transforman el ligando  $X$  en  $Y$ , donde  $\Delta G_F$  es el cambio de energía libre para dicha transformación cuando el ligando está libre, y  $\Delta G_C$  cuando el ligando está formando complejo con la proteína.<sup>153</sup>



**Figura A.78.** Ciclo termodinámico considerado para comparar la afinidad por la proteína  $P$ , de dos ligandos distintos,  $X$  e  $Y$ .<sup>153</sup>

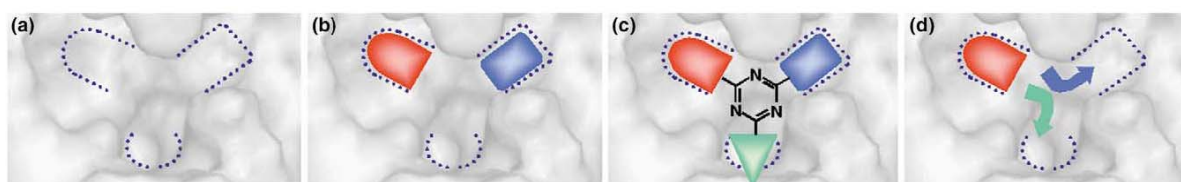
Las funciones *knowledge-based* representan la afinidad como suma de interacciones de pares de átomos proteína-ligando.<sup>153</sup> La energía libre de interacción se calcula sumando las contribuciones de los pares de átomos dentro de una cierta distancia, determinando la geometría del complejo ligando-receptor.<sup>181</sup> Así como con las funciones empíricas, éstas últimas intentan captar implícitamente los efectos del acoplamiento que son difíciles de modelar de forma explícita.

No hay ninguna función superior al resto, ya que diferentes funciones se comportan mejor para determinados complejos proteína-ligando. De hecho, debido a la falta de fiabilidad general, normalmente se utiliza una combinación de funciones (*consensus scoring*). De este modo, se combinan varias funciones y

181 Velec HF, Gohlke H, Klebe G. DrugScore(CSD)-knowledge-based scoring function derived from small molecule crystal data with superior recognition rate of near-native ligand poses and better affinity prediction. *J. Med. Chem.*, **2005**; 48(20): 6296-303.

sólo aquellas conformaciones que reciben altas puntuaciones por dos o más funciones son consideradas favorables.<sup>153</sup>

Otros métodos determinan la actividad teniendo en cuenta características atómicas y de enlace de fragmentos de la molécula de referencia y no de la molécula entera. Se trata de un cribado basado en subestructuras (*fragment-based screening*), mediante el cual el acoplamiento de un ligando a su diana biológica se produce de manera gradual<sup>182</sup> (**Figura A.79**).



**Figura A.79.** (a) Representación de un sitio activo con 3 subsitios. (b) Fragmentos acoplados a 2 de los subsitios. (c) Fragmentos acoplados a los 3 subsitios a partir de un núcleo común. (d) Fragmento acoplado usado como punto inicial para construir el resto del ligando dentro de los demás subsitios.<sup>182</sup>

De esta forma, la biblioteca se crea enlazando fragmentos activos en un primer cribado, y luego cribándolos otra vez frente a la misma diana pero de forma conjunta. Este enfoque tiene la ventaja de que una pequeña colección de fragmentos cubre una mayor porción del espacio químico que cualquier colección comercial de compuestos, debido a que el número de moléculas que pueden construirse crece exponencialmente con el número de átomos que las componen. A su vez, la diversidad de compuestos se magnifica ya que los fragmentos se ensamblan de forma combinatoria. Una mayor cobertura del espacio químico proporciona un abanico más amplio donde poder elegir ligandos en su paso de “teóricamente activos” a “cabezas de serie”. La elección de unas pocas subestructuras centrales con una conocida y significativa afinidad de unión supone un punto de partida ideal para una futura optimización.<sup>183</sup>

182 Blundell TL, Patel S. High-throughput X-ray crystallography for drug discovery. *Curr. Opin. Pharmacol.*, **2004**; 4(5): 490-6.

183 Hopkins AL, Bickerton GR. Drug discovery: know your chemical space. *Nat. Chem. Biol.*, **2010**; 6(7): 482-3.



# **CAPÍTULO 1**



## OBTENCIÓN DE ECUACIONES DE PREDICCIÓN QSAR/QSPR

Dada la importancia y utilidad de tener ecuaciones de predicción de propiedades y/o actividades biológicas para el desarrollo de fármacos, decidimos revisar la bibliografía disponible sobre quinolonas antibacterianas con el propósito de recopilar la máxima información sobre sus valores experimentales, para así poder obtener el máximo número de ecuaciones de predicción. La razón por la que nos hemos centrado en una sola familia de antibacterianos es porque, generalmente, cuanto menor es la diversidad química de los compuestos estudiados, mayor será la precisión de las ecuaciones obtenidas.<sup>184</sup>

### 1. ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO

La información referente a las mismas se recopiló desde los buscadores ISI Web of Science, Medline y SciFinder (Caplus). Inicialmente se obtuvieron datos experimentales de un total de 130 propiedades del grupo terapéutico seleccionado, distribuidas de la siguiente manera:

- 82 propiedades fisicoquímicas, farmacocinéticas y farmacodinámicas (p.e. acidez, lipofilia, solubilidad, dosis letal 50, biodisponibilidad, unión a proteínas, tiempo de latencia, constante de eliminación, área

---

<sup>184</sup> Gálvez J, de Julián-Ortiz JV, García-Domenech R. General topological patterns of known drugs. *J. Mol. Graphics* 2001; 20: 84-94.

bajo la curva, tiempo de semivida, aclaramiento, volumen de distribución, tiempo de residencia media, etc.)

- 48 propiedades microbiológicas:
  - 24 de CMI<sub>50</sub> (concentración mínima inhibitoria 50) frente a distintos microorganismos
  - 24 de CMI<sub>90</sub> (concentración mínima inhibitoria 90) frente a distintos microorganismos.

De las 130 propiedades iniciales, se realizó una primera selección, que básicamente consistió en realizar una adecuación y comparación de los métodos utilizados en los distintos trabajos e ignorar todas aquellas en las que no fue posible, además de eliminar todas las que no disponían de al menos 10 datos de distintos compuestos por propiedad. Esto redujo el número de propiedades a 44, distribuidas en 12 farmacocinéticas, 16 CMI<sub>50</sub> y otras 16 CMI<sub>90</sub>.

Para la obtención de cada una de las ecuaciones de predicción se ha realizado una amplia y exhaustiva revisión bibliográfica de las 38 quinolonas antibacterianas que presentaban alguna de estas propiedades, con el propósito de recopilar la máxima información sobre valores experimentales, tanto de propiedades farmacocinéticas (obtenidas a partir de sujetos sanos), como de concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) frente a distintos microorganismos, procedentes de ensayos *in vitro* realizados según los criterios de la CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).<sup>185</sup>.

Se desecharon aquellas ecuaciones que presentaban mala correlación o aleatoriedad, por lo que el número de ecuaciones satisfactorias fue 16 (2 de ellas describían propiedades farmacocinéticas, 7 CMI<sub>50</sub> y 7 CMI<sub>90</sub>).

---

185 *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second informational supplement. (2012) CLSI document M100-S22; 32(3)*. Wayne, USA.

## 2. CARACTERIZACIÓN TOPOLÓGICA DE LAS QUINOLONAS

Las 44 propiedades seleccionadas estaban descritas para un total de 38 quinolonas. Se dibujaron sus grafos químicos (incluyendo los heteroátomos y suprimiendo los átomos de hidrógeno) con el programa de dibujo ChemBioDraw Ultra 12.0 del paquete programa ChemBioOffice 2010, y con los programas DESMOL11<sup>186</sup> y MOLCONN-Z<sup>187</sup> se calcularon 132 índices topológicos para cada compuesto, resumiéndose en la siguiente tabla:

**Tabla 1.1.** Símbolos, definiciones y cálculos teóricos de los índices topológicos utilizados por los programas DESMOL11 y MOLCONN-Z.

Símbolo	Nombre	Definición	Ref.
<b>Índices de conectividad</b>			
${}^k\chi_t$ $k=0-10$ $t=p,c,pc$	Índices Kier-Hall de orden $k$ y tipo path (p), cluster (c) y path-cluster (pc)	${}^k\chi_t = \sum_{j=1}^{n_t} \left( \prod_{i \in S_j} \delta_i \right)^{-1/2}$ $\delta_i$ : número de enlaces, $\sigma$ o $\pi$ del átomo $i$ con otros átomos (hidrógenos no incluidos). $S_j$ : cantidad calculada para cada subgrafo de orden $k$ y tipo $t$ .	188
${}^k\chi_t^v$ $k=0-10$ $t=p,c,pc$	Índices Kier-Hall de orden $k$ y tipo path (p), cluster (c) y path-cluster (pc)	${}^k\chi_t^v = \sum_{j=1}^{n_t} \left( \prod_{i \in S_j} \delta_i^v \right)^{-1/2}$ $\delta_i^v$ : valencia Kier-Hall del átomo $i$ . $S_j$ : cantidad calculada para cada subgrafo de orden $k$ y tipo $t$ .	187
${}^kD_t$ $k=0-10$ $t=p,c,pc$	Diferencias entre índices de valencia y de no valencia de orden $k$ y tipo path (p), cluster (c) y path-cluster (pc)	${}^kD_t = {}^k\chi_t - {}^k\chi_t^v$	187
${}^kC_t$ $k=0-10$ $t=p,c,pc$	Cocientes entre índices de valencia y de no valencia de orden $k$ y tipo path (p), cluster (c) y path-cluster (pc)	${}^kC_t = {}^k\chi_t / {}^k\chi_t^v$	187
<b>Índices de carga</b>			
$G_k$ $k=1-5$	Índices de carga de orden $k$	$G_k = \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N  M_{ij} - M_{ji}  \delta(k, D_{ij})$ $M=A \cdot Q$ : producto de las matrices de adyacencia y de carga para el grafo de hidrógenos suprimidos. $D$ : matriz de distancia. $\delta$ : delta de Kronecker.	108
$G_k^v$ $k=1-5$	Índices de carga de valencia de orden $k$	$G_k^v = \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N  M_{ij}^v - M_{ji}^v  \delta(k, D_{ij})$ $M^v=A^v \cdot Q$ : producto de las matrices de adyacencia modificada y de carga para el	108

186 Unidad de Investigación de Diseño de Fármacos y Conectividad Molecular, Dept. Química Física, Facultad de Farmacia, Universitat de València, Spain.

187 Hall LH, MOLCONN-Z software, 1995, Eastern Nazarene College, Quincy, Massachusetts.

188 Kier LB, Hall LH. General definition of valence delta-values for molecular connectivity *J. Pharm. Sci.* 1983; 72(10): 1170-3.

		grafo de hidrógenos suprimidos. D: matriz de distancia. $\delta$ : delta de Kronecker.	
$J_k, J_k^v$ $k=1-5$	Índices de carga ponderada de orden $k$	$J_k = \frac{G_k}{N-1}$ $J_k^v = \frac{G_k^v}{N-1}$	108
<b>Índices electrotopológicos</b>			
$S^T(i)$	Índices electrotopológico de tipo suma para un tipo de átomo $i$	$S_i = I_i + \Delta I_i$ $I_i$ : estado electrotopológico intrínseco para el tipo de átomo $i$ . $\Delta I_i$ : valor delta del estado electrotopológico intrínseco para el tipo de átomo $i$ .	109
Gmaxpos	Índice Gmaxpos	Valor máximo positivo del estado electrotopológico atómico de la molécula.	189
Hmaxpos	Índice Hmaxpos	Valor máximo positivo del estado electrotopológico para el átomo de hidrógeno en la molécula.	188
<b>Propiedades moleculares</b>			
N	Tamaño molecular	Número de átomos (hidrógenos no incluidos).	-
L	Longitud	Máxima distancia entre átomos en términos de enlaces.	190
$PR_i$	PR0 a PR3	Número de pares de ramificaciones separados por $i$ átomos.	189
R	Ramificación	Número de ramas estructurales simples.	189
$V_k$ $k=3,4$	Vértices de grado $k$	Número de átomos con $k$ enlaces, $\sigma$ o $\pi$ , con otros átomos (hidrógenos no incluidos).	
knotp	Índice knotp	Diferencia entre los índices ${}^3\chi_c y {}^4\chi_{pc}$	191
knotpv	Índice knotpv	Diferencia entre los índices ${}^3\chi_c^v y {}^4\chi_{pc}^v$	190
numhbd	Índice numhbd	Número de átomos donantes de hidrógeno en la molécula.	190
numhba	Índice numhbd	Número de átomos aceptores de hidrógeno en la molécula.	190
<b>Índices de información</b>			
$I_{Shannon}$	Índice Shannon	Índice basado en la diversidad atómica de la molécula.	110
NI, NI2	Índices NI, NI2	Índices basados en la teoría de la información.	110
BonIdW	Índice Bonchev IdW(G)	Índice basado en la distribución de distancias topológicas en la molécula.	192
BonIdG	Índice Bonchev Id(G)	Índice basado en el número de subgrafos de orden 2 en la molécula.	191
<b>Índices de forma molecular</b>			
${}^n\kappa$ $n=1-3$	Índice Kappa de orden $n$	${}^1\kappa = N(N-1)^2/({}^1P)^2$ ${}^2\kappa = (N-1)(N-2)^2/({}^2P)^2$ ${}^3\kappa = (N-3)(N-2)^2/({}^3P)^2$ [N pares; N>3] ${}^3\kappa = (N-1)(N-3)^2/({}^3P)^2$ [N impares; N>3] N: número de átomos (hidrógenos no	112

189 Basak SC, Mills D. Quantitative Structure-Property Relationships (QSPRs) for the Estimation of Vapor Pressure: A Hierarchical Approach Using Mathematical Structural Descriptors. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **2001**; *41(3)*: 692-701.

190 Moliner R, Garcia F, Galvez J, Garcia-Domenech R, Serrano C. Nuevos índices topológicos en conectividad molecular. Su aplicación a algunas propiedades fisicoquímicas de un grupo de hidrocarburos alifáticos. *An. Real Acad. Farm.* **1991**; *57*: 287-98.

191 Cummins DJ, Andrews CW, Bentley JA, Cory M. Molecular Diversity in Chemical Databases: Comparison of Medicinal Chemistry Knowledge Bases and Databases of Commercially Available Compounds. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1996**; *36(4)*: 750-63.

192 Bonchev D, Trinajstić N. On topological characterization of molecular branching. *Int. J. Quantum Chem.* **1978**; *14(S12)*: 293-303.

		incluidos). ${}^{1,2,3}P$ : número de subgrafos tipo PATH en el grafo de orden 1,2,3.	
$n_{K\alpha}$ $n=1-3$	Índice Kappa-alpha de orden $n$	${}^1K = (N+\alpha)(N+\alpha-1)^2 / ({}^1P+\alpha)^2$ ${}^2K = (N+\alpha-1)(N+\alpha-2)^2 / ({}^2P+\alpha)^2$ ${}^3K = (N+\alpha-3)(N+\alpha-2)^2 / ({}^3P+\alpha)^2$ [N pares; $N>3$ ] ${}^3K = (N+\alpha-1)(N+\alpha-3)^2 / ({}^3P+\alpha)^2$ [N impares; $N>3$ ] N: número de átomos (hidrógenos no incluidos). ${}^{1,2,3}P$ : número de subgrafos tipo PATH en el grafo de orden 1,2,3. $\alpha = \sum [(R_i / R_{Csp3}) - 1]$ $R_i$ : radio covalente átomo $i$ . $R_{Csp3}$ : radio covalente átomo $Csp3$ .	113
$\Phi$	Índice de flexibilidad $\Phi$	$\Phi = ({}^1K_{\alpha} \cdot {}^2K_{\alpha}) / N$ N: número de átomos (hidrógenos no incluidos).	114
<b>Índices topológicos totales</b>			
Sum-I	Valor del estado electrotopológico intrínseco de la molécula	$I_i = \frac{\delta_i^v + 1}{\delta_i}$ ; $\text{Sum} - I = \sum I_i$ $\delta_i$ , número de enlaces, $\sigma$ o $\pi$ del átomo $i$ con otros átomos (hidrógenos no incluidos). $\delta_i^v$ , Valencia de Kier-Hall para el átomo $i$ .	109
Sum- $\Delta I$	Valor delta del estado electrotopológico intrínseco de la molécula	$\Delta I = \frac{I_i - I_j}{r_{ij}^2}$ ; $\text{Sum} - \Delta I = \sum \frac{I_i - I_j}{r_{ij}^2}$ $r_{ij}$ , número de vértices entre el átomo $i$ y el $j$ .	109
TETS2	Índice del estado electrotopológico total	Suma de todos los índices electrotopológicos de la molécula.	109
TTd4	Índice TTd4	Suma del estado intrínseco topológico de todos los átomos en la molécula.	109
nclass	Índice de simetría nclass	Número de tipos de átomos simétricamente equivalentes.	111
W	Índice Wiener	Suma de las distancias topológicas entre todos los átomos (hidrógenos no incluidos) por el camino más corto.	96
Wp	Índice de polaridad de Wiener	Número de pares de átomos con una distancia de 3 enlaces	193
Ww	Índice híper-Wiener	Suma de las distancias topológicas y de las distancias topológicas al cuadrado entre todos los átomos (hidrógenos no incluidos) por el camino más corto.	194
Wt	Índice Wiener total	Suma de las distancias topológicas entre todos los átomos (hidrógenos no incluidos) por el camino más largo.	195
PlattF	Índice PlattF	Suma de los grados de los enlaces.	115

193 Wiener H. Relation of the Physical Properties of the Isomeric Alkanes to Molecular Structure. Surface Tension, Specific Dispersion, and Critical Solution Temperature in Aniline. *J. Phys. Chem.* **1948**; *52(6)*: 1082-9.

194 Randić M, Guo X, Oxley T, Krishnapriyan H, Naylor L. Wiener Matrix Invariants. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **1994**; *34(2)*: 361-7.

195 Niederfellner J, Lenoir D, Matuschek G, Rehfeldt F, Utschick H, Brügemann R. Description of Vapor Pressures of Polycyclic Aromatic Compounds by Graph Theoretical Indices. *Quant. Struct.-Act. Relat.* **1997**; *16(1)*: 38-48.

### 3. DESARROLLO DE LAS ECUACIONES DE PREDICCIÓN

Una vez obtenidos los índices (variables independientes) se pasó a la elaboración de las correspondientes ecuaciones de regresión, con el fin de encontrar aquellos índices que en mayor medida son responsables de la propiedad (variable dependiente).

El análisis de regresión lineal se realizó mediante la utilización del paquete estadístico denominado BMDP (*BioMedicine Department Program*)<sup>196</sup> módulo 9R. El fundamento del programa es el algoritmo de Furnival-Wilson,<sup>197</sup> que utiliza el parámetro  $C_p$  de Mallow que evalúa la bondad de ajuste de una ecuación de regresión. El objetivo es seleccionar la mejor ecuación que implique a un subconjunto de índices de entre todos los disponibles. Se define como:

$$C_p = PRESS / s^2 - (N - 2p)$$

siendo  $PRESS$  la suma de los residuales (diferencia entre el valor real y el calculado) al cuadrado de los índices topológicos seleccionados;  $s$  la media residual obtenida en la regresión con todos los índices;  $p$  el número de índices seleccionados en la ecuación; y  $N$  el número de compuestos.

La suma residual de los cuadrados siempre se reduce a medida que se añaden variables a la ecuación. Así pues, si intentáramos seleccionar la ecuación con la mínima suma residual, siempre seleccionaríamos la ecuación con el mayor número de índices. Sin embargo, la selección de ecuación bajo el criterio de este algoritmo estará influida por el tamaño de la muestra (número de compuestos), el efecto de los distintos índices y el grado de correlación entre ellos. La ecuación óptima será la que tenga el menor valor  $C_p$  de Mallow.<sup>198</sup> Otros criterios para seleccionar las mejores correlaciones son:

---

196 Dixon, W. J., Brown, M. B., Engelman, L. & Jennrich, R. I. **1990**; BMDP Statistical Software Manual. University of California Press, Berkeley, CA.

197 Furnival GM, Wilson RW. Regressions by Leaps and Bounds. *Technometrics* **1974**; *16(4)*: 499-511.

198 Hocking R. Criteria for Selection of a Subset Regression: Which One Should Be Used? *Technometrics* **1972**; *14(4)*: 967-70.



- **Coefficiente de correlación múltiple ( $r$ ):** es el máximo indicador de la correlación lineal que podemos obtener entre una variable y los valores obtenidos a partir de la ecuación calculada con las demás. El valor de este coeficiente siempre está comprendido entre -1 y 1. Si el valor de  $r$  está próximo a -1 ó 1, entonces la dependencia lineal entre las dos variables es fuerte, siendo ésta directa si  $r$  es positivo e inversa si  $r$  es negativo. Si el valor de  $r$  está próximo a 0, la dependencia lineal es débil.
- **Coefficiente de determinación lineal ( $r^2$ ):** se define como el cuadrado de la correlación entre la variable dependiente y el valor predicho. Es una medida relativa del ajuste de los datos de la propiedad estudiada a la ecuación, restando la varianza residual de la ecuación a la varianza total de los datos. Cuanto menor sea la varianza residual, mayor será  $r^2$ . Debe ser superior a 0,5 para que la propiedad tenga valor predictivo, tendiendo su valor a 1 en caso de un mejor ajuste. Hay que destacar que un valor elevado de  $r^2$  no implica necesariamente un buen modelo predictivo, puesto que la adición de un índice a la regresión puede incrementar el valor de  $r^2$  aunque este nuevo descriptor no contribuya a aumentar la capacidad predictiva del modelo seleccionado.
- **Ratio de Fischer-Snedecor ( $F$ ):** la significación de una ecuación se prueba por su valor  $F$ , que correlaciona la varianza explicada por la ecuación ( $r^2$ ) con la varianza residual ( $1-r^2$ ). Cuanta más alta es la proporción de varianza explicada por la ecuación mayor será el valor de  $F$  (que tiende a infinito), mientras que la existencia de índices con baja contribución a la explicación de la varianza tenderán a disminuir dicho valor.
- **Significación estadística ( $p$ ):** este término mide el nivel de significación estadística de la ecuación y de las variables, que indica la probabilidad de encontrar otra ecuación con igual o mejor grado de correlación usando el mismo número de datos y variables.

- **Coefficiente de determinación lineal ajustado ( $r^2$  ajustado):** se representa por:

$$r^2 \text{ ajustado} = r^2 - \frac{p(1-r^2)}{N-p'}$$

donde  $N$  es el número de compuestos; y  $p$  el número de índices ( $p' = p$  cuando la ordenada en el origen es cero y  $p' = p + 1$  cuando ésta es distinta de cero). La correlación será mejor cuanto más se aproxime a la unidad.

- **Coefficiente de determinación lineal de validación cruzada ( $r^2(vc)$ ):** este coeficiente de predicción se suele utilizar para comprobar la validez del método “Jack-knife” (explicado en la página siguiente), cuantificando la capacidad predictiva de la función de regresión. Se representa por:

$$q^2(vc) = \frac{SD - PRESS}{SD}$$

siendo  $SD$  la desviación al cuadrado de cada valor respecto de la media, y  $PRESS$  la suma de los residuales predichos al cuadrado:

$$SD = \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 \qquad PRESS = \sum_{i=1}^n (y_i - y_{i(vc)})^2$$

donde  $y_i$  es el valor experimental de la propiedad del compuesto  $i$ ;  $\bar{y}$  es el valor medio experimental de la propiedad; e  $y_{i(vc)}$  es el valor predicho de la propiedad en la validación cruzada del compuesto  $i$ . Podemos observar que el valor  $r^2(vc)$  puede tomar valores negativos, al no ser el cuadrado propiamente dicho de un valor. Una ecuación donde el valor de  $r^2(vc)$  sea mayor de 0,5 puede ser considerado como predictiva.<sup>199</sup>

- **Error estándar ( $EE$ ):** es la desviación estándar de la distribución de una muestra estadística. Da una medida absoluta del ajuste de los datos a la ecuación. Un valor de  $EE$  es válido cuando está en el mismo orden de magnitud del error experimental de las mediciones de la

---

199 Besalú E, Gironés X, Amat L, Carbó-Dorca R. Molecular Quantum Similarity and the Fundamentals of QSAR. *Acc. Chem. Res.* **2002**; 35(5): 289-95.

propiedad estudiada. La tendencia a 0 de este valor presupone una mayor calidad en la predicción.

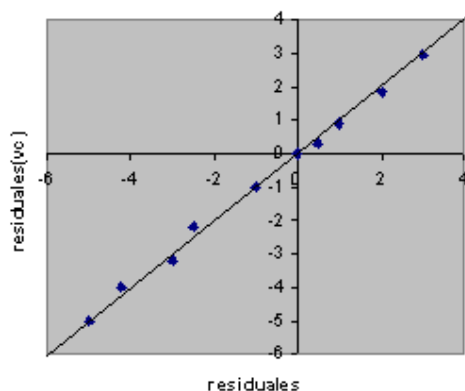
- **Error estándar de estimación (EEE):** es el error estándar de una muestra estadística en el proceso que ésta es generada. Se compara el error estándar de estimación de la función seleccionada (*EEE*) con el obtenido en la validación cruzada (*EEE(vc)*). Estos parámetros se definen como:

$$EEE = \sqrt{\frac{\sum (\text{residuales})^2}{N - N_v - 1}} \quad EEE(vc) = \sqrt{\frac{\sum (\text{residuales}(vc))^2}{N - N_v - 1}}$$

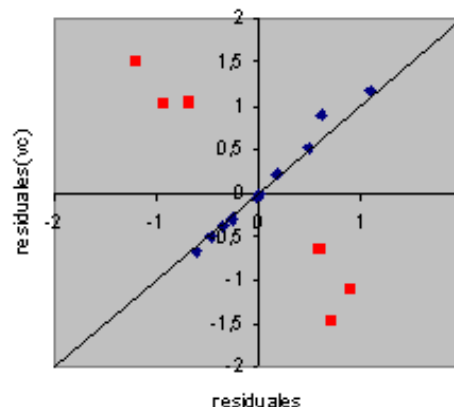
donde  $N$  es el número de compuestos utilizados en la obtención de la función; y  $N_v$  es el número de variables independientes presentes en la ecuación. Los errores estándar proporcionan una medida sobre la incertidumbre de las medidas de la muestra.

- **Intercorrelación de las variables:** el término  $r$ , que nos da el grado de intensidad de la relación lineal entre la propiedad y los índices que se incluyen en la función, puede también utilizarse para detectar una excesiva dependencia lineal entre índices. El objetivo es eliminar aquellas funciones de predicción que presenten variables que estén interrelacionadas.
- **Estudios de estabilidad (o validación cruzada):** para comprobar la estabilidad de las ecuaciones seleccionadas se emplea el método “Jack-knife”.<sup>114</sup> El programa elimina un compuesto de la serie y se correlacionan todos los demás, prediciendo el valor de la propiedad del compuesto eliminado. Este proceso se repite para todos los componentes del conjunto, obteniéndose una predicción para cada uno de ellos. Las ecuaciones obtenidas deben tener valores de los residuales similares a la original, lo que indica que la ecuación es estable.<sup>200</sup> Una representación del análisis de estabilidad (**Figuras 1.1 y 1.2**) mostraría la presencia de posibles compuestos que no se ajusten a la función de conectividad seleccionada (“outliers”).

<sup>200</sup> García-Domenech R, de Julián-Ortiz JV, Besalú E. True prediction of lowest observed adverse effect levels. *Mol. Divers.* **2006**; *10(2)*: 159-68.

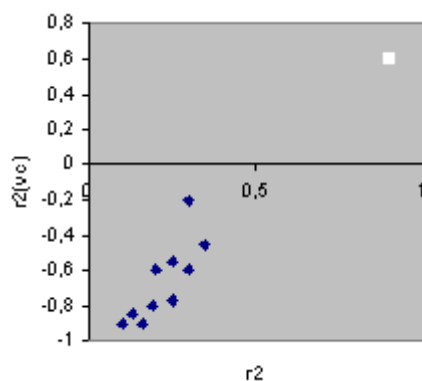


**Figura 1.1.** Muestra de una ecuación estable

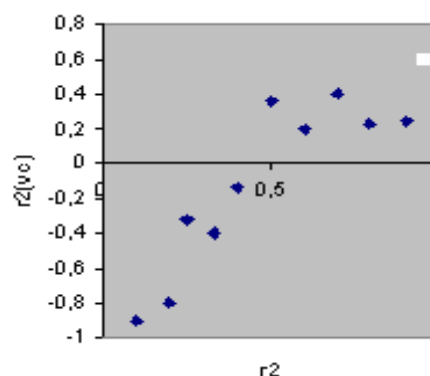


**Figura 1.2.** Muestra de una ecuación inestable.

- Estudios de aleatoriedad:** se realiza con el fin de detectar la posible existencia de buenas correlaciones fortuitas. Para ello se modifica de manera aleatoria el valor de la propiedad para cada compuesto y se ejecuta de nuevo el programa obteniendo la correspondiente ecuación de correlación. Este proceso se repite tantas veces como compuestos tenga el conjunto. Los resultados obtenidos se muestran representando los valores de  $r^2$  frente a los valores de  $r^2(vc)$  (**Figuras 1.3 y 1.4**). Se considera que la función de predicción no es aleatoria cuando el valor de  $r^2(vc)$  de la ecuación seleccionada es significativamente superior a los demás valores de  $r^2(vc)$ , que deberán tener un valor inferior a 0,5.



**Figura 1.3.** Muestra del estudio de aleatoriedad de una función de predicción no aleatoria.



**Figura 1.4.** Muestra del estudio de aleatoriedad de una función de predicción aleatoria.

Para el estudio y desarrollo de cada una de estas ecuaciones, debido a la diversidad de los datos bibliográficos encontrados respecto una propiedad determinada para cada una de las moléculas seleccionadas, se escogieron

aquellos datos cuyos valores tenían el mismo orden de magnitud y se utilizó el promedio de los mismos para la obtención de las ecuaciones de predicción.

Por otro lado, de acuerdo con los criterios estadísticos expuestos, se eliminaron 6 de las 44 funciones iniciales porque los estudios de aleatoriedad indicaban que eran aleatorias, y 22 más se desestimaron por no ser adecuadas en base a que el coeficiente de determinación lineal ( $r^2$ ) de la ecuación era inferior a 0,8, o aparecían dependencias lineales con un coeficiente de correlación ( $r$ ) superior a 0,8 entre los índices seleccionados por la ecuación. Finalmente, se seleccionaron las ecuaciones de predicción correspondientes para las siguientes propiedades:

a) *Propiedades farmacocinéticas:* <sup>201-9</sup>

- **Tiempo de residencia medio (vía oral), TRM<sub>vo</sub>:** es el tiempo medio en que una molécula de fármaco permanece de forma inalterada durante su tránsito por el organismo.
- **Volumen de distribución, Vd:** volumen acuoso del organismo en el cual es capaz de distribuirse una cantidad determinada de fármaco de acuerdo con sus características físico-químicas. Es una constante de proporcionalidad entre la concentración plasmática que hay en el organismo en un instante dado (C) y la cantidad de fármaco en ese mismo instante (Q):

$$Vd = \frac{Q}{C}$$

---

201 Wolfson JS, Hooper DC. Pharmacokinetics of quinolones: newer aspects. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **1991**; *10*(4): 267-74.

202 Randinitis EJ, Brodfuehrer JI, Eiseman I, Vassos AB. Pharmacokinetics of Clinafloxacin after Single and Multiple Doses. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **2001**; *45*(9): 2529-35.

203 Gajjar DA, Bello A, Ge Z, Christopher L, Grasela DM. Multiple dose safety and pharmacokinetics of oral garenoxacin in healthy subjects. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**; *47*(7): 2256-63.

204 Gee T, Andrews JM, Ashby JP, Marshall G, Wise R. Pharmacokinetics and tissue penetration of gemifloxacin following a single oral dose. *J. Antimicrob. Chemother.* **2001**; *47*(4): 431-4.

205 Fish DN, Chow AT. The clinical pharmacokinetics of levofloxacin. *Clin. Pharmacokinet.* **1997**; *32*(2): 101-19.

206 Aminimanizani A, Beringer P, Jelliffe R. Comparative pharmacokinetics and pharmacodynamics of the newer fluoroquinolone antibacterials. *Clin. Pharmacokinet.* **2001**; *40*(3): 169-87.

207 Lubasch A, Keller I, Borner K, Koeppel P, Lode H. Comparative Pharmacokinetics of Ciprofloxacin, Gatifloxacin, Grepafloxacin, Levofloxacin, Trovafloxacin, and Moxifloxacin after Single Oral Administration in Healthy Volunteers. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**; *44*(10): 2600-3.

208 Gargallo-Viola D, Ferrer S, Tudela E, Robert M, Coll R, Roser R, Guinea J. Antibacterial Activities and Pharmacokinetics of E-4767 and E-5065, Two New 8-Chlorofluoroquinolones with a 7-Azetidin Ring Substituent. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**; *45*(11): 3113-21.

209 Blondeau JM. Expanded activity and utility of the new fluoroquinolones: a review. *Clin. Ther.* **1999**; *21*(1): 3-40.

b) *Propiedades biológicas*:<sup>210-16</sup>

- **Concentración mínima inhibitoria 50 % (CMI<sub>50</sub>) ó 90 % (CMI<sub>90</sub>):** dosis mínima con la que un fármaco es capaz de inhibir el 50 % (o el 90 %, respectivamente) del crecimiento de un determinado microorganismo.

Concentración Mínima Inhibitoria 50 (CMI<sub>50</sub>) frente a:

- *Haemophilus influenzae* (CMI<sub>50</sub>Hinf)
- *Staphylococcus epidermidis* (CMI<sub>50</sub>Sep)
- *Streptococcus pyogenes* (CMI<sub>50</sub>Sp)
- *Staphylococcus aureus* (CMI<sub>50</sub>Sa)
- *Proteus vulgaris* (CMI<sub>50</sub>Pv)
- *Bacteroides fragilis* (CMI<sub>50</sub>Bf)
- *Escherichia coli* (CMI<sub>50</sub>Ec)

Concentración Mínima Inhibitoria 90 (CMI<sub>90</sub>) frente a:

- *Moraxella catarrhalis* (CMI<sub>90</sub>Mc)
- *Escherichia coli* (CMI<sub>90</sub>Ec)
- *Proteus mirabilis* (CMI<sub>90</sub>Pm)
- *Streptococcus pyogenes* (CMI<sub>90</sub>Sp)
- *Haemophilus influenzae* (CMI<sub>90</sub>Hinf)
- *Clostridium perfringens* (CMI<sub>90</sub>Cp)
- *Klebsiella pneumoniae* (CMI<sub>90</sub>Kp)

Los valores promedio utilizados para la obtención de las ecuaciones de predicción de estas propiedades se muestran en las **Tablas 1.2-1.4**.

---

210 Cormican MG, Jones RN. Antimicrobial activity and spectrum of LB20304, a novel fluoronaphthyridone. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1997**; *41(1)*: 204-11.

211 Bongaerts GP, Hoogkamp-Korstanje JA. In Vitro Activities of BAY Y 3118, Ciprofloxacin, Ofloxacin, and Fleroxacin against Gram-Positive and Gram-Negative Pathogens from Respiratory Tract and Soft Tissue Infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1993**; *37(9)*: 2017-9.

212 Milatovic D, Schmitz FJ, Brisse S, Verhoef J, Fluit AC. In Vitro Activities of Sitafloxacin (DU-6859a) and Six Other Fluoroquinolones against 8,796 Clinical Bacterial Isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**; *44(4)*: 1102-7.

213 Niluis AM, Shen LL, Hensey-Rudloff D, Almer LS, Beyer JM, Balli DJ, Cai Y, Flamm RK. In Vitro Antibacterial Potency and Spectrum of ABT-492, a new fluoroquinolone. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2003**; *47(10)*: 3260-9.

214 Roychoudhury S, Twinem TL, Makin KM, McIntosh EJ, Ledoussal B, Catrenich CE. Activity of non-fluorinated quinolones (NFQs) against quinolone-resistant E.coli and S.pneumoniae. *J. Antimicrob. Chemother.* **2001**; *48(1)*: 29-36.

215 Saravolatz L, Manzor O, Check C, Pawlak J, Belian B. Antimicrobial activity of moxifloxacin, gatifloxacin and six fluoroquinolones against Streptococcus pneumoniae. *J. Antimicrob. Chemother.* **2001**; *47(6)*: 875-7.

216 Hoellman DB, Kelly LM, Jacobs MR, Appelbaum PC. Comparative Antianaerobic Activity of BMS 284756. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2001**; *45(2)*: 589-92.

**Tabla 1.2.** Valores promedio de las propiedades farmacocinéticas en individuos sanos y de concentración mínima inhibitoria 50, CMI<sub>50</sub>, frente a distintos microorganismos.

Compuesto	P. farmacocinéticas		CMI <sub>50</sub>		
	Vd (L/kg)	TRM <sub>vo</sub> (h)	CMI <sub>50</sub> Sa (mg/L)	CMI <sub>50</sub> Ec (mg/L)	CMI <sub>50</sub> Pv (mg/L)
Amifloxacin	1,54				
Balofloxacin		9,95			
Ciprofloxacin	3,72	5,70	0,500	0,022	0,034
Clinafloxacin	2,12			0,007	0,022
Difloxacin	1,34	38,40			
DV-7751 <sup>a</sup>		11,90			
Enoxacin	2,40	7,75		0,120	0,208
Esparfloxacin	4,69	27,24	0,120	0,030	0,250
Fleroxacin	1,41	14,60	0,750	0,075	0,090
Garenoxacin	0,88	15,68	0,030	0,060	0,250
Gatifloxacin		10,04	0,120	0,038	0,207
Gemifloxacin	4,22		0,060		0,060
Grepafloxacin	7,15				0,250
Levofloxacin	1,19	7,40	0,250	0,125	0,030
Lomefloxacin	2,29				
Moxifloxacin	2,89	15,76	0,060	0,060	0,500
Norfloxacin	3,00			0,080	0,060
Pefloxacin	1,62				
PGE-4175997				0,250	
PGE-9509924				0,122	
Rufloxacin	1,46	56,90			
Sitafloxacin		6,38	0,022	0,008	
Temafloxacin			0,250	0,120	
Tosufloxacin			0,060	0,020	0,120
Trovafloxacin		13,20	0,030	0,020	0,730
WIN-57273				0,102	0,500

**Tabla 1.3.** Valores promedio de concentración mínima inhibitoria 50 y 90, CMI<sub>50</sub> y CMI<sub>90</sub>, frente a distintos microorganismos.

Compuesto	CMI <sub>50</sub>				CMI <sub>90</sub>	
	CMI <sub>50</sub> SpY (mg/L)	CMI <sub>50</sub> Hinf (mg/L)	CMI <sub>50</sub> Sep (mg/L)	CMI <sub>50</sub> Bf (mg/L)	CMI <sub>90</sub> Ec (mg/L)	CMI <sub>90</sub> Kp (mg/L)
A-80556				1,000		
ABT-492				0,060		
Amifloxacino					0,187	1,000
BAY Y 3118				0,102		
Ciprofloxacino	0,467	0,028	0,239	4,923		
Clinafloxacino		0,006		0,145		
E-4868				4,000		
E-5065				1,000		
Enoxacino			0,500	32,000	0,281	1,083
Esparfloxacino	0,406	0,019	0,069	1,333	0,303	0,267
Fleroxacino	5,330	0,039	1,000	32,000	0,120	1,000
Garenoxacino	0,060			0,375	0,280	1,250
Gatifloxacino	0,280	0,055	0,120	0,250		2,000
Gemifloxacino	0,060					
Grepafloxacino			0,120	0,500		0,750
Levofloxacino	0,400	0,025	0,154	2,000	0,163	1,083
Lomefloxacino	4,000	0,080	1,000	10,660		1,000
Moxifloxacino	0,120	0,025		0,750	0,100	1,083
Norfloxacino		0,030	0,500			
Pefloxacino				16,000	0,375	
PGE-4175997					0,122	
PGE-9262932					0,122	
Rufloxacino					0,060	0,207
Sitafloxacino	0,030	0,008		0,250	1,000	2,000
Temafloxacino	0,500		0,185	2,000	0,250	
Tosufloxacino	0,120		0,185	1,000		0,353
Trovafloracino	0,085	0,0125	0,037	0,312		0,324
WIN-57273		0,030			0,207	0,750

**Tabla 1.4.** Valores promedio de concentración mínima inhibitoria 90, CMI<sub>90</sub>, frente a distintos microorganismos.

Compuesto	CMI <sub>90</sub>				
	CMI <sub>90</sub> Pm (mg/L)	CMI <sub>90</sub> SpY (mg/L)	CMI <sub>90</sub> Hinf (mg/L)	CMI <sub>90</sub> Mc (mg/L)	CMI <sub>90</sub> Cp (mg/L)
A-80556					0,500
ABT-492				0,005	0,015
Amifloxacino	1,250				
BAYy3118					0,125
Ciprofloxacino	0,149	1,033	0,087	0,047	0,937
Clinafloxacino			0,008	0,011	0,120
Enoxacino	0,500				
Esparfloxacino	0,750	0,643	0,069	0,022	0,500
Fleroxacino	0,163	8,000	0,092	0,185	2,000
Garenoxacino	2,100	0,500	0,022	0,065	0,750
Gatifloxacino	4,166			0,030	
Gemifloxacino					1,000
Grepafloxacino		0,700	0,025	0,052	0,750
Levofloxacino	0,625	4,660			3,000
Lomefloxacino	7,000	0,500	0,045	0,080	1,000
Moxifloxacino			0,060		
Rufloxacino	0,333	0,045	0,008	0,015	0,060
Sitafloxacino	16,000	0,250		0,030	1,000
Temafloxacino		0,500			0,390
Tosufloxacino	0,250	0,120		0,030	
Trovafloracino	0,350	0,222	0,026	0,026	0,217
WIN-57273	0,833		0,060		



### 4. FUNCIONES DE PREDICCIÓN SELECCIONADAS

#### 4.1. Tiempo de residencia medio (vía oral): TRM<sub>vo</sub>

$$TRM_{vo} = -79,33 + 4534,4^{10}\chi^{v_{ch}} + 13,69^2ka - 2,21S_{-O}$$

N = 14	r = 0,924	F = 19,46
EEE = 6,306	EEE(vc) = 8,33	p = 0,0002
r <sup>2</sup> <sub>ajustado</sub> = 0,880	r <sup>2</sup> = 0,854	r <sup>2</sup> (vc) = 0,740

**Tabla 1.5.** Estadística de los descriptores.

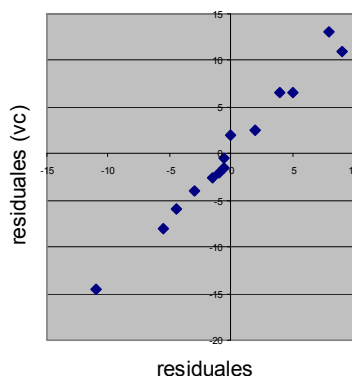
variable	EE	p
<sup>10</sup> $\chi^{v_{ch}}$	680,37	0,000
<sup>2</sup> $ka$	3,135	0,001
$S^T (-O-)$	0,623	0,005

**Tabla 1.6.** Dependencia lineal.

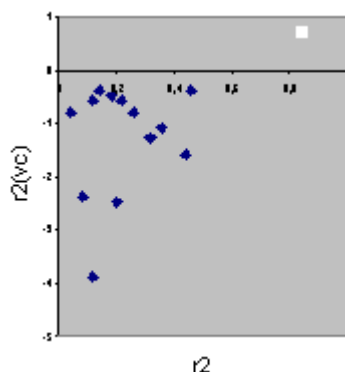
	<sup>10</sup> $\chi^{v_{ch}}$	<sup>2</sup> $ka$	$S^T (-O-)$
<sup>10</sup> $\chi^{v_{ch}}$	1,000		
<sup>2</sup> $ka$	0,306	1,000	
$S^T (-O-)$	-0,037	-0,227	1,000

**Tabla 1.7.** Resultados de predicción obtenidos para la propiedad TRM<sub>vo</sub>(h). Se muestran los valores experimentales (TRM<sub>vo</sub> exp), los calculados (TRM<sub>vo</sub> calc) y los residuales (Res).

Compuesto	TRM <sub>vo</sub> exp (h)	TRM <sub>vo</sub> calc (h)	Res
Balofloxacino	9,95	15,76	-5,81
Ciprofloxacino	5,70	6,75	-1,05
Difloxacino	38,40	30,17	8,23
DV-7751 <sup>a</sup>	11,90	7,61	4,29
Trovafoxacino	13,20	14,77	-1,57
Levofloxacino	7,40	12,05	-4,65
Moxifloxacino	15,76	10,37	5,39
Rufloxacino	56,90	56,76	0,14
Sitafloxacino	6,38	6,90	-0,52
Enoxacino	7,75	10,73	-2,98
Esparfloxacino	27,24	18,10	9,14
Fleroxacino	14,60	25,75	-11,15
Garenoxacino	15,68	17,17	-1,49
Gatifloxacino	10,04	8,00	2,04



**Figura 1.5.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad TRM<sub>vo</sub> frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.



**Figura 1.6.** Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de  $r^2$  frente a  $r^2(vc)$  obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad  $TRM_{vo}$ .

#### 4.2. Volumen de distribución: Vd

$$Vd = 10,12 + 0,704S_{-NH_2} - 0,613S_{-Cl} - 0,615G_2$$

N = 16	r = 0,926	F = 24,20
EEE = 0,694	EEE(vc) = 0,906	p = 0,0000
$r^2_{ajustado} = 0,823$	$r^2 = 0,858$	$r^2(vc) = 0,758$

**Tabla 1.8.** Estadística de los descriptores.

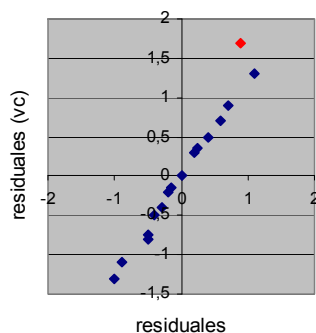
variable	EE	p
$S^T(-NH_2)$	0,083	0,000
$S^T(-Cl)$	0,126	0,000
$G_2$	0,160	0,002

**Tabla 1.9.** Dependencia lineal.

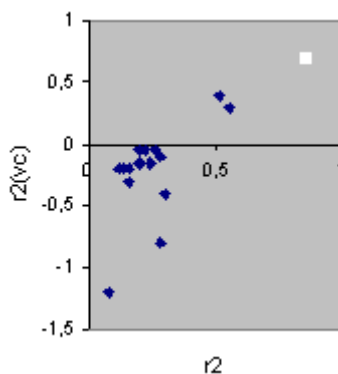
	$S^T(-NH_2)$	$S^T(-Cl)$	$G_2$
$S^T(-NH_2)$	1,000		
$S^T(-Cl)$	-0,493	1,000	
$G_2$	-0,406	0,235	1,000

**Tabla 1.10.** Resultados de predicción obtenidos para la propiedad Vd (L/kg). Se muestran los valores experimentales (Vd exp), los calculados (Vd calc) y los residuales (Res).

Compuesto	Vd exp	Vd calc	Res
Amifloxacino	1,54	2,53	-0,99
Ciprofloxacino	3,72	3,05	0,67
Clinafloxacino	2,12	2,12	0,00
Difloxacino	1,34	1,17	0,17
Rufloxacino	1,46	1,64	-0,18
Gemifloxacino	4,22	4,73	-0,51
Grepafloxacino	7,15	6,18	0,97
Levofloxacino	1,19	1,51	-0,32
Lomefloxacino	2,29	1,71	0,58
Moxifloxacino	2,89	1,75	1,14
Norfloxacino	3,00	2,81	0,19
Pefloxacino	1,62	2,53	-0,91
Enoxacino	2,40	2,81	-0,41
Esparfloxacino	4,69	5,17	-0,48
Fleroxacino	1,41	1,58	-0,17
Garenoxacino	0,88	0,64	0,24



**Figura 1.7.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad Vd frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.



**Figura 1.8.** Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de  $r^2$  frente a  $r^2(vc)$  obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad Vd.

### 4.3. CMI<sub>50</sub> *Haemophilus influenzae*: CMI<sub>50</sub>Hinf

$$CMI_{50}Hinf = -0,564 - 0,41^5 \chi^{vc} + 0,567 IShannon - 0,003 Wp$$

N = 12	r = 0,943	F = 21,61
EEE = 0,008	EEE(vc) = 0,013	p = 0,0003
$r^2_{ajustado} = 0,849$	$r^2 = 0,890$	$r^2(vc) = 0,730$

**Tabla 1.11.** Estadística de los descriptores.

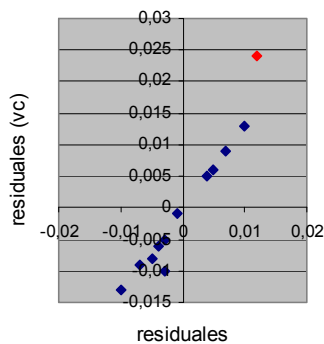
Variable	EE	p
$\chi^{vc}$	0,085	0,001
<i>IShannon</i>	0,0919	0,000
<i>Wp</i>	0,001	0,001

**Tabla 1.12.** Dependencia lineal.

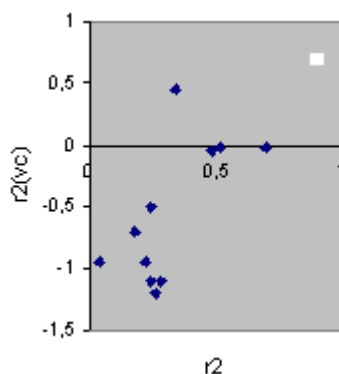
	$\chi^{vc}$	<i>IShannon</i>	<i>Wp</i>
$\chi^{vc}$	1,000		
<i>IShannon</i>	-0,235	1,000	
<i>Wp</i>	-0,266	-0,704	1,000

**Tabla 1.13.** Resultados de predicción obtenidos para la propiedad CMI<sub>50</sub>Hinf (mg/L). Se muestran los valores experimentales (CMI<sub>50</sub>Hinf exp), los calculados (CMI<sub>50</sub>Hinf calc) y los residuales (Res).

Compuesto	CMI <sub>50</sub> Hinf exp	CMI <sub>50</sub> Hinf calc	Res
Ciprofloxacino	0,028	0,022	0,006
Clinafloxacino	0,006	0,009	-0,003
Esparfloxacino	0,019	0,019	0,000
Fleroxacino	0,039	0,049	-0,010
Gatifloxacino	0,055	0,058	-0,003
Trovafloxacino	0,0125	0,009	0,0035
WIN57273	0,030	0,020	0,010
Sitafloxacino	0,008	0,013	-0,005
Levofloxacino	0,025	0,032	-0,007
Lomefloxacino	0,080	0,069	0,011
Moxifloxacino	0,025	0,020	0,005
Norfloxacino	0,030	0,036	-0,006



**Figura 1.9.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad CMI<sub>50</sub>Hinf frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.



**Figura 1.10.** Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de  $r^2$  frente a  $r^2(vc)$  obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad CMI<sub>50</sub>Hinf.

#### 4.4. CMI<sub>50</sub> *Staphylococcus epidermidis*: CMI<sub>50</sub>Sep

$$CMI_{50}Sep = 33,74 + 3,69I_{Shannon} - 4,2 S_{-OH} + 0,121G^v_4$$

N = 12	r = 0,974	F = 48,89
EEE = 0,091	EEE(vc) = 0,151	p = 0,0000
r <sup>2</sup> <sub>ajustado</sub> = 0,930	r <sup>2</sup> = 0,948	r <sup>2</sup> (vc) = 0,850

**Tabla 1.14.** Estadística de los descriptores.

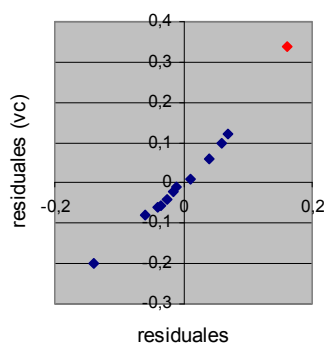
variable	EE	p
<i>I</i> Shannon	0,656	0,000
<i>T</i> S (-OH)	0,361	0,000
G <sup>v</sup> <sub>4</sub>	0,043	0,023

**Tabla 1.15.** Dependencia lineal.

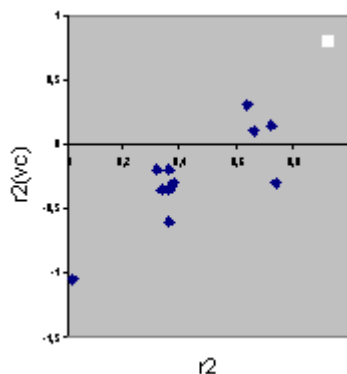
	<i>I</i> Shannon	<i>T</i> S (-OH)	G <sup>v</sup> <sub>4</sub>
<i>I</i> Shannon	1,000		
<i>T</i> S (-OH)	-0,686	1,000	
G <sup>v</sup> <sub>4</sub>	0,242	-0,216	1,000

**Tabla 1.16.** Resultados de predicción obtenidos para la propiedad CMI<sub>50</sub>Sep (mg/L). Se muestran los valores experimentales (CMI<sub>50</sub>Sep exp), los calculados (CMI<sub>50</sub>Sep calc) y los residuales (Res).

Compuesto	CMI <sub>50</sub> Sep exp	CMI <sub>50</sub> Sep calc	Res
Ciprofloxacino	0,239	0,067	0,172
Enoxacino	0,500	0,640	-0,140
Esparfloxacino	0,069	0,097	-0,028
Fleroxacino	1,000	0,943	0,057
Gatifloxacino	0,120	0,113	0,007
Grepafloracino	0,120	0,133	-0,013
Levofloxacino	0,154	0,195	-0,051
Lomefloxacino	1,000	0,935	0,065
Norfloxacino	0,500	0,540	-0,040
Temafloxacino	0,185	0,149	0,036
Tosufloxacino	0,185	0,203	-0,018
Trovafloracino	0,037	0,094	-0,057



**Figura 1.11.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad CMI<sub>50</sub>Sep frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.



**Figura 1.12.** Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de  $r^2$  frente a  $r^2(vc)$  obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad  $CMI_{50}Spy$ .

#### 4.5. $CMI_{50}$ *Streptococcus pyogenes*: $CMI_{50}Spy$

$$CMI_{50}Spy = 213,48 + 2,46^5 \chi_p + 1,06^2 \kappa - 24,44 S_{-OH}$$

N = 13	$r = 0,975$	F = 58,76
EEE = 0,431	EEE(vc) = 0,578	p = 0,0000
$r^2_{ajustado} = 0,935$	$r^2 = 0,951$	$r^2(vc) = 0,913$

**Tabla 1.17.** Estadística de los descriptores.

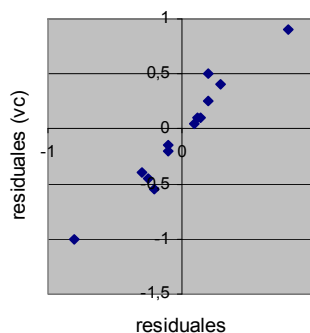
variable	EE	p
$^5\chi_p$	0,515	0,001
$^2\kappa$	0,181	0,000
$S^T (-OH)$	2,096	0,000

**Tabla 1.18.** Dependencia lineal.

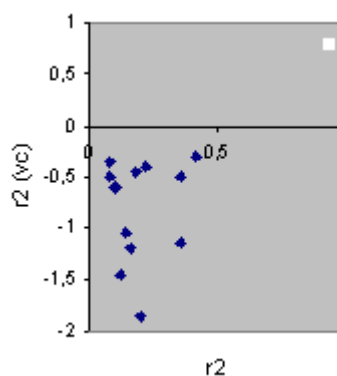
	$^5\chi_p$	$^2\kappa$	$S^T (-OH)$
$^5\chi_p$	1,000		
$^2\kappa$	0,414	1,000	
$S^T (-OH)$	-0,759	-0,468	1,000

**Tabla 1.19.** Resultados de predicción obtenidos para la propiedad  $CMI_{50}Spy$  (mg/L). Se muestran los valores experimentales ( $CMI_{50}Spy_{exp}$ ), los calculados ( $CMI_{50}Spy_{calc}$ ) y los residuales (Res).

Compuesto	$CMI_{50}Spy_{exp}$	$CMI_{50}Spy_{calc}$	Res
Ciprofloxacino	0,467	0,387	0,080
Esparfloxacino	0,406	0,281	0,125
Fleroxacino	5,330	5,159	0,171
Garenoxacino	0,060	-0,255	0,315
Gatifloxacino	0,280	-0,526	0,806
Gemifloxacino	0,060	0,863	-0,803
Levofloxacino	0,400	0,684	-0,284
Lomefloxacino	4,000	3,828	0,172
Moxifloxacino	0,120	0,308	-0,188
Sitafloxacino	0,030	0,271	-0,241
Temafloxacino	0,500	0,612	-0,112
Tosufloxacino	0,120	0,227	-0,107
Trovafloxacino	0,085	0,081	0,004



**Figura 1.13.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad CMI<sub>50</sub>Spy frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.



**Figura 1.14.** Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de r<sup>2</sup> frente a r<sup>2</sup>(vc) obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad CMI<sub>50</sub>Spy.

#### 4.6. CMI<sub>50</sub> *Staphylococcus aureus*: CMI<sub>50</sub>Sa

$$CMI_{50}Sa = 18,45 - 0,112S_{=C<} - 0,041S_{-NH_2} - 0,767S_{=O}$$

N = 12	r = 0,983	F = 77,23
EEE = 0,048	EEE(vc) = 0,065	p = 0,0000
r <sup>2</sup> <sub>ajustado</sub> = 0,954	r <sup>2</sup> = 0,96	r <sup>2</sup> (vc) = 0,939

**Tabla 1.20.** Estadística de los descriptores.

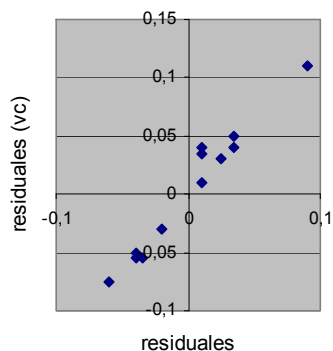
variable	EE	p
S <sup>T</sup> (=C<)	0,032	0,008
S <sup>T</sup> (-NH <sub>2</sub> )	0,005	0,000
S <sup>T</sup> (=O)	0,063	0,000

**Tabla 1.21.** Dependencia lineal.

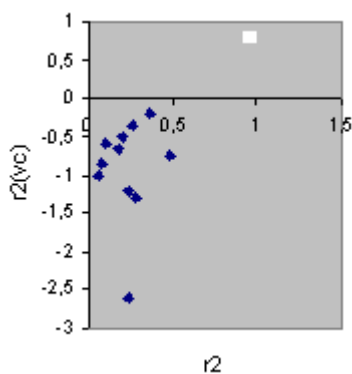
	S <sup>T</sup> (=C<)	S <sup>T</sup> (-NH <sub>2</sub> )	S <sup>T</sup> (=O)
S <sup>T</sup> (=C<)	1,000		
S <sup>T</sup> (-NH <sub>2</sub> )	0,236	1,000	
S <sup>T</sup> (=O)	-0,085	-0,031	1,000

**Tabla 1.22.** Resultados de predicción obtenidos para la propiedad CMI<sub>50</sub>Sa (mg/L). Se muestran los valores experimentales (CMI<sub>50</sub>Sa exp), los calculados (CMI<sub>50</sub>Sa calc) y los residuales (Res).

Compuesto	CMI <sub>50</sub> Sa exp	CMI <sub>50</sub> Sa calc	Res
Ciprofloxacino	0,500	0,469	0,031
Esparfloxacino	0,120	0,033	0,087
Fleroxacino	0,750	0,739	0,011
Garenoxacino	0,030	0,025	0,005
Gatifloxacino	0,120	0,160	-0,040
Gemifloxacino	0,060	0,049	0,011
Levofloxacino	0,250	0,310	-0,060
Moxifloxacino	0,060	0,028	0,032
Sitafloxacino	0,022	0,062	-0,040
Temafloxacino	0,250	0,230	0,020
Tosufloxacino	0,060	0,080	-0,020
Trovafloxacino	0,030	0,066	-0,036



**Figura 1.15.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad CMI<sub>50</sub>Sa frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.



**Figura 1.16.** Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de  $r^2$  frente a  $r^2(vc)$  obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad CMI<sub>50</sub>Sa.



### 4.7. CMI<sub>50</sub> *Proteus vulgaris*: CMI<sub>50</sub>Pv

$$\text{CMI}_{50}\text{Pv} = -1,25 + 0,572^5\chi^v_p + 0,081S_{aNa} - 0,051S_{-O}$$

N = 15	r = 0,901	F = 15,88
EEE = 0,102	EEE(vc) = 0,149	p = 0,0003
r <sup>2</sup> <sub>ajustado</sub> = 0,761	r <sup>2</sup> = 0,812	r <sup>2</sup> (vc) = 0,597

**Tabla 1.23.** Estadística de los descriptores.

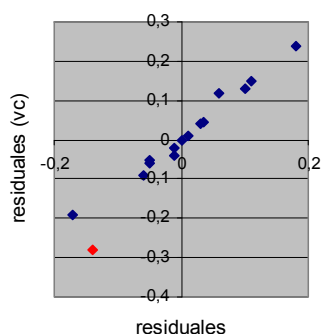
variable	EE	p
<sup>5</sup> χ <sup>v</sup> <sub>p</sub>	0,096	0,000
<sup>T</sup> S(aNa)	0,015	0,000
<sup>S</sup> <sup>T</sup> (-O-)	0,014	0,003

**Tabla 1.24.** Dependencia lineal.

	<sup>5</sup> χ <sup>v</sup> <sub>p</sub>	<sup>T</sup> S(aNa)	<sup>S</sup> <sup>T</sup> (-O-)
<sup>5</sup> χ <sup>v</sup> <sub>p</sub>	1,000		
<sup>T</sup> S(aNa)	0,377	1,000	
<sup>S</sup> <sup>T</sup> (-O-)	-0,655	-0,155	1,000

**Tabla 1.25.** Resultados de predicción obtenidos para la propiedad CMI<sub>50</sub>Pv (mg/L). Se muestran los valores experimentales (CMI<sub>50</sub>Pv exp), los calculados (CMI<sub>50</sub>Pv calc) y los residuales (Res).

Compuesto	CMI <sub>50</sub> Pv exp	CMI <sub>50</sub> Pv calc	Res
Ciprofloxacino	0,034	0,087	-0,053
Clinafloxacino	0,022	0,183	-0,161
Enoxacino	0,208	0,222	-0,014
Esparfloxacino	0,250	0,301	-0,051
Fleroxacino	0,090	0,088	0,002
Garenoxacino	0,250	0,216	0,034
Gatifloxacino	0,207	0,030	0,177
Gemifloxacino	0,060	0,205	-0,145
Grepafloxacino	0,250	0,220	0,030
Levofloxacino	0,030	0,093	-0,063
Moxifloxacino	0,500	0,516	-0,016
Norfloxacino	0,060	-0,036	0,096
Tosufloxacino	0,120	0,121	-0,001
Trovafloxacino	0,730	0,673	0,057
WIN57273	0,500	0,393	0,107



**Figura 1.17.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad CMI<sub>50</sub>Pv frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.

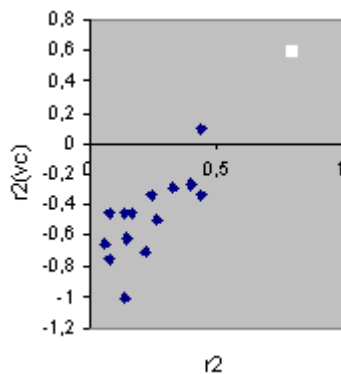


Figura 1.18. Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de  $r^2$  frente a  $r^2(vc)$  obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad  $CMI_{50}Pv$ .

#### 4.8. $CMI_{50}$ *Bacteroides fragilis*: $CMI_{50}Bf$

$$CMI_{50}Bf = 989,49 + 3,66^I\kappa - 42,4S=O - 153,8J_1$$

N = 21	$r = 0,920$	F = 31,17
EEE = 4,134	EEE(vc) = 5,607	p = 0,0000
$r^2_{ajustado} = 0,819$	$r^2 = 0,846$	$r^2(vc) = 0,717$

Tabla 1.26. Estadística de los descriptores.

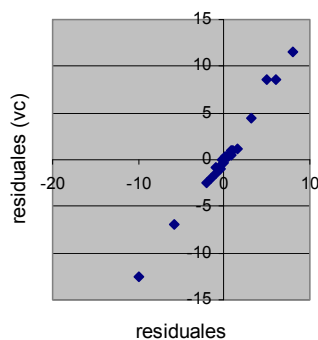
variable	EE	p
$^I\kappa$	0,782	0,000
$S^T (=O)$	4,722	0,000
$J_1$	39,97	0,001

Tabla 1.27. Dependencia lineal.

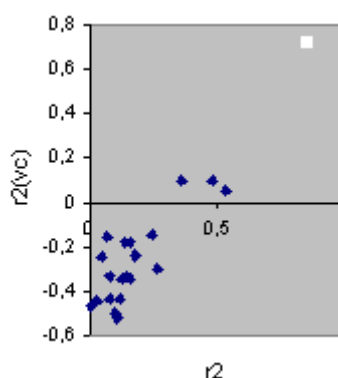
	$^I\kappa$	$S^T (=O)$	$J_1$
$^I\kappa$	1,000		
$S^T (=O)$	-0,666	1,000	
$J_1$	-0,570	0,253	1,000

Tabla 1.28. Resultados de predicción obtenidos para la propiedad  $CMI_{50}Bf$  (mg/L). Se muestran los valores experimentales ( $CMI_{50}Bf$  exp), los calculados ( $CMI_{50}Bf$  calc) y los residuales (Res).

Compuesto	$CMI_{50}Bf$ exp	$CMI_{50}Bf$ calc	Res
A-80556	1,000	0,725	0,275
ABT-492	0,060	0,845	-0,785
BAY Y 3118	0,102	0,919	-0,817
Ciprofloxacino	4,923	10,661	-5,738
Cinafloxacino	0,145	2,353	-2,208
E-4767	4,000	3,047	0,953
E-5065	1,000	0,945	0,055
Enoxacino	32,000	23,847	8,153
Esparfloxacino	1,333	0,153	1,180
Fleroxacino	32,000	26,744	5,256
Garenoxacino	0,375	0,921	-0,546
Gatifloxacino	0,250	-0,188	0,438
Grepafloxacino	0,500	0,051	0,449
Levofloxacino	2,000	2,955	-0,955
Lomefloxacino	10,660	20,682	-10,022
Moxifloxacino	0,750	-2,375	3,125
Pefloxacino	16,000	16,378	-0,378
Sitafloxacino	0,250	-5,770	6,020
Temafloxacino	2,000	3,258	-1,258
Tosufloxacino	1,000	2,793	-1,793
Trovafloxacino	0,312	1,716	-1,404



**Figura 1.19.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad  $CMI_{50}Bf$  frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.



**Figura 1.20.** Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de  $r^2$  frente a  $r^2(vc)$  obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad  $CMI_{50}Bf$ .

#### 4.9. $CMI_{50}$ *Escherichia coli*: $CMI_{50}Ec$

$$CMI_{50}Ec = 0,571 + 0,035S_{-CH_3} - 2,42J_4 - 0,021V_4$$

$N = 17$	$r = 0,924$	$F = 25,4$
$EEE = 0,027$	$EEE(vc) = 0,031$	$p = 0,0000$
$r^2_{ajustado} = 0,854$	$r^2 = 0,821$	$r^2(vc) = 0,764$

**Tabla 1.29.** Estadística de los descriptores.

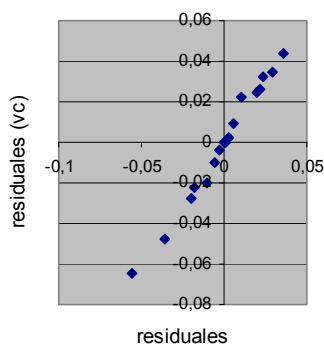
variable	EE	P
$S'(-CH_3)$	0,004	0,000
$J_4$	0,474	0,000
$V_4$	0,006	0,005

**Tabla 1.30.** Dependencia lineal.

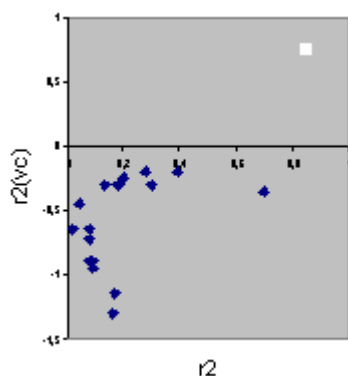
	$S'(-CH_3)$	$J_4$	$V_4$
$S'(-CH_3)$	1,000		
$J_4$	-0,398	1,000	
$V_4$	-0,118	0,406	1,000

**Tabla 1.31.** Resultados de predicción obtenidos para la propiedad CMI<sub>50</sub>Ec (mg/L). Se muestran los valores experimentales (CMI<sub>50</sub>Ec exp), los calculados (CMI<sub>50</sub>Ec calc) y los residuales (Res).

Compuesto	CMI <sub>50</sub> Ec exp	CMI <sub>50</sub> Ec calc	Res
Ciprofloxacino	0,022	0,058	-0,036
Clinafloxacino	0,007	-0,017	0,024
Enoxacino	0,120	0,098	0,022
Esparfloxacino	0,030	0,040	-0,010
Fleroxacino	0,075	0,038	0,037
Garenoxacino	0,060	0,061	-0,001
Gatifloxacino	0,038	0,094	-0,056
Levofloxacino	0,125	0,118	0,007
Moxifloxacino	0,060	0,060	0,000
Norfloxacino	0,080	0,099	-0,019
PGE4175997	0,250	0,240	0,010
PGE9509924	0,122	0,102	0,020
Sitafloxacino	0,008	0,005	0,003
Temafloxacino	0,120	0,091	0,029
Tosufloxacino	0,020	0,027	-0,007
Trovafloxacino	0,020	0,040	-0,020
WIN57273	0,102	0,123	-0,021



**Figura 1.21.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad CMI<sub>50</sub>Ec frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.



**Figura 1.22.** Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de  $r^2$  frente a  $r^2(vc)$  obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad CMI<sub>50</sub>Ec.

### 4.10. CMI<sub>90</sub> *Moraxella catarrhalis*: CMI<sub>90</sub>Mc

$$\text{CMI}_{90}\text{Mc} = -2,83 - 0,103^6\chi_p + 0,987\text{NI}_2 + 1,6\text{J}_4$$

N = 13	r = 0,940	F = 22,87
EEE = 0,018	EEE(vc) = 0,033	p = 0,0002
r <sup>2</sup> <sub>ajustado</sub> = 0,845	r <sup>2</sup> = 0,884	r <sup>2</sup> (vc) = 0,637

**Tabla 1.32.** Estadística de los descriptores.

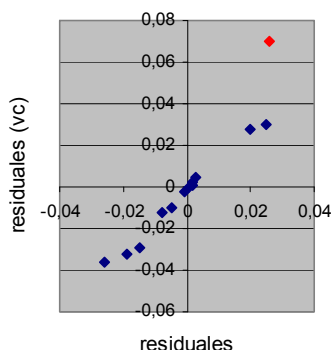
variable	EE	P
<sup>6</sup> χ <sub>p</sub>	0,013	0,000
NI <sub>2</sub>	0,131	0,000
J <sub>4</sub>	0,371	0,002

**Tabla 1.33.** Dependencia lineal.

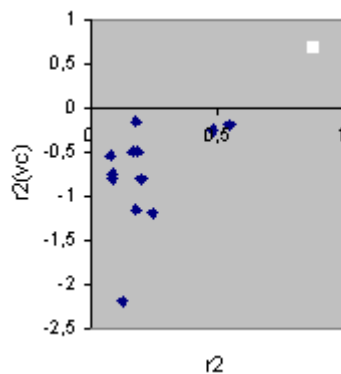
	<sup>6</sup> χ <sub>p</sub>	NI <sub>2</sub>	J <sub>4</sub>
<sup>6</sup> χ <sub>p</sub>	1,000		
NI <sub>2</sub>	-0,772	1,000	
J <sub>4</sub>	-0,153	0,503	1,000

**Tabla 1.34.** Resultados de predicción obtenidos para la propiedad CMI<sub>90</sub>Mc (mg/L). Se muestran los valores experimentales (CMI<sub>90</sub>Mc exp), los calculados (CMI<sub>90</sub>Mc calc) y los residuales (Res).

Compuesto	CMI <sub>90</sub> Mc exp	CMI <sub>90</sub> Mc calc	Res
ABT-492	0,005	0,004	0,001
Ciprofloxacino	0,047	0,045	0,002
Clinafloxacino	0,011	0,020	-0,009
Esparfloxacino	0,022	0,038	-0,016
Fleroxacino	0,185	0,160	0,025
Garenoxacino	0,065	0,062	0,003
Gatifloxacino	0,030	0,009	0,021
Grepafloxacino	0,052	0,052	0,000
Lomefloxacino	0,080	0,106	-0,026
Rufloxacino	0,015	0,020	-0,005
Sitafloxacino	0,030	0,005	0,025
Tosufloxacino	0,030	0,032	-0,002
Trovafloxacino	0,026	0,045	-0,019



**Figura 1.23.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad CMI<sub>90</sub>Mc frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.



**Figura 1.24.** Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de  $r^2$  frente a  $r^2(vc)$  obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad  $CMI_{90}Mc$ .

#### 4.11. $CMI_{90}$ *Escherichia coli*: $CMI_{90}Ec$

$$CMI_{90}Ec = 0,228 + 0,091S_{-Cl} - 0,144G^v_4 + 6,29J_5$$

N = 14	$r = 0,962$	F = 41,02
EEE = 0,073	EEE(vc) = 0,093	p = 0,0000
$r^2_{ajustado} = 0,902$	$r^2 = 0,925$	$r^2(vc) = 0,876$

**Tabla 1.35.** Estadística de los descriptores.

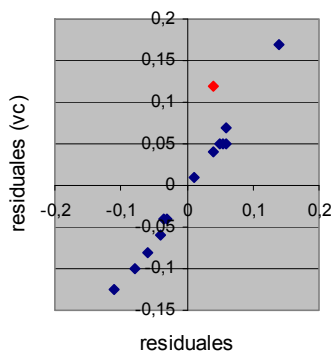
variable	EE	p
$S' (-Cl)$	0,015	0,000
$G^v_4$	0,046	0,011
$J_5$	2,543	0,033

**Tabla 1.36.** Dependencia lineal.

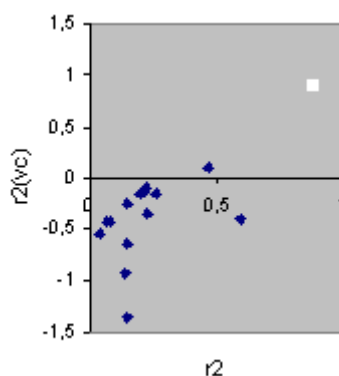
	$S' (-Cl)$	$G^v_4$	$J_5$
$S' (-Cl)$	1,000		
$G^v_4$	0,530	1,000	
$J_5$	-0,605	-0,547	1,000

**Tabla 1.37.** Resultados de predicción obtenidos para la propiedad  $CMI_{90}Ec$  (mg/L). Se muestran los valores experimentales ( $CMI_{90}Ec$  exp), los calculados ( $CMI_{90}Ec$  calc) y los residuales (Res).

Compuesto	$CMI_{90}Ec$ exp	$CMI_{90}Ec$ calc	Res
Amifloxacino	0,187	0,270	-0,083
Enoxacino	0,281	0,261	0,020
Esparfloxacino	0,303	0,266	0,037
Fleroxacino	0,120	0,228	-0,108
Garenoxacino	0,280	0,244	0,036
Levofloxacino	0,163	0,112	0,051
Moxifloxacino	0,100	0,141	-0,041
Pefloxacino	0,375	0,226	0,149
PGE4175997	0,122	0,094	0,028
PGE9262932	0,122	0,138	-0,016
Rufloxacino	0,060	0,119	-0,059
Sitafloxacino	1,000	1,000	0,000
Temafloxacino	0,250	0,264	-0,014
WIN57273	0,207	0,251	-0,044



**Figura 1.25.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad  $CMI_{90Ec}$  frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.



**Figura 1.26.** Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de  $r^2$  frente a  $r^2(vc)$  obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad  $CMI_{90Ec}$ .

#### 4.12. $CMI_{90}$ *Proteus mirabilis*: $CMI_{90Pm}$

$$CMI_{90Pm} = -2,58 - 84,04^6\chi_{ch} - 8,11^3\kappa + 36,93I_{Shannon}$$

$N = 14$

$r = 0,954$

$F = 33,69$

$EEE = 1,487$

$EEE(vc) = 1,866$

$p = 0,0000$

$r^2_{ajustado} = 0,883$

$r^2 = 0,92$

$r^2(vc) = 0,858$

**Tabla 1.38.** Estadística de los descriptores.

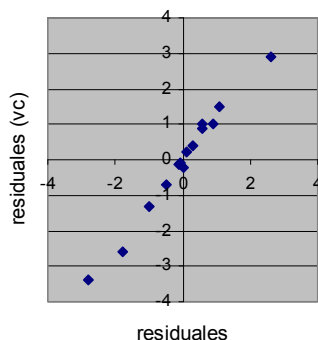
variable	EE	p
$^6\chi_{ch}$	11,519	0,000
$^3\kappa$	1,273	0,000
$I_{Shannon}$	9,197	0,002

**Tabla 1.39.** Dependencia lineal.

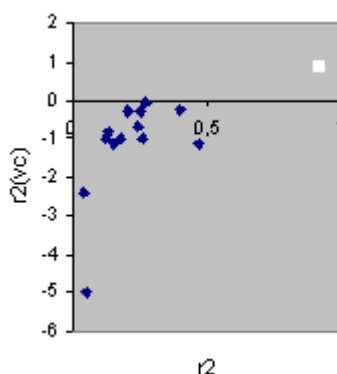
	$^6\chi_{ch}$	$^3\kappa$	$I_{Shannon}$
$^6\chi_{ch}$	1,000		
$^3\kappa$	0,068	1,000	
$I_{Shannon}$	0,250	-0,452	1,000

**Tabla 1.40.** Resultados de predicción obtenidos para la propiedad CMI<sub>90</sub>Ec (mg/L). Se muestran los valores experimentales (CMI<sub>90</sub>Ec exp), los calculados (CMI<sub>90</sub>Ec calc) y los residuales (Res).

Compuesto	CMI <sub>90</sub> Pm exp	CMI <sub>90</sub> Pm calc	Res
Amifloxacino	1,250	0,586	0,664
Ciprofloxacino	0,149	0,298	-0,149
Enoxacino	0,500	0,182	0,318
Esparfloxacino	0,750	3,596	-2,846
Fleroxacino	0,163	0,280	-0,117
Garenoxacino	2,100	1,080	1,020
Gatifloxacino	4,166	3,246	0,920
Levofloxacino	0,625	1,613	-0,988
Lomefloxacino	7,000	4,387	2,613
Rufloxacino	0,333	0,766	-0,433
Sitafloxacino	16,000	16,023	-0,023
Tosufloxacino	0,250	1,999	-1,749
Trovafloxacino	0,350	0,286	0,064
WIN57273	0,833	0,125	0,708



**Figura 1.27.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad CMI<sub>90</sub>Pm frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.



**Figura 1.28.** Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de  $r^2$  frente a  $r^2(vc)$  obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad CMI<sub>90</sub>Pm.



### 4.13. CMI<sub>90</sub> *Streptococcus pyogenes*: CMI<sub>90</sub>Spy

$$\text{CMI}_{90}\text{Spy} = -5,34 + 7,39\chi^v_p + 12,86\Delta^1\chi - 3,07V_4$$

N = 12	r = 0,969	F = 41,04
EEE = 0,698	EEE(vc) = 1,102	p = 0,0000
r <sup>2</sup> <sub>ajustado</sub> = 0,916	r <sup>2</sup> = 0,939	r <sup>2</sup> (vc) = 0,848

**Tabla 1.41.** Estadística de los descriptores.

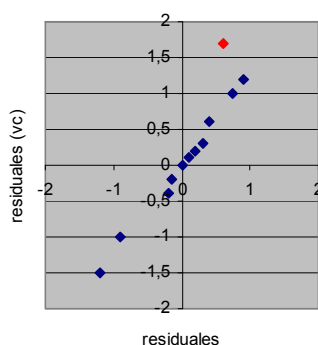
variable	EE	p
$\chi^v_p$	1,268	0,000
$\Delta^1\chi$	1,306	0,000
$V_4$	0,304	0,000

**Tabla 1.42.** Dependencia lineal.

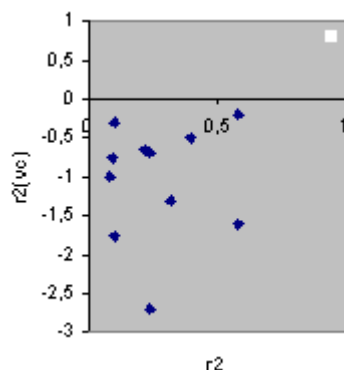
	$\chi^v_p$	$\Delta^1\chi$	$V_4$
$\chi^v_p$	1,000		
$\Delta^1\chi$	0,777	1,000	
$V_4$	-0,604	-0,753	1,000

**Tabla 1.43.** Resultados de predicción obtenidos para la propiedad CMI<sub>90</sub>Spy (mg/L). Se muestran los valores experimentales (CMI<sub>90</sub>Spy exp), los calculados (CMI<sub>90</sub>Spy calc) y los residuales (Res).

Compuesto	CMI <sub>90</sub> Spy exp	CMI <sub>90</sub> Spy calc	Res
Ciprofloxacino	1,033	0,935	0,098
Esparfloxacino	0,643	1,539	-0,896
Fleroxacino	8,000	7,441	0,559
Garenoxacino	0,500	0,486	0,014
Grepafloxacino	0,700	0,879	-0,179
Levofloxacino	4,660	4,678	-0,018
Lomefloxacino	0,500	0,738	-0,238
Rufloxacino	0,045	-0,115	0,160
Sitafloxacino	0,250	0,217	0,033
Temafloxacino	0,500	-0,213	0,713
Tosufloxacino	0,120	-0,788	0,908
Trovafloxacino	0,222	1,375	-1,153



**Figura 1.29.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad CMI<sub>90</sub>Spy frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.



**Figura 1.30.** Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de  $r^2$  frente a  $r^2(vc)$  obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad  $CMI_{90}Spy$ .

#### 4.14. $CMI_{90}$ *Haemophilus influenzae*: $CMI_{90}Hinf$

$$CMI_{90}Hinf = 0,768 - 0,537IShannon - 0,023Numhba + 0,11\Delta^1\chi$$

N = 11	r = 0,947	F = 20,48
EEE = 0,011	EEE(vc) = 0,017	p = 0,0008
$r^2_{ajustado} = 0,854$	$r^2 = 0,897$	$r^2(vc) = 0,767$

**Tabla 1.44.** Estadística de los descriptores.

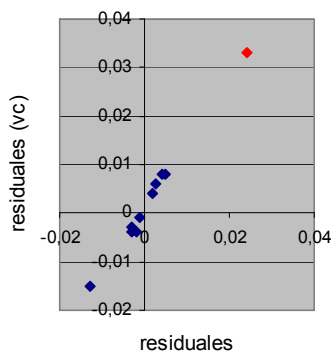
variable	EE	p
<i>I</i> Shannon	0,096	0,001
<i>N</i> umhba	0,005	0,005
$\Delta^1\chi$	0,015	0,000

**Tabla 1.45.** Dependencia lineal.

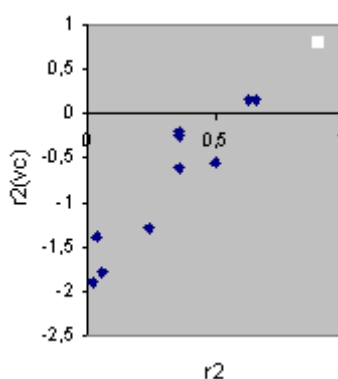
	<i>I</i> Shannon	<i>N</i> umhba	$\Delta^1\chi$
<i>I</i> Shannon	1,000		
<i>N</i> umhba	-0,128	1,000	
$\Delta^1\chi$	-0,364	-0,673	1,000

**Tabla 1.46.** Resultados de predicción obtenidos para la propiedad  $CMI_{90}Hinf$  (mg/L). Se muestran los valores experimentales ( $CMI_{90}Hinf$  exp), los calculados ( $CMI_{90}Hinf$  calc) y los residuales (Res).

Compuesto	$CMI_{90}Hinf$ exp	$CMI_{90}Hinf$ calc	Res
Ciprofloxacino	0,087	0,088	-0,001
Clinafloxacino	0,008	0,011	-0,003
Esparfloxacino	0,069	0,063	0,006
Fleroxacino	0,092	0,095	-0,003
Garenoxacino	0,022	0,036	-0,014
Grepafloxacino	0,025	0,039	-0,014
Lomefloxacino	0,045	0,048	-0,003
Moxifloxacino	0,060	0,038	0,022
Rufloxacino	0,008	0,005	0,003
Trovafloxacino	0,026	0,024	0,002
WIN57273	0,060	0,056	0,004



**Figura 1.31.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad  $CMI_{90}Hinf$  frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.



**Figura 1.32.** Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de  $r^2$  frente a  $r^2(vc)$  obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad  $CMI_{90}Hinf$ .

#### 4.15. $CMI_{90}$ *Clostridium perfringens*: $CMI_{90}Cp$

$$CMI_{90}Cp = 1,26 - 2,06S_{=C<} + 0,406S_{-O-} - 0,725V_4$$

$N = 16$	$r = 0,941$	$F = 30,81$
$EEE = 0,295$	$EEE(vc) = 0,407$	$p = 0,0000$
$r^2_{ajustado} = 0,856$	$r^2 = 0,885$	$r^2(vc) = 0,782$

**Tabla 1.47.** Estadística de los descriptores.

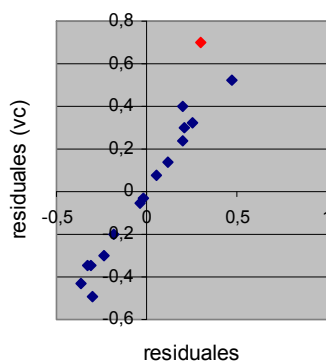
variable	EE	p
$S^T (=C<)$	0,299	0,000
$S^T (-O-)$	0,047	0,000
$V_4$	0,096	0,000

**Tabla 1.48** Dependencia lineal.

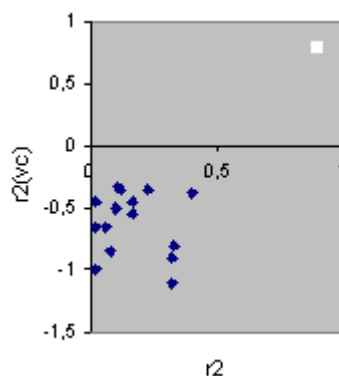
	$S^T (=C<)$	$S^T (-O-)$	$V_4$
$S^T (=C<)$	1,000		
$S^T (-O-)$	-0,640	1,000	
$V_4$	0,783	-0,468	1,000

**Tabla 1.49.** Resultados de predicción obtenidos para la propiedad CMI<sub>90</sub>Cp (mg/L). Se muestran los valores experimentales (CMI<sub>90</sub>Cp exp), los calculados (CMI<sub>90</sub>Cp calc) y los residuales (Res).

Compuesto	CMI <sub>90</sub> Cp exp	CMI <sub>90</sub> Cp calc	Res
A-80556	0,500	0,384	0,116
ABT-492	0,015	-0,183	0,198
BAY Y 3118	0,125	0,300	-0,175
Ciprofloxacino	0,937	0,724	0,213
Clinafloxacino	0,120	0,435	-0,315
Esparfloxacino	0,500	0,831	-0,331
Fleroxacino	2,000	2,022	-0,022
Garenoxacino	0,750	1,056	-0,306
Gemifloxacino	1,000	1,043	-0,043
Grepafloxacino	0,750	0,486	0,264
Levofloxacino	3,000	2,704	0,296
Lomefloxacino	1,000	1,248	-0,248
Rufloxacino	0,060	0,007	0,053
Sitafloxacino	1,000	0,532	0,468
Temafloxacino	0,390	0,301	0,089
Trovafloxacino	0,217	0,583	-0,366



**Figura 1.33.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad CMI<sub>90</sub>Cp frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.



**Figura 1.34.** Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de  $r^2$  frente a  $r^2(vc)$  obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad CMI<sub>90</sub>Cp.

### 4.16. CMI<sub>90</sub> *Klebsiella pneumoniae*: CMI<sub>90</sub>Kp

$$CMI_{90}Kp = 2,52 - 0,687^{\delta}\chi_p + 0,196S_{-O} + 0,207S_{-Cl}$$

N = 15	r = 0,908	F = 1729
EEE = 0,071	EEE(vc) = 0,3	p = 0,0002
r <sup>2</sup> <sub>ajustado</sub> = 0,777	r <sup>2</sup> = 0,825	r <sup>2</sup> (vc) = 0,7

**Tabla 1.50.** Estadística de los descriptores.

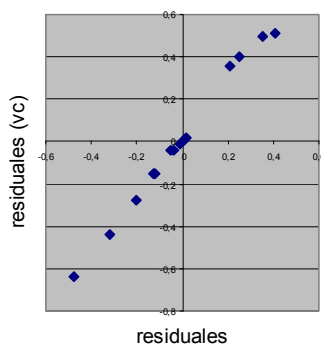
variable	EE	p
<sup>δ</sup> χ <sub>p</sub>	0,152	0,001
S <sup>T</sup> (-O-)	0,034	0,000
S <sup>T</sup> (-Cl)	0,043	0,001

**Tabla 1.51.** Dependencia lineal.

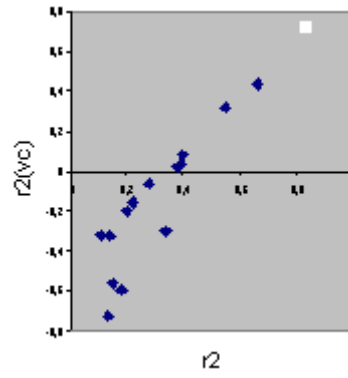
	<sup>δ</sup> χ <sub>p</sub>	S <sup>T</sup> (-O-)	S <sup>T</sup> (-Cl)
<sup>δ</sup> χ <sub>p</sub>	1,000		
S <sup>T</sup> (-O-)	-0,539	1,000	
S <sup>T</sup> (-Cl)	-0,067	0,171	1,000

**Tabla 1.52.** Resultados de predicción obtenidos para la propiedad CMI<sub>90</sub>Kp (mg/L). Se muestran los valores experimentales (CMI<sub>90</sub>Kp exp), los calculados (CMI<sub>90</sub>Kp calc) y los residuales (Res).

Compuesto	CMI <sub>90</sub> Kp exp	CMI <sub>90</sub> Kp calc	Res
Amifloxacin	1,000	1,093	-0,093
Enoxacin	1,083	1,124	-0,041
Esparfloxacin	0,267	0,752	-0,485
Fleroxacin	1,000	0,982	0,018
Garenoxacin	1,250	0,907	0,343
Gatifloxacin	2,000	1,759	0,241
Grepafloxacin	0,750	0,757	-0,007
Levofloxacin	1,083	1,405	-0,322
Lomefloxacin	1,000	1,043	-0,043
Moxifloxacin	1,083	1,290	-0,207
Rufloxacin	0,207	0,330	-0,123
Sitafloxacin	2,000	2,000	0,000
Tosufloxacin	0,353	0,337	0,016
Trovafloxacin	0,324	0,112	0,212
WIN57273	0,750	0,760	-0,010



**Figura 1.35.** Estudio de estabilidad: residuales obtenidos con la función seleccionada para la propiedad CMI<sub>90</sub>Kp frente a residuales obtenidos en la validación cruzada.



**Figura 1.36.** Estudio de aleatoriedad: representación gráfica de  $r^2$  frente a  $r^2(vc)$  obtenido en el estudio de aleatoriedad con la propiedad  $CMI_{90Kp}$ .

## 5. DISCUSIÓN

- *Significación de la ecuación y de las variables*

Las funciones seleccionadas están constituidas por tres variables, presentando cada una de estas ecuaciones una significación superior al 99,9 % ( $p < 0,001$ ) en todos los casos. La incorporación de nuevas variables apenas modificaba los parámetros estadísticos. Por otra parte, y en lo que respecta a la significación de las variables, en la mayoría de los casos es superior al 99,9 % ( $p < 0,001$ ), como puede observarse en las **Tablas 1.5, 1.8, 1.11, 1.14, 1.17, 1.20, 1.23, 1.26, 1.29, 1.32, 1.35, 1.38, 1.41, 1.44, 1.47 y 1.50**. Este hecho indica que todos los índices presentes contienen, en mayor o menor medida, información estructural importante para cuantificar las propiedades objeto de estudio.

- *Estudios de aleatoriedad y de estabilidad*

Para cada una de las funciones seleccionadas se realizó, tanto un análisis de aleatoriedad, como de estabilidad o validación cruzada. Una representación del análisis de estabilidad podría mostrar la presencia de posibles compuestos que no se ajusten a la función de conectividad seleccionada, y en el estudio de aleatoriedad, la representación de  $r^2$  frente a  $r^2(uc)$  podría poner en evidencia la presencia de falsas buenas correlaciones.

En el caso de la estabilidad de las funciones frente a la eliminación de alguno de los compuestos, hay que señalar que son estables (**Figuras 1.5, 1.13, 1.15, 1.19, 1.21, 1.27 y 1.35**), si bien en algunos casos aparece algún compuesto que no se ajusta al modelo. Son los llamados “outliers”, que se han marcado de forma adecuada en la gráfica afectada (**Figuras 1.7, 1.9, 1.11, 1.17, 1.23, 1.25, 1.29, 1.31 y 1.33**). En todos los casos el valor predicho a partir de la ecuación es aceptable y una eliminación del compuesto “outlier” no se traduce en una mejora sustancial de la predicción, como tampoco mejora de forma apreciable los estudios de aleatoriedad y estabilidad.

Las funciones obtenidas al realizar el estudio de aleatoriedad presentan coeficientes de correlación sensiblemente inferiores al de las ecuaciones seleccionadas, lo que asegura que la probabilidad de encontrar una secuencia

aleatoria que se ajuste al modelo predictivo es muy baja. Por tanto, las funciones seleccionadas pueden clasificarse como no aleatorias, como se muestra en las **Figuras 1.6, 1.8, 1.10, 1.12, 1.14, 1.16, 1.18, 1.20, 1.22, 1.24, 1.26, 1.28, 1.30, 1.32, 1.34 y 1.36.**

Por todo ello podemos concluir que las funciones de predicción seleccionadas son estables frente a la eliminación de algún compuesto del grupo y no aleatorias frente a la modificación de la variable dependiente.

- *Análisis de la capacidad predictiva*

La capacidad predictiva de cada uno de los modelos seleccionados se representa en las **Tablas 1.7, 1.10, 1.13, 1.16, 1.19, 1.22, 1.25, 1.28, 1.31, 1.34, 1.37, 1.40, 1.43, 1.46, 1.49 y 1.52,** donde se muestra el valor experimental de cada una de las propiedades obtenido tras una exhaustiva búsqueda bibliográfica, el valor predicho utilizando la ecuación seleccionada y la diferencia entre ellos (valor residual). Todos los compuestos presentan residuales inferiores a  $\pm 2EEE(vc)$ , lo cual es indicativo de la bondad y calidad de la ecuación seleccionada.

Al realizar los estudios de aleatoriedad, se observa que en la mayoría de los casos el valor de  $r^2(vc)$  es superior a 0,7; lo que nos indica que estos modelos son capaces de explicar el 70 % de la varianza del grupo. Sólo dos de las propiedades, MIC<sub>50</sub>Pv y MIC<sub>90</sub>Mc, presentan un valor menor de  $r^2(vc)$ , concretamente de 0,597 y 0,637, respectivamente. Valores perfectamente válidos, ya que se considera que una función posee una buena capacidad predictiva cuando su  $r^2(vc)$  es superior a 0,5. Por tanto, todas las ecuaciones seleccionadas tienen una elevada capacidad predictiva.

Respecto a las propiedades CMI<sub>50</sub>Spy (**Tabla 1.17**), CMI<sub>50</sub>Pv (**Tabla 1.23**), CMI<sub>50</sub>Bf (**Tabla 1.26**), CMI<sub>50</sub>Ec (**Tabla 1.29**), CMI<sub>90</sub>Spy (**Tabla 1.43**) y CMI<sub>90</sub>Cp (**Tabla 1.49**) observamos que aparecen algunos valores predichos que son negativos, y que tratándose en todos los casos de concentraciones mínimas inhibitorias, son valores imposibles. La explicación de este hecho reside en que la función asigna estos valores negativos a valores muy pequeños de la propiedad, es decir, el signo negativo no significa que la concentración sea negativa, sino que



los valores de esta propiedad son muy bajos y la función no puede predecirlos con exactitud.

## 6. CONCLUSIONES

1. El análisis de los resultados obtenidos pone de manifiesto la validez del método topológico seleccionado, dado que se han obtenido 16 ecuaciones de predicción estadísticamente significativas, con una buena capacidad predictiva, que permiten obtener valores teóricos de las propiedades estudiadas, que pueden clasificarse como muy satisfactorios en todos los casos.
2. Los resultados de la predicción obtenidos están avalados por los estudios de aleatoriedad y estabilidad realizados a todas las propiedades seleccionadas, así como por todos los parámetros estadísticos que se han utilizado en su selección.
3. Las funciones de predicción obtenidas confirman a la Topología Molecular como una herramienta potente y eficaz en lo que se refiere a la predicción de propiedades farmacocinéticas y microbiológicas.

## **CAPÍTULO 2**



## OBTENCIÓN DEL MODELO DISCRIMINANTE DE ACTIVIDAD FRENTE A SARM

### 1. INTRODUCCIÓN

#### 1.1. ANÁLISIS LINEAL DISCRIMINANTE (ALD)

El Análisis lineal discriminante (ALD) es un método de reconocimiento de patrón, cuyo objetivo es encontrar una combinación lineal de variables que permita clasificar objetos numéricamente descriptibles en dos o más categorías, obteniendo como resultado de ello una función discriminante (FD) capaz de predecir la categoría a la que pertenecería un nuevo objeto. En nuestro caso, realizamos el análisis lineal discriminante con el paquete estadístico BMDP (*BioMedicine Department Program*)<sup>196</sup> módulo 7M. Las dos categorías de compuestos son: la primera, la formada por moléculas de contrastada actividad antibacteriana; y la segunda, la integrada por moléculas sin actividad antibacteriana reconocida. La actividad o inactividad de cada una de las moléculas corresponde a la variable dependiente, mientras que como variables independientes se utilizan los índices topológicos. El objetivo es encontrar dos ecuaciones que cuantifiquen la actividad y la inactividad de un compuesto en función de los mismos índices topológicos, y la función discriminante corresponde a la diferencia de ambas ecuaciones, de forma que un compuesto será clasificado

como activo cuando obtenga valores positivos de la misma ( $FD > 0$ ) e inactivo para valores negativos ( $FD < 0$ ).

Para ello, el programa divide aleatoriamente cada categoría (activos e inactivos) en un grupo *training* o de entrenamiento, con el que se obtendrá la función discriminante; y otro *test* o de validación (aproximadamente un 20 % del total). Una vez seleccionados los índices, se prueba la significación general de la ecuación obtenida mediante el parámetro *F* o Fisher-Snedecor (ver **Capítulo 1**).

La calidad de la ecuación discriminante obtenida se puede comprobar por la lambda de Wilks ( $\lambda$ ), también llamada U estadística. Este parámetro, mediante un análisis de la varianza estadística, refleja la equidad de los valores medios de cada grupo para las variables de la función discriminante. El rango de  $\lambda$  se sitúa entre 0 y 1. A menor valor de  $\lambda$ , menor será el solapamiento entre ambas categorías y, por tanto, mejor será la capacidad discriminante de la función seleccionada. También se puede evaluar su capacidad discriminante por los siguientes métodos:

- **Matriz de clasificación:** muestra el número de casos clasificados en cada categoría (activos *training*, inactivos *training*, activos *test* e inactivos *test*) según la función. Determina, por tanto, el porcentaje de acierto en la clasificación de las moléculas utilizadas en el estudio.
- **Matriz de clasificación “Jack-knife”:** muestra el número de casos clasificados en cada categoría según el método “Jack-knife”.<sup>116</sup> El programa elimina un compuesto de la serie y se correlacionan todos los demás, prediciendo la actividad o inactividad del compuesto eliminado. Este proceso se repite para todos los componentes del conjunto, obteniéndose una predicción para cada uno de ellos.
- **Validación cruzada:** muestra la clasificación de moléculas activas e inactivas no incluidas en los grupos *training* (grupo activos *test* y grupo inactivos *test*). Los porcentajes de clasificación correcta nos dará una estimación empírica de la exactitud del ALD, al ser compuestos que no se han utilizado para crear dicha función. Esta prueba es muy importante ya que

hace posible la extrapolación de los resultados para la búsqueda de nuevas estructuras que tengan la propiedad estudiada.

## 1.2. DIAGRAMA DE DISTRIBUCIÓN FARMACOLÓGICA (DDF)

Una vez seleccionada la función discriminante se puede dibujar su diagrama de distribución farmacológica (DDF), que es una representación en forma de histograma para visualizar gráficamente los valores de la función en los que la probabilidad de clasificar un compuesto como activo o inactivo sea máxima, es decir, que el solapamiento entre ambos grupos de compuestos sea mínimo.<sup>217</sup>

Los compuestos se agrupan en los valores de la función discriminante para cada intervalo, y la frecuencia con la que aparece en cada intervalo se calcula para cada grupo. La expectancia  $E$  de encontrar una molécula en un determinado intervalo de una función cualquiera se define como:

$$E_a = a / (i + 1)$$

$$E_i = i / (a + 1)$$

donde  $a$  es el cociente de compuestos activos en el intervalo con respecto al número total de compuestos activos; e  $i$  es el cociente de compuestos inactivos en el intervalo con respecto al número total de compuestos inactivos.  $E_a$  y  $E_i$  son la expectancia de actividad y la expectancia de inactividad, respectivamente. Si se representan  $E_a$  y  $E_i$  en la abcisa, puede existir una zona donde exista solapamiento entre ambas curvas. En ella existen conjuntamente compuestos activos e inactivos en distinta proporción según la relación  $E_a/E_i$ . Cuanto mayor sea el valor de tal relación en un intervalo, mayor será la probabilidad de que un compuesto sea activo en dicho intervalo de la propiedad. Esto permite establecer el intervalo óptimo de actividad predicho por una determinada función.

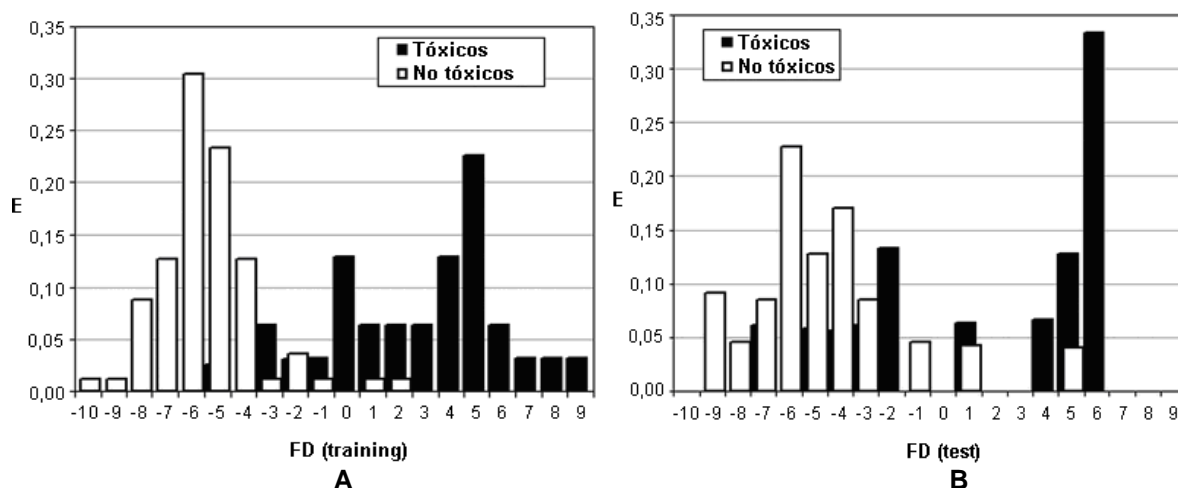
En un DDF “ideal”, la expectativa de actividad,  $E_a$ , adquiere la forma de una distribución normal y además la expectativa de inactividad,  $E_i$ , tiende a cero bajo dicha curva. Dicho de otra forma, el solapamiento entre ambos grupos tiende

---

217 Gálvez J, García-Domenech R, de Gregorio Alapont C, de Julián-Ortiz JV, Popa L. Pharmacological distribution diagrams: A tool for *de novo* drug design. *J. Mol. Graph.*, 1996; 14(5): 272-6.

a ser mínimo. En muchos casos, es difícil obtener una función ideal de actividad/inactividad, ya que generalmente existen solapamientos entre ambas categorías y hay que establecer criterios subjetivos que establezcan cuándo una determinada molécula será clasificada en un grupo u otro, o cuándo esta clasificación no puede ser realizada. Para ello se hace necesario el desarrollo de un modelo topológico.

Los DDFs de la **Figura 2.1** pertenecen a un estudio en el que se evaluó la toxicidad de disolventes utilizados en la industria contra *Vibrio fischeri*.<sup>218</sup> Los compuestos del grupo *training* apenas presentan solapamiento entre el grupo de tóxicos y el de no tóxicos (**Figura 2.1A**), mientras que en el grupo *test* el solapamiento entre ambos grupos es más acusado (**Figura 2.1B**).



**Figura 2.1.** Ejemplos de diagramas de distribución farmacológica. **A:** DDF cercano al ideal, con apenas solapamiento entre grupos y **B:** DDF con mucho solapamiento entre grupos.<sup>218</sup>

218 Das RN, Roy K. Development of classification and regression models for *Vibrio fischeri* toxicity of ionic liquids: green solvents for the future. *Toxicol. Res.*, **2012**; 1(3): 186-95.



### 1.3. OBTENCIÓN DE UN MODELO TOPOLÓGICO

Un modelo topológico es una combinación de una o varias funciones de predicción como funciones discriminantes (FDs) o ecuaciones de regresión lineal, que junto con sus diagramas de distribución farmacológica (DDFs), sirven de herramienta para definir de la manera más exacta posible el carácter activo o inactivo de los compuestos.

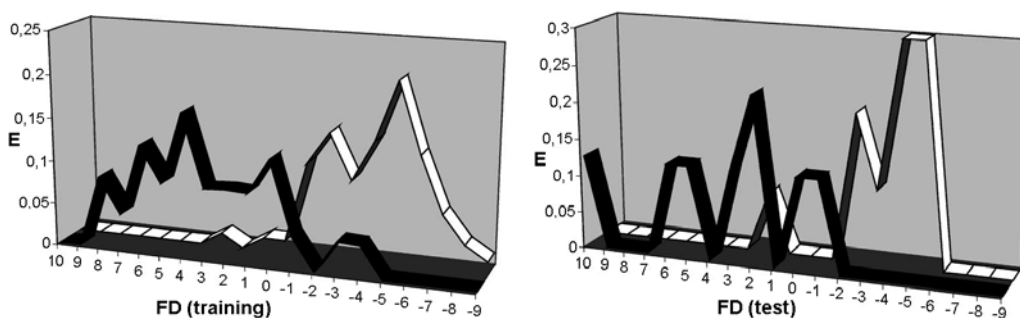
Con ayuda del DDF se establecen los criterios para clasificar las nuevas moléculas, de forma que, según el valor de la FD que tomen, éstas podrán encontrarse en una de las siguientes zonas:

- Zona de activos: aquellos intervalos en los que la expectancia de actividad sea mayor que la de inactividad.
- Zona de inactivos: aquellos intervalos en los que la expectancia de inactividad sea mayor que la de actividad.
- Zona inclasificable: intervalos para los que no hay datos.

Cada autor establecerá, según su propio criterio y el objetivo de su estudio, las diferencias entre expectancias para clasificar las distintas zonas.

A continuación, se describe un ejemplo de modelo topológico en el que se utilizó una sola FD para encontrar nuevos agentes hipoglucemiantes,<sup>13</sup> considerando activos aquellos compuestos cuyo valor de FD se encontrase entre 0 y 8 (**Figura 2.2**):

$$FD = 19,50 - 14,34J^{v_1} - 10,24J^{v_2} - 4,92^3\chi^{v_c} + 0,83^4\chi_p - 1,37G_l + 108,21J^{v_5} - 221,61J_5 + 3,07G_4 + 15,82^4\chi_c$$



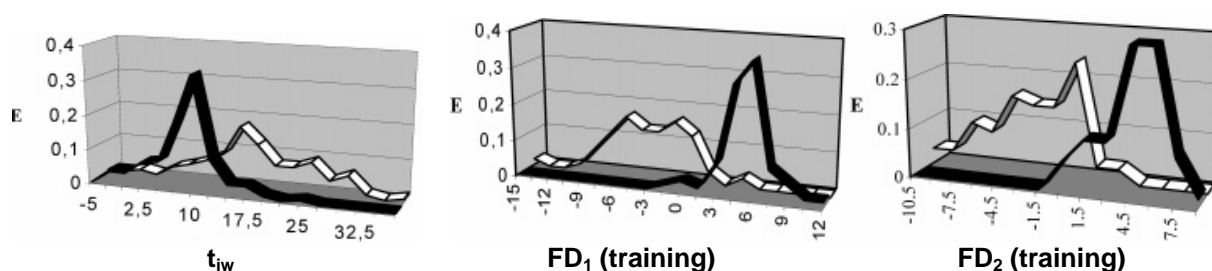
**Figura 2.2.** Diagramas de distribución farmacológica de actividad hipoglucemiante. Línea negra: Activos. Línea blanca: Inactivos.

Existen otros modelos que combinan varias funciones referidas a una o varias propiedades farmacológicas. A continuación describimos un modelo topológico que se utilizó para encontrar compuestos con actividad antihistamínica (**Figura 2.3**), en el que se utilizaron una función de regresión lineal ( $t_{iw}$ ) y dos funciones discriminantes ( $FD_1$  y  $FD_2$ ):<sup>136</sup>

$$t_{iw} = 67,19 - 32,94I_{Shannon} - 0,72SumI + 1,73Sum\Delta I$$

$$FD_1 = 12,65 + 7,20^1\chi^v_c + 0,25G^v_1 - 47,96J_1 - 22,98J^v_3 - 4,89D^4\chi_{pc} - 0,36L$$

$$FD_2 = -2,77 + 2,13SdssC + 1,37SaaCH - 0,68SdsN + 0,90SsssN - 0,10SsOH - 0,18SdO$$



**Figura 2.3.** Diagramas de distribución farmacológica de actividad antihistamínica. Línea blanca: Inactivos. Línea negra: Activos.<sup>136</sup>

Se consideraron activos aquellos compuestos cuyo valor de  $t_{iw}$  se encontrase entre 0 y 10, de  $FD_1$  entre 0 y 9 y de  $FD_2$  entre 1,5 y 10,5. Sólo las moléculas calculadas como activas en todas las ecuaciones fueron consideradas como activas, y el resto como inactivas. De este modo, se intenta disminuir al máximo el número de falsos activos en detrimento de los falsos inactivos.<sup>136</sup>

## 1.4. DESARROLLO DE LOS MODELOS DISCRIMINANTES DE ACTIVIDAD

### 1.4.1. CARACTERIZACIÓN TOPOLÓGICA DE LOS COMPUESTOS

Los grafos químicos (incluyendo los heteroátomos y suprimiendo los átomos de hidrógeno) se dibujaron con el programa de dibujo ChemBioDraw Ultra 12.0 del paquete programa ChemBioOffice 2010, y se guardaron en formato “.mol”. Con los programas DESMOL13<sup>186</sup> y MOLCONN-Z 3.0<sup>187</sup> se calcularon los correspondientes índices que se resumen en la **Tabla 1.1**.

### 1.4.2. DESARROLLO DE LAS FUNCIONES DISCRIMINANTES

Para la obtención de las funciones discriminantes debemos indicar al programa estadístico los índices topológicos que queremos que utilice para establecer el ALD (se desestiman aquellos índices cuyo valor sea igual a cero en todos los compuestos). Las ecuaciones que se obtienen varían en función del número y del tipo de índices de los que se parta, por lo que hay que hacer diferentes combinaciones hasta obtener ecuaciones con buenos parámetros estadísticos.

Por otro lado, también se varía el valor de  $F$  que debe tener en cuenta para introducir o excluir un índice de la ecuación, de forma que a mayor número de índices, mayor deberá ser este parámetro para que el programa sea más restrictivo en el número de índices que debe contener la ecuación final.

Si se utiliza un valor de  $F$  demasiado bajo con respecto al número de índices utilizados se obtendrá una ecuación con demasiados índices, lo que suele aumentar la variabilidad e inexactitud de la predicción. De esta forma, no sólo empeorarían los parámetros estadísticos, sino también la probabilidad de clasificación correcta de los compuestos, es decir, el grado de certeza con el que el programa clasifica un determinado compuesto como activo o inactivo.<sup>116</sup>

La selección de los índices topológicos para la función discriminante se hace por etapas, basada en el parámetro Fisher-Snedecor ( $F$ ), y el criterio de clasificación es la distancia Mahalanobis<sup>219</sup> (distancia de cada caso a la media de todos los casos en la función teniendo en cuenta la correlación entre ambas categorías) más corta. En primer lugar, se selecciona aquel índice con el valor más alto de  $F$ , que será aquel cuyos valores promedio para ese índice entre ambas categorías estén más alejados entre sí. Esto significa que la variable que más contribuye a la separación entre activos e inactivos se introduce en la ecuación, siempre y cuando supere el valor prefijado de  $F$ .<sup>15</sup>

---

\* Los índices de conectividad de cocientes y diferencias los calculamos manualmente mediante el programa Excel.  
 219 Villanueva Ponce R, García Alcaraz JL. Evaluation of technology using TOPSIS in presence of multi-collinearity in attributes: why use the Mahalanobis distance? *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquía*, 2013; 67: 31-42.

A partir de aquí, el programa estadístico tiene dos formas de proceder. En ambos casos, se generan dos grupos: un primer grupo de índices que formarán parte de la ecuación final, y un segundo grupo formado por el resto de índices, que forman una ecuación paralela.

En el primer método, el proceso se repite adicionando índices del segundo grupo que superan el valor prefijado de  $F$  al primer grupo, y excluyendo índices del primer grupo que en algún paso no llegan al valor prefijado de  $F$  al segundo grupo, hasta que ningún índice del primer grupo esté por debajo, ni ningún índice del segundo grupo esté por encima del valor de  $F$  prefijado.

En el segundo método, que es el que se ha aplicado en el presente trabajo, este proceso está sujeto a exclusiones de índices del primer grupo al segundo, intuyendo que dicho índice, aun teniendo un valor de  $F$  superior al impuesto, puede empeorar la capacidad discriminante de la función seleccionada, reflejada por la lambda de Wilks ( $\lambda$ ). Finalmente, el programa selecciona la ecuación con la menor  $\lambda$  posible según los datos introducidos.

## 2. MODELO DISCRIMINANTE DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA GENERAL<sup>220</sup>

Desde los buscadores ISI Web of Science, Medline y SciFinder (Caplus), se realizó una amplia y exhaustiva revisión bibliográfica, con el propósito de recopilar valores experimentales de actividad (procedentes de ensayos *in vitro*) de quinolonas y compuestos estructuralmente relacionados, frente a diversas bacterias.

De los datos recopilados se seleccionaron 99 compuestos que se clasificaron en dos grupos, uno con 50 quinolonas antibacterianas y otro con 49 quinolonas y compuestos estructuralmente relacionados descritos como inactivos (**Anexo I**). Para considerar un compuesto como antibacteriano, al menos uno de sus estereoisómeros o su mezcla, debía ser activo ( $CMI \leq 1$  mg/L) frente a numerosas bacterias, mientras que aquellos compuestos considerados inactivos ( $CMI \geq 16$  mg/L) debían serlo frente a un mínimo de dos bacterias Gram positivas y tres bacterias Gram negativas. Aquellos con actividades intermedias no se incluyeron en el estudio, puesto que, al no tratarse de una propiedad física, fisicoquímica o química, donde la relación con la estructura química puede llegar a ser muy estrecha, sino de una actividad biológica, donde hablamos de probabilidad de acierto, quisimos que la diferencia de actividad fuera notable para poder detectar diferencias estructurales también notables entre ambos grupos.

### 2.1. ANÁLISIS LINEAL DISCRIMINANTE

Una vez establecidos los grupos de activos e inactivos y determinados sus índices topológicos, se introdujo dicha información en el programa BMDP, el cual selecciona de forma aleatoria 12 compuestos activos y 11 inactivos para realizar el *test*. A estos nuevos grupos se les llamó activos *test* e inactivos *test*, respectivamente. El resto de compuestos, 38 activos y 38 inactivos, formaron los grupos activos *training* e inactivos *training*, respectivamente, a partir de los cuales se obtuvieron las funciones discriminantes.

---

<sup>220</sup> Bueso-Bordils JI, Alemán PA, Zamora LL, Martín-Algarra R, Duart MJ, Antón-Fos GM. Topological model for the search of new antibacterial drugs. 158 theoretical candidates. *Curr. Comput. Aided Drug Des.*, 2015; 11(4): 336-45.

De todas las correlaciones obtenidas por el programa informático BMDP 7M se obtuvieron seis funciones discriminantes (FD1-FD6), que presentaban buenos parámetros estadísticos y clasificaban los compuestos con altos porcentajes de acierto.

Cinco funciones (FD1-FD5) fueron obtenidas utilizando combinaciones de distintos tipos de índices: para FD1 se utilizaron todos los índices menos los de conectividad; para FD2 los índices electrotopológicos; para FD3 los índices de carga, diferencias y cocientes; y para FD4 y FD5 los índices electrotopológicos y de conectividad. La ecuación FD6 se obtuvo partiendo de todos los índices topológicos.

A continuación se muestran las seis funciones discriminantes junto con sus parámetros estadísticos, matrices de clasificación (**Tablas 2.1-2.12**) y diagramas de distribución (**Figuras 2.6-2.11**), lo que nos permite evaluar la calidad de las funciones discriminantes aplicadas.

• **Función Discriminante 1**

$$FD1 = -27,13819 - 4,7164S_{=C<} + 1,27264S_{=NH-} - 0,30296S_{=O} + 43,39831^oC - 13,57036^3C_c$$

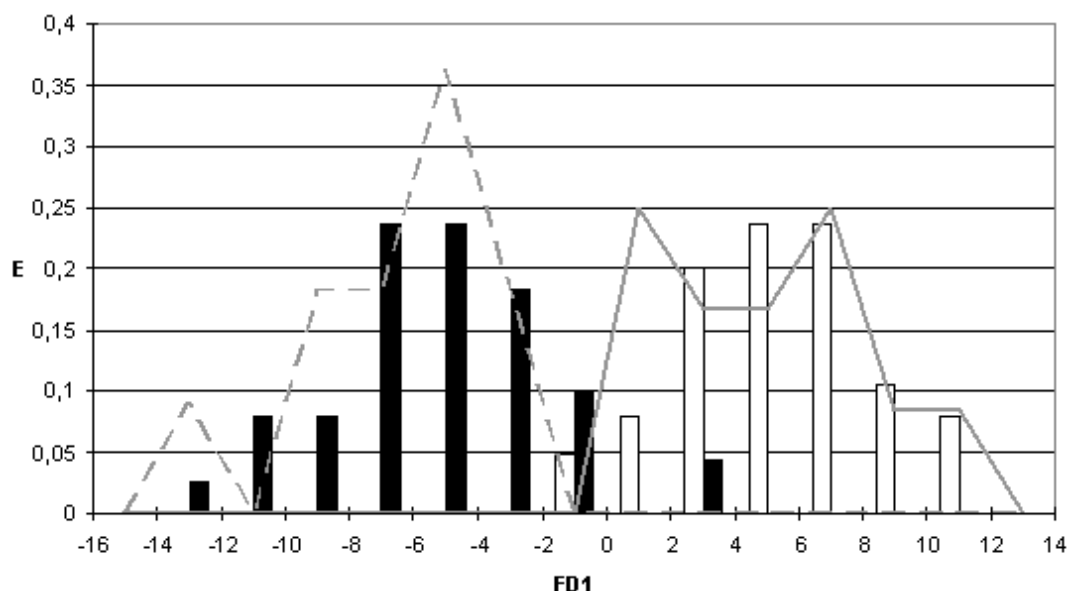
N = 99                       $\lambda = 0,2653522$                       F = 38,76                      (Ecuación 2.1)

**Tabla 2.1.** Matriz de clasificación para la FD1.

Grupo	Activos	Inactivos	% aciertos
Activos <i>training</i>	36	2	94,7
Inactivos <i>training</i>	2	36	94,7
Activos <i>test</i>	12	0	100
Inactivos <i>test</i>	0	11	100
<b>TOTAL</b>	50	49	96,0

**Tabla 2.2.** Matriz de clasificación “Jack-knife” para la FD1.

Grupo	Activos	Inactivos	% aciertos
Activos <i>training</i>	36	2	94,7
Inactivos <i>training</i>	3	35	92,1
Activos <i>test</i>	12	0	100
Inactivos <i>test</i>	0	11	100
<b>TOTAL</b>	51	48	94,9



**Figura 2.6.** Diagrama de distribución farmacológica de FD1. Barras negras: inactivos *training*. Barras blancas: activos *training*. Líneas discontinuas: inactivos *test*. Líneas continuas: activos *test*.

Mayor expectancia de actividad: FD1= 0-12

• **Función Discriminante 2**

$$FD2 = -3,27384 - 3,14402S_{=C<} + 0,66311S_{.NH2} + 1,44735S_{.NH} + 1,15103S_{=N} - 0,47139S_{.OH} - 4,41362S_{aSa}$$

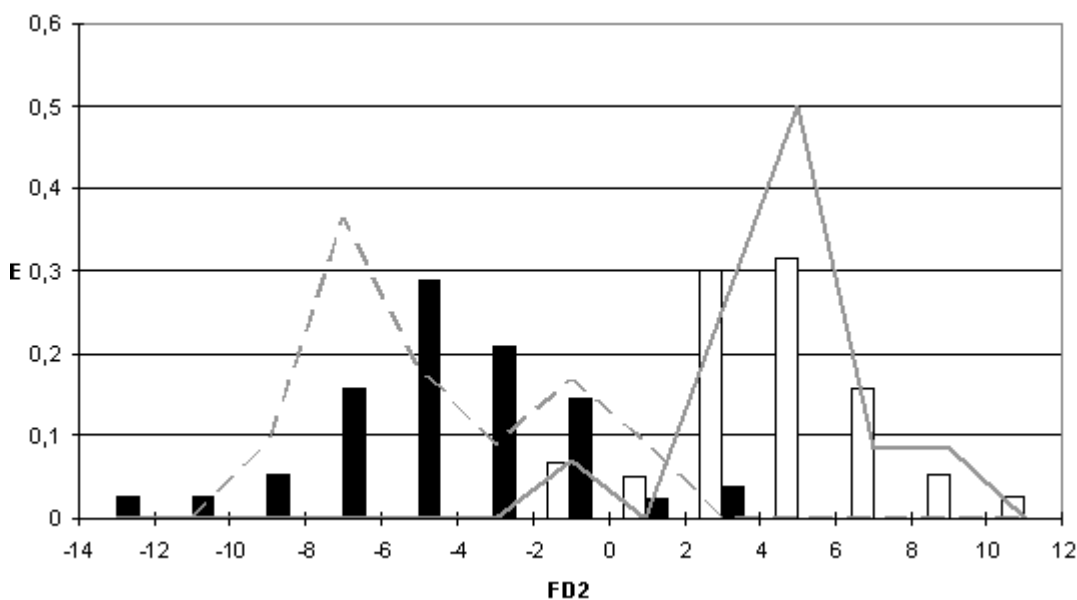
N = 99                       $\lambda = 0,3138095$                       F = 25,146                      (Ecuación 2.2)

**Tabla 2.3.** Matriz de clasificación para la FD2.

Grupo	Activos	Inactivos	% aciertos
Activos <i>training</i>	35	3	92,1
Inactivos <i>training</i>	3	35	92,1
Activos <i>test</i>	11	1	91,7
Inactivos <i>test</i>	1	10	90,9
<b>TOTAL</b>	50	49	91,9

**Tabla 2.4.** Matriz de clasificación “Jack-knife” para la FD2.

Grupo	Activos	Inactivos	% aciertos
Activos <i>training</i>	35	3	92,1
Inactivos <i>training</i>	4	34	89,5
Activos <i>test</i>	11	1	91,7
Inactivos <i>test</i>	1	10	90,9
<b>TOTAL</b>	51	48	90,9



**Figura 2.7.** Diagrama de distribución farmacológica de FD2. Barras negras: inactivos *training*. Barras blancas: activos *training*. Líneas discontinuas: inactivos *test*. Líneas continuas: activos *test*.

Mayor expectativa de actividad: FD2 = 2-12



• **Función Discriminante 3**

$$FD3 = 6,51816 - 2,13276G_1 - 4,21995G_4 + 246,05433J_5 + 6,10518^0D - 9,24587^3C_c$$

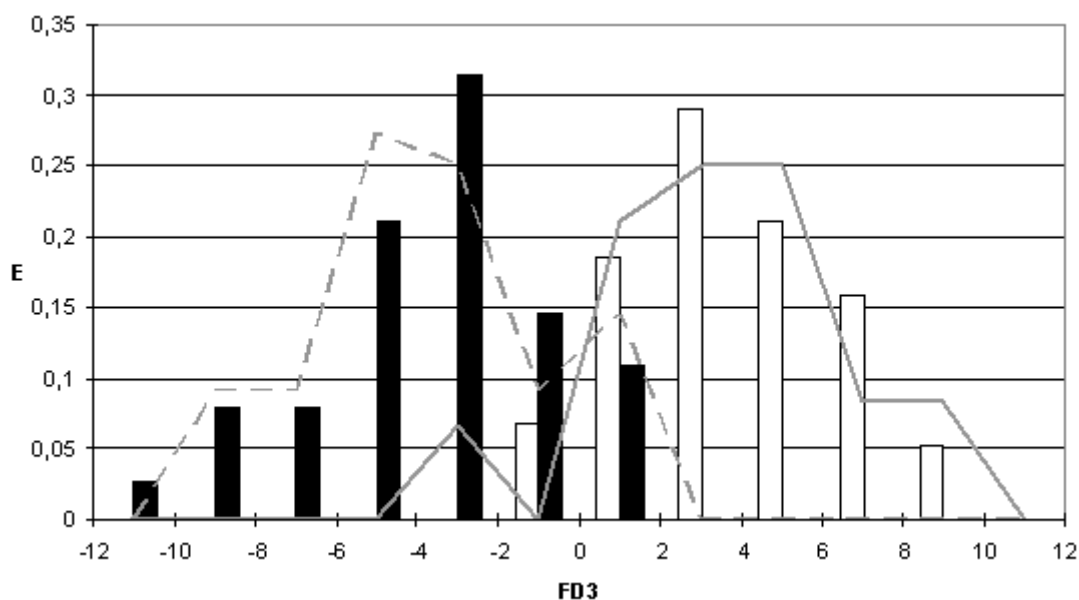
$$N = 99 \qquad \lambda = 0,3545599 \qquad F = 25,486 \qquad (\text{Ecuación 2.3})$$

**Tabla 2.5.** Matriz de clasificación para la FD3.

Grupo	Activos	Inactivos	% aciertos
Activos <i>training</i>	35	3	92,1
Inactivos <i>training</i>	5	33	86,8
Activos <i>test</i>	11	1	91,7
Inactivos <i>test</i>	2	9	81,8
<b>TOTAL</b>	53	46	88,9

**Tabla 2.6.** Matriz de clasificación “Jack-knife” para la FD3.

Grupo	Activos	Inactivos	% aciertos
Activos <i>training</i>	35	3	92,1
Inactivos <i>training</i>	5	33	86,8
Activos <i>test</i>	11	1	91,7
Inactivos <i>test</i>	2	9	81,8
<b>TOTAL</b>	53	46	88,9



**Figura 2.8.** Diagrama de distribución farmacológica de FD3. Barras negras: *inactivos training*. Barras blancas: *activos training*. Líneas discontinuas: *inactivos test*. Líneas continuas: *activos test*.

Mayor expectancia de actividad:  $FD3 = 2-10$

• **Función Discriminante 4**

$$FD4 = - 2,70225 + 14,37228^3\chi_{ch} - 3,22125S_{=C<} + 0,99321S_{>C<} - 0,19709S_{=O}$$

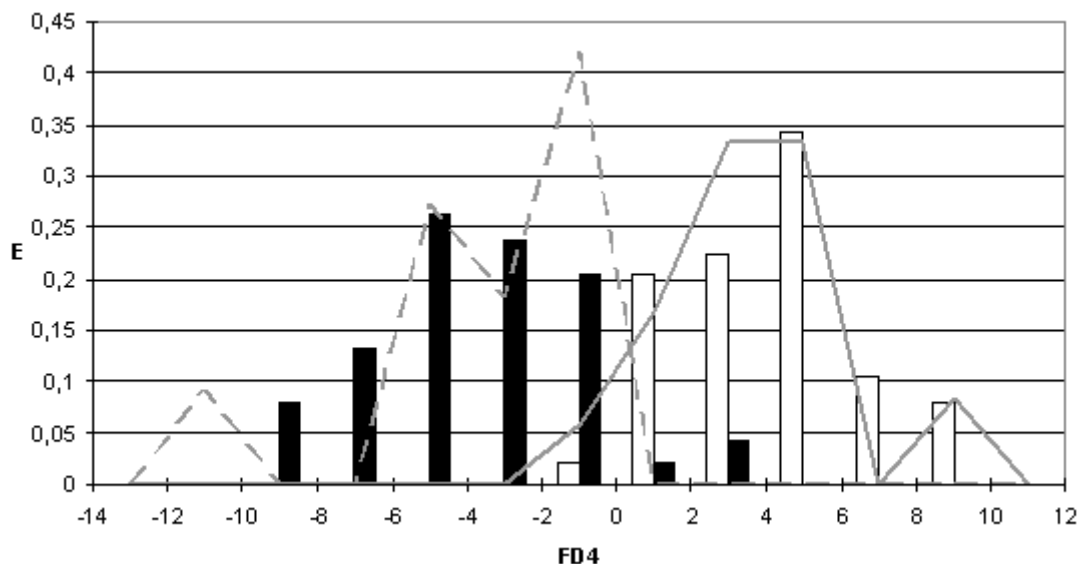
N = 99                       $\lambda = 0,3437429$                       F = 33,887                      (Ecuación 2.4)

**Tabla 2.7.** Matriz de clasificación para la FD4.

Grupo	Activos	Inactivos	% aciertos
Activos <i>training</i>	37	1	97,4
Inactivos <i>training</i>	3	35	92,1
Activos <i>test</i>	11	1	91,7
Inactivos <i>test</i>	0	11	100
<b>TOTAL</b>	51	48	94,9

**Tabla 2.8.** Matriz de clasificación “Jack-knife” para la FD4.

Grupo	Activos	Inactivos	% aciertos
Activos <i>training</i>	35	3	92,1
Inactivos <i>training</i>	6	32	84,2
Activos <i>test</i>	11	1	91,7
Inactivos <i>test</i>	0	11	100
<b>TOTAL</b>	48	51	89,9



**Figura 2.9.** Diagrama de distribución farmacológica de FD4. Barras negras: inactivos *training*. Barras blancas: activos *training*. Líneas discontinuas: inactivos *test*. Líneas continuas: activos *test*.

Mayor expectancia de actividad: FD4 = 0-10

• **Función Discriminante 5**

$$FD5 = -10,33912 + 11,61779^3\chi^{v_c} - 44,24195\chi^{v_{ch}} - 5,66785S_{=C<} + 2,35012S_{>C<} + 1,1054S_{NH} - 0,46032S_{=O}$$

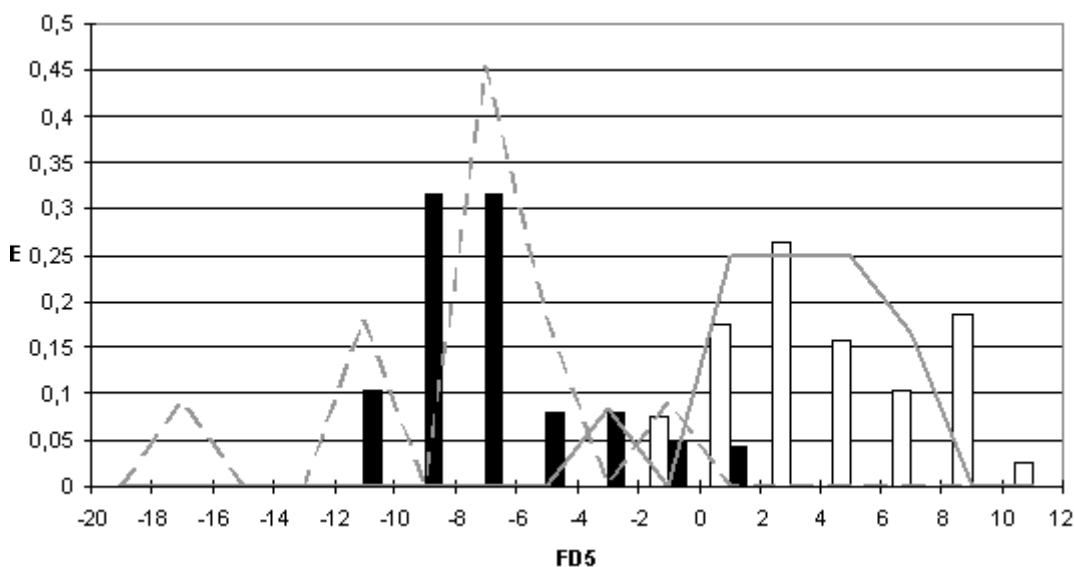
N = 99                      λ = 0,2474651                      F = 34,971                      (Ecuación 2.5)

**Tabla 2.9.** Matriz de clasificación para la FD5.

Grupo	Activos	Inactivos	% aciertos
Activos <i>training</i>	36	2	94,7
Inactivos <i>training</i>	3	35	92,1
Activos <i>test</i>	11	1	91,7
Inactivos <i>test</i>	0	11	100
<b>TOTAL</b>	50	49	93,9

**Tabla 2.10.** Matriz de clasificación “Jack-knife” para la FD5.

Grupo	Activos	Inactivos	% aciertos
Activos <i>training</i>	35	3	92,1
Inactivos <i>training</i>	4	34	89,5
Activos <i>test</i>	11	1	91,7
Inactivos <i>test</i>	0	11	100
<b>TOTAL</b>	50	49	91,9



**Figura 2.10.** Diagrama de distribución farmacológica de FD5. Barras negras: inactivos *training*. Barras blancas: activos *training*. Líneas discontinuas: inactivos *test*. Líneas continuas: activos *test*.

Mayor expectancia de actividad: FD5 = 0-12

• **Función Discriminante 6**

$$FD6 = 22,9069 - 35,07866^5 \chi^{v_{ch}} - 6,27951 S_{=C<} + 1,18678 S_{.NH.} - 0,32317 S_{=O} - 11,66095 ^3 C_c$$

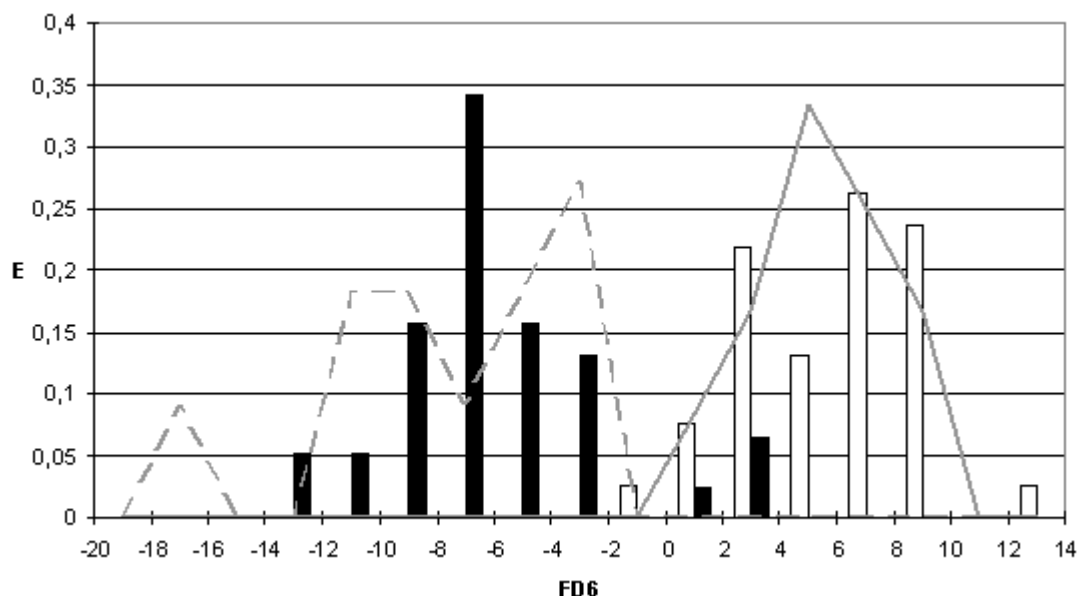
N = 99                       $\lambda = 0,254795$                       F = 40,946                      (Ecuación 2.6)

**Tabla 2.11.** Matriz de clasificación para la FD6.

Grupo	Activos	Inactivos	% aciertos
Activos <i>training</i>	37	1	97,4
Inactivos <i>training</i>	4	34	89,5
Activos <i>test</i>	12	0	100
Inactivos <i>test</i>	0	11	100
<b>TOTAL</b>	53	46	94,9

**Tabla 2.12.** Matriz de clasificación “Jack-knife” para la FD6.

Grupo	Activos	Inactivos	% aciertos
Activos <i>training</i>	36	2	94,7
Inactivos <i>training</i>	4	34	89,5
Activos <i>test</i>	12	0	100
Inactivos <i>test</i>	0	11	100
<b>TOTAL</b>	52	47	93,9



**Figura 2.11.** Diagrama de distribución farmacológica de FD6. Barras negras: *inactivos training*. Barras blancas: *activos training*. Líneas discontinuas: *inactivos test*. Líneas continuas: *activos test*.

Mayor expectativa de actividad: FD6 = 0-14

El objetivo era encontrar una combinación de ecuaciones que hiciera la mejor predicción, sobre todo de compuestos inactivos (para evitar falsos activos). Se realizaron combinaciones de dos en dos y de tres en tres ecuaciones, aunque estas últimas no mostraron ninguna mejora respecto de las de dos en dos, por lo que no se tuvieron en cuenta.

Finalmente, se seleccionaron FD1 y FD2, que, al combinarlas, mantenían el 100 % de clasificación de los compuestos inactivos en ambos grupos (*test* y *training*), y era la combinación que mayor porcentaje de acierto mostraba en los compuestos activos: 84,2 % para el grupo *training* y 91,7 % para el *test* (**Tabla 2.13**).

Tomando FD1 y FD2 como modelo para caracterizar la actividad antibacteriana, se consideraría un compuesto como potencialmente activo si presenta valores de FD1 entre 0 y 12, y valores de FD2 entre 2 y 12, siendo inactivo en el caso de que no cumpliera alguna de estas premisas.

- Compuesto activo si:  
FD1 = 0-12 y FD2 = 2-12
- Compuesto inactivo o inclasificable si:  
FD1 ≠ 0-12 ó FD2 ≠ 2-12

$$FD1 = -27,13819 - 4,7164S_{=C<} + 1,27264S_{-NH-} - 0,30296S_{=O} + 43,39831^{\circ}C - 13,57036^3C_c$$

$$FD2 = -3,27384 - 3,14402S_{=C<} + 0,66311S_{-NH2} + 1,44735S_{-NH-} + 1,15103S_{=N-} - 0,47139S_{-OH} - 4,41362S_{aSa}$$

**Tabla 2.13.** Eficiencia de clasificación para el modelo discriminante de actividad antibacteriana.

Grupo	Activos	Inactivos	% aciertos
Activos <i>training</i>	32	6	84,2
Inactivos <i>training</i>	0	38	100
Activos <i>test</i>	11	1	91,7
Inactivos <i>test</i>	0	11	100
<b>TOTAL</b>	43	56	92,9

Como puede observarse, el valor de FD1 está favorecido por la presencia de grupos amino secundario ( $S_{NH}$ ) y disminuye con la presencia de carbonos  $sp^2$  ( $S_{C<}$ ) y oxígenos  $sp^2$  ( $S_{=O}$ ). Los cocientes de los índices de no valencia y valencia ( ${}^0C$  y  ${}^3C_e$ ) afectan de forma opuesta al valor de FD1. Estos índices tienen en cuenta las densidades de carga de cada grafo químico, lo cual es una medida de la polarizabilidad de la molécula.<sup>102</sup>

En el caso de FD2, la presencia de aminas primarias ( $S_{NH_2}$ ) y secundarias, ( $S_{NH}$ ) y de iminas ( $S_{=N}$ ) aumenta su valor y la presencia de carbonos  $sp^2$  ( $S_{C<}$ ), sulfuros aromáticos ( $S_{aSa}$ ) y grupos hidroxilo ( $S_{OH}$ ) lo disminuyen.

A continuación se muestran, para estas funciones, las **Tablas 2.14-2.21**, en las que se detallan:

- El valor de los índices que intervienen en la función para cada compuesto.
- El valor de FD para cada compuesto.
- El valor de la probabilidad de clasificación para cada compuesto (Prob.).  
Son de destacar los altos valores de probabilidad de clasificación correcta para cada compuesto, por encima del 90 % en la mayoría de los casos (columna Prob.), lo que le otorga una elevada consistencia al modelo.
- Para todos los grupos de moléculas estudiados en el apartado de clasificación (Clas.) se asignará el signo “+” a aquellas moléculas clasificadas como activas, mientras que el signo “-” será para las que hayan sido catalogadas como inactivas o inclasificables.

**Tabla 2.14.** Resultados obtenidos en el ALD y clasificación de los compuestos para la FD1. Grupo activos *training*.

Compuesto	$S_{=C<}$	$S_{.NH-}$	$S_{=O}$	${}^0C$	${}^3C_c$	FD1	Prob.	Clas.
ABT-492	-3,521	0	24,125	1,402	2,674	6,726	0,999	+
Amifloxacin	-2,425	2,814	23,528	1,287	2,338	4,880	0,992	+
BAYy3118	-2,348	3,498	24,160	1,223	1,959	7,561	0,999	+
BMS-340278	-1,728	3,449	24,065	1,245	2,097	3,676	0,975	+
BMS-340280	-2,953	3,265	24,348	1,338	2,518	7,458	0,999	+
CFC-222	-2,345	0	23,947	1,274	1,659	9,439	1,000	+
Clinafloxacin	-2,414	0	23,882	1,269	2,140	3,032	0,954	+
CS-940	-2,916	3,194	24,153	1,336	2,529	7,015	0,999	+
Difloxacin	-2,639	0	24,202	1,316	2,445	1,921	0,872	+
DQ-113	-3,033	0	24,392	1,328	2,002	10,240	1,000	+
DW-116	-2,735	0	24,162	1,327	2,488	2,271	0,906	+
DW286	-1,777	0	24,021	1,293	1,793	5,743	0,997	+
DX-619	-2,251	0	24,316	1,263	1,917	4,916	0,993	+
E-4441	-2,770	0	23,686	1,335	1,987	9,728	1,000	+
E-4474	-2,763	0	23,600	1,360	2,356	5,784	0,997	+
E-4501	-2,726	3,039	23,696	1,319	2,321	8,167	1,000	+
E-4534	-2,768	0	23,707	1,336	2,238	6,366	0,998	+
E-4535	-2,253	0	23,730	1,301	2,163	3,407	0,968	+
E-4767	-2,425	0	23,876	1,266	2,050	4,163	0,985	+
E-5065	-2,378	0	23,790	1,27	2,043	4,281	0,986	+
Esparfloxacin	-2,958	3,3	24,123	1,300	2,123	11,326	1,000	+
Fleroxacin	-3,184	0	23,549	1,345	2,349	7,220	0,999	+
Garenoxacin	-2,438	3,344	24,371	1,310	2,426	5,145	0,994	+
Gatifloxacin	-2,346	3,319	24,182	1,262	2,198	5,750	0,997	+
Gemifloxacin	-1,720	3,101	23,946	1,292	2,331	2,106	0,891	+
Levofloxacin	-2,361	0	23,989	1,268	2,112	3,096	0,957	+
Lomefloxacin	-2,809	3,202	23,569	1,310	2,402	7,276	0,999	+
Norfloxacin	-2,290	3,208	23,504	1,293	2,611	1,320	0,789	+
Olamufloxacin	-2,441	0	24,376	1,274	1,751	8,503	1,000	+
Pazufloxacin	-2,420	0	23,708	1,329	2,134	5,810	0,997	+
Pefloxacin	-2,283	0	23,583	1,268	2,264	0,767	0,683	+
PGE-4175997	-1,858	0	24,326	1,220	1,773	3,152	0,959	+
PGE-9509924	-1,861	0	24,188	1,247	2,168	-0,989	0,271	-
Sitafoxacin	-2,813	0	24,049	1,283	1,772	10,500	1,000	+
Temafoxacin	-3,053	3,248	24,194	1,352	2,591	7,594	0,999	+
Tosufloxacin	-3,219	0	24,023	1,400	2,778	3,843	0,979	+
Ulifloxacin	-1,698	3,221	23,968	1,231	1,848	6,033	0,998	+
WIN57273	-2,278	0	23,898	1,289	2,407	-0,342	0,415	-

**Tabla 2.15.** Resultados obtenidos en el ALD y clasificación de los compuestos para la FD1. Grupo inactivos *training*.

Compuesto	S <sub>C&lt;</sub>	S <sub>NH-</sub>	S <sub>O</sub>	<sup>o</sup> C	<sup>3</sup> C <sub>C</sub>	FD1	Prob.	Clas.
Cinchofeno	-0,935	0	11,371	1,314	2,747	-6,422	0,998	-
Ferron	0	0	22,306	1,111	1,910	-11,581	1,000	-
Inact2	-3,406	0	23,367	1,369	2,894	2,003	0,119	+
Inact3	-1,461	0	23,687	1,301	2,598	-6,210	0,998	-
Inact7	-3,565	3,084	24,374	1,449	4,219	-8,132	1,000	-
Inact8	-3,558	0	24,453	1,423	3,733	-6,690	0,999	-
Inact10	-2,271	0	23,533	1,221	2,281	-1,501	0,818	-
Inact11	-2,275	0	23,621	1,208	1,866	3,542	0,028	+
Inact12	-1,837	0	22,829	1,228	2,295	-3,248	0,963	-
Inact13	-2,102	0	24,786	1,246	2,184	-0,295	0,573	-
Inact15	-1,806	0	24,434	1,216	2,021	-0,681	0,664	-
Inact17	-2,461	0	46,780	1,285	2,340	-5,694	0,997	-
Inact18	-2,591	0	46,708	1,293	2,399	-5,508	0,996	-
Inact20	-2,449	0	46,194	1,285	2,350	-5,834	0,997	-
Inact21	-2,579	0	46,123	1,293	2,408	-5,510	0,996	-
Inact22	-2,352	0	46,079	1,281	2,252	-4,975	0,993	-
Inact24	-2,569	0	45,721	1,293	2,408	-5,437	0,996	-
Inact27	-2,564	0	72,540	1,271	1,900	-7,656	1,000	-
Inact28	-2,556	0	71,931	1,271	1,910	-7,639	1,000	-
Inact30	-0,911	0	36,598	1,204	2,127	-10,538	1,000	-
Inact31	0,076	0	12,497	1,125	1,742	-6,091	0,998	-
Inact32	1,097	0	0	1,138	1,686	-5,814	0,997	-
Inact33	1,631	6,887	0	1,116	1,690	-0,557	0,636	-
Inact34	1,680	0	0	1,107	1,662	-9,565	1,000	-
Inact35	0,281	0	12,372	1,242	2,504	-12,275	1,000	-
Inact37	0,262	0	12,409	1,239	2,159	-7,671	1,000	-
Inact38	0,215	0	12,457	1,262	2,238	-7,522	0,999	-
Inact39	0,221	0	12,614	1,244	2,354	-9,975	1,000	-
Inact40	-0,216	0	13,169	1,210	2,094	-6,017	0,998	-
Inact41	-0,279	0	13,040	1,239	2,164	-5,359	0,995	-
Inact43	-0,274	0	13,001	1,201	2,411	-10,397	1,000	-
Inact45	-0,342	0	12,598	1,278	2,364	-5,953	0,997	-
Inact46	-1,758	0	24,752	1,299	2,465	-3,444	0,969	-
Inact47	-2,363	0	24,689	1,383	2,910	-2,962	0,951	-
Naptalam	-1,557	2,794	23,620	1,337	2,796	-3,328	0,965	-
PGE-5215205	-1,825	0	22,532	1,358	2,691	-2,921	0,949	-
PGE-6116542	-1,499	0	23,840	1,301	2,392	-3,278	0,964	-
Quinolina	0	0	0	1,241	2,254	-3,861	0,979	-



**Tabla 2.16.** Resultados obtenidos en el ALD y clasificación de los compuestos para la FD1. Grupo activos *test*.

Compuesto	$S_{=C<}$	$S_{-NH-}$	$S_{=O}$	${}^0C$	${}^3C_c$	FD1	Prob.	Clas.
A-80556	-3,093	0	24,191	1,367	2,485	5,727	0,997	+
Balofloxacino	-2,339	3,241	24,262	1,250	2,250	4,397	0,988	+
BMS-433366	-1,868	3,446	24,401	1,240	2,111	3,822	0,979	+
Ciprofloxacino	-2,202	3,225	23,758	1,287	2,399	3,459	0,969	+
DK-507k	-2,78	0	24,239	1,306	1,838	10,359	1,000	+
DV-7751a	-2,384	0	24,157	1,271	1,765	7,991	1,000	+
Enoxacino	-2,420	3,180	23,444	1,307	2,738	0,772	0,684	+
Grepafloxacino	-2,439	3,306	24,058	1,285	2,189	7,356	0,999	+
Moxifloxacino	-2,315	3,518	24,35	1,246	2,074	6,811	0,999	+
PGE-9262932	-1,852	0	24,254	1,233	1,978	0,920	0,715	+
Rufloxacino	-2,206	0	23,848	1,213	2,040	0,994	0,730	+
Trovafloxacino	-3,190	0	24,114	1,389	2,404	8,252	1,000	+

**Tabla 2.17.** Resultados obtenidos en el ALD y clasificación de los compuestos para la FD1. Grupo inactivos *test*.

Compuesto	$S_{=C<}$	$S_{-NH-}$	$S_{=O}$	${}^0C$	${}^3C_c$	FD1	Prob.	Clas.
8qincarb	-0,941	0	10,775	1,368	3,005	-7,359	0,999	-
Benzoxiquina	-0,376	0	12,008	1,293	2,697	-9,488	1,000	-
Inact4	-1,772	0	23,001	1,293	2,466	-3,098	0,957	-
Inact5	-1,772	0	23,001	1,293	2,463	-3,059	0,955	-
Inact16	-2,374	0	47,077	1,281	2,241	-5,028	0,993	-
Inact19	-2,362	0	46,486	1,281	2,252	-5,050	0,994	-
Inact23	-2,439	0	45,790	1,285	2,350	-5,633	0,996	-
Inact29	1,723	0	12,412	1,171	1,886	-13,813	1,000	-
Inact36	0,256	3,243	12,362	1,262	2,504	-7,175	0,999	-
Inact42	-0,271	0	12,949	1,255	2,411	-8,046	1,000	-
Inact44	-0,275	0	13,364	1,201	2,047	-5,523	0,996	-

**Tabla 2.18.** Resultados obtenidos en el ALD y clasificación de los compuestos para la FD2. Grupo activos *training*.

Compuesto	S <sub>=C&lt;</sub>	S <sub>-NH<sub>2</sub></sub>	S <sub>-NH-</sub>	S <sub>=N-</sub>	S <sub>-OH</sub>	S <sub>aSa</sub>	FD2	Prob.	Clas.
ABT-492	-3,521	5,412	0	0	18,853	0	2,499	0,924	+
Amifloxacino	-2,425	0	2,814	0	9,150	0	4,111	0,984	+
BAYy3118	-2,348	0	3,498	0	9,381	0	4,749	0,991	+
BMS-340278	-1,728	0	3,449	0	9,376	0	2,732	0,939	+
BMS-340280	-2,953	0	3,265	0	9,415	0	6,299	0,998	+
CFC-222	-2,345	6,113	0	0	9,319	0	3,758	0,977	+
Clinafloxacin	-2,414	5,913	0	0	9,285	0	3,860	0,979	+
CS-940	-2,916	0	3,194	0	9,350	0	6,108	0,998	+
Difloxacino	-2,639	0	0	0	9,413	0	0,587	0,643	-
DQ-113	-3,033	12,200	0	0	9,411	0	9,915	1,000	+
DW-116	-2,735	0	0	0	9,393	0	0,897	0,710	-
DW286	-1,777	5,916	0	4,041	9,340	0	6,484	0,998	+
DX-619	-2,251	6,405	0	0	9,424	0	3,607	0,974	+
E-4441	-2,770	5,920	0	0	9,215	0	5,017	0,993	+
E-4474	-2,763	5,677	0	0	9,187	0	4,848	0,992	+
E-4501	-2,726	0	3,039	0	9,221	0	5,347	0,995	+
E-4534	-2,768	5,821	0	0	9,221	0	4,941	0,993	+
E-4535	-2,253	5,893	0	0	9,246	0	3,358	0,966	+
E-4767	-2,425	5,900	0	0	9,282	0	3,887	0,980	+
E-5065	-2,378	5,798	0	0	9,256	0	3,683	0,975	+
Esparfloxacino	-2,958	5,933	3,3	0	9,341	0	10,332	1,000	+
Fleroxacino	-3,184	0	0	0	9,132	0	2,433	0,919	+
Garenoxacino	-2,438	0	3,344	0	9,440	0	4,783	0,992	+
Gatifloxacino	-2,346	0	3,319	0	9,382	0	4,482	0,989	+
Gemifloxacino	-1,720	0	3,101	3,986	9,317	0	6,818	0,999	+
Levofloxacino	-2,361	0	0	0	9,320	0	-0,244	0,439	-
Lomefloxacino	-2,809	0	3,202	0	9,155	0	5,875	0,997	+
Norfloxacino	-2,290	0	3,208	0	9,151	0	4,254	0,986	+
Olamfloxacino	-2,441	12,397	0	0	9,432	0	8,174	1,000	+
Pazufloxacino	-2,420	6,160	0	0	9,224	0	4,072	0,983	+
Pefloxacino	-2,283	0	0	0	9,178	0	-0,424	0,396	-
PGE-4175997	-1,858	6,320	0	0	9,446	0	2,304	0,909	+
PGE-9509924	-1,861	6,129	0	0	9,399	0	2,211	0,901	+
Sitafloxacino	-2,813	6,222	0	0	9,321	0	5,301	0,995	+
Temafloxacino	-3,053	0	3,248	0	9,391	0	6,597	0,999	+
Tosufloxacino	-3,219	5,86	0	0	9,332	0	6,332	0,998	+
Ulifloxacino	-1,698	0	3,221	0	9,343	0	2,324	0,911	+
WIN57273	-2,278	0	0	0	9,301	0	-0,498	0,378	-

**Tabla 2.19.** Resultados obtenidos en el ALD y clasificación de los compuestos para la FD2. Grupo inactivos *training*.

Compuesto	S <sub>=C&lt;</sub>	S <sub>-NH2</sub>	S <sub>-NH-</sub>	S <sub>=N-</sub>	S <sub>-OH</sub>	S <sub>aSa</sub>	FD2	Prob.	Clas.
Cinchofeno	-0,935	0	0	0	9,326	0	-4,732	0,991	-
Ferron	0	0	0	0	18,764	0	-12,119	1,000	-
Inact2	-3,406	0	0	0	19,087	0	-1,564	0,827	-
Inact3	-1,461	0	0	0	9,250	0	-3,040	0,954	-
Inact7	-3,565	0	3,084	0	27,581	0	-0,603	0,646	-
Inact8	-3,558	0	0	0	27,652	0	-5,122	0,994	-
Inact10	-2,271	0	0	0	9,160	0	-0,452	0,611	-
Inact11	-2,275	0	0	0	9,189	0	-0,453	0,611	-
Inact12	-1,837	0	0	0	8,943	1,220	-7,097	0,999	-
Inact13	-2,102	6,407	0	0	9,623	0	3,047	0,045	+
Inact15	-1,806	6,415	0	0	9,473	0	2,191	0,101	+
Inact17	-2,461	0	0	0	9,337	1,257	-5,485	0,996	-
Inact18	-2,591	0	0	0	9,317	1,241	-4,997	0,993	-
Inact20	-2,449	0	0	0	9,336	1,328	-5,707	0,997	-
Inact21	-2,579	0	0	0	9,316	1,312	-5,346	0,995	-
Inact22	-2,352	0	0	0	9,442	1,381	-6,429	0,998	-
Inact24	-2,569	0	0	0	9,315	1,359	-5,584	0,996	-
Inact27	-2,564	0	0	0	9,348	0,859	-3,412	0,968	-
Inact28	-2,556	0	0	0	9,348	0,892	-3,581	0,973	-
Inact30	-0,911	0	0	0	9,604	0	-4,937	0,993	-
Inact31	0,076	0	0	0	0	1,508	-10,165	1,000	-
Inact32	1,097	0	0	5,366	0	1,783	-8,416	1,000	-
Inact33	1,631	0	6,887	0	0	1,737	-6,100	0,998	-
Inact34	1,680	0	0	9,341	0	1,702	-5,317	0,995	-
Inact35	0,281	0	0	0	0	0	-4,157	0,985	-
Inact37	0,262	0	0	0	0	0	-4,098	0,984	-
Inact38	0,215	0	0	0	9,053	0	-8,216	1,000	-
Inact39	0,221	0	0	0	0	0	-3,967	0,981	-
Inact40	-0,216	6,354	0	0	10,459	0	-3,311	0,965	-
Inact41	-0,279	6,313	0	0	20,161	0	-7,714	1,000	-
Inact43	-0,274	6,285	0	0	20,116	0	-7,729	1,000	-
Inact45	-0,342	5,77	0	0	19,677	0	-7,648	1,000	-
Inact46	-1,758	0	0	0	9,873	0	-2,401	0,917	-
Inact47	-2,363	0	0	0	9,805	0	-0,466	0,614	-
Naptalam	-1,557	0	2,794	0	9,172	0	1,343	0,207	-
PGE-5215205	-1,825	0	0	0	8,836	0	-1,701	0,846	-
PGE-6116542	-1,499	0	0	0	9,259	0	-2,925	0,949	-
Quinolina	0	0	0	0	0	0	-3,274	0,964	-

**Tabla 2.20.** Resultados obtenidos en el ALD y clasificación de los compuestos para la FD2. Grupo activos *test*.

Compuesto	S <sub>=C&lt;</sub>	S <sub>-NH2</sub>	S <sub>-NH-</sub>	S <sub>=N-</sub>	S <sub>-OH</sub>	S <sub>aSa</sub>	FD2	Prob.	Clas.
A-80556	-3,093	5,978	0	0	9,387	0	5,989	0,998	+
Balofloxacin	-2,339	0	3,241	0	9,409	0	4,334	0,987	+
BMS-433366	-1,868	0	3,446	0	9,471	0	3,122	0,958	+
Ciprofloxacino	-2,202	0	3,225	0	9,257	0	3,954	0,981	+
DK-507k	-2,78	6,266	0	0	9,380	0	5,200	0,995	+
DV-7751a	-2,34	6,375	0	0	9,375	0	4,029	0,983	+
Enoxacino	-2,420	0	3,180	0	9,130	0	4,633	0,990	+
Grepafloxacin	-2,439	5,996	3,306	0	9,337	0	8,753	1,000	+
Moxifloxacin	-2,315	0	3,518	0	9,440	0	4,648	0,991	+
PGE-9262932	-1,852	6,077	0	0	9,422	0	2,136	0,894	+
Rufloxacin	-2,206	0	0	0	9,260	0	-0,703	0,331	-
Trovafloxacin	-3,190	5,920	0	0	9,364	0	6,266	0,998	+

**Tabla 2.21.** Resultados obtenidos en el ALD y clasificación de los compuestos para la FD2. Grupo inactivos *test*.

Compuesto	S <sub>=C&lt;</sub>	S <sub>-NH2</sub>	S <sub>-NH-</sub>	S <sub>=N-</sub>	S <sub>-OH</sub>	S <sub>aSa</sub>	FD2	Prob.	Clas.
8qincarb	-0,941	0	0	0	8,843	0	-4,485	0,989	-
Benzoxiquina	-0,376	0	0	0	0	0	-2,091	0,890	-
Inact4	-1,772	0	0	0	9,001	0	-1,946	0,875	-
Inact5	-1,772	0	0	0	9,001	0	-1,946	0,875	-
Inact16	-2,374	0	0	0	9,444	1,264	-5,842	0,997	-
Inact19	-2,362	0	0	0	9,443	1,335	-6,191	0,998	-
Inact23	-2,439	0	0	0	9,336	1,374	-6,072	0,998	-
Inact29	1,723	0	0	0	0	0	-8,690	1,000	-
Inact36	0,256	0	3,243	0	0	0	0,615	0,351	-
Inact42	-0,271	6,241	0	0	20,058	0	-7,737	1,000	-
Inact44	-0,275	6,428	0	0	20,688	0	-7,899	1,000	-

## 2.2. CRIBADO VIRTUAL DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Una vez establecido el modelo matemático topológico que clasifica una estructura química por su actividad antibacteriana, podemos aplicarlo para encontrar nuevos compuestos de estructuras diferentes con esta actividad. Tradicionalmente, la búsqueda de nuevos compuestos activos a partir de un modelo QSAR se ha aplicado a la misma familia de compuestos de la que se ha obtenido el modelo. Esto es casi obligatorio cuando se utilizan parámetros fragmentarios.<sup>221</sup> No obstante, cuando los modelos topológicos derivados de parámetros de conectividad globales, en combinación con análisis lineal discriminante,<sup>123</sup> han sido aplicados a compuestos con gran diversidad estructural, se han obtenido excelentes resultados.<sup>222</sup> Para ello, se calculan los índices topológicos de los mismos, se sustituyen sus valores en las FD

221 Eriksson L, Johansson E. Multivariate design and modeling in QSAR. *Chemometr. Intell. Lab.*, **1996**; *34(1)*: 1-19.

222 García-Domenech R, Gálvez J, de Julián-Ortiz JV, Pogliani L. Some new trends in chemical graph theory. *Chem. Rev.*, **2008**; *108(3)*: 1127-69.

seleccionadas y se verifica si el valor obtenido se encuentra en el intervalo donde la probabilidad de encontrar un compuesto activo es máxima.

Para seleccionar compuestos con posible actividad antibacteriana, recurrimos a la base de datos Index Merck,<sup>223</sup> una base de datos de más de 10.000 compuestos comercializados, incluyendo fármacos, productos biológicos y reactivos químicos. Se excluyeron compuestos inorgánicos, polímeros y todos los estereoisómeros, salvo uno. Finalmente, se dibujaron los grafos químicos de un total de 6.375 compuestos con el programa de dibujo ChemBioDraw Ultra 12.0 del paquete de programas ChemBioOffice 2010, y con los programas DESMOL13 y MOLCONN-Z 3.0 se calcularon 144 índices topológicos (**Tabla 1.1**) para cada compuesto.

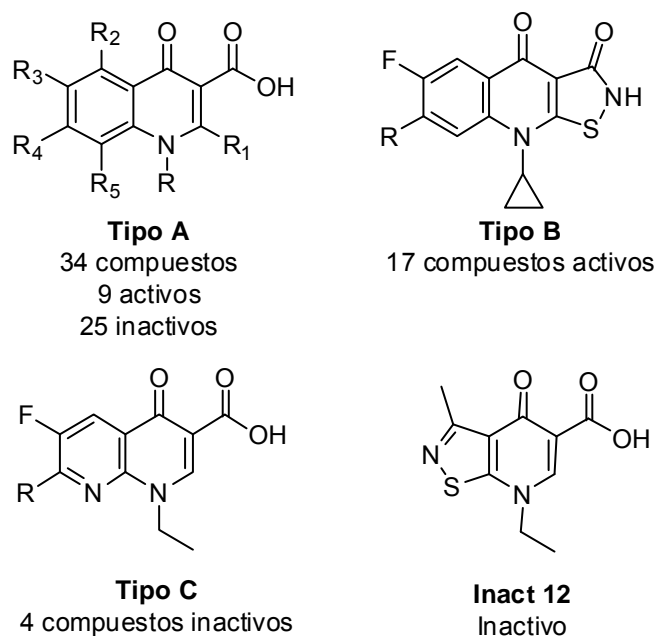
Tras aplicar el modelo a cada una de las moléculas dibujadas (barrido o *screening* virtual), se seleccionaron aquellas que estaban incluidas en los intervalos de máxima probabilidad de actividad. En total, se obtuvieron 263 moléculas (**Anexo II**) con actividad antibacteriana teórica. De todos ellos, 105 presentan actividad antibacteriana descrita. Es decir, teniendo en cuenta únicamente los datos bibliográficos, el modelo clasifica correctamente como antibacterianos al menos el 40 % de los compuestos seleccionados. Por lo tanto, sólo con estos datos se justifica y demuestra la enorme utilidad de este modelo.

---

223 The Merck Index, 13th ed., Merck & Co. Inc., New Jersey, U.S.A., 2001.

### 3. MODELO DISCRIMINANTE DE ACTIVIDAD FRENTE A SARM

Desde los buscadores ISI Web of Science, Medline y SciFinder (Caplus), se realizó una amplia y exhaustiva revisión bibliográfica con el propósito de recopilar valores experimentales de actividad (procedentes de ensayos *in vitro*) de diversos compuestos frente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). De los datos recopilados, se seleccionaron 56 compuestos con probada actividad o inactividad frente a SARM con estructuras de 4-quinolona o estrechamente relacionada con esta (**Figura 2.12**), de las cuales 26 poseían contrastada actividad frente a SARM y 30 compuestos carecían de esta actividad específica (**Anexo III**).



**Figura 2.12.** Estructuras de los compuestos utilizados para la realización del modelo.

La información en cuanto actividad e índices se introdujo en el programa BMDP, el cual seleccionó de forma aleatoria 7 compuestos del grupo de activos y 6 compuestos del grupo de inactivos para realizar el *test*. A estos grupos se les llamó *test* de activos y *test* de inactivos, respectivamente.

Se utilizaron diversas combinaciones de índices para la obtención de distintas ecuaciones. Finalmente, se obtuvo la siguiente función discriminante ( $FD_{SARM}$ ), que clasificaba un compuesto como activo o inactivo frente a SARM:

$$FD_{SARM} = -9,51467 - 2,19S_{>N} + 1,37006S_{-Cl} + 0,72921PR2 + 44,32045^3\chi_{ch}$$

$$N = 56 \quad \lambda = 0,1637891 \quad F = 48,501 \quad (\text{Ecuación 2.7})$$

**Tabla 2.22.** Matriz de clasificación para la  $FD_{SARM}$ .

Grupo	Activos	Inactivos	% aciertos
Activos <i>training</i>	19	0	100
Inactivos <i>training</i>	0	24	100
Activos <i>test</i>	7	0	100
Inactivos <i>test</i>	0	6	100
<b>TOTAL</b>	26	30	100

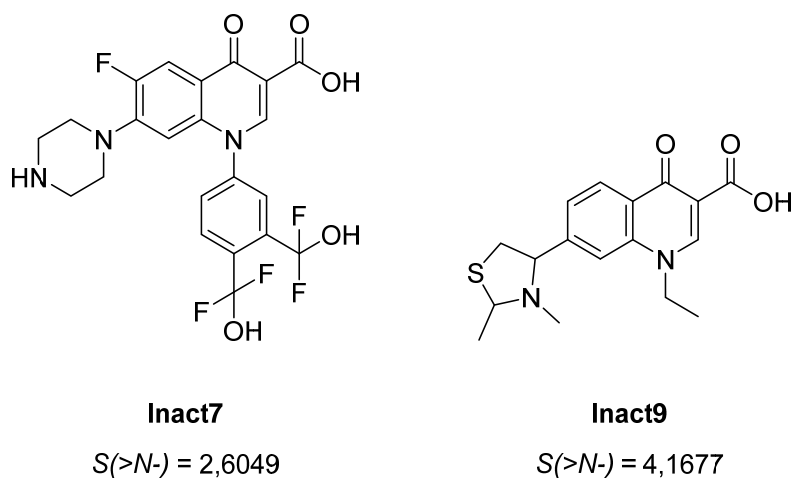
**Tabla 2.23.** Matriz de clasificación “Jack-knife” para la  $FD_{SARM}$ .

Grupo	Activos	Inactivos	% aciertos
Activos <i>training</i>	19	0	100
Inactivos <i>training</i>	3	21	87,5
Activos <i>test</i>	7	0	100
Inactivos <i>test</i>	0	6	100
<b>TOTAL</b>	29	27	94,6

Es de destacar, el signo negativo asociado al índice electrotopológico para nitrógenos terciarios ( $S_{>N}$ ) que indica una influencia desfavorable de este grupo. Esto no implica que su presencia no sea necesaria, tal y como se recoge en la relación estructura-actividad de las quinolonas, donde este grupo en posición 1 forma parte del farmacóforo,<sup>151</sup> sino que un exceso de este grupo funcional afectaría de forma negativa a la actividad. Puede comprobarse, que el valor medio de este índice para los compuestos activos es alrededor de 3 (**Tablas 2.24 y 2.26**). Sin embargo, este valor medio aumenta a 4 para los compuestos inactivos (**Tablas 2.25 y 2.27**).

Aunque el valor de este índice no solo depende del número de aminas terciarias que contenga la molécula, sino que además, como ocurre en los índices electrotopológicos, los grupos electronegativos próximos lo disminuyen.<sup>109</sup> En el siguiente ejemplo, puede observarse como los compuestos **Inact7** e **Inact9**, a pesar de tener dos nitrógenos terciarios cada uno, presentan índices  $S_{>N}$  muy distintos debido a que en el compuesto **Inact7** las dos aminas terciarias están

unidas a dos anillos aromáticos  $\pi$  deficientes, fuertemente electrón-atractores (**Figura 2.13**).



**Figura 2.13.** Efecto de los grupos electrón atractores sobre el valor del índice  $S_{>N}$ .

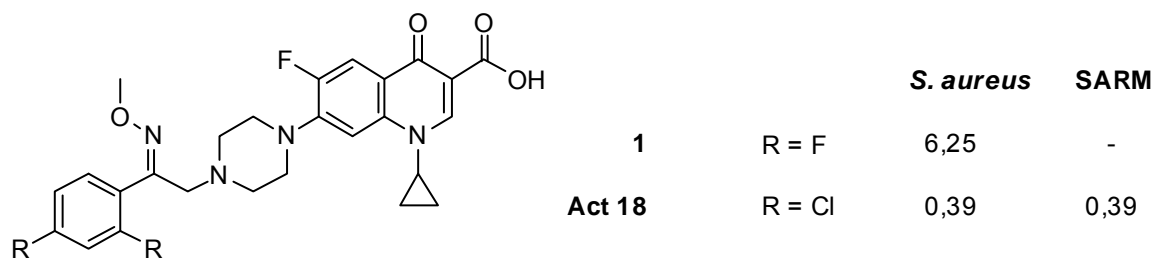
Respecto del índice electrotopológico para el cloro ( $S_{Cl}$ ), la ecuación nos indica que la presencia de este átomo favorece la actividad, observando que algunos de los compuestos activos lo poseen, mientras que los compuestos inactivos tienen todos un valor de cero, lo que implica que no presentan esta agrupación en su estructura. Como podemos ver en la **Tabla 2.24**, el compuesto **Act18** casi dobla el valor de este índice con respecto al resto de compuestos clorados, debido a que posee dos cloros.

Puesto que este átomo sólo está presente en alguno de los compuestos activos, se estudió la posibilidad desarrollar el modelo prescindiendo de este índice, pero en todos los casos disminuía considerablemente el porcentaje de acierto.

La importancia de este átomo fue puesta en evidencia experimentalmente por Foroumadi et al., que en un estudio de actividad antibacteriana,<sup>224</sup> observaron que la sustitución de cloro por flúor disminuía drásticamente la actividad frente a *S. aureus* (**Figura 2.14**).

224 Foroumadi A, Ghodsi S, Emami S, Najjari S, Samadi N, Faramarzi MA, Beikmohammadi L, Shirazi FH, Shafiee A. Synthesis and antibacterial activity of new fluoroquinolones containing a substituted N-(phenethyl)piperazine moiety. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**; *16*(13): 3499-3503.

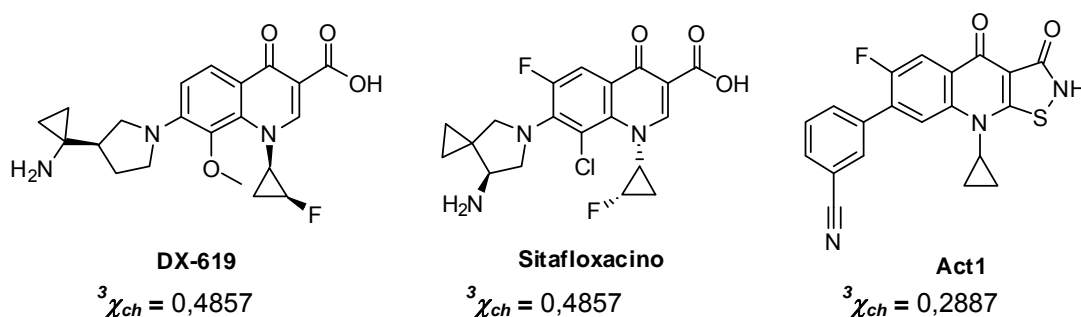




**Figura 2.14.** Estructura y actividad antibacteriana de los compuestos 1 y Act18 frente a *S. aureus* y SARM (CMI en  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

Otro índice que afecta de manera positiva a la actividad frente a SARM es el índice topológico geométrico *PR2*. Este tipo de índices está relacionado con la forma y superficie molecular. El índice *PR2* en concreto cuenta el número de pares de ramificaciones (entendiendo como ramificación los puntos que contienen tres o más vértices) separado por dos ejes.<sup>105</sup> La media para los compuestos activos (Tablas 2.24 y 2.26) es de 13 y para los inactivos (Tablas 2.25 y 2.27) es de 10.

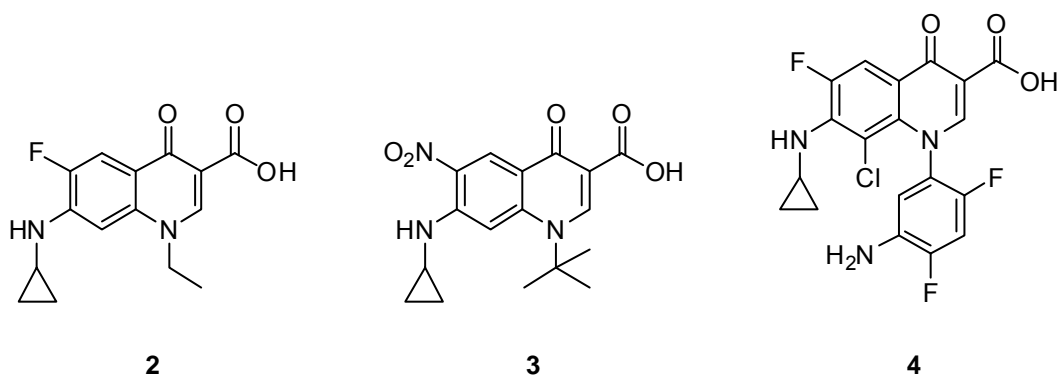
De la ecuación se observa también, una clara dependencia de la actividad respecto del índice de Kier-Hall de tercer orden tipo chain ( ${}^3\chi_{ch}$ ), lo que implica que la presencia del grupo ciclopropilo favorece en gran medida la actividad frente a SARM. Como puede observarse en las Tablas 2.24 y 2.26, la mayoría de los compuestos activos presentan este grupo. Cabe mencionar los compuestos DX-619 y sitafloxacino, que al tener dos unidades de este sustituyente prácticamente doblan el valor para este índice (Figura 2.15). Por el contrario, se aprecia que en las dos agrupaciones de compuestos inactivos (Tablas 2.25 y 2.27), en general, carecen de este grupo.



**Figura 2.15.** Estructuras de dos quinolonas con dos ciclopropilos y una quinolona con un ciclopropilo y el valor del índice Kier-Hall de tercer orden tipo chain para cada una.

Atendiendo a las relaciones estructura-actividad (REA) clásicas de las quinolonas, el sustituyente de elección en la posición 1 para la actividad frente a bacterias Gram positivas es el ciclopropilo.<sup>69</sup> En nuestro caso, también su presencia favorece la actividad, aunque no tiene que estar necesariamente en 1.

A este respecto, cabe mencionar que encontramos varios ejemplos en los que suprimen el grupo ciclopropilo en posición 1 y lo incorporan en la cadena lateral como 7-ciclopropilamino (**Figura 2.16**) pero sin datos de actividad frente a SARM. Aquellas en las que el sustituyente en 1 es alifático, como etilo<sup>225</sup> o *terc*-butilo,<sup>226</sup> presentan una actividad discreta frente a varias bacterias Gram positivas y negativas (**Figura 2.16**, compuestos **2** y **3**). En el caso de la quinolona **4** (**Figura 2.16**), en la que el ciclopropilo en 1 es sustituido por un 5-amino-2,4-difluorobenceno, se describe su actividad frente a diversas bacterias, incluida *S. aureus*, pero no aportan las correspondientes CMI.<sup>227</sup>



**Figura 2.16.** Quinolonas con cierta actividad antibacteriana con ciclopropilamina en posición 7.

También se encuentran en la bibliografía otros ejemplos de quinolonas activas frente a SARM con ciclopropilo en la cadena en la posición 7 con o sin él en 1<sup>228,229</sup> (**Figura 2.17**).

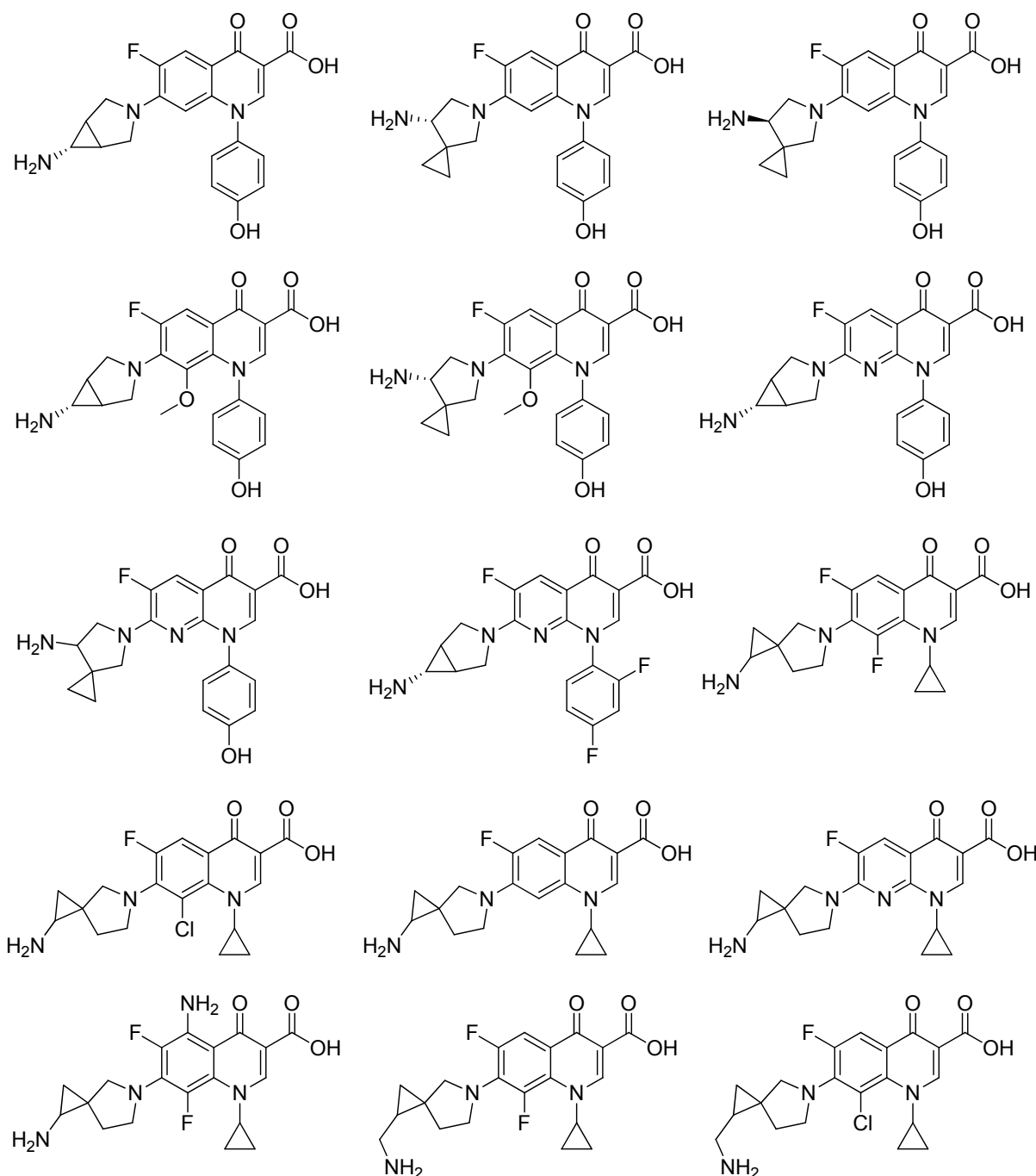
225 Ziegler CB Jr, Curran WV, Kuck NA, Harris SM, Yang-I L. Synthesis and antibacterial activity of some 7-substituted 1-ethyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acids: Ethers, secondary amines and sulfides as c-7 substituents. *J. Heterocycl. Chem.*, **1989**; *26(4)*: 1141-5.

226 Sbardella G, Mai A, Artico M, Setzu MG, Poni G, La Colla P. New 6-nitroquinolones: synthesis and antimicrobial activities. *Farmaco*, **2004**; *59(6)*: 463-71.

227 Sakae N, Yazaki A, Kuramoto Y, Yoshida J, Niino Y, Oshita Y, Hirao Y, Hayashi N, Amano H. Novel pyridonecarboxylic acid derivatives or salts thereof and drugs containing the same as the active ingredient. *European Patent n° 945435 A1*, **1998**.

228 Baker WR, Cai S, Dimitroff M, Fang L, Huh KK, Ryckman DR, Shang X, Shawar RM, Therrien JH. A prodrug approach toward the development of water soluble fluoroquinolones and structure-activity relationships of quinoline-3-carboxylic acids. *J. Med. Chem.*, **2004**; *47(19)*: 4693-709.

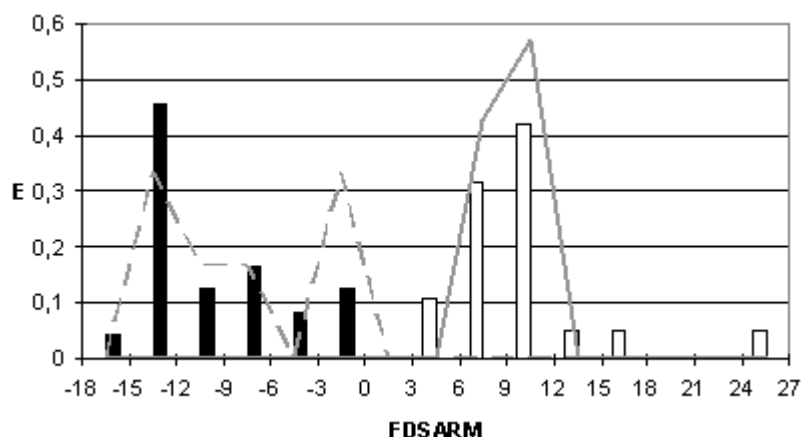
229 Kim WJ, Park MH, Ha JD, Baik KU. Novel quinolone carboxylic acid derivatives and processes for preparing same. *European Patent n° 550016*, **1993**.



**Figura 2.17.** Quinolonas con ciclopropilo en la cadena de la posición 7 activas frente a SARM.

Si se tuviese en cuenta únicamente la Función Discriminante para diseñar una nueva quinolona activa frente a SARM, diríamos que ésta debe tener un alto número de ramificaciones, ciclopropilos, átomos de cloro y el mínimo número de nitrógenos terciarios, y en caso de tenerlos que se una a átomos o grupos electrón atractores. Si observamos los compuestos activos, vemos que sitafloxacino cumple todas estas propiedades, obteniendo el valor más alto de  $FD_{SARM} = 25$  (Tabla 2.24). Sin embargo al realizar el diagrama de distribución (Figura 2.18) vemos

que no hay valores en el intervalo 18-24, por lo que a falta de obtener más datos en futuras investigaciones y con el fin de evitar falsos activos, se considerarán inclasificables aquellos compuestos cuya  $FD_{SARM} > 18$ . Esto también ocurre a valores entre 0 y 3, por lo que finalmente diremos que un compuesto será activo frente a SARM cuando su  $FD_{SARM}$  esté comprendida entre 3 y 18.



**Figura 2.18.** Diagrama de distribución farmacológica de  $FD_{SARM}$ . Barras negras: inactivos training. Barras blancas: activos training. Líneas rojas: inactivos test. Líneas azules: activos test.

A continuación se muestran, para este modelo, las **Tablas 2.24-2.27**, en las que se detallan:

- Los índices que intervienen en cada función.
- Los resultados obtenidos por aplicación de la  $FD_{SARM}$  a los correspondientes grupos de moléculas activas e inactivas.
- El valor de la probabilidad de clasificación para cada compuesto (Prob.). Son de destacar los altos valores de probabilidad de clasificación correcta para cada compuesto, por encima del 90 % en la mayoría de los casos, lo que le otorga una elevada consistencia al modelo.
- Para todos los grupos de moléculas estudiados en el apartado de clasificación (Clas.) se asignará el signo “+” a aquellas moléculas clasificadas como activas, mientras que el signo “-” será para las que hayan sido catalogadas como inactivas. El sitafloxacino (**Tabla 2.24**), al tener un valor fuera del rango de mayor expectativa de actividad establecido, se ha clasificado como inactivo (-).

**Tabla 2.24.** Resultados obtenidos en el ALD y clasificación de los compuestos para la  $FD_{SARM}$ . Grupo activos *training*.

Compuesto	$S_{>N}$	$S_{<Cl}$	PR2	$\chi^3_{ch}$	$FD_{SARM}$	Prob.	Clas.
Act1	1,9779	0	14	0,2887	9,158	1,000	+
Act4	1,9726	0	14	0,2887	9,1696	1,000	+
Act5	1,9841	0	13	0,2887	8,4152	1,000	+
Act6	1,9675	0	14	0,2887	9,1808	1,000	+
Act7	2,0088	0	13	0,2887	8,3611	1,000	+
Act8	1,935	0	14	0,2887	9,2519	1,000	+
Act9	2,0127	0	13	0,2887	8,3526	1,000	+
Act11	2,0131	0	13	0,2887	8,3517	1,000	+
Act12	1,9257	0	14	0,2887	9,2723	1,000	+
Act14	2,0263	0	16	0,2887	10,51	1,000	+
Act16	2,0303	0	14	0,2887	9,0432	1,000	+
Act17	2,028	0	14	0,2887	9,0483	1,000	+
Act18	5,9313	12,405	12	0,2887	16,037	1,000	+
Act20	6,0076	6,0067	10	0,2887	5,6456	0,996	+
Act21	5,7084	6,1366	11	0,2887	7,2081	0,999	+
Act23	5,8228	6,2441	11	0,2887	7,1048	0,999	+
Act24	5,8512	5,9416	10	0,2887	5,899	0,997	+
DX-619	3,7794	0	12	0,4857	12,485	1,000	+
Sitafloxacino	3,1603	6,5647	15	0,4857	25,023	1,000	-

**Tabla 2.25.** Resultados obtenidos en el ALD y clasificación de los compuestos para la  $FD_{SARM}$ . Grupo inactivos *training*.

Compuesto	$S_{>N}$	$S_{<Cl}$	PR2	$\chi^3_{ch}$	$FD_{SARM}$	Prob.	Clas.
Inact1	5,2022	0	11	0	-12,886	1,000	-
Inact2	1,3494	0	10	0	-5,1778	0,994	-
Inact3	1,7938	0	10	0	-6,151	0,998	-
Inact4	1,7774	0	6	0	-9,0319	1,000	-
Inact5	1,8011	0	7	0	-8,3546	1,000	-
Inact6	4,9345	0	10	0	-13,029	1,000	-
Inact7	2,6049	0	10	0	-7,9273	1,000	-
Inact8	4,6575	0	10	0	-12,422	1,000	-
Inact9	4,1677	0	8	0	-12,808	1,000	-
Inact10	3,7501	0	9	0	-11,164	1,000	-
Inact11	3,7952	0	10	0	-10,534	1,000	-
Inact12	1,7409	0	7	0	-8,2228	1,000	-
Inact13	6,2515	0	13	0	-13,726	1,000	-
Inact14	6,5239	0	14	0,2887	-0,7978	0,689	-
Inact15	6,6082	0	13	0,2887	-1,7116	0,847	-
Inact16	5,6782	0	12	0,2887	-0,4041	0,600	-
Inact17	5,4883	0	11	0	-13,513	1,000	-
Inact18	5,2383	0	11	0	-12,965	1,000	-
Inact21	5,2862	0	10	0	-13,799	1,000	-
Inact23	5,572	0	9	0	-15,154	1,000	-
Inact24	5,322	0	9	0	-14,607	1,000	-
Inact27	5,1934	0	10	0	-13,596	1,000	-
Inact28	5,2209	0	10	0	-13,656	1,000	-
PGE-6116542	1,7034	0	11	0	-5,2238	0,995	-

**Tabla 2.26.** Resultados obtenidos en el ALD y clasificación de los compuestos para la  $FD_{SARM}$ . Grupo activos *test*.

Compuesto	$S_{>N}$	$S_{<Cl}$	PR2	$\chi^2_{ch}$	$FD_{SARM}$	Prob.	Clas.
Act2	2,0016	0	13	0,2887	8,3769	1,000	+
Act3	1,9413	0	14	0,2887	9,2381	1,000	+
Act10	2,0171	0	14	0,2887	9,0721	1,000	+
Act13	2,0195	0	14	0,2887	9,0669	1,000	+
Act15	1,9528	0	15	0,2887	9,9422	1,000	+
Act19	5,9793	6,3567	11	0,2887	6,9163	0,999	+
Act22	5,7368	5,8895	10	0,2887	6,0781	0,998	+

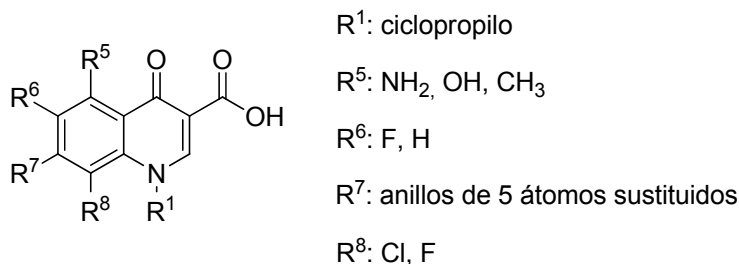
**Tabla 2.27.** Resultados obtenidos en el ALD y clasificación de los compuestos para la  $FD_{SARM}$ . Grupo inactivos *test*.

Compuesto	$S_{>N}$	$S_{<Cl}$	PR2	$\chi^2_{ch}$	$FD_{SARM}$	Prob.	Clas.
Inact19	5,7261	0	11	0,2887	-1,2382	0,886	-
Inact20	5,5362	0	10	0	-14,347	1,000	-
Inact22	5,7619	0	10	0,2887	-2,0458	0,999	-
Inact25	3,6337	0	14	0	-7,2635	0,775	-
Inact26	5,3777	0	9	0	-14,729	1,000	-
PGE-5215205	1,6391	0	5	0	-9,4582	1,000	-

El objetivo era encontrar un modelo capaz de clasificar correctamente el 100 % de compuestos inactivos para evitar falsos activos. Como puede observarse, al acotar el rango de mayor expectancia de actividad para valores entre 3 y 18, que es donde a nuestro juicio existe una mayor probabilidad de encontrar compuestos activos, el modelo consigue no sólo su objetivo, que es clasificar correctamente la totalidad de los compuestos inactivos, sino también un acierto del 96,2 % en la clasificación de compuestos activos.

### 3.1. EXPLICACIÓN DE LAS REA CLÁSICAS CON EL MODELO TOPOLÓGICO

Las REA clásicas de las quinolonas frente a bacterias Gram positivas (entre las que se encuentra SARM), que se resumen en la **Figura 2.19**, considera al ciclopropilo como el sustituyente de elección en posición 1; los grupos amino, hidroxilo y metilo en posición 5; el flúor y el hidrógeno en posición 6; los anillos sustituidos de 5 átomos en posición 7; y el cloro, junto al flúor, como los sustituyentes en posición 8 (para una mayor extensión ver **Antecedentes Bibliográficos, apartado A1.5**).



**Figura 2.19.** Resumen de las REAs de quinolonas frente a bacterias Gram positivas.

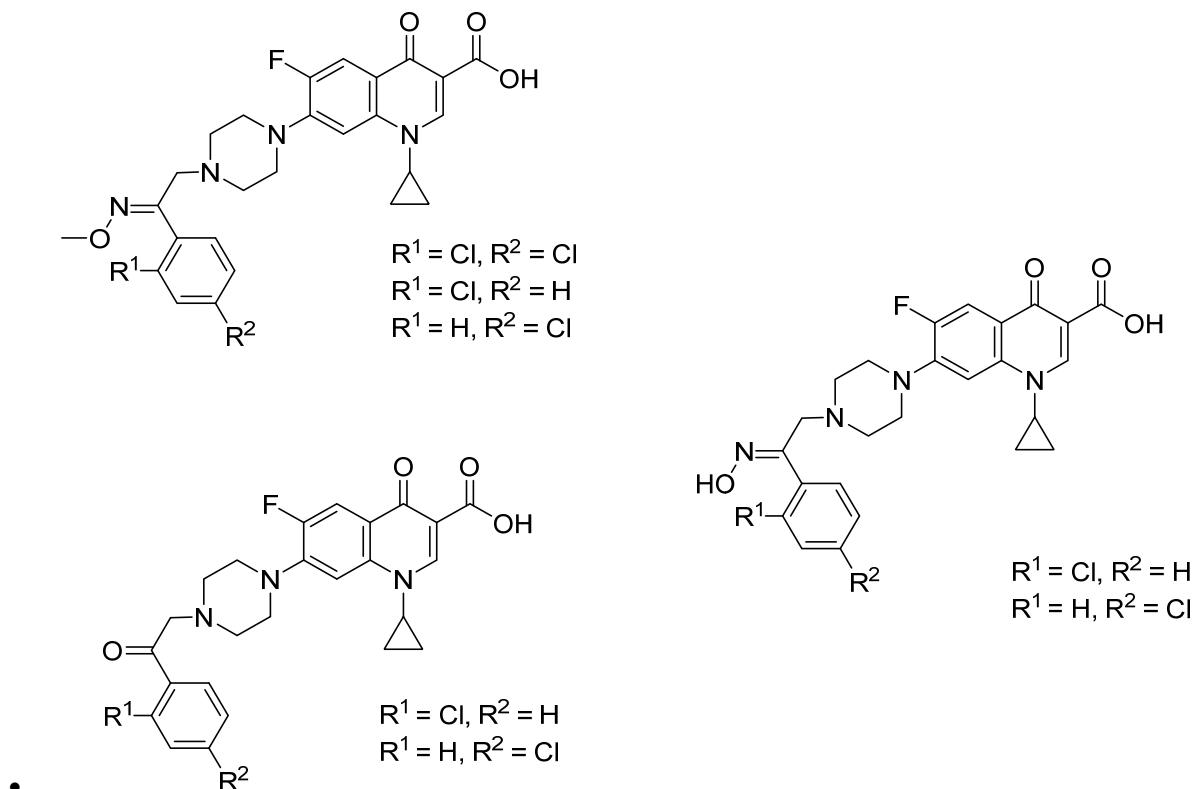
A continuación analizamos dichas REA explicadas por el modelo topológico desarrollado. Hay que recordar que el modelo topológico establece un intervalo de valores de la  $FD_{SARM}$  para los que la probabilidad de encontrar un compuesto activo es máxima, por lo que tanto la falta de factores favorables como el exceso de los mismos harán que una molécula no sea clasificada como activa.

- *Posición 1:* las REA clásicas establecen al ciclopropilo como sustituyente de elección en 1. Nuestro modelo de predicción, también le da importancia a este sustituyente incluyéndolo entre las variables de la ecuación para la actividad frente a SARM (el ciclopropilo es descrito por el índice  ${}^3\chi_{ch}$ ). Lo cual, quiere decir que su presencia en la molécula es favorable, ya sea en 1 o en otra posición, como podría ser la cadena lateral en 7. De hecho, como se ha mencionado anteriormente, podemos encontrar compuestos activos frente a SARM con ciclopropilo en la cadena de la posición 7 con o sin él en 1 (**Figuras 2.16 y 2.17**).
- *Posición 5:* las REA clásicas consideran que los grupos pequeños como CH<sub>3</sub> y polares, como, -OH y -NH<sub>2</sub>, incrementan la actividad frente a Gram positivos. Esto concuerda parcialmente con el modelo topológico, ya que al añadir un sustituyente distinto de hidrógeno en posición 5, el índice  $PR2$  aumenta en 3 unidades, lo que favorece la actividad teórica frente a SARM. No obstante, lo que no explica el modelo es que sustituyentes voluminosos como halógenos o grupo metoxi (a priori buenos según el modelo), al igual que en la posición 2, alteren el impedimento estérico de la quinolona en las posiciones 3 y 4, esenciales para su actividad por su unión a las topoisomerasas bacterianas.

- *Posición 6:* según las REA clásicas, el cambio del átomo de flúor por un hidrógeno en esta posición puede mantener e incluso mejorar la actividad de algunas quinolonas, en función de cuáles sean el resto de sustituyentes. Sin embargo, se observa que esta supresión de flúor siempre va acompañada de la adición de factores topológicamente favorables en el resto de posiciones, sobre todo la inclusión en 8 de átomos o grupos con estado electrotopológico intrínseco elevado (ver **Antecedentes Bibliográficos, Apartado A1.5, Figuras A.23 y A.26**).
- *Posición 7:* las REAs clásicas de las quinolonas indican que los ciclos sustituidos de 5 átomos son preferibles frente a los de 6 átomos frente a bacterias Gram positivas. Según la topología molecular, este hecho puede estar relacionado con el grado de ramificación de las quinolonas, representado por el índice *PR2*, ya que existe una mayor probabilidad de aumentar *PR2* con los ciclos de 5 que con los de 6. Es decir, cualquier sustituyente en el anillo de 5 átomos unido a C-7 aumentará el valor de *PR2*, mientras que en el anillo de 6 átomos sólo lo hará si éste se encuentra polisustituido o al menos monosustituido en posiciones 2 ó 3. Por otro lado, la sustitución de la amina en 7 por carbono sería topológicamente favorable. No obstante, este cambio no se ha desarrollado fundamentalmente por dos razones: porque los procedimientos sintéticos son más complejos y, sobre todo, porque estos compuestos, si bien tienen buena actividad, son más tóxicos ya que pierden selectividad y atacan a la topoisomerasa humana.<sup>27</sup>
- *Posición 8:* según las REA clásicas los sustituyentes de elección para la actividad frente a Gram positivos son el -F, -Cl, -OCH<sub>2</sub>F<sub>2</sub> y -OCH<sub>3</sub>. De hecho, la aparición de estos sustituyentes en esta posición ha permitido la supresión del átomo de flúor en 6. Existen varias razones por las que el modelo podría explicar este hecho. Una es que la presencia de un sustituyente distinto de hidrógeno en esta posición aumenta un mínimo de 2 a 4 unidades el índice *PR2*. Además, la presencia de átomos electronegativos (con alto estado electrotopológico intrínseco) en esta



posición disminuye el índice desfavorable  $S_{>N}$  tanto de la amina de 1 como la de 7. A este respecto, el átomo a priori más favorable sería el flúor y por último, en el caso del cloro, además de lo mencionado anteriormente, su presencia en la molécula aumenta el  $S_{Cl}$  favoreciendo la actividad frente a SARM (**Figura 2.20**).



**Figura 2.20.** Quinolonas activas frente a SARM con cloro en la cadena de la posición 7.

### 3.2. ACTIVIDAD HISTÓRICA DE LAS QUINOLONAS FRENTE A BACTERIAS GRAM POSITIVAS SEGÚN EL MODELO

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, podemos analizar las quinolonas por su actividad histórica frente a bacterias Gram positivas, con el Modelo Topológico.

La inactividad de las de primera generación (**Figura A.3**) frente a éstas podría explicarse por:

- no contener ciclopropilos, por lo que el valor del índice  ${}^3\chi_{ch}$  es nulo.
- no contener átomos de cloro, por lo que el valor de  $S_{Cl}$  también lo es.

- c) contener anillos en posición 7 no sustituidos, o bien puentes metilendioxi con el carbono 6, lo que no repercute en el valor de  $PR2$ .

Mención especial merece el flumequino, ya con cierta actividad frente a bacterias Gram positivas, que al contar con un flúor en posición 6, aunque algo lejos del nitrógeno terciario, disminuye ligeramente el valor del índice  $S_{>N}$ , y un anillo alquilado entre N1 y C8, que aumenta el valor de  $PR2$  en una unidad.

Las quinolonas de segunda generación (**Figura A.4**), que poseen cierta actividad frente a bacterias Gram positivas, también presentan ciertas características que las diferencian de sus predecesoras:

- a) átomo de flúor en posición 6 en todas ellas, muy cerca del nitrógeno terciario unido a C-7, lo que disminuye el valor del índice  $S_{>N}$ .
- b) grupo ciclopropilo en algunas de ellas (ciprofloxacino y enrofloxacino), lo que aumenta el índice  ${}^3\chi_{ch}$  en esas quinolonas.
- c) anillo alquilado entre N1 y C8 en algunas de ellas (ofloxacino y levofloxacino), lo que aumenta el valor de  $PR2$  en una unidad.

Sin embargo, contienen anillos en posición 7 no sustituidos, o bien anillos de 6 átomos sustituidos en 4, lo que no afecta el valor de  $PR2$ .

Las quinolonas de tercera y cuarta generación y 6-desfluoroquinolonas (**Figuras A.5-A.7**), con una alta actividad frente a bacterias Gram positivas, en general poseen varias de las siguientes características topológicas responsables de dicha actividad:

- a) grupos ciclopropilo en muchas de ellas, bien en posición 1, en posición 7, o en ambas, lo que aumenta el índice  ${}^3\chi_{ch}$  de las quinolonas que lo contienen.
- b) átomo de cloro en algunas de ellas (clinafloxacino y sitafloxacino), lo que aumenta el valor de  $S_{Cl}$  en dichas quinolonas.
- c) varios átomos o grupos funcionales con estados electrotopológicos altos (flúor, cetona, grupo hidroxilo, cloro, amina primaria, grupo alcoxi, grupo alquenilamina, amina secundaria), lo que disminuye el valor de  $S_{>N}$ .

- d) sustituyentes en posiciones 5 y/o 8, así como anillos de 5 carbonos sustituidos y anillos de 6 carbonos monosustituidos en 2 ó 3, o polisustituidos en 2, 4 y/o 6, o en 3 y 5, lo que aumenta el valor de *PR2*.

Todos estos datos confirman a la topología molecular como una importante herramienta, no sólo para predecir una actividad farmacológica determinada y encontrar compuestos activos, sino también para complementar REA existentes y/o establecer y explicar nuevas REA.

### 3.3. CRIBADO VIRTUAL

Tal y como se procedió en el apartado 2.2 del presente capítulo, una vez establecido el modelo matemático topológico que clasifica una estructura química por su actividad frente a SARM, podemos aplicarlo para encontrar nuevos compuestos de estructuras diferentes con esta actividad.

Tras aplicar el modelo a la base de datos obtenida a partir del Index Merck, se seleccionaron aquellos compuestos que estaban incluidos en los intervalos de máxima probabilidad de actividad. En total, se obtuvieron 450 moléculas (**Anexo IV**) con actividad teórica frente a SARM.

#### 4. BÚSQUEDA DE ANTIBACTERIANOS CON ACTIVIDAD FRENTE A SARM

A la vista del numeroso grupo de compuestos encontrados en el apartado anterior, y con el fin de facilitar el análisis de los resultados decidimos incluir un filtro para acotar la búsqueda aplicando funciones discriminantes de actividad antibacteriana general. De esta forma, estaríamos buscando entre antibacterianos generales aquellos que además fuesen activos frente a SARM.

Se estableció un modelo topológico de actividad frente a SARM a través de las funciones FD1, FD2 y FD<sub>SARM</sub>. De este modo, seleccionaremos un compuesto como potencialmente activo frente a SARM si cumple los siguientes requisitos:

$$0 < \text{FD1} < 12$$

$$2 < \text{FD2} < 12$$

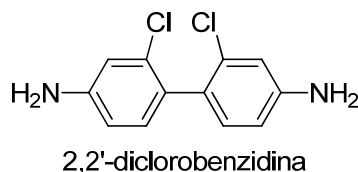
$$3 < \text{FD}_{\text{SARM}} < 18$$

Tras realizar el cribado farmacológico virtual a nuestra base de datos de 6.375 moléculas (obtenidas de la base de datos Index Merck) encontramos que 34 de estas moléculas presentaban esta actividad teórica.

De estos compuestos, 13 (38,2 %) son compuestos antibacterianos conocidos y utilizados (**Tabla 2.28**, entradas 1-13), de los que 9 son activos frente a SARM (**Tabla 2.28**, entradas 1-2, 4-10) y de los otros 4 no hemos encontrado datos al respecto. De estos 9, hay 6 quinolonas (balofloxacino, clinafloxacino, gatifloxacino, gemifloxacino, grepafloxacino y moxifloxacino) que fueron utilizadas para desarrollar el modelo de actividad antibacteriana general, pero no fueron incluidas en el modelo de actividad frente a SARM.

Es decir, teniendo en cuenta únicamente los datos bibliográficos el modelo clasifica correctamente como antibacterianos activos frente a SARM al menos el 26,5 % de los compuestos seleccionados. Sólo estos datos justificarían la enorme utilidad de este modelo, pero además encontramos que de los 21 compuestos restantes (**Tabla 2.28**, entradas 14-31), 2 de ellos presentan actividad antibacteriana descrita (**Tabla 2.28**, entradas 14 y 15), lo que supone un total de 15 compuestos con actividad antibacteriana descrita.

Además de estos compuestos, encontramos un reactivo químico (**Figura 2.21**), y el resto son fármacos conocidos con otras actividades y utilidades terapéuticas. Esto resulta interesante, puesto que la búsqueda de otras actividades/aplicaciones en fármacos conocidos es una práctica habitual en la búsqueda y desarrollo de nuevos fármacos, ahorrando tiempo y recursos en fases clínicas y preclínicas, ya que por ejemplo, los ensayos toxicológicos y/o farmacocinéticos ya se habrían realizado anteriormente.<sup>230</sup>



**Figura 2.21.** *Reactivo químico teórico antibacteriano activo frente a SARM.*

Por otro lado, de entre los compuestos encontrados hay 5 insecticidas, de los que 4, bifentrina, ciromazina, teflutrina y cihalotrina (**Tabla 2.28**, entradas 29, 30, 31 y 33), dada su toxicidad,<sup>223,231</sup> en principio no serían buenos candidatos para ser desarrollados como antibacterianos sistémicos de uso humano, aunque sí podrían ser utilizados como cabezas de serie.

<sup>230</sup> Wermuth CG. Selective optimization of side activities: another way for drug discovery. *J. Med. Chem.* **2004**; *47*(6): 1303-14.

<sup>231</sup> Hayes WJ Jr, Lawes ER. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology (Third Edition)*; Academic Press: New York, **2010**.

**Tabla 2.28.** Resultados de la predicción de actividad antibacteriana obtenidos aplicando el modelo matemático propuesto a un amplio grupo de compuestos con otras actividades.

Entr.	Compuesto	Actividad	FD1	FD2	FD <sub>SARM</sub>	A <sub>AB</sub> <sup>a</sup>	A <sub>SARM</sub> <sup>b</sup>
1	Balofloxacino	Antibacteriano	0,273	4,334	5,324	232	232
2	Clinafloxacino	Antibacteriano	10,557	3,860	14,774	233	233
3	Clometocilino	Antibacteriano	6,548	2,367	9,727	234	n.e.
4	Cloxacilina	Antibacteriano	7,378	2,443	4,135	235	236
5	Dicloxacilina	Antibacteriano	6,685	2,697	14,222	235	236
6	Floxacilina	Antibacteriano	9,133	3,168	5,531	235	237
7	Gatifloxacino	Antibacteriano	1,526	4,482	5,409	233	233
8	Gemifloxacino	Antibacteriano	7,883	6,252	3,909	238	238
9	Grepafloxacino	Antibacteriano	1,793	3,984	4,340	239	239
10	Moxifloxacino	Antibacteriano	2,334	4,648	5,890	232	232
11	Sincloseno	Antibacteriano	3,361	7,685	15,276	240	n.e.
12	Bacilisina	Antibacteriano	3,646	4,198	3,849	241	n.e.
13	Mitomicina C	Antibacteriano, antitumoral	7,829	11,696	7,157	242	n.e.
14	Lamotrigina	Anticonvulsivante	10,493	4,038	9,715	243	n.e.
15	Clordantoína	Antifúngico	6,124	3,248	14,464	244	n.e.
16	Picilorex	Anoréxico	0,949	2,148	13,590	n.e.	n.e.
17	Bromuconazol	Antifúngico	1,784	6,094	4,267	n.e.	n.e.
18	Epoxiconazol	Antifúngico	0,215	6,074	5,888	n.e.	n.e.
19	Clorsulon	Antihelmíntico	7,581	9,456	16,243	n.e.	n.e.
20	Guanabenz	Antihipertensivo	4,434	8,329	7,262	n.e.	n.e.
21	Guanfacina	Antihipertensivo	2,003	5,734	8,732	n.e.	n.e.
22	Guanoxabenz	Antihipertensivo	2,663	3,600	7,262	n.e.	n.e.
23	Uredepa	Antitumoral	2,407	2,143	9,032	n.e.	n.e.
24	Irsogladina	Antiulceroso	7,988	3,976	10,365	n.e.	n.e.
25	Abacavir	Antivírico	6,654	6,229	3,980	n.e.	n.e.
26	Muzolimina	Diurético	0,086	4,287	7,258	n.e.	n.e.
27	Oxadiargil	Herbicida	2,935	2,607	9,197	n.e.	n.e.
28	Ambenonio	Inhibidor colinesterasa	0,400	8,549	7,979	n.e.	n.e.
29	Bifentrina	Insecticida, acaricida	4,468	2,084	8,110	n.e.	n.e.
30	Cihalotrina <sup>d</sup>	Insecticida, acaricida	6,490	3,095	8,808	n.e.	n.e.
31	Ciromazina	Insecticida	0,571	8,303	6,197	n.e.	n.e.
32	Teflubenzuron	Insecticida	1,292	10,275	11,840	n.e.	n.e.
33	Teflutrina	Insecticida	11,417	4,488	10,770	n.e.	n.e.
34	2,2'-diclorobencidina	Reactivo	11,589	4,193	10,133	n.e.	n.e.

a: Actividad antibacteriana descrita frente a una o más bacterias. b: Actividad descrita frente a SARM. d.: Es una mezcla de estereoisómeros que tienen los mismos valores de FDs. n.e.: bibliografía no encontrada.

232 Ito T, Otsuki M, Nishino T. In vitro antibacterial activity of Q-35, a new fluoroquinolone. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**; *36*(3): 1708-14.

233 Milatovic D, Schmitz FJ, Brisse S, Verhoef J, Fluit AC. In vitro activities of sitafloxacin (DU-6859a) and six other fluoroquinolones against 8,796 clinical bacterial isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**; *44*(4): 1102-7.

234 Verhaegen J, Verbist L. In-vitro activity of 21 beta-lactam antibiotics against penicillin-susceptible and penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *J. Antimicrob. Chemother.* **1998**; *41*(3): 381-5.

235 Sutherland R, Croydon EA, Rolinson GN. Flucloxacillin, a new isoxazolyl penicillin, compared with oxacillin, cloxacillin, and dicloxacillin. *Br. Med. J.* **1970**; *4*(5733): 455-60.

236 Lemaire S, Olivier A, Van Bambeke F, Tulkens PM, Appelbaum PC, Glupczynski Y. Restoration of susceptibility of intracellular methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to beta-lactams: comparison of strains, cells, and antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2008**; *52*(8): 2797-805.

237 Guenther SH, Wenzel RP. In vitro activities of teichomycin, fusidic acid, flucloxacillin, fosfomicin, and vancomycin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1984**; *26*(2): 268-9.

238 Tanaka M, Yamazaki E, Chiba M, Yoshihara K, Akasaka T, Takemura M, Sato K. In vitro antibacterial activities of DQ-113, a potent quinolone, against clinical isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**; *46*(3): 904-8.

239 Neu HC1, Fang W, Gu JW, Chin NX. In vitro activity of OPC-17116. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1992**; *36*(6): 1310-5.

240 Robinton ED, Mood EW. An evaluation of the inhibitory influence of cyanuric acid upon swimming pool disinfection. *Am. J. Public Health Nations Health* **1967**; *57*(2): 301-10.

241 Kenig M, Abraham EP. Antimicrobial activities and antagonists of bacilysin and anticapsin. *J. Gen. Microbiol.* **1976**; *94*(1): 37-45.

242 Ueda Y, Saito A, Fukuoka Y, Yamashiro Y, Ikeda Y, Taki H, Yasuda T, Saikawa I. Interactions of beta-lactam antibiotics and antineoplastic agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* **1983**; *23*(3): 374-8.

243 Qian Y, Lu PC, Shi L, Fang RQ, Song ZC, Zhu HL. Synthesis, antimicrobial activity of lamotrigine and its ammonium derivatives. *J. Chem. Sci.* **2009**; *121*(4): 463-70.

244 Minami PS, Shimizu H, Tiba Y. In vitro antifungal activity of chlordanol (3-(trichloromethylthio)-5-(1-ethylamyl)hydantoin). *Rev. Fac. Farm. Bioq. Univ. Sao Paulo* **1967**; *5*(1): 191-6.

## 5. CONCLUSIONES

1. Se ha desarrollado un modelo de predicción de actividad antibacteriana general consistente en 2 ecuaciones, que al combinarlas consiguen un acierto total para compuestos inactivos y del 84,2 % para compuestos activos.
2. Se ha desarrollado un modelo de predicción de actividad frente a SARM con un acierto total para compuestos inactivos y del 96,2 % para compuestos activos.
3. Se ha utilizado el modelo de actividad antibacteriana general para buscar nuevos compuestos antibacterianos, encontrando 263 compuestos en una base de datos de más de 6000 compuestos, confirmando bibliográficamente actividad frente a una o más bacterias en 105 de ellos.
4. Se ha utilizado el modelo de actividad frente a SARM para buscar nuevos compuestos con esta actividad, encontrando 450 moléculas activas teóricas en una base de datos de más de 6000 compuestos.
5. Estos dos modelos se han combinado para buscar nuevos compuestos antibacterianos que además sean activos frente a SARM, encontrando 34 compuestos en total, confirmando bibliográficamente la actividad frente a SARM en 9 de ellos.
6. Los resultados expuestos demuestran que la topología molecular es una herramienta económica, potente y válida para la búsqueda y selección de nuevos antibacterianos activos frente a SARM.





## **CAPÍTULO 3**



## BÚSQUEDA DE NUEVAS QUINOLONAS ANTIBACTERIANAS ACTIVAS FRENTE A SARM

### 1. QUÍMICA COMBINATORIA VIRTUAL

La síntesis de 4-quinolonas ha sido ampliamente estudiada y prácticamente se puede introducir cualquier tipo de sustituyente en las distintas posiciones del anillo bicíclico.<sup>245</sup> Se decidió diseñar una biblioteca combinatoria, de unos 1.000 componentes, de 6-fluoro y 6,7-difluoroquinolonas, en base a una ruta sintética que daría acceso a quinolonas con variaciones estructurales en las posiciones 1, 7 y 8 (**Esquema 3.1**).

La síntesis real de los componentes de la biblioteca, podría llevarse a cabo, a partir de los compuestos comerciales **A** y **B**, que por una reacción inicial de alquilación sobre el nitrógeno 1, seguida de hidrólisis ácida o básica, darían acceso a 6,7-difluoro y 6,7,8-trifluoroquinolonas (**5**) con diversos sustituyentes en posición 1.<sup>246,247</sup> El posterior acoplamiento en el carbono 7 con aminas primarias y secundarias daría lugar a 7-alquil/dialquilamino-6-fluoroquinolonas (**6**) y 7-alquil/dialquilamino-6,8-difluoroquinolonas (**7**). Estas últimas pueden reaccionar

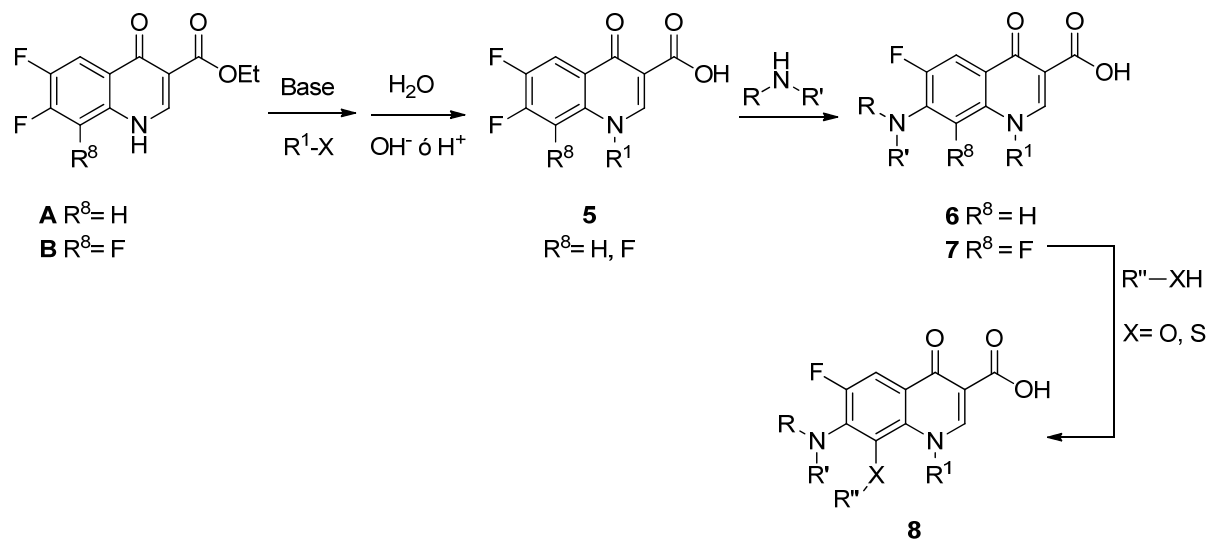
---

245 Da Silva AD, De Almeida MV, De Souza MV, Couri MR. Biological activity and synthetic methodologies for the preparation of fluoroquinolones, a class of potent antibacterial agents. *Curr. Med. Chem.*, **2003**; *10(1)*: 21-39.

246 Sunduru N, Gupta L, Chauhan K, Mishra NN, Shukla PK, Chauhan PM. Synthesis and antibacterial evaluation of novel 8-fluoro norfloxacin derivatives as potential probes for methicillin and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur. J. Med. Chem.*, **2011**; *46(4)*: 1232-1244.

247 Dixit SK, Mishra N, Sharma M, Singh S, Agarwal A, Awasthi SK, Bhasin VK. Synthesis and *in vitro* antiplasmodial activities of fluoroquinolone analogs. *Eur. J. Med. Chem.*, **2012**; *51*: 52-9.

con alcóxidos y tioles para sufrir una nueva reacción de sustitución en posición 8<sup>248</sup> (**Esquema 3.1**).



**Esquema 3.1.** Procedimiento sintético en el que se basa la química combinatoria virtual.

Una vez establecida la ruta sintética se seleccionaron los distintos agentes alquilantes de la posición 1, las aminas para la posición 7 y los alcóxidos y tioles para la 8, en función de su adecuada reactividad química y de su disponibilidad comercial. En el caso de las aminas en 7, también se tuvo en cuenta su presencia en la estructura de otros fármacos, puesto que se ha demostrado que existen subestructuras químicas con mayor frecuencia de aparición en compuestos farmacológicamente activos.<sup>158</sup>

Como en la ecuación de predicción no se ha incorporado índices 3D, también se evitaron sustituyentes con centros quirales, ya que esto nos obligaría a sintetizar y ensayar todos los estereoisómeros del correspondiente grafo con actividad teórica. Por lo que en el caso de la posición 7, descartamos pirrolidinas con cualquier sustituyente, a pesar de que es el anillo que parece aportar mayor actividad frente a bacterias Gram positivas.<sup>31</sup>

Finalmente, se obtuvo una biblioteca combinatoria virtual de 1000 compuestos. La nomenclatura que se decidió seguir para hacer referencia a cada uno de ellos fue un código alfa-numérico. Los números 1, 7 y 8 indican la posición

248 Uno T, Takamatsu M, Inoue Y, Kawahata Y, Iuchi K, Tsukamoto G. Synthesis of antimicrobial agents. 1. Syntheses and antibacterial activities of 7-(azole substituted)quinolones. *J. Med. Chem.*, 1987; 30(12): 2163-9.

del anillo seguidos de una letra que indica el sustituyente de esa posición (**Figura 3.1**). En posición 1 se incluyeron 10 grupos alquilo distintos (**1a-1j**); en posición 7, flúor (**7a**) y 24 aminas (**7b-7y**); y en la posición 8, hidrógeno (**8a**), flúor (**8b**), metoxilo (**8c**) y tiometilo (**8d**). El global de la biblioteca combinatoria virtual generada se resume en la **figura 3.1**.

Hay que tener en cuenta que los compuestos formados con flúor en 7 y alcóxido y tioalquilo en 8 (**1a-j7a8c/d**), no pueden ser obtenidos por la ruta sintética escogida, por lo que en el caso de que fuesen activos habría que seguir otra ruta sintética.

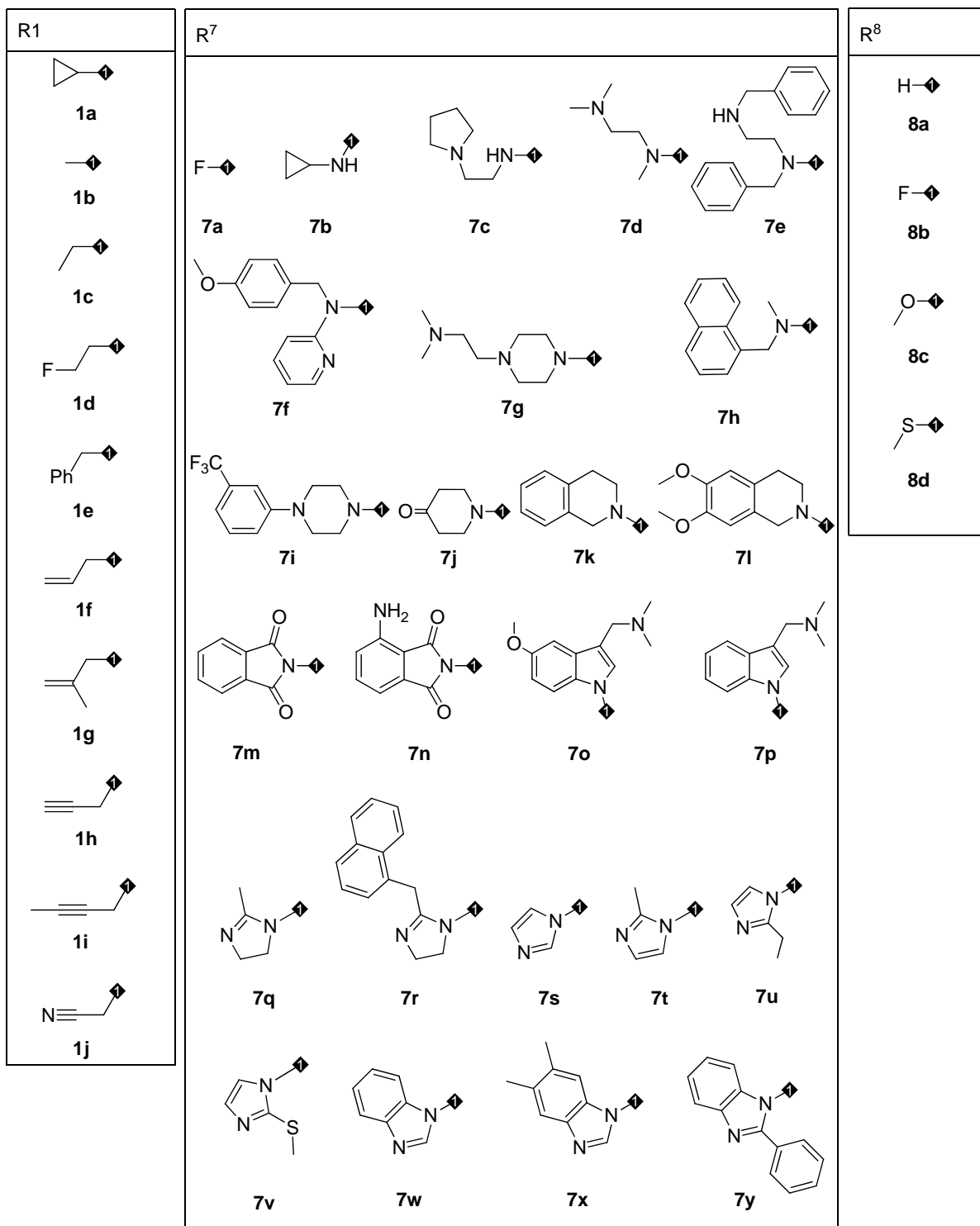
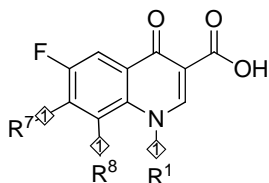


Figura 3.1. Componentes de la biblioteca combinatoria virtual generada ( $10 \times 25 \times 4 = 1000$ ).

## 2. CRIBADO FARMACOLÓGICO VIRTUAL

Tras realizar el cribado farmacológico virtual con el modelo de predicción de actividad frente a SARM, 116 compuestos de un total de 1000 fueron clasificados como activos (**Tabla 3.1**).

**Tabla 3.1.** Compuestos clasificados como activos frente a SARM.

1a7a8a	1a7j8b	1a7n8d	1a7t8a	1a7x8b	1d7b8c	1h7b8a
1a7a8b	1a7j8c	1a7o8b	1a7t8b	1a7x8c	1d7b8d	1h7b8b
1a7a8c	1a7j8d	1a7o8c	1a7t8c	1a7x8d	1d7n8b	1h7b8c
1a7a8d	1a7k8b	1a7o8d	1a7t8d	1a7y8a	1e7b8a	1h7b8d
1a7c8b	1a7k8c	1a7p8b	1a7u8a	1a7y8b	1e7b8b	1h7n8b
1a7e8b	1a7k8d	1a7p8c	1a7u8b	1a7y8c	1e7b8c	1i7b8a
1a7e8c	1a7l8a	1a7p8d	1a7u8c	1a7y8d	1e7b8d	1i7b8b
1a7e8d	1a7l8b	1a7q8b	1a7u8d	1b7b8a	1e7n8b	1i7b8c
1a7f8a	1a7l8c	1a7q8c	1a7v8a	1b7b8b	1f7b8a	1i7b8d
1a7f8b	1a7l8d	1a7q8d	1a7v8b	1b7b8c	1f7b8b	1j7b8a
1a7f8c	1a7m8a	1a7r8a	1a7v8c	1b7b8d	1f7b8c	1j7b8b
1a7f8d	1a7m8b	1a7r8b	1a7v8d	1c7b8a	1f7b8d	1j7b8c
1a7h8a	1a7m8c	1a7r8c	1a7w8a	1c7b8b	1g7b8a	1j7b8d
1a7h8b	1a7m8d	1a7r8d	1a7w8b	1c7b8c	1g7b8b	1j7n8b
1a7h8c	1a7n8a	1a7s8b	1a7w8c	1c7b8d	1g7b8c	
1a7h8d	1a7n8b	1a7s8c	1a7w8d	1d7b8a	1g7b8d	
1a7i8b	1a7n8c	1a7s8d	1a7x8a	1d7b8b	1g7n8b	

Lo más evidente de la selección hecha por el modelo es que la presencia del sustituyente ciclopropilo en la molécula es prácticamente esencial ya que de las 116 moléculas seleccionadas, 111 lo poseen (136 es el número máximo de compuestos con ciclopropilo).

De estas 111 moléculas, 75 lo contienen únicamente en posición 1. De las cuales, encontramos tres descritas como activas frente a *Staphylococcus aureus* (**1a7s8b**,<sup>249</sup> **1a7s8c**<sup>250</sup> y **1a7t8a**<sup>249</sup>).

249 Petersen U, Schriewer M, Grohe K, Zeiler HJ, Metzger KG. 7-azolyl-1-cyclopropyl-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinoline carboxylic acids and 1,8-naphthyridine carboxylic acids, process for their preparation and bactericidal agents containing them. *European Patent n° 241206 A2*, 1986.

250 Iwata M, Kimura T, Fujiwara Y, Tetsushi K. Quinoline-3-carboxylic acid derivatives, their preparation and use. *European Patent n° 203488 A2*, 1987.

Además, las 36 que contienen este grupo únicamente en posición 7, también fueron clasificadas como activas (**Figura 3.1**, moléculas con sustituyente **7b**). De éstas, la **1c7b8a** ha sido descrita con actividad frente a tres cepas de *S. aureus* sensibles a meticilina, siendo sus CMI de 8 µg/mL en una de ellas y 32 µg/mL en las otras dos.<sup>225</sup>

Por último, en cuanto al sustituyente ciclopropilo se refiere, las 4 moléculas que lo contienen en 1 y 7 a la vez (**1a7b8a-d**), han sido clasificadas como inactivas porque todas ellas han obtenido un valor de  $FD_{SARM}$  por encima de 18. El compuesto **1a7b8a** ha sido descrito con relativa actividad frente *S. aureus* con CMI y CMB (concentración mínima bactericida) de 12 µM,<sup>251</sup> que equivalen a 3,6 µg/mL.

También se observa que las 1-ciclopropilquinolonas de partida sin amina en 7 también son clasificadas como activas (**1a7a8a** y **1a7a8b**). Sin embargo, no hemos encontrado trabajos donde se estudie su actividad antibacteriana, a pesar de ser reactivos utilizados en la síntesis de numerosas quinolonas antibacterianas.

Si analizamos la **tabla 3.1**, podemos observar que no hay quinolonas activas con las aminas **7d** o **7g**, debido fundamentalmente a que éstas poseen 2 y 3 nitrógenos terciarios, respectivamente. Esto hace que el valor del índice  $S_{>N}$  sea muy elevado en estos compuestos, lo que va en detrimento de su actividad (**tabla 3.2**, entradas 5-12).

Respecto a las aminas **7c** y **7i**, sólo se ha encontrado un compuesto activo para cada una, ambos con un grupo ciclopropilo en posición 1 (**1a7c8b** y **1a7i8b**). Los dos compuestos están sustituidos en posición 8, lo que aumenta el valor del índice  $PR2$ , afectando de manera positiva a su actividad. Además, en ambos casos el sustituyente es un átomo de flúor, que al poseer un elevado estado electrotopológico intrínseco, disminuye el índice  $S_{>N}$ . La combinación de todos estos factores hace que el valor de la  $FD$  de ambos compuestos quede dentro del

---

251 Artico M, Mai A, Sbardella G, Massa S, Musiu C, Lostia S, Demontis F, La Colla P. Nitroquinolones with broad-spectrum antimycobacterial activity *in vitro*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **1999**; *9(12)*: 1651-6.



rango de mayor expectancia de actividad ( $FD_{SARM} = 3 - 18$ , **tabla 3.2**, entradas 2 y 14).

Los compuestos con estas aminas (**7c** y **7i**) y con los sustituyentes **8c** y **8d** son clasificados como inactivos, ya que aun manteniéndose el valor de  $PR2$ , el estado electrotopológico intrínseco de estos sustituyentes hace que el valor de  $S_{>N}$  no sea suficientemente bajo (**tabla 3.2**, entradas 3, 4, 15 y 16). En el caso de hidrógeno (**8a**), ninguno de estos dos índices es adecuado (**tabla 3.2**, entradas 1 y 13).

**Tabla 3.2.** Valores de  $FD_{SARM}$  para los compuestos **1a7c/d/g/i8a-d**. Activas  $FD_{SARM} = 3 - 18$ .

Entrada	Compuesto	$S_{>N}$	$S_{Cl}$	$PR2$	${}^3\chi_{ch}$	$FD_{SARM}$
1	<b>1a7c8a</b>	4,1493	0	8	0,2887	<b>0,027</b>
2	<b>1a7c8b</b>	3,6981	0	11	0,2887	<b>3,203</b>
3	<b>1a7c8c</b>	4,0712	0	11	0,2887	<b>2,386</b>
4	<b>1a7c8d</b>	4,2094	0	11	0,2887	<b>2,083</b>
5	<b>1a7d8a</b>	5,6242	0	9	0,2887	<b>-2,473</b>
6	<b>1a7d8b</b>	4,8351	0	13	0,2887	<b>2,172</b>
7	<b>1a7d8c</b>	5,4894	0	13	0,2887	<b>0,739</b>
8	<b>1a7d8d</b>	5,7318	0	13	0,2887	<b>0,208</b>
9	<b>1a7g8a</b>	8,3857	0	9	0,2887	<b>-8,521</b>
10	<b>1a7g8b</b>	7,5407	0	13	0,2887	<b>-3,754</b>
11	<b>1a7g8c</b>	8,2401	0	13	0,2887	<b>-5,285</b>
12	<b>1a7g8d</b>	8,4991	0	13	0,2887	<b>-5,853</b>
13	<b>1a7i8a</b>	5,3588	0	10	0,2887	<b>-1,163</b>
14	<b>1a7i8b</b>	4,5697	0	14	0,2887	<b>3,482</b>
15	<b>1a7i8c</b>	5,2240	0	14	0,2887	<b>2,049</b>
16	<b>1a7i8d</b>	5,4664	0	14	0,2887	<b>1,518</b>

Las diferencias entre estas aminas (**7c** y **7i**) y las **7d** y **7g** que no daban ningún compuesto activo son que:

- 7c** sólo tiene un nitrógeno terciario ( $S_{>N}$  bajo), lo que la hace más apropiada que **7d** y **7g**. No obstante, al estar situado lejos del C-7, la influencia favorable del flúor en C-6 sobre su estado electrotopológico es menor, lo que la hace menos apropiada que el resto de aminas.
- 7i** es mejor sustituyente que **7d** y **7g**, ya que aun teniendo dos aminas terciarias, una de ellas incorpora un fenilo con un grupo trifluorometilo en *meta*, lo que hace aumentar  $PR2$  y disminuir  $S_{>N}$ .

En cuanto a las aminas **7e**, **7j**, **7k**, **7o**, **7p**, **7q** y **7s**, en combinación con ciclopropilo en 1, todas las moléculas son clasificadas como activas excepto las

que no tienen sustituyente en 8. En este caso, el factor de mayor influencia es el valor del índice *PR2* (Tabla 3.3).

Cabe destacar los compuestos **1a7o8b-d** y **1a7p8b-d**, que por la presencia de 2 nitrógenos terciarios sus índices  $S_{>N}$  son muy altos, pero el mayor grado de ramificación de los sustituyentes **7o** y **7p** hacen aumentar el valor del índice *PR2* proporcionalmente, resultando en un valor de  $FD_{SARM}$  similar al resto (Tabla 3.3).

**Tabla 3.3.** Valores de  $FD_{SARM}$  para los compuestos **1a7e/j/k/o/p/q/s8a-d**. Activas  $FD_{SARM} = 3 - 18$ .

Entrada	Compuesto	$S_{>N}$	$S_{-Cl}$	<i>PR2</i>	$\chi_{ch}^3$	$FD_{SARM}$
1	<b>1a7e8a</b>	3,7980	0	10	0,2887	<b>2,255</b>
2	<b>1a7e8b</b>	3,1221	0	14	0,2887	<b>6,652</b>
3	<b>1a7e8c</b>	3,6846	0	14	0,2887	<b>5,420</b>
4	<b>1a7e8d</b>	3,8929	0	14	0,2887	<b>4,964</b>
5	<b>1a7j8a</b>	3,5845	0	9	0,2887	<b>1,993</b>
6	<b>1a7j8b</b>	2,9086	0	13	0,2887	<b>6,391</b>
7	<b>1a7j8c</b>	3,4711	0	13	0,2887	<b>5,159</b>
8	<b>1a7j8d</b>	3,6795	0	13	0,2887	<b>4,702</b>
9	<b>1a7k8a</b>	3,8244	0	10	0,2887	<b>2,197</b>
10	<b>1a7k8b</b>	3,1484	0	14	0,2887	<b>6,595</b>
11	<b>1a7k8c</b>	3,7109	0	14	0,2887	<b>5,363</b>
12	<b>1a7k8d</b>	3,9193	0	14	0,2887	<b>4,906</b>
13	<b>1a7o8a</b>	5,6263	0	15	0,2887	<b>1,897</b>
14	<b>1a7o8b</b>	4,8634	0	19	0,2887	<b>6,485</b>
15	<b>1a7o8c</b>	5,4962	0	19	0,2887	<b>5,099</b>
16	<b>1a7o8d</b>	5,7306	0	19	0,2887	<b>4,586</b>
17	<b>1a7p8a</b>	5,6869	0	14	0,2887	<b>1,035</b>
18	<b>1a7p8b</b>	4,9240	0	18	0,2887	<b>5,623</b>
19	<b>1a7p8c</b>	5,5568	0	18	0,2887	<b>4,237</b>
20	<b>1a7p8d</b>	5,7912	0	18	0,2887	<b>3,724</b>
21	<b>1a7q8a</b>	3,5767	0	10	0,2887	<b>2,740</b>
22	<b>1a7q8b</b>	2,9007	0	14	0,2887	<b>7,137</b>
23	<b>1a7q8c</b>	3,4632	0	14	0,2887	<b>5,905</b>
24	<b>1a7q8d</b>	3,6716	0	14	0,2887	<b>5,449</b>
25	<b>1a7s8a</b>	3,2794	0	9	0,2887	<b>2,662</b>
26	<b>1a7s8b</b>	2,6035	0	13	0,2887	<b>7,059</b>
27	<b>1a7s8c</b>	3,1660	0	13	0,2887	<b>5,827</b>
28	<b>1a7s8d</b>	3,3743	0	13	0,2887	<b>5,371</b>

Las quinolonas que contienen las aminas **7f**, **7h**, **7l**, **7m**, **7n**, **7r**, **7t**, **7u**, **7v**, **7w**, **7x** y **7y** son teóricamente activas siempre y cuando contengan ciclopropilo en posición 1, incluso si no están sustituidas en posición 8 (**8a**). Todas ellas tienen un sólo nitrógeno terciario y un alto índice *PR2* (Tabla 3.4).

**Tabla 3.4.** Valores de  $FD_{SARM}$  para los compuestos **1a7f/h/l/m/n/r/t/u/v/w/x/y8a-d**. Activas  $FD_{SARM}=3-18$ .

Entrada	Compuesto	$S_{>N}$	$S_{Cl}$	$PR2$	$\chi_{ch}^3$	$FD_{SARM}$
1	<b>1a7f8a</b>	3,5243	0	11	0,2887	<b>3,584</b>
2	<b>1a7f8b</b>	2,8484	0	15	0,2887	<b>7,981</b>
3	<b>1a7f8c</b>	3,4109	0	15	0,2887	<b>6,749</b>
4	<b>1a7f8d</b>	3,6192	0	15	0,2887	<b>6,293</b>
5	<b>1a7h8a</b>	3,6372	0	11	0,2887	<b>3,336</b>
6	<b>1a7h8b</b>	2,9612	0	15	0,2887	<b>7,734</b>
7	<b>1a7h8c</b>	3,5237	0	15	0,2887	<b>6,502</b>
8	<b>1a7h8d</b>	3,7321	0	15	0,2887	<b>6,045</b>
9	<b>1a7l8a</b>	3,7547	0	12	0,2887	<b>3,808</b>
10	<b>1a7l8b</b>	3,0788	0	16	0,2887	<b>8,205</b>
11	<b>1a7l8c</b>	3,6413	0	16	0,2887	<b>6,974</b>
12	<b>1a7l8d</b>	3,8496	0	16	0,2887	<b>6,517</b>
13	<b>1a7m8a</b>	2,3686	0	16	0,2887	<b>9,761</b>
14	<b>1a7m8b</b>	1,6927	0	20	0,2887	<b>14,158</b>
15	<b>1a7m8c</b>	2,2552	0	20	0,2887	<b>12,926</b>
16	<b>1a7m8d</b>	2,4635	0	20	0,2887	<b>12,470</b>
17	<b>1a7n8a</b>	2,2900	0	18	0,2887	<b>11,391</b>
18	<b>1a7n8b</b>	1,6140	0	22	0,2887	<b>15,789</b>
19	<b>1a7n8c</b>	2,1765	0	22	0,2887	<b>14,557</b>
20	<b>1a7n8d</b>	2,3849	0	22	0,2887	<b>14,100</b>
21	<b>1a7r8a</b>	3,6985	0	12	0,2887	<b>3,931</b>
22	<b>1a7r8b</b>	3,0226	0	16	0,2887	<b>8,329</b>
23	<b>1a7r8c</b>	3,5851	0	16	0,2887	<b>7,097</b>
24	<b>1a7r8d</b>	3,7934	0	16	0,2887	<b>6,640</b>
25	<b>1a7t8a</b>	3,3720	0	10	0,2887	<b>3,188</b>
26	<b>1a7t8b</b>	2,6961	0	14	0,2887	<b>7,585</b>
27	<b>1a7t8c</b>	3,2586	0	14	0,2887	<b>6,353</b>
28	<b>1a7t8d</b>	3,4669	0	14	0,2887	<b>5,897</b>
29	<b>1a7u8a</b>	3,4378	0	10	0,2887	<b>3,044</b>
30	<b>1a7u8b</b>	2,7618	0	14	0,2887	<b>7,441</b>
31	<b>1a7u8c</b>	3,3243	0	14	0,2887	<b>6,209</b>
32	<b>1a7u8d</b>	3,5327	0	14	0,2887	<b>5,753</b>
33	<b>1a7v8a</b>	3,3939	0	10	0,2887	<b>3,140</b>
34	<b>1a7v8b</b>	2,718	0	14	0,2887	<b>7,537</b>
35	<b>1a7v8c</b>	3,2805	0	14	0,2887	<b>6,305</b>
36	<b>1a7v8d</b>	3,4888	0	14	0,2887	<b>5,849</b>
37	<b>1a7w8a</b>	3,4158	0	11	0,2887	<b>3,821</b>
38	<b>1a7w8b</b>	2,7399	0	15	0,2887	<b>8,218</b>
39	<b>1a7w8c</b>	3,3024	0	15	0,2887	<b>6,987</b>
40	<b>1a7w8d</b>	3,5108	0	15	0,2887	<b>6,530</b>
41	<b>1a7x8a</b>	3,4593	0	13	0,2887	<b>5,185</b>
42	<b>1a7x8b</b>	2,7834	0	17	0,2887	<b>9,582</b>
43	<b>1a7x8c</b>	3,3459	0	17	0,2887	<b>8,350</b>
44	<b>1a7x8d</b>	3,5542	0	17	0,2887	<b>7,894</b>
45	<b>1a7y8a</b>	3,5523	0	15	0,2887	<b>6,439</b>
46	<b>1a7y8b</b>	2,8764	0	19	0,2887	<b>10,836</b>
47	<b>1a7y8c</b>	3,4389	0	19	0,2887	<b>9,604</b>
48	<b>1a7y8d</b>	3,6472	0	19	0,2887	<b>9,148</b>

De éstas, destacan los compuestos que contienen las aminas **7m** y **7n**, cuyas moléculas presentan los índices  $PR2$  más altos de este grupo. Además, en ambos, el nitrógeno terciario es de naturaleza acetilamida uniéndose

directamente a dos grupos carbonilos, lo que hace que sus índices  $S_{>N}$  sean los más bajos de toda la biblioteca (**tabla 3.4**, entradas 13-20).

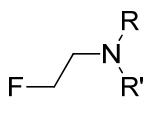
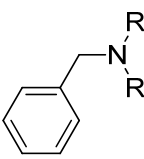
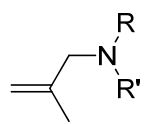
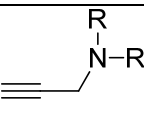
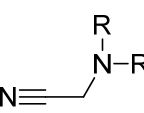
En el caso de **7m**, estos bajos valores no son suficientes para poder prescindir del ciclopropilo en posición 1. Sin embargo, su análogo **7n**, al contar con un grupo anilino, aumenta el índice  $PR2$  con respecto a la anterior, además de disminuir levemente el índice  $S_{>N}$ , gracias al estado electrotopológico del grupo amino terminal. Estos valores hacen que las quinolonas con este radical no necesiten la presencia del grupo ciclopropilo, siendo la única de la biblioteca que presenta 5 moléculas activas teóricas sin este grupo (**tabla 3.5**, entradas 1-5).

**Tabla 3.5.** Valores de  $FD_{SARM}$  para los compuestos **1d/e/g/h/j7n8b**. Activas  $FD_{SARM}=3-18$ .

Entrada	Compuesto	$S_{>N}$	$S_{-Cl}$	$PR2$	${}^3\chi_{ch}$	$FD_{SARM}$
1	<b>1d7n8b</b>	1,0332	0	21	0	<b>3,536</b>
2	<b>1e7n8b</b>	1,4801	0	22	0	<b>3,287</b>
3	<b>1g7n8b</b>	1,4019	0	22	0	<b>3,458</b>
4	<b>1h7n8b</b>	1,2142	0	21	0	<b>3,140</b>
5	<b>1j7n8b</b>	1,058	0	21	0	<b>3,482</b>

De estas 5, se aprecia que para compensar la ausencia del ciclopropilo, es necesaria la presencia de flúor en 8 que aumente  $PR2$  y disminuye el  $S_{>N}$  y que el sustituyente en 1 también tenga características topológicas favorables. En la **Tabla 3.6** se puede observar como los 5 sustituyentes siempre tienen una sustitución que aumenta el índice  $PR2$  de la molécula en una unidad (**Tabla 3.6**, entradas 2 y 3) o que contienen átomos terminales más electronegativos que el nitrógeno con un valor del estado electrotopológico intrínseco ( $I$ ) alto, a una distancia de 3 enlaces del nitrógeno quinolínico (**Tabla 3.6**, entradas 1, 4 y 5) que disminuye el índice  $S_{>N}$ .

**Tabla 3.6.** Valores de *PR2* de los sustituyentes **1d/e/g/h/j** y valores del estado electrotopológico intrínseco (*I*) de los átomos/grupos terminales a tres enlaces.

Entrada	Compuesto	<i>PR2</i>	Átomo/Grupo	<i>I</i>
1	 <b>1d7n8b</b>	0	-F	8
2	 <b>1e7n8b</b>	1	=CH-	2
3	 <b>1g7n8b</b>	1	=CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	3 2
4	 <b>1h7n8b</b>	0	≡CH	4
5	 <b>1j7n8b</b>	0	≡N	6

### 3. CONCLUSIONES

1. Se ha construido una biblioteca combinatoria virtual de 1.000 quinolonas basada en una ruta sintética común para 980 de ellas.
2. Se ha realizado el cribado virtual a las 1.000 quinolonas con el modelo de actividad antibacteriana frente a SARM, y el modelo ha clasificado 116 compuestos como teóricamente activos.
3. Se ha explicado la elección de estos 116 candidatos, en base al valor de los índices  $PR2$ ,  $S_{>N}$  y  ${}^3\chi_{ch}$ , que influyen entre sí de forma que el valor desfavorable de algún índice puede ser compensado por la idoneidad de otros índices.
4. El tándem Topología Molecular-Química Combinatoria Virtual es una excelente herramienta para la búsqueda de nuevos fármacos.

## **CAPÍTULO 4**





## SÍNTESIS

### 1. SÍNTESIS DE QUINOLONAS ACTIVAS TEÓRICAS

En primer lugar se realizó una búsqueda por estructura exacta de las quinolonas clasificadas por el modelo como activas teóricas, para encontrar aquellas que ya estaban descritas con el fin de:

- a) Verificar el modelo con aquellas que hayan sido ensayadas frente a SARM
- b) Priorizar la síntesis de los compuestos descritos pero no ensayados frente a SARM

Se encontraron 9 compuestos descritos (**1a7a8a**, **1a7a8b**, **1a7j8c**, **1a7k8b**, **1a7l8a**, **1a7s8b**, **1a7s8c**, **1a7t8a** y **1c7b8a**), de los cuales ninguno había sido ensayado frente a SARM. Los compuestos **1a7a8a** y **1a7a8b** son reactivos utilizados para la síntesis de quinolonas y no se encontró referencia alguna respecto de ensayos de actividad antibacteriana. Del resto, 4 de ellos habían sido ensayados frente a *S. aureus*, de los cuales uno mostraba poca actividad (**1c7b8a**),<sup>225</sup> otro era activo con una CMI de 0,125 µg/mL (**1a7s8b**)<sup>252</sup> y los últimos

---

<sup>252</sup> Petersen U, Schriewer M, Grohe K, Zeiler HJ, Metzger KG. 7-Azoyl-1-cyclopropyl-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinoline carboxylic acids and 1,8-naphthyridine carboxylic acids, process for their preparation and bactericidal agents containing them. *European Patent n° 203488 A2*, 1986.

(**1a7s8c**<sup>253</sup> y **1a7t8a**<sup>252</sup>) habían sido descritos como activos pero sin aportar datos de CMI.

Una vez que se comprobó que ninguno de los compuestos había sido ensayado frente a SARM, se pasó a seleccionar algunos de ellos para abordar su síntesis. El criterio principal para seleccionarlos fue que la síntesis tuviese el menor número de pasos posibles. Comercialmente se podían obtener el compuesto difluorado **1a7a8a**, o su análogo clorado en 7 (**1a7c8a**) que darían acceso directo a 25 compuestos distintos en función de la amina de la posición 7 (**1a7a-y8a**). Se optó por sintetizar compuestos resultantes de la utilización de estos reactivos de partida.

Se empezó con la síntesis de **1a7l8a**, ya que se trataba de un compuesto descrito en la bibliografía (CAS: 1258978-91-4) con actividad antimicobacteriana.<sup>254</sup> En dicha publicación sintetizan y estudian la actividad de 51 quinolonas. Para ello, a partir de 2,4-dicloro-5-fluoroacetofenona preparan el compuesto **1a7c8a** y el acoplamiento final con la correspondiente amina la realizan irradiando con microondas, pero no describen las condiciones de reacción ni purificación, sino que hacen referencia a una publicación anterior en la que este acoplamiento se realiza a reflujo de *N*-metil-2-pirrolidinona (**Esquema 4.1**, método A) aludiendo sólo a diferencias en cuanto a tiempo de reacción.<sup>255</sup>

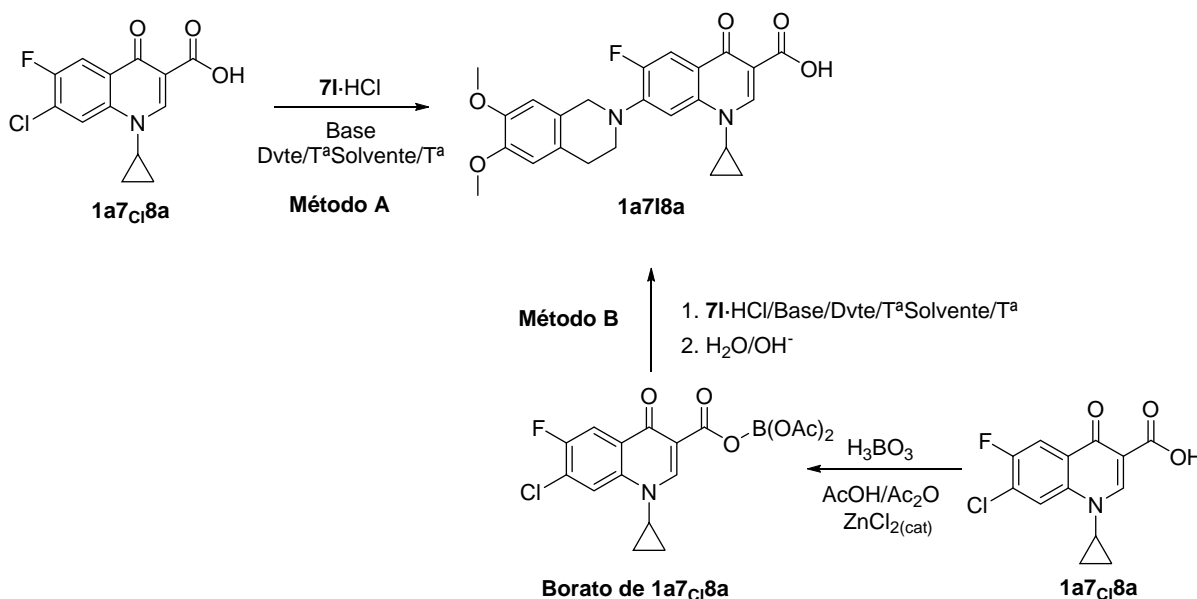
Por ello, se decidió partir del reactivo **1a7c8a**, mucho más económico que el **1a7a8a**. En general, la síntesis de quinolonas a partir de este reactivo, puede abordarse a través de dos métodos similares (**Esquema 4.1**).

---

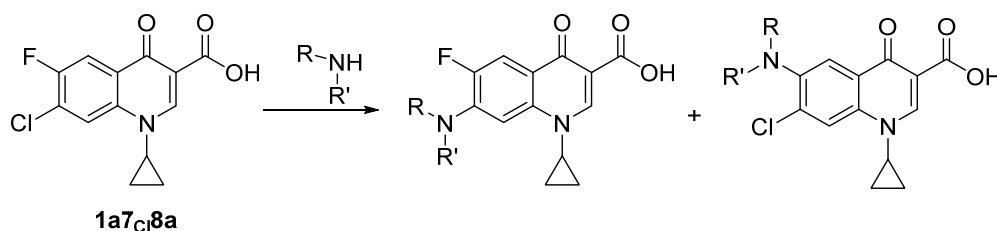
253 Iwata M, Kimura T, Fujiwara Y, Katsube T. Quinoline-3-carboxylic acid derivatives, their preparation and use. *European Patent n° 241206 A2*, **1987**.

254 Senthilkumar P, Dinakaran M, Yogeewari P, China A, Nagaraja V, Sriram D. Antimycobacterial activities of novel fluoroquinolones. *Biomed. Pharmacother.*, **2009**; *63(1)*: 27-35.

255 Chu DT, Fernandes PB, Claibourne AK, Pihuleac E, Nordeen CW, Maleczka REJr, Pernet AG. Synthesis and structure-activity relationships of novel arylfluoroquinolone antibacterial agents. *J. Med. Chem.*, **1985**; *28(11)*: 1558-64.



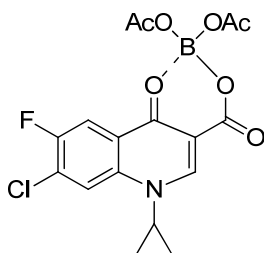
El **Método A**, aparentemente más sencillo, puesto que es en un único paso, pero tiene un posible inconveniente, y es que la adición de la amina puede producirse también en la posición 6, ya que si bien esta posición es menos reactiva frente a la sustitución nucleófila aromática (S<sub>N</sub>Ar), en este tipo de reacciones, el flúor reacciona mejor que el cloro, por lo que hay competencia en la sustitución de ambas posiciones (**Esquema 4.2**), aunque la sustitución en 7 siempre es mayoritaria.<sup>256</sup> Ya que no buscamos un método sintético de alto rendimiento, sino sencillo y rápido, esta reacción secundaria no sería problema si ambos compuestos pudiesen separarse con facilidad.



El **Método B** es el utilizado cuando los compuestos no pueden separarse y/o el rendimiento de la sustitución en 7 es muy bajo. El átomo de boro se

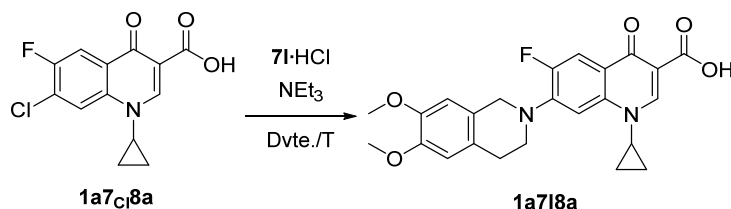
<sup>256</sup> Hermezy I, Vasvári-Debrezy L, Podányi B, Kereszturi G, Balogh M, Horváth A, Várkonyi P. Regioselective nucleophilic substitution of halogen derivatives of 1-substituted 4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acids. *Heterocycles*, 1998; 48(6): 1111-6.

coordina con el carbonilo de la cetona haciendo mucho más reactiva la posición 7 frente a la sustitución (**Figura 4.1**).<sup>256</sup>



**Figura 4.1.** Coordinación del átomo de boro con el carbonilo de cetona.

Se intentó la síntesis haciendo reaccionar directamente la 7-cloroquinolona con el hidrocloreto de la amina **7I** en presencia de trietilamina y en condiciones anhidras, en DMF (*N,N*-dimetilformamida), *N*-metil-2-pirrolidinona y DMSO a 110 y 140 °C,<sup>255,257</sup> (**Tabla 4.1**). En todos los casos, las reacciones no fueron completas y por capa fina se observaba la presencia de diversos productos con Rfs similares y difíciles de separar. Probablemente, además del compuesto deseado, se obtenía el producto resultante de la sustitución en 6, aunque el crudo de reacción no se analizó por RMN.



**Tabla 4.1:** Condiciones de síntesis de **1a7I8a** por el **Método A**.

7I·HCl (eq)	NEt <sub>3</sub> (eq)	Disolvente (5 mL)	Temperatura
1,5	4,5	DMF	110 °C
3	4	<i>N</i> -metil-2-pirrolidinona	110 °C
3	4	DMSO	140 °C

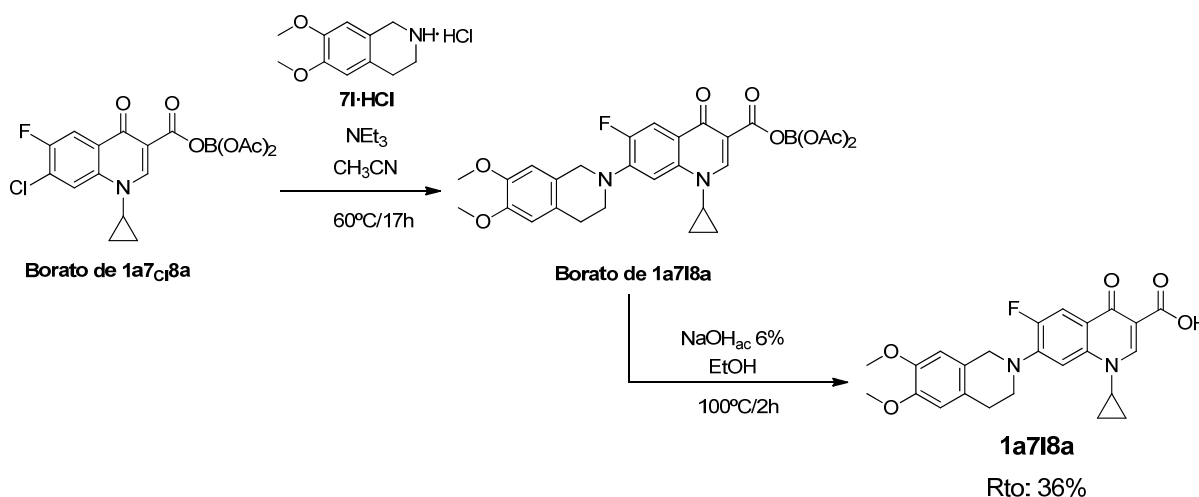
Vistos los resultados iniciales, se decidió no seguir con este método sintético y continuar con el **Método B**.<sup>258,259</sup> En primer lugar se sintetizó el **borato de 1a7Cl8a** (**Esquema 4.1**) por reacción de la correspondiente 7-

257 Roy A, Sardar SM, Salve BU, Rishipathak DD. Studies on synthesis and biological evaluation of some substituted fluoroquinolones. *Int. J. ChemTech Res.*, **2009**; 1(1): 34-45.

258 Davis B, Grant EB III, Lin SC, Macielag MJ, Weidner-Wells MA, Xu X, Xu X, Zhu B. 7-Amino alkylidenyl-heterocyclic quinolones and naphthyridones. *US Patent n° 156577 A1*, **2009**.

259 Wan ZL, Chai Y, Liu ML, Guo HY, Sun LY. Synthesis and *in vitro* antibacterial activity of 7-(4-alkoxymino-3-methyl-3-methylaminopiperidin-1-yl)quinolones. *Acta Pharm. Sin.*, **2010**; 45(7): 860-868.

cloroquinolona con ácido bórico, anhídrido acético y una cantidad catalítica de cloruro de zinc, obteniéndose el producto deseado de forma prácticamente cuantitativa. La reacción de éste con el hidrocloreto de **71** se llevó a cabo con un exceso de trietilamina, en acetonitrilo y en condiciones anhidras. El **borato de 1a718a** no fue aislado, y tras la destilación a vacío de la mayor parte de acetonitrilo, se hidrolizó. El sólido resultante se filtró y se purificó por columna cromatográfica obteniendo el producto deseado **1a718a** con un 36 % de rendimiento (**Esquema 4.3**). Es de mencionar que el compuesto revelaba bajo la lámpara de luz ultravioleta tanto a  $\lambda = 254$  nm (rosa fluorescente) como a  $\lambda = 365$  nm (violeta fluorescente) así como con yodo, mientras que la quinolona de partida sólo revelaba a 254 nm.

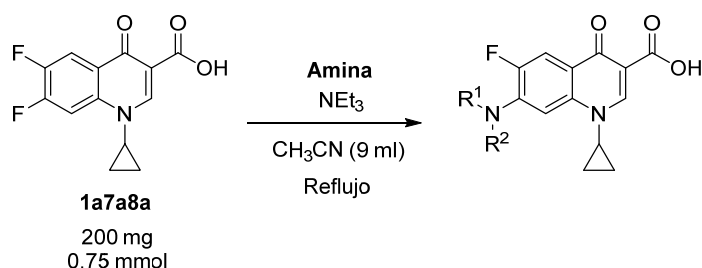


**Esquema 4.3.** Obtención de **1a718a** a partir del **borato de 1a7c18a**.

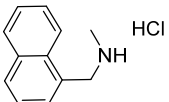
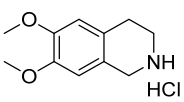

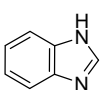
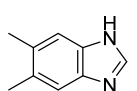
Este mismo procedimiento se intentó con los bencimidazoles **7w** y **7x** y el clorhidrato de la amina **7j**, se variaron condiciones de disolvente (1-metilpirrolidín-2-ona),<sup>255</sup> temperatura (hasta 110 °C) y base ( $\text{K}_2\text{CO}_3$  anhidro). El seguimiento de las reacciones por capa fina mostraba que éstas no eran completas y que aparecían varios productos de difícil separación, no pudiéndose obtener ninguno de los compuestos deseados. En ningún caso se realizó una resonancia magnética nuclear de  $^1\text{H}$  ni de  $^{13}\text{C}$  para el seguimiento de las reacciones, ni análisis del crudo de reacción.

Dada la dificultad para obtener estos compuestos mediante este método, se decidió realizar las síntesis a partir de la quinolona difluorada **1a7a8a** más

reactiva. A modo de comparativa se sintetizó de nuevo el compuesto **1a7l8a** obteniéndolo con un rendimiento del 80 % (**Tabla 4.2**, entrada 2), más del doble que con el procedimiento anterior. Las condiciones de reacción eran similares (reflujo en acetonitrilo anhidro) pero sin la necesidad de realizar la hidrólisis final. Además, por este procedimiento la reacción fue mucho más limpia y el producto mucho más fácil de aislar y purificar, ya que es insoluble en acetonitrilo, mientras que el resto de reactivos son solubles en el mismo, por lo que sólo fueron necesarios la filtración y lavado del sólido para purificarlo. Con el fin de evitar posibles impurezas y dado que no necesitábamos rendimientos optimizados, la filtración inicial del crudo se realizó en caliente en todos los casos.



**Tabla 4.2.** Obtención de quinolonas a partir de **1a7a8a**.

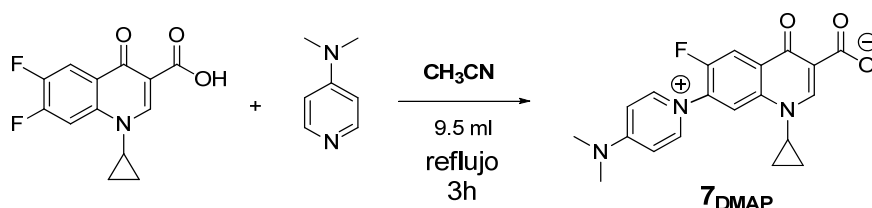
Entrada	Amina	Eq.	Et <sub>3</sub> N (eq.)	Tiempo <sup>a</sup>	Quinolona	Rto.
1	 7h·HCl	1.5	3.4	12 h	<b>1a7h8a</b>	75 %
2	 7i·HCl	1.5	3.4	16 h	<b>1a7l8a</b>	80 %
3	 7t	3.0	-	54 h	<b>1a7t8a</b>	71 %
4	 7w	1.5	3	144 h <sup>b</sup>	<b>1a7w8a</b>	40 %
5	 7x	3.0	-	13 h	<b>1a7x8a</b>	-

a. Reacciones no optimizadas. El seguimiento de las mismas fue por cromatografía en capa fina. b. Tras las primeras 96 h se añadieron 3 mg (3 mol %) de DMAP (4-dimetilaminopiridina).

Para la obtención de los compuestos **1a7h8a** y **1a7l8a**, las aminas de partida eran comercializadas como hidroclouros, por lo que se añadió un exceso de trietilamina. En ambos casos, al añadir la  $\text{Et}_3\text{N}$ , se obtenía una disolución incolora en acetonitrilo a temperatura ambiente. En las dos reacciones, tras cuatro horas, se observaba por cromatografía en capa fina la presencia de quinolona sin reaccionar, por lo que se decidió dejarlas toda la noche. Tras este tiempo, como la reacción apenas había avanzado, se decidió detenerla obteniendo los productos deseados con un 75 % (**1a7h8a**) y 80 % (**1a7l8a**) de rendimiento (**Tabla 4.2**, entradas 1 y 2). En el caso del metilimidazol **7t**, la reacción parecía avanzar de forma más lenta, y se decidió mantenerla durante 54 horas. Finalmente, el compuesto **1a7t8a** se obtuvo con un rendimiento del 71 % (**Tabla 4.2**, entrada 3). En el caso del bencimidazol **7w**, al ser poco soluble en acetonitrilo, y con el fin de evitar posibles contaminaciones del producto, se ajustó la cantidad a 1,5 equivalentes añadiendo un exceso de trietilamina (**Tabla 4.2**, entrada 4). Aunque en las primeras horas se apreció la aparición del producto de reacción, ésta fue la más lenta de todas. A los 4 días, como la reacción apenas había avanzado, se añadió una cantidad catalítica (3mg) de DMAP (4-dimetilaminopiridina), no observando un mayor avance de la reacción, y después de 2 días se detuvo, obteniendo el producto con un 40 % de rendimiento. La misma reacción se intentó con el benzimidazol **7x**, pero al no observar la aparición de ningún producto en las primeras 15 h se abandonó este procedimiento sintético. La falta de reacción se puede atribuir a la poca solubilidad del bencimidazol **7x** en acetonitrilo, incluso en caliente.

Viendo la poca reactividad de los bencimidazoles, se intentó acelerar la reacción con DMAP, de forma que esta actuase tanto de base como de catalizador nucleófilo. Se mezclaron 200 mg de **1a7a8a** con 1,5 equivalentes de bencimidazol (**7w**) y 3 equivalentes de DMAP en acetonitrilo obteniendo una fina suspensión blanca (**1a7a8a** es poco soluble en acetonitrilo). A los 30 min de reacción se observó la aparición de abundante sólido blanco. La capa fina reveló la presencia de todos los reactivos de partida y un producto muy polar que apenas se desplaza aún poniendo una fase móvil de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$  2:1. A las 3 horas, prácticamente se había consumido toda la difluoroquinolona de partida. Entonces, el sólido se

filtró a vacío, se lavó con acetonitrilo, pero al lavar con agua, siguiendo el protocolo de las reacciones anteriores, el producto se disolvió en la misma. Asumiendo que el producto de reacción podría ser el formado por reacción entre la DMAP y la difluoroquinolona para producir el compuesto **7<sub>DMAP</sub>** (**Esquema 4.4**), se repitió la experiencia sin la presencia de bencimidazol y sin realizar el lavado final con agua, obteniéndose 240 mg de un sólido blanco, estable a temperatura ambiente que a 350 °C no llegó a fundir.



**Esquema 4.4.** Reacción de **1a7a8a** con **DMAP**.

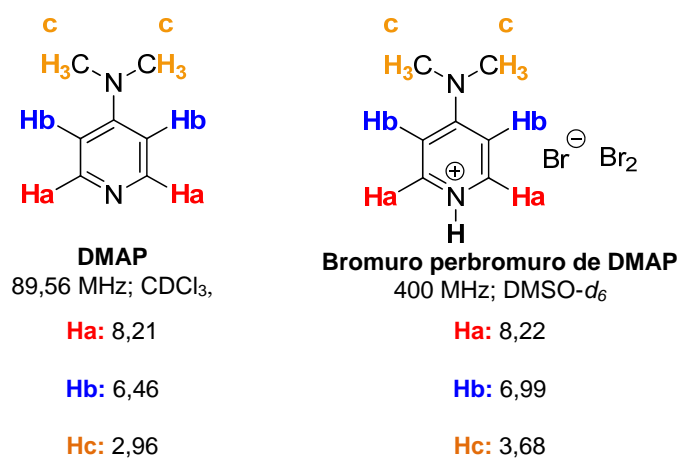
La RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>19</sup>F y el espectro de masas son coincidentes con la estructura **7<sub>DMAP</sub>** (**Esquema 4.4**). En el espectro de <sup>19</sup>F también se observa la presencia de algún tipo de contaminante fluorado.

### 1.1. ASIGNACIÓN DE RMN <sup>1</sup>H Y <sup>13</sup>C DE **7<sub>DMAP</sub>**

Al comparar los espectros de RMN-<sup>1</sup>H de la **DMAP** y del **Bromuro perbromuro de diamimetilpiridinio**,<sup>260</sup> se observa que en general los hidrógenos más afectados por la protonación del nítrogeno son Hb y Hc, que sufren un desplazamiento a campo bajo (**Figura 4.2**).

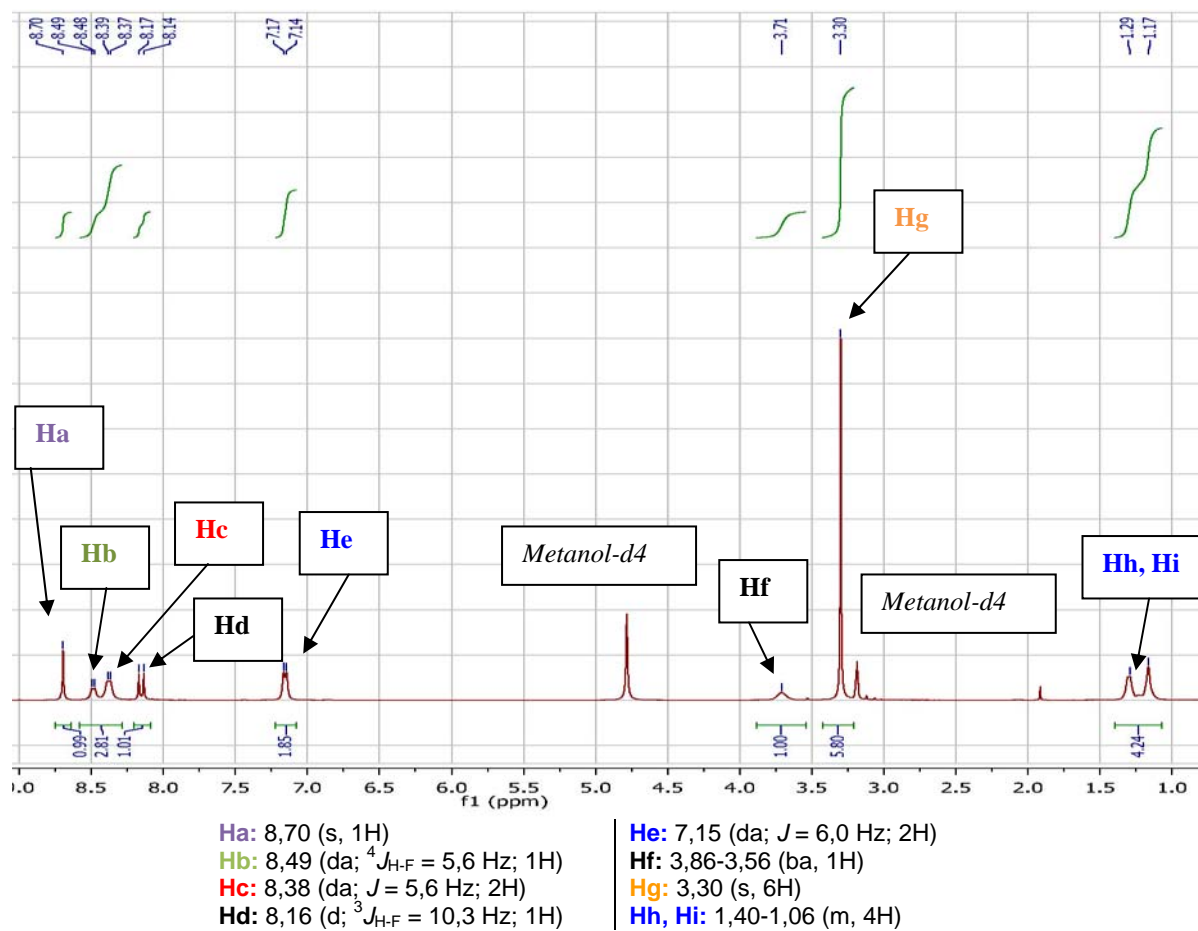
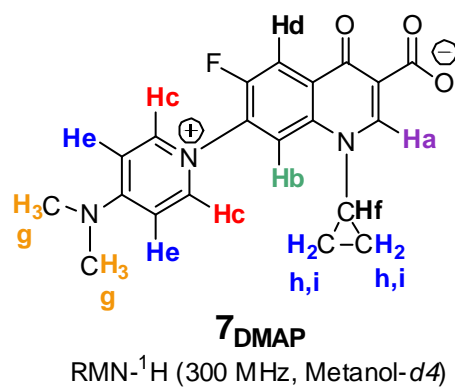
\* La temperatura máxima que alcanza nuestro aparato de punto de fusión es de 350 °C.  
260 <http://sds.db.aist.go.jp> (última entrada 21 de diciembre de 2015)





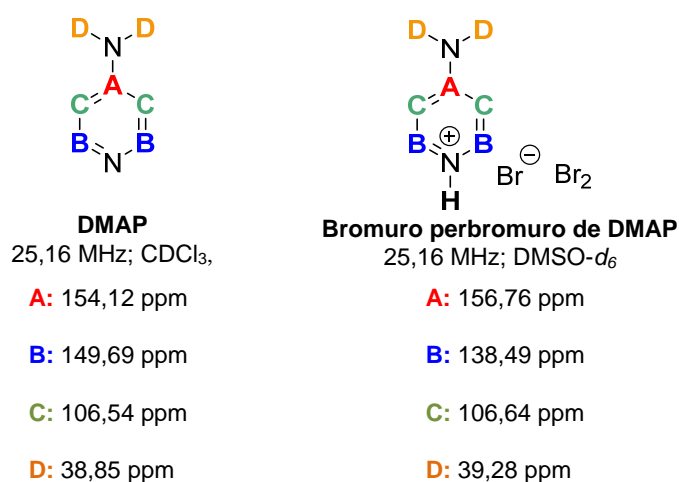
**Figura 4.2.** Desplazamiento químico de los hidrógenos de *DMAP* y *bromuro perbromuro de DMAP*.

Teniendo en cuenta esto, la asignación de señales del espectro de protón de  $7_{\text{DMAP}}$  queda tal y como se refleja en la **Figura 4.3**.



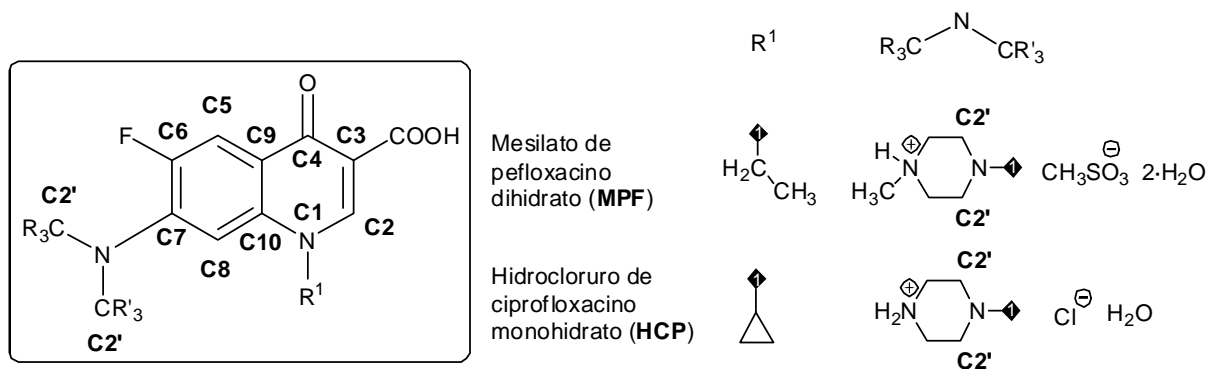
**Figura 4.3.** Asignación de señales en el espectro de RMN-<sup>1</sup>H de 7<sub>DMAP</sub> (s: singulete, d: doblete, da: doblete ancho, m: multiplete).

De la misma forma, se realizó la asignación de señales en el espectro de RMN-<sup>13</sup>C y se identificaron las señales correspondientes al sustituyente 4-(dimetilamino)piridinio-1-il, por comparación con los espectros de **DMAP** y con bromuro perbromuro de **DMAP**<sup>260</sup> (Figura 4.4).



**Figura 4.4.** Desplazamiento químico de los carbonos de *DMAP* y *bromuro perbromuro de DMAP*.

Por otro lado, también se ha tenido en cuenta el acoplamiento del flúor de la posición 6, el cual puede llegar a una distancia de 4 enlaces pudiendo afectar al carbonilo del anillo de quinolona y a los carbonos directamente unidos al nitrógeno del sustituyente de la posición 7 del anillo de quinolona. En la **Tabla 4.3** se recogen algunos datos de desplazamiento y acoplamiento flúor-carbono de sales de pefloxacino y ciprofloxacino (**Figura 4.5**).<sup>261</sup>



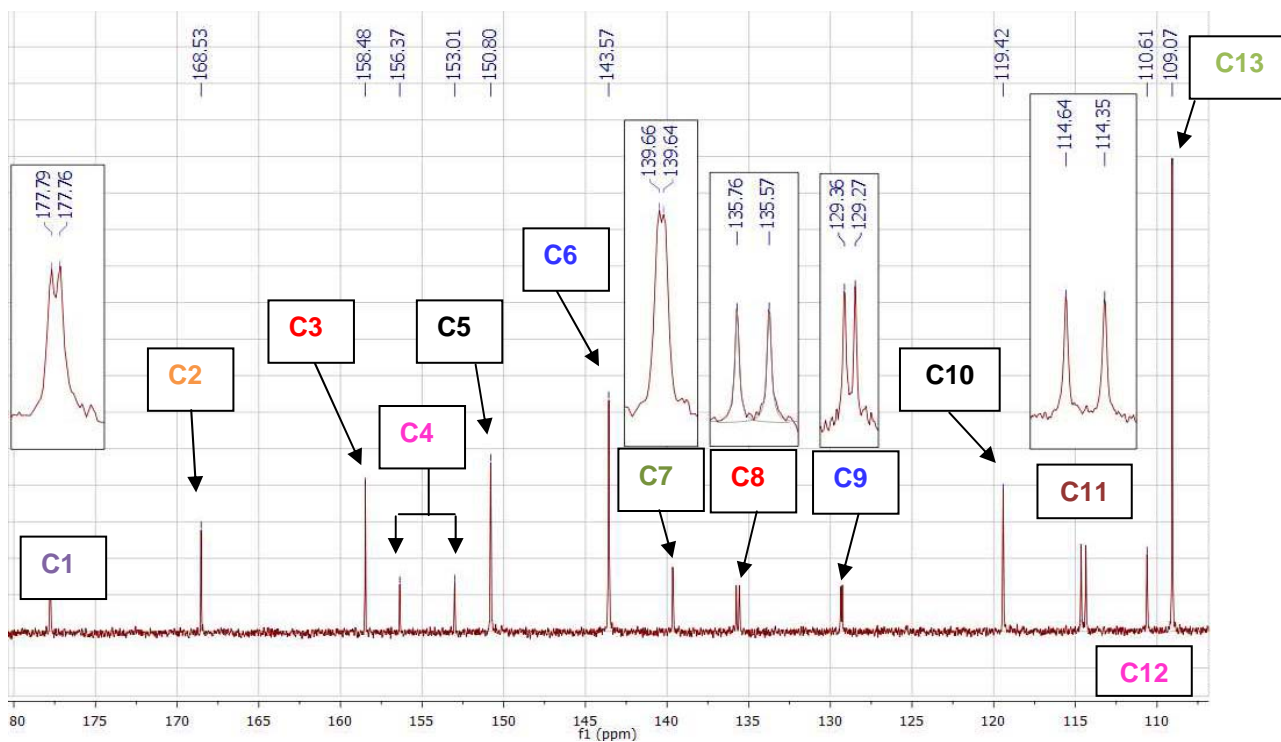
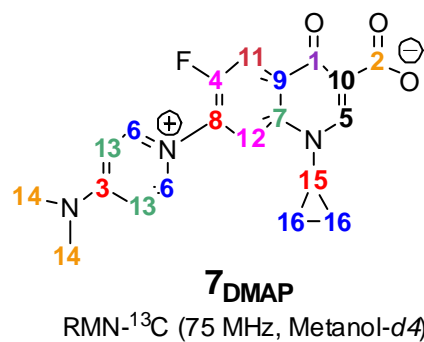
**Figura 4.5.** Estructura de *Mesilato de pefloxacino dihidrato (MPF)* y de *Hidrocloruro de ciprofloxacino monohidrato (HCP)*. Numeración de los carbonos señalados según nomenclatura.

261 Jadrijević-Mladar Takac, M. Effects of substituents on the NMR features of basic bicyclic ring systems of fluoroquinolone antibiotics and the relationships between NMR chemical shifts, molecular descriptors and drug-likeness parameters. *Acta Pharm.*, 2010; 60(3): 237-54.

**Tabla 4.3.** Datos de RMN- $^{13}\text{C}$ , desplazamiento químico ( $\delta$ , ppm), multiplicidad y constantes de acoplamiento ( $^nJ_{\text{C-F}}$  en Hz) para mesilato dihidrato de pefloxacino (**MPF**) e hidrocloreuro monohidrato de ciprofloxacino (**HCP**) en DMSO- $d_6$  a 75 MHz.

Orden de aparición	Carbono	MPF	HCP
1	C4	176,24	176,45; d; $^4J_{\text{C-F}} = 3,4$
2	-COOH	166,13	165,94
3	C6	152,81; d; $^1J_{\text{C-F}} = 249,2$	152,97; d; $^1J_{\text{C-F}} = 249,3$
4	C2	148,86	148,28
5	C7	144,02; d; $^2J_{\text{C-F}} = 10,6$	144,24; d; $^2J_{\text{C-F}} = 10,1$
6	C9	120,12; d; $^3J_{\text{C-F}} = 7,4$	119,42; d; $^3J_{\text{C-F}} = 7,6$
7	C10	137,19	139,20
8	C5	111,52; d; $^2J_{\text{C-F}} = 22,7$	111,27; d; $^2J_{\text{C-F}} = 22,8$
9	C3	107,28	106,95
10	C8	106,80; d; $^3J_{\text{C-F}} = 3,6$	106,97; d; $^3J_{\text{C-F}} = 3,8$
11	C2'	46,74; d; $^4J_{\text{C-F}} = 4,7$	46,48; d; $^4J_{\text{C-F}} = 4,8$

Teniendo en cuenta estos desplazamientos y que el valor de las constantes de acoplamiento entre el flúor y los carbonos del anillo de quinolona es  $\text{F-C6} > \text{F-C5} > \text{F-C7} > \text{F-C9} > \text{F-C8}$ , la asignación de señales del espectro de  $^{13}\text{C}$  de **7DMAP** queda tal y como se reflejan en las **Figuras 4.6** y **4.7**.



**C1:** 177,78 (C; d;  $^4J_{C-F} = 2,3$  Hz).

**C2:** 168,53 (C).

**C3:** 158,48 (C).

**C4:** 154,69 (C; d;  $J_{C-F} = 253,4$  Hz).

**C5:** 150,80 (CH).

**C6:** 143,57 (2CH).

**C7:** 139,65 (C; d;  $^4J_{C-F} = 1,5$  Hz).

**C8:** 135,67 (C; d;  $^2J_{C-F} = 14,4$  Hz).

**C9:** 129,32 (C; d;  $^3J_{C-F} = 7,0$  Hz).

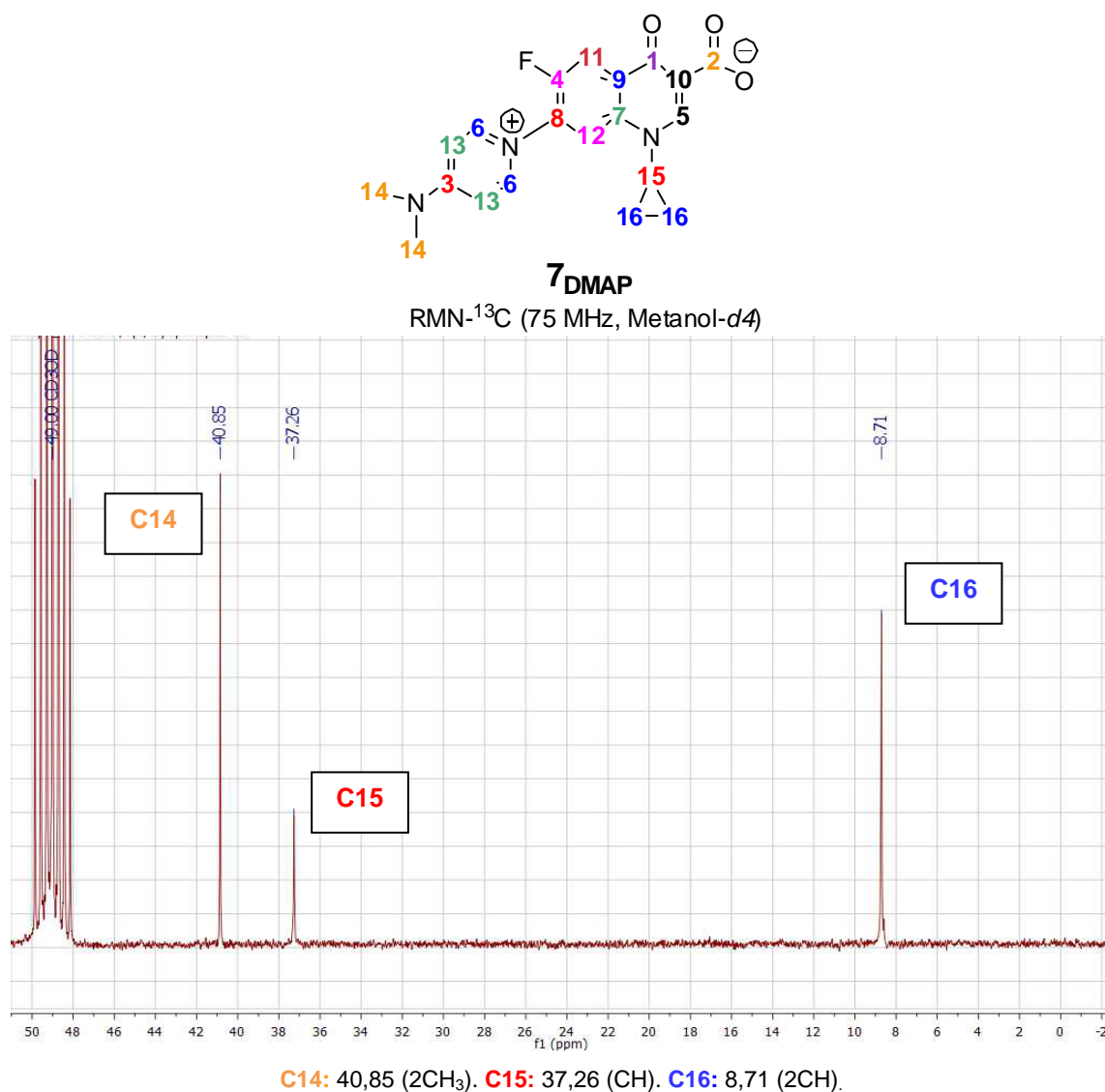
**C10:** 119,42 (C).

**C11:** 114,50 (CH; d;  $^2J_{C-F} = 21,9$  Hz).

**C12:** 110,61 (CH).

**C13:** 109,07 (2CH).

**Figura 4.6.** Asignación de señales en el espectro de RMN-<sup>13</sup>C de los carbonos  $sp^2$  de 7DMAP.



**Figura 4.7.** Asignación de señales en el espectro de RMN-<sup>13</sup>C de los carbonos sp<sup>3</sup> de 7<sub>DMAP</sub>.

Como este compuesto fue obtenido de forma inesperada, pasamos a calcular sus índices para pasarle el modelo y ver su posible actividad teórica. El modelo clasificó a este compuesto como inactivo ( $FD_{SARM} = -1,94$ ). Aun así, dado que no encontramos referencia alguna sobre este tipo de compuesto ni en cuanto a síntesis ni en lo que respecta a actividad farmacológica, decidimos incluirla entre los compuestos a ensayar.

Por último, elegimos ciprofloxacino como quinolona de referencia para comparar los resultados de actividad de los compuestos seleccionados por el modelo de predicción. El ciprofloxacino disponible en nuestro laboratorio era un clorhidrato. Como nuestras quinolonas no las teníamos en forma de sal, se pasó a

eliminar el HCl del ciprofloxacino para igualar, de la mejor manera posible, las posteriores condiciones experimentales de los ensayos de actividad.

Para ello, se disolvió ciprofloxacino·HCl en agua, y se añadió lentamente NaOH 1M hasta alcanzar pH básico. El ciprofloxacino precipitado se filtró y se lavó con abundante agua. Tras el secado se obtuvo ciprofloxacino como un sólido blanco de forma cuantitativa.

## 2. CONCLUSIONES

1. La reacción entre **1a7c18a** y la amina **7l** en DMF, DMSO o *N*-metil-2-pirrolidinona da lugar a mezclas de compuestos difíciles de separar.
2. Se ha podido obtener el compuesto **1a7l8a** a partir del **borato de 1a7Cl8a** y posterior hidrólisis con un rendimiento bajo (36 %).
3. A partir del reactivo **1a7a8a** se han podido obtener las quinolonas **1a7h8a**, **1a7l8a** y **1a7t8a** con buenos rendimientos (70-80 %) y la **1a7w8a** con un rendimiento bajo (40 %).
4. Dada su mayor reactividad y regioselectividad, el reactivo **1a7a8a** es de elección frente el **1a7c18a** para la obtención de las correspondientes 7-amino-6-fluoroquinolonas.
5. El compuesto **1a7a8a** reacciona rápidamente y de forma cuantitativa con un exceso de **DMAP** para producir el zwitterion **7<sub>DMAP</sub>**, estable a temperatura ambiente.



### 3. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

Los disolventes utilizados fueron secados siguiendo procedimientos descritos.<sup>262</sup> Los reactivos procedentes de casas comerciales (Aldrich, Fluka o Scharlau) no se sometieron a ningún tipo de purificación previa. Los reactivos sólidos, tanto los comerciales como el **borato de 1a7a8a**, fueron secados antes de su utilización, manteniéndolos a vacío en presencia de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> durante al menos una noche. La trietilamina utilizada fue destilada en el momento de su utilización, en atmósfera de argón con lentejas de hidróxido sódico.<sup>262</sup>

Los análisis por cromatografía en capa fina (CCF) se llevaron a cabo en sílica gel (Kieselgel 60 F254 sobre plástico) activa al ultravioleta (UV) y se visualizaron utilizando luz UV de 254 nm y/o 365 nm. También se utilizó I<sub>2</sub> como agente revelador.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato de “Cambridge Instruments”: no han sido corregidos y sólo son indicativos.

Los espectros de infrarrojo (IR) se obtuvieron con el espectrómetro Spectrum Two FT-IR y el accesorio de polarización Universal ATR de diamante.

Los espectros de RMN de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C y <sup>19</sup>F se obtuvieron con el espectrofotómetro Bruker 300, utilizando como disolventes cloroformo deuterado (CDCl<sub>3</sub>) para el compuesto **1a7l8a**, metanol deuterado (MeOH-*d*<sub>4</sub>) para el compuesto **7DMAP**, y dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-*d*<sub>6</sub>) para los compuestos **1a7h8a**, **1a7t8a** y **1a7w8a**, en estos tres últimos casos, debido a la insolubilidad de los compuestos, se pesaron unos 5 mg de compuesto y se añadió 1 mL de DMSO-*d*<sub>6</sub>. La mezcla se mantuvo en ultrasonidos durante 30 minutos y la suspensión resultante se filtró a través de una punta de espátula de polietileno con lana de vidrio. Los valores de los desplazamientos químicos de los núcleos se expresan en valores de  $\delta$  (ppm).

Para la obtención de los espectros de masas se utilizó un espectrómetro de masas híbrido con analizador cuadrupolo-tiempo de vuelo, TRIPLETOFT5600 de

---

<sup>262</sup> Perrin DD. *Purification of laboratory Chemicals* 2ª edición; Pergamon Press; England, 1988.

la casa comercial ABSciex. Las condiciones para todos ellos fueron Infusión directa, técnica electrospray (ESI) (Ion source gas 1 (GC1): 30 psi; Ion source gas 2 (GC2): 30 psi; Curtain gas 1: 25 psi; Temperature: 450 °C; Ion Spray Voltage (ISVF): 5500; Rango masas: 80-950 m/z).

### 3.1. MÉTODO B. OBTENCIÓN DE **1a7l8a** A PARTIR DE **1a7c18a**

- *Borato de diacetil [1-ciclopropil-7-(6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-2(1H)-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinolin-3-il]carbonilo (borato de **1a7c18a**).*

En un matraz de 250 mL provisto de refrigerante con un tubo acodado con CaCl<sub>2</sub> anhidro y agitador magnético, se añadieron 1,22 g de ácido bórico (19,35 mmol), 6.9 mL de anhídrido acético (73 mmol) y 26 mg de cloruro de zinc (0,19 mmol). La suspensión resultante se mantuvo en agitación y se calentó a 110 °C. Tras 1,5 h, se añadieron 25,5 mL de ácido acético (446 mmol) y se mantuvo a la misma temperatura durante 1 h. Se disminuyó la temperatura a 60 °C y se añadió una disolución de 3,8 g de **1a7c18a** (13,5 mmol) en 25,5 mL de ácido acético (446 mmol). La disolución amarilla clara resultante se llevó a 110 °C y se mantuvo 16 horas en agitación, durante las cuales apareció un sólido blanco abundante. La mezcla se llevó a temperatura ambiente y se le añadieron 240 mL de agua fría, se agitó y se filtró a vacío. El sólido se lavó con agua fría (3 x 30 mL) y con 15 mL de éter etílico. Tras secar, se obtuvieron 5,25 g de un sólido blanco (rto.:95 %; pto. fusión: 243-246 °C).

- *Ácido 1-ciclopropil-7-(6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-2(1H)-il)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico (**1a7l8a**).*

En un matraz de 50 mL provisto de refrigerante con un tubo acodado con cloruro cálcico anhidro, se añadieron 10 mL de CH<sub>3</sub>CN, 410 mg del **borato de 1a7c18a** (1 mmol) 460,4 mg de **7l·HCl** (2 mmol), y 0,84 mL de Et<sub>3</sub>N (6 mmol). La mezcla se calentó a 60 °C durante 17 horas tras las cuales se dejó enfriar a temperatura ambiente y se eliminó el exceso de acetonitrilo por destilación a vacío. Se añadieron 10 mL de NaOH al 6 % y 2 mL de EtOH absoluto y la mezcla resultante se calentó a 100 °C durante 2 horas. Tras este tiempo, se dejó enfriar, y se añadió HCl 2M hasta pH 7, apareciendo un precipitado que se filtró y se lavó

con agua (3 x 10 mL). Se obtuvieron 350 mg de un sólido amarillento. El compuesto fue purificado por columna cromatográfica (FM: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH 20:1), obteniendo 159 mg de un sólido blanco (rto.: 39 %; pto. fusión = 224-227 °C).

**IR (cm<sup>-1</sup>)** 3049,92; 3024,13; 2963,82; 2944,37; 2914,22; 2835,26; 1993,46; 1888,59; 1791,81; 1710,79; 1621,57; 1612,44; 1554,48; 1498,38; 1428,27.

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ** 15,10 (s, 1H); 8,74 (s, 1H); 8,02 (d; *J* = 13,3 Hz; 1H); 7,39 (d; *J* = 7,1 Hz; 1H); 6,68 (s, 2H); 4,52 (s, 2H); 3,90 (s, 3H); 3,89 (s, 3H); 3,76 (t; *J* = 5,7 Hz; 2H); 3,58-3,47 (m, 1H); 2,97 (t; *J* = 5,4 Hz; 2H); 1,42-1,30 (m, 2H); 1,23-1,12 (m, 2H).

### 3.2. PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE QUINOLONAS A PARTIR DE **1a7a8a**

En un matraz de 50 mL provisto de agitador magnético y refrigerante con un tubo acodado con cloruro cálcico anhidro se añadieron 0.754 mmol de **1a7a8a** 1.5 mmol del hidrocloreto de la correspondiente amina (**7i·HCl** o **7h·HCl**), 11 mL de CH<sub>3</sub>CN anhidro y 0,47 mL de Et<sub>3</sub>N (3,4 mmol). La suspensión blanca resultante se llevó a reflujo y se mantuvo durante el tiempo que se indica en la **tabla 4.1**. Transcurrido este tiempo, la mezcla se filtró en caliente y el sólido se lavó con acetonitrilo (3 x 3 mL) seguido agua (3 x 3 mL).

- *Ácido* 1-ciclopropil-7-(6,7-dimetoxi-3,4-dihidroisoquinolin-2(1H)-il)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico (**1a7l8a**).

Sólido blanco (rto.: 80 %; pto. fusión: 224-227 °C).

- *Ácido* 1-ciclopropil-6-fluoro-7-[metil(1-naftilmetil)amino]-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico (**1a7h8a**).

Sólido blanco (rto.: 75 %; pto. fusión: 239,5-240,6 °C).

**IR (cm<sup>-1</sup>)** 3094,14; 3045,10; 3013,54; 2875,16; 1724,65; 1630,77; 1504,44; 1457,50.

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO) δ** 15,36 (s, 1H); 8,57 (s, 1H); 8,57 (s, 1H); 8,19-7,94 (m, 2H); 8,14-7,95 (m, 2H); 7,89 (d; *J* = 9,0 Hz; 1H); 7,85 (d; *J* = 15,0 Hz; 1H);

7,68-7,31 (m, 5H); 5,21 (s, 2H); 3,62 (m, 1H); 3,27 (da;  $J = 2,1$  Hz; 3H); 0,99 (ba, 4H).

**HRMS (ESI-TOF)  $m/z$ :**  $[M+H]^+$  calculado para  $C_{25}H_{21}FN_2O_3$  417,1609, encontrado 417,1616.

- *Ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-7-(2-metil-1H-imidazol-1-il)-4-oxo-1,4-dihidroquinoline-3-carboxílico (1a7t8a).*

En un matraz de 50 mL provisto de agitador magnético y refrigerante con un tubo acodado con cloruro cálcico anhidro se añadieron 200 mg de **1a7a8a** (0,754 mmol) 189 mg del imidazol **7t** (2.3 mmol) y 11 mL de  $CH_3CN$  anhidro. La suspensión blanca resultante se llevó a reflujo observándose la disolución de gran parte del sólido suspendido. La reacción se mantuvo a reflujo y en agitación durante 54 horas, tras las cuales, se retiró la fuente de calor y la mezcla se filtró y se lavó con  $CH_3CN$  (3 x 2 mL) seguido de agua fría (3 x 2 mL). Tras secar a vacío se obtuvieron 176 mg (Rto. 71 %) de un sólido blanco (rto.: 71 %; pto. fusión: 290,5-292 °C).

**IR ( $cm^{-1}$ )** 3148,64; 3114,24; 3033,28; 2973,71; 1727,08; 1615,01; 1553,18; 1491,91; 1461,72.

**NMR  $^1H$  (300 MHz, DMSO)  $\delta$**  14,67 (s, 1H); 8,82 (s, 1H); 8,47 (d;  $J = 6,5$  Hz; 1H); 8,30 (d;  $J = 10,0$  Hz; 1H); 7,47 (ba, 1H); 7,05 (d;  $J = 1,3$  Hz; 1H); 3,94-3,78 (m, 1H); 2,33 (s, 3H); 1,38-1,14 (m, 4H).

**HRMS (ESI-TOF)  $m/z$ :**  $[M+H]^+$  calculado para  $C_{17}H_{14}FN_3O_3$  328,1092, encontrado 328,1106.

- *Ácido 7-(1H-benzimidazol-1-il)-1-ciclopropil-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxílico (1a7w8a).*

En un matraz de 50 mL provisto de agitador magnético y refrigerante con un tubo acodado con cloruro cálcico anhidro se añadieron 200 mg de **1a7a8a** (0,754 mmol), 177 mg de **7w** (1,5 mmol) y 11 mL de  $CH_3CN$  anhidro. La suspensión blanca resultante se llevó a reflujo. La reacción se mantuvo a reflujo y en agitación durante 4 días, tras los cuales se añadieron 3 mg de DMAP (3 mol %)

y se mantuvo el reflujo y la agitación durante 48 h más. Finalmente, la mezcla de reacción se filtró y se lavó con CH<sub>3</sub>CN (3 x 2 mL) seguido de agua fría (3 x 2 mL). Tras secar a vacío se obtuvieron 110 mg de un sólido blanco (rto.: 40 %; pto. fusión: 291,5-293 °C).

**IR (cm<sup>-1</sup>)** 3066,64; 1712,91; 1616,99; 1504,51; 1479,92; 1447,08.

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO) δ** 14,70 (s, 1H); 8,85 (s, 1H); 8,75-8,60 (m, 2H); 8,39 (d; *J* = 10,4 Hz; 1H); 7,92-7,79 (m, 1H); 7,67-7,57 (m, 1H); 7,49-7,30 (m, 2H); 3,99-3,84 (ba, 1H); 1,35-1,20 (m, 4H).

**HRMS (ESI-TOF) *m/z*: [M+H]<sup>+</sup>** calculado para C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub> 364,1092, encontrado 364,1108.

- *1-ciclopropil-7-[4-(dimetilamino)piridinio-1-il]-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihidroquinolina-3-carboxilato (7DMAP)*

En un matraz de 50 mL provisto de agitador magnético y refrigerante con un tubo acodado con cloruro cálcico anhidro se añadieron 200 mg de **1a7a8a** (0,754 mmol), 230 mg de **DMAP** (1,9 mmol) y 11 mL de CH<sub>3</sub>CN anhidro. La fina suspensión blanca resultante se llevó a reflujo. La reacción se mantuvo a reflujo y en agitación durante 3 horas, tras las cuales, se retiró la fuente de calor, la mezcla se filtró y se lavó con CH<sub>3</sub>CN (4 x 3 mL). Tras secar a vacío se obtuvieron 275 mg de un sólido blanco (rto.: 99 %; pto. fusión: > 350 °C).

**IR (cm<sup>-1</sup>)** 3096,64; 3068,54; 3047,37; 2882,85; 1703,56; 1650,09; 1587,35; 1474,30; 1167,87.

**NMR <sup>1</sup>H (300 MHz, MeOH) δ** 8,70 (s, 1H); 8,49 (da; *J* = 5,6 Hz; 1H); 8,38 (da; *J* = 5,6 Hz; 2H); 8,16 (d; *J* = 10,3 Hz; 1H); 7,16 (da; *J* = 6,0 Hz; 1H); 3,86-3,56 (ba, 1H); 3,30 (s, 6H); 1,40-1,06 (m, 4H).

**NMR <sup>13</sup>C (75 MHz, MeOH-*d*<sub>4</sub>) δ** 177,78 (C; d; <sup>4</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 2,3 Hz); 168,53 (C); 158,48 (C); 154,69 (C; d; *J*<sub>C-F</sub> = 253,4 Hz); 150,80 (CH); 143,57 (2CH); 139,6 (C; d; <sup>4</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 1,5 Hz); 135,67 (C; d; <sup>2</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 14,4 Hz); 129,32 (C; d; <sup>3</sup>*J*<sub>C-F</sub> = 7,0 Hz); 119,42 (C);

114,50 (CH; d;  $^2J_{C-F} = 21,9$  Hz); 110,61 (CH); 109,07 (2CH); 40,85 (2CH); 37,26 (CH); 8,71 (2CH).

**NMR  $^{19}F$  (282 MHz, MeOH)  $\delta$  128,40.**

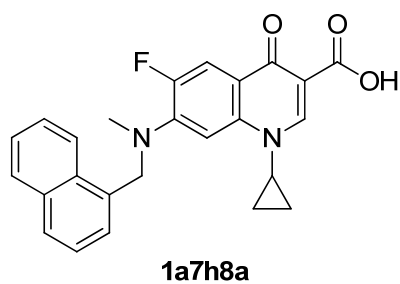
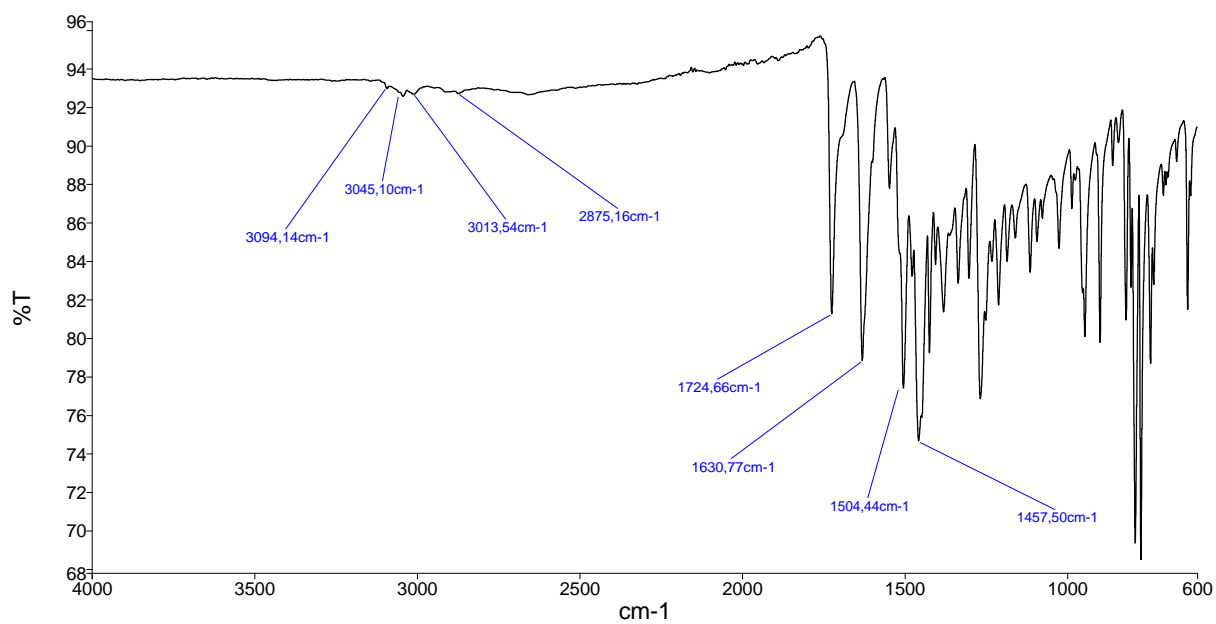
**HRMS (ESI-TOF)  $m/z$ :  $[M+H]^+$  calculado para  $C_{20}H_{18}FN_3O_3$  368,1405, encontrado 368,1404.**

### **3.3. PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE CIPROFLOXACINO**

Se disolvió 1 g de ciprofloxacino  $\cdot HCl$  en 40 mL de  $H_2O$ , obteniéndose una disolución amarillenta. La disolución se enfrió en un baño de hielo/agua y se añadió  $NaOH$  1 M hasta justo alcanzar un pH básico. El precipitado obtenido, se filtró a vacío y se lavó con abundante agua. Tras secarlo se obtuvo un sólido blanco (256-259 °C con descomposición, Lit. 255-257 °C con descomposición<sup>223</sup>).

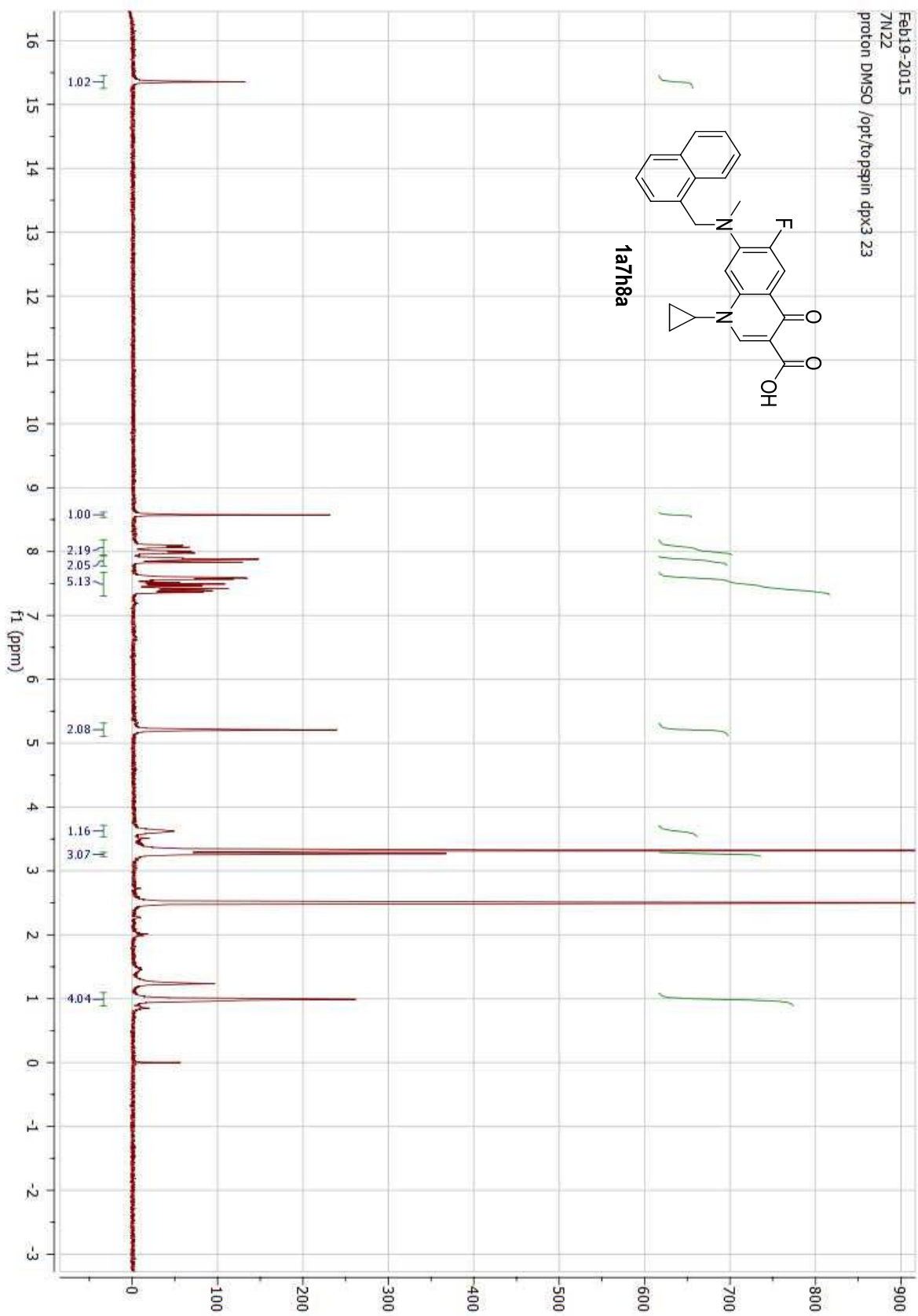
## 4. ESPECTROS DE LAS QUINOLONAS

## • 1a7h8a IR

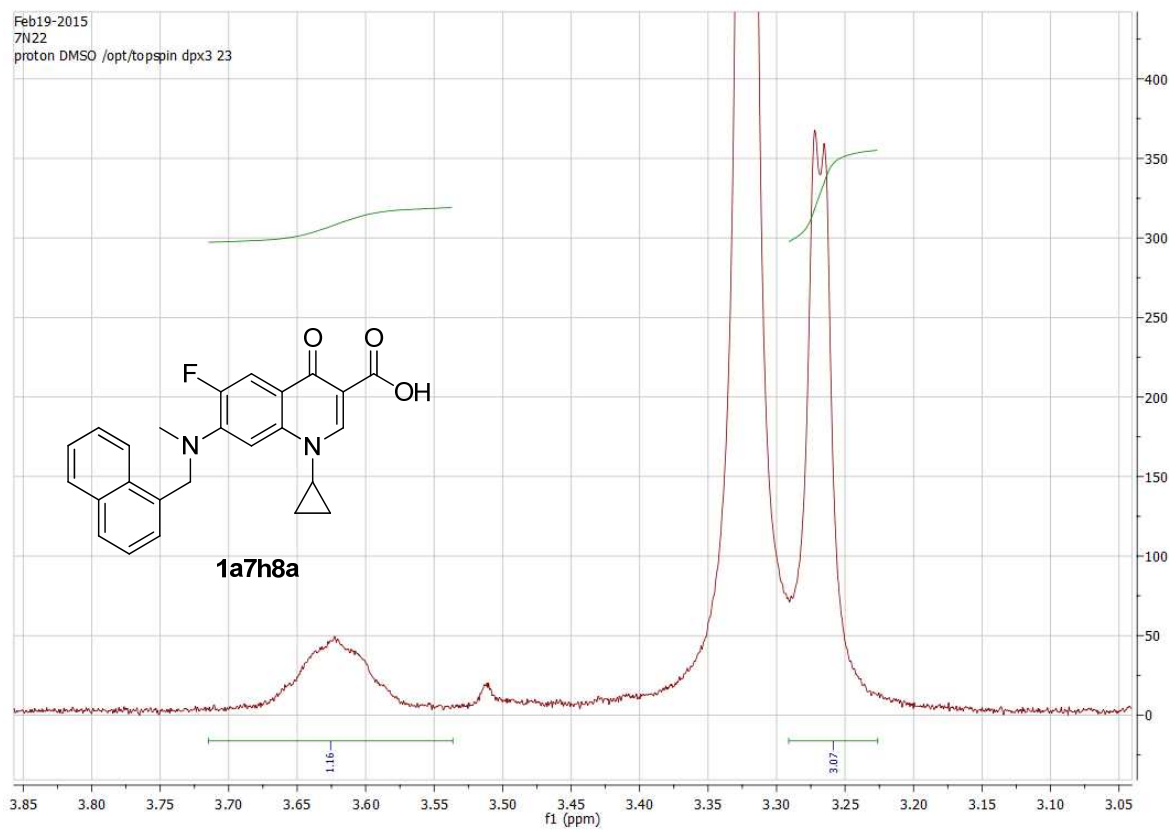
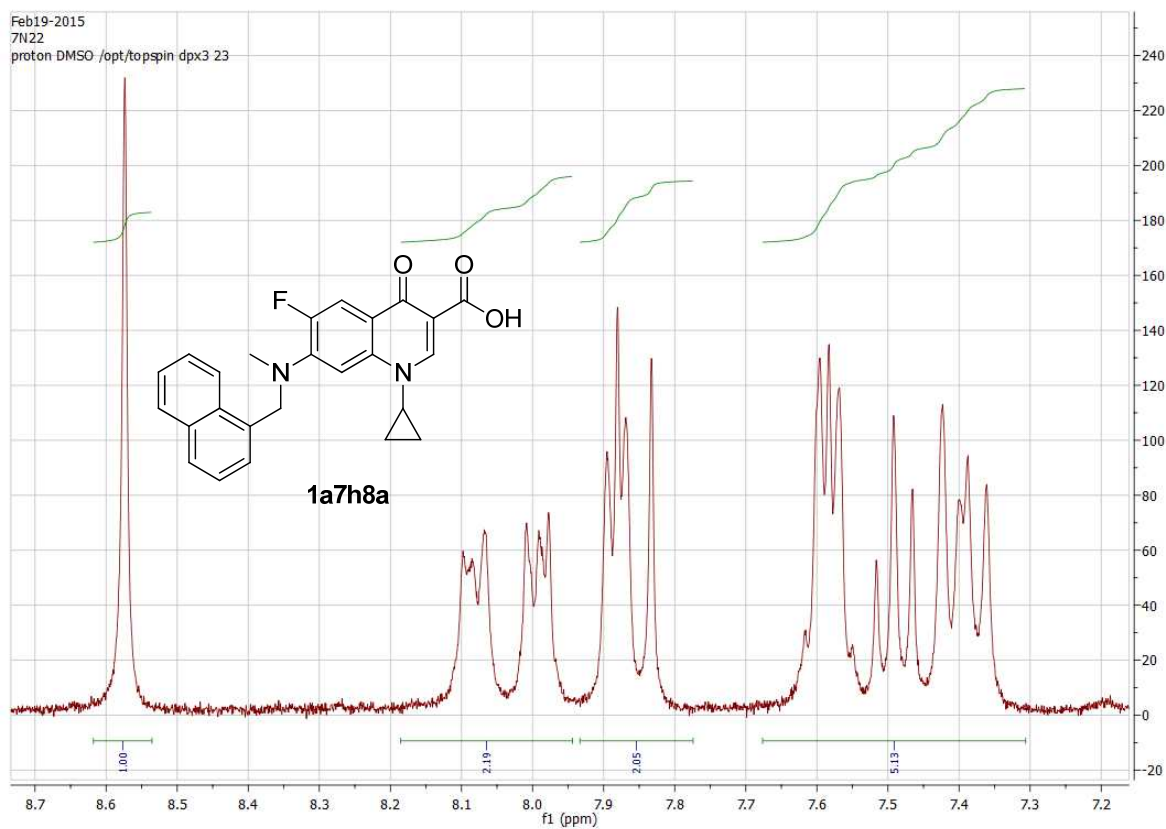


Número de pico	X (cm <sup>-1</sup> )	Y (% T)
1	3094,14	93,02
2	3045,10	92,62
3	3013,54	92,73
4	2875,16	92,75
5	1724,65	81,30
6	1630,77	78,86
7	1504,44	77,42
8	1457,50	74,67

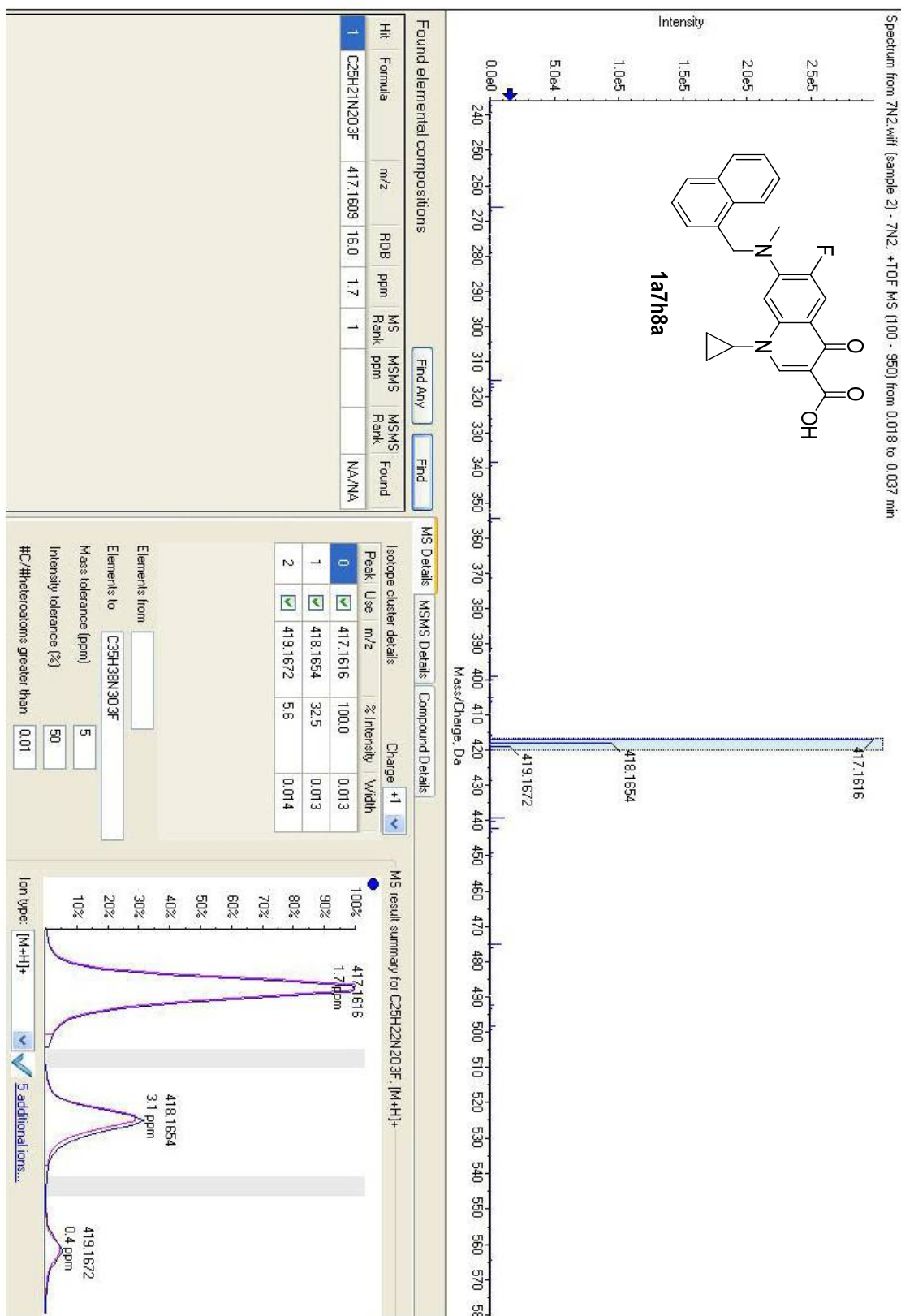
• **1a7h8a**  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )

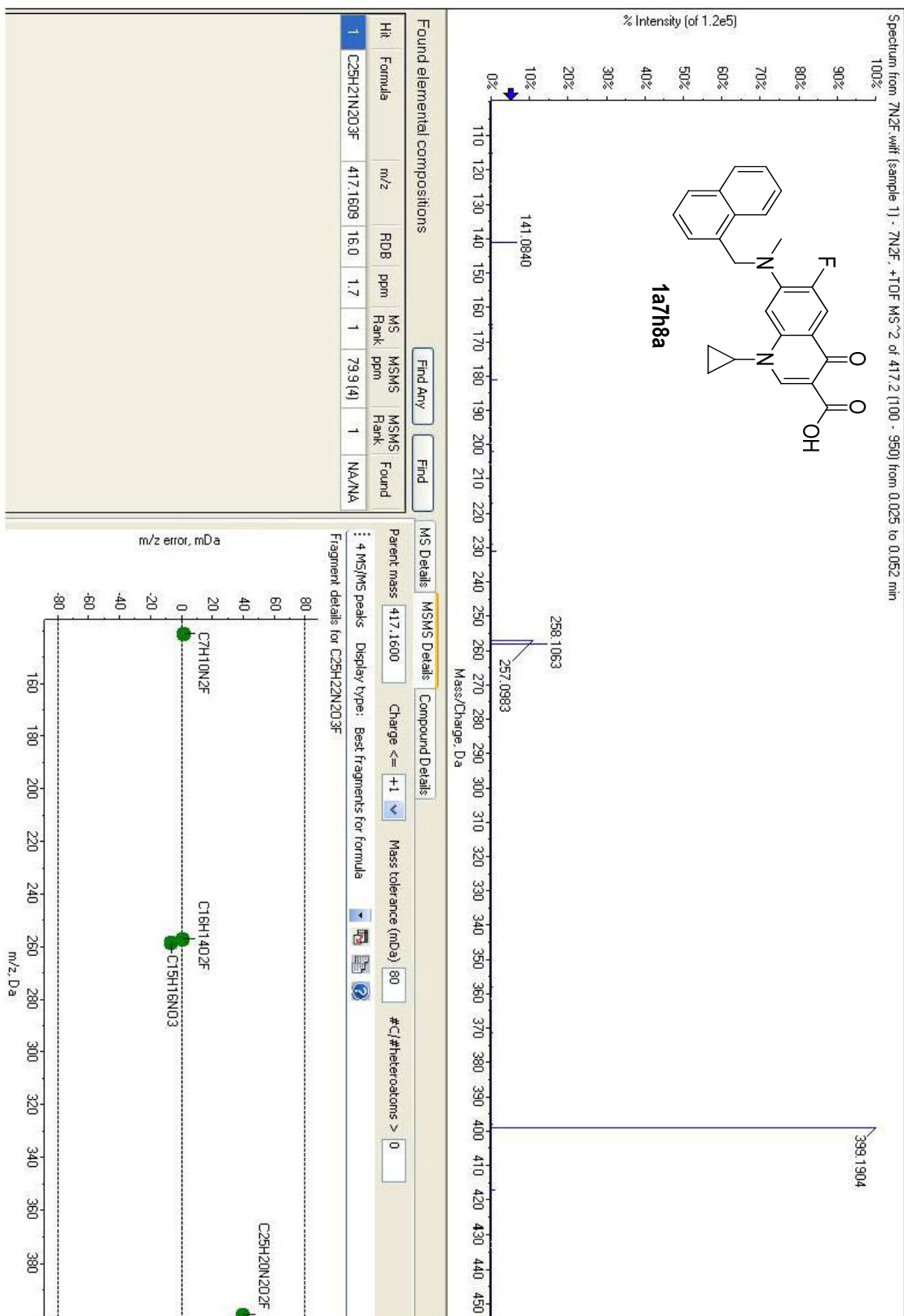




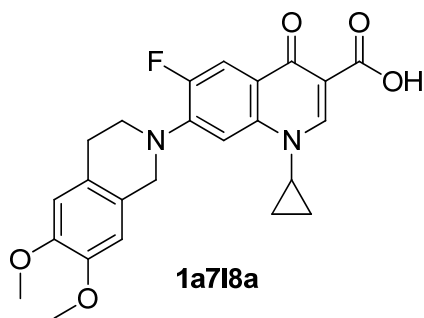
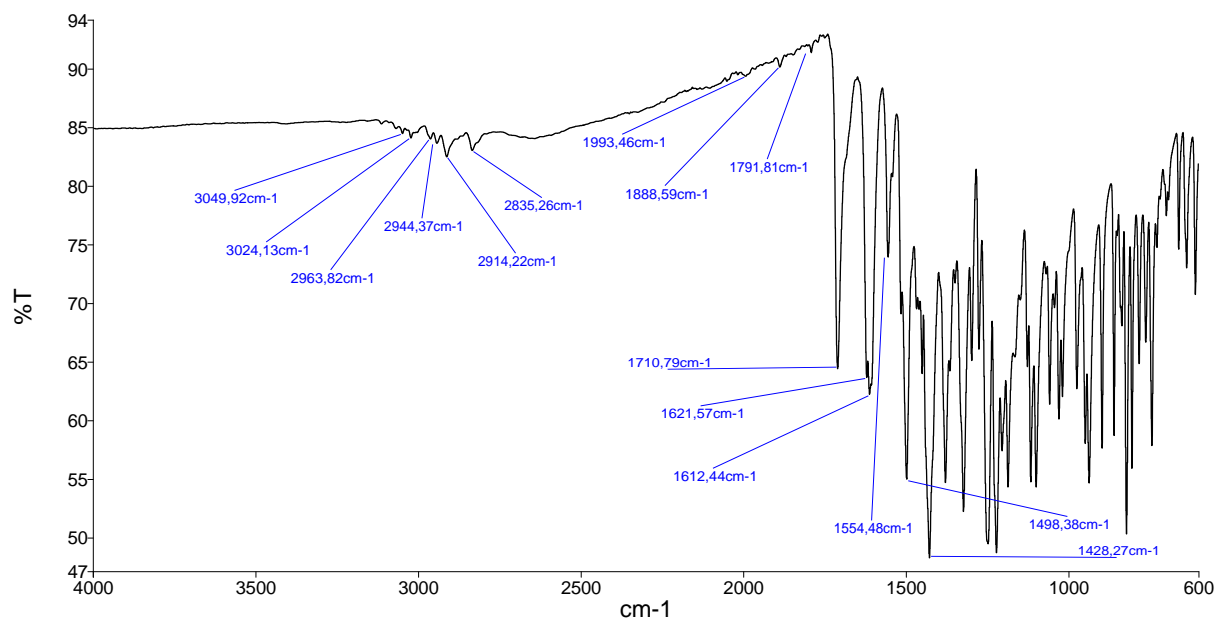


• 1a7h8a Masas



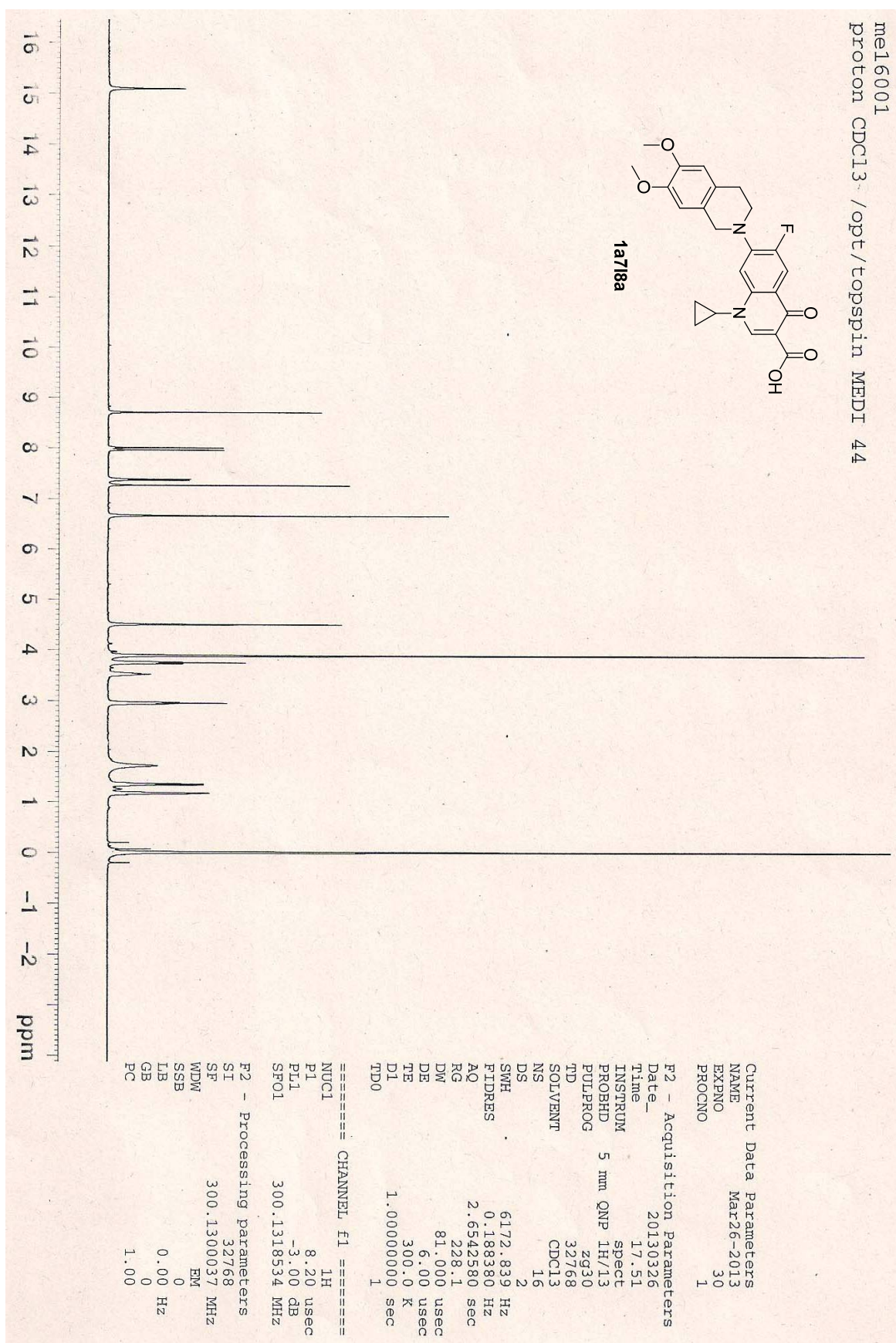


• 1a7l8a IR

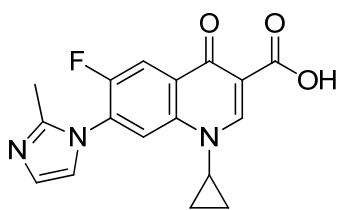
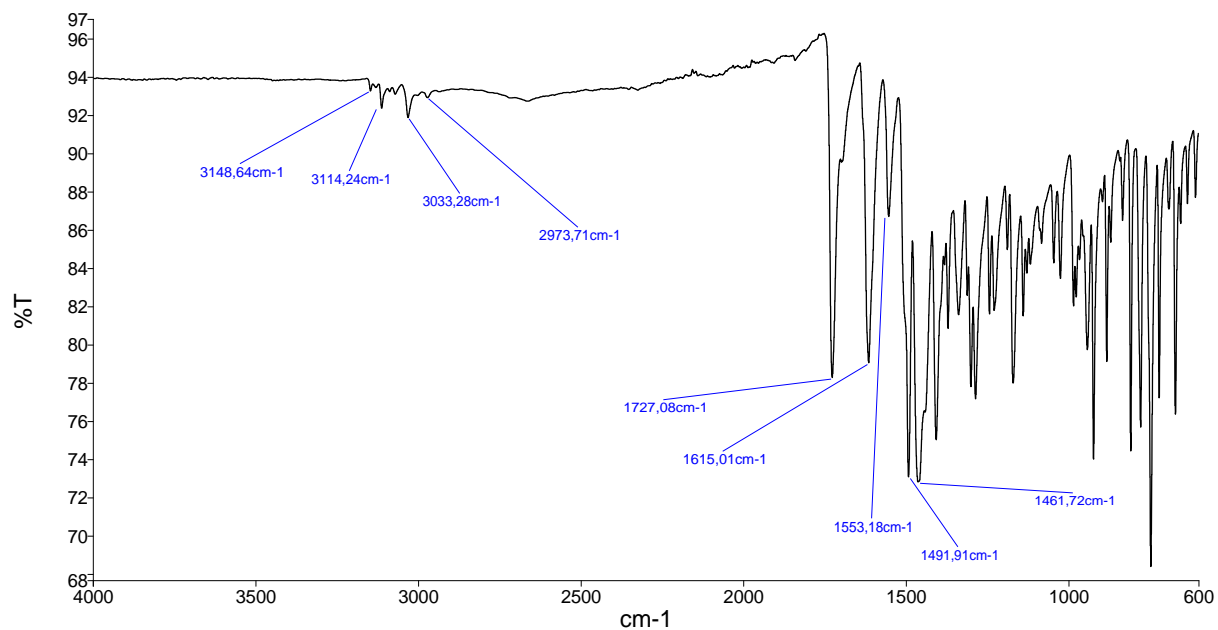


Número de pico	X (cm <sup>-1</sup> )	Y (% T)
1	3049,92	84,56
2	3024,13	84,18
3	2963,82	84,09
4	2944,37	83,72
5	2914,22	82,56
6	2835,26	83,09
7	1993,46	89,45
8	1888,59	90,24
9	1791,81	91,47
10	1710,79	64,46
11	1621,57	63,73
12	1612,44	62,26
13	1554,48	74,05
14	1498,38	55,01
15	1428,27	48,30

- 1a718a <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)



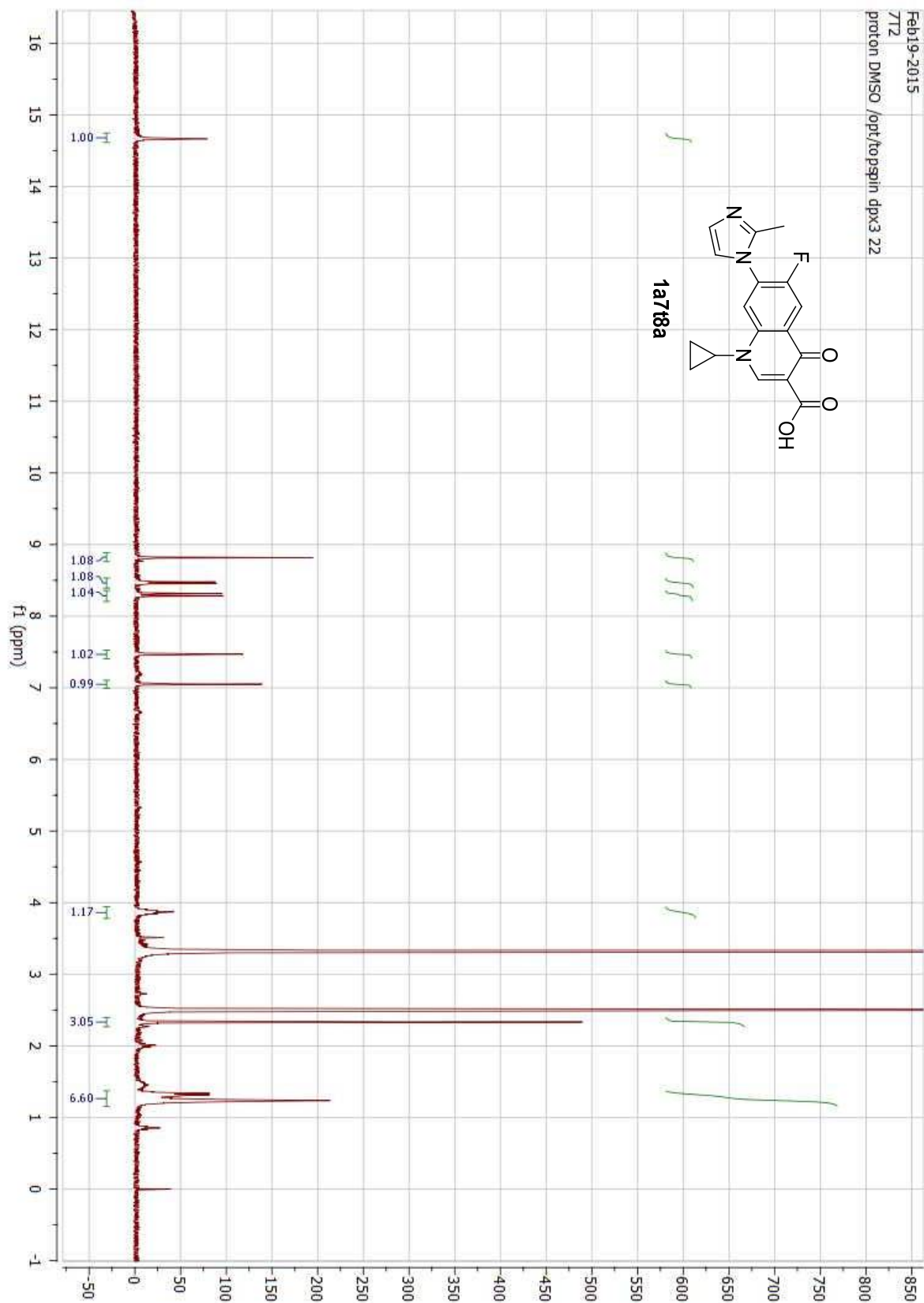
• 1a7t8a IR



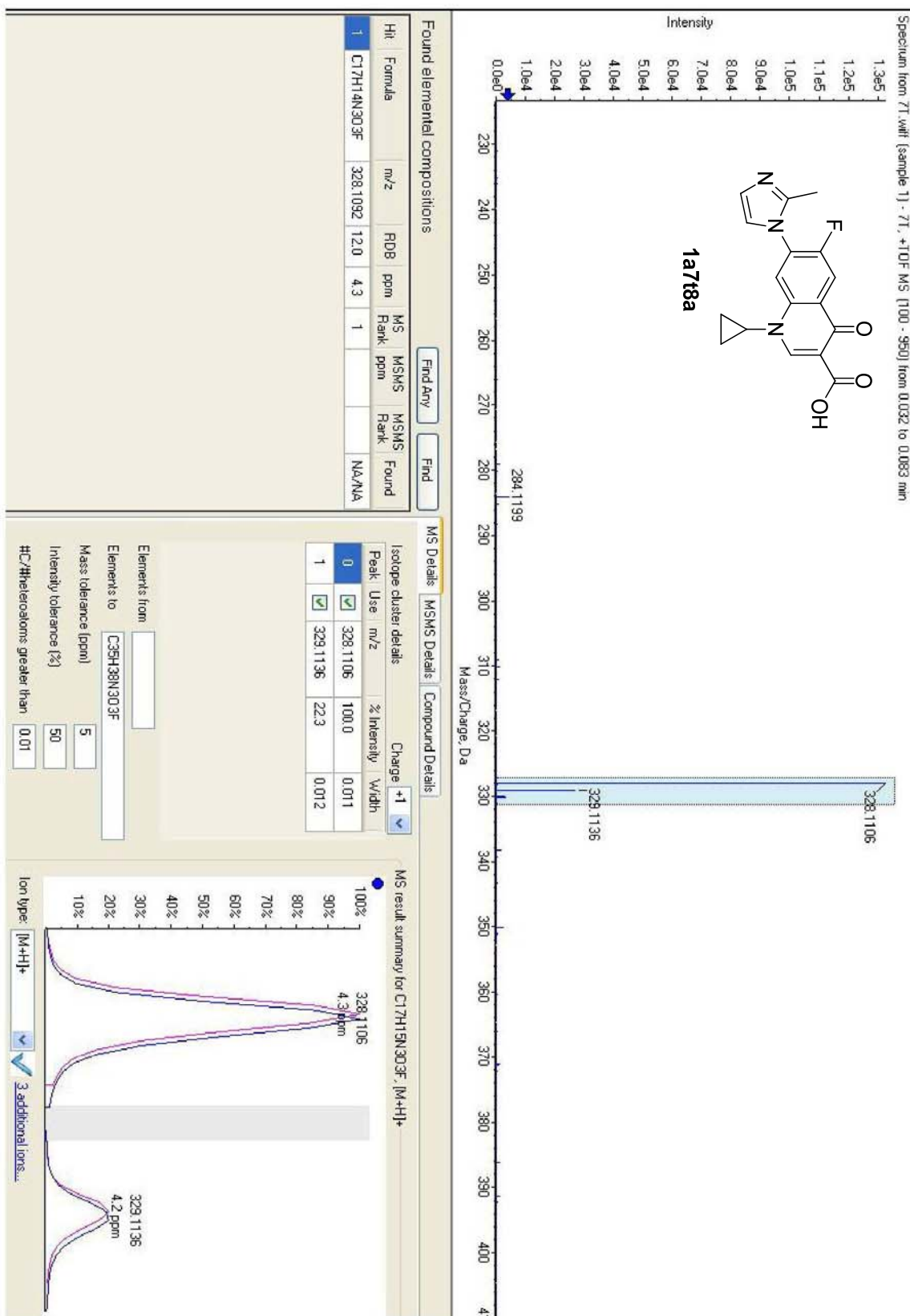
1a7t8a

Número de pico	X (cm <sup>-1</sup> )	Y (% T)
1	3148,64	93,31
2	3114,24	92,40
3	3033,28	91,91
4	2973,71	92,97
5	1727,08	78,29
6	1615,01	79,06
7	1553,18	86,73
8	1491,91	73,10
9	1461,72	72,85

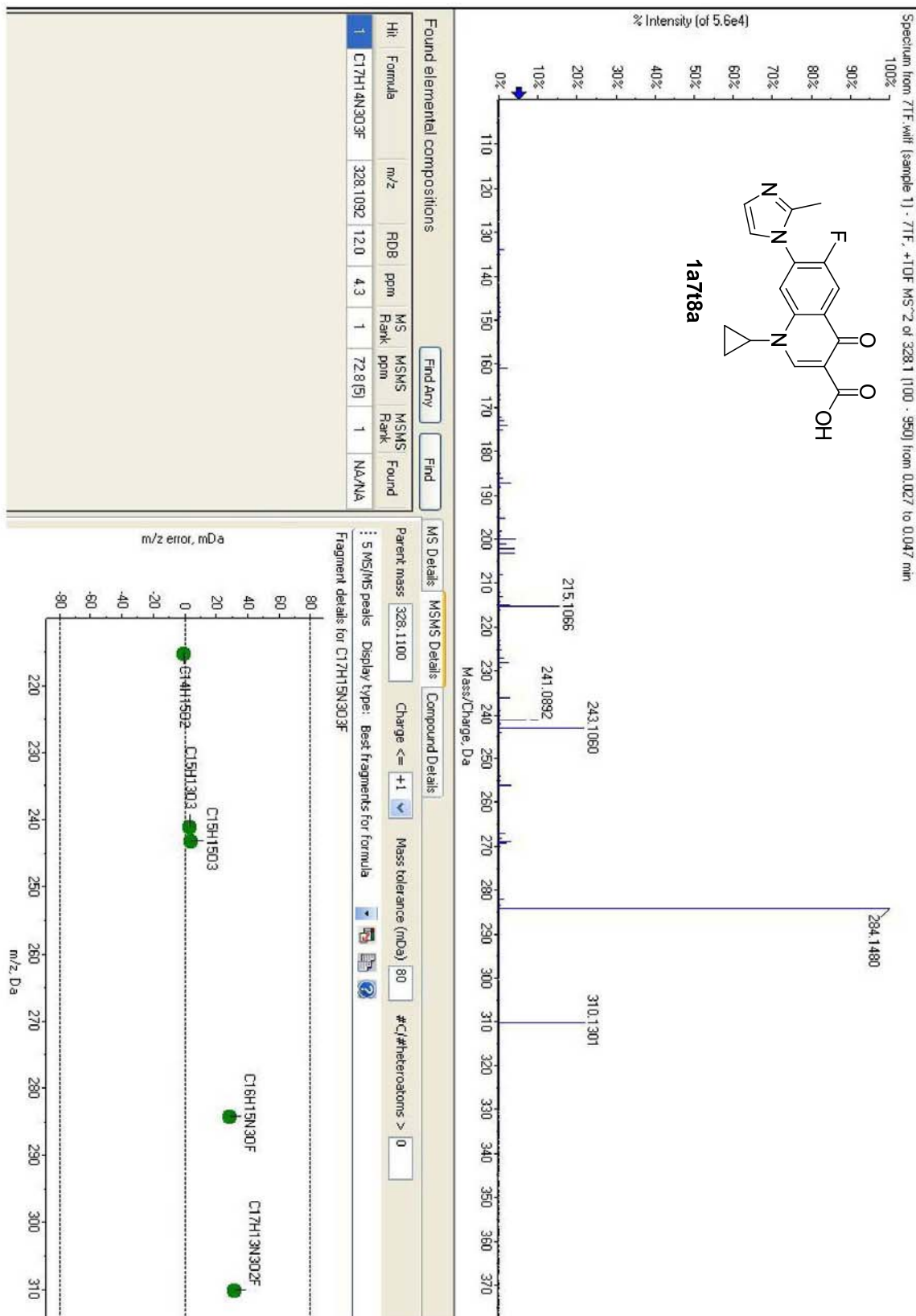
• 1a7t8a <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)



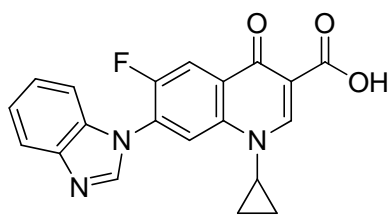
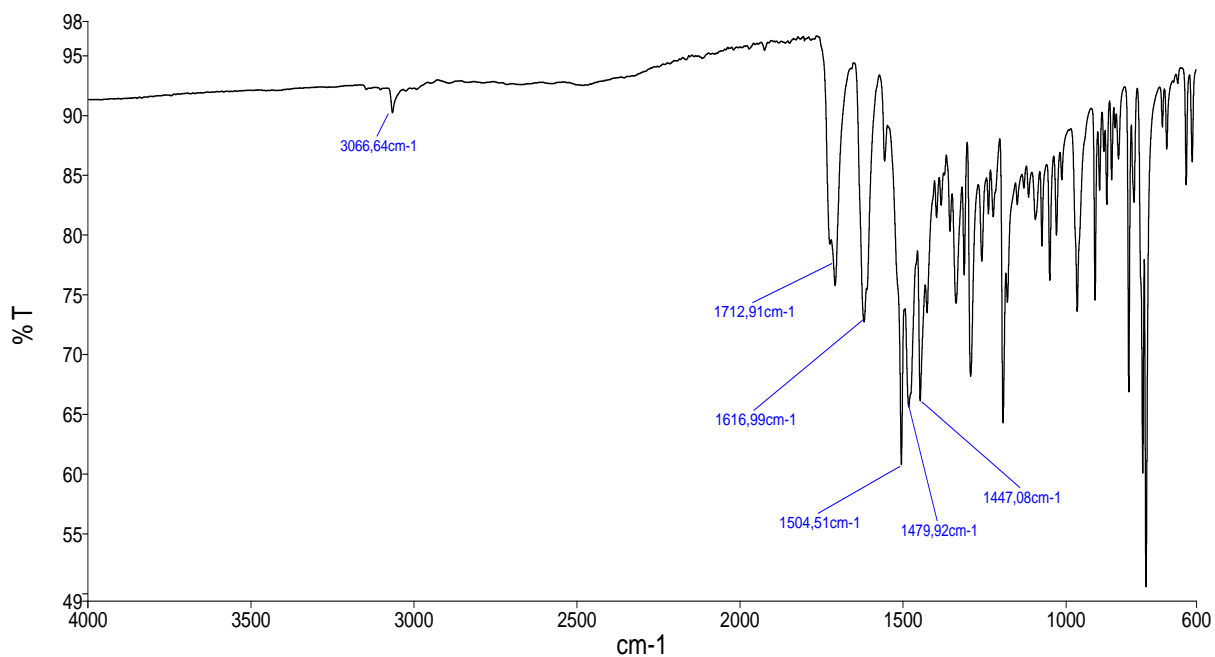
• 1a7t8a Masas







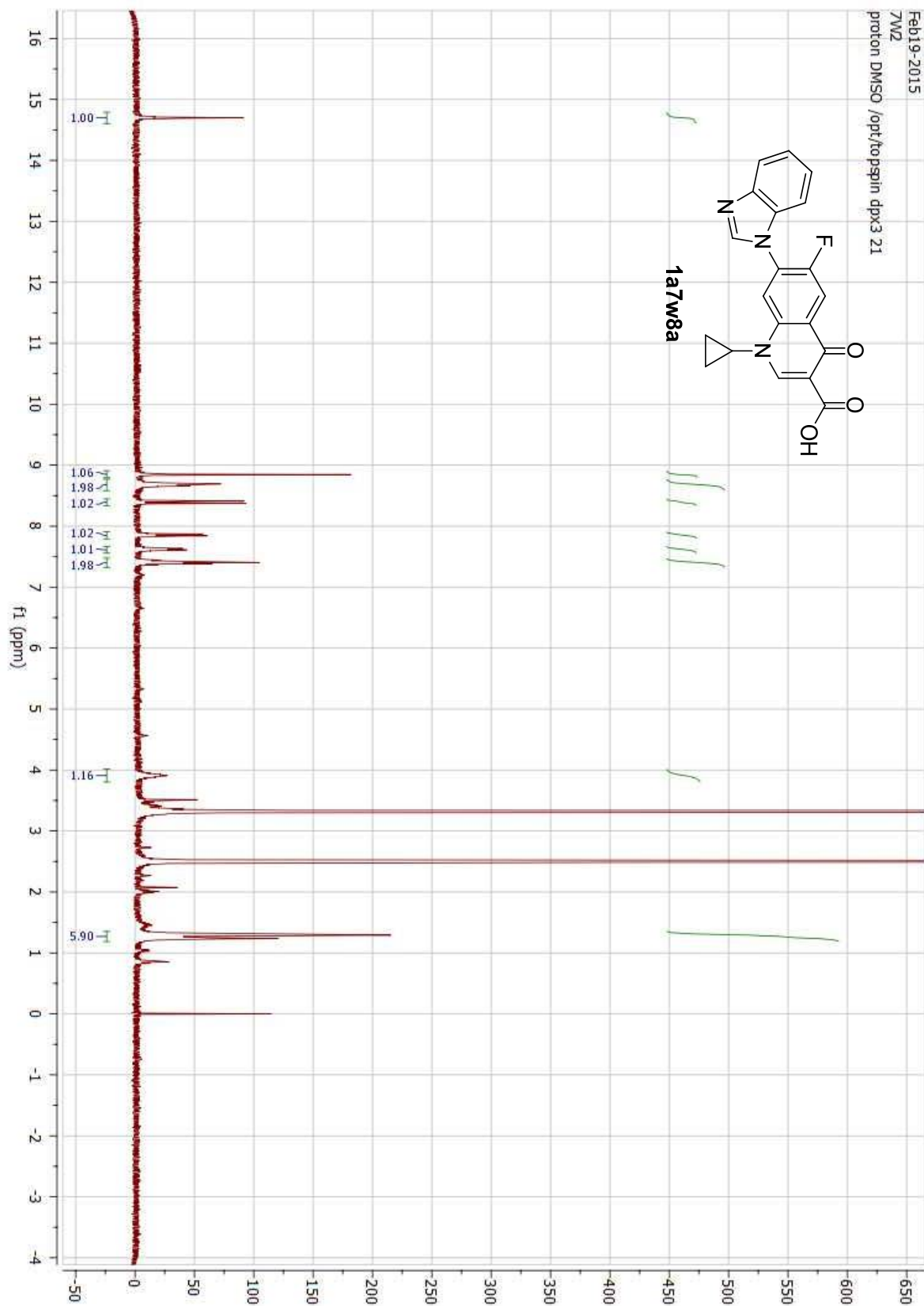
• 1a7w8a IR



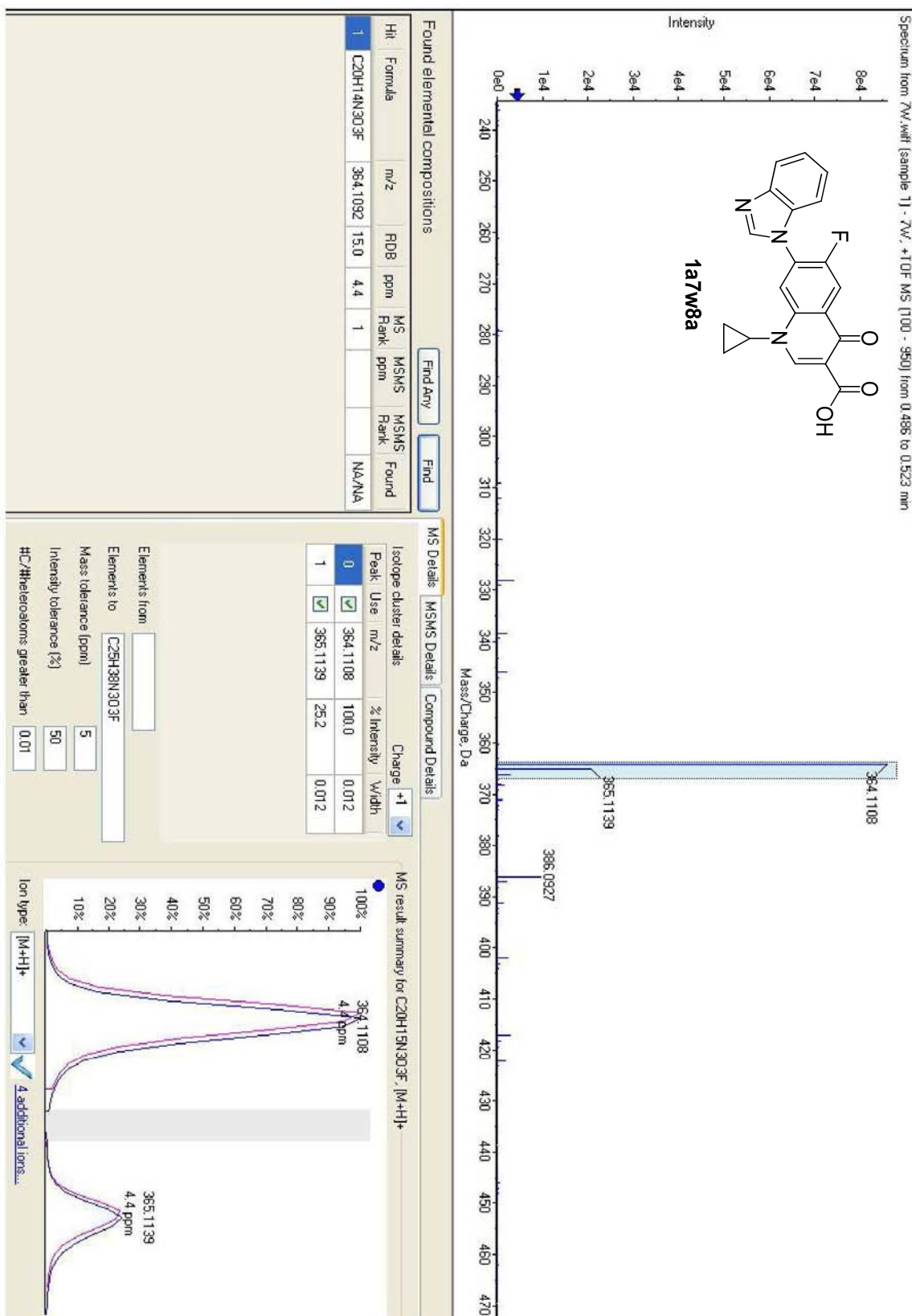
1a7w8a

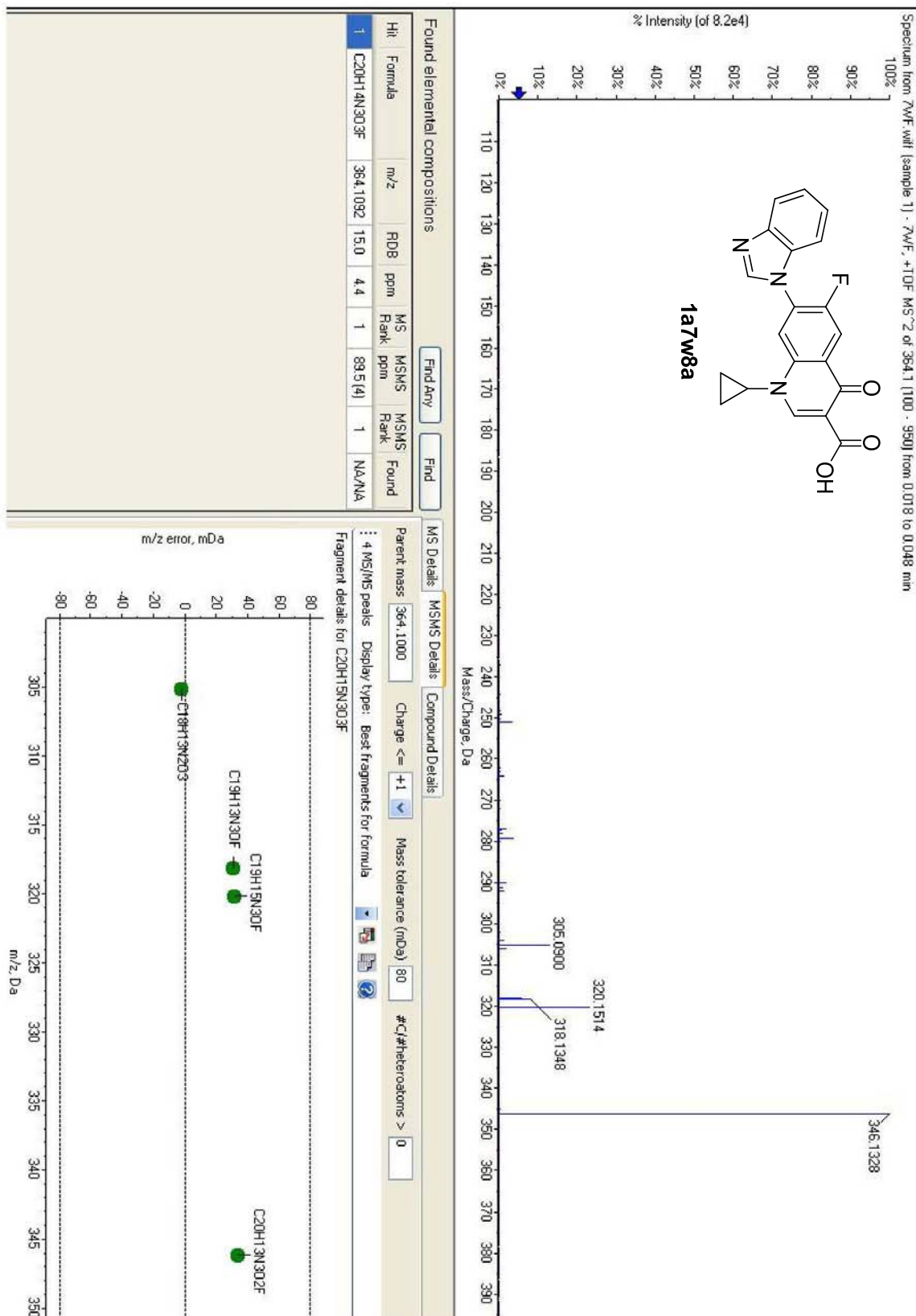
Número de pico	X (cm <sup>-1</sup> )	Y (% T)
1	3066,64	90,29
2	1712,91	77,78
3	1616,99	73,11
4	1504,51	60,80
5	1479,92	65,98
6	1447,08	66,20

• 1a7w8a <sup>1</sup>H (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)

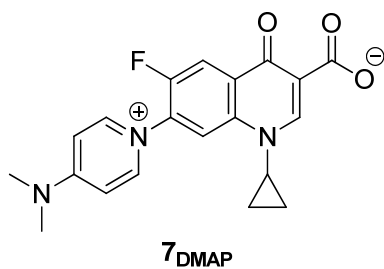
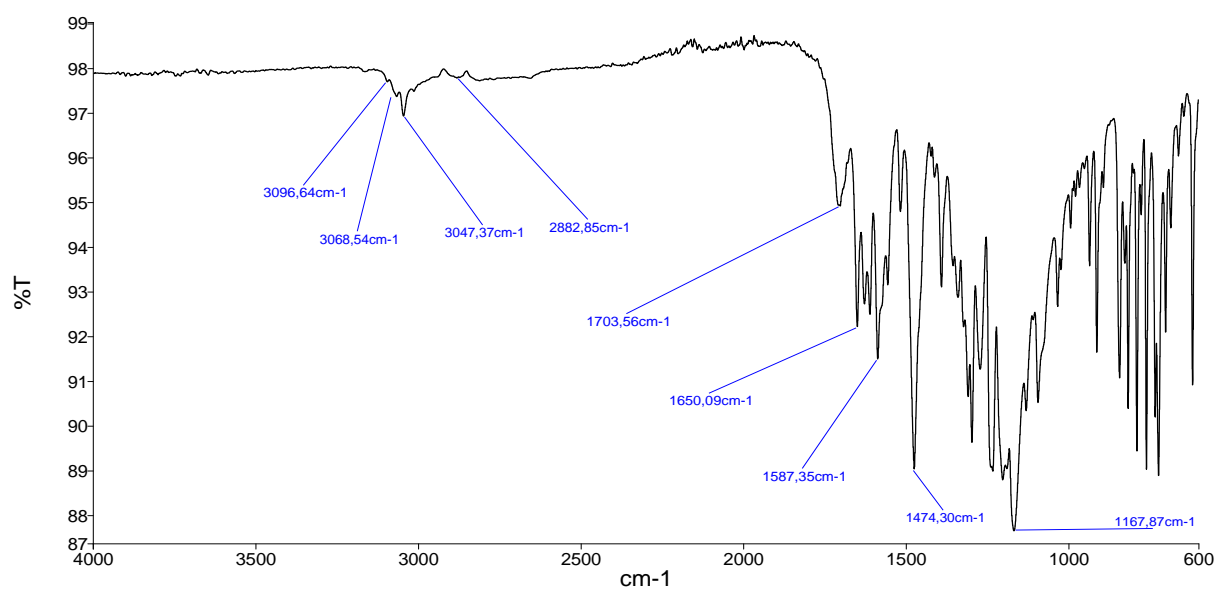


• 1a7w8a Masas



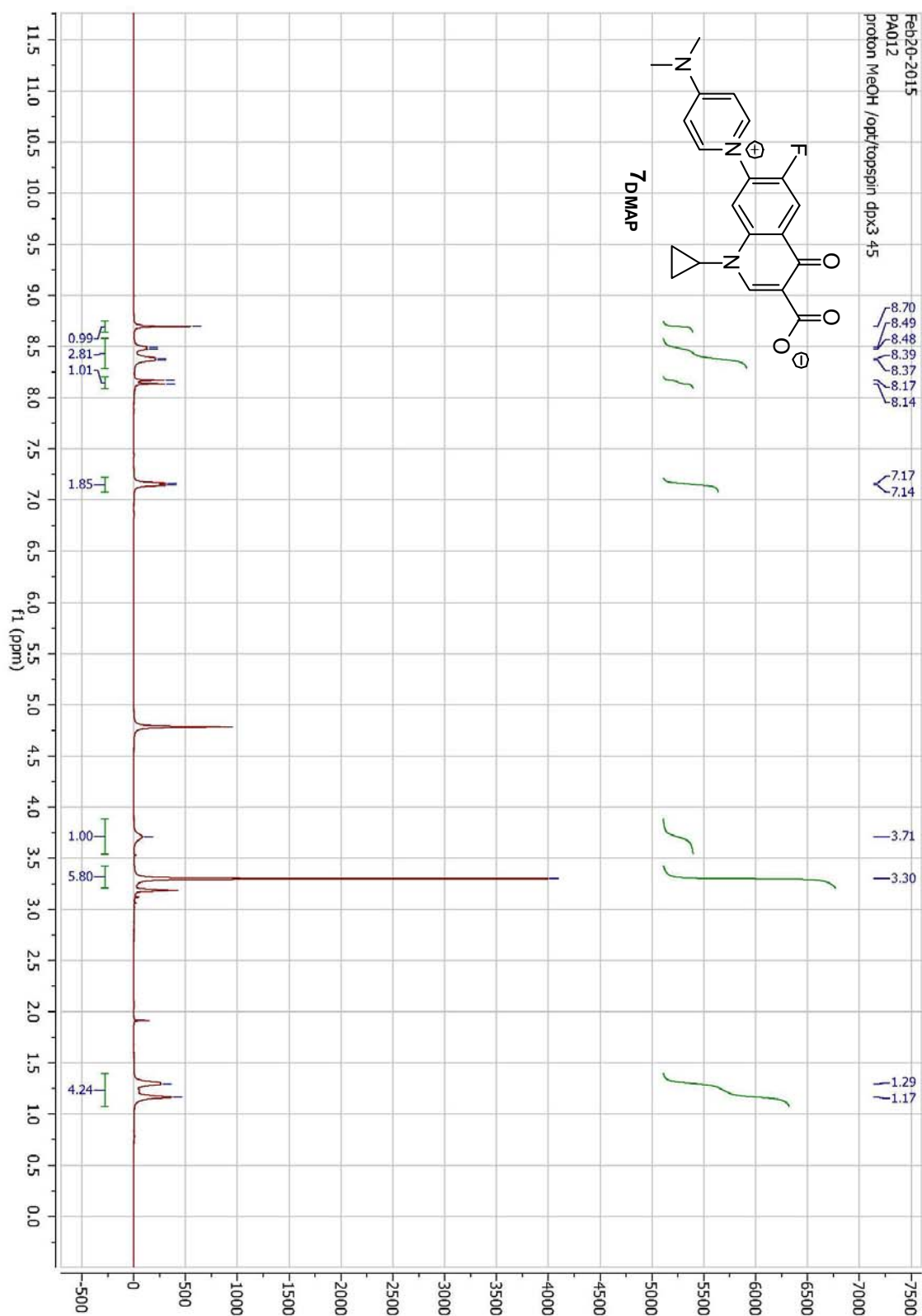


• 7<sub>D</sub>MAP IR

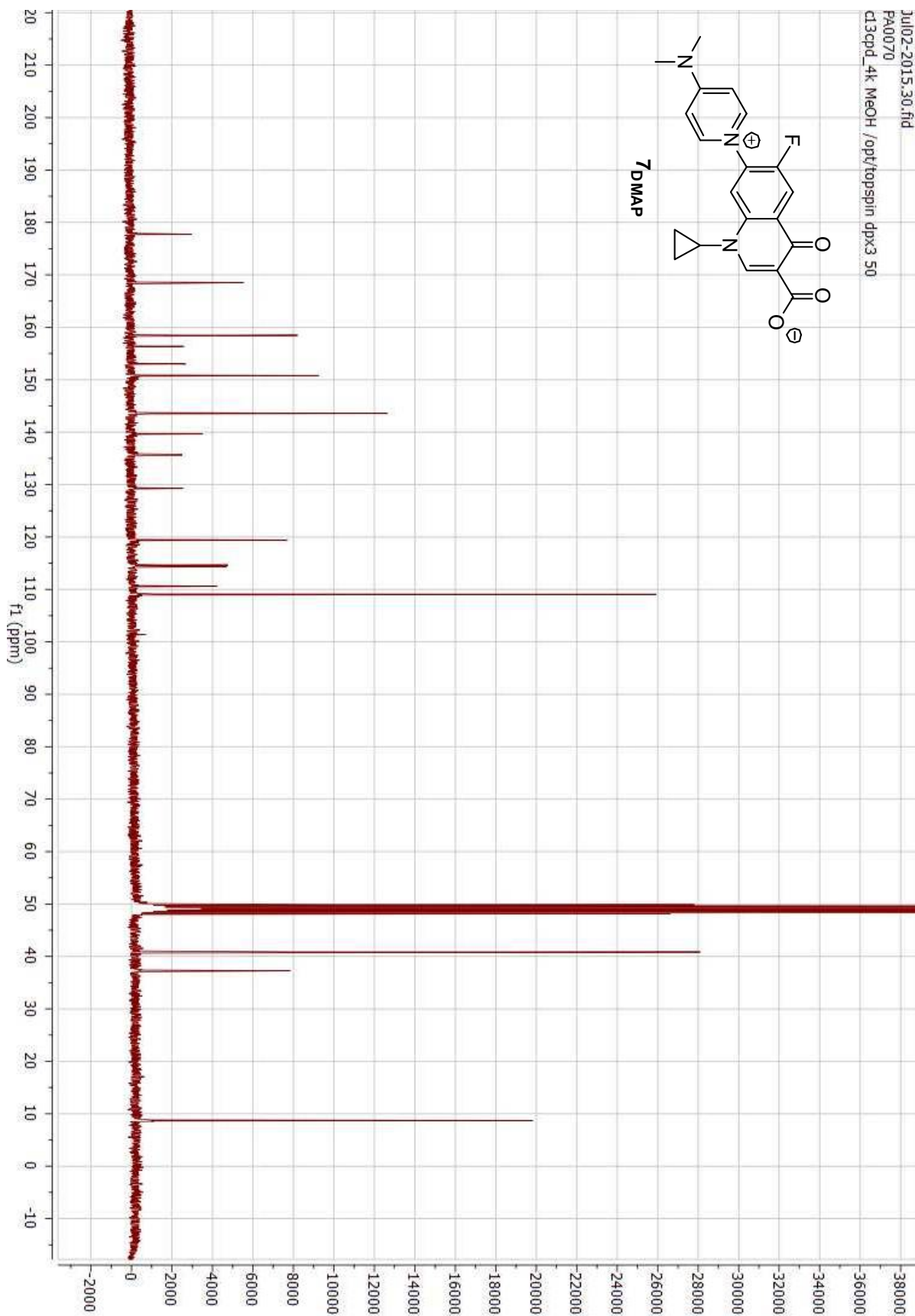


Número de pico	X (cm <sup>-1</sup> )	Y (% T)
1	3096,64	97,72
2	3068,54	97,39
3	3047,37	96,95
4	2882,85	97,81
5	1703,56	94,94
6	1650,09	92,23
7	1587,35	91,51
8	1474,30	89,04
9	1167,87	87,65

- $^7\text{DMAP}$   $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )

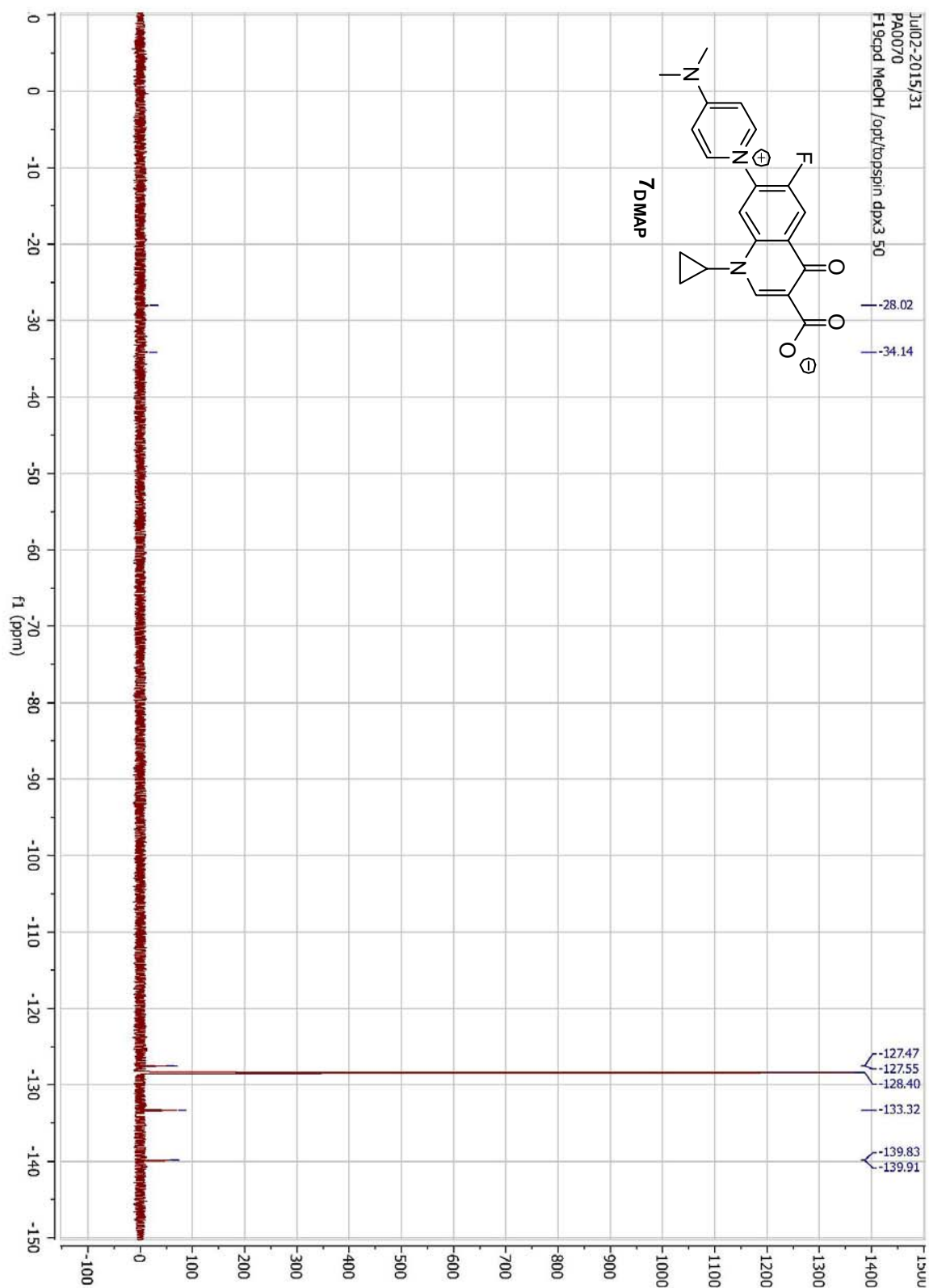


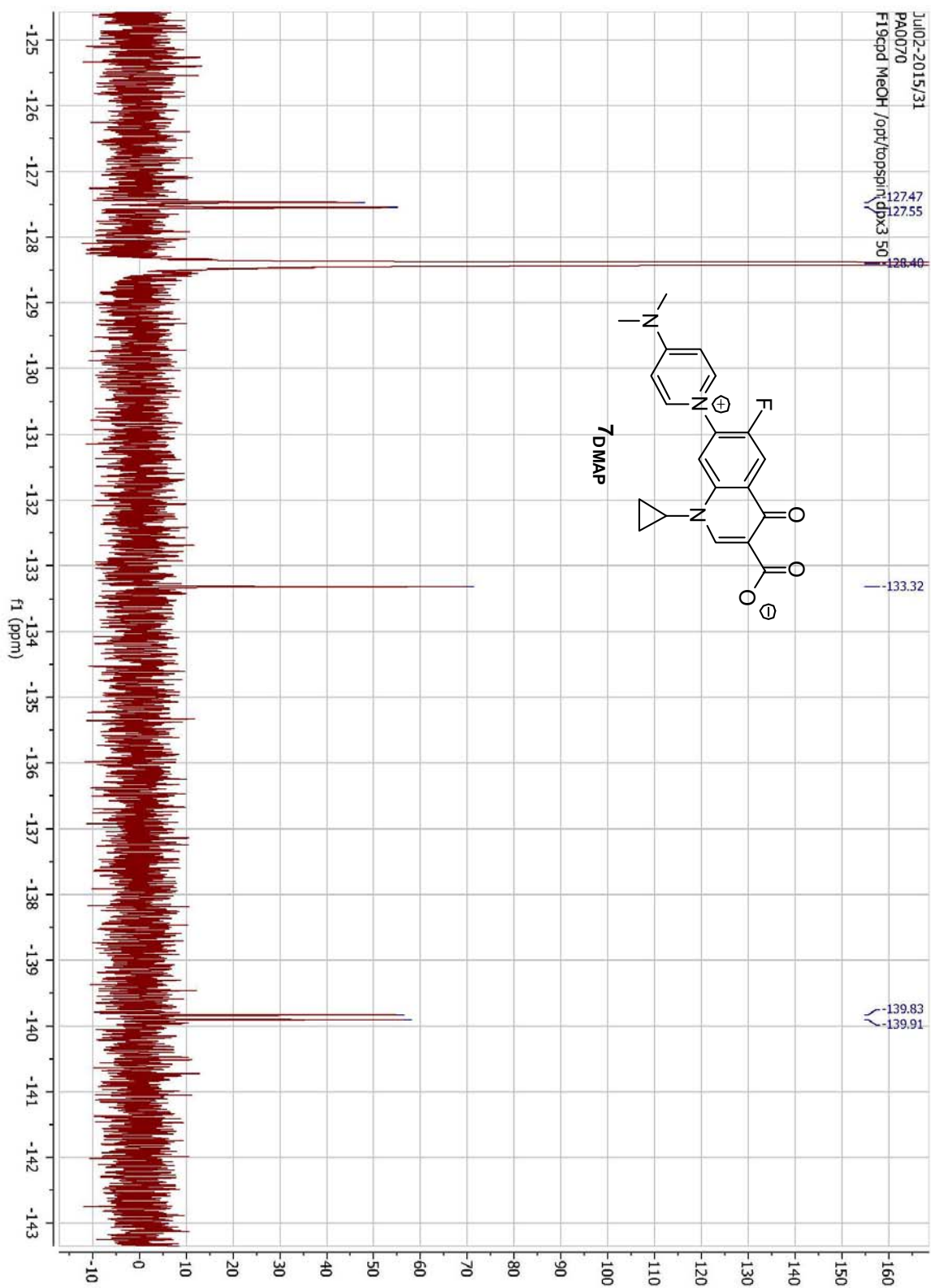
• 7<sub>DMAP</sub> <sup>13</sup>C (CD<sub>3</sub>OD)



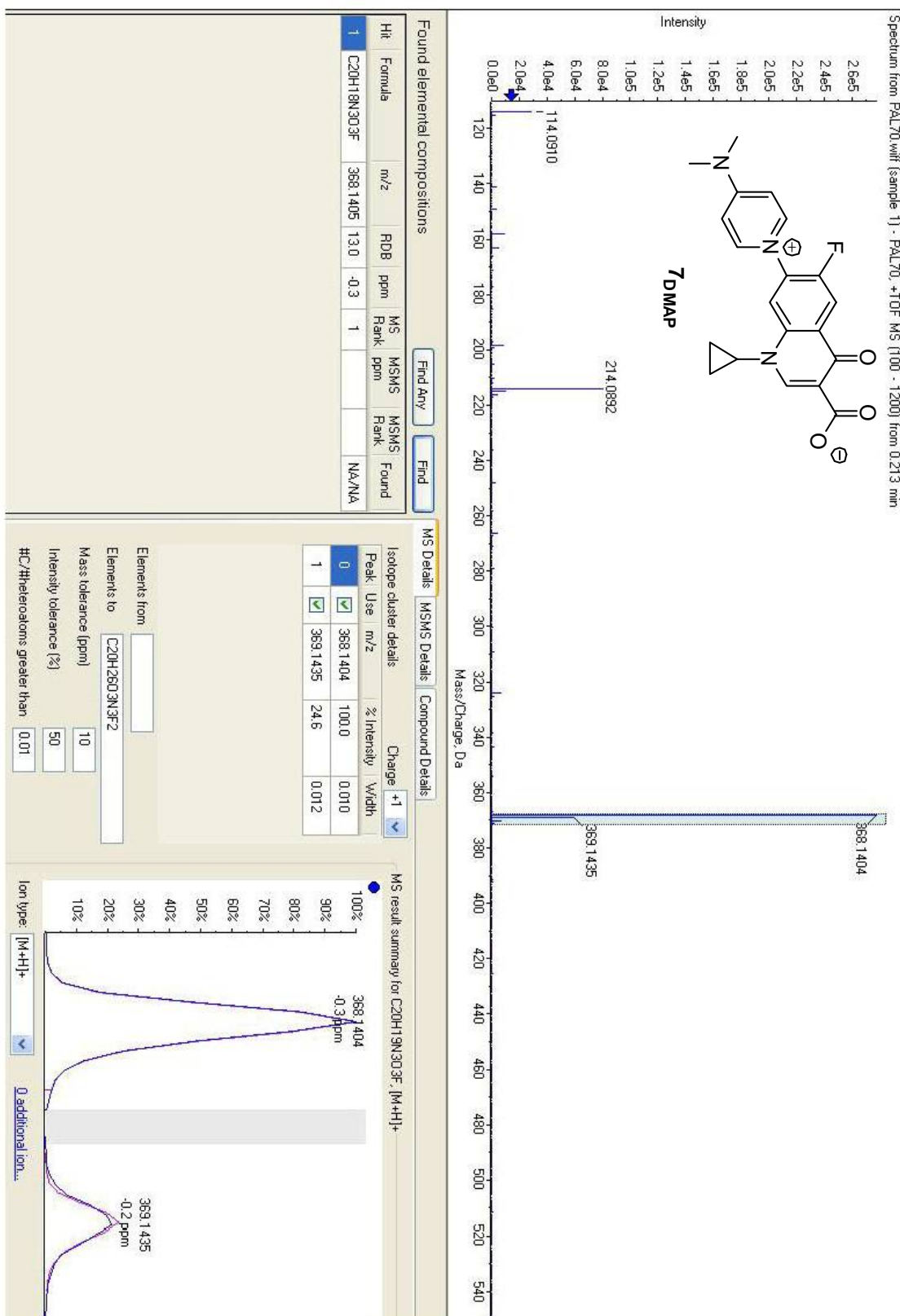


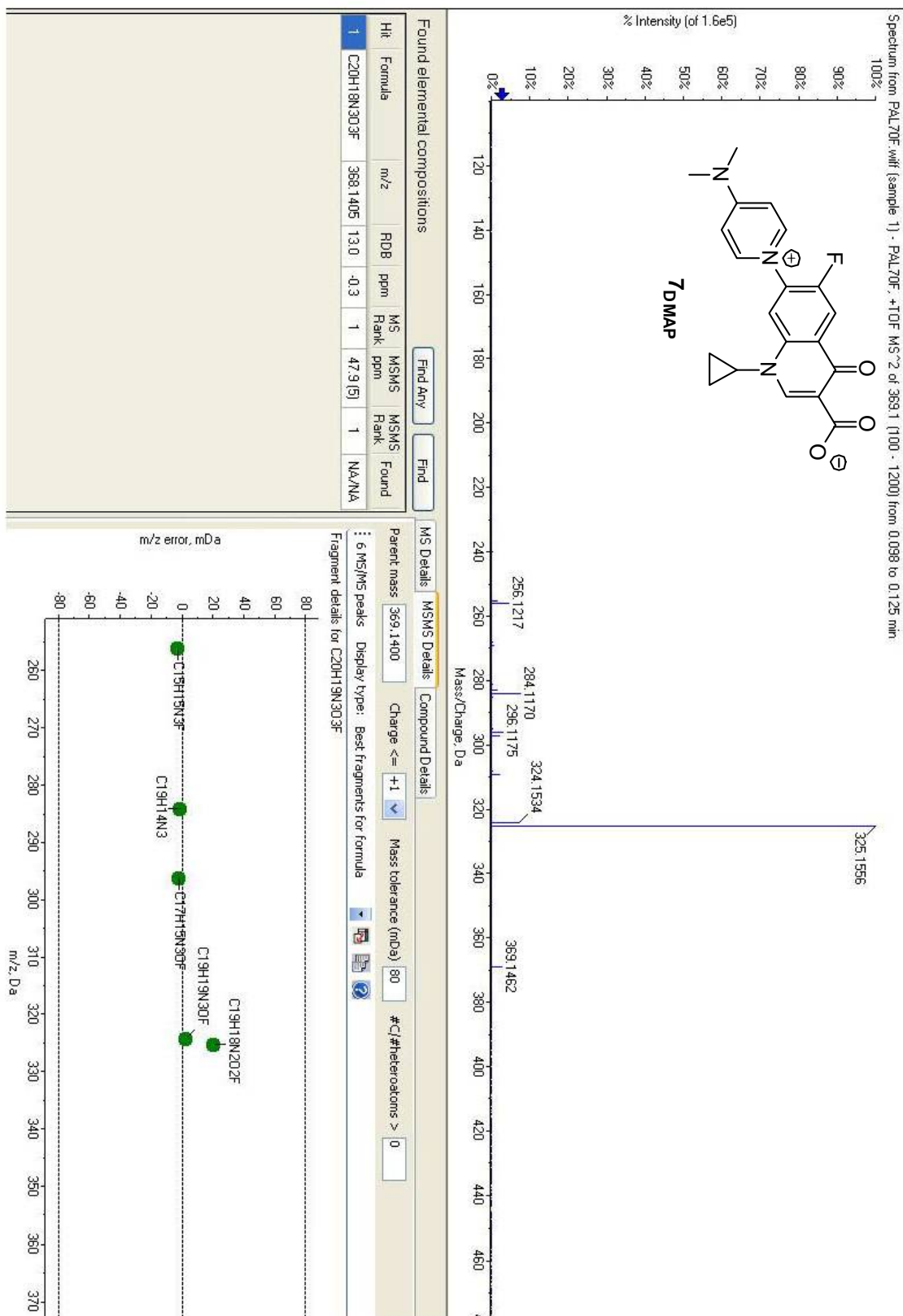
- $7_{\text{DMAP}}^{19}\text{F}$  (282 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )





- 7DMAP Masas





## **CAPÍTULO 5**



## ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS

### 1. MICROORGANISMO

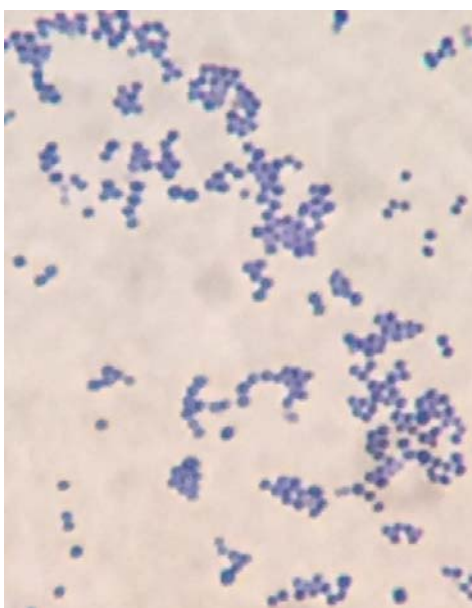
La cepa microbiana de referencia que se ha utilizado en los ensayos microbiológicos ha sido la bacteria *Staphylococcus aureus* CECT 5190, obtenida en la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT). Esta cepa se corresponde con la bacteria *S. aureus* subsp. *aureus* Rosenbach 1884, que pertenece al grupo de riesgo biológico 2 y es resistente a la meticilina (SARM). Se reconstituyó en caldo nutritivo y de ahí se sembró en Tripticasa Soja Agar (TSA) (**Figura 5.1**).



**Figura 5.1.** Siembra en triple estría en TSA de *S. aureus* CECT 5190.

### 1.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE SARM

El género *Staphylococcus* está formado por cocos Gram positivos, con un diámetro de 0,5 a 1,5  $\mu\text{m}$ , agrupados formando racimos (**Figura 5.2**). Son bacterias inmóviles, no esporuladas, no capsuladas y anaerobias facultativas. Las colonias de *Staphylococcus aureus* son lisas, elevadas, brillantes y de bordes enteros, presentando consistencia cremosa y pigmentación que va del amarillo al naranja debido a la producción de carotenoides<sup>263</sup> (**Figura 5.1**).



**Figura 5.2.** Tinción de Gram de *S. aureus* CECT 5190 (x100).

Los SARM se identificaron de forma casi inmediata tras la introducción de la meticilina en terapéutica.<sup>264</sup> Estas bacterias poseen una gran capacidad para sobrevivir en ambientes adversos, y se introducen en el medio hospitalario a través de pacientes, visitantes y/o trabajadores sanitarios. El reservorio fundamental lo forman los pacientes ingresados que están infectados, extendiéndose a otros pacientes principalmente por medio de las manos del personal sanitario.<sup>265</sup>

---

263 Cervantes-García E, García-González R, Salazar-Schettino PM. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev. Latinoam. Patol. Clin. Med. Lab.*, **2014**; 61(1): 28-40.

264 Jevons PM. "Celbenin"-resistant *staphylococci*. *Br. Med. J.*, **1961**; 1(5219): 124-5.

265 Pujol M, Peña C, Pallares R, Ayats J, Ariza J, Gudiol F. Risk factors for nosocomial bacteremia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **1994**; 13(1): 96-102.



Estas bacterias producen enfermedad por invasión directa o mediante la acción de toxinas. La infección se produce generalmente en zonas con alteraciones previas de la barrera mucocutánea, e incluye: colonización, invasión epitelial o mucosa, neutralización de las defensas del huésped, destrucción tisular y respuesta inflamatoria local o generalizada. En las intoxicaciones, la fase inicial es la colonización por una cepa toxicogénica, seguida por la producción de la toxina, su absorción y la aparición de la enfermedad. Los principales factores de virulencia de este microorganismo se basan en los componentes de su pared bacteriana, en la gran cantidad de enzimas y toxinas que produce y en su capacidad, en determinadas circunstancias, de supervivencia intracelular.<sup>266</sup>

La morbilidad es variable y depende de factores propios del huésped, del tipo de infección y de la precocidad del tratamiento. Si bien la mayoría de estas infecciones afectan a la piel y tejidos blandos, estos organismos también son capaces de producir enfermedades devastadoras en ciertos pacientes. Entre estas infecciones se encuentran la fascitis necrotizante, la tromboflebitis séptica de las extremidades, el síndrome de Waterhouse-Frederickson y la neumonía progresiva rápida.<sup>267</sup>

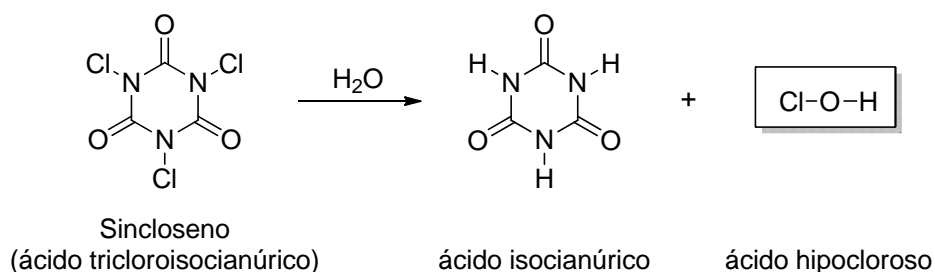
---

266 Goldstein FW, Kitzis MD. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: no apocalypse now. *Clin. Microbiol. Infect.*, **2003**; 9(8): 761-5.

267 Moellering RC Jr. MRSA: the first half century. *J. Antimicrob. Chemother.*, **2012**; 67(1): 4-11.

## 2. SELECCIÓN DE LOS COMPUESTOS COMERCIALES A ENSAYAR

De los 34 productos teóricamente activos procedentes de la base de datos Index Merck, se descartaron 10, puesto que 9 de ellos ya habían demostrado actividad antibacteriana frente a SARM en otros estudios (Capítulo 2, **Tabla 2.28**) y el sincloseto (ácido tricloroisocianúrico). Este último es un agente desinfectante de tanques de agua, piscinas, baños, etc., que también fue descartado ya que su actividad no se debe a su unión directa a un receptor. El sincloseto se hidroliza a ácido isocianúrico, y ácido hipocloroso, que es el verdadero agente activo<sup>268</sup> (**Esquema 5.1**).

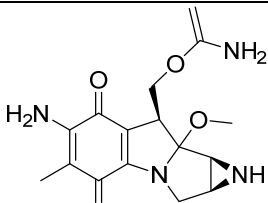

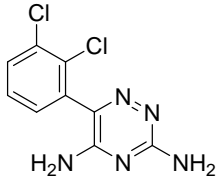


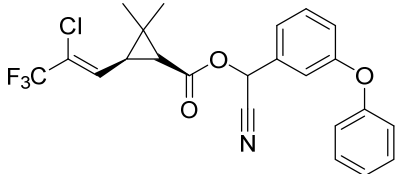

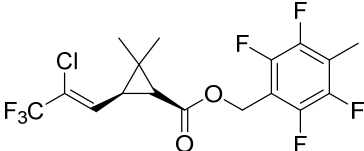



**Esquema 5.1.** Hidrólisis del sincloseto.

Como nuestra finalidad inicial ha sido verificar experimentalmente el modelo de predicción de actividad frente a SARM y no su aplicación directa como antibacteriano, en la selección de los compuestos, no se tuvo en cuenta su posible toxicidad, por lo que se solicitaron muestras de los 24 compuestos restantes a diversas empresas de diferentes ámbitos, hospitalario, agrícola y químico, que comercializaban o trabajaban con estos compuestos. Finalmente, se consiguieron muestras de 4 compuestos: **mitomicina C**, **lamotrigina**,  **$\lambda$ -cihalotrina** y **teflutrina**, que fueron cedidos sin compromiso alguno para ser utilizados exclusivamente para investigación, para realizar ensayos *in vitro* con SARM. En la **tabla 5.1** se muestran la estructura de los compuestos, así como la empresa suministradora y otras características.

<sup>268</sup> Golaszewski G, Seux R The kinetics of the action of chloroisocyanurates on three bacteria: *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus faecalis* and *Staphylococcus aureus*. *Water Res.*, **1994**; *28*(1):207-17.

Tabla 5.1. Características de los compuestos ensayados.<sup>223</sup>

Compuesto	Empresa	Punto fusión	Solubilidad	Toxicidad
 <p><b>Mitomicina C</b></p>	 Inibsa Hospital SLU	360 °C	Soluble en agua, metanol, acetona, butil acetato y ciclohexanona; poco soluble en benceno, CCl <sub>4</sub> , éter.	LD <sub>50</sub> en ratones: 5-9 mg/kg i.v.
 <p><b>Lamotrigina</b></p>	 Galenicum Health SL  <b>MENADIONA</b> Menadiona SL	216-8 °C	0,17 g/L en agua; 4,1 g/l en HCl 0,1 M a 25°C	LD <sub>50</sub> en ratones/ratas (mg/kg): 250/>640 v.o.
 <p><b>λ-Cihalotrina</b></p>	 Syngenta AG	49,2 °C	4-5×10 <sup>-3</sup> mg/L en agua; soluble en disolventes comunes a 21 °C	LD <sub>50</sub> en ratas (mg/kg): 56-79 v.o.; 632-96 v.d.
 <p><b>Teflutrina</b></p>	 Syngenta AG	44 °C	0,02 mg/L en agua; >500 g/L en acetona, diclorometano, hexano y tolueno.	LD <sub>50</sub> en ratas (mg/kg): 35 v.o.; 200-1000 v.d.

### 3. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES EXPERIMENTALES DE LOS COMPUESTOS A ENSAYAR

Antes de realizar los ensayos microbiológicos, los compuestos se sometieron a ensayos de solubilidad. En el caso de las quinolonas comerciales y sintetizadas, el disolvente más idóneo fue una mezcla de agua y NaOH 1 M en proporciones variables según la solubilidad de cada quinolona, tal y como recomienda la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC).<sup>269</sup> Para los productos comerciales, se utilizó agua para disolver la **mitomicina C**, puesto que es soluble a la concentración requerida para llevar a cabo los ensayos. Tanto para las quinolonas como para la **mitomicina C** se preparó una única disolución madre y se hicieron las diferentes diluciones con caldo nutritivo (**Tabla 5.2**).

Para los compuestos restantes (**lamotrigina**, **teflutrina** y  **$\lambda$ -cihalotrina**), por tratarse de compuestos más apolares, se utilizó el dimetilsulfóxido (DMSO) como disolvente, teniendo en cuenta que la concentración final de DMSO en el medio de cultivo a la hora de realizar los ensayos no sobrepasara el 1 % para evitar interferencias de actividad<sup>270</sup> (**Tabla 5.2**). Además, como en estas condiciones los compuestos seguían siendo insolubles en el caldo nutritivo, éste se suplementó con polisorbato 80 al 0,05 % para aumentar la solubilidad, siguiendo las normas de la CLSI.<sup>185</sup>

---

269 García RA, Cantón R, García SJE, Gómez-Lus ML, Martínez ML, Rodríguez-Avial C, Vila J. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (2000).

270 Wadhvani T, Desai K, Patel D, Lawani D, Bahaley P, Joshi P, Kothari V. Effect of various solvents on bacterial growth in context of determining MIC of various antimicrobials. *Internet J. Microbiol.*, 2009; 7(1).

**Tabla 5.2.** Cantidad de compuesto, disolvente y diluyente utilizados para realizar los ensayos.

<b>Compuesto</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Disolvente<sup>a</sup></b>	<b>Diluyente</b>
<b>Ciprofloxacino</b>	12,8 mg	2 mL NaOH 1 M + 8mL H <sub>2</sub> O	Caldo nutritivo
<b>1a7a8a</b>	12,8 mg	0,5 mL NaOH 1 M + 9,5 mL H <sub>2</sub> O	Caldo nutritivo
<b>1a7Cl8a</b>	12,8 mg	10 mL NaOH 1 M	Caldo nutritivo
<b>1a7h8a</b>	12,8 mg	10 mL NaOH 1 M	Caldo nutritivo
<b>1a7l8a</b>	12,8 mg	0,5 mL NaOH 1 M + 9,5 mL H <sub>2</sub> O	Caldo nutritivo
<b>1a7t8a</b>	12,8 mg	5 mL NaOH 1 M + 5 mL H <sub>2</sub> O	Caldo nutritivo
<b>1a7w8a</b>	12,8 mg	3 mL NaOH 1 M + 7 mL H <sub>2</sub> O	Caldo nutritivo
<b>7<sub>DMAP</sub></b>	12,8 mg	10 mL H <sub>2</sub> O	Caldo nutritivo
<b>Lamotrigina</b>	25,6 mg	1 mL DMSO	Caldo nutritivo + polisorbato 80 (0,05 %)
<b>Mitomicina C</b>	10,0 mg	10 mL H <sub>2</sub> O	Caldo nutritivo
<b>Teflutrina</b>	25,6 mg	1 mL DMSO	Caldo nutritivo + polisorbato 80 (0,05 %)
<b>λ-Cihalotrina</b>	25,6 mg	1 mL DMSO	Caldo nutritivo + polisorbato 80 (0,05 %)

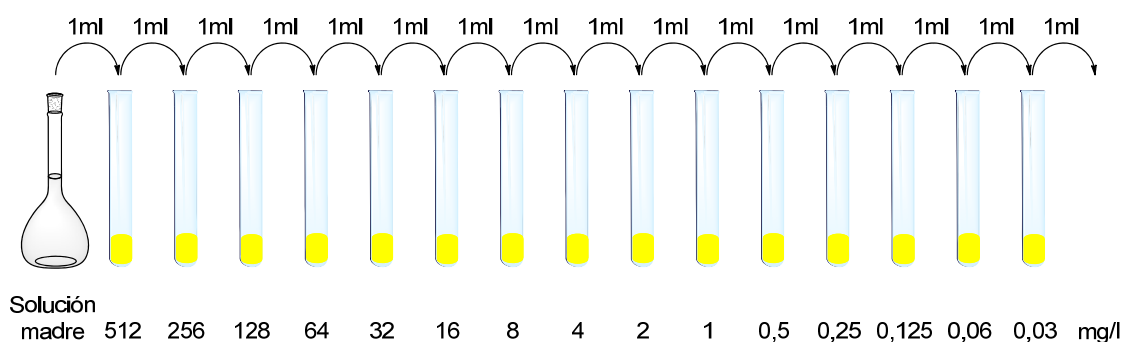
a. En el caso de las quinolonas se añadió esa cantidad de NaOH 1M hasta su completa disolución enrasando a 10 mL con agua.

#### 4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

##### 4.1. DISOLUCIÓN DE LOS COMPUESTOS EN EL MEDIO DE CULTIVO

##### 4.1.1. COMPUESTOS DISUELTOS EN DISOLUCIONES ACUOSAS. QUINOLONAS Y MITOMICINA C

Se preparó una batería de tubos con 1 mL de caldo nutritivo sin antimicrobiano. A partir de la solución madre de cada producto, preparada en el momento del ensayo, se añadió 1 mL de solución madre diluida en caldo nutritivo al primer tubo hasta conseguir la concentración más alta a estudiar (512 mg/L). Tras mezclar adecuadamente, se pasó 1 mL al siguiente tubo; el proceso se repitió hasta la concentración mínima a ensayar (0,03125 mg/L), eliminando del último tubo de la serie 1 mL de medio con antimicrobiano, con objeto de mantener el volumen final de 1 mL<sup>269</sup> (Figura 5.3).



**Figura 5.3.** Diluciones necesarias para conseguir concentraciones comprendidas entre 512 y 0,03125 mg/L en disoluciones acuosas.

##### 4.1.2. COMPUESTOS DISUELTOS EN DMSO. LAMOTRIGINA, TEFLUTRINA Y λ-CIHALOTRINA

Las soluciones madre se prepararon a una concentración 50 veces mayor que la concentración más alta a ensayar (512 mg/L). Se realizaron las diluciones necesarias para conseguir concentraciones comprendidas entre 512 y 0,03125 mg/L conforme a lo establecido en la **tabla 5.3**. Se mezclaron 20 µL de cada dilución y 980 µL de caldo nutritivo suplementado con polisorbato 80 al 0,002 % (v/v), de forma que la concentración final de DMSO en los tubos con antimicrobiano, de 1 mL en total, fuera del 1 % tras añadir 1 ml de cultivo bacteriano en un paso posterior.<sup>185</sup>

**Tabla 5.3.** Pasos a seguir para preparar diluciones de agentes insolubles en agua para ser utilizados en las pruebas de susceptibilidad de dilución en caldo nutritivo.

Paso	Conc. (mg/L)	Origen	Origen + DMSO ( $\mu$ L)		Conc. intermedia (mg/L)	Conc. final (mg/L)
1	51200	Madre			51200	512
2	51200	Madre	100	100	25600	256
3	51200	Madre	100	300	12800	128
4	51200	Madre	100	700	6400	64
5	6400	Paso 4	100	100	3200	32
6	6400	Paso 4	100	300	1600	16
7	6400	Paso 4	100	700	800	8
8	800	Paso 7	100	100	400	4
9	800	Paso 7	100	300	200	2
10	800	Paso 7	100	700	100	1
11	100	Paso 10	100	100	50	0,5
12	100	Paso 10	100	300	25	0,25
13	100	Paso 10	100	700	12,5	0,125
14	12,5	Paso 13	100	100	1,56	0,06
15	12,5	Paso 13	100	300	1,56	0,03

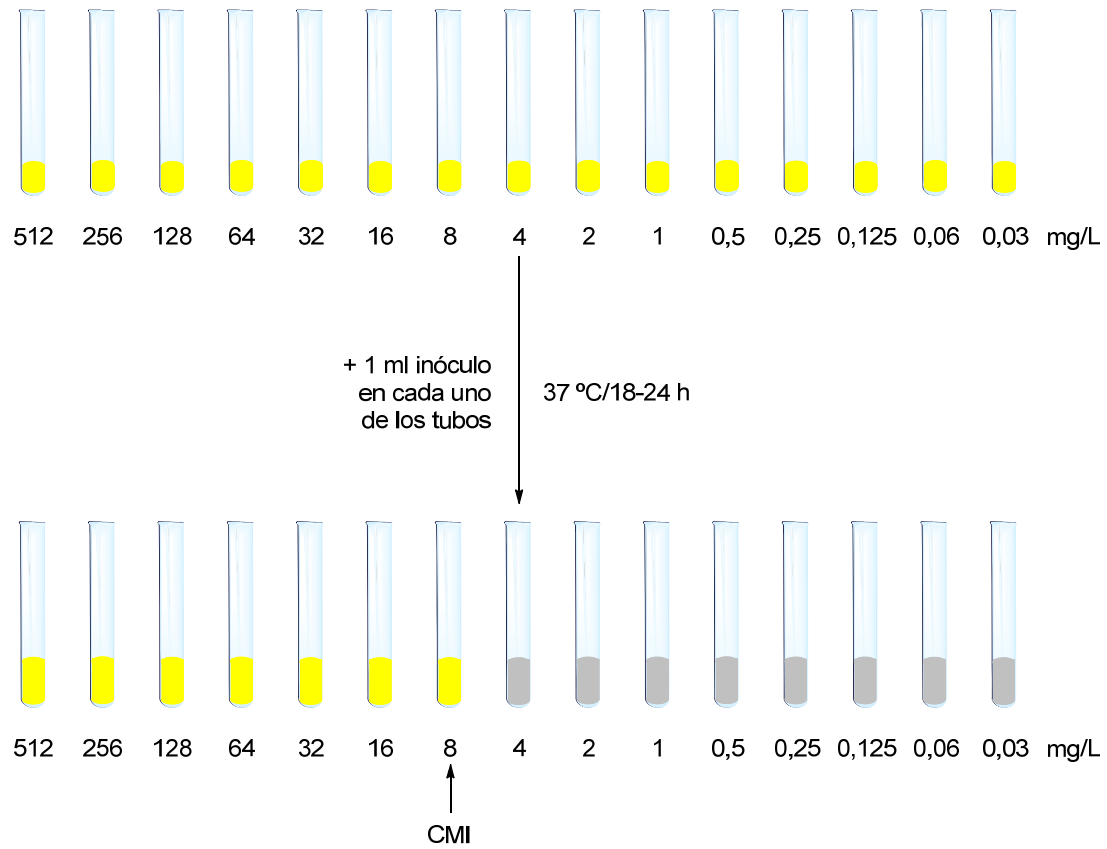
## 4.2. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

### 4.2.1. PREPARACIÓN DEL CULTIVO BACTERIANO

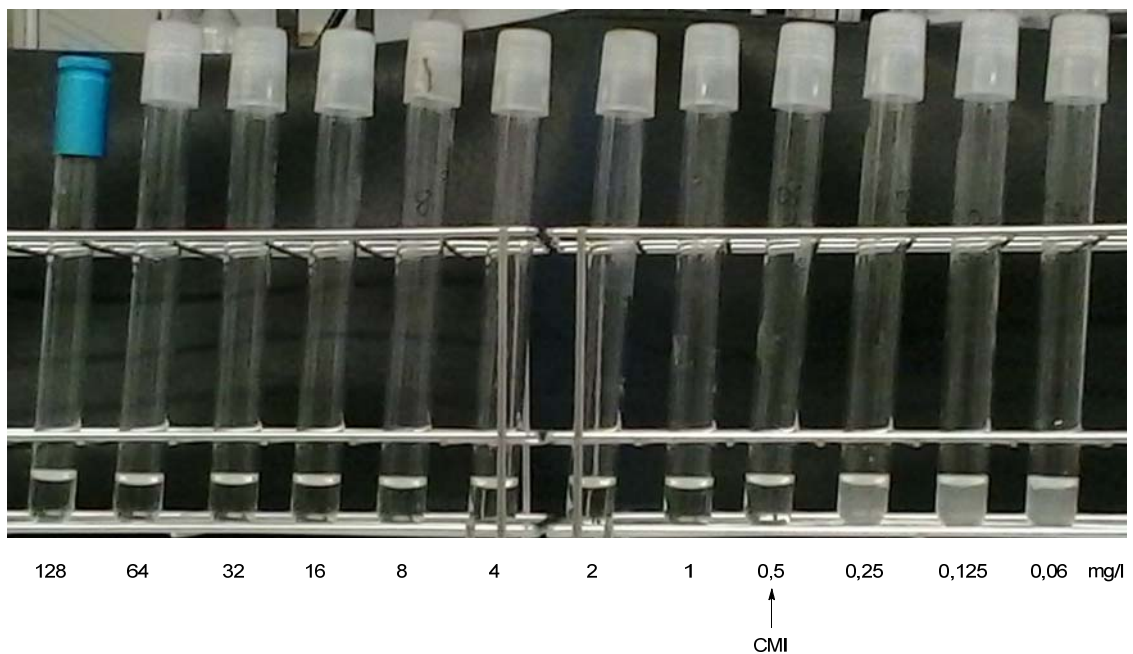
Se tomaron con un asa de siembra de 3 a 4 colonias y se introdujeron en un tubo con solución salina estéril para obtener una turbidez estándar de 0,5 McFarland ( $1 \times 10^8$  UFC/mL) mediante nefelómetro (BBL CrystalSpec; Becton, Dickinson and Company, USA). A partir de este tubo, se tomaron 0,2 mL del inóculo con una micropipeta y se introdujeron en un tubo de vidrio con 19,8 mL de caldo nutritivo (Scharlau Chemie SA, España).

### 4.2.2. DETERMINACIÓN DE LA CMI

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se corresponde con la concentración más baja en la que no hay crecimiento visible del microorganismo, es decir, que no presenta turbidez (**Figura 5.4**). Para la determinación de la CMI pusimos 1 ml del cultivo bacteriano en cada uno de los tubos preparados en el apartado anterior y se incubaron en estufa a 37 °C durante 18-24 horas. Transcurrido ese tiempo de incubación se procedió a la lectura de los resultados (**Figura 5.5**).



**Figura 5.4.** Detección de la CMI mediante la técnica de macrodilución en caldo. Color Gris: tubos con crecimiento (turbidez). Color amarillo: tubos sin crecimiento (turbidez).



**Figura 5.5.** Detección de la CMI (0,5 mg/L) del compuesto **1a7w8a** tras incubación en estufa a 37 °C/18-24 h.

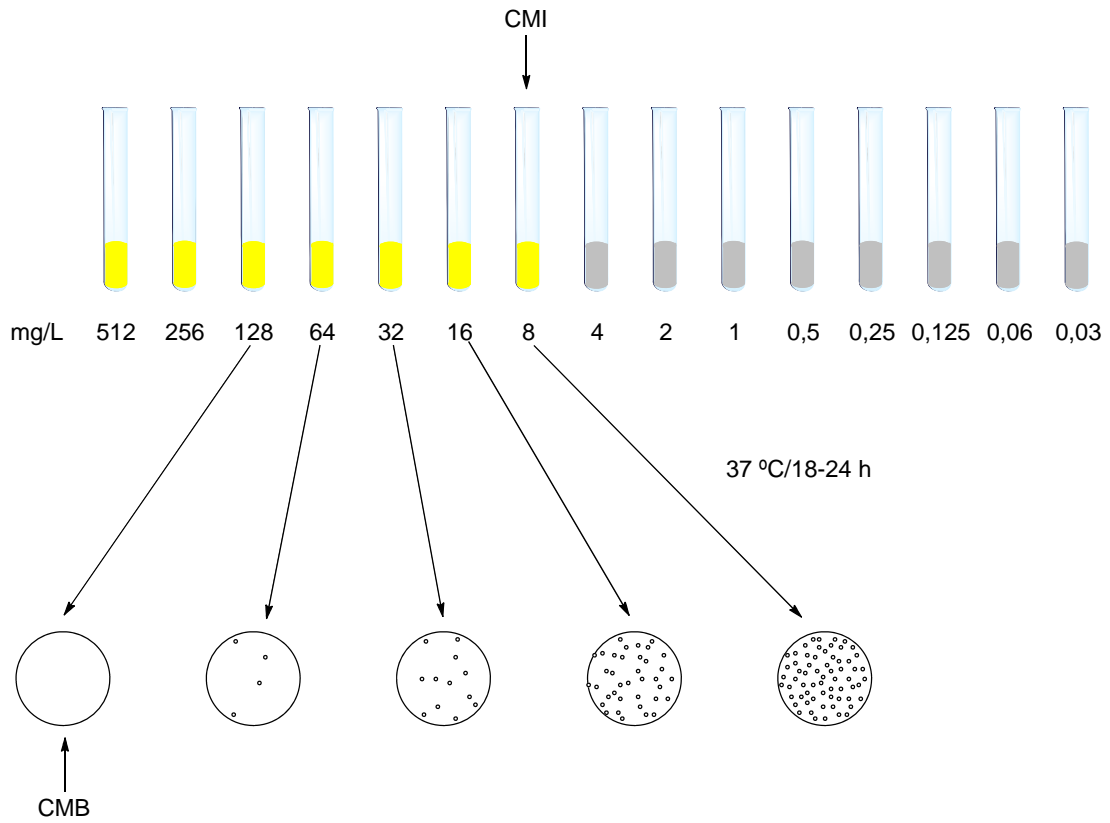


Puesto que la determinación de la actividad antimicrobiana se realiza utilizando una escala discontinua (en este caso, en concentraciones decrecientes en base 2), los valores de CMI reales de un determinado antimicrobiano se encontrarán en algún valor situado entre la CMI experimental obtenida y la concentración inmediatamente inferior.<sup>269</sup>

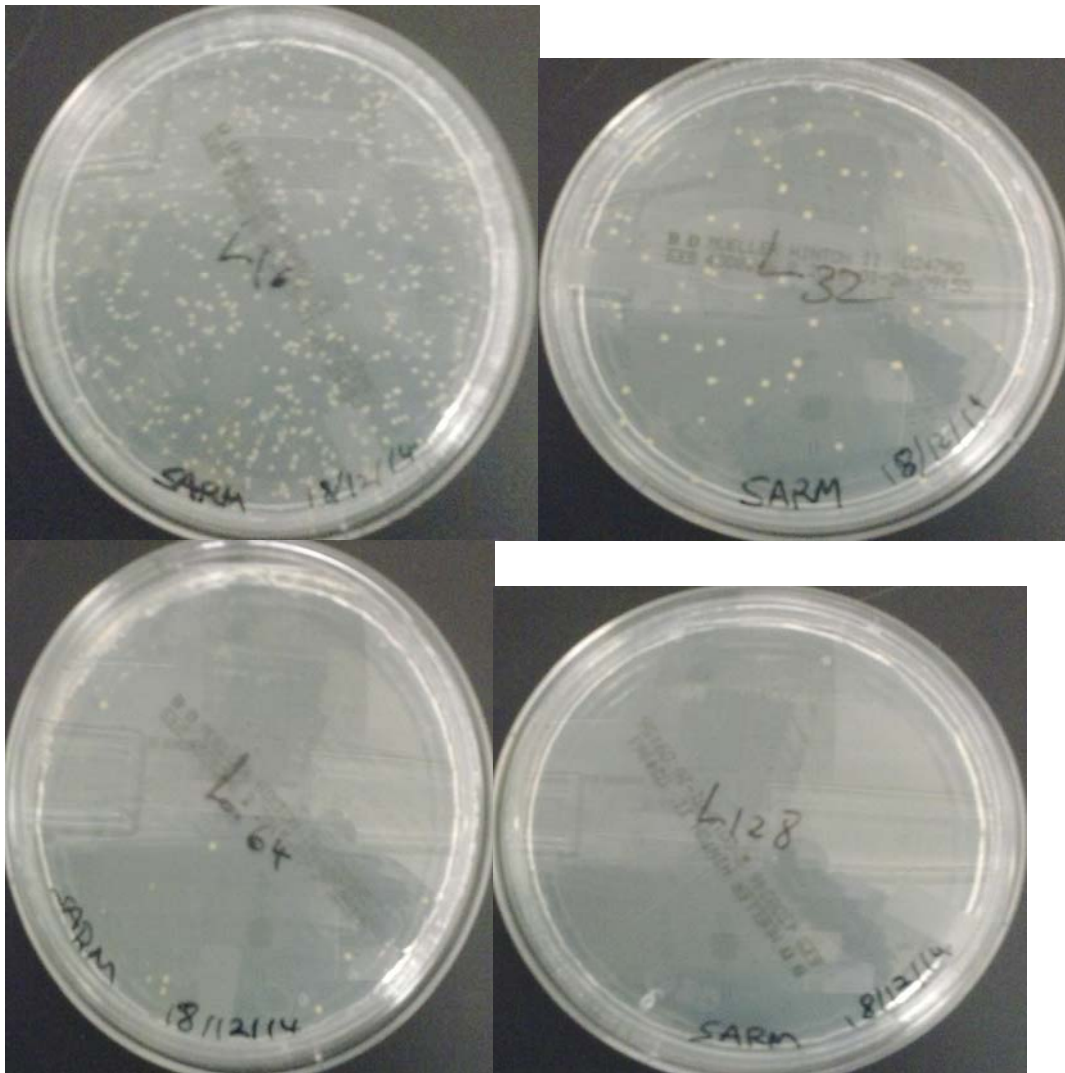
#### 4.2.3. DETERMINACIÓN DE LA CMB

La concentración mínima bactericida (CMB) se define como la menor concentración de antimicrobiano capaz de matar o destruir el 99,9 % de los microorganismos presentes en el medio, ya que una pequeña población (no más del 0,01 %) puede resistir a la acción bactericida debido al fenómeno de la persistencia<sup>269</sup> (**Figura 5.6**).

A partir de cada uno de los tubos sin crecimiento bacteriano visible del ensayo de detección de la CMI, se inocularon 0,1 mL en una placa de agar Mueller-Hinton (Difco; Becton, Dickinson and Company, USA) y se extendió el inóculo por siembra masiva con una torunda. Se incubaron las placas en estufa a 37 °C durante 18-24 h y se procedió a la lectura. La CMB se correspondió con la placa del tubo que se sembró en la que no hubo crecimiento bacteriano para cada compuesto<sup>269</sup> (**Figura 5.7**). Todos los ensayos se realizaron por triplicado.



**Figura 5.6.** Detección de la CMB mediante la técnica de macrodilución en caldo para un compuesto con una CMI de 8 mg/L y una CMB de 128 mg/L.



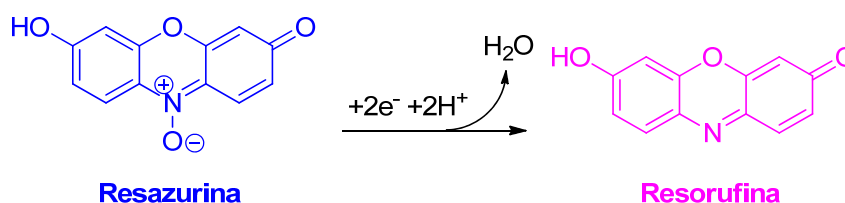
**Figura 5.7.** Detección de la CMB (128 mg/L) del compuesto **1a718a** tras incubación en estufa a 37 °C/18-24 h.

Todos estos procesos los realizamos en cabina de flujo laminar con el fin de evitar contaminaciones. El estudio para cada producto se completó con un control positivo (inóculo en medio de cultivo sin sustancia ensayada) como control de esterilidad, y un control negativo (medio de cultivo con sustancia ensayada y sin inóculo) como control de crecimiento.

#### 4.2.4. ENSAYOS CON RESAZURINA

La resazurina es un colorante redox que se ha utilizado para determinar el contenido bacteriano en la leche<sup>271</sup> y la CMI de aceites esenciales.<sup>272</sup>

La resazurina, que en su forma oxidada posee un color azul, se reduce debido a que actúa como un aceptor de electrones artificial en la respiración de las células, dando lugar a la resorufina, que posee un color rosa (**Esquema 5.2**).



**Esquema 5.2.** Reducción de la resazurina a la resorufina en el proceso de respiración de las células.

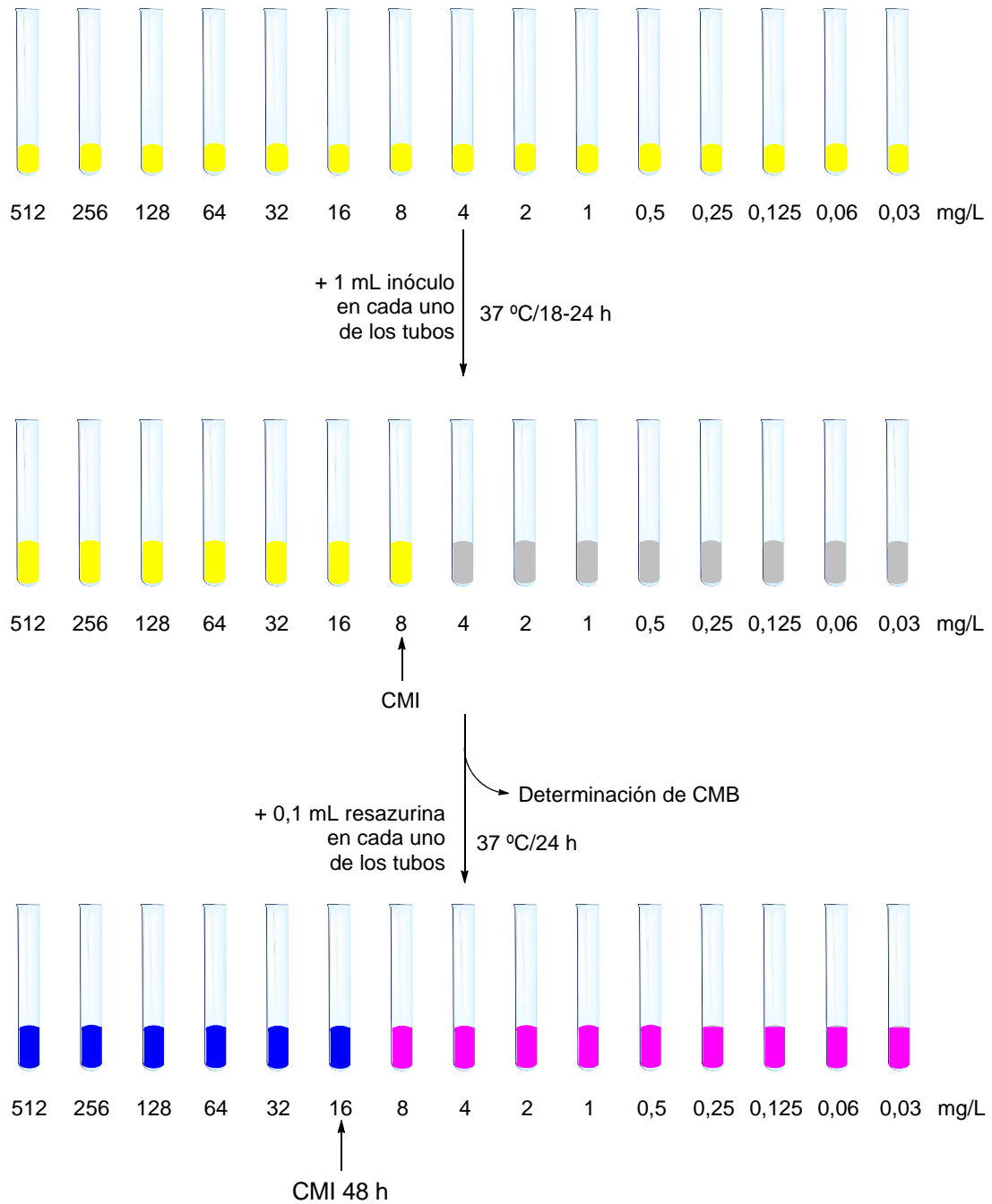
Así pues, debido a esta interesante propiedad de la resazurina, decidimos utilizarlo como método complementario para determinar la CMI de los compuestos tras 48 h de incubación (que corresponde al tubo con la concentración más baja que mantiene el color azul). Elegimos un período de incubación más prolongado (48 h) porque algunas subpoblaciones resistentes de *S. aureus* crecen lentamente, para poder mejorar de esta forma la detección de la resistencia.<sup>273</sup>

Tras realizar el ensayo de determinación de CMI y los subcultivos en placas de agar Mueller-Hinton necesarios para hallar la CMB, se introdujo 0,1 mL de resazurina al 0,01 % (p/v) a cada uno de los tubos. Dichos tubos se incubaron nuevamente en estufa a 37 °C durante 24 h (**Figura 5.8**). Como puede observarse en la **figura 5.9**, en la determinación de este parámetro en la **mitomicina C**, el cambio de color fue notorio.

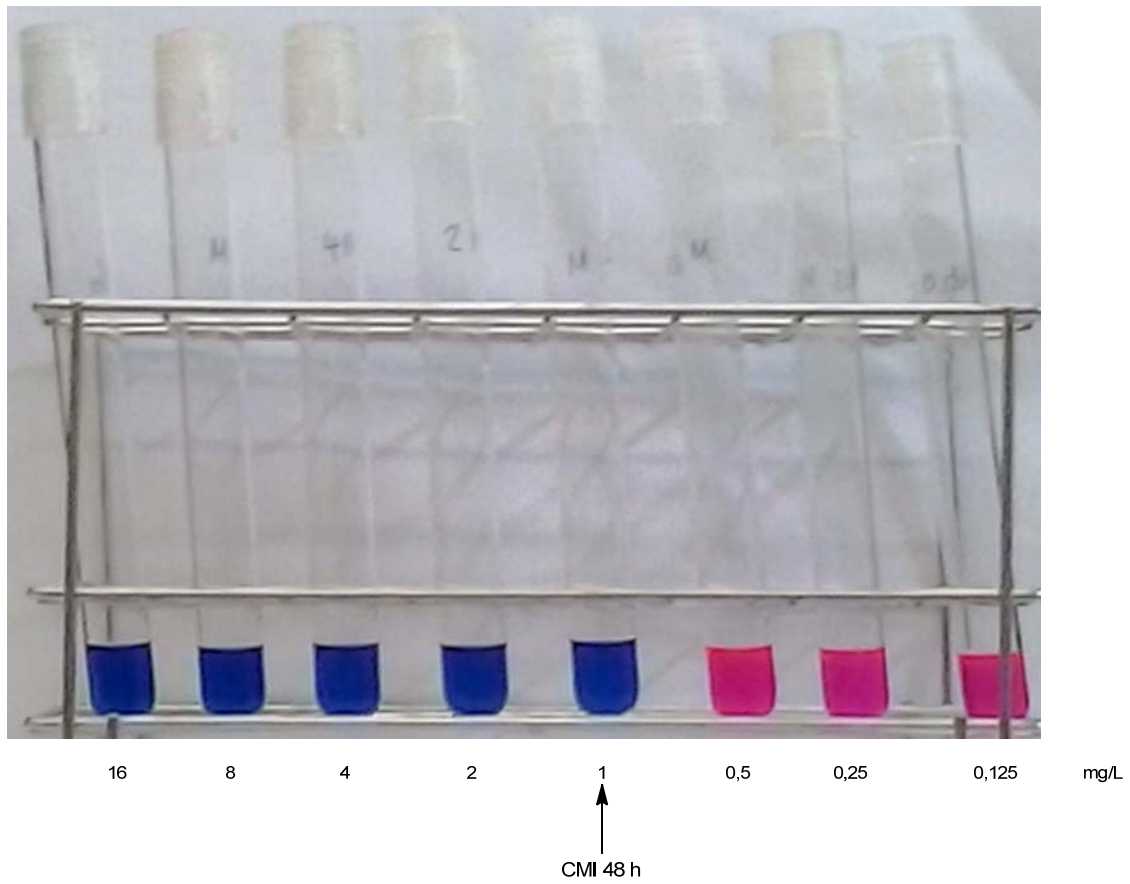
271 Skindersoe ME, Rasmussen L, Andersen LP, Kroqfelt KA. A novel assay for easy and rapid quantification of *Helicobacter pylori* adhesion. *Helicobacter*, **2015**; 20(3): 199-205.

272 Mann CM, Markham JL. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *J. Appl. Microbiol.*, **1998**; 84(4): 538-44.

273 Brown DF. Detection of methicillin/oxacillin resistance in staphylococci. *J. Antimicrob. Chemother.*, **2001**; 48(Suppl. 1): 65-70.



**Figura 5.8.** Técnica de macrodilución en caldo para un compuesto con una CMI de 8 mg/L y una CMI 48 h de 16 mg/L.



**Figura 5.9.** Detección de la CMI mediante la técnica de macrodilución en caldo con resazurina para la *mitomicina C*.

## 5. RESULTADOS DE ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Los resultados de sensibilidad de *S. aureus* CECT 5190 a los compuestos seleccionados se recogen en la **tabla 5.4**. En ella se muestran los valores de CMI tras 24 y 48 horas de incubación (CMI resazurina) y los de CMB. Para comparar la actividad de los compuestos, también se determinaron los valores de CMI en  $\mu\text{mol/L}$ , no encontrando diferencias notables al utilizar estas últimas unidades debido a la poca variación entre los pesos moleculares (PM) de los compuestos (450-256 g/mol).

**Tabla 5.4.** Valores de CMI, CMI con resazurina y CMB obtenidos para los productos ensayados.

Entrada	Compuesto	CMI (mg/L)	PM (g/mol)	CMI ( $\mu\text{mol/L}$ )	CMI resazurina (mg/L)	CMB (mg/L)
1	<b>Ciprofloxacino</b>	0,5	331,35	1,51	no concluyente	256
2	<b>1a7a8a</b>	64	265,21	241,32	no concluyente	>512
3	<b>1a7<sub>C</sub>8a</b>	32	281,67	113,61	no concluyente	512
4	<b>1a7h8a</b>	1	416,16	2,40	no concluyente	128
5	<b>1a7l8a</b>	1	438,45	2,28	no concluyente	128
6	<b>1a7t8a</b>	32	327,11	97,83	no concluyente	>512
7	<b>1a7w8a</b>	0,5	363,11	1,38	no concluyente	32
8	<b>7<sub>D</sub>MAP</b>	64	367,38	174,21	128	128
9	<b><math>\lambda</math>-Cihalotrina</b>	>512	449,85	>1138,16	-	>512
10	<b>Lamotrigina</b>	>512	256,09	>1999,30	-	>512
11	<b>Mitomicina C</b>	0,5	334,33	1,50	1	4
12	<b>Teflutrina</b>	>512	418,74	>1222,72	-	>512

## 6. DISCUSIÓN

De las 5 quinolonas sintetizadas, la **1a7w8a** ha resultado especialmente activa, ya que muestra la misma actividad bacteriostática que **ciprofloxacino** (CMI = 0,5 mg/L) pero una actividad bactericida mucho mayor, ya que su CMB es 8 veces menor (**Tabla 5.4**, entradas 1 y 7).

Los compuestos **1a7h8a** y **1a7l8a** han mostrado actividad similar a **ciprofloxacino** ya que aunque sus CMIs son mayores, ambos compuestos presentan una CMB de 128 mg/L (**Tabla 5.4**, entradas 1, 4 y 5). Finalmente, los compuestos **1a7t8a** y **7DMAP** han mostrado actividad moderada. Si bien el compuesto **7DMAP** tiene mayor CMI que el **1a7t8a** (**Tabla 5.4**, entradas 6 y 8), su CMB es más baja. Aún así, **7DMAP**, por su novedosa estructura y solubilidad en H<sub>2</sub>O, podría ser un buen cabeza de serie para el desarrollo de una nueva familia de antibacterianos (7-piridinioilquinolonatos).

A su vez, los compuestos **1a7a8a** y **1a7c18a** también han mostrado cierta actividad, siendo más activo el **1a7c18a** (**Tabla 5.4**, entradas 2 y 3), lo cual estaría en concordancia con el modelo que establece que la presencia de cloro favorece la actividad.

Parece observarse una influencia favorable respecto del volumen estérico del sustituyente en 7, ya que la actividad de **1a7h8a**, **1a7l8a**, **1a7w8a** y **ciprofloxacino** (**Tabla 5.4**, entradas 1, 4, 5 y 7) es mayor que la encontrada en quinolonas con sustituyentes menos voluminosos en esta posición, como **1a7a8a**, **1a7c18a**, **1a7t8a** y **7DMAP**. (**Tabla 5.4**, entradas 2, 3, 6 y 8), aunque habría que hacer más experiencias a este respecto.

Por otro lado, es necesario señalar que como la selección de los compuestos comerciales se ha basado únicamente en ensayar aquellos que nos fueron facilitados de forma gratuita y totalmente desinteresada, la variabilidad estructural entre ellos no ha sido la óptima. En concreto, la **teflutrina** y la **λ-cihalotrina** tienen estructuras muy similares, por lo que



era de esperar que se obtuviesen resultados similares para ambos. De hecho, los dos compuestos han resultado ser inactivos. (**Tabla 5.4**, entradas 9 y 12).

Dada la elevada toxicidad de estos insecticidas, tanto oral como dérmica, demostrada en ensayos preclínicos con ratas (**Tabla 5.1**), observamos que no tiene porqué haber una relación entre toxicidad en células animales o humanas y toxicidad en bacterias. De hecho, estos insecticidas pueden ser utilizados por algunas bacterias como sustrato.<sup>274,275</sup>

Por otro lado, hemos encontrado que la **mitomicina C**, un compuesto anticancerígeno y muy tóxico, es muy activa frente a SARM, con una CMI de 0,5 mg/L (**Tabla 5.4**, entrada 11) y una CMB muy baja, de tan solo 4 mg/L, en comparación con la obtenida para **ciprofloxacino** (256 mg/L, **Tabla 5.4**, entrada 1).

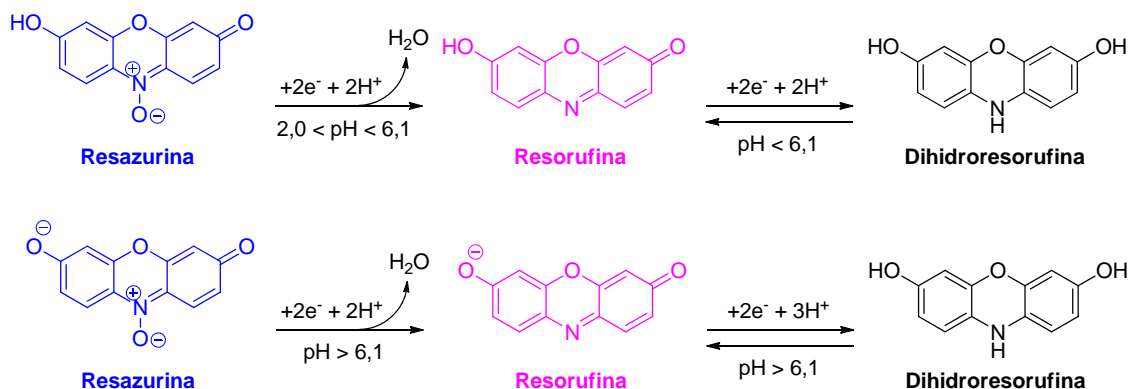
En general, la diferencia entre CMI y CMB de los compuestos activos frente a SARM suele ser amplia. Esto se explica por el fenómeno de tolerancia, que es la disminución de la capacidad de matar de un agente bactericida en una determinada especie (hecho que se ha comprobado en infecciones estafilocócicas resistentes),<sup>269</sup> que se pone de manifiesto cuando la CMI y la CMB están separadas por al menos 5 diluciones dobles. En clínica, puede determinar la necesidad de tratamiento con más de un antibacteriano. Este fenómeno ocurre en el caso de 6, incluido **ciprofloxacino**, de las 8 quinolonas ensayadas (**Tabla 5.4**, entradas 1, 2, 4-7). Para la quinolona **1a7c18a** la diferencia ha sido de 4 diluciones dobles (**Tabla 5.4**, entrada 2), en el caso de la **mitomicina C** ha sido de 3 diluciones dobles (**Tabla 5.4**, entrada 10) y en el caso de la **7DMAP** tan solo de 1 dilución doble (**Tabla 5.4**, entrada 8).

En cuanto a la utilización de resazurina para la determinación de la CMI a las 48 h, cabe mencionar que, al tratarse éste de un indicador redox,

274 Katagi T. Environmental behavior of synthetic pyrethroids. *Top Curr. Chem.*, **2012**; *314*: 167-202.

275 Thatheyus AJ, Selvam ADG. Synthetic pyrethroids: toxicity and biodegradation. *Appl. Ecol. Environ. Sci.*, **2013**; *1(3)*: 33-6.

tienen un intervalo de pH óptimo entre 7 y 7,4, por lo que es preferible utilizar soluciones neutras o tamponadas.<sup>276</sup> Además, la resazurina en ausencia de microorganismos puede reducirse con glucosa e hidróxido sódico a resorufina, e incluso ésta puede reducirse a dihidroresorufina que es incolora.<sup>277,278</sup> El **esquema 5.3** resume las distintas reacciones redox que pueden sufrir estos compuestos a diferentes pHs.<sup>278</sup>



**Esquema 5.3.** Distintos estados de la resazurina (azul), resorufina (rosa) y dihidroresorufina (incolora) ante cambios de pH.

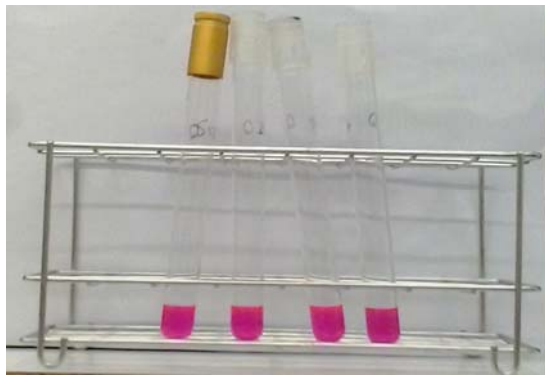
La utilización de resazurina en la determinación de la CMI ha sido adecuada en el caso de **mitomicina C (Figura 5.9)** y **7DMAP**, ya que el viraje a rosa se podía observar perfectamente. En el caso de  **$\lambda$ -cihalotrina**, **lamotrigina** y **teflutrina**, al ser inactivas, no se realizaron estos ensayos.

Sin embargo, en el caso de las quinolonas disueltas en medio básico no ha sido así, y se han obtenido diversas coloraciones en los ensayos, como violetas, rosas y azules de forma alternas y disoluciones incoloras (**Figura 5.10**). Esto puede deberse, a la concentración de hidróxido sódico en la preparación de cada disolución madre, o incluso al carácter anfótero de las quinolonas. De cualquier forma, dados los resultados obtenidos en este estadio, parece que la utilización de este indicador no es adecuada en el caso de estas quinolonas.

276 Rampersad SN, Teelucksingh LD. Differential responses of *Colletotrichum gloeosporioides* and *C. truncatum* isolates from different hosts to multiple fungicides based on two assays. *Plant Dis.*, **2012**; *96*(10): 1526-36.

277 Kherbeche A, Milnes J, Jimenez M, Dietrich N, Hebrard G, Lekhlif B. Multi-scale analysis of the influence of physicochemical parameters on the hydrodynamic and gas-liquid mass transfer in gas/liquid/solid reactors. *Chem Eng. Sci.*, **2013**; *100*: 515-28.

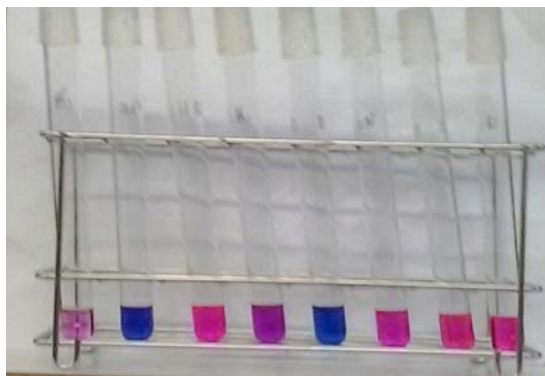
278 Khazalpour S, Nematollahi D. Electrochemical study of alamar blue (resazurin) in aqueous solutions and room-temperature ionic liquid 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate at a glassy carbon electrode. *RSC Adv.*, **2014**; *4*(17): 8431-8.



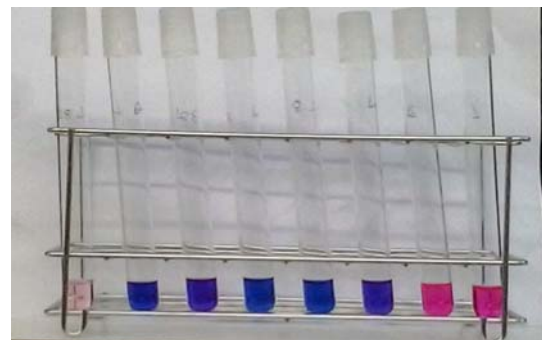
**A**



**B**



**C**



**D**



**E**



**F**

**Figura 5.10.** Determinación de la CMI mediante la técnica de macrodilución en caldo con resazurina para las quinolonas **1a7a8a** (A), **1a7c18a** (B), **1a7h8a** (C), **1a7l8a** (D), **1a7t8a** (E) y **1a7w8a** (F).

## 7. CONCLUSIONES

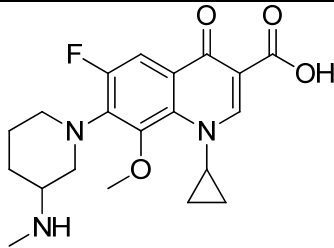
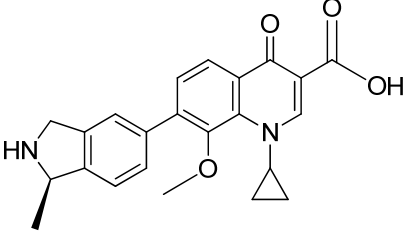
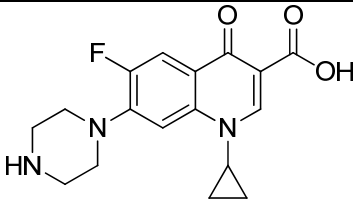
1. Las quinolonas **1a7h8a** y **1a7l8a** han mostrado tener una buena actividad frente a SARM, similar a la detectada con **ciprofloxacino**.
2. La quinolona **1a7w8a** ha presentado la misma CMI que el **ciprofloxacino** (0,5 mg/L), pero una CMB mucho más baja (32 mg/L frente a 256 mg/L), lo que significa que puede ser un buen agente frente a SARM.
3. La **mitomicina C** ha mostrado tener mayor actividad antibacteriana que **ciprofloxacino**, presentando la misma CMI, de 0,5 mg/L, pero con una CMB mucho más baja (4 mg/L frente a 256 mg/L).
4. La **mitomicina C** ha tenido una CMB poco o nada influida por el fenómeno de tolerancia, característico de SARM, por lo que no necesitaría asociarse con otro antibacteriano para tratar una infección de este tipo.
5. Se ha encontrado un compuesto (**7<sub>DMAP</sub>**) con actividad antibacteriana moderada, con una nueva estructura perteneciente a una familia de compuestos (7-piridinioilquinolonatos) no descrita hasta el momento.
6. La resazurina ha resultado un indicador adecuado de la presencia de bacterias para los ensayos de actividad con **mitomicina C** y **7<sub>DMAP</sub>**, pero no para las quinolonas disueltas en disoluciones acuosas básicas.
7. El modelo topológico desarrollado predice con un alto grado de fiabilidad la actividad antibacteriana frente a SARM, por lo que, una vez más, queda demostrada que la topología molecular es una herramienta útil en el diseño y desarrollo de nuevos fármacos.

**ANEXOS**



## ANEXO I

Tabla Activos Antibacterianos

Comp.	Nombre IUPAC	Estructura	Referencia
Balofloxacino	1-cyclopropyl-6-fluoro-8-methoxy-7-(3-(methylamino)piperidin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Ito T, Otsuki M, Nishino T. <i>In vitro</i> antibacterial activity of Q-35, a new fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1992</b> ; 36(8): 1708-14.
BMS-433366	(R)-1-cyclopropyl-8-methoxy-7-(1-methylisoindolin-5-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Lawrence LE, Wu P, Fan L, Gouveia KE, Card A, Casperson M, Denbleyker K, Barrett JF. The inhibition and selectivity of bacterial topoisomerases by BMS-284756 and its analogues. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>2001</b> ; 48(2): 195-201.
Ciprofloxacino	1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Cormican MG, Jones RN. Antimicrobial activity and spectrum of LB20304, a novel fluoronaphthyridone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b> ; 41(1): 204-11. Tanaka M, Yamazaki E, Chiba M, Yoshihara K, Akasaka T, Takemura M, Sato K. <i>In vitro</i> antibacterial activities of DQ-113, a potent quinolone, against clinical isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b> ; 46(3): 904-8. Brueggemann AB, Kugler KC, Doern GV. <i>In vitro</i> activity of BAY 12-8039, a novel 8-methoxyquinolone, compared to activities of six fluoroquinolones against <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , and <i>Moraxella catarrhalis</i> . <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b> ; 41(7): 1594-7. Montanari MP, Mingoia M, Varaldo PE. <i>In vitro</i> antibacterial activit

			<p>ies of AF 3013, the active metabolite of prulifloxacin, against nosocomial and community Italian isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b>; <i>45(12)</i>: 3616-22.</p> <p>Yun HJ, Min YH, Lim JA, Kang JW, Kim SY, Kim MJ, Jeong JH, Choi YJ, Kwon HJ, Jung YH, Shim MJ, Choi EC. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> antibacterial activities of DW286, a new fluoronaphthyridone antibiotic. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b>; <i>46(9)</i>: 3071-4.</p> <p>Hoellman DB, Kelly LM, Jacobs MR, Appelbaum PC. Comparative Antianaerobic Activity of BMS 284756. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b>; <i>45(2)</i>: 589-92.</p> <p>Gargallo-Viola D, Ferrer S, Tudela E, Robert M, Coll R, Roser R, Guinea J. Antibacterial activities and pharmacokinetics of E-4767 and E-5065, two new 8-chlorofluoroquinolones with a 7-azetidin ring substituent. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b>; <i>45(11)</i>: 3113-21.</p> <p>Neu HC, Chin NX. <i>In vitro</i> activity of the new fluoroquinolone CP-99,219. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1994</b>; <i>38(11)</i>: 2615-22.</p> <p>Neu HC, Fang W, Gu JW, Chin NX. <i>In vitro</i> activity of OPC-17116. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1992</b>; <i>36(6)</i>: 1310-5.</p> <p>Coll R, Gargallo-Viola D, Tudela E, Xicota MA, Llovera S, Guinea J. Antibacterial activity and pharmacokinetics of four new 7-azetidiny fluoroquinolones. <i>Antimicrob.</i></p>
--	--	--	---

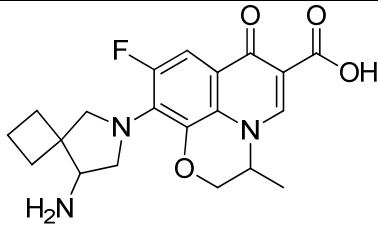
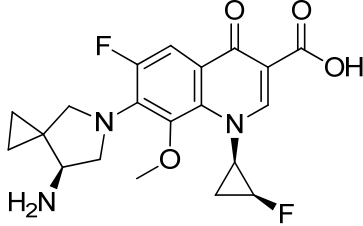


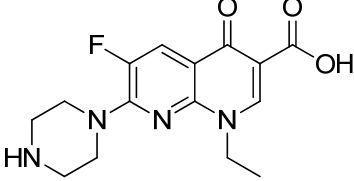
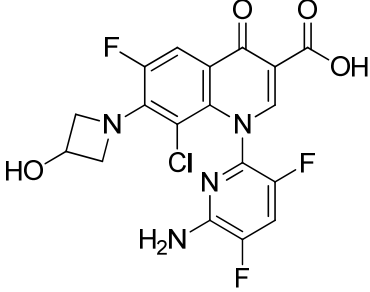
		<p>Agents <i>Chemother.</i> <b>1996</b>; <i>40(1)</i>: 274-7.</p> <p>Almer LS, Hoffrage JB, Keller EL, Flamm RK, Shortridge VD. <i>In vitro</i> and bactericidal activities of ABT-492, a novel fluoroquinolone, against Gram-positive and Gram-negative organisms. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2004</b>; <i>48(7)</i>: 2771-7.</p> <p>Nilius AM, Shen LL, Hensey-Rudloff D, Almer LS, Beyer JM, Balli DJ, Cai Y, Flamm RK. <i>In vitro</i> antibacterial potency and spectrum of ABT-492, a new fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2003</b>; <i>47(10)</i>: 3260-9.</p> <p>Yong DE, Cheong HJ, Kim YS, Park YJ, Kim WJ, Woo JH, Lee KW, Kang MW, Choo YS. <i>In vitro</i> activity of gemifloxacin against recent clinical isolates of bacteria in Korea. <i>J. Korean Med. Sci.</i> <b>2002</b>; <i>17(6)</i>: 737-42.</p> <p>Fung-Tomc J, Minassian B, Kolek B, Washo T, Huczko E, Bonner D. <i>In vitro</i> antibacterial spectrum of a new broad-spectrum 8-methoxy fluoroquinolone, gatifloxacin. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>2000</b>; <i>45(4)</i>: 437-46.</p> <p>Schaumann R, Ackermann G, Pless B, Claros MC, Rodloff AC. <i>In vitro</i> activities of gatifloxacin, two other quinolones, and five nonquinolone antimicrobials against obligately anaerobic bacteria. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1999</b>; <i>43(11)</i>: 2783-6.</p> <p>Jones RN, Croco MA, Pfaller MA, Beach ML, Kugler KC. Antimicrobial activity evaluations</p>
--	--	--

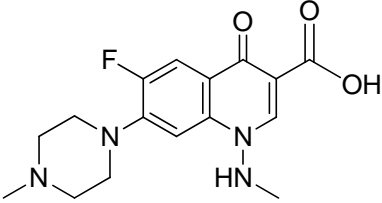
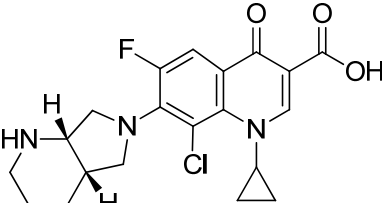
			<p>of gatifloxacin, a new fluoroquinolone: contemporary pathogen results from a global antimicrobial resistance surveillance program (SENTRY, 1997). <i>Clin. Microbiol. Infect.</i> <b>1999</b>; 5(9): 540-546. 32)</p> <p>Kim JH, Choi KH, Kim JW, Lee JH, Choi EC, Kim BK. In-vitro and in-vivo antibacterial activity of CFC-222, a new fluoroquinolone. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>1998</b>; 41(2): 223-9.</p> <p>Felmingham D, Robbins MJ, Ingley K, Mathias I, Bhogal H, Leakey A, Ridgway GL, Grüneberg RN. In-vitro activity of trovafloxacin, a new fluoroquinolone, against recent clinical isolates. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>1997</b>; 39(Suppl. B): 43-9.</p> <p>Cunha BA, Qadri SM, Ueno Y, Walters EA, Domenico P. Antibacterial activity of trovafloxacin against nosocomial Gram-positive and Gram-negative isolates. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>1997</b>; 39(Suppl. B): 29-34.</p> <p>Endtz HP, Mouton JW, den Hollander JG, van den Braak N, Verbrugh HA. Comparative <i>in vitro</i> activities of trovafloxacin (CP-99,219) against 445 gram-positive isolates from patients with endocarditis and those with other bloodstream infections. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b>; 41(5): 1146-9.</p> <p>Choi KH, Hong JS, Kim SK, Lee DK, Yoon SJ, Choi EC. In-vitro and in-vivo activities of DW-116, a new fluoroquinolone. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>1997</b>; 39(4): 509-14.</p>
--	--	--	---

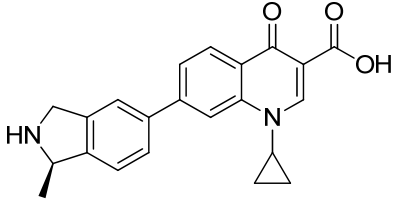
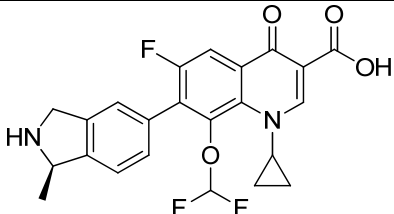
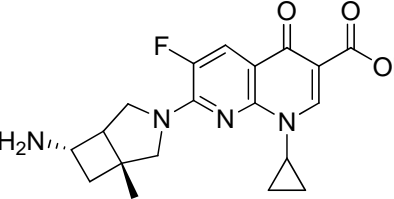
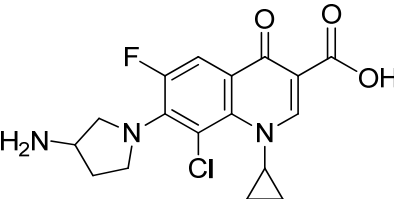
			<p>Clement JJ, Tanaka SK, Alder J, Vojtko C, Beyer J, Hensey D, Ramer N, McDaniel D, Chu DT. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> evaluations of A-80556, a new fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1994</b>; <i>38</i>(5): 1071-8.</p> <p>Guinea J, Robert M, Gargallo-Viola D, Xicota MA, Garcia J, Tudela E, Esteve M, Coll R, Pares M, Roser R. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> antibacterial activities of E-4868, a new fluoroquinolone with a 7-azetidin ring substituent. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1993</b>; <i>37</i>(4): 868-74.</p> <p>Chin NX, Gu JW, Yu KW, Zhang YX, Neu HC. <i>In vitro</i> activity of sparfloxacin. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1991</b>; <i>35</i>(3): 567-71.</p> <p>Eliopoulos GM, Klimm K, Rice LB, Ferraro MJ, Moellering RC Jr. Comparative <i>in vitro</i> activity of WIN 57273, a new fluoroquinolone antimicrobial agent. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1990</b>; <i>34</i>(6): 1154-9.</p> <p>Jones RN, Barry AL. <i>In vitro</i> evaluation of WIN 57273, a new broad-spectrum fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1990</b>; <i>34</i>(2): 306-13.</p> <p>Barry AL, Fuchs PC, Brown SD. <i>In vitro</i> activities of three nonfluorinated quinolones against representative bacterial isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b>; <i>45</i>(6): 1923-7.</p> <p>Borobio MV, Conejo M, Ramirez E, Suarez AI, Perea EJ. Comparative activities of eight quinolones against members of the</p>
--	--	--	--

			<p>Bacteroides fragilis group. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1994</b>; <i>38(6)</i>: 1442-5.</p> <p>Bongaerts GPA, Hoogkamp JAA. <i>In vitro</i> activities of BAY Y3118, ciprofloxacin, ofloxacin, and fleroxacin against gram-positive and gram-negative pathogens from respiratory tract and soft tissue infections. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1993</b>; <i>37(9)</i>: 2017-9.</p> <p>Goldstein EJ, Citron DM. Comparative Activity of Ciprofloxacin, Ofloxacin, Sparfloxacin, Temafloxacin, CI-960, CI-990, and WIN 57273 against Anaerobic Bacteria. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1992</b>; <i>36(5)</i>: 1158-62.</p> <p>Sedlock DM, Dobson RA, Deuel DM, Leshner GY, Rake JB. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> activities of a new quinolone, WIN 57273, possessing potent activity against gram-positive bacteria. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1990</b>; <i>34(4)</i>: 568-75.</p> <p>Venezia RA, Prymas LA, Shayegani A, Yocum DM. <i>In vitro</i> activities of amifloxacin and two of its metabolites. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1989</b>; <i>33(5)</i>: 762-6.</p> <p>Rolston KV, Ho DH, LeBlanc B, Bodey GP. <i>In vitro</i> evaluation of S-25930 and S-25932, two new quinolones, against aerobic gram-negative isolates from cancer patients. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1987</b>; <i>31(1)</i>: 102-3.</p> <p>García-Rodríguez JA, García Sánchez JE, Muñoz Bellido JL, Trujillano I. <i>In vitro</i></p>
--	--	--	--

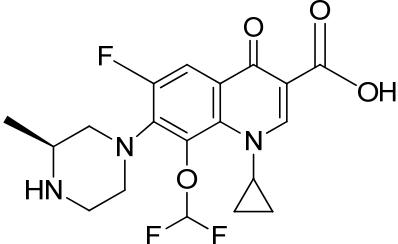
			<p>activities of irloxacin and E-3846, two new quinolones. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1990</b>; <i>34(6)</i>: 1262-7.</p> <p>Otani T, Tanaka M, Ito E, Kurosaka Y, Murakami Y, Onodera K, Akasaka T, Sato K. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> antibacterial activities of DK-507k, a novel fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2003</b>; <i>47(12)</i>: 3750-9.</p> <p>Roychoudhury S, Twinem TL, Makin KM, McIntosh EJ, Ledoussal B, Catrenich CE. Activity of non-fluorinated quinolones (NFQs) against quinolone-resistant <i>Escherichia coli</i> and <i>Streptococcus pneumoniae</i>. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>2001</b>; <i>48</i>: 29-36.</p> <p>Gooding BB, Jones RN. <i>In vitro</i> antimicrobial activity of CP-99,219, a novel azabicyclopiperidone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1993</b>; <i>37(2)</i>: 349-53.</p>
DV-7751a	10-(8-amino-6-azaspiro[3.4]octan-6-yl)-9-fluoro-3-methyl-7-oxo-3,7-dihydro-2H-[1,4]oxazino[2,3,4-ij]quinoline-6-carboxylic acid		<p>Biedenbach DJ, Jones RN. <i>In Vitro</i> evaluation of DV-7751a, a new fluoroquinolone with an enhanced spectrum of Activity against Gram-positive aerobic organisms and anaerobes. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1995</b>; <i>39(7)</i>: 1636-43.</p>
DK-507k	7-((S)-7-amino-5-azaspiro[2.4]heptan-5-yl)-6-fluoro-1-((1R,2S)-2-fluorocyclopropyl)-8-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		<p>Otani T, Tanaka M, Ito E, Kurosaka Y, Murakami Y, Onodera K, Akasaka T, Sato K. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> antibacterial activities of DK-507k, a novel fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2003</b>; <i>47(12)</i>: 3750-9.</p>

Enoxacino	1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid		<p>Wolfson JS, Hooper DC. Fluoroquinolone antimicrobial agents. <i>Clin. Microbiol. Rev.</i> <b>1989</b>; 2(4): 378-424.</p> <p>Jones RN, Barry AL. <i>In vitro</i> evaluation of WIN 57273, a new broad-spectrum fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1990</b>; 34(2): 306-13.</p> <p>Rolston KV, Ho DH, LeBlanc B, Bodey GP. <i>In vitro</i> evaluation of S-25930 and S-25932, two new quinolones, against aerobic gram-negative isolates from cancer patients. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1987</b>; 31(1): 102-3.</p> <p>Gooding BB, Jones RN. <i>In vitro</i> antimicrobial activity of CP-99,219, a novel azabicyclo-naphthyridone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1993</b>; 37(2): 349-53.</p>
ABT-492	1-(6-amino-3,5-difluoropyridin-2-yl)-8-chloro-6-fluoro-7-(3-hydroxyazetidin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		<p>Almer LS, Hoffrage JB, Keller EL, Flamm RK, Shortridge VD. <i>In vitro</i> and bactericidal activities of ABT-492, a novel fluoroquinolone, against Gram-positive and Gram-negative organisms. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2004</b>; 48(7): 2771-7.</p> <p>Nilius AM, Shen LL, Hensey-Rudloff D, Almer LS, Beyer JM, Balli DJ, Cai Y, Flamm RK. <i>In vitro</i> antibacterial potency and spectrum of ABT-492, a new fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2003</b>; 47(10): 3260-9.</p> <p>Goldstein EJ, Citron DM, Merriam CV, Warren YA, Tyrrell KL, Fernandez HT. <i>In vitro</i> activities of ABT-492, a new fluoroquinolone, against 155 aerobic</p>

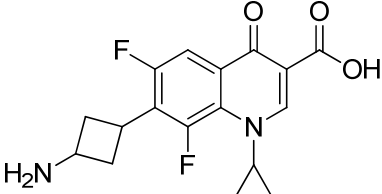
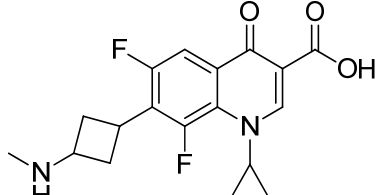
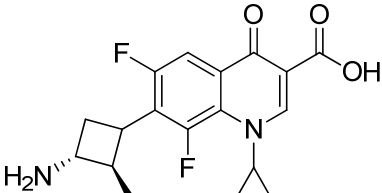
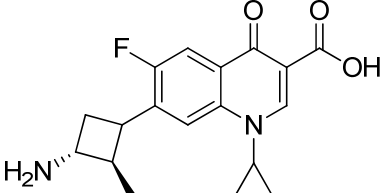
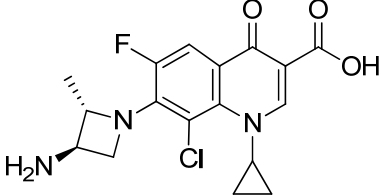
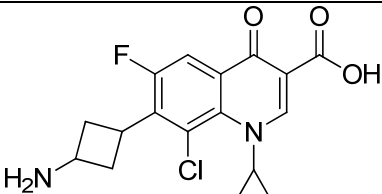
			and 171 anaerobic pathogens isolated from antral sinus puncture specimens from patients with sinusitis. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2003</b> ; <i>47(9)</i> : 3008-11.
Amifloxacin	6-fluoro-1-(methylamino)-7-(4-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Sedlock DM, Dobson RA, Deuel DM, Leshner GY, Rake JB. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> activities of a new quinolone, WIN 57273, possessing potent activity against gram-positive bacteria. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1990</b> ; <i>34(4)</i> : 568-75. Venezia RA, Prymas LA, Shayegani A, Yocum DM. <i>In vitro</i> activities of amifloxacin and two of its metabolites. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1989</b> ; <i>33(5)</i> : 762-6.
BAY Y3118	8-chloro-1-cyclopropyl-6-fluoro-7-((4aS,7aS)-hexahydro-1H-pyrrolo[3,4-b]pyridin-6(2H)-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Borobio MV, Conejo M, Ramirez E, Suarez AI, Perea EJ. Comparative activities of eight quinolones against members of the <i>Bacteroides fragilis</i> group. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1994</b> ; <i>38(6)</i> : 1442-5. Wexler HM, Molitoris E, Finegold SM. <i>In vitro</i> activity of Bay Y3118 against anaerobic bacteria. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1993</b> ; <i>37(11)</i> : 2509-13. Bongaerts GPA, Hoogkamp JAA. <i>In vitro</i> activities of BAY Y3118, ciprofloxacin, ofloxacin, and fleroxacin against gram-positive and gram-negative pathogens from respiratory tract and soft tissue infections. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1993</b> ; <i>37(9)</i> : 2017-9.

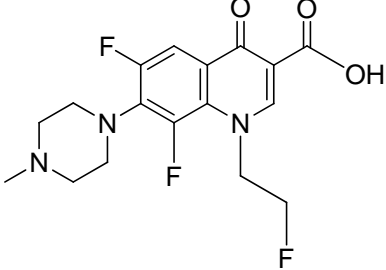
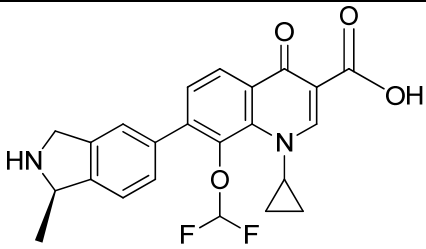
BMS-340278	(R)-1-cyclopropyl-7-(1-methylisindolin-5-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Lawrence LE, Wu P, Fan L, Gouveia KE, Card A, Casperson M, Denblyker K, Barrett JF. The inhibition and selectivity of bacterial topoisomerases by BMS-284756 and its analogues. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>2001</b> ; <i>48</i> (2): 195-201.
BMS-340280	(R)-1-cyclopropyl-8-(difluoromethoxy)-6-fluoro-7-(1-methylisindolin-5-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
CFC-222	7-((1R,6S)-6-amino-1-methyl-3-azabicyclo[3.2.0]heptan-3-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid		Kim JH, Choi KH, Kim JW, Lee JH, Choi EC, Kim BK. In-vitro and in-vivo antibacterial activity of CFC-222, a new fluoroquinolone. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>1998</b> ; <i>41</i> (2): 223-9.
Clinafloxacin	7-(3-aminopyrrolidin-1-yl)-8-chloro-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Biedenbach DJ, Sutton LD, Jones RN. Antimicrobial activity of CS-940, a new trifluorinated quinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1995</b> ; <i>39</i> (10): 2325-30. Snydman DR, Jacobus NV, McDermott LA, Ruthazer R, Goldstein E, Finegold S, Harrell L, Hecht DW, Jenkins S, Pierson C, Venezia R, Rihs J, Gorbach SL. In vitro activities of newer quinolones against bacteroides group organisms. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b> ; <i>46</i> (10): 3276-9. Milatovic D, Schmitz FJ, Brisse S, Verhoef J, Fluit AC. In Vitro activities of sitafloxacin (DU-6859a) and six other fluoroquinolones against 8,796 clinical bacterial isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2000</b> ; <i>44</i> (4): 1102-7. Roychoudhury S, Twinem TL, Makin KM, McIntosh EJ,

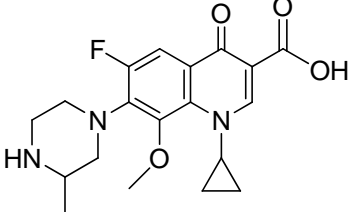


			<p>Ledoussal B, Catrenich CE. Activity of non-fluorinated quinolones (NFQs) against quinolone-resistant <i>Escherichia coli</i> and <i>Streptococcus pneumoniae</i>. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>2001</b>; <i>48</i>: 29-36.</p> <p>Brueggemann AB, Kugler KC, Doern GV. <i>In vitro</i> activity of BAY 12-8039, a novel 8-methoxyquinolone, compared to activities of six fluoroquinolones against <i>Streptococcus pneumoniae</i>, <i>Haemophilus influenzae</i>, and <i>Moraxella catarrhalis</i>. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b>; <i>41(7)</i>: 1594-7.</p> <p>Borobio MV, Conejo M, Ramirez E, Suarez AI, Perea EJ. Comparative activities of eight quinolones against members of the <i>Bacteroides fragilis</i> group. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1994</b>; <i>38(6)</i>: 1442-5.</p> <p>Goldstein EJ, Citron DM. Comparative Activity of Ciprofloxacin, Ofloxacin, Sparfloxacin, Temafloxacin, CI-960, CI-990, and WIN 57273 against Anaerobic Bacteria. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1992</b>; <i>36(5)</i>: 1158-62.</p>
CS-940	(S)-1-cyclopropyl-8-(difluoromethoxy)-6-fluoro-7-(3-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		<p>Biedenbach DJ, Sutton LD, Jones RN. Antimicrobial activity of CS-940, a new trifluorinated quinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1995</b>; <i>39(10)</i>: 2325-30.</p>

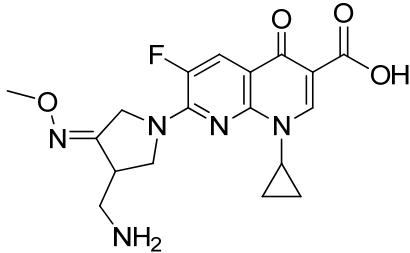
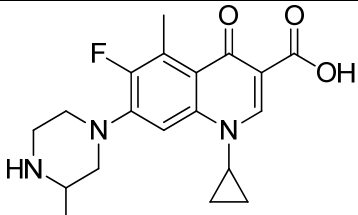
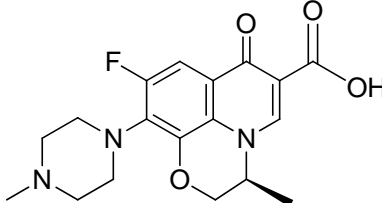
Difloxacin	6-fluoro-1-(4-fluorophenyl)-7-(4-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Stamm JM, Hanson CW, Chu DT, Baier R, Vojtko C, Fernandes PB. <i>In vitro</i> evaluation of A-56619 (difloxacin) and A-56620: new aryl-fluoroquinolones. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1986</b> ; 29(2): 193-200.
DQ-113	5-amino-7-((3R,4S)-3-(1-aminocyclopropyl)-4-fluoropyrrolidin-1-yl)-6-fluoro-1-((1R,2S)-2-fluorocyclopropyl)-8-methyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Tanaka M, Yamazaki E, Chiba M, Yoshihara K, Akasaka T, Takemura M, Sato K. <i>In vitro</i> antibacterial activities of DQ-113, a potent quinolone, against clinical isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b> ; 46(3): 904-8.
DW-116	6-fluoro-1-(5-fluoropyridin-2-yl)-7-(4-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Choi KH, Hong JS, Kim SK, Lee DK, Yoon SJ, Choi EC. <i>In-vitro</i> and <i>in-vivo</i> activities of DW-116, a new fluoroquinolone. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>1997</b> ; 39(4): 509-14.
DW286	(E)-7-(3-(aminomethyl)-4-(methoxyimino)-3-methylpyrrolidin-1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid		Yun HJ, Min YH, Lim JA, Kang JW, Kim SY, Kim MJ, Jeong JH, Choi YJ, Kwon HJ, Jung YH, Shim MJ, Choi EC. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> antibacterial activities of DW286, a new fluoronaphthyridone antibiotic. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b> ; 46(9): 3071-4.
DX-619	7-((R)-3-(1-aminocyclopropyl)pyrrolidin-1-yl)-1-((1R,2S)-2-fluorocyclopropyl)-8-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Fujikawa K, Chiba M, Tanaka M, Sato K. <i>In vitro</i> antibacterial activity of DX-619, a novel des-fluoro(6) quinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2005</b> ; 49(7): 3040-5.
E-4441	7-(3-amino-3-methylcyclobutyl)-1-cyclopropyl-6,8-difluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Gargallo-Viola D, Esteve M, Moros M, Coll R, Xicota MA, de Andres C, Roser R, Guinea J. Comparative <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> activities of 6 new monofluoroquinolone

			and difluoroquinolone 3-carboxylic acids with a 7-azetidin ring substituent. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1990</b> ; <i>34(12)</i> : 2138-26.
E-4474	7-(3-aminocyclobutyl)-1-cyclopropyl-6,8-difluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
E-4501	1-cyclopropyl-6,8-difluoro-7-(3-(methylamino)cyclobutyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
E-4534	7-((2R,3R)-3-amino-2-methylcyclobutyl)-1-cyclopropyl-6,8-difluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Coll R, Gargallo-Viola D, Tudela E, Xicotoma MA, Llovera S, Guinea J. Antibacterial activity and pharmacokinetics of four new 7-azetidiny fluoroquinolones. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1996</b> ; <i>40(1)</i> : 274-7.
E-4535	7-((2R,3R)-3-amino-2-methylcyclobutyl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
E-4767	7-((2S,3R)-3-amino-2-methylazetidin-1-yl)-8-chloro-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Gargallo-Viola D, Ferrer S, Tudela E, Robert M, Coll R, Roser R, Guinea J. Antibacterial activities and pharmacokinetics of E-4767 and E-5065, two new 8-chlorofluoroquinolones with a 7-azetidin ring substituent. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b> ; <i>45(11)</i> : 3113-21.
E-5065	7-(3-aminocyclobutyl)-8-chloro-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem

Fleroxacino	6,8-difluoro-1-(2-fluoroethyl)-7-(4-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		<p>Gargallo-Viola D, Ferrer S, Tudela E, Robert M, Coll R, Roser R, Guinea J. Antibacterial activities and pharmacokinetics of E-4767 and E-5065, two new 8-chlorofluoroquinolones with a 7-azetidin ring substituent. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b>; 45(11): 3113-21.</p> <p>Neu HC, Fang W, Gu JW, Chin NX. <i>In vitro</i> activity of OPC-17116. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1992</b>; 36(6): 1310-5.</p> <p>Guinea J, Robert M, Gargallo-Viola D, Xicota MA, Garcia J, Tudela E, Esteve M, Coll R, Pares M, Roser R. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> antibacterial activities of E-4868, a new fluoroquinolone with a 7-azetidin ring substituent. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1993</b>; 37(4): 868-74.</p> <p>Jones RN, Barry AL. <i>In vitro</i> evaluation of WIN 57273, a new broad-spectrum fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1990</b>; 34(2): 306-13.</p> <p>Bongaerts GPA, Hoogkamp JAA. <i>In vitro</i> activities of BAY Y3118, ciprofloxacin, ofloxacin, and fleroxacin against gram-positive and gram-negative pathogens from respiratory tract and soft tissue infections. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1993</b>; 37(9): 2017-9.</p>
Garenoxacino	(R)-1-cyclopropyl-8-(difluoromethoxy)-7-(1-methylisindolin-5-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		<p>Tanaka M, Yamazaki E, Chiba M, Yoshihara K, Akasaka T, Takemura M, Sato K. <i>In vitro</i> antibacterial activities of DQ-113, a potent quinolone, against clinical isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b>; 46(3): 904-8.</p> <p>Cormican MG, Jones</p>

			<p>RN. Antimicrobial activity and spectrum of LB20304, a novel fluoronaphthyridone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b>; 41(1): 204-11.</p> <p>Hoellman DB, Kelly LM, Jacobs MR, Appelbaum PC. Comparative Antianaerobic Activity of BMS 284756. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b>; 45(2): 589-92.</p> <p>Snydman DR, Jacobus NV, McDermott LA, Ruthazer R, Goldstein E, Finegold S, Harrell L, Hecht DW, Jenkins S, Pierson C, Venezia R, Rihs J, Gorbach SL. <i>In vitro</i> activities of newer quinolones against bacteroides group organisms. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b>; 46(10): 3276-9.</p> <p>Otani T, Tanaka M, Ito E, Kurosaka Y, Murakami Y, Onodera K, Akasaka T, Sato K. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> antibacterial activities of DK-507k, a novel fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2003</b>; 47(12): 3750-9.</p>
Gatifloxacin	1-cyclopropyl-6-fluoro-8-methoxy-7-(3-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		<p>Tanaka M, Yamazaki E, Chiba M, Yoshihara K, Akasaka T, Takemura M, Sato K. <i>In vitro</i> antibacterial activities of DQ-113, a potent quinolone, against clinical isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b>; 46(3): 904-8.</p> <p>Milatovic D, Schmitz FJ, Brisse S, Verhoef J, Fluit AC. <i>In Vitro</i> activities of sitafloxacin (DU-6859a) and six other fluoroquinolones against 8,796 clinical bacterial isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2000</b>; 44(4): 1102-7.</p> <p>Almer LS, Hoffrage JB, Keller EL, Flamm</p>

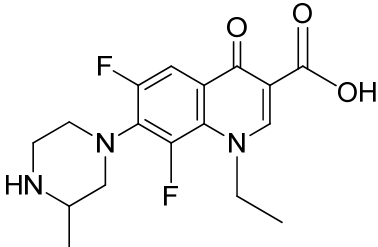
			<p>RK, Shortridge VD. <i>In vitro</i> and bactericidal activities of ABT-492, a novel fluoroquinolone, against Gram-positive and Gram-negative organisms. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2004</b>; <i>48</i>(7): 2771-7.</p> <p>Yong DE, Cheong HJ, Kim YS, Park YJ, Kim WJ, Woo JH, Lee KW, Kang MW, Choo YS. <i>In vitro</i> activity of gemifloxacin against recent clinical isolates of bacteria in Korea. <i>J. Korean Med. Sci.</i> <b>2002</b>; <i>17</i>(6): 737-42.</p> <p>Fung-Tomc J, Minassian B, Kolek B, Washo T, Huczko E, Bonner D. <i>In vitro</i> antibacterial spectrum of a new broad-spectrum 8-methoxy fluoroquinolone, gatifloxacin. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>2000</b>; <i>45</i>(4): 437-46.</p> <p>Jones RN, Croco MA, Pfaller MA, Beach ML, Kugler KC. Antimicrobial activity evaluations of gatifloxacin, a new fluoroquinolone: contemporary pathogen results from a global antimicrobial resistance surveillance program (SENTRY, 1997). <i>Clin. Microbiol. Infect.</i> <b>1999</b>; <i>5</i>(9): 540-546.</p> <p>Otani T, Tanaka M, Ito E, Kurosaka Y, Murakami Y, Onodera K, Akasaka T, Sato K. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> antibacterial activities of DK-507k, a novel fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2003</b>; <i>47</i>(12): 3750-9.</p> <p>Roychoudhury S, Twinem TL, Makin KM, McIntosh EJ, Ledoussal B, Catrenich CE. Activity of non-fluorinated quinolones (NFQs) against quinolone-resistant</p>
--	--	--	---

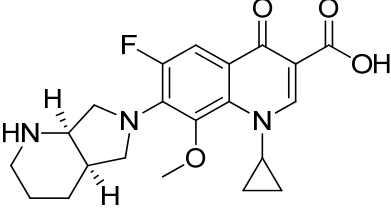
			Escherichia coli and Streptococcus pneumoniae. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>2001</b> ; <i>48</i> : 29-36.
Gemifloxacino	(Z)-7-(3-(aminomethyl)-4-(methoxyimino)pyrrolidin-1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid		Tanaka M, Yamazaki E, Chiba M, Yoshihara K, Akasaka T, Takemura M, Sato K. <i>In vitro</i> antibacterial activities of DQ-113, a potent quinolone, against clinical isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b> ; <i>46</i> (3): 904-8. Yun HJ, Min YH, Lim JA, Kang JW, Kim SY, Kim MJ, Jeong JH, Choi YJ, Kwon HJ, Jung YH, Shim MJ, Choi EC. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> antibacterial activities of DW286, a new fluoronaphthyridone antibiotic. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b> ; <i>46</i> (9): 3071-4. Yong DE, Cheong HJ, Kim YS, Park YJ, Kim WJ, Woo JH, Lee KW, Kang MW, Choo YS. <i>In vitro</i> activity of gemifloxacin against recent clinical isolates of bacteria in Korea. <i>J. Korean Med. Sci.</i> <b>2002</b> ; <i>17</i> (6): 737-42.
Grepafloxacino	1-cyclopropyl-6-fluoro-5-methyl-7-(3-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Neu HC, Fang W, Gu JW, Chin NX. <i>In vitro</i> activity of OPC-17116. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1992</b> ; <i>36</i> (6): 1310-5.
Levofloxacino	(S)-9-fluoro-3-methyl-10-(4-methylpiperazin-1-yl)-7-oxo-3,7-dihydro-2H-[1,4]oxazino[2,3,4-ij]quinoline-6-carboxylic acid		Cormican MG, Jones RN. Antimicrobial activity and spectrum of LB20304, a novel fluoronaphthyridone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b> ; <i>41</i> (1): 204-11. Goldstein EJ, Citron DM, Hudspeth M, Hunt Gerardo S, Merriam CV. Trovafloxacin compared with levofloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin, azithromycin and clarithromycin against

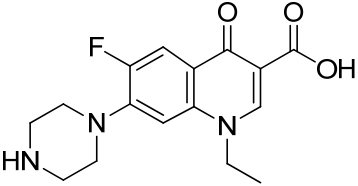
			<p>unusual aerobic and anaerobic human and animal bite-wound pathogens. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>1998</b>; <i>41(3)</i>: 391-6.</p> <p>Tanaka M, Yamazaki E, Chiba M, Yoshihara K, Akasaka T, Takemura M, Sato K. <i>In vitro</i> antibacterial activities of DQ-113, a potent quinolone, against clinical isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b>; <i>46(3)</i>: 904-8.</p> <p>Brueggemann AB, Kugler KC, Doern GV. <i>In vitro</i> activity of BAY 12-8039, a novel 8-methoxyquinolone, compared to activities of six fluoroquinolones against <i>Streptococcus pneumoniae</i>, <i>Haemophilus influenzae</i>, and <i>Moraxella catarrhalis</i>. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b>; <i>41(7)</i>: 1594-7.</p> <p>Montanari MP, Mingoia M, Varaldo PE. <i>In vitro</i> antibacterial activities of AF 3013, the active metabolite of prulifloxacin, against nosocomial and community Italian isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b>; <i>45(12)</i>: 3616-22.</p> <p>Hoellman DB, Kelly LM, Jacobs MR, Appelbaum PC. Comparative Antianaerobic Activity of BMS 284756. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b>; <i>45(2)</i>: 589-92.</p> <p>Milatovic D, Schmitz FJ, Brisse S, Verhoef J, Fluit AC. <i>In Vitro</i> activities of sitafloxacin (DU-6859a) and six other fluoroquinolones against 8,796 clinical bacterial isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2000</b>; <i>44(4)</i>: 1102-7.</p> <p>Coll R, Gargallo-Viola</p>
--	--	--	--

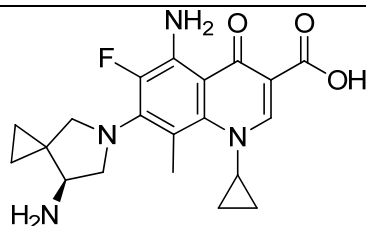
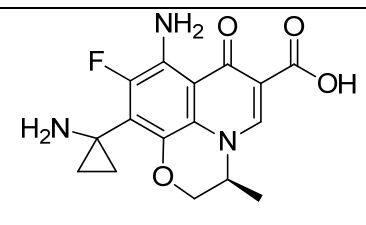
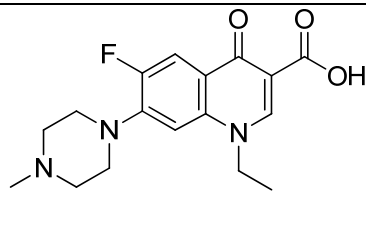
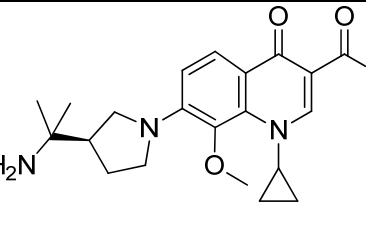


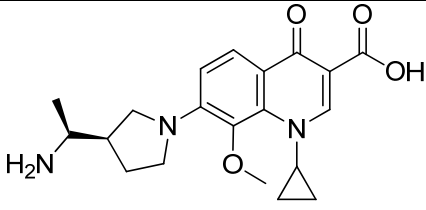
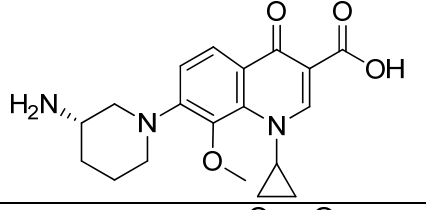
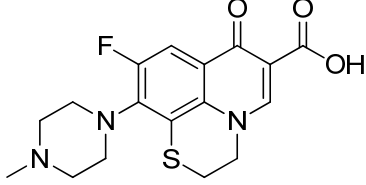
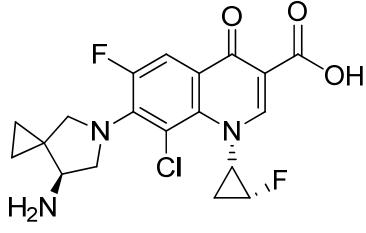
			<p>D, Tudela E, Xicota MA, Llovera S, Guinea J. Antibacterial activity and pharmacokinetics of four new 7-azetidiny fluoroquinolones. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1996</b>; 40(1): 274-7.</p> <p>Almer LS, Hoffrage JB, Keller EL, Flamm RK, Shortridge VD. <i>In vitro</i> and bactericidal activities of ABT-492, a novel fluoroquinolone, against Gram-positive and Gram-negative organisms. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2004</b>; 48(7): 2771-7.</p> <p>Nilius AM, Shen LL, Hensy-Rudloff D, Almer LS, Beyer JM, Balli DJ, Cai Y, Flamm RK. <i>In vitro</i> antibacterial potency and spectrum of ABT-492, a new fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2003</b>; 47(10): 3260-9.</p> <p>Yong DE, Cheong HJ, Kim YS, Park YJ, Kim WJ, Woo JH, Lee KW, Kang MW, Choo YS. <i>In vitro</i> activity of gemifloxacin against recent clinical isolates of bacteria in Korea. <i>J. Korean Med. Sci.</i> <b>2002</b>; 17(6): 737-42.</p> <p>Barry AL, Fuchs PC, Brown SD. <i>In vitro</i> activities of three nonfluorinated quinolones against representative bacterial isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b>; 45(6): 1923-7.</p> <p>Rolston KV, Ho DH, LeBlanc B, Bodey GP. <i>In vitro</i> evaluation of S-25930 and S-25932, two new quinolones, against aerobic gram-negative isolates from cancer patients. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1987</b>; 31(1): 102-3.</p>
--	--	--	--

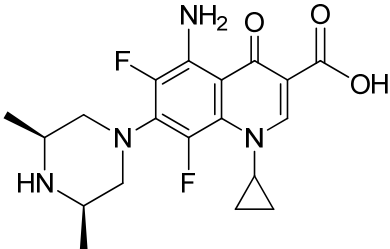
			<p>Otani T, Tanaka M, Ito E, Kurosaka Y, Murakami Y, Onodera K, Akasaka T, Sato K. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> antibacterial activities of DK-507k, a novel fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2003</b>; <i>47</i>(12): 3750-9.</p>
Lomefloxacinp	1-ethyl-6,8-difluoro-7-(3-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		<p>Neu HC, Fang W, Gu JW, Chin NX. <i>In vitro</i> activity of OPC-17116. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1992</b>; <i>36</i>(6): 1310-5.</p> <p>Kim JH, Choi KH, Kim JW, Lee JH, Choi EC, Kim BK. In-vitro and in-vivo antibacterial activity of CFC-222, a new fluoroquinolone. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>1998</b>; <i>41</i>(2): 223-9.</p> <p>Clement JJ, Tanaka SK, Alder J, Vojtko C, Beyer J, Hensey D, Ramer N, McDaniel D, Chu DT. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> evaluations of A-80556, a new fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1994</b>; <i>38</i>(5): 1071-8.</p> <p>Bongaerts GPA, Hoogkamp JAA. <i>In vitro</i> activities of BAY Y3118, ciprofloxacin, ofloxacin, and fleroxacin against gram-positive and gram-negative pathogens from respiratory tract and soft tissue infections. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1993</b>; <i>37</i>(9): 2017-9.</p> <p>Venezia RA, Prymas LA, Shayegani A, Yocum DM. <i>In vitro</i> activities of amifloxacin and two of its metabolites. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1989</b>; <i>33</i>(5): 762-6.</p>

Moxifloxacin	1-cyclopropyl-6-fluoro-7-((4aR,7aR)-hexahydro-1H-pyrrolo[3,4-b]pyridin-6(2H)-yl)-8-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid	 <p>The image shows the chemical structure of Moxifloxacin. It consists of a central quinolone ring system. At position 6, there is a fluorine atom (F) and a methoxy group (O-CH<sub>3</sub>). At position 7, there is a complex bicyclic side chain: a 1,4-dihydro-1H-pyrrolo[3,4-b]pyridine ring system. At position 8, there is a cyclopropyl group. At position 4, there is a carboxylic acid group (-COOH). The quinolone ring has a carbonyl group (=O) at position 2 and a double bond between positions 3 and 4.</p>	<p>Tanaka M, Yamazaki E, Chiba M, Yoshihara K, Akasaka T, Takemura M, Sato K. <i>In vitro</i> antibacterial activities of DQ-113, a potent quinolone, against clinical isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b>; 46(3): 904-8.</p> <p>Montanari MP, Mingoia M, Varaldo PE. <i>In vitro</i> antibacterial activities of AF 3013, the active metabolite of prulifloxacin, against nosocomial and community Italian isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b>; 45(12): 3616-22.</p> <p>Brueggemann AB, Kugler KC, Doern GV. <i>In vitro</i> activity of BAY 12-8039, a novel 8-methoxyquinolone, compared to activities of six fluoroquinolones against <i>Streptococcus pneumoniae</i>, <i>Haemophilus influenzae</i>, and <i>Moraxella catarrhalis</i>. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b>; 41(7): 1594-7.</p> <p>Hoellman DB, Kelly LM, Jacobs MR, Appelbaum PC. Comparative Antianaerobic Activity of BMS 284756. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b>; 45(2): 589-92.</p> <p>Snydman DR, Jacobus NV, McDermott LA, Ruthazer R, Goldstein E, Finegold S, Harrell L, Hecht DW, Jenkins S, Pierson C, Venezia R, Rihs J, Gorbach SL. <i>In vitro</i> activities of newer quinolones against bacteroides group organisms. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b>; 46(10): 3276-9.</p> <p>Milatovic D, Schmitz FJ, Brisse S, Verhoef J, Fluit AC. <i>In vitro</i> activities of sitafloxacin</p>
--------------	---	---	--

			<p>(DU-6859a) and six other fluoroquinolones against 8,796 clinical bacterial isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2000</b>; <i>44(4)</i>: 1102-7.</p> <p>Almer LS, Hoffrage JB, Keller EL, Flamm RK, Shortridge VD. <i>In vitro</i> and bactericidal activities of ABT-492, a novel fluoroquinolone, against Gram-positive and Gram-negative organisms. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2004</b>; <i>48(7)</i>: 2771-7.</p> <p>Yong DE, Cheong HJ, Kim YS, Park YJ, Kim WJ, Woo JH, Lee KW, Kang MW, Choo YS. <i>In vitro</i> activity of gemifloxacin against recent clinical isolates of bacteria in Korea. <i>J. Korean Med. Sci.</i> <b>2002</b>; <i>17(6)</i>: 737-42.</p> <p>Otani T, Tanaka M, Ito E, Kurosaka Y, Murakami Y, Onodera K, Akasaka T, Sato K. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> antibacterial activities of DK-507k, a novel fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2003</b>; <i>47(12)</i>: 3750-9.</p>
Norfloxacin	1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		<p>Coll R, Gargallo-Viola D, Tudela E, Xicota MA, Llovera S, Guinea J. Antibacterial activity and pharmacokinetics of our new 7-azetidiny fluoroquinolones. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1996</b>; <i>40(1)</i>: 274-7.</p> <p>Cunha BA, Qadri SM, Ueno Y, Walters EA, Domenico P. Antibacterial activity of trovafloxacin against nosocomial Gram-positive and Gram-negative isolates. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>1997</b>; <i>39(Suppl. B)</i>: 29-34.</p> <p>Jones RN, Barry AL. <i>In vitro</i> evaluation of WIN 57273, a new broad-spectrum</p>

			fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1990</b> ; <i>34</i> (2): 306-13. García-Rodríguez JA, García Sánchez JE, Muñoz Bellido JL, Trujillano I. <i>In vitro</i> activities of irloxacin and E-3846, two new quinolones. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1990</b> ; <i>34</i> (6): 1262-7.
Olamufloxacin	(S)-5-amino-7-(7-amino-5-azaspiro[2.4]heptan-5-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-8-methyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Takahashi Y, Masuda N, Otsuki M, Miki M, Nishino T. <i>In vitro</i> activity of HSR-903, a new quinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b> ; <i>41</i> (6): 1326-30.
Pazufloxacin	(S)-8-amino-10-(1-aminocyclopropyl)-9-fluoro-3-methyl-7-oxo-3,7-dihydro-2H-[1,4]oxazino[2,3,4-ij]quinoline-6-carboxylic acid		Fukuoka Y, Ikeda Y, Yamashiro Y, Takahata M, Todo Y, Narita H. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> antibacterial activities of T-3761, a new quinolone derivative. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1993</b> ; <i>37</i> (3): 384-92.
Pefloxacin	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		García-Rodríguez JA, García Sánchez JE, Muñoz Bellido JL, Trujillano I. <i>In vitro</i> activities of irloxacin and E-3846, two new quinolones. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1990</b> ; <i>34</i> (6): 1262-7.
PGE-4175997	(R)-7-(3-(2-aminopropan-2-yl)pyrrolidin-1-yl)-1-cyclopropyl-8-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Barry AL, Fuchs PC, Brown SD. <i>In vitro</i> activities of three nonfluorinated quinolones against representative bacterial isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b> ; <i>45</i> (6): 1923-7. Roychoudhury S, Twinem TL, Makin KM, McIntosh EJ, Ledoussal B, Catrenich CE. Activity of non-fluorinated quinolones (NFQs) against quinolone-resistant <i>Escherichia coli</i> and <i>Streptococcus pneumoniae</i> . <i>J. Antimicrob. Chemother.</i>

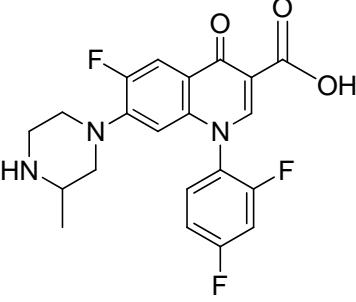
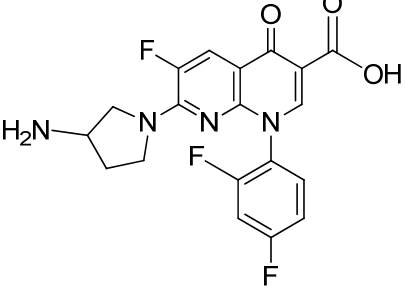
PGE-9262932	7-((R)-3-((S)-1-aminoethyl)pyrrolidin-1-yl)-1-cyclopropyl-8-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		<b>2001</b> ; 48: 29-36. Idem
PGE-9509924	(S)-7-(3-aminopiperidin-1-yl)-1-cyclopropyl-8-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Rufloxacin	9-fluoro-10-(4-methylpiperazin-1-yl)-7-oxo-3,7-dihydro-2H-[1,4]thiazino[2,3,4-ij]quinoline-6-carboxylic acid		Choi KH, Hong JS, Kim SK, Lee DK, Yoon SJ, Choi EC. In-vitro and in-vivo activities of DW-116, a new fluoroquinolone. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>1997</b> ; 39(4): 509-14.
Sitafloxacin	7-((S)-7-amino-5-azaspiro[2.4]heptan-5-yl)-8-chloro-6-fluoro-1-((1S,2R)-2-fluorocyclopropyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Tanaka M, Yamazaki E, Chiba M, Yoshihara K, Akasaka T, Takemura M, Sato K. <i>In vitro</i> antibacterial activities of DQ-113, a potent quinolone, against clinical isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b> ; 46(3): 904-8. Korten V, Tomayko JF, Murray BE. Comparative <i>in vitro</i> activity of DU-6859a, a new fluoroquinolone agent, against gram-positive cocci. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1994</b> ; 38(3): 611-5. Snydman DR, Jacobus NV, McDermott LA, Ruthazer R, Goldstein E, Finegold S, Harrell L, Hecht DW, Jenkins S, Pierson C, Venezia R, Rihs J, Gorbach SL. <i>In vitro</i> activities of newer quinolones against bacteroides group organisms. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b> ; 46(10): 3276-9. Milatovic D, Schmitz FJ, Brisse S, Verhoef J, Fluit AC. <i>In vitro</i> activities of sitafloxacin (DU-6859a) and six

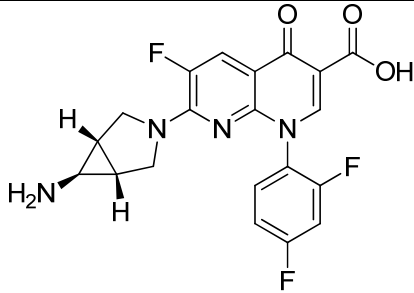
			<p>other fluoroquinolones against 8,796 clinical bacterial isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2000</b>; <i>44(4)</i>: 1102-7.</p> <p>Otani T, Tanaka M, Ito E, Kurosaka Y, Murakami Y, Onodera K, Akasaka T, Sato K. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> antibacterial activities of DK-507k, a novel fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2003</b>; <i>47(12)</i>: 3750-9.</p>
Esparfloxacin	5-amino-1-cyclopropyl-7-((3S,5R)-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-6,8-difluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		<p>Cormican MG, Jones RN. Antimicrobial activity and spectrum of LB20304, a novel fluoronaphthyridone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b>; <i>41(1)</i>: 204-11.</p> <p>Goldstein EJ, Citron DM, Hunt Gerardo S, Hudspeth M, Merriam CV. Comparative <i>in vitro</i> activities of DU-6859a, levofloxacin, ofloxacin, sparfloxacin, and ciprofloxacin against 387 aerobic and anaerobic bite wound isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b>; <i>41(5)</i>: 1193-5.</p> <p>Tanaka M, Yamazaki E, Chiba M, Yoshihara K, Akasaka T, Takemura M, Sato K. <i>In vitro</i> antibacterial activities of DQ-113, a potent quinolone, against clinical isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b>; <i>46(3)</i>: 904-8.</p> <p>Goldstein EJ, Citron DM, Hudspeth M, Hunt Gerardo S, Merriam CV. <i>In vitro</i> activity of Bay 12-8039, a new 8-methoxyquinolone, compared to the activities of 11 other oral antimicrobial agents against 390 aerobic and anaerobic bacteria isolated from human and</p>

			<p>animal bite wound skin and soft tissue infections in humans. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b>; <i>41(7)</i>: 1552-7.</p> <p>Brueggemann AB, Kugler KC, Doern GV.</p> <p><i>In vitro</i> activity of BAY 12-8039, a novel 8-methoxyquinolone, compared to activities of six fluoroquinolones against <i>Streptococcus pneumoniae</i>, <i>Haemophilus influenzae</i>, and <i>Moraxella catarrhalis</i>. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b>; <i>41(7)</i>: 1594-7.</p> <p>Yun HJ, Min YH, Lim JA, Kang JW, Kim SY, Kim MJ, Jeong JH, Choi YJ, Kwon HJ, Jung YH, Shim MJ, Choi EC. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> antibacterial activities of DW286, a new fluoronaphthyridone antibiotic. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b>; <i>46(9)</i>: 3071-4.</p> <p>Montanari MP, Mingoia M, Varaldo PE. <i>In vitro</i> antibacterial activities of AF 3013, the active metabolite of prulifloxacin, against nosocomial and community Italian isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b>; <i>45(12)</i>: 3616-22.</p> <p>Neu HC, Chin NX. <i>In vitro</i> activity of the new fluoroquinolone CP-99,219. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1994</b>; <i>38(11)</i>: 2615-22.</p> <p>Jones RN, Croco MA, Pfaller MA, Beach ML, Kugler KC. Antimicrobial activity evaluations of gatifloxacin, a new fluoroquinolone: contemporary pathogen results from a global antimicrobial resistance surveillance program (SENTRY,</p>
--	--	--	--



		<p>1997). <i>Clin. Microbiol. Infect.</i> <b>1999</b>; 5(9): 540-546. 32)</p> <p>Kim JH, Choi KH, Kim JW, Lee JH, Choi EC, Kim BK. In-vitro and in-vivo antibacterial activity of CFC-222, a new fluoroquinolone. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>1998</b>; 41(2): 223-9.</p> <p>Choi KH, Hong JS, Kim SK, Lee DK, Yoon SJ, Choi EC. In-vitro and in-vivo activities of DW-116, a new fluoroquinolone. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>1997</b>; 39(4): 509-14.</p> <p>Clement JJ, Tanaka SK, Alder J, Vojtko C, Beyer J, Hensey D, Ramer N, McDaniel D, Chu DT. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> evaluations of A-80556, a new fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1994</b>; 38(5): 1071-8.</p> <p>Chin NX, Gu JW, Yu KW, Zhang YX, Neu HC. <i>In vitro</i> activity of sparfloxacin. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1991</b>; 35(3): 567-71.</p> <p>Borobio MV, Conejo M, Ramirez E, Suarez AI, Perea EJ. Comparative activities of eight quinolones against members of the <i>Bacteroides fragilis</i> group. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1994</b>; 38(6): 1442-5.</p> <p>Wexler HM, Molitoris E, Finegold SM. <i>In vitro</i> activity of Bay Y3118 against anaerobic bacteria. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1993</b>; 37(11): 2509-13.</p> <p>Goldstein EJ, Citron DM. Comparative Activity of Ciprofloxacin, Ofloxacin, Sparfloxacin, Temafloxacin, CI-960, CI-990, and WIN 57273 against Anaerobic</p>
--	--	--

			Bacteria. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1992</b> ; <i>36(5)</i> : 1158-62.
Temafloxacin	1-(2,4-difluorophenyl)-6-fluoro-7-(3-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Neu HC, Chin NX. <i>In vitro</i> activity of the new fluoroquinolone CP-99,219. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1994</b> ; <i>38(11)</i> : 2615-22. Neu HC, Fang W, Gu JW, Chin NX. <i>In vitro</i> activity of OPC-17116. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1992</b> ; <i>36(6)</i> : 1310-5. Goldstein EJ, Citron DM. Comparative Activity of Ciprofloxacin, Ofloxacin, Sparfloxacin, Temafloxacin, CI-960, CI-990, and WIN 57273 against Anaerobic Bacteria. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1992</b> ; <i>36(5)</i> : 1158-62.
Tosufloxacin	7-(3-aminopyrrolidin-1-yl)-1-(2,4-difluorophenyl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid		Tanaka M, Yamazaki E, Chiba M, Yoshihara K, Akasaka T, Takemura M, Sato K. <i>In vitro</i> antibacterial activities of DQ-113, a potent quinolone, against clinical isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b> ; <i>46(3)</i> : 904-8. Gargallo-Viola D, Ferrer S, Tudela E, Robert M, Coll R, Roser R, Guinea J. Antibacterial activities and pharmacokinetics of E-4767 and E-5065, two new 8-chlorofluoroquinolones with a 7-azetidin ring substituent. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b> ; <i>45(11)</i> : 3113-21. Neu HC, Chin NX. <i>In vitro</i> activity of the new fluoroquinolone CP-99,219. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1994</b> ; <i>38(11)</i> : 2615-22. Neu HC, Fang W, Gu JW, Chin NX. <i>In vitro</i> activity of OPC-17116. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1992</b> ; <i>36(6)</i> : 1310-5.

Trovafloxacino	7-((1R,5S,6s)-6-amino-3-azabicyclo[3.1.0]hexan-3-yl)-1-(2,4-difluorophenyl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid		<p>Cormican MG, Jones RN. Antimicrobial activity and spectrum of LB20304, a novel fluoronaphthyridone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b>; 41(1): 204-11.</p> <p>Goldstein EJ, Citron DM, Hudspeth M, Hunt Gerardo S, Merriam CV. Trovafloxacin compared with levofloxacin, ofloxacin, ciprofloxacin, azithromycin and clarithromycin against unusual aerobic and anaerobic human and animal bite-wound pathogens. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>1998</b>; 41(3): 391-6.</p> <p>Brueggemann AB, Kugler KC, Doern GV. <i>In vitro</i> activity of BAY 12-8039, a novel 8-methoxyquinolone, compared to activities of six fluoroquinolones against <i>Streptococcus pneumoniae</i>, <i>Haemophilus influenzae</i>, and <i>Moraxella catarrhalis</i>. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b>; 41(7): 1594-7.</p> <p>Yun HJ, Min YH, Lim JA, Kang JW, Kim SY, Kim MJ, Jeong JH, Choi YJ, Kwon HJ, Jung YH, Shim MJ, Choi EC. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> antibacterial activities of DW286, a new fluoronaphthyridone antibiotic. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b>; 46(9): 3071-4.</p> <p>Hoellman DB, Kelly LM, Jacobs MR, Appelbaum PC. Comparative Antianaerobic Activity of BMS 284756. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b>; 45(2): 589-92.</p> <p>Montanari MP, Mingoa M, Varaldo PE. <i>In</i></p>
----------------	--	--	--

			<p><i>in vitro</i> antibacterial activities of AF 3013, the active metabolite of prulifloxacin, against nosocomial and community Italian isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b>; <i>45</i>(12): 3616-22.</p> <p>Neu HC, Chin NX. <i>In vitro</i> activity of the new fluoroquinolone CP-99,219. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1994</b>; <i>38</i>(11): 2615-22.</p> <p>Snydman DR, Jacobus NV, McDermott LA, Ruthazer R, Goldstein E, Finegold S, Harrell L, Hecht DW, Jenkins S, Pierson C, Venezia R, Rihs J, Gorbach SL. <i>In vitro</i> activities of newer quinolones against bacteroides group organisms. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2002</b>; <i>46</i>(10): 3276-9.</p> <p>Milatovic D, Schmitz FJ, Brisse S, Verhoef J, Fluit AC. <i>In Vitro</i> activities of sitafloxacin (DU-6859a) and six other fluoroquinolones against 8,796 clinical bacterial isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2000</b>; <i>44</i>(4): 1102-7.</p> <p>Almer LS, Hoffrage JB, Keller EL, Flamm RK, Shortridge VD. <i>In vitro</i> and bactericidal activities of ABT-492, a novel fluoroquinolone, against Gram-positive and Gram-negative organisms. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2004</b>; <i>48</i>(7): 2771-7.</p> <p>Nilius AM, Shen LL, Hensey-Rudloff D, Almer LS, Beyer JM, Balli DJ, Cai Y, Flamm RK. <i>In vitro</i> antibacterial potency and spectrum of ABT-492, a new fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2003</b>; <i>47</i>(10): 3260-9.</p>
--	--	--	--

			<p>Jones RN, Croco MA, Pfaller MA, Beach ML, Kugler KC. Antimicrobial activity evaluations of gatifloxacin, a new fluoroquinolone: contemporary pathogen results from a global antimicrobial resistance surveillance program (SENTRY, 1997). <i>Clin. Microbiol. Infect.</i> <b>1999</b>; 5(9): 540-546.</p> <p>Felmingham D, Robbins MJ, Ingley K, Mathias I, Bhogal H, Leakey A, Ridgway GL, Grüneberg RN. In-vitro activity of trovafloxacin, a new fluoroquinolone, against recent clinical isolates. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>1997</b>; 39(Suppl. B): 43-9.</p> <p>Cunha BA, Qadri SM, Ueno Y, Walters EA, Domenico P. Antibacterial activity of trovafloxacin against nosocomial Gram-positive and Gram-negative isolates. <i>J. Antimicrob. Chemother.</i> <b>1997</b>; 39(Suppl. B): 29-34.</p> <p>Endtz HP, Mouton JW, den Hollander JG, van den Braak N, Verbrugh HA. Comparative <i>in vitro</i> activities of trovafloxacin (CP-99,219) against 445 gram-positive isolates from patients with endocarditis and those with other bloodstream infections. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1997</b>; 41(5): 1146-9.</p> <p>Barry AL, Fuchs PC, Brown SD. <i>In vitro</i> activities of three nonfluorinated quinolones against representative bacterial isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2001</b>; 45(6): 1923-7.</p> <p>Gooding BB, Jones RN. <i>In vitro</i> antimicrobial activity of</p>
--	--	--	---

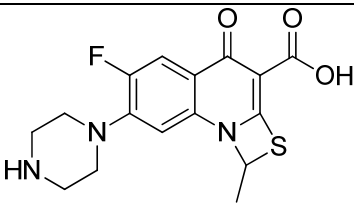
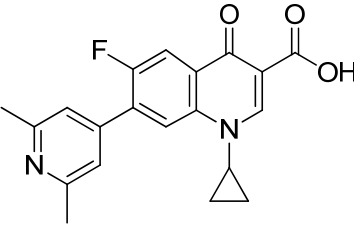
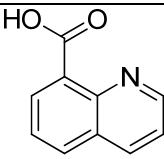
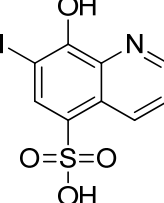
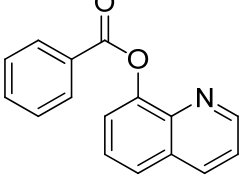
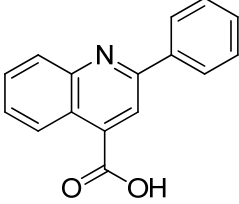
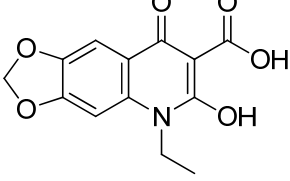
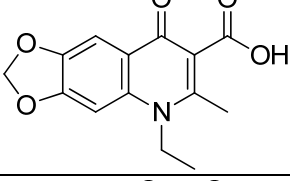
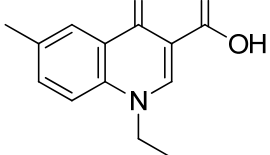
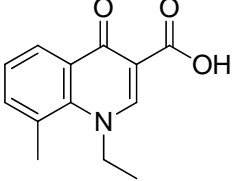
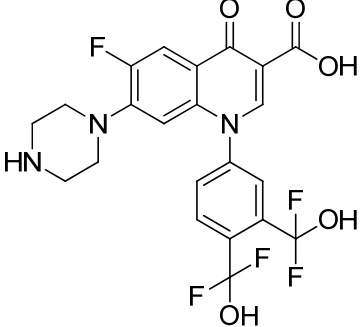
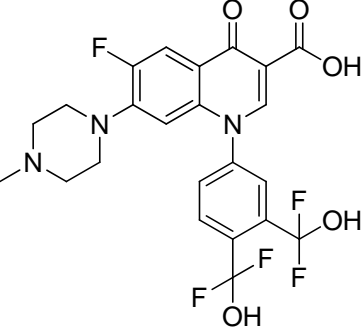
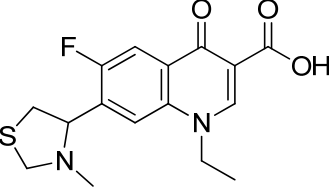
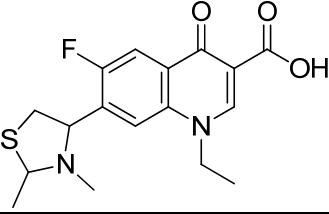
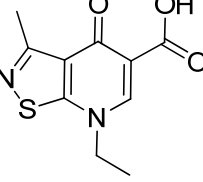
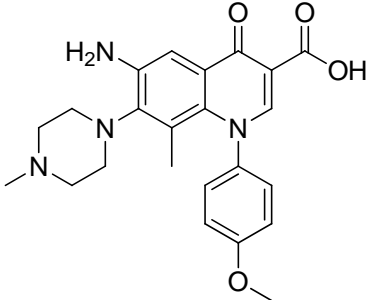
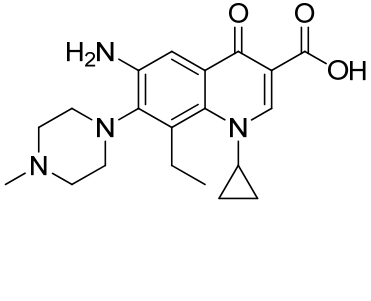
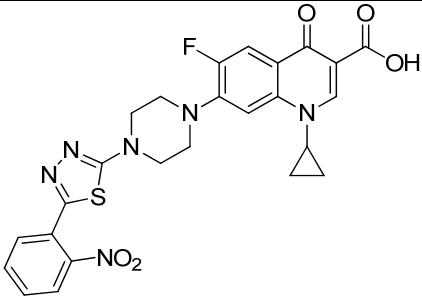
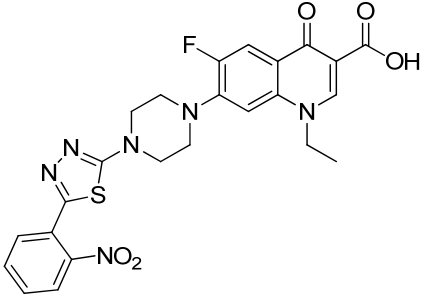
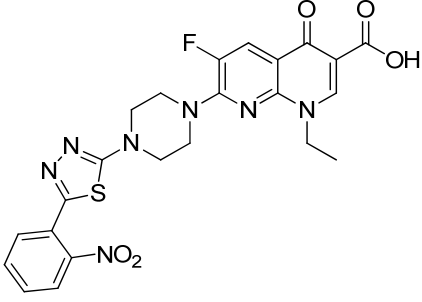
			CP-99,219, a novel azabicyclo-naphthyridone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1993</b> ; <i>37(2)</i> : 349-53.
Ulifloxacin	6-fluoro-1-methyl-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydro-[1,3]thiazeto[3,2-a]quinoline-3-carboxylic acid		Ozaki M, Matsuda M, Tomii Y, Kimura K, Kazuno K, Kitano M, Kise M, Shibata K, Otsuki M, Nishino T. <i>In vitro</i> antibacterial activity of a new quinolone, NM394. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1991</b> ; <i>35(12)</i> : 2490-5.
WIN57273	1-cyclopropyl-7-(2,6-dimethylpyridin-4-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Eliopoulos GM, Klimm K, Rice LB, Ferraro MJ, Moellering RC Jr. Comparative <i>in vitro</i> activity of WIN 57273, a new fluoroquinolone antimicrobial agent. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1990</b> ; <i>34(6)</i> : 1154-9. Jones RN, Barry AL. <i>In vitro</i> evaluation of WIN 57273, a new broad-spectrum fluoroquinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1990</b> ; <i>34(2)</i> : 306-13. Sedlock DM, Dobson RA, Deuel DM, Leshner GY, Rake JB. <i>In vitro</i> and <i>in vivo</i> activities of a new quinolone, WIN 57273, possessing potent activity against gram-positive bacteria. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>1990</b> ; <i>34(4)</i> : 568-75.

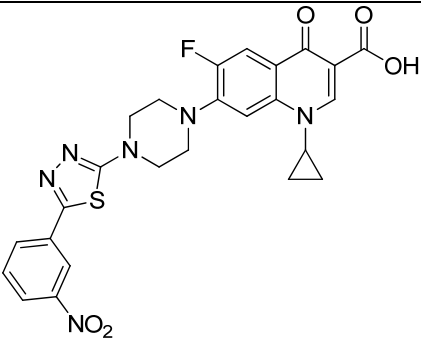
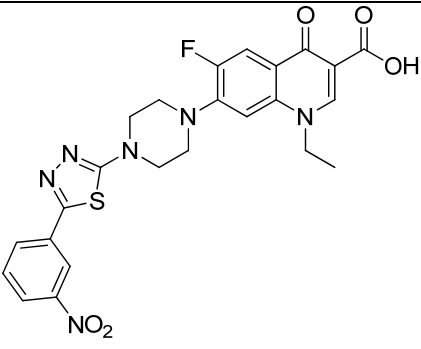
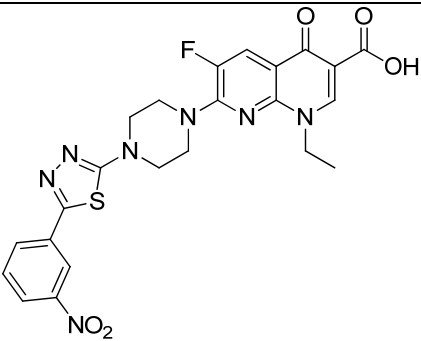
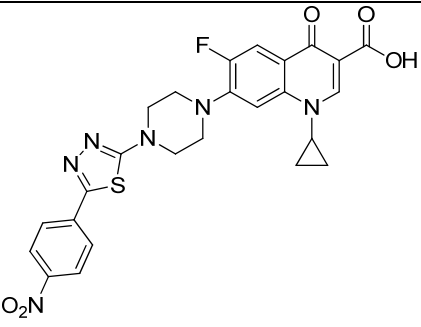
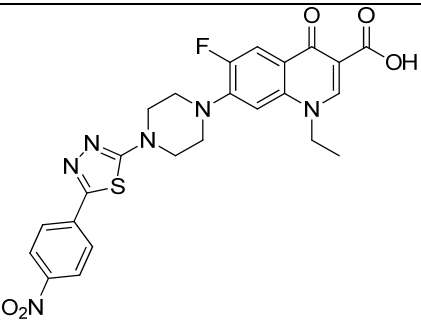
Tabla Inactivos Antibacterianos

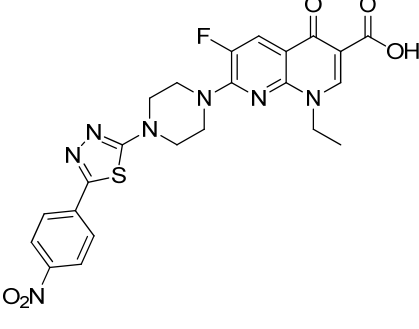
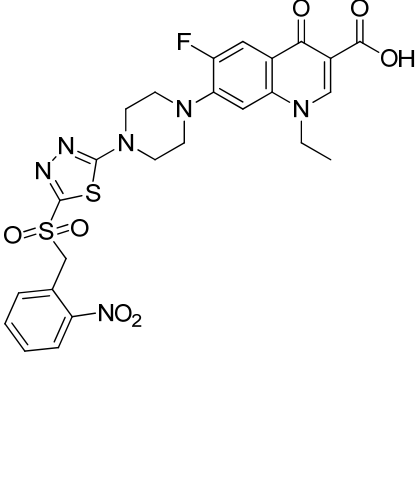
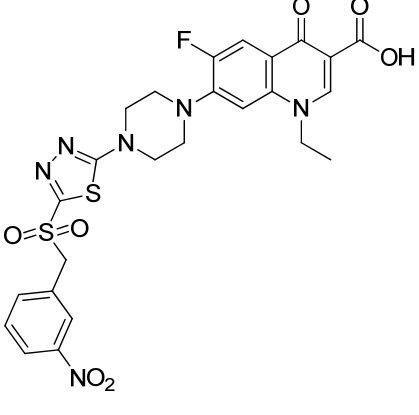
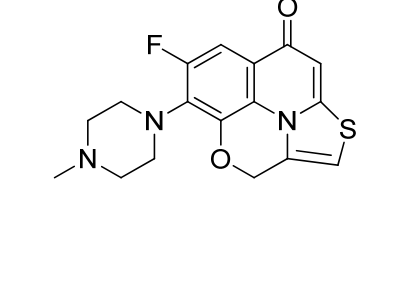
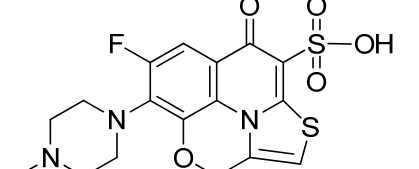
Comp.	Nombre real	Estructura	Referencia
8qincarb	quinoline-8-carboxylic acid		Zani F, Carmellino ML. Antimicrobial and genotoxic properties of quinoline derivatives. <i>Boll. Chim. Farm.</i> <b>1994</b> ; 133(5): 328-38.
Ferron	8-hydroxy-7-iodoquinoline-5-sulfonic acid		Idem
Benzoxiquina	quinolin-8-yl benzoate		Khan, K.A.; Khan, S.A.; Khalid, S.M.; Ahmed, A.; Siddiqui, B.S.; Saleem, R.; Siddiqui, S.; Faizi, S. <i>In vitro</i> studies of the antibacterial and antifungal activities of oxine and its derivatives. <i>Arzneimittelforschung.</i> , <b>1994</b> , 44(8), 972-975.
Cinchofeno	2-phenylquinoline-4-carboxylic acid		Strigáčová J, Hudecová D, Varecka L, Lásiková A, Végh D. Some biological properties of new quinoline-4-carboxylic acid and quinoline-4-carboxamide derivatives. <i>Folia Microbiol. (Praha)</i> <b>2000</b> ; 45(4): 305-9.
Inact2	5-ethyl-6-hydroxy-8-oxo-5,8-dihydro-[1,3]dioxolo[4,5-g]quinoline-7-carboxylic acid		Mitscher LA, Gracey HE, Clark GW 3rd, Suzuki T. Quinolone antimicrobial agents. 1. Versatile new synthesis of 1-alkyl-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acids. <i>J. Med. Chem.</i> <b>1978</b> ; 21(5): 485-9.
Inact3	5-ethyl-6-methyl-8-oxo-5,8-dihydro-[1,3]dioxolo[4,5-g]quinoline-7-carboxylic acid		Idem
Inact4	1-ethyl-6-methyl-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem

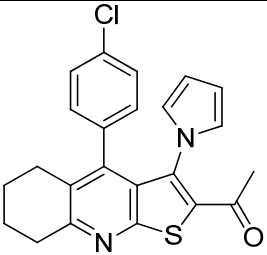
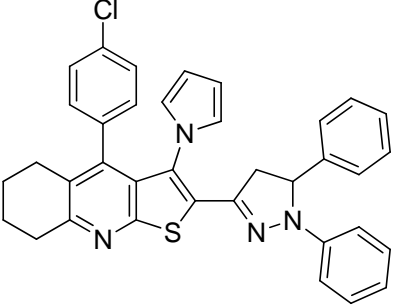
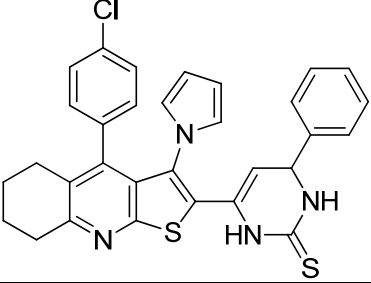
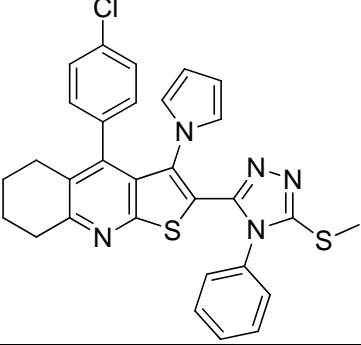
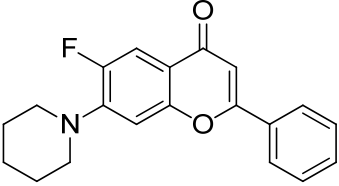
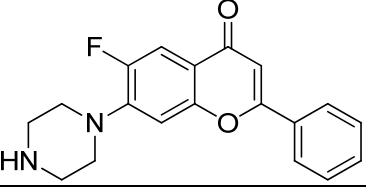
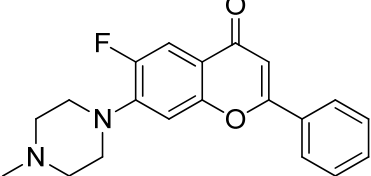
Inact5	1-ethyl-8-methyl-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact7	1-(3,4-bis(difluoro(hydroxy)methyl)phenyl)-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Xiao W, Krishnan R, Lin YI, Delos Santos EF, Kuck NA, Babine RE, Lang SA Jr. Synthesis and <i>in vitro</i> antibacterial activity of some 1-(difluoromethoxyphenyl)quinolone-3-carboxylic acids. <i>J. Pharm. Sci.</i> <b>1989</b> ; 78(7); 585-8.
Inact8	1-(3,4-bis(difluoro(hydroxy)methyl)phenyl)-6-fluoro-7-(4-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact10	1-ethyl-6-fluoro-7-(3-methylthiazolidin-4-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Zhang M, Haemers A, Vanden Berghe D, Pattyn S, Bollaert W, Levshin I. Quinolone antibacterials. 1. 7-(2-Substituted-4-thiazolyl- and thiazolidinyl)quinolones. <i>J. Heterocyclic Chem.</i> <b>1991</b> ; 22(38): 673-83.
Inact11	7-(2,3-dimethylthiazolidin-4-yl)-1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact12	7-ethyl-3-methyl-4-oxo-4,7-dihydroisothiazolo[5,4-b]pyridine-5-carboxylic acid		Richardson TO; Neale N, Carwell N. Synthesis and antibacterial activity of 7-ethyl-3-methyl-4,7-dihydro-4-oxoisothiazolo[5,4-b]pyridine-5-carboxylic acid. <i>J. Heterocyclic Chem.</i> <b>1995</b> ; 32(1): 359-61.

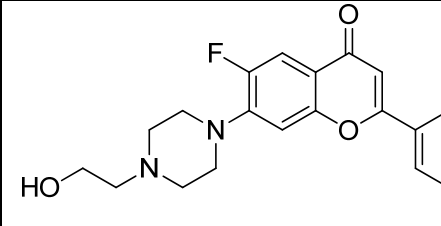
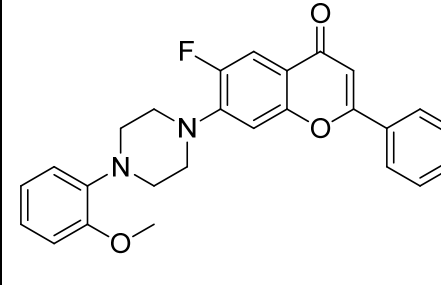
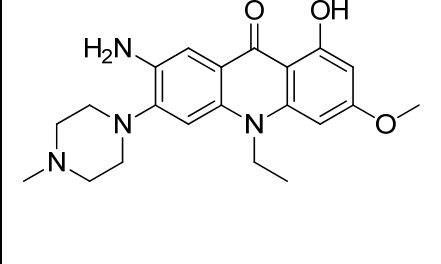
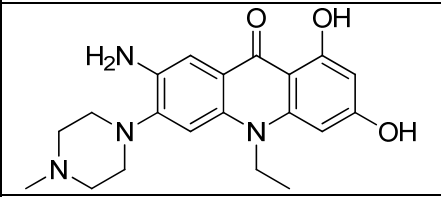
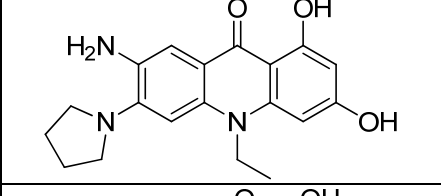
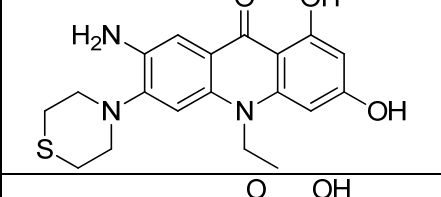
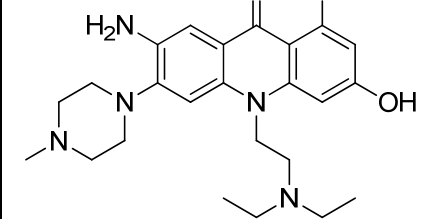
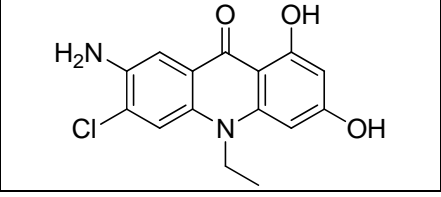


Inact13	7-amino-4-(4-methoxyphenyl)-5-methyl-6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1-oxo-1,4-dihydronaphthalene-2-carboxylic acid		Cecchetti V, Fravolini A, Lorenzini MC, Tabarrini O, Terni P, Xin T. Studies on 6-aminoquinolones: synthesis and antibacterial evaluation of 6-amino-8-methylquinolones. <i>J. Med. Chem.</i> <b>1996</b> ; 39(2): 436-45.
Inact15	7-amino-4-cyclopropyl-5-ethyl-6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1-oxo-1,4-dihydronaphthalene-2-carboxylic acid		Cecchetti V, Tabarrini O, Sabatini S, Miao H, Filippini E, Fravolini A. Studies on 6-aminoquinolones: synthesis and antibacterial evaluation of 6-amino-8-ethyl- and 6-amino-8-methoxyquinolones. <i>Bioorg. Med. Chem.</i> <b>1999</b> ; 7(11): 2465-71.
Inact16	1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(4-(5-(2-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Forumadi A, Soltani F, Moshafi MH, Ashraf-Askari R. Synthesis and <i>in vitro</i> antibacterial activity of some N-(5-aryl-1,3,4-thiadiazole-2-yl)piperazinyl quinolone derivatives. <i>Farmaco</i> <b>2003</b> ; 58(10): 1023-8.
Inact17	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-(2-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact18	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-(2-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid		Idem

Inact19	1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(4-(5-(3-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact20	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-(3-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact21	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-(3-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid		Idem
Inact22	1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(4-(5-(4-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact23	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-(4-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem

Inact24	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-(4-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid		Idem
Inact27	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-((2-nitrobenzyl)sulfonyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		<p>Forumadi A, Emami S, Hassanzadeh A, Rajaei M, Sokhanvar K, Moshafi MH, Shafiee A. Synthesis and antibacterial activity of N-(5-benzylthio-1,3,4-thiadiazol-2-yl) and N-(5-benzylsulfonyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazinyl quinolone derivatives. <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> <b>2005</b>; <i>15</i>(20): 4488-92.</p>
Inact28	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-((3-nitrobenzyl)sulfonyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact29	6-fluoro-5-(4-methylpiperazin-1-yl)-4-oxa-1-thia-2a1-azacyclopenta[cd]phenalen-8(3H)-one		<p>Taguchi M, Kondo H, Inoue Y, Kawahata Y, Jinbo Y, Sakamoto F, Tsukamoto G. Synthesis and antibacterial activity of new tetracyclic quinolone antibacterials. <i>J. Med. Chem.</i> <b>1992</b>; <i>35</i>(1): 94-9.</p>
Inact30	6-fluoro-5-(4-methylpiperazin-1-yl)-8-oxo-3,8-dihydro-4-oxa-1-thia-2a1-azacyclopenta[cd]phenalene-9-sulfonic acid		Idem

Inact31	1-(4-(4-chlorophenyl)-3-(1H-pyrrol-1-yl)-5,6,7,8-tetrahydrothieno[2,3-b]quinolin-2-yl)ethanone		Geies AA, Bakhite EA, el-Kashef HS. Synthesis and antimicrobial activities of some new pyrrolylthieno[2,3-b]-quinoline derivatives. <i>Pharmazie</i> <b>1998</b> ; <i>53(10)</i> : 686-90.
Inact32	4-(4-chlorophenyl)-2-(1,5-diphenyl-4,5-dihydro-1H-pyrazol-3-yl)-3-(1H-pyrrol-1-yl)-5,6,7,8-tetrahydrothieno[2,3-b]quinoline		Idem
Inact33	6-(4-(4-chlorophenyl)-3-(1H-pyrrol-1-yl)-5,6,7,8-tetrahydrothieno[2,3-b]quinolin-2-yl)-4-phenyl-3,4-dihydropyrimidine-2(1H)-thione		Idem
Inact34	4-(4-chlorophenyl)-2-(5-(methylthio)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)-3-(1H-pyrrol-1-yl)-5,6,7,8-tetrahydrothieno[2,3-b]quinoline		Idem
Inact35	6-fluoro-2-phenyl-7-(piperidin-1-yl)-4H-chromen-4-one		Mari S, Rossi M, Valenti P, Da Re P. Flavone and xanthone derivatives related to fluoroquinolones. <i>Farmaco</i> <b>1999</b> ; <i>54(6)</i> : 411-5.
Inact36	6-fluoro-2-phenyl-7-(piperazin-1-yl)-4H-chromen-4-one		Idem
Inact37	6-fluoro-7-(4-methylpiperazin-1-yl)-2-phenyl-4H-chromen-4-one		Idem

Inact38	6-fluoro-7-(4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl)-2-phenyl-4H-chromen-4-one		Idem
Inact39	6-fluoro-7-(4-(2-methoxyphenyl)piperazin-1-yl)-2-phenyl-4H-chromen-4-one		Idem
Inact40	7-amino-10-ethyl-1-hydroxy-3-methoxy-6-(4-methylpiperazin-1-yl)acridin-9(10H)-one		Tabarrini O, Cecchetti V, Fravolini A, Nocentini G, Barzi A, Sabatini S, Miao H, Sissi C. Design and synthesis of modified quinolones as antitumoral acridones. <i>J. Med. Chem.</i> <b>1999</b> ; <i>42</i> (12): 2136-44.
Inact41	7-amino-10-ethyl-1,3-dihydroxy-6-(4-methylpiperazin-1-yl)acridin-9(10H)-one		Idem
Inact42	7-amino-10-ethyl-1,3-dihydroxy-6-(pyrrolidin-1-yl)acridin-9(10H)-one		Idem
Inact43	7-amino-10-ethyl-1,3-dihydroxy-6-thiomorpholinoacridin-9(10H)-one		Idem
Inact44	7-amino-10-(2-(diethylamino)ethyl)-1,3-dihydroxy-6-(4-methylpiperazin-1-yl)acridin-9(10H)-one		Idem
Inact45	7-amino-6-chloro-10-ethyl-1,3-dihydroxyacridin-9(10H)-one		Idem

Inact46	1-benzyl-6-fluoro-3-hydroxy-7-(pyrrolidin-1-yl)quinazoline-2,4(1H,3H)-dione		Tran TP, Ellsworth EL, Stier MA, Domagala JM, Hollis Showalter HD, Gracheck SJ, Shapiro MA, Joannides TE, Singh R. Synthesis and structural-activity relationships of 3-hydroxyquinazoline-2,4-dione antibacterial agents. <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> <b>2004</b> ; <i>14(17)</i> : 4405-9.
Inact47	1-(2,4-difluorophenyl)-6-fluoro-3-hydroxy-7-(pyrrolidin-1-yl)quinazoline-2,4(1H,3H)-dione		Idem
Naptalam	2-(naphthalen-1-ylcarbamoyl)benzoic acid		Shahid, K.; Ali, S.; Shahzadi, S. The chemistry, properties, and characterization of organotin(IV) complexes of 2-(N-naphthylamido)benzoic acid. <i>J. Coord. Chem.</i> <b>2009</b> , <i>62(17)</i> , 2919-2926.
PGE-5215205	1-methyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Macinga DR, Renick PJ, Makin KM, Ellis DH, Kreiner AA, Li M, Rupnik KJ, Kincaid EM, Wallace CD, Ledoussal B, Morris TW. Unique Biological Properties and Molecular Mechanism of 5,6-Bridged Quinolones. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2003</b> ; <i>47(8)</i> : 2526-37.
PGE-6116542	7,8-dimethyl-10-oxo-7,10-dihydro-1H-[1,3]dioxino[5,4-f]quinoline-9-carboxylic acid		Idem
Quinolina	quinoline		Darawsheh, M.; Abu Ali, H.; Abuhijleh, A.L.; Rappocciolo, E.; Akkawi, M.; Jaber, S.; Maloul, S.; Hussein, Y. New mixed ligand zinc (II) complexes based on the antiepileptic drug sodium valproate and bioactive nitrogen-

			donor ligands. Synthesis, structure and biological properties. <i>Eur. J. Med. Chem.</i> , <b>2014</b> , <i>82</i> , 152- 163.
--	--	--	--





## ANEXO II

Compuesto	Actividad	FD <sub>1</sub>	FD <sub>2</sub>
Abacavir	Antiviral	6,760	6,414
Acecarbromal	Sedante, hipnótico	5,209	7,840
Acediasulfona	Antibacteriano	5,403	3,324
Acetosulfona	Antibacteriano, leprostático	2,890	9,119
Acetil sulfametoxipirazina	Antibacteriano	0,967	2,341
3,6-diamino-10-metilacridinio	Antibacteriano	10,840	4,154
Acrinatrina	Insecticida	1,400	4,865
ACV	Precursor antibacterianos	6,294	10,116
Adenopterina	Antitumoral	11,524	9,434
AET	Agente radioprotector	5,363	2,599
Aflocualona	Relajante músculo esquelético	2,337	5,884
Agaritina	Antiviral	1,449	4,421
Alobarbital	Sedante, hipnótico	4,259	8,744
Ambenonio	Inhibidor colinesterasa	0,339	8,355
Amdinocilina Pivoxil	Antibacteriano	2,291	5,342
Amicetina	Antibiótico	4,624	4,387
Amidinomicina	Antibiótico, antiviral	6,660	7,239
o-aminoazotolueno	Colorante	4,697	10,208
Aminoglutetimida	Antitumoral, supresor adrenocortical	3,095	4,879
Hidrazida de ácido p-aminosalicílico	Antibacteriano, tuberculostático	6,249	3,692
Amobarbital	Sedante, hipnótico	1,942	7,979
Amfenona B	Antiestrogénico	11,782	3,706
Anastrozol	Antitumoral	5,841	5,788
Anilinfaleína	Fabricación polímeros	9,969	5,228
ANTU	Rodenticida	0,728	3,363
Apalcilina	Antibacteriano	10,015	4,813
Aprobarbital	Sedante, hipnótico	4,738	8,467
Apronalide	Sedante, hipnótico	7,826	6,223
Arprinocid	Coccidiostático	5,152	4,994
Asparagina	Aminoácido	4,918	5,307
Aspartamo	Edulcorante	1,099	7,782
Asulam	Herbicida	1,425	5,756
Azinfos-metil	Insecticida, acaricida	8,125	6,214
2,2'-azobisisobutironitrilo	Reactivo	4,109	5,147
Aztreonam	Antibacteriano	7,225	7,792
Azur A	Colorante biológico	7,157	5,718
Azur C	Colorante biológico	6,770	10,358
Bacilisina	Antibiótico	3,966	4,236
Benexato	Antiulceroso	0,055	6,909
Benzatina	Fabricación de penicilinas	0,222	6,410
Bencidina	Reactivo	8,620	3,852
2,4'-bifenildiamina	Reactivo	9,896	4,026
Bopindolol	Antihipertensivo	0,784	2,343
Bralobarbital	Sedante, hipnótico	2,210	7,307
Brodimoprim	Antibacteriano	10,081	3,923
Bromoprida	Antiemético	1,531	4,963
Bromuconazol	Antifúngico	1,533	5,893
Butobarbital	Sedante, hipnótico	2,542	4,674
Butalbital	Sedante, hipnótico	5,190	8,403
Butetamina	Anestésico local	7,215	5,744
Butalital	Anestésico intravenoso	0,009	6,542

Calicantina	Toxina	3,049	7,994
Capecitabina	Antitumoral	0,631	5,792
Capurida	Hipnótico	1,655	5,971
Carboplatino	Antitumoral	9,878	7,176
Carindacilina	Antibacteriano	8,014	5,396
Cariporida	Cardioprotector	4,307	6,316
Cartap	Insecticida	5,800	5,617
Carzinofilina A	Antibiótico, antitumoral	5,342	11,431
Cefaclor	Antibacteriano	8,291	7,624
Cefdinir	Antibiótico	8,213	3,117
Cefepima	Antibacteriano	4,996	4,064
Cefetamet	Antibacteriano	2,888	5,184
Cefixima	Antibacteriano	9,091	8,919
Cefoselis	Antibacteriano	10,398	5,253
Cefotaxima	Antibacteriano	3,986	9,920
Cefoxitina	Antibacteriano	6,563	4,815
Cefozopran	Antibacteriano	0,236	9,892
Cefroxadina	Antibacteriano	0,591	4,074
Ceftazidima	Antibacteriano	11,165	8,065
Ceftibuten	Antibacteriano	5,179	2,997
Ceftiofur	Antibacteriano	2,753	8,436
Cefalexina	Antibacteriano	3,270	4,396
Cefaloglicina	Antibacteriano	3,603	8,790
Cefalosporina C	Antibiótico	3,150	8,338
Quimonantina	Antidepressivo	3,049	7,823
Cloraminofenamida	Diurético	4,965	6,457
Clordantoína	Antifúngico	6,153	2,870
Anhídrido cloréndico	Reactivo	6,753	2,452
Cisaprida	Gastroprocinético	0,670	5,603
Clebopride	Antiemético, antiespasmódico	2,797	5,321
Clometocilina	Antibacteriano	6,734	2,334
Clorsulon	Antihelmíntico	8,175	9,317
Cloxacilina	Antibacteriano	7,617	2,415
Ciclopentobarbital	Sedante, hipnótico	1,090	8,460
Cicloserina	Antibiótico, tuberculostático	3,749	3,592
Cihalotrina	Insecticida, acaricida	6,554	2,680
Ciromazina	Insecticida	0,667	8,140
Cistationina	Aminoácido	2,563	2,624
Decitabina	Antitumoral	3,290	2,359
Detoxina D1	Disminución fitotoxicidad plantas	4,867	11,562
Detoxina C1	Disminución fitotoxicidad plantas	4,507	11,789
2,4-diaminoanisol	Reactivo	4,302	3,684
Ácido 3,5-diaminobenzoico	Reactivo	6,784	3,015
4,4'-diaminodifenilamina	Reactivo	6,049	8,704
<i>p,p'</i> -diaminodifenilmetano	Reactivo	10,850	3,872
2,3-diaminofenacina	Reactivo	8,076	4,028
Ácido 2,3-diaminopropiónico	Antimicrobiano	9,572	2,699
3,4-diaminopiridina	Reactivo	8,320	3,487
Dianisidina	Reactivo	8,165	4,099
Diaveridina	Antiprotozoario	6,311	3,891
Dibromopropamidina	Antiséptico, antiaméptico	10,588	3,529
2,2'-diclorobencidina	Reactivo	11,843	3,881
Dicloxacilina	Antibacteriano	6,884	2,677
Dietadiona	Analéptico	1,248	2,081

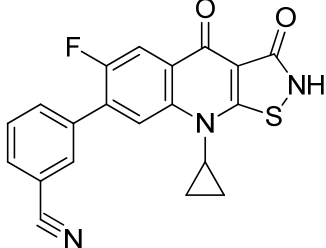
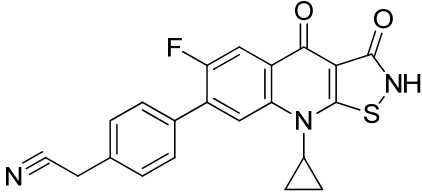
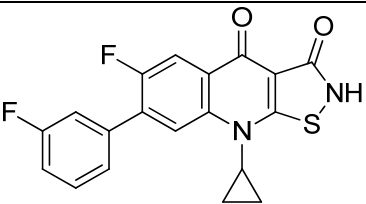
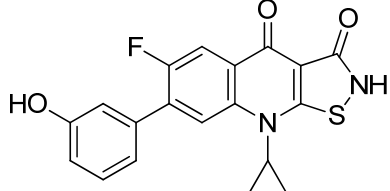
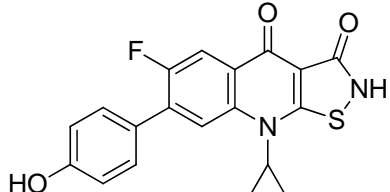
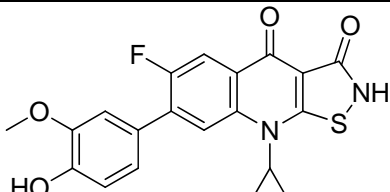
Dimetadona	Anticonvulsivante	2,400	2,518
Ebrotidina	Antiulceroso	1,042	10,944
Edatrexato	Antitumoral	10,452	9,313
Emtricitabina	Antiviral	9,335	5,713
Enalilpropimal	Sedante, hipnótico	2,958	4,807
Enterobactina	Promotor de crecimiento en microorganismos	5,540	3,222
Enviroxima	Antiviral	7,811	4,172
Epinastina	Antihistamínico	4,172	3,613
Epoxiconazol	Antifúngico	0,084	5,872
Etacridina	Antiséptico, abortivo	8,511	4,400
Etiocina	Herbicida	5,139	7,612
Biscumacetato de etilo	Anticoagulante	7,050	3,504
β-eucaína	Anestésico local	0,574	2,096
Felbamato	Anticonvulsivante	1,012	8,475
Fenbenicilina	Antibacteriano	8,523	2,095
Fenbuconazol	Antifúngico	3,439	5,928
Floxacilina	Antibacteriano	9,419	3,160
Furosemida	Diurético, antihipertensivo	0,334	3,941
Ganciclovir	Antiviral	0,309	4,923
Glutamina	Aminoácido	0,409	4,526
Guanabenz	Antihipertensivo	4,450	8,178
Guanfacina	Antihipertensivo	2,043	5,451
Guanoxabenz	Antihipertensivo	2,582	3,628
Halofenozida	Insecticida	0,211	2,189
Hidralacina	Antihipertensivo	6,847	3,499
Hipusina	Aminoácido	5,348	3,192
Imazamox	Herbicida	0,571	5,016
Imazapir	Herbicida	1,335	4,814
Imiquimod	Antiviral, inmunomodulador	9,935	5,520
Indecainida	Antiarrítmico	6,381	6,166
Iobenguane	Antitumoral, agente de imagen radioactiva	4,437	3,770
Irsogladina	Antiulceroso	8,193	3,656
Isofenfos	Insecticida	0,727	2,258
Kinurenina	Aminoácido	9,550	4,792
Lamotrigina	Anticonvulsivante	10,758	3,720
Lantionina	Aminoácido	4,291	2,906
Lazabemida	Antiparkinsoniano	0,962	4,382
Letrozol	Antitumoral	2,178	6,013
Leucotrieno C4	Broncoconstrictor	1,366	2,449
Lisinopril	Antihipertensivo	1,537	3,632
Loracarbef	Antibacteriano	7,454	7,315
Amarillo Lucifer CH	Colorante biológico fluorescente	5,550	11,947
Licodina	Inhibidor colinesterasa	2,787	2,003
Lisina	Aminoácido	0,912	2,611
Mafenida	Antibacteriano	7,016	3,164
Ácido mecónico	Marcador analítico para detección de opio	10,952	8,875
Metampicilina	Antibacteriano	9,913	6,547
Metformina	Antidiabético	0,372	3,324
Meticilina	Antibacteriano	8,796	2,281
Metotrexato	Antitumoral, antirreumático	10,265	9,381
4-metilaminorex	Estimulante, simpaticomimético	1,548	3,897
Metoclopramida	Antiemético	0,001	5,024
Metribuzina	Herbicida	5,775	7,588
Mitomicina C	Antibiótico, antitumoral	8,370	11,631
Mosaprida	Gastroprocinético	1,579	5,418
Anhídrido mucoclórico	Antifúngico	2,748	4,454
Muramil dipéptido	Inmunoadyuvante	5,122	6,930
Muzolimina	Diurético, antihipertensivo	0,105	4,005

Miclobutanil	Antifúngico	2,310	5,821
Nafamostato	Inhibidor enzimático	3,664	9,616
1,8-naftalendiamina	Antioxidante, reactivo	11,441	4,083
<i>N</i> -(1-naftil)etilendiamina	Reactivo	4,835	4,857
Nealbarbital	Sedante, hipnótico	8,835	8,522
Negamicina	Antibiótico	10,902	3,902
Neotamo	Edulcorante	6,839	7,584
Niceritrol	Antihiperlipoproteínico	3,630	5,670
Ninopterina	Antitumoral	1,676	5,765
2-aminobenzaldeído fenilhidrazona	Reactivo	2,667	9,450
Nocardicina A	Antibiótico	8,848	4,406
Nocardicina D	Antibiótico	7,607	7,170
Nolatrexed	Antitumoral	4,634	9,084
Octamoxina	Antidepresivo	7,525	3,849
Ornitina	Antihiperamonémico, aminoácido	3,002	2,620
Oxacilina	Antibacteriano	8,473	2,154
Oxadiargil	Herbicida	2,922	2,245
Papuamina	Antifúngico	2,962	8,045
Penamecilina	Antibacteriano	3,976	5,993
Penciclovir	Antiviral	3,187	4,071
Penetamato	Antibacteriano	0,760	2,925
Fenalimal	Sedante, hipnótico	0,430	9,094
Fenamidina	Antiprotozoario	2,671	3,362
Fenosafranina	Colorante biológico	9,328	10,014
Fenoxipropacina	Inhibidor enzimático	8,482	3,631
<i>m</i> -fenilendiamina	Reactivo	4,209	3,535
<i>o</i> -fenilendiamina	Reactivo	6,635	3,557
<i>p</i> -fenilendiamina	Reactivo	4,189	3,525
5-( $\alpha$ -feniletil)semioxamazida	Reactivo	3,913	11,026
Ácido fenilmetilbarbitúrico	Anticonvulsivante, sedante, hipnótico	2,311	8,809
PhIP	Carcinogénico	0,115	3,537
Ftalamida	Reactivo	0,062	7,214
Pinacidil	Antihipertensivo	7,048	8,571
Piritrexim	Antitumoral	8,736	4,142
Pivcefalexina	Antibacteriano	5,082	8,776
Porfiromicina	Antibiótico, antitumoral	8,692	6,742
Primaquina	Antimalárico	8,692	6,742
Proflavina	Antiséptico tópico	8,986	4,023
Propalilonal	Sedante, hipnótico	0,426	6,921
Propamidina	Antiinfeccioso tópico, antiprotozoario, antiaméxico	0,402	3,279
Proxibarbal	Sedante, hipnótico	4,040	5,218
Prucaloprida	Gastroprocinético	2,391	5,363
Pirimetamina	Antiprotozoario, antimalárico	8,686	4,037
Ácido piromelítico	Fabricación polímeros	8,418	2,015
Quinocida	Antimalárico	3,142	5,218
Remacemida	Anticonvulsivante, neuroprotector	7,498	4,913
Reposal	Sedante, hipnótico	0,257	7,750
Rizatriptan	Antimigrañoso	0,782	5,882
Sampatrilat	Antihipertensivo	3,682	10,059
Saxitoxina	Herramienta en investigación neuroquímica	4,812	6,386
Secobarbital	Sedante, hipnótico	3,628	5,031
Sobuzoxano	Antitumoral	0,320	9,324
Estilbamidina	Antiprotozoario	5,967	3,121

Succisulfona	Antibacteriano (leprostático)	3,153	4,805
Sulfadiazina	Antibacteriano	0,261	3,301
Sulfanilamida	Antibacteriano	6,144	3,133
Sulfanililurea	Antibacteriano	9,002	9,120
Sulfapirazina	Antibacteriano	0,772	3,375
Sulfatiourea	Antibacteriano	6,944	7,266
Sulfazecina	Antibiótico	1,572	11,416
Sincloseto	Antibacteriano tópico	3,409	7,397
Talbutal	Sedante, hipnótico	2,056	8,430
Tazobactam	Antibacteriano	8,509	6,412
Teflubenzuron	Insecticida	1,360	10,102
Teflutrina	Insecticida	11,631	4,112
Tetroxoprim	Antibacteriano	5,506	3,984
Tigemonam	Antibacteriano	5,212	7,623
Tocainida	Antiarrítmico	2,358	4,606
Tolonio	Colorante biológico, hemostático	7,186	5,903
<i>m</i> -tolilhidrazina	Reactivo	8,290	3,605
<i>o</i> -tolilhidrazina	Reactivo	6,685	3,542
<i>p</i> -tolilhidrazina	Reactivo	6,661	3,508
Triadimefon	Antifúngico	2,637	5,834
Triamterena	Diurético	11,020	7,965
Triazofos	Pesticida	1,776	5,580
Triforina	Antifúngico	2,433	3,552
Trimetoprim	Antibacteriano	5,985	3,935
Trimetrexato	Antibacteriano, antitumoral	7,545	9,262
Tritocualina	Antihistamínico	3,018	2,333
Tropaeolina OO	Indicador de pH	11,636	6,847
Tibamato	Ansiolítico	9,486	7,570
Vinilbital	Sedante, hipnótico	0,604	8,730
Tabtoxina	Toxina	9,826	2,897
1-fenilazo-2-naftilamina	Colorante alimentario	3,241	10,496
1- <i>o</i> -tolilazo-2-naftilamina	Colorante alimentario	5,436	10,714



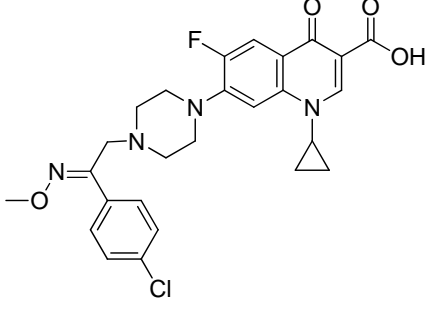
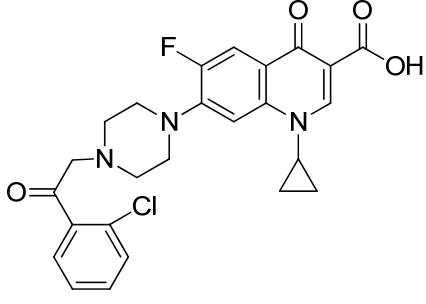
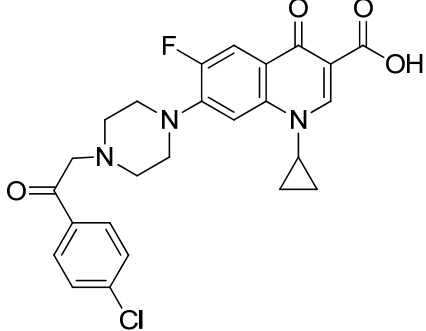
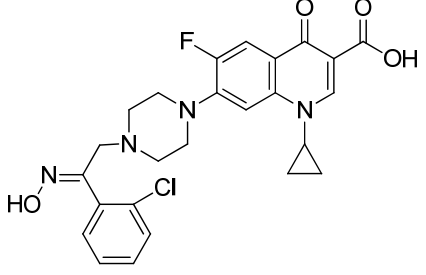
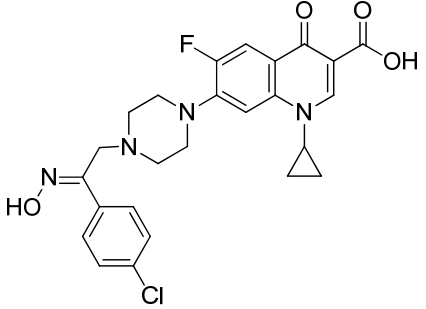
## ANEXO III

Comp.	Nombre IUPAC	Estructura	Ref.
Act1	3-(9-cyclopropyl-6-fluoro-3,4-dioxo-2,3,4,9-tetrahydroisothiazolo[5,4-b]quinolin-7-yl)benzonitrile		Wiles JA, Wang Q, Lucien E, Hashimoto A, Song Y, Cheng J, Marlor CW, Ou Y, Podos SD, Thanassi JA, Thoma CL, Deshpande M, Pucci MJ, Bradbury BJ. Isothiazoloquinolones containing functionalized aromatic hydrocarbons at the 7-position: synthesis and <i>in vitro</i> activity of a series of potent antibacterial agents with diminished cytotoxicity in human cells. <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> <b>2006</b> ; 16(5): 1272-6.
Act2	2-(4-(9-cyclopropyl-6-fluoro-3,4-dioxo-2,3,4,9-tetrahydroisothiazolo[5,4-b]quinolin-7-yl)phenyl)acetonitrile		Idem
Act3	9-cyclopropyl-6-fluoro-7-(3-fluorophenyl)isothiazolo[5,4-b]quinoline-3,4(2H,9H)-dione		Idem
Act4	9-cyclopropyl-6-fluoro-7-(3-hydroxyphenyl)isothiazolo[5,4-b]quinoline-3,4(2H,9H)-dione		Idem
Act5	9-cyclopropyl-6-fluoro-7-(4-hydroxyphenyl)isothiazolo[5,4-b]quinoline-3,4(2H,9H)-dione		Idem
Act6	9-cyclopropyl-6-fluoro-7-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)isothiazolo[5,4-b]quinoline-3,4(2H,9H)-dione		Idem

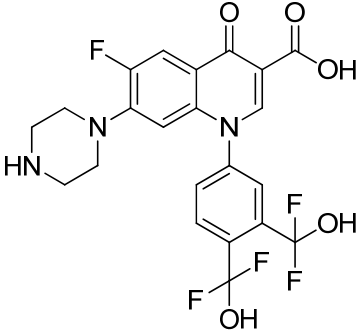
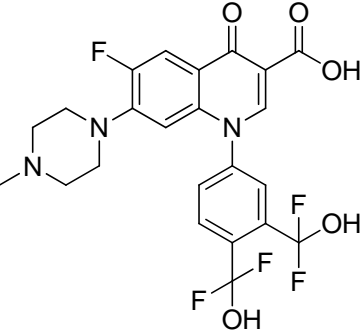
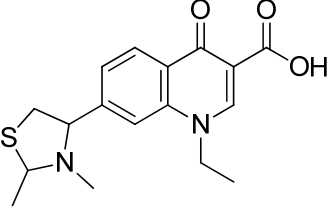
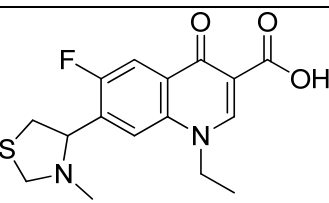
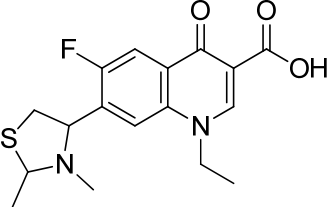
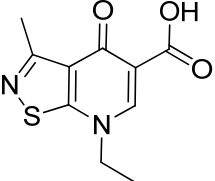
Act7	7-(4-aminophenyl)-9-cyclopropyl-6-fluoroisothiazolo[5,4- <i>b</i> ]quinoline-3,4(2 <i>H</i> ,9 <i>H</i> )-dione		Idem
Act8	7-(3-amino-4-fluorophenyl)-9-cyclopropyl-6-fluoroisothiazolo[5,4- <i>b</i> ]quinoline-3,4(2 <i>H</i> ,9 <i>H</i> )-dione		Idem
Act9	9-cyclopropyl-6-fluoro-7-(pyridin-4-yl)isothiazolo[5,4- <i>b</i> ]quinoline-3,4(2 <i>H</i> ,9 <i>H</i> )-dione		Wiles JA, Song Y, Wang Q, Lucien E, Hashimoto A, Cheng J, Marlor CW, Ou Y, Podos SD, Thanassi JA, Thoma CL, Deshpande M, Pucci MJ, Bradbury BJ. Biological evaluation of isothiazoloquinolones containing aromatic heterocycles at the 7-position: <i>In vitro</i> activity of a series of potent antibacterial agents that are effective against methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> . <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> <b>2006</b> ; 16(5): 1277-81.
Act10	9-cyclopropyl-6-fluoro-7-(2-methylpyridin-3-yl)isothiazolo[5,4- <i>b</i> ]quinoline-3,4(2 <i>H</i> ,9 <i>H</i> )-dione		Idem
Act11	9-cyclopropyl-6-fluoro-7-(6-methylpyridin-3-yl)isothiazolo[5,4- <i>b</i> ]quinoline-3,4(2 <i>H</i> ,9 <i>H</i> )-dione		Idem
Act12	9-cyclopropyl-6-fluoro-7-(2-fluoropyridin-4-yl)isothiazolo[5,4- <i>b</i> ]quinoline-3,4(2 <i>H</i> ,9 <i>H</i> )-dione		Idem
Act13	9-cyclopropyl-6-fluoro-7-(2-methylpyridin-4-yl)isothiazolo[5,4- <i>b</i> ]quinoline-3,4(2 <i>H</i> ,9 <i>H</i> )-dione		Idem



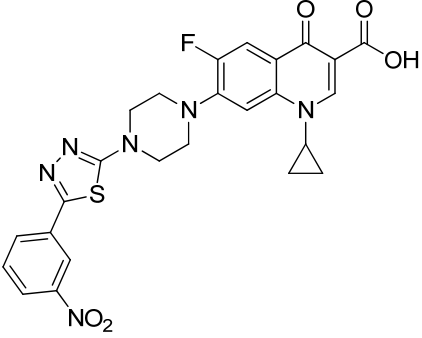
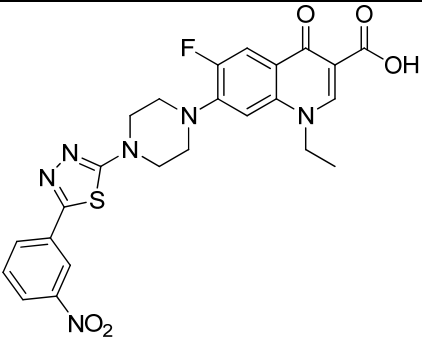
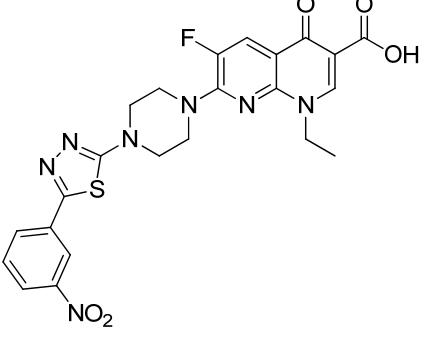
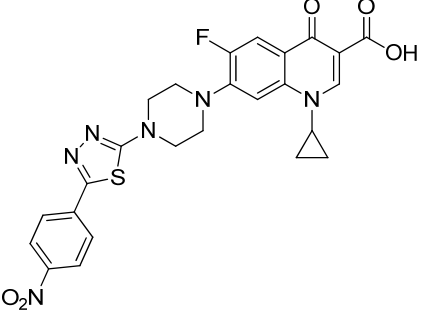
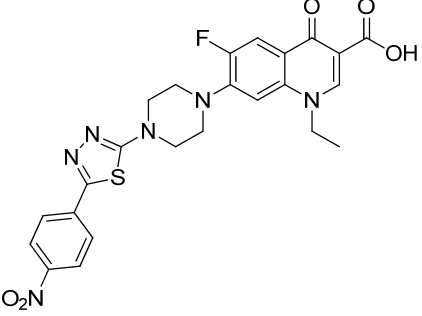
Act14	9-cyclopropyl-7-(2,6-dimethylpyridin-4-yl)-6-fluoroisothiazolo[5,4-b]quinoline-3,4(2H,9H)-dione		Idem
Act15	9-cyclopropyl-7-(2,4-dimethoxypyrimidin-5-yl)-6-fluoroisothiazolo[5,4-b]quinoline-3,4(2H,9H)-dione		Idem
Act16	9-cyclopropyl-6-fluoro-7-(isoquinolin-6-yl)isothiazolo[5,4-b]quinoline-3,4(2H,9H)-dione		Idem
Act17	9-cyclopropyl-6-fluoro-7-(quinolin-6-yl)isothiazolo[5,4-b]quinoline-3,4(2H,9H)-dione		Idem
Act18	(E)-1-cyclopropyl-7-(4-(2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(methoxyimino)ethyl)piperazin-1-yl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Foroumadi A, Ghodsi S, Emami S, Najjari S, Samadi N, Faramarzi MA, Beikmohammadi L, Shirazi FH, Shafiee A. Synthesis and antibacterial activity of new fluoroquinolones containing a substituted N-(phenethyl)piperazine moiety. <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> <b>2006</b> ; 16(13): 3499-3503.
Act19	(E)-7-(4-(2-(2-chlorophenyl)-2-(methoxyimino)ethyl)piperazin-1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem

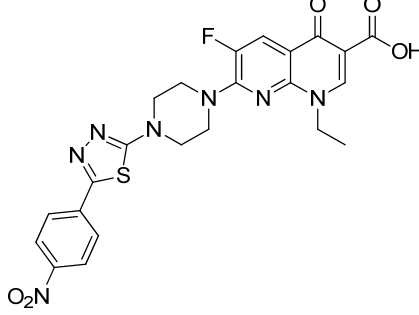
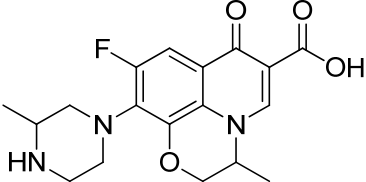
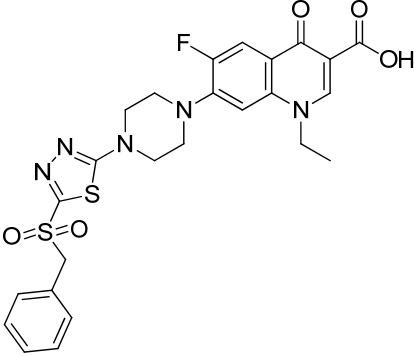
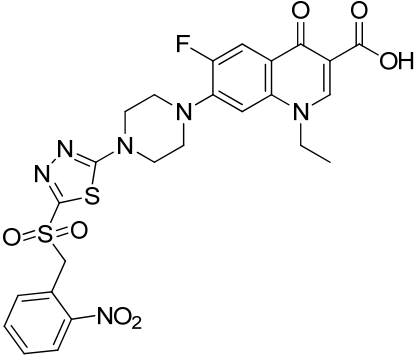
Act20	(E)-7-(4-(2-(4-chlorophenyl)-2-(methoxyimino)ethyl)piperazin-1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Act21	7-(4-(2-(2-chlorophenyl)-2-oxoethyl)piperazin-1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Act22	7-(4-(2-(4-chlorophenyl)-2-oxoethyl)piperazin-1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Act23	(E)-7-(4-(2-(2-chlorophenyl)-2-(hydroxyimino)ethyl)piperazin-1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Act24	(E)-7-(4-(2-(4-chlorophenyl)-2-(hydroxyimino)ethyl)piperazin-1-yl)-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem

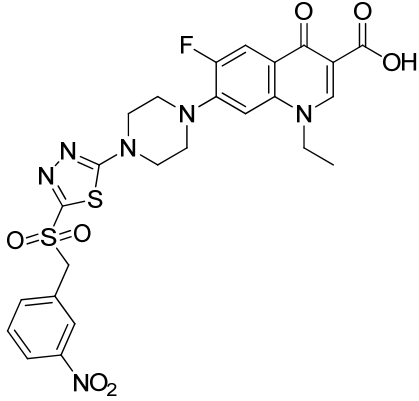
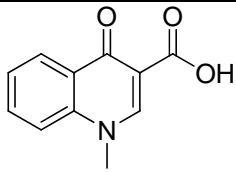
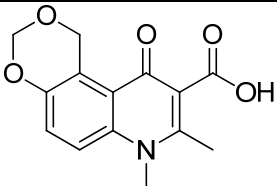
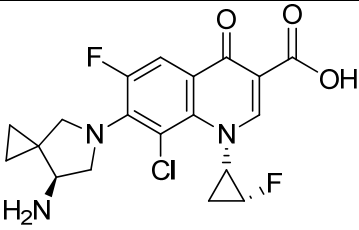
DX-619	7-((R)-3-(1-aminocyclopropyl)pyrrolidin-1-yl)-1-((1R,2S)-2-fluorocyclopropyl)-8-methoxy-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Fujikawa K, Chiba M, Tanaka M, Sato K. <i>In vitro</i> antibacterial activity of DX-619, a novel des-fluoro(6) quinolone. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2005</b> ; 49(7): 3040-5.
Inact1	(E)-7-(4-(2-(2,4-difluorophenyl)-2-(methoxyimino)ethyl)piperazin-1-yl)-1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid		Foroumadi A, Ghodsi S, Emami S, Najjari S, Samadi N, Faramarzi MA, Beikmohammadi L, Shirazi FH, Shafiee A. Synthesis and antibacterial activity of new fluoroquinolones containing a substituted N-(phenethyl)piperazine moiety. <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> <b>2006</b> ; 16(13): 3499-3503.
Inact2	5-ethyl-6-hydroxy-8-oxo-5,8-dihydro-[1,3]dioxolo[4,5-g]quinoline-7-carboxylic acid		Mitscher LA, Gracey HE, Clark GW 3rd, Suzuki T. Quinolone antimicrobial agents. 1. Versatile new synthesis of 1-alkyl-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acids. <i>J. Med. Chem.</i> <b>1978</b> ; 21(5): 485-9.
Inact3	5-ethyl-6-methyl-8-oxo-5,8-dihydro-[1,3]dioxolo[4,5-g]quinoline-7-carboxylic acid		Idem
Inact4	1-ethyl-6-methyl-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact5	1-ethyl-8-methyl-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact6	1-(2-(difluoro(hydroxy)methyl)phenyl)-6-fluoro-7-(4-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Xiao W, Krishnan R, Lin YI, Delos Santos EF, Kuck NA, Babine RE, Lang SA Jr. Synthesis and <i>in vitro</i> antibacterial activity of some 1-(difluoromethoxyphenyl)qui

			nolone-3-carboxylic acids. <i>J. Pharm. Sci.</i> <b>1989</b> ; 78(7); 585-8.
Inact7	1-(3,4-bis(difluoro(hydroxy)methyl)phenyl)-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact8	1-(3,4-bis(difluoro(hydroxy)methyl)phenyl)-6-fluoro-7-(4-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact9	7-(2,3-dimethylthiazolidin-4-yl)-1-ethyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Zhang M, Haemers A, Vanden Berghe D, Pattyn S, Bollaert W, Levshin I. Quinolone antibacterials. 1. 7-(2-Substituted-4-thiazolyl- and thiazolidinyl)quinolones. <i>J. Heterocyclic Chem.</i> <b>1991</b> ; 22(38): 673-83.
Inact10	1-ethyl-6-fluoro-7-(3-methylthiazolidin-4-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact11	7-(2,3-dimethylthiazolidin-4-yl)-1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact12	7-ethyl-3-methyl-4-oxo-4,7-dihydroisothiazolo[5,4-b]pyridine-5-carboxylic acid		Richardson TO; Neale N, Carwell N. Synthesis and antibacterial activity of 7-ethyl-3-methyl-4,7-dihydro-4-oxoisothiazolo[5,4-b]pyridine-5-carboxylic acid. <i>J. Heterocyclic Chem.</i> <b>1995</b> ; 32(1): 359-61

Inact13	7-amino-4-(4-methoxyphenyl)-5-methyl-6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1-oxo-1,4-dihydronaphthalene-2-carboxylic acid		Cecchetti V, Fravolini A, Lorenzini MC, Tabarrini O, Terni P, Xin T. Studies on 6-aminoquinolones: synthesis and antibacterial evaluation of 6-amino-8-methylquinolones. <i>J. Med. Chem.</i> <b>1996</b> ; 39(2): 436-45.
Inact14	1-cyclopropyl-6-(dimethylamino)-8-methyl-7-(4-methylpiperidin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact15	7-amino-4-cyclopropyl-5-ethyl-6-(4-methylpiperazin-1-yl)-1-oxo-1,4-dihydronaphthalene-2-carboxylic acid		Cecchetti V, Tabarrini O, Sabatini S, Miao H, Filipponi E, Fravolini A. Studies on 6-aminoquinolones: synthesis and antibacterial evaluation of 6-amino-8-ethyl- and 6-amino-8-methoxyquinolones. <i>Bioorg. Med. Chem.</i> <b>1999</b> ; 7(11): 2465-71.
Inact16	1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(4-(5-(2-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Foroumadi A, Soltani F, Moshafi MH, Ashraf-Askari R. Synthesis and <i>in vitro</i> antibacterial activity of some N-(5-aryl-1,3,4-thiadiazole-2-yl)piperazinyl quinolone derivatives. <i>Il Farmaco</i> <b>2003</b> ; 58 (10): 1023-8.
Inact17	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-(2-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact18	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-(2-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid		Idem

Inact19	1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(4-(5-(3-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact20	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-(3-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact21	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-(3-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid		Idem
Inact22	1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(4-(5-(4-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
Inact23	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-(4-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem

Inact24	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-(4-nitrophenyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid		Idem
Inact25	9-fluoro-3-methyl-10-(3-methylpiperazin-1-yl)-7-oxo-3,7-dihydro-2H-[1,4]oxazino[2,3,4-ij]quinoline-6-carboxylic acid		Liu B, Yang CH, Xu GY, Zhu YH, Cui JR, Wu XH, Xie YY. Syntheses of quinolone hydrochloride enantiomers from synthons (R)- and (S)-2-methylpiperazine. <i>Bioorg. Med. Chem.</i> <b>2005</b> ; <i>13</i> (7): 2451-8.
Inact26	7-(4-(5-(benzylsulfonyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Foroumadi A, Emami S, Hassanzadeh A, Rajaei M, Sokhanvar K, Moshafi MH, Shafiee A. Synthesis and antibacterial activity of N-(5-benzylthio-1,3,4-thiadiazol-2-yl) and N-(5-benzylsulfonyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazinyl quinolone derivatives. <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> <b>2005</b> ; <i>15</i> (20): 4488-92.
Inact27	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-((2-nitrobenzyl)sulfonyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem

Inact28	1-ethyl-6-fluoro-7-(4-(5-((3-nitrobenzyl)sulfonyl)-1,3,4-thiadiazol-2-yl)piperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		Idem
PGE-5215205	1-methyl-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		<p>Macinga DR, Renick PJ, Makin KM, Ellis DH, Kreiner AA, Li M, Rupnik KJ, Kincaid EM, Wallace CD, Ledoussal B, Morris TW.</p> <p>Unique Biological Properties and Molecular Mechanism of 5,6-Bridged Quinolones. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2003</b>; 47(8): 2526-37.</p>
PGE-6116542	7,8-dimethyl-10-oxo-7,10-dihydro-1H-[1,3]dioxino[5,4-f]quinoline-9-carboxylic acid		Idem
Sitafloxacino	7-((S)-7-amino-5-azaspiro[2.4]heptan-5-yl)-8-chloro-6-fluoro-1-((1S,2R)-2-fluorocyclopropyl)-4-oxo-1,4-dihydroquinoline-3-carboxylic acid		<p>Milatovic D, Schmitz FJ, Brisse S, Verhoef J, Fluit AC.</p> <p><i>In Vitro</i> activities of sitafloxacin (DU-6859a) and six other fluoroquinolones against 8,796 clinical bacterial isolates. <i>Antimicrob. Agents Chemother.</i> <b>2000</b>; 44(4): 1102-7.</p>



## ANEXO IV

Compuesto	Actividad/ Descripción	FD <sub>SARM</sub>	Compuesto	Actividad/ Descripción	FD <sub>SARM</sub>
Abacavir	Antiviral	3,980	Absintina	Antiinflamatorio	7,986
Acarbosa	Antidiabético	4,340	Aceclofenaco	Antiinflamatorio, analgésico	9,438
Acifluorfen	Herbicida	3,354	Actinorrodina	Pigmento antibacteriano	16,737
Ajugarina I	Antialimentario en gusanos	5,211	Ajugarina II	Antialimentario en gusanos	4,482
Ajugarina V	Diterpeno inactivo	5,211	Albofungina	Antibacteriano, antifúngico	10,286
Alclometasona	Antiinflamatorio	6,453	Alinidina	Agente bradicárdico específico	6,140
Aloína	Catártico	4,340	Alpidem	Ansiolítico	3,205
Ambenonio	Inhibidor colinesterasa	7,979	2-amino-4,6- diclorofenol	Intermediario de Colorante	7,814
Amlodipino	Antihipertensivo, antianginoso	7,306	2,3-dicloro-2- metilbutano	Disolvente orgánico	6,046
Anabsintina	Principio amargo	5,070	Anagrelida	Antitrombocitémico	7,327
Ancimidol	Regulador creimiento plantas	5,468	Anilazina	Antifúngico	17,004
Apraclonidina	Antihipertensivo oftálmico	9,805	Atovacuna	Antipneumoquístico	4,483
Azafenidina	Herbicida	5,923	Bacilisina	Antibacteriano	3,849
Balofloxacino	Antibacteriano	5,324	Barban	Herbicida	7,103
Bartrina	Insecticida	9,290	Beclometasona	Antialérgico, antiasmático, antiinflamatorio	3,408
Triclorometilben ceno	Reactivo síntesis orgánica, Colorante	13,459	Betaxolol	Antihipertensivo, antiglaucoma	3,281
Bifenox	Herbicida	11,207	Bifentrina	Insecticida, acaricida	8,110
Bis(4-amino-1- antraquinonil)am ina	Reactivo químico, Colorante	5,799	2,5-Bis(1- aziridinil)-3,6- bis(2- metoxietoxi)- 1,4- benzoquinona	Antitumoral	15,394
DPCM	Acaricida	6,260	Bromofos	Insecticida, acaricida	8,221
Bromuconazol	Antifúngico	4,267	Bulan	Insecticida	9,546
Butoconazol	Antifúngico	13,680	Butilescopolam ina	Antiespasmódico	6,036
Calcipotrieno	Antipsoriático	6,197	Caldariomicina	Antibacteriano	6,378
Capravirina	Antiviral	9,555	Captan	Bacteriostático en jabón, antifúngico	14,859
Carbocuna	Antitumoral	16,756	Etil- carfentrazona	Herbicida	12,711
Ácido carmínico	Reactivo, indicador, pigmento, Colorante	10,903	Carmustina	Antitumoral	3,054
Carprofeno	Antiinflamatorio	3,091	Carubicina	Antibacteriano, antitumoral	6,528
Catalpósido	Neuroprotector	6,823	Cefazedona	Antibacteriano	10,273
Cervicarcina	Antibacteriano,	16,060	Chalcomicina	Antibacteriano	9,682

	antitumoral				
Chartreusina	Antibacteriano	12,362	2,2,2-tricloro-1-etoxietanol	Hipnótico	11,933
Cloralosa	Rodenticida, avicida, anestésico, sedante	17,793	Cloramben	Herbicida	8,692
Cloranfenicol	Antibacteriano	7,339	Ácido cloranílico	Reactivo	9,052
Clorbenside	Acaricida	6,443	Clordantoína	Antifúngico	14,464
Clorfenaco	Herbicida	16,221	Clorfenvinfos	Insecticida, acaricida	16,023
Clorhexadol	Hipnótico	13,378	Clorhexidina	Antiséptico, desinfectante	9,387
Cloroazodina	Antiséptico, desinfectante	3,841	Clorobencilato	Acaricida	8,714
Clorobutanol	Antiséptico, analgésico, antiprurítico, sedante	12,229	Clorofacinona	Rodenticida, anticoagulante	6,704
Cloroprednisona	Glucocorticoide	3,276	Cloroxina	Antiseborreico, reactivo analítico	9,318
Clorfenoxamida	Antiaméptico	5,553	Clorproguanil	Antimalárico	9,350
Clorpirifós	Insecticida, acaricida	15,902	Clorquinaldol	Antibacteriano, antifúngico	10,191
Cloretraciclina	Antibacteriano, antiaméptico	10,538	Ácido crismínico	Componente de Aloe vera	15,252
Etil-cinidón	Herbicida	11,104	Ciprofibrato	Antihiperlipoproteínico	15,934
Clazuril	Coccidiostático	8,629	Clembuterol	Broncodilatador	8,873
Clinafloxacino	Antibacteriano	14,774	Clobenosido	Vasoprotector	9,793
Clocortolona	Glucocorticoide	4,777	Ácido clodrónico	Inhibidor resorción ósea	3,440
Clofazimina	Antibacteriano, tuberculostático, leprostático	9,710	Clofentecina	Pesticida	8,615
Clofucarban	Desinfectante	8,027	Clofoctol	Antibacteriano	9,451
Clomestrona	Antihiperlipoproteínico	3,536	Clometocilina	Antibacteriano	9,727
Clomociclina	Antibacteriano	10,583	Clonazepam	Antiepiléptico, ansiolítico, antimaníaco	3,160
Clonidina	Antihipertensivo, analgésico	8,277	Clopidol	Coccidiostático	8,906
Cloprednol	Glucocorticoide	3,126	Clopivalida	Herbicida	6,901
Cloranolol	Antiarrítmico	7,365	Clorindiona	Anticoagulante	3,550
Clorsulon	Antihelmíntico	16,243	Closantel	Antihelmíntico	14,080
Cloxacilina	Antibacteriano	4,135	Clozazolam	Ansiolítico	7,863
Rubromicina	Antibacteriano	6,528	Coriamirtina	Glucósido, sesquiterpeno	16,387
Coumaclor	Rodenticida	4,419	Cicletrina	Insecticida	3,707
Ciclobendazol	Antihelmíntico	6,927	Metoxiciclopropeno	Insecticida	3,281
Ciclotiazida	Diurético, antihipertensivo	3,059	Ciflutrina	Insecticida	17,167
Cihalotrina	Insecticida, acaricida	8,808	Cipermetrina	Insecticida	17,223
Ciproconazol	Antifúngico	8,465	Ciprodinil	Antifúngico	6,197
Ciproterona	Antiandrogénico	15,256	Ciromazina	Insecticida	6,197
2,4-D	Herbicida	6,743	Dalapon	Herbicida	4,279

Daunorubicina	Antibacteriano, antitumoral	6,528	2,4-DB	Herbicida	7,035
Defosfamida	Antitumoral	10,147	Demeclociclina	Antibacteriano	12,608
Desloratadina	Antihistamínico	3,400	DFDD	Insecticida	9,032
DFDT	Insecticida	15,839	Dialato	Herbicida	3,915
Diazicuona	Antitumoral	17,615	Dicamba	Herbicida	8,958
Diclobenil	Herbicida	6,621	Diclofention	Insecticida, nematocida	7,351
Diclona	Antifúngico, herbicida	10,253	Dicloramina T	Antibacteriano	5,009
Diclorisona	Antiprurítico	11,562	3,4-dicloroanilina	Herbicida	6,553
<i>m</i> -diclorobenceno	Fabricación de herbicidas, insecticidas, fármacos, colorantes	6,451	2,2'-diclorobencidina	Reactivo	10,133
3,3'-diclorobencidina	Reactivo	8,253	Alcohol 2,4-diclorobencílico	Antiséptico	6,687
2,3-dicloro-5,6-dicianobenzoquinona	Agente oxidante	9,632	1,3-dicloro-5,5-dimetilhidantoina	Desinfectante, agente clorinante	4,686
4',5'-diclorofluoresceína	Colorante fluorescente	16,158	2,6-dichloroindofenol	Reactivo analítico	9,058
4,5-dicloro-2-octil-3-isotiazolona	Antiincrustante marino	4,839	Diclorofeno	Antihelmítico	8,714
2,4-diclorofenol	Reactivo	6,286	2,6-diclorofenol	Reactivo	6,229
Dicloroxilenol	Antiséptico	9,267	Diclorfenamida	Inhibidor anhidrasa carbónica	7,925
Diclorprop	Herbicida	7,611	Diclorvos	Insecticida, antihelmítico	4,644
Diclobutrazol	Antifúngico	5,664	Diclofenaco	Antiinflamatorio	9,317
Diclofop metil	Herbicida	8,945	Diclosulam	Herbicida	9,020
Dicloxacilina	Antibacteriano	14,222	Dicril	Herbicida	7,684
9-Dicianometileno-2,4,7-trinitrofluoreno	Reactivo	3,267	Difenoconazol	Antifúngico	5,401
Dicloroacetato	Vasodilatador, hipotensor	3,579	Diloxanida	Antiaméptico	3,922
Diniconazol	Antifúngico	5,878	Dipicrilamina	Reactivo	10,570
Dipina	Antitumoral	17,844	Disul	Herbicida	6,890
Diuron	Herbicida	4,568	DMPA	Herbicida	7,395
Dopan	Antitumoral	5,769	Doxorubicina	Antibacteriano, antitumoral	6,528
Doxiciclina	Antibacteriano	4,982	Drospirenona	Progestógeno	17,941
Econazol	Antifúngico	13,433	Efavirenz	Antiviral	12,660
Enilconazol	Antifúngico	5,051	Eosine I Bluish	Colorante	6,317
Epiclorhidrina	Disolvente, estabilizante	10,506	Icariaína	Antirreumático, antihipertensivo	5,070
Epirubicina	Antitumoral	6,528	Epitiostanol	Antitumoral	3,849
Epotilona A	Antibacteriano	6,765	Epotilona B	Antibacteriano	5,365
Epoconazol	Antifúngico	5,888	Epoconicina	Antibacteriano	5,883
Ergoflavina	Pigmento	3,611	1,4-anhídrido de eritritol	Fabricación textil y de polímeros	16,076
Estramustina	Estradiol,	7,337	Ácido	Diurético	9,747

	antitumoral		etacrínico		
Etil-loflazepato	Ansiolítico	3,885	Etoglúcido	Antitumoral	16,076
Etopósido	Antitumoral	5,799	Felodipino	Antihipertensivo, antianginoso	16,3943
Fenarimol	Antifúngico	9,477	Fenhexamid	Antifúngico	8,941
Feeenoldopam	Antihipertensivo	3,340	Fenpiclonil	Antifúngico	9,058
Fenticlor	Antiinfeccioso	8,678	Fenticonazol	Antibacteriano, antifúngico	6,216
Fenvalerato	Insecticida	3,032	BBB	Antihelmíntico	6,528
PBB	Antihelmíntico	6,528	PBP	Antihelmíntico	6,528
Fipronil	Pesticida	13,286	Flavopiridol	Antitumoral	4,160
Florfenicol	Antibacteriano	6,558	Floxacilina	Antibacteriano	5,531
Fluazinam	Antifúngico	17,232	Flucloralina	Herbicida	3,799
Flucloronida	Glucocorticoide	14,024	Flucicloxon	Insecticida	15,818
Flufenoxuron	Insecticida, acaricida	4,234	Flumiclorac	Herbicida	4,071
Fluquinconazol	Antifúngico	8,849	Fluroxipir	Herbicida	8,468
Flutoprazepam	Ansiolítico	12,947	Fluvalinato	Insecticida	3,110
Folpet	Antifúngico	14,998	Fospirato	Antihelmíntico	15,325
Frangulina A	Catártico	4,340	Frederamicina a A	Antibacteriano, antitumoral	10,174
Frenolicina	Antibacteriano	3,426	Fumagilina	Antibacteriano, antiprotozoario	12,799
Gatifloxacino	Antibacteriano	5,409	Gemifloxacino	Antibacteriano	3,909
Reactivo Gibbs	Reactivo	14,722	Glucametacina	Antiinflamatorio	4,896
Glucofrangulina A	Catártico	7,986	Glicidol	Disolvente, reactivo	3,281
Gospol	Antioxidante, insecticida	12,362	Granaticina	Antibacteriano	11,632
Grepafloxacino	Antibacteriano	4,340	Griseofulvina	Antibacteriano, antifúngico	7,184
Guanabenz	Antihipertensivo	7,262	Guanfacina	Antihipertensivo	8,732
Guanoxabenz	Antihipertensivo	7,262	Halazona	Desinfectante	5,155
Halofantrina	Antimalárico	9,122	Haloprogina	Antibacteriano	15,781
Halosulfuron- metil	Herbicida	3,196	Haloxona	Antihelmíntico	17,318
Hematoporfirina	Antidepresivo	5,070	Herqueinona	Pigmento	3,611
Hexaconazol	Antifúngico	4,350	Hexaflumuron	Insecticida	11,791
Idarrubicina	Antibacteriano, antitumoral	5,070	Iludina M	Antibacteriano, antitumoral	4,482
Iludina S	Antibacteriano, antitumoral	4,482	Imibenconazol	Antifúngico	13,737
Indanofan	Herbicida	12,846	Indantreno	Colorante	5,070
Ácido iocármico	Herramienta de diagnóstico	6,528	Iodofenfos	Insecticida	8,309
Ácido ioxáglico	Herramienta de diagnóstico	5,087	Iprodiona	Antifúngico	10,058
Irgarol	Alguicida	6,197	Irsogladina	Antiulceroso	10,365
Isoxaflutol	Herbicida	6,927	Israpafant	Antiasmático	3,558
Karsil	Herbicida	7,891	Ácido kermésico	Colorante	4,340
Kosina a	Antihelmíntico	4,340	Kosina b	Antihelmíntico	4,340
Ácido lacaico A	Pigmento	10,174	Ácido lacaico B	Pigmento	10,174
Ácido lacaico C	Pigmento	10,903	Lamotrigina	Anticonvulsivante	9,715
Leptofos	Insecticida	8,672	Licostinel	Neuroprotector	11,869
Limonina	Componente de cítricos	4,636	Linuron	Herbicida	5,396
Lofexidina	Antihipertensivo	8,413	Loflucaban	Antifúngico	10,247

Lonapaleno	Antipsoriático	5,315	Lonidamina	Antitumoral	7,772
Lofotoxina	Toxina	15,140	Lorazepam	Ansiolítico, anticonvulsivante	11,620
Lormetazepam	Sedante, hipnótico	10,227	Lornoxicam	Antiinflamatorio, analgésico	3,454
Loxiglumida	Gastroprocinético	5,255	Etruscomicina	Antibacteriano, antifúngico	8,953
Lufenuron	Ectoparasiticida	11,065	Manomustina	Antitumoral	6,832
Maitansina	Antibacteriano	12,465	Óxido de mecloretamina	Antitumoral	5,181
Meclociclina	Antibacteriano	15,099	Ácido meclofenámico	Antiinflamatorio, antipirético	10,220
Menogaril	Antitumoral	5,138	Mepitiostano	Antitumoral	3,849
Metepa	Esterilizante químico	9,686	Metaciclina	Antibacteriano	5,047
Metazol	Herbicida	6,183	Metoxiclor	Insecticida	16,632
Metescopolamina	Antiespasmódico	6,036	Metclotiazida	Diurético, antihipertensivo	6,959
4,4'- Metilenbis(2- cloroanilina)	Agente endurecedor de resinas	9,019	Mexazolam	Ansiolítico	7,887
Mitomicina A	Antibacteriano, antitumoral	7,127	Mitomicina C	Antibacteriano, antitumoral	7,157
Furoato de mometasona	Antiinflamatorio, corticosteroide	12,018	Monorden	Antibacteriano	15,786
Montelukast	Antiasmático	12,203	Morindina	Colorante	5,799
Moxifloxacino	Antibacteriano	5,890	Ácido mucoclórico (forma ciclada)	Carcinogénico	7,033
Ácido mucoclórico	Carcinogénico	4,905	Mupirocina	Antibacteriano	6,036
Muzolimina	Diurético, antihipertensivo	7,258	Naled	Insecticida, acaricida, inhibidor colinesterasa	5,780
Natamicina	Antibacteriano, antifúngico	8,953	Neburon	Herbicida	4,312
Neomicina	Antibacteriano	3,611	Nevirapina	Antiviral	4,501
Niclofolan	Antihelmíntico	16,313	Niclosamida	Antihelmíntico	10,139
2-nitro-1,1-bis( <i>p</i> - clorofenil)propano	Insecticida	9,575	Nitrofen	Herbicida	8,491
Nivalenol	Micotoxina	5,211	Ácido nodulispórico	Insecticida, alcaloide	5,054
Nomilina	Componente de cítricos	5,365	Norbormida	Rodenticida	5,799
Novembiquina	Antitumoral	9,754	Ocratoxina A	Toxina	7,012
Oleandomicina	Antibacteriano	9,688	Omoconazol	Antifúngico	14,374
Aminoorceína	Colorante biológico	7,986	Hidroxiorceína	Colorante biológico	7,986
Aminoorceimina	Colorante biológico	7,986	Oxadiargil	Herbicida	9,197
Oxadiazon	Herbicida	9,990	Oxitropio	Broncodilatador, anticolinérgico	6,036
Paromomicina	Antibacteriano, antiaméptico	3,611	Pazufloxacino	Antibacteriano	5,920
Pentril	Explosivo	4,147	Periplanona B	Feromona	14,199
Permetrina	Pediculicida, insecticida	16,484	Fenamet	Antitumoral	3,340
Fenesterina	Antitumoral	6,459	Cloruro de	Reactivo	6,199

			ftalato		
Fitoclorina	Catalizar síntesis de oxígeno	5,799	Picilorex	Anoréxico	13,590
Picloram	Herbicida	16,884	Picrotoxina	Convulsivante	3,906
Picrotoxina	Toxina	5,365	Cloruro de picril	Explosivo	6,247
Pirarrubicina	Antitumoral	7,257	Pirlimicina	Antibacteriano	4,922
Prazepam	Ansiolítico	12,044	Prednimustina	Antitumoral	4,935
Procloraz	Antifúngico	11,252	Procimidona	Antifúngico	16,234
Profluralin	Herbicida	8,860	Propanil	Herbicida, nematocida	7,650
Proconazol	Antifúngico	4,485	Propizamida	Herbicida	8,551
Protokosina	Antihelmíntico	7,986	Ptaquilósido	Glucósido	5,211
Piretosina	Antiparasitario	4,636	Pirifenox	Antifúngico	9,228
Piritiobac	Herbicida	3,705	Pirrolnitrina	Antibacteriano, antifúngico	10,827
Quinfamida	Antiaméptico	6,284	Quinoxifen	Antifúngico	11,495
Rafoxanida	Antihelmíntico, fasciolicida	12,199	Resistomicina	Antibacteriano	9,448
Rodomicina A	Antibacteriano	4,295	Rodomicina B	Antibacteriano	4,712
Rifamicina S	Antibacteriano	6,528	Rifamicina SV	Antibacteriano	6,528
Rilmazafona	Sedante, hipnótico	8,232	Rilmenidina	Antihipertensivo	17,534
Robenidina	Coccidiostático	6,337	Ronnel	Insecticida	15,940
Rosaramicina	Antibacteriano	3,348	Rutino	Protector capilar	4,340
Saponarina	Glucósido	5,070	N-Óxido de escopolamina	Anticolinérgico	6,036
Ácido secalónico A	Metabolito tóxico del moho	6,528	Sertaconazol	Antifúngico	15,541
Sertralina	Antidepresivo	10,110	Sesina	Herbicida	7,283
Clorometiloxirano	Antihiperfosfatémico	10,506	Silvex	Herbicida	16,261
Semfibrato	Anticolesterolémico	6,500	Esparfloxacino	Antibacteriano	10,498
Estreptolidigina	Antibacteriano	10,493	Estreptonigrina	Antibacteriano, antitumoral	3,611
Sucralosa	Edulcorante	17,857	Sulconazol	Antifúngico	13,389
Sulfentrazona	Herbicida	11,470	Simcloseno	Antiinfeccioso	15,276
2,4,5-T	Herbicida	15,327	Ácido tánico	Astringente, hemostático	7,257
Tedisamil	Antiarrítmico, antianginoso	8,566	Teflubenzuron	Insecticida	11,840
Teflutrina	Insecticida	10,770	Tenidap	Antiinflamatorio	4,844
Tenipósido	Antitumoral	5,799	Terofenamato	Antiinflamatorio, analgésico	10,531
Ácido terreico	Antibacteriano	5,307	Tetraconazol	Antifúngico	5,927
Tevenel	Antiinfeccioso	6,632	Teaflavina	Antioxidante	6,528
Termorrubina A	Antibacteriano	7,257	Tiamfenicol	Antibacteriano	6,670
Ticrinafen	Diurético, antihipertensivo, uricosúrico	9,896	Tioclomarol	Anticoagulante	13,553
Tioconazol	Antifúngico	13,714	Tiotropio	Broncodilatador	7,495
Tolclofos-metil	Antifúngico	9,129	Traxanox	Antialérgico, antiasmático	4,096
Trengestona	Progestógeno	3,228	Trialato	Herbicida	11,677
Triazolam	Sedante, hipnótico	9,201	Triclorfon	Insecticida, antihelmíntico	12,163
Triclormetiazida	Diurético, antihipertensivo	16,002	2,4,6-tricloroanisol	Tinte	16,151
1,2,3-triclorobenceno	Termicida	14,244	1,2,4-triclorobenceno	Termicida	14,179

1,3,5-triclorobenceno	Termicida	15,613	2,4,6-tricloro- <i>m</i> -cresol	Reactivo	16,629
2,4,5-triclorofenol	Antibacteriano, Antifúngico	14,668	2,4,6-triclorofenol	Antibacteriano, Antifúngico, conservante	15,338
Tricodermina	Antifúngico	4,482	Tricotecina	Antibacteriano	4,482
Triclocarban	Antiséptico, desinfectante	16,512	Tricofenol	Antihelmíntico	14,668
Triclofos	Sedante, hipnótico	11,454	Triclopir	Herbicida	15,004
Triclosan	Antiséptico, desinfectante	16,545	Trietilenmelamina	Antitumoral	16,809
Trietilenfosforamida	Antitumoral	17,139	Trietilentiofosforamida	Antitumoral	14,705
Etil-trinexapac	Regulador crecimiento vegetal	7,656	Trofosfamida	Antitumoral	6,954
Tropesina	Antiinflamatorio, analgésico	3,305	T-2	Toxina	5,941
Tutina	Toxina	17,116	Mostaza de uracilo	Antitumoral	3,519
Uredepa	Antitumoral	9,032	Ácido uroclorálico	Metabolito hidrato de cloral (sedante)	16,345
Verrucarina A	Antibacteriano, antifúngico, antitumoral	5,211	Verrucarina B	Antibacteriano, antifúngico, antitumoral	13,528
Verrucarina J	Antibacteriano, antifúngico, antitumoral	5,211	Vinclozolina	Antifúngico	8,902
Violaxantina	Pigmento	6,157	Vomitoxina	Toxina	4,482
Withaferina A	Inhibidor vimentina	6,094	Zorubicina	Antibacteriano, antitumoral	6,528







