

# Diseño basado en herramientas quimioinformáticas de agonistas del receptor X hepático como potenciales fármacos para el tratamiento de la aterosclerosis

PABLO AGUILAR BOECK, NEREIDA A. HERNÁNDEZ RIVERA, MAREY A. PÉREZ LÓPEZ, Yael A. RESÉNDIZ ROSARIO, NATALIE ROSETE PEÑALOZA

**Resumen**— De acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), en el año 2012 se registraron 602, 354 defunciones a causa de cardiopatías isquémicas, siendo una de las enfermedades más recurrentes entre los mexicanos la aterosclerosis. Este trastorno se caracteriza por la formación de ateromas o placa que estrechan los vasos sanguíneos disminuyendo el flujo de sangre. Entre los tratamientos que mejores resultados en la intervención contra la aterosclerosis han presentado se encuentra la manipulación del metabolismo de lipoproteínas, específicamente en el transporte reverso del colesterol. Este proceso es la principal vía de eliminación de dicho compuesto del organismo y es regulado por el Receptor X Hepático, diana biológica de la presente investigación. Conociendo previamente al receptor diana, se eligió la molécula base que presentará una previa interacción con la proteína. Realizando varias técnicas de modificación estructural, con el fin de optimizar la molécula hasta llegar a un prototipo de fármaco, se desarrollaron 13 moléculas, las cuales fueron sometidas a diversos estudios quimioinformáticos con el objetivo de mejorar su actividad farmacológica principal, selectividad, afinidad e interacciones ligando-receptor. Estos estudios influyeron en la elección de la molécula líder, ya que proporcionaron parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos, tales como: solubilidad, toxicidad, logP, toxicidad y problemas de formulación farmacéutica. La elección de dos moléculas líder se basó en el score del programa Molegro Virtual Docker, el cual indicó la potencia a los sitios de unión. Ambas propuestas pueden ser elecciones satisfactorias para ser trabajadas en estudio in vitro.

## I. INTRODUCCIÓN

La aterosclerosis es un trastorno común que afecta a las arterias de tamaño mediano provocada por la acumulación de la lipoproteína B que contiene colesterol LDL, grasas y otras sustancias que forman ateromas o placas en las paredes de los vasos sanguíneos [1].

PABLO AGUILAR BOECK, NEREIDA A. HERNÁNDEZ RIVERA, MAREY A. PÉREZ LÓPEZ, Yael A. RESÉNDIZ ROSARIO, NATALIE ROSETE PEÑALOZA pertenece a la carrera QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO de la Facultad de Ciencias Químicas y realizaron el proyecto dentro del curso FARMACOLOGÍA MOLECULAR (Email: p4b10\_boeck@hotmail.com).

El proyecto fue asesorado por MARCO ANTONIO LOZA MEJIA

Los autores agradecen al doctor Marco A. Loza Mejía por habernos brindado los conocimientos necesarios para desarrollar la presente investigación. A nuestras familias por su apoyo incondicional y acompañarnos en nuestros pequeños logros.

Entre las causas más comunes se encuentran: la ausencia de ejercicio físico y una dieta alta en grasas, problemas de obesidad, diabetes y estrés, y en algunos casos por herencia.

Los síntomas característicos de esta enfermedad: signos de suministro inadecuado de sangre en las piernas, entumecimiento y sensación de frío en los pies, calambres y dolores. Si se presenta en las arterias coronarias, puede haber dolores agudos característicos de la angina de pecho, mientras que si se presenta en arterias que conducen al cerebro, los vasos pueden estallar causando hemorragias [2].

De acuerdo con las estadísticas, el conjunto de las enfermedades del corazón son la primera causa de mortalidad general en México [3]; sin embargo, cuando se desagrupan como causa única, la más prevalente es la cardiopatía isquémica, la cual se convierte en la segunda causa de mortalidad general, debajo de la diabetes mellitus.

Existe una correlación directa entre los bajos niveles de colesterol HDL con un riesgo elevado de desarrollar aterosclerosis. El Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (NCEP) considera factor de riesgo de desarrollar aterosclerosis si se presentan niveles de HDL menores a 40 mg/dL.

Según datos de la Federación Mundial del Corazón, las enfermedades cardiovasculares causan 17,5 millones de muertes al año.

La disminución de colesterol HDL afecta el transporte reverso del colesterol, ruta metabólica responsable del desplazamiento excedente de este compuesto, desde células periféricas al hígado para reciclarlo o eliminarlo. Estudios han demostrado buenos resultados contra la aterosclerosis cuando se interviene en el metabolismo de las lipoproteínas [4].

En la actualidad se han desarrollado diversos tratamientos para la arterioesclerosis empleando diferentes moléculas diana, sin embargo es posible clasificarlos en dos categorías de acción: la manipulación del metabolismo de las lipoproteínas plasmáticas y del metabolismo celular del colesterol, así como la manipulación de los procesos inflamatorios.

Los receptores X del hígado (LXRs), LXR  $\alpha$  (NR1H3) y LXR  $\beta$  (NR1H2), pertenecen a la superfamilia de receptores nucleares de factores de transcripción ligando-activado [4].

Los LXRs actúan como sensores de colesterol: cuando los oxisteroles celulares se acumulan como resultado del

incremento de concentraciones de colesterol, dichos receptores inducen la transcripción de genes que protegen a las células de sobrecargas de colesterol.

La función de los LXR como sensores de colesterol con roles importantes en la regulación homeostática de colesterol, y por lo tanto existe un amplio interés en el desarrollo de ligandos sintéticos de dicho tipo como agentes terapéuticos.

En este trabajo, se ha decidido explicar un mecanismo que interviene en el metabolismo de las lipoproteínas, puesto que en diversos estudios ha sido uno de los que mejores resultados en la intervención contra la aterosclerosis ha presentado.

Debido a sus múltiples funciones, las cuales se resumen en el aumento del transporte reverso de colesterol, el receptor hepático X fue el elegido como molécula diana.

## II. CONCEPTOS BÁSICOS

*Atherosclerosis:* Trastorno común que afecta a las arterias de tamaño mediano provocada por la acumulación de la lipoproteína B la cual contiene colesterol LDL, grasas y otras sustancias que forman ateromas o placas en las paredes de los vasos sanguíneos, promoviendo su estrechamiento y disminución de la elasticidad causando interferencia en el flujo sanguíneo.

*Receptor X Hepático:* Receptor nuclear que transcribe las proteínas ABCA1 y ABCG1 las cuales intervienen en la mayor ruta de eliminación de colesterol del organismo, transporte reverso del colesterol, activando su conversión a bilis en el hígado [5].

*Modificaciones estructurales de fármacos:* Proceso de optimización en la estructura molecular de un prototipo de fármaco con el fin de mejorar su actividad farmacológica principal, selectividad, así como parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos, disminuyendo su toxicidad y problemas de formulación farmacéutica [6].

*Diseño de fármacos basado en el receptor:* Se define como la búsqueda de moléculas que encajen en el sitio de unión de un blanco molecular de manera que puedan formar interacciones favorables. Se inicia con un fármaco conocido pero que no tiene el efecto requerido o del que se busca aumentar alguno de sus efectos, la estructura tridimensional del complejo molécula-blanco proporciona información para realizar la optimización [7].

*Acoplamiento molecular (Docking):* Este método consiste en calcular con la computadora cuál es la posición más favorable que tendría una molécula con el blanco molecular. Permite predecir la orientación del enlace de una serie de moléculas candidatos a fármacos, con la proteína que será donde ejercerán su acción, con lo que se podrá predecir la afinidad y la actividad de la molécula pequeña. A partir del resultado, se puede trabajar con moléculas hipotéticas que no se tienen en el laboratorio, o que aún no han sido preparadas a esto se le conoce como “bibliotecas virtuales”: colecciones de miles o millones de moléculas hipotéticas. Sin embargo, después de hacer los cálculos, estas moléculas virtuales pueden ser preparadas y evaluadas biológicamente [8].

*Quimioinformática:* Se define como el uso de recursos informáticos para transformarlos en información útil que pueda ser útil para el desarrollo de nuevos fármacos [9]. En la

práctica la quimioinformática permite el uso de bases de datos para calcular y predecir algunos valores fisicoquímicos (como liposolubilidad, pKa) o biológicos (teratogenicidad, irritabilidad) para filtrar las bibliotecas virtuales de compuestos que podrían tener características indeseables.

## III. METODOLOGÍA

*Construcción de la base de datos.* A partir de una molécula inicial n-(2, 2,2-trifluoretil)-n-{4-[2, 2,2-trifluor-1-hidroxi-1-(trifluorometil)etil]fenil}benzosulfamida la cual se encontró a través de la base de datos Protein Data Bank, se plantearon algunas modificaciones estructurales (isosterismo, homología, modificaciones anulares) hasta construir una base de datos de 13 moléculas. Estas moléculas se construyeron en el programa ChemSketch (ACDLabs, Toronto, Canadá) y su estructura bidimensional se convirtió en una estructura tridimensional usando la herramienta 3D Optimization incluida en el mismo programa y se guardó en formato .mol.

*Diana biológica.* La estructura tridimensional del receptor farmacológico, la proteína LXR $\alpha$ -RXR $\beta$  LBD heterodímero, se descargó en formato .pdb de la página del Protein Data Bank ([www.pdb.org](http://www.pdb.org)) con el código 1UHL. La elección del archivo con el cual se trabajaría se basó en la resolución de la estructura cristalina, buscando que fuera la máxima disponible y la presencia de un ligando que sugiriera el sitio de unión más probable. La preparación de la proteína se realizó en el programa Molegro Virtual Docker versión 6.0.1 (Molegro, Aarhus, Dinamarca) incorporando los átomos de hidrógeno faltantes y eliminando las moléculas de agua estructural.

*Filtros quimioinformáticos.* Las moléculas que formaron parte de la base de datos se construyeron en los siguientes programas quimioinformáticos para obtener la información que a continuación se describe:

*Osiris Property Explorer* (<http://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>). En este programa se obtiene información sobre la teratogenicidad, mutagenicidad, lipofiliencia y solubilidad acuosa, las cuales son calculadas por comparación con bases de datos generadas a partir de compuestos ya existentes. Además, calcula un parámetro denominado *drug-score* que puede ser empleado para valorar si la molécula propuesta tiene atributos y perfiles fisicoquímicos y toxicológicos similares a los de fármacos que se encuentran en el mercado.

*Molinspiration* (<http://www.molinspiration.com>). Este programa calcula si la molécula propuesta cumple con las reglas de Lipinski, las cuales se relacionan con un adecuado perfil farmacocinético, principalmente en cuanto a la absorción vía oral. Además incluye una herramienta que permite predecir el tipo de receptor al cual se potencialmente se unirá la molécula (receptor nuclear, canal iónico, enzimático, receptor acoplado a proteína G, receptor asociado a tirosin cinasa).

*Marvin Calculator Plugin and Chemical Terms* (<http://www.chemaxon.com/marvin/sketch/index.php>). Este programa permite calcular algunos parámetros fisicoquímicos, incluyendo el valor de pKa el cual permite predecir el potencial sitio de absorción de las moléculas planteadas.

*Estudios de acoplamiento molecular (docking).* Los estudios de acoplamiento molecular se realizaron empleando el programa Molegro Virtual Docker versión 6.0.1. Este programa determina el potencial sitio de unión y los candidatos más prometedores son identificados por un algoritmo de acoplamiento molecular llamado MolDock Optimizer, el cual está basado en un nuevo sistema de búsqueda que combina la evolución diferencial con un algoritmo de predicción de cavidades. El esquema de evaluación de cada complejo molécula-proteína es a través de un parámetro denominado *dock score*, el cual se refiere a las energías aproximadas de unión ligando-receptor (incluyendo las cargas electrostáticas y los puentes de hidrógeno formados) y las interacciones intraligando. Se utilizó el protocolo estándar incluido en esta versión de Molegro y que a continuación se describe: el receptor farmacológico se prepara mediante la eliminación de las moléculas de agua y otras moléculas provenientes de la cristalización y procesamiento de la proteína. A continuación se realizó la búsqueda de las cavidades presentes en la proteína, las cuales sugieren los potenciales sitios de unión ligando-receptor. La cavidad que coincidiera con el sitio activo o con un sitio de unión alostérica se seleccionó para continuar la rutina de acoplamiento molecular. Se utilizó la herramienta *Docking Wizard* para especificar el protocolo de búsqueda, cuyas

especificaciones incluyeron un mayor número de corridas (25) a las sugeridas en el protocolo estándar (10) para aumentar la probabilidad de encontrar la conformación más favorable del complejo ligando-receptor, lo cual se realizó para todas las moléculas de la base de datos. Al final de la rutina de acoplamiento molecular, se obtuvieron los resultados de *Dock Score* para cada molécula de la base de datos. Aquellas moléculas con un menor Dock Score, son aquellas que potencialmente presentarían mejor afinidad con el receptor.

#### IV. RESULTADOS OBTENIDOS

Se construyó una base de datos, a partir de la molécula inicial-(2,2,2-trifluoretil)-n-{4-[2,2,2-trifluor-1-hidroxi-1-(trifluormetil)etil]fenil}benzosulfamida, a la que se le plantearon algunas modificaciones estructurales, teniendo una base de datos de 13 moléculas, hasta llegar a la elección de la molécula líder.

*Homología:* consiste en la reducción o alargamiento de cadenas lineales o anillos o heterocíclicos, la cual permitió el acercamiento a posibles sitios de unión, mejorando el paso por membranas biológicas.

*Modificación anular:* se basa en la apertura o cierre de anillos, reorganizándolos al cambiar su posición o provocar

CUADRO I  
MOLÉCULAS QUE INFLUYERON EN LA SELECCIÓN DE LA MOLÉCULA LÍDER

Molécula							
Toxicidad	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno
Solubilidad	-5.95	-1.6	-2.02	-3.29	-2.29	-2.35	-0.96
logP	4.0	2.0	2.4	2.0	0.01	0.71	3.74
DrugScore	0.22	0.91	0.89	0.86	0.85	0.86	0.94
Receptor	Receptor nuclear	Ligando GPCR	Ligando GPCR	Ligando GPCR	Inhibidor de proteasa	Inhibidor de proteasa	Inhibidor enzimático
pH en su forma neutra	2.4	7.2	8.8	8.4	10.6	9.6	8.0
No.	2	3	4	5	7	2	5
Iteraciones MolDock Score	-	-164.71	-164.12	-137.89	-129.16	-118.75	-118.67
Molécula							
Toxicidad	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno
Solubilidad	-1.92	-1.06	-2.03	-2.03	-1.8	-1.53	-0.65
logP	2.65	3.19	1.92	-1.92	0.29	-0.97	2.34
DrugScore	0.93	0.93	0.91	0.91	0.81	0.89	0.94
Receptor	Inhibidor de proteasa	Canal iónico	Canal iónico	Canal iónico	Inhibidor enzimático	Inhibidor de proteasa	Inhibidor de proteasa
pH en su forma neutra	8.0	8.0	8.0	8.0	3.2	8.6	4.8
No.	5	7	2	4	2	3	2
Iteraciones MolDock Score	-114.03	-100.3	-98.50	-97.94	-88	-77.24	-60.78

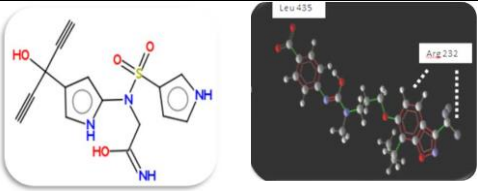
una fusión de anillos. Esta variación estructural mejoró la selectividad y afinidad dando una estabilidad química y metabólica.

*Etinología:* se basa en la formación de triples ligaduras. Esta variación permitió mejorar el logaritmo de partición logP. Se siguieron algunas reglas de la química heterocíclica, ayudando a mejorar el logP y la absorción.


En el Cuadro I se pueden observar los valores de las 13 moléculas que influyeron en la selección de la molécula líder.

De acuerdo con la construcción de base de datos se eligieron dos moléculas líderes, véase Cuadro II y III.

CUADRO II  
MOLÉCULA LÍDER 1

		
Solubilidad	-1.6	La molécula en su forma neutra se encuentra presente en un 100% al pH fisiológico de 7.4, por lo tanto la formulación se podrá realizar en cualquier vía de administración.
logP	2.09	
DrugScore	0.91	
No.	3	
Iteraciones		
MolDock	-164.71	
Score		

CUADRO III  
MOLÉCULA LÍDER 2

		
Solubilidad	-2.02	La molécula en su forma neutra se encuentra presente en un 66.08 % a un pH fisiológico de 7.4 por lo que se recomienda que la vía de administración sea IV.
logP	2.43	
DrugScore	0.89	
No.	4	
Iteraciones		
MolDock	-164.122	
Score		

## V. CONCLUSIONES

El objetivo principal del trabajo fue el diseño de estructuras, a partir de una molécula base, con posible efecto farmacológico que actuara como agonistas del receptor X Hepático, utilizando análisis quimiinformáticos. Las moléculas se basaron en un ligando conocido del receptor y se sometieron a variaciones estructurales para buscar una mejora de las características farmacocinéticas y farmacodinámicas.

Se eligieron dos moléculas como prototipos de fármacos debido al alto puntaje en el docking y a su perfil farmacocinético.

En el prototipo dos se obtuvo una biodisponibilidad del 100%, por lo que una vía de administración satisfactoria podría ser oral.

Con el análisis de la información recaudada, empleando estudios quimiinformáticos y docking, ambos prototipos podrían someterse a estudios in vitro, los cuales de llegar a presentar resultados satisfactorios, podrían sugerirse para estudios in vivo.

## REFERENCIAS

- [1] Ateroesclerosis y Arteriosclerosis ¿cuál es la diferencia?, obtenido de: <http://ucmb.edu.py/aterosclerosis-y-arteriosclerosis-cual-es-la-diferencia/> el día 13 de marzo del 2014.
- [2] L. C. Mostaza, "La aterosclerosis como enfermedad sistémica," *Revista Española Cardiología*, vol. 60, no. 2, 185-195, 2007.
- [3] Incidencias a nivel mundial y nacional, obtenido de: [http://www.enfermeriaencardiologia.com/publico/enfermedades\\_cardio-vasculares.htm](http://www.enfermeriaencardiologia.com/publico/enfermedades_cardio-vasculares.htm), el día 13 de marzo del 2014.
- [4] C. Zhao, K. Dahlman-Wright, "Liver X receptor in cholesterol metabolism," *Journal of Endocrinology*, vol. 204, no. 3, 233-240, 2010.
- [5] M. Baranowski, "Biological role of liver X receptors," *J Physiol Pharmacol.*, vol. 59, Suppl 7, 31-55, 2008.
- [6] Advanced Chemistry Development, Inc., (ACD/Labs) <http://www.acdlabs.com>
- [7] J. L. Medina-Franco et. al. "Diseño de fármacos asistido por computadora," *Educación Química*, vol. 17, 452-457, 2006
- [8] D. B. Kitchen DB, et al. "Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications," *Nat. Rev. Drug Discov.*, Vol 3, no. 11, 935-949, 2004.
- [9] J. Bajorath, "Cheminformatics: Concepts, Methods, and Tools for Drug Discovery," *Methods in Molecular Biology*, vol. 275, 2004