



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

ESTUDIO DE RECONOCIMIENTO MOLECULAR DE ALGUNAS
MOLÉCULAS ESTEROIDALES CON POSIBLE
ACTIVIDAD ANTIANDROGÉNICA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO

P R E S E N T A:

FRANCISCO LOYDA RUEDA

ASESORA: DRA. ANA MARÍA VELÁZQUEZ SÁNCHEZ

COASESOR: M. en C. VÍCTOR HUGO VÁZQUEZ VALADEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dirijo esta carta especialmente a ti, que eres el alma de nuestro hogar, a ti que eres el ser en quien se inspiran el amor y la bondad. A ti que eres pureza e inocencia... a ti que eres la luz de mi existencia, a ti que eres el consuelo, esperanzas y anhelos, por quien yo lucharé sin importar mil sacrificios y desvelos, a ti en estas líneas me dirijo... en ti quiero hoy pensar... en ti MI HIJO.

Quiero decirte abiertamente que TE AMO, y que por ti ningún esfuerzo será en vano. Quiero expresarte mi amor y mi cariño, quiero decirte que bendigo la pureza de tu ser, mi amado niño. Desde que estás conmigo, día con día, pido al Creador que te bendiga, que te cuide y que te guie en el sendero de tu vida.

Brinda siempre tu mano generosa, pues recuerda que la bondad vale más que muchas cosas. Que tu vida no conduzcas con orgullo y vanidad, pues en el hombre es muy buena la humildad. Ama tu labor y tu trabajo honrado y con ello agradece a la vida que, hasta hoy, todo te ha dado. Nunca olvides a quienes un día, en tu camino, se esforzaron por forjarte un buen destino; a tus padres, tus maestros, tus amigos, a la Patria que por siempre generosa fue contigo.

Toma hoy el consejo de los que te amamos, tómalo ahora y llévalo siempre contigo... hasta el día en que nos despedamos. Espero acompañarte y recorrer junto a ti tu camino aún incipiente y con ternura besar como hasta hoy tu tibia frente, mas si el Creador dispone que me ausente he de quererte, donde sea, donde me encuentre y he de pedir por este niño que ahora duerme, que sea feliz, que sea el hombre de bien que soñé siempre.

Hasta mañana mi dulce niño...

Agradecimientos

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM por darme el privilegio de haber estudiado en esta hermosa escuela y darme la oportunidad de terminar mis estudios para consolidarme como QUÍMICO.

Al Dr. Enrique Ángeles Anguiano por darme la oportunidad de formar parte de la familia del LQM y poner a mi alcance todos los medios tecnológicos para poder concretar esta tesis.

A la Dra. Ana María Velázquez Sánchez por siempre creer en mí y nunca dejarme caer en la desesperación y darme tantos sabios consejos tanto para mi tesis como para mi vida.

Al M. en C. Víctor Hugo Vázquez Valadez por tenerme toda la paciencia del mundo y contagiarme de sus conocimientos en Química teórica.

Agradezco a Dios porque nunca me dejó caer y por guiarme en el camino de la paz hasta cumplir mis metas.

A mi gran pequeña familia; mis abuelitos, mi mamá y mi tía, saben perfectamente que este trabajo lo logré gracias a ustedes, porque nunca dejaron de creer en mí, por ese apoyo que siempre me dan pero más por la fe que aun me tienen. Gracias a Dios por darme tantas mamás.

A mis seres queridos que desafortunadamente ya no están conmigo pero siempre soñaron con este trabajo terminado gracias a mis abuelitos.

A mi nueva familia a todos los LQMS gracias por contagiarnos con su entrega y pasión por compartir algo en común el amor a la QUÍMICA.

Gracias a todos mis amigos de la generación 34 de Química, (Rebeca, Gaby, Heriberto, Edmar, Daniel, Carlos, Juanito, Edgar), gracias por todo el apoyo brindado, las fiestas, las alegrías, las tristezas pero sobre todo gracias por aminorar el peso de esta bonita y talachuda carrera en verdad GRACIAS.

A mis amigos Adriana, Itzel, Agustín, Armando, Hugo y Eder gracias por todo el apoyo y darme siempre su mano cuando más la necesité.

A mi perro, Boomerang, por los momentos felices que pasamos juntos.

A los proyectos de PAPIIT IT202412, Diseño de nuevos derivados del ácido carbámico con actividad ixodicida en garrapatas del género Bophilus.

PAPIIT IG200813, Síntesis y caracterización de complejos de cobre como antineoplásicos.

Al proyecto PAPIME PE203511, Elaboración de material didáctico en química.

Al proyecto PACIVE CONS-21 Diseño de moléculas bioactivas.

A la DGTIC-UNAM por el uso de la supercomputadora Kan Balam.

También agradezco a F. Sotres, D. Jiménez y M. Hernández y Rosa María Valadez de la FESC UNAM por su apoyo técnico.

Índice.

Índice de figuras y tablas.....	1
Introducción.	2
Objetivos.	4
1. Antecedentes.	5
1.1 Antiandrógenos.	5
1.2 Acetato de Ciproterona.....	5
2. Química computacional.....	8
2.1 ¿Qué es la química computacional?.....	8
2.2 Métodos de mecánica molecular.	9
2.3 Métodos de Hartree-Fock para el cálculo de propiedades de estructura electrónica.....	11
2.4 Funciones de Base.....	12
2.5 Métodos Semiempíricos.	14
2.6 Métodos Post Hartree-Fock.....	15
2.7 Aspectos fundamentales de la teoría de funcionales de la densidad.	15
2.8 Optimización geométrica molecular.	16
2.9 Huellas digitales de la interacción proteína ligando por sus siglas en ingles (PLIF).	16
3. Materiales y métodos.	17
3.1 Validación.	18
3.2 Optimizaciones geométricas utilizando mecánica cuántica.	18
3.3 Optimizaciones geométricas utilizando mecánica molecular.....	18
3.4 Optimizaciones geométricas utilizando métodos semiempíricos.....	18
3.5 Estudio de reconocimiento molecular con la enzima HAR con los esteroides optimizados con mecánica molecular.....	19
3.6 Huellas digitales de la interacción proteína ligando (PLIF).	19
3.7 Sobreposicionamientos.....	19
4. Resultados y análisis de resultados.	20
4.1 Resultados de la validación usando mecánica molecular.....	20
4.2 Optimización geométrica utilizando mecánica cuántica.	23
4.3 Optimizaciones geométricas empleando mecánica molecular.....	25
4.4 Optimizaciones geométricas empleando métodos semiempíricos	27
4.5 Estudio de reconocimiento molecular con la enzima humana andrógena receptora con los esteroides optimizados con mecánica molecular.....	28
4.6 Huellas digitales de la interacción proteína ligando (PLIF).	43
4.7 Superposicionamientos.....	49
Conclusiones	53
Bibliografía.	54

Índice de figuras y tablas.

Imagen 1. Interacciones del CPA.	6
Tabla 1. Clasificación de bases.	13
Tabla 2. Tabla de claves.	17
Imagen 2. Acetato de Ciproterona	20
Tabla 3. Energías del análisis estocástico.	20
Tabla 4. Energía de la molécula 2.	20
Imagen 3. Sobreposición de la molécula 2 con el CPA.	21
Imagen 4. Comparación de enzimas.	21
Imagen 5. RMSD de la validación.	22
Imagen 12. Geometría del esteroide 246 con HF/6-31G.	23
Imagen 13. Geometría del esteroide 246 con HF/6-31G*.	23
Imagen 14. Geometría del esteroide 261 con HF/6-31G**.	23
Imagen 15. Geometría del esteroide 261 con B3LYP/6-31G.	24
Imagen 16. Geometría del esteroide 157 con B3LYP/6-31G*.	24
Imagen 17. Geometría del esteroide 157 con B3LYP/6-31G.**	24
Tabla 5a. Energías de las optimizaciones geométricas usando mecánica cuántica.	25
Tabla 5b. Energías de las optimizaciones geométricas usando mecánica cuántica.	25
Tabla 6. Energía resultante de la optimización geométrica del esteroide 6	26
Imagen 18. Parámetros del análisis conformacional.	26
Imagen 19. Geometría molecular del esteroide 6 usando mecánica molecular.	26
Imagen 20. Geometría del esteroide 33 con AM1	27
Imagen 20. Geometría del esteroide 33 con PM3	27
Imagen 22. Interacciones del CPA de PDB.	28
Imagen 23. Significado de las interacciones del docking.	28
Tabla 7. Abreviaturas de Aminoácidos.	29
Tabla 8. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 6.	30
Tabla 9. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 33.	32
Tabla 10. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 44.	34
Tabla 11. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 157.	36
Tabla 12. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 246.	39
Tabla 13. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 261.	41
Imagen 24. PLIF de la molécula 6.	43
Imagen 25. PLIF de la molécula 33.	44
Imagen 26. PLIF de la molécula 44.	45
Imagen 27. PLIF de la molécula 157.	46
Imagen 28. PLIF de la molécula 246.	47
Imagen 29. PLIF de la molécula 261.	48
Imagen 30. Sobreposición del esteroide 246.	49
Tabla 14. Comparativa de los RMS de los empalmes realizados.	52

INTRODUCCIÓN.

El cáncer de próstata es la segunda enfermedad más frecuente en los hombres, después del cáncer de pulmón. En todo el mundo se diagnostican unos 700 000 nuevos casos al año; lo que representa el 11,7% de todas las enfermedades cancerosas masculinas. Cada año se registran en México unos 6 500 casos de cáncer de próstata, con un resultado aproximado de 4 600 decesos, informa el director del Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional (CMN) Siglo XXI, Pedro Escudero de los Ríos. (Notimex 2007).

El cáncer de próstata es un padecimiento que no presenta síntomas y del que además se desconoce el origen. Sin embargo, hay dos factores de riesgo: uno, la ingesta de grasas de origen animal, y el segundo, los antecedentes de familiares directos. Cerca del 80 por ciento de los hombres que tiene más de 60 años sufre estos males y en el caso de México, el cáncer de próstata es la causa de muerte de alrededor de 72.2 individuos por cada cien mil habitantes, de acuerdo con la Secretaría de Salud. (UAM 2010).

Para combatir el cáncer de próstata se ha usado el acetato de ciproterona, (CPA por sus siglas en inglés), el cual es un derivado de la progesterona al que se le conocen propiedades antiandrogénicas. CPA es el antiandrógeno más empleado en Europa. Posee efecto antagonista del receptor acetato de ciproterona y también actúa como antigonadotrópico merced a su efecto progestacional. También presenta actividad progestagénica.

El acetato de ciproterona, inhibe la unión de los andrógenos a los receptores de la glándula sebácea anulando el paso de testosterona a dihidrotestosterona disminuyendo así la producción de sebo. En comparación con un antagonista esteroidal para el receptor andrógeno, como el 11β -aminofenil-19-nor-esteroide, el CPA es más voluminoso en su estructura y por lo tanto, aparentemente incompatible con los sitios de unión observados en las estructuras cristalinas disponibles en rayos X de los receptores androgénicos de unión-ligando dominio. (Burton, G. 2003).

Con estos antecedentes este trabajo se enfocara al estudio teórico de reconocimiento molecular (docking) con una serie de esteroides con posible actividad antiandrogénica y la enzima humana andrógeno receptora (HAR, por sus siglas en inglés) obtenida del Protein Data Bank (PDB, por sus siglas en inglés), con una resolución de 1.8 Å. (Base de datos de PDB 2012) Primero se llevará a cabo una validación del método de docking empleado para conocer su reproducibilidad, posteriormente se aplicarán los métodos de docking rígido - flexible y flexible - flexible entre los ligandos y la enzima mencionada.

También se llevará a cabo la optimización geométrica de estos mismos esteroides utilizando los métodos semiempíricos *ab initio*, DFT y Mecánica Moleculares para comparar las estructuras de mínima energía con las estructuras de rayos X, y determinar así el método que mejor describe a los sistemas en estudio.

Con los resultados obtenidos se decidió emplear las estructuras por la optimización geométrica con Mecánica Molecular para emplearlas en los procesos de docking. Dadas las energías de los complejos resultantes se propone cuál de los esteroides tendrá una mejor interacción con la enzima y por ende una posible mejor actividad biológica esperada.

Los cálculos se realizaron en la supercomputadora Kan Balam en el programa Gaussian 03 y con el programa MOE en una computadora Mac Pro Quad-Core Intel Xenon.

OBJETIVOS.

General:

- Realizar un estudio teórico de reconocimiento molecular (docking) del receptor andrógeno humano con 6 esteroides para predecir la posible actividad antiandrogénica.

Particulares:

- Llevar a cabo la optimización geométrica de las estructuras de 6 esteroides utilizando los métodos semiempíricos (AM1 y PM3), *ab initio* (HF/6-31G, HF/6-31G*, HF/6-31G**), DFT (B3LYP/6-31G, B3LYP/6-31G*, B3LYP/6-31G**) para obtener la geometría de la estructura de mínima energía.
- Efectuar la optimización geométrica de las estructuras de 6 esteroides utilizando el campo de fuerza MMFF94x de mecánica molecular para obtener el conformero de menor energía.
- Validar los métodos de optimización empleados, comparando las estructuras obtenidas de manera teórica con las estructuras determinadas por difracción de rayos X para determinar el método que mejor describe la geometría de los sistemas químicos esteroideos empleados en el estudio.
- Realizar el estudio de reconocimiento molecular de la serie de esteroides con la enzima HAR para indicar cuál de ellos presenta una interacción más favorable con respecto al CPA.
- Con base a los resultados de reconocimiento molecular proponer cual de los esteroides estudiados tendrá la mejor actividad biológica antiandrogénica.

1. ANTECEDENTES.

1.1 Antiandrógenos.

Un antiandrógeno o antagonista androgénico es un grupo de fármacos que ejercen una acción antagonista o supresión hormonal capaz de prevenir o inhibir los efectos biológicos (testosterona, androstendiona) de los andrógenos u hormonas sexuales masculinas en las respuestas normales de los tejidos corporales a estas hormonas.

Los antiandrógenos normalmente actúan bloqueando los receptores androgénicos, compitiendo con los sitios de unión en la superficie de las células, literalmente obstruyendo la función de los andrógenos. (Boggio, J.C. 1993)

Los antiandrógenos se utilizan tanto en múltiples enfermedades como en situaciones no médicas, tales como:

- Agentes antineoplásicos ya sea de forma paliativa, coadyuvante o tratamiento hormonal neo-adyuvante en el cáncer de próstata.
- Hiperplasia benigna de próstata.
- Acné.
- Alopecia androgénica.
- Hirsutismo.
- Ocasionalmente también se usan en los varones como método anticonceptivo.
- Para prevenir síntomas asociados a un déficit de testosterona, como los sofocos, después de una castración.
- Los antiandrógenos están indicados a menudo para tratar trastornos sexuales graves, como la hipersexualidad o deseo sexual excesivo y desviaciones sexuales, especialmente parafilias.

La administración de antiandrógenos en hombres puede provocar una disminución o aumento en el desarrollo o involución de los caracteres sexuales secundarios, reduciendo la actividad o función de los órganos sexuales accesorios, e hiposexualidad, con disminución del deseo sexual o libido.

El término de respuesta de retirada del antiandrógeno, describe la situación médica que ocurre cuando las células cancerosas adaptadas a la administración del antiandrógeno y que ya no responden, comienzan a sufrir los efectos antiandrogénicos tras el cese en la administración del antiandrógeno.

1.2 Acetato de Ciproterona.

El acetato de ciproterona (CPA por sus siglas en inglés) es un derivado de la progesterona al que se le conocen propiedades antiandrogénicas. Es el antiandrógeno más empleado en Europa. Posee efecto antagonista del receptor y también actúa como antigonadotrópico merced a su efecto progestacional, también presenta actividad progestagénica.

El CPA, inhibe la unión de los andrógenos a los receptores de la glándula sebácea anulando el paso de testosterona a dihidrotestosterona disminuyendo así la producción de sebo.

En comparación con un antagonista esteroide, 11 β -aminofenil-19-nor-esteroide, para el receptor andrógeno, el CPA es más voluminoso en su estructura y por lo tanto, aparentemente incompatible con los sitios de unión observados en las estructuras cristalinas disponibles en la actualidad de rayos X de los receptores androgénicos de unión-ligando dominio.

Se encontró en el Protein Data Bank con el código 2OZ7 la estructura cristalina de rayos X del dominio receptor andrógeno humano unión-ligando, unido al CPA a 1.8Å de resolución en la variante T877A, ayuda a aumentar la actividad antagonista del CPA y por lo tanto, facilita la purificación y la formación de cristales del complejo receptor-fármaco. (Casey E. et. al. 2006).

La estructura encontrada muestra que el grupo 17 α acetato del CPA induce un movimiento en la cadena lateral en la leucina, (Leu-701). Esta alteración estructural conduce a una expansión de la cavidad de unión para incluir una cavidad adicional bordeada por los aminoácidos leucina (Leu-701), leucina (Leu-704), serina (Ser-778), metionina (Met-780), fenilalamina (Phe-876) y leucina (Leu880). Como se muestra en la Imagen 1.

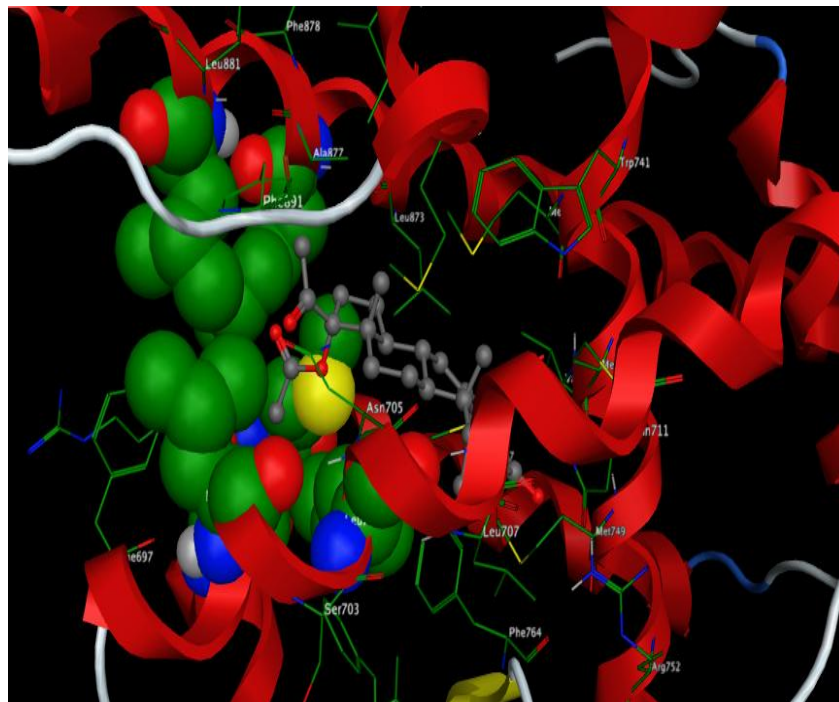


Imagen 1. Interacciones del CPA.

En conjunto, estos datos ofrecen información para la estructura basada en diseño de fármacos, aclarar las regiones flexibles del receptor andrógeno unión-ligando dominio y dar una idea de cómo el CPA antagoniza el receptor andrógeno y el receptor de glucocorticoides.

El receptor andrógono es un ligando inducible del receptor de la hormona esteroide, implicado en la regulación del crecimiento de la próstata, la espermatogénesis, el hueso y la masa muscular. Los ligandos que bloquean las acciones de los andrógenos se utilizan clínicamente para el tratamiento del cáncer de próstata e incluyen el antiandrógono esteroideo, CPA, y antiandrógenos no esteroideos.

Las mutaciones en el receptor andrógono ocurren a menudo en pacientes que están siendo tratados con estos compuestos que aumentan su actividad agonista y por lo tanto dar lugar a resistencia a los medicamentos.

Paradójicamente, la interrupción del tratamiento farmacológico en este momento puede conducir a la regresión del tumor conocido como síndrome de retirada del antiandrógono. Un número de mutaciones antiandrógenos síndrome de abstinencia se produce en las regiones de contacto directo con el ligando que compensa el aumento del volumen de antagonista, en comparación con los compuestos agonistas.

Las indicaciones terapéuticas de este fármaco son:

En el hombre:

- Alopecia androgénica.
- Reducción del impulso sexual desviado. Tratamiento antiandrogénico en carcinoma inoperable de próstata.
- Reducción de la testosterona libre y biodisponible en terapias de sustitución hormonal en cambios de sexo de varón a mujer.

En la mujer:

- Manifestaciones graves de androgenización, por ejemplo, hirsutismo muy intenso (aparición de vello por el cuerpo), alopecia androgenética severa, a menudo acompañada de cuadros de acné y/o seborrea.
- En combinación con valerato de estradiol, en terapias de sustitución hormonal durante la menopausia natural o inducida quirúrgicamente.

Como todo medicamento presenta unas reacciones adversas, entre las que destacan:

- Disminución de la actividad y potencia sexual, así como una inhibición de la función gonadal. Cambios reversibles una vez suspendido el tratamiento con el fármaco.
- Inhibición de la espermatogénesis como resultado de sus acciones antiandrogénica y antigonadotrópica. También se recupera en escasos meses tras el término del tratamiento.
- En varones, produce ocasionalmente ginecomastia, que por lo general desaparece al suspender la medicación.
- En mujeres, se inhibe la ovulación bajo el tratamiento combinado, de forma que establece una situación de infertilidad.
- El tratamiento con altas dosis del fármaco puede reducir la función corticosuprarrenal.
- Puede observarse disminución de la vitalidad y, ocasionalmente, agitación interna pasajera o humor depresivo.
- Es posible que tengan lugar variaciones del peso corporal.

2. QUÍMICA COMPUTACIONAL.

2.1 ¿Qué es la química computacional?

En los años sesenta la mecánica cuántica proporcionó a los químicos modelos cuantitativos para el cálculo de propiedades moleculares que pudieron incorporarse a computadora, solo que estos se limitaban al estudio de sistemas electrónicos π de moléculas aromáticas. Este puede ser el origen de la química computacional en el sentido más escrito.

A finales de los años setenta apareció un nuevo campo del conocimiento orientado al diseño de moléculas asistido por computadora: la química computacional. Esta nueva disciplina fue impulsada por las principales compañías farmacéuticas del mundo interesadas en la química medicinal y por el acelerado desarrollo del cómputo.

La definición general de química computacional es la disciplina que comprende todos aquellos aspectos de la investigación en química que se benefician con la aplicación de computadoras. En sentido más restrictivo, el núcleo de la química computacional implica el uso de modelos matemáticos para la predicción de propiedades químicas y físicas de compuestos empleando computadoras.

Concluyendo lo siguiente, la química computacional consiste en determinar la estructura y las propiedades moleculares mediante el uso de mecánica molecular, métodos semiempíricos y teorías de orbitales moleculares a primeros principios (*ab initio*) y teoría de funcionales de la densidad (DFT).

Ab initio significa “desde el principio” y se refiere a que en este tipo de cálculos se emplean constantes fundamentales de la física, como la carga, la masa del electrón y de las partículas nucleares, la rapidez de la luz, la constante de Planck, etc. Para realizar el cálculo solo es necesario indicar el tipo de los núcleos atómicos involucrados y sus coordenadas, la carga y multiplicidad del sistema, y determinar tanto el nivel de cálculo, que consiste en el modelo teórico por resolver, como las funciones de base con las que se representan los orbitales moleculares de esa estructura.

Sin embargo, es conveniente diferenciar los términos química teórica y química computacional, el primero se encuentra asociado con la búsqueda de mejores teorías para describir cantidades determinadas experimentalmente e incluye los desarrollos de la química cuántica, la mecánica cuántica y la mecánica estadística en modelos tendientes a explicar la realidad física del fenómeno de la reactividad. Estos desarrollos se pueden transformar en algoritmos susceptibles de programarse, así que la química teórica es proveedora de los métodos aplicables en química computacional, enriquecidos con los desarrollos generados por el modelado molecular, la mecánica molecular, la dinámica molecular, el desarrollo de interfaces gráficas, etc. (Jensen F. 1999).

La aplicación de conceptos generados por la química teórica permite calcular propiedades como:

- Los arreglos geométricos de los átomos que corresponden a moléculas estables y a estados de transición.
- Las energías relativas de varias moléculas.
- Sus propiedades: momento dipolar, polarizabilidad.
- Propiedades espectroscópicas, como corrimientos químicos y constantes de acoplamiento, frecuencias vibracionales, etc.
- Propiedades termoquímicas.
- La rapidez con la que un reactivo se transforma en producto (propiedades cinéticas).
- La dependencia de algunas propiedades, como la estructura molecular con el tiempo.

Desde luego, no debe considerarse la química computacional como un rival de las técnicas experimentales tradicionales, ya que ambas son complementaria: cada una permite obtener resultados que son imposibles de obtener por la otra y viceversa. (Wilson, S. 1986).

La química computacional permite analizar los mecanismos de reacción de una forma que es imposible desde el punto de vista experimental, ya que se pueden determinar las propiedades electrónicas del estado de transición que conecta a un reactivo con un producto, evaluar el efecto que tienen los patrones de sustitución sobre la estabilidad y, con ello, eliminar especulaciones que con poca sustentación se hacen con frecuencia y que poco ayudan al desarrollo de la química.

Cuando los sistemas moleculares son grandes, las dificultades para calcularse aumentan, ya que los recursos de cómputo requeridos son mayores, por ello es preciso efectuar simplificaciones en el modelo teórico y con estas surgen los modelos semiempíricos (*vide supra*) y la mecánica molecular, que comparten el ser dependientes de la parametrización. Cuando se dispone de parámetros óptimos es posible lograr buenos resultados a costos computacionales bajos, sin embargo, conseguir los parámetros apropiados no es simple y además conlleva el riesgo de contar con un método donde la persona que lo parametriza determinara los resultados que desea obtener.

Los métodos sustentados en la mecánica molecular se desarrollaron muy rápido como una herramienta útil para determinar propiedades geométricas fundamentalmente.

2.2 Métodos de mecánica molecular.

Los métodos de mecánica molecular no están basados en la mecánica cuántica ya que no tiene relación con el hamiltoniano electrónico ni con la función de onda y tampoco con la densidad electrónica, sino más bien en las leyes de la física clásica, y usan como modelo una molécula compuesta por átomos unidos por enlaces los cuales se pueden comparar con resortes. A partir del uso de varios parámetros como las constantes de fuerza de alargamiento del enlace y la introducción de términos que permiten considerar interacciones entre los átomos no enlazados, el método construye una expresión para la energía potencial que es función de las posiciones atómicas $V(x, y, z)$. Por medio de la minimización de esta función para varios conformeros moleculares, los métodos de modelado molecular predicen geometrías en el equilibrio y energías relativas.

Estos métodos fueron desarrollados por Westheimer, Hendrickspn, Wilberg, Allinger, Warshel y otros quienes elaboraron sus propias parametrizaciones, y son aplicables a estados electrónicos en su estado basal. (Landis, C.R. 1955).

Debido a que los cálculos de mecánica molecular resultan mucho más rápidos que los cálculos mecánico cuánticos su uso ha sido para compuestos orgánicos, organometálicos y de coordinación. En estos modelos se analizan las contribuciones a la energía potencial de las moléculas debidas a:

- Alargamiento del enlace (V^{alar})
- Deformación del ángulo de enlace (V^{def})
- Deformación fuera del plano (V^{oop})
- Rotación interna alrededor del enlace o de torsión (V^{tor})
- Interacciones entre estas clases de movimientos (V^{cruz})
- Atracciones y repulsiones de Van der Waals entre los átomos no enlazados (V^{vdw})
- Interacciones electrostáticas entre los átomos (V^{elec})

La suma de estas contribuciones produce la energía potencial, V , para una conectividad y conformación molecular determinada.

$$V = V^{\text{alar}} + V^{\text{def}} + V^{\text{oop}} + V^{\text{tor}} + V^{\text{cruz}} + V^{\text{vdw}} + V^{\text{elec}} \quad (\text{Ecuación 1}).$$

Las expresiones explícitas empleadas para cada término en la Ecuación 1 definen lo que se llama campo de fuerzas en mecánica molecular y las derivadas de la energía potencial determinan las fuerzas que actúan en cada átomo. Un campo de fuerzas contiene fórmulas analíticas para los términos en la Ecuación 1, así como los valores para todos los parámetros que aparecen en estas fórmulas.

Cada campo de fuerza en mecánica molecular asigna un número (código) a cada átomo en la molécula según el tipo al que pertenece y en función de su número atómico, carga y ambiente molecular. Cada tipo corresponde a diferentes características y comportamientos.

En un cálculo de mecánica molecular se deben especificar no solo las coordenadas atómicas iniciales, como en los cálculos *ab initio* o semiempíricos, sino también la conectividad, es decir, determinar a qué átomo o átomos está unido cada átomo de la molécula, de tal manera que se pueda clasificar correctamente por su tipo con la finalidad de asignarle los parámetros adecuados y con ello construir en forma apropiada la expresión matemática por resolver. Esto resulta cada vez más sencillo cuando se usa una interfase gráfica para construir la molécula.

Los diferentes campos de fuerza utilizan conjuntos de parámetros ajustables, fundamentalmente constantes de fuerza, datos atómicos y valores estructurales geométricos en equilibrio para que calculadas se acerquen lo más posible a las experimentales.

Se debe distinguir entre un campo de fuerza que es definido por la expresión para calcular V y el programa de mecánica molecular, el cual es un sistema computacional que usa el campo de fuerza para realizar los cálculos.

Los parámetros de los programas de mecánica molecular se refieren a los valores que toman las constantes de fuerza y los valores geométricos al equilibrio.

2.3 Métodos de Hartree-Fock para el cálculo de propiedades de estructura electrónica.

La teoría de estructura electrónica abordada a través de métodos *ab initio* se enfoca a la predicción de las propiedades de los sistemas atómicos y moleculares.

Las ecuaciones de Hartree-Fock (HF) se obtienen al sustituir un determinante de Slater en la ecuación de Schrödinger, seguida por algunas transformaciones algebraicas. (McQuire, D.A. 1083).

Una determinante como el (Ecuación 2) se denomina *determinante de Slater*. Todos los elementos de una columna en un determinante de Slater se refieren al mismo espín orbital, mientras que los elementos de la misma fila se refieren al mismo electrón.

$$\psi^{(0)} = \frac{1}{\sqrt{6}} \begin{bmatrix} 1s(1)\alpha(1) & 1s(1)\beta(1) & 2s(1)\alpha(1) \\ 1s(2)\alpha(2) & 1s(2)\beta(2) & 2s(2)\alpha(2) \\ 1s(3)\alpha(3) & 1s(3)\beta(3) & 2s(3)\alpha(3) \end{bmatrix} \quad (\text{Ecuación 2})$$

Estas ecuaciones pueden verse como una alternativa a la ecuación de Schrödinger donde el Hamiltoniano exacto se sustituye por el operador de Fock: $F\Psi = E\Psi$. La diferencia entre el operador de Fock y el hamiltoniano exacto es que, en lugar de considerar que los electrones interactúan uno a uno mediante un potencial coulombico como lo hace el hamiltoniano, estos mantienen una interacción promedio con todos los electrones del sistema. Lo anterior se logra al sustituir el operador coulombico por uno que describe el promedio de la interacción, de tal manera que las ecuaciones de HF parecen ser un conjunto de ecuaciones independientes para cada electrón. El hamiltoniano y la función de onda verdaderos involucran las coordenadas de todos los electrones, mientras que el operador Hartree-Fock, operador de un electrón, involucra las coordenadas de un solo electrón.

La función de onda de Hartree-Fock esta descrita como un producto antisimétrico (como un determinante de Slater) de espín-orbitales ϕ_i y el método HF consiste en buscar los orbitales ϕ_i que minimizan la energía del sistema según la (Ecuación 3):

$$F(1)\phi_i(1) = \varepsilon_i\phi_i(1) \quad (\text{Ecuación 3})$$

Donde ε_i es la energía del orbital y F es el operador Fock, que se define como (Ecuación 4):

$$F(1) = h(1) + \sum_{j=1}^{N/2} [2J_j(1) - K_j(1)] \quad (\text{Ecuación 4})$$

Este operador consiste en tres términos (para moléculas de capa cerrada) el primero es:

$$h = -\frac{1}{2}\nabla_1^2 - \sum_a \frac{Z_a}{r_{1a}} \quad (\text{Ecuación 5}),$$

la suma de la energía cinética para un electrón, mas la energía potencial de la atracción entre el electrón 1 y los núcleos. Los términos restantes son el operador coulombico J_j y el operador de intercambio K_j .

Para obtener la expresión del operador coulombico que describe el promedio de las interacciones entre los electrones, se considera una función que es producto de funciones de onda ϕ_i , normalizada para cada electrón. (Cuevas G. Cortes, F. 2003).

2.4 Funciones de Base.

El conjunto de funciones de base permite obtener una representación de los orbitales de un sistema químico (átomos y moléculas), siendo parte del modelo químico junto con el método teórico. La mayoría de las implementaciones de los métodos basados en la función de onda, los métodos semiempíricos y los métodos DFT usan conjuntos de base.

La expansión de una función desconocida, como un orbital molecular, en un conjunto de funciones conocidas, no es una aproximación si se tiene una base completa; sin embargo, para el espacio vectorial que contiene a los orbitales moleculares, una base completa significa el uso de un número infinito de funciones base.

Las elección de la base de cálculo es muy importante ya que las bases pequeñas, que permiten cálculos rápidos y poco demandantes de recursos de computo, no son precisas, dado que implican una representación pobre de la realidad física. Además, el tipo de funciones empleadas influye directamente en la precisión de un cálculo. Por lo tanto existe el compromiso de emplear el menor número de funciones de base para lograr un cierto nivel de precisión deseada. ⁽¹¹⁾

En la Tabla 1 se muestran la clasificación de bases. (Cuevas G. Cortes, F. 2003).

Denominación	Características
Base mínima (MBS)	Contiene exactamente el número necesario de funciones para representar los orbitales atómicos de los átomos en las moléculas (p. ej., 1 para el H, 5 para C, O, etc.).
Base Doble Zeta (DZ)	Contiene exactamente dos veces el número de funciones de la MBS (para el H, por ej., contiene dos funciones 1s).
Base "Split-Valence" (DZV)	Es una MBS para los electrones de <i>core</i> de un átomo y DZ para los electrones de la capa de valencia (p. ej., para el carbono tendrá una única función contraída para representar el orbital 1s y dos contraídas para representar cada uno de los orbitales 2s y 2p).
Base Extendida	Contiene cualquier número mayor que dos de funciones para cada orbital atómico. Los ejemplos incluyen la Triple Zeta (TZ) y la Cuádruple Zeta (QZ).
Base DZ con Polarización (DPZ)	Incluye una base DZ para los orbitales atómicos de <i>core</i> y de valencia e incluye funciones de polarización, es decir, funciones que no están ocupadas en el estado fundamental del átomo considerado, pero que permiten la polarización de la densidad electrónica hacia las zonas del enlace en la molécula. Estas funciones tienen momento angular superior en uno a la última función de la capa de valencias (funciones 2p para el H, 3d para los elementos de la primera fila, etc.).
Bases con funciones difusas	Estas bases están construidas como las bases normales, pero incluyen funciones con el mismo número angular que las ocupadas, solo que con exponentes varias veces más pequeños que los necesarios para representar el átomo neutro. Estas funciones son llamadas difusas por que se extienden a zonas lejanas al núcleo. Sirven para representar la densidad electrónica en aniones, complejos débiles y estados excitados de moléculas.
STO-NG	Son MBS con N gaussianas en combinaciones fijas para cada una de las funciones de la base. En desuso (p. ej.: STO-3G)
3-21G,6-31G	Son DZV con tres o seis funciones primitivas en cada una de las funciones de la MBS que describen el <i>core</i> de los átomos y dos o tres primitivas en la primera de las dos contraídas de la DZ de valencia.
3-21G*, 3-21G(*), 6-31G*,6-31G(d),	Igual que la anterior pero incluyendo funciones de la polarización en los átomos de la primera fila (pero no en los hidrógenos) cuando el asterisco esta sin paréntesis o aparece como (d). El asterisco entre paréntesis indica que se usan funciones de polarización desde el Na hacia arriba.
6-31G**,6-31G(d,p), 6-31G(2d,2p)	Igual que la anterior, pero incluyendo también funciones de polarización en los hidrógenos (segundo asterisco). Cuando se incluyen varias funciones de polarización (en lugar de solo una) se indica como (nd,mp) con n y m el número de funciones de polarización <i>d</i> y <i>p</i> .
6-311++G(3df,3pd)	Indica MBS de seis componentes para el <i>core</i> , tres funciones contraídas a partir de cinco primitivas para cada numero angular en la capa de valencia, funciones difusas sp en los átomos de la primera fila (el primer +), funciones difusas en los H (segundo +), tres funciones de polarización d y una f en los átomos de la primera fila y tres funciones de polarización p y una d en los hidrógenos.

Tabla 1. Clasificación de bases.

2.5 Métodos Semiempíricos.

Los métodos semiempíricos están basados en los métodos Hartree-Fock. El costo computacional de realizar un cálculo HF crece con el número de funciones de base (X_s) a la cuarta potencia. Los métodos semiempíricos, por el contrario, minimizan este costo al reducir el número de integrales a calcular, ya que se introducen algunas simplificaciones como:

1. Considerar solo los electrones de valencia y no los de capas internas o *core*. Esto se logra al tomar en cuenta una carga nuclear menor o utilizar funciones que atiendan a los núcleos y electrones de *core* como una entidad, llamada potencial interno. Hay aproximaciones que solo consideran a los electrones π .
2. Se utilizan solo conjuntos de base mínima, así como el número mínimo de funciones necesarias, para representar a los electrones. Los átomos de hidrógeno tienen una función de base, mientras los átomos en la 2ª y 3ª filas de la tabla periódica poseen cuatro (unas s y un conjunto de orbitales (p_x, p_y y p_z)).
3. Se realizan aproximaciones para simplificar el número de integrales de traslape y de repulsión interelectrónica por resolver.

A causa de las dificultades en la aplicación de los métodos *ab initio* a moléculas medianas y grandes, se han desarrollado métodos semiempíricos para el tratamiento de estas moléculas. (Thiel, W. 1996) y (Stewart, J.J.P. 1990).

Los métodos MINDO, AM1 y PM3 están basados en la aproximación de Dewar y, por lo mismo, son llamados métodos de tipo Dewar. Los métodos de tipo Dewar solo tratan a los electrones de valencia y utilizan un conjunto de base mínima tipo Slater para los orbitales atómicos con el fin de expandir los orbitales moleculares.

Uno de los métodos del tipo Dewar es MINDO/3 que fue parametrizado para compuestos con C, H, O, N, B, F, Cl, Si, P y S. Este método se basa en aproximaciones hechas a las integrales en el método INDO. En cuanto a los elementos diferentes al C, H, O y N, las predicciones teóricas tienen los errores promedios siguientes: 11kcal/mol para los calores de formación, de 0.022Å para las longitudes de enlace, de 5.6° para los ángulos de enlace, de 0.49D para los momentos dipolares y de 0.7eV para las energías de ionización.

Otro de los métodos del tipo Dewar es el AM (Modelo Austin, nombrado a sí en honor a la Universidad de Texas en Austin). Este método está parametrizado para H, B, Al, C, Si, Ge, Sn, N, P, O, S, F, Cl, Br, I, Zn y Hg y toma el factor f_{AB} del método MINDO y lo corrige con otros parámetros. (Dewar, M.J.J. 1989).

Finalmente, el método PM3 (método paramétrico número 3) toma algunas integrales como parámetros a optimizar y utiliza funciones gaussianas como orbitales atómicos. Este método está optimizado para los átomos H, C, Si, Ge, Sn, Pb, N, P, As, Sb, Bi, O, S, Se, Te, F, Cl, Br, I, Al, Ga, In, Tl, Be, Mg, Zn, Cd, y Hg. (Stewart, J.J.P. 1989).

2.6 Métodos Post Hartree-Fock.

La energía calculada por el método de Hartree-Fock (HF) tiene un error típico de 0.5% para átomos ligeros. En términos absolutos puede considerarse un error pequeño pero en términos químicos resulta importante.

El método Hartree-Fock toma en cuenta las interacciones entre los electrones solo de manera promedio, cuando en realidad se deben considerar las interacciones instantáneas entre los electrones. Dado que los electrones se repelen entre sí, tienden a mantenerse alejados unos a otros. Por ejemplo, en el helio, si un electrón se acerca al núcleo en un instante, es energéticamente más favorable para el otro electrón estar lejos del núcleo en ese mismo instante, por lo que se habla de un agujero coulombico alrededor de cada electrón en un átomo, que es una región cuya probabilidad de encontrar otro electrón es pequeña, por lo tanto los movimientos electrónicos están correlacionados unos a otros. A este fenómeno se le denomina correlación electrónica.

En el método HF se puede encontrar una cierta correlación electrónica instantánea cuando la función de onda HF satisface la antisimetría requerida en el principio de exclusión de Pauli, ya que esta función es cero cuando dos electrones con el mismo espín tienen las mismas coordenadas. Para la función HF existe una pequeña probabilidad de encontrar dos electrones con el mismo espín en la misma región del espacio. Este hecho se conoce como agujero de Fermi.

La energía asociada a la correlación electrónica se denomina energía de correlación y se define como la diferencia entre la energía real del sistema y la energía resultado de un cálculo HF. (Szabo, A. et. al. 1986).

$$E_{exacta} = E_{Hartree-Fock} + E_{correlación} \quad (\text{Ecuación 6})$$

Cuando se considera la correlación electrónica (como se muestra en la ecuación 6) dentro de un cálculo se habla de métodos post-Hartree-Fock.

2.7 Aspectos fundamentales de la teoría de funcionales de la densidad.

El método de funcionales de la densidad no intenta calcular la función de onda molecular, si no que calcula la densidad de probabilidad electrónica molecular ρ y calcula la energía electrónica molecular a partir de ρ . (Levine, I. 2008).

En 1964 Hohenberg y Kohn probaron un teorema que establecería que para moléculas con estados basales no degenerados, la energía del estado basal, la función de onda y las demás propiedades electrónicas son determinadas únicamente por la densidad electrónica de ese estado $\rho_0(x, y, z)$, por lo que se puede decir que la energía del estado basal E_0 es funcional (función de una función) de la densidad electrónica $E_0 = E_0[\rho_0]$.

Hohenberg y Kohn demostraron que la probabilidad de densidad electrónica determina tanto el potencial externo como el número de electrones y, por tanto, la función de onda y la energía molecular. De esta manera, se puede decir que la densidad electrónica contiene toda la información necesaria para describir el sistema.

El hamiltoniano puramente electrónico es la suma de la energía cinética, el potencial debido a la atracción entre el núcleo, los electrones y el potencial debido a la repulsión entre los electrones. Así se puede escribir: $E = \bar{T} + \bar{V}ne + \bar{V}ee$. Cuando se introduce el teorema de Hohenberg y Kohn, se encuentra que todos estos términos son dependientes de la densidad, por lo que se llega a la ecuación 7.

$$E_0 = E_v[\rho_0] = \bar{T}[\rho_0]\bar{V}ne[\rho_0]\bar{V}ee[\rho_0] \quad (\text{Ecuación 7})$$

Otro teorema propuesto por Hohenberg y Kohn establece que se puede encontrar la energía molecular empleando el método variacional mediante la expresión (Ecuación 8):

$$\bar{T}[\rho] + \bar{V}ee[\rho] + \int \rho v(r)dr \geq E_v[\rho_0] \quad (\text{Ecuación 8})$$

y en principio se puede calcular la energía sin que se requiera un cálculo de la función de onda, sin embargo, el teorema aquí analizado no indica como calcular E_0 a partir solamente de ρ_0 , cuando se conoce el funcional $E[\rho]$. Con la finalidad de resolver este problema, Kohn y Sham propusieron un método práctico para encontrar la densidad ρ_0 y a partir de ella, la energía E_0 .

Este método en principio permite obtener resultados exactos, pero en realidad solo arroja resultados aproximados, ya que opera con funcionales que son desconocidas. (Cuevas G. Cortes, F. 2003).

2.8 Optimización geométrica molecular.

Dos de las propiedades moleculares que se obtienen directamente de un cálculo son la energía y la geometría. Por lo general, un cálculo se inicia con una geometría de partida, construida con base en datos geométricos disponibles (tablas de longitudes de enlace o datos conseguidos a partir de determinaciones estructurales como la difracción de rayos X o de neutrones) e intuición química. Esta geometría de partida se optimiza de tal manera que se encuentra un punto estacionario en la superficie de energía potencial. (Levine, I. 2008).

2.9 Huellas digitales de la interacción proteína ligando por sus siglas en inglés (PLIF).

Las huellas digitales de la interacción proteína ligando (PLIF) son un método para resumir las interacciones entre ligandos y proteínas utilizando un esquema de huellas dactilares. Interacciones tales como enlaces de hidrógeno, interacciones iónicas y contactos superficiales se clasifican de acuerdo con el residuo de origen, y se instalan en un esquema de huella digital que es representativa de una base de datos dada de los complejos proteína-ligando. (MOE 2009).

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

En la Tabla 2 se muestran las claves de las moléculas esteroideas utilizadas para este trabajo.

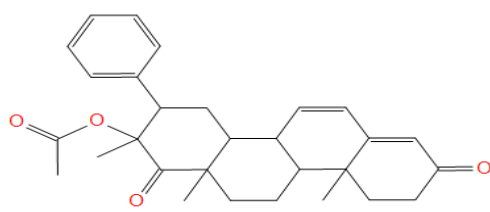
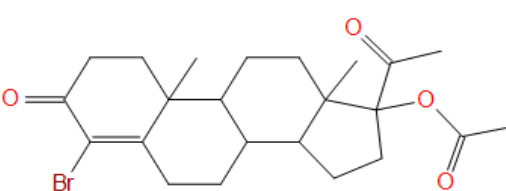
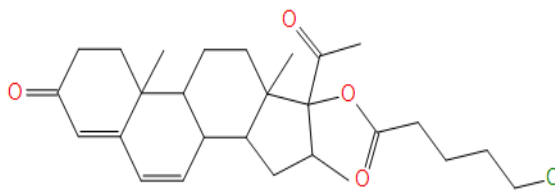
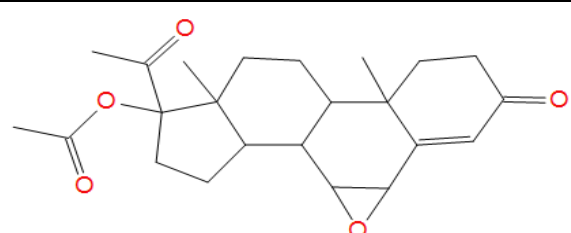
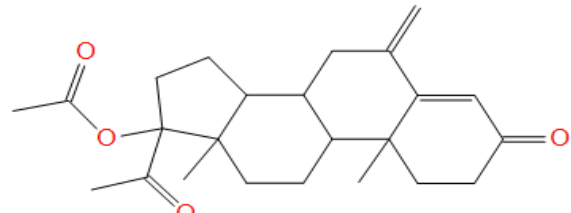
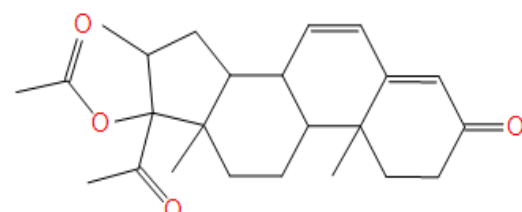
No.de esteroide.	Clave.	Estructura (2D)
Esteroido 1	Esteroido 6	
Esteroido 2	Esteroido 33	
Esteroido 3	Esteroido 44	
Esteroido 4	Esteroido 157	
Esteroido 5	Esteroido 246	
Esteroido 6	Esteroido 261	

Tabla 2. Tabla de claves.

3.1 Validación.

La validación se realizó usando mecánica molecular, descargando la enzima humana andrógeno receptora variante T877A del PDB con la clave 2OZ7 y con una resolución de 1.8Å. Se usó el programa MOE por sus siglas en inglés (Molecular Operating Environment) instalado en una computadora MacPro Quad-Core Intel Xenon para manipular la enzima y realizar los cálculos.

Una vez descargada la enzima en el programa MOE se removió el ligando acetato de ciproterona de la enzima receptora, posteriormente se realizó un análisis conformacional tipo estocástico usando el campo de fuerza MMFF94x al ligando.

Con la molécula resultante del análisis conformacional se realizó un docking rígido-flexible, con el fin de encontrar las posiciones que puede adoptar nuestra molécula dentro del sitio receptor de la enzima, esto se llevó a cabo usando el método de inserción “proxy triangle”, ya que este método fue desarrollado para ligandos de mayor número de conformeros.

En estos resultados se buscó la molécula que mejor se ajustará con el acetato de ciproterona descargado del PDB, basándonos en el menor RMSD (distancia media cuadrática mínima), una vez encontrada se realizó un docking flexible-flexible, el cual nos muestra las interacciones que presentará nuestro ligando con la enzima. Posteriormente se observaron las interacciones y se sobrepusieron las dos cadenas para conocer su RMSD y comparar las interacciones de cada una.

3.2 Optimizaciones geométricas utilizando mecánica cuántica.

Las optimizaciones se realizaron en la supercomputadora Kan Balam con una versión Gaussian G03, (DGSCA, UNAM) donde se calcularon con los diferentes modelos, comenzando por los *Ab initio*: Hartree-Fock 6-31G, Hartree-Fock 6-31G* y Hartree-Fock 6-31G**.

Seguidos por los modelos de Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT): B3LYP/6-31G, B3LYP/6-31G*, B3LYP/6-31G** esto se realizó con el fin de encontrar que método de mecánica cuántica se ajusta a la geometría reportada en rayos x de la serie de esteroides.

3.3 Optimizaciones geométricas utilizando mecánica molecular.

Estas optimizaciones se realizaron diseñando los 6 esteroides los cuales se modelaron empleando el programa Gauss View 3.0 para facilitar su manejo en el programa MOE.

Posteriormente a cada esteroide se le realizó un análisis conformacional de tipo estocástico usando el campo de fuerza MMFF94x, esto con el fin de complementar nuestro estudio de reconocimiento molecular.

3.4 Optimizaciones geométricas utilizando métodos semiempíricos.

Las optimizaciones se realizaron en el programa Gaussian G03 usando los métodos semiempíricos AM1 y PM3, con el mismo fin mencionado en el punto 3.2.

3.5 Estudio de reconocimiento molecular con la enzima HAR con los esteroides optimizados con mecánica molecular.

Este estudio se realizó usando las moléculas resultantes de la optimización geométrica con mecánica molecular.

A cada molécula resultante de la optimización geométrica se le realizó un docking rígido-flexible con la enzima humana andrógeno receptora para conocer las posiciones que puede adoptar cada esteroide dentro de la enzima.

Para los 6 esteroides se usó el método de inserción “proxy tringle” en el docking rigido-flexible el cual está diseñado para moléculas de gran tamaño como por ejemplo los esteroides.

Una vez que se obtuvo el docking rígido-flexible se realizó un docking flexible-flexible para observar las posibles interacciones que pueden llegar a tener las moléculas con la enzima humana andrógeno receptora.

3.6 Huellas digitales de la interacción proteína ligando (PLIF).

Esta parte se llevo a cabo gracias al programa MOE y se realizó con el fin de facilitar la explicación de las interacciones resultantes de los esteroides con la enzima humana andrógena receptora.

3.7 Sobreposicionamientos.

Estos se llevaron a cabo usando el programa MOE y utilizando las moléculas resultantes de las optimizaciones geométricas tanto mecánicos cuánticos, métodos semiempíricos y mecánico moleculares. Cada una de estas se sobreposicionó con las obtenidas en rayos x con el fin de conocer cual tiene menor error en cuanto al acomodo espacial.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.

4.1 Resultados de la validación usando mecánica molecular.

En la Imagen 2 se muestra el ligando CPA contenido en la contenido en la enzima humano andrógena receptora obtenida en el PDB.

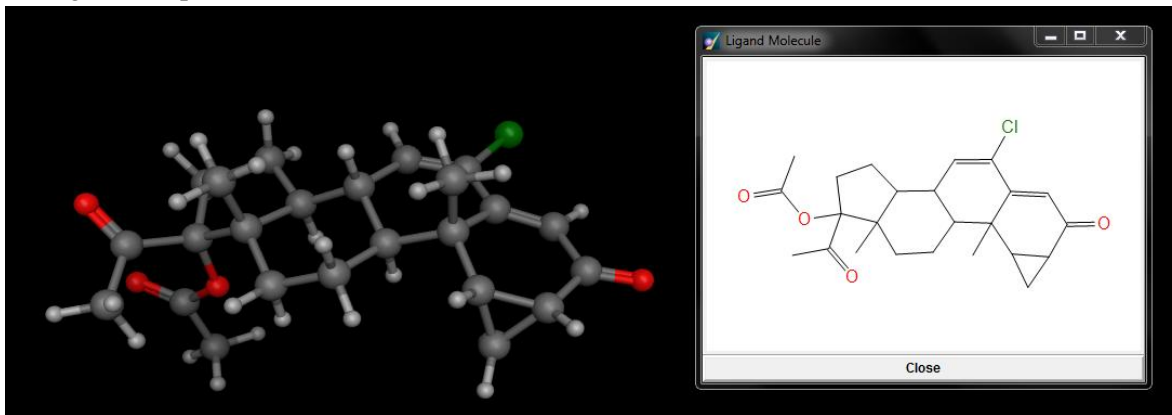


Imagen 2. Acetato de Ciproterona.

A este ligando se le realizó el análisis estocástico el cual arrojó los resultados mostrados en la tabla 3. Para el estudio de docking de la validación se empleó la conformación que mostrara un dE de cero, lo cual indica que es el conformero de menor energía.

	mol	mseq	E	dE
1	20Z7	1	96.2814	0.0000
2	20Z7	1	96.3194	0.0380
3	20Z7	1	103.0651	6.7837

Tabla 3. Energías del análisis estocástico.

Con la molécula 1 se realizó un docking rígido-flexible para encontrar las posiciones que puede adoptar dentro de la enzima, se utilizó el método de acomodo proxy triangle ya que fue diseñado para moléculas de mayor tamaño en un espacio físico reducido.

En los resultados del docking rígido-flexible se obtuvieron 30 posiciones posibles en donde se observó que la posición 2 presentó un acomodo espacial cercano al acetato de ciproterona inicial y por lo tanto un menor RMSD.

	mol	mseq	S	rmsd_refine	E_conf
2	20Z7	1	-12.7883	1.5219	94.2245

Tabla 4. Energía de la molécula 2.

Como se muestra en la Imagen 3 la molécula gris es la CPA descargada de PDB y la molécula blanca es la resultante del docking rígido-flexible, como se observan las dos moléculas tienen gran similitud espacial y el RMSD calculado fue de 0.096002 en la superposición, recordando que el RMSD indica una similitud o desviación de los conjuntos de coordenadas atómicas y significa una distancia media cuadrática mínima.

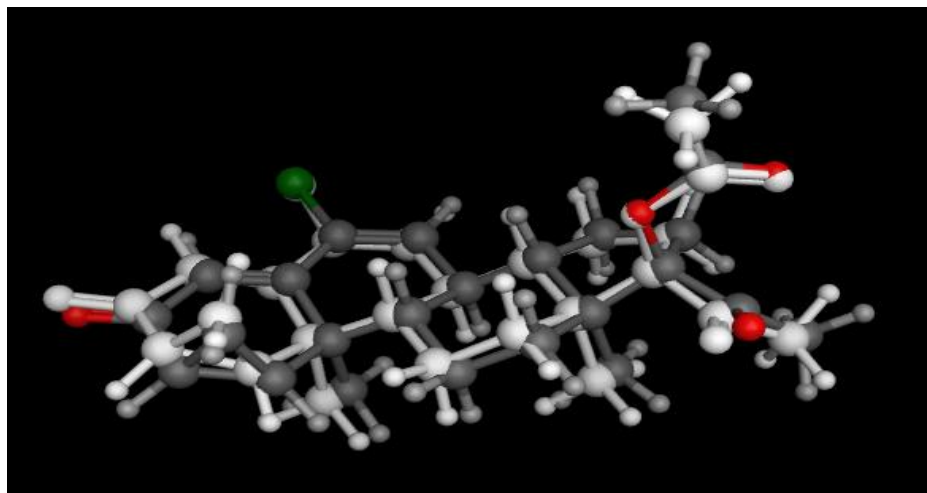


Imagen 3. Sobreposición del molécula 2 con el CPA.

Con base al resultado anterior se utilizó la posición 2 y se realizó un docking flexible-flexible con el fin de mostrarnos las posibles interacciones que puede llegar a tener con la enzima HAR, una vez terminado el cálculo se analizaron las interacciones que tenía la posición 2 con la enzima HAR y se comparó con la estructura descargada del PDB.

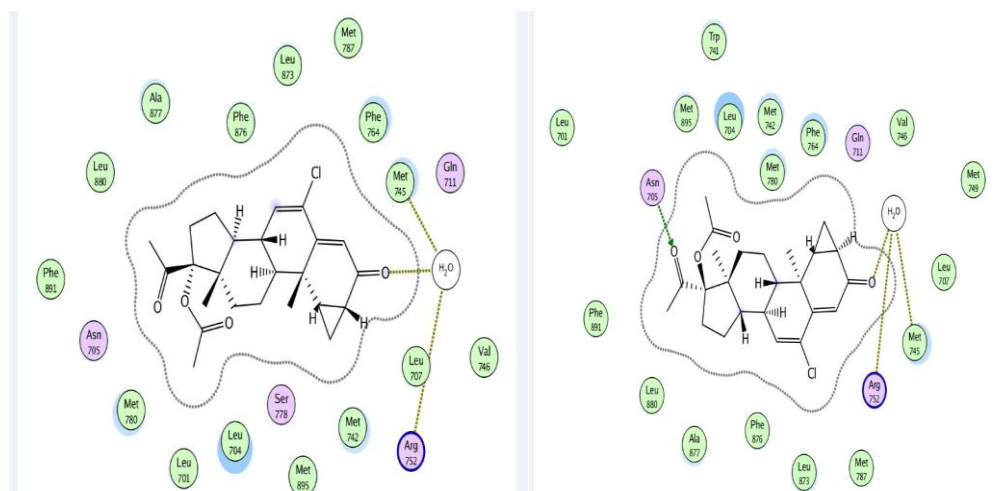


Imagen 4. Comparación entre la enzima descargada del PDB (izquierda) y la validación (derecha).

Comparando las interacciones del ligando (CPA) con la enzima HAR se observan que tienen la misma interacción metionina (grasa) (MET 745) y arginina (base) (ARG 752) por medio de un puente de H₂O incluso una nueva asparagina (ASN 705) esta nueva se observó al reproducir el método de validación.

Una vez que se tienen las dos enzimas se realizó una sobreposición de las dos para conocer su diferencia estructural (RMSD) que tiene una con respecto a otra.

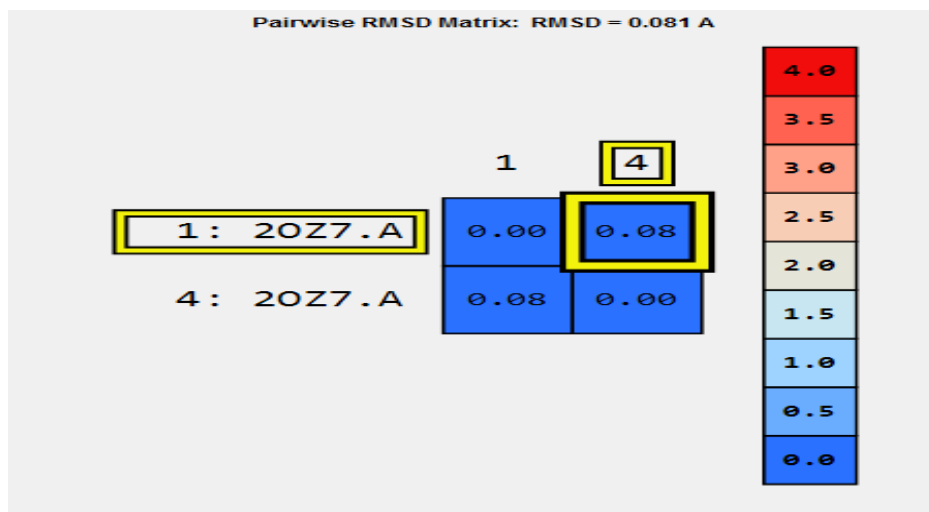


Imagen 5. RMSD de la validación. El rótulo 1 corresponde a la enzima descargada del PDB y el rótulo 4 pertenece al docking flexible-flexible con la posición 2.

Una vez realizada la metodología antes descrita y al analizar nuestros valores de RMSD podemos decir que la diferencia entre moléculas no es significativa en cuanto a nuestra validación y se puede llevar a cabo el estudio con la serie de esteroides siguiendo este protocolo de reconocimiento molecular.

Además se encontró una nueva interacción en nuestra validación lo cual demuestra que docking rígido-flexible tiene como fin encontrar las posiciones más favorables dentro de la enzima basándose en la energía.

4.2 Optimización geométrica utilizando mecánica cuántica.

Una vez que se diseñaron los esteroides con ayuda del programa gaussview 3.0, se realizaron los cálculos en la supercomputadora Kan Balam, (DGSCA, UNAM) usando los métodos *ab initio* y DFT usando para ambos los niveles de teoría 6-31G, 6-31G* y 6-31G**.

A continuación se mostraran algunas de las geometrías (comparaciones) que se obtuvieron usando los métodos antes ya mencionados.

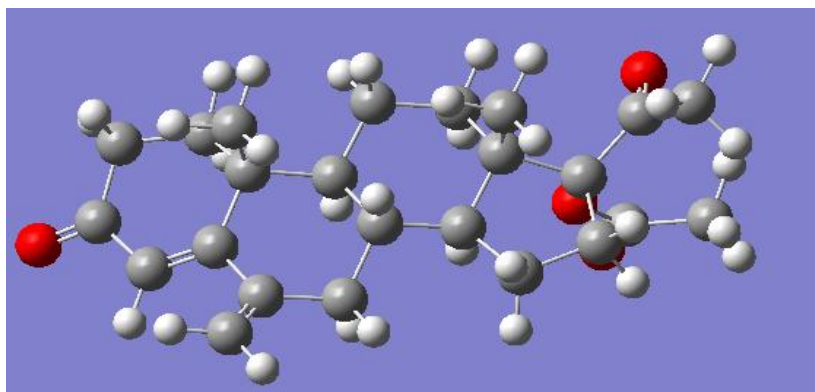


Imagen 12. Geometría del esteroide 246 con HF/6-31G.

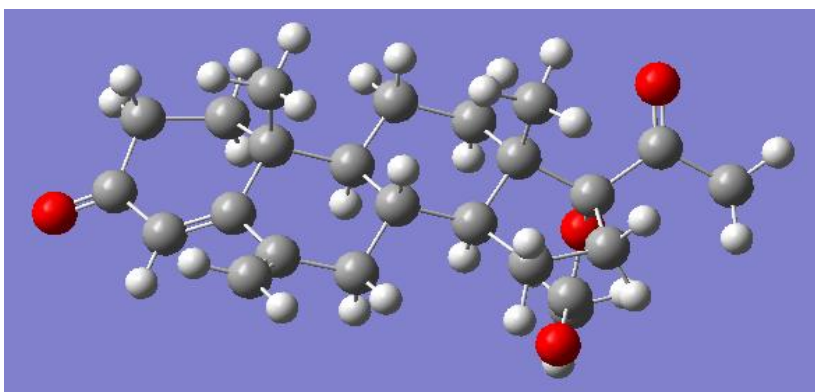


Imagen 13. Geometría del esteroide 246 con HF/6-31G*.

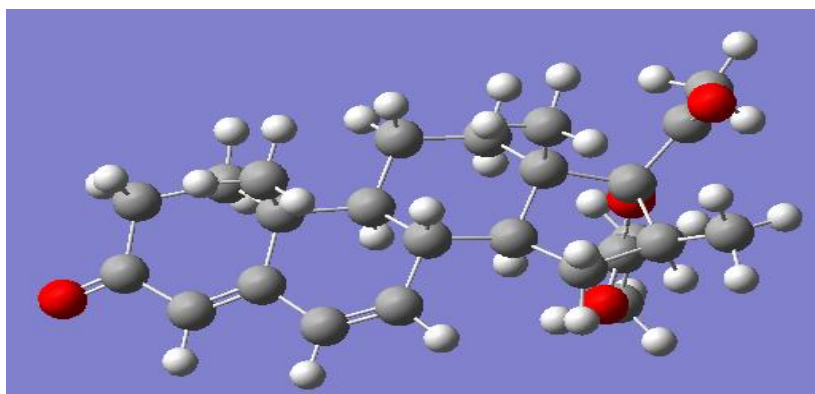


Imagen 14. Geometría del esteroide 261 con HF/6-31G**.

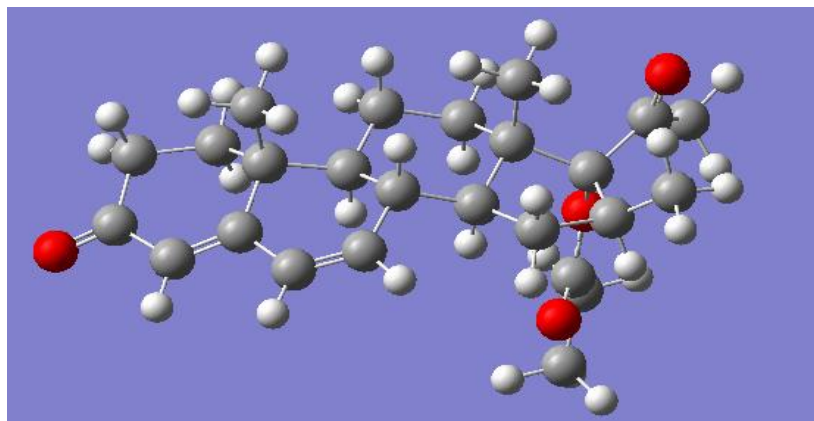


Imagen 15. Geometría del esteroide 261 con B3LyP/6-31G.

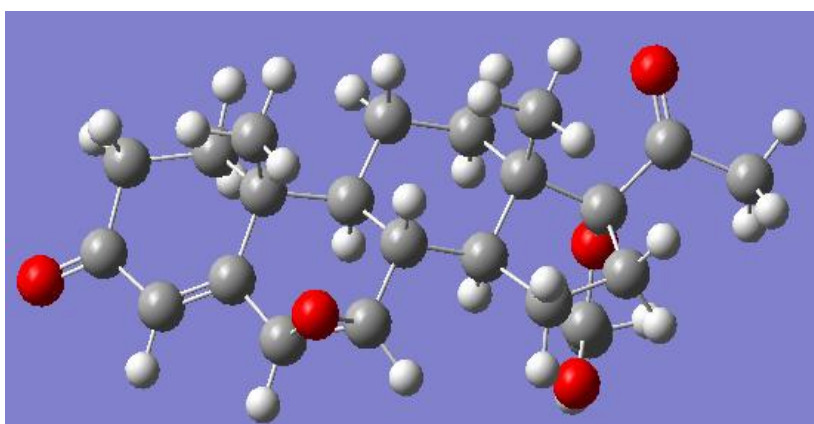


Imagen 16. Geometría del esteroide 157 con B3LyP/6-31G*.

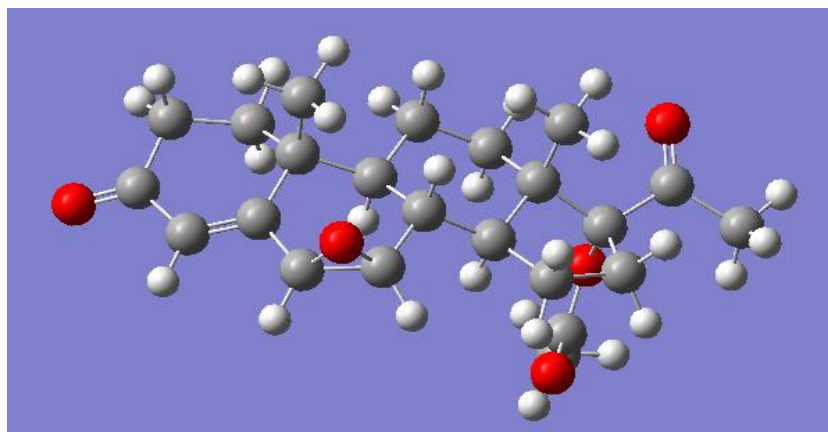


Imagen 17. Geometría del esteroide 157 con B3LyP/6-31G**.

Así mismo también se obtuvo la energía electrónica de cada una de las optimizaciones realizadas como se muestra a continuación en la Tabla 5a y 5b:

Esteroides	HF/6-31G	HF/6-31G*	HF/6-31G**
6	-38553.9890	-38570.6369	-38572.1172
33	-102253.2073	-102270.9056	-102272.2227
44	-49043.7765	-49060.0979	-49061.6761
157	-34344.8808	-34360.3804	-34361.6675
246	-33371.3413	-33386.1797	-33387.5539
261	-34433.4730	-34448.3603	-34449.8216

Tabla 5a. Energías (las unidades están dadas en eV).

Esteroides	B3LYP/6-31G	B3LYP/6-31G*	B3LYP/6-31G**
6	-38805.4359	-38815.9177	-38817.2647
33	-102512.5728	-102525.3132	-102526.5132
44	-49303.2018	-49313.7625	-49315.1993
157	-34564.7407	-34574.5641	-34575.7341
246	-33588.7740	-33598.0863	-33599.3375
261	-35197.8439	-34667.9726	-34669.3033

Tabla 5b. Energías (las unidades están dadas en eV) (Continuación).

Podemos concluir que nuestras optimizaciones geométricas se llevaron a cabo satisfactoriamente ya que todas las estructuras presentaron frecuencias positivas, ya que para verificar que se ha encontrado un verdadero mínimo las frecuencias vibracionales deben ser reales. Además se encontró que el mejor método para describir la serie de esteroides fue el B3LYP/6-31G** ya que en comparación con los demás este presentó las geometrías más estables al obtener los mínimos de energía electrónica.

Posteriormente estas geometrías serán usadas más adelante con el propósito de llevar a cabo las sobreposiciones con las estructuras de rayos x de los esteroides y llevar a comparar entre los diferentes métodos para saber cuál geometría tiene menor RMS con respecto a la estructura experimental.

4.3 Optimizaciones geométricas empleando mecánica molecular.

Estas optimizaciones se llevaron a cabo en el programa MOE y se realizaron de la siguiente forma; para cada esteroide se le realizó un análisis conformacional de tipo estocástico con los parámetros que se muestran en la imagen 18.

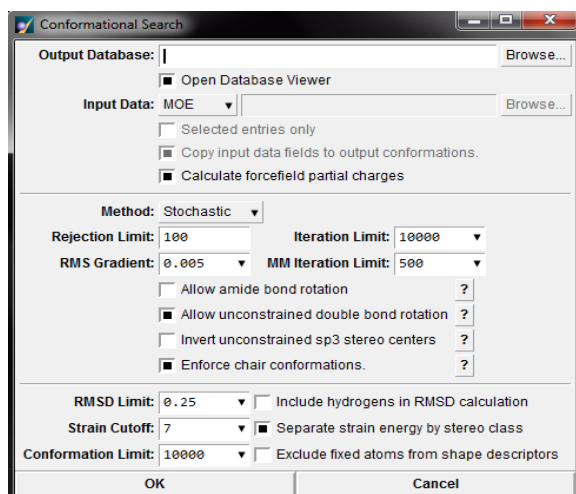


Imagen 18. Parámetros del análisis conformacional.

Esto se realizó con el fin de encontrar posiciones aleatorias basándose en la energía electrónica mínima de cada posición encontrada, se usó un campo de fuerza MMFF94x. Como ejemplo se mostrarán los resultados del análisis conformacional del esteroide número 6, en la Tabla 6.

	mol	mseq	E	dE
1	Molecule Name	1	108.5984	0.0000
2	Molecule Name	1	113.6726	5.0742
3	Molecule Name	1	115.4051	6.8067

Tabla 6. Energía resultante de la optimización geométrica del esteroide 6.

La geometría que se obtuvo del análisis conformacional se muestra en la Imagen 18:

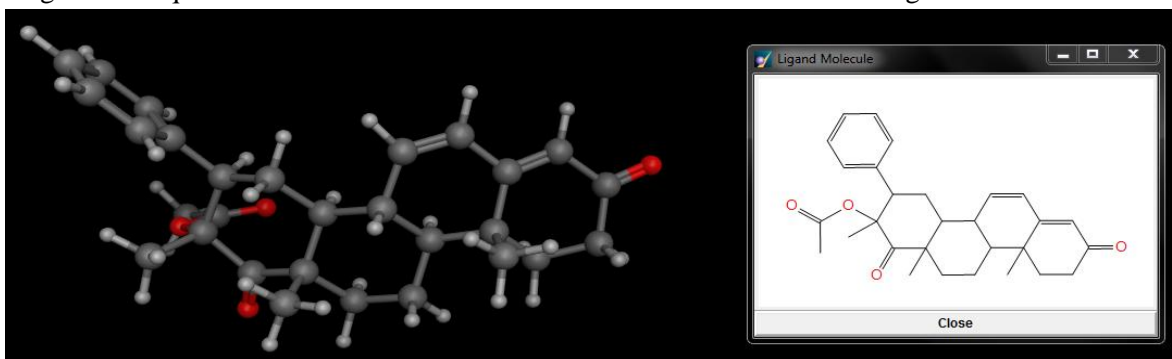


Imagen 19. Geometría molecular del esteroide 6 usando Mecánica molecular.

Al realizar la optimización geométrica usando mecánica molecular de los esteroides se encontraron las geometrías más estables o de menor energía electrónica. Estas geometrías se usarán más adelante al realizar las sobreposiciones con las estructuras de los esteroides en rayos X y posteriormente los resultados de estas se compararán con las obtenidas de mecánica cuántica.

Además se corroboró que el tiempo de cómputo usando mecánica molecular es mucho menor en comparación con el tiempo que se tardaron las optimizaciones geométricas usando mecánica cuántica.

4.4 Optimizaciones geométricas empleando métodos semiempíricos.

Los esteroides se modelaron con la ayuda del programa Gauss View 3.0, una vez diseñados se realizó la optimización geométrica usando los métodos semiempíricos AM1 y PM3 con ayuda del programa Gaussian G03.

A continuación se mostraran algunos de los resultados de la optimización geométrica al usar los métodos semiempíricos.

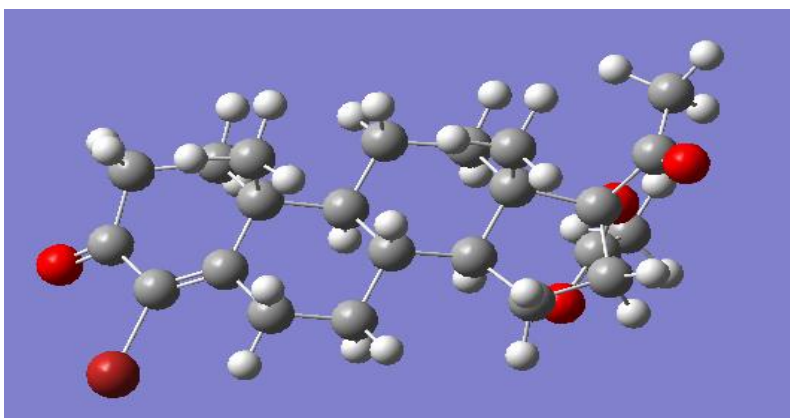


Imagen 20. Geometría del esteroide 33 con AM1.

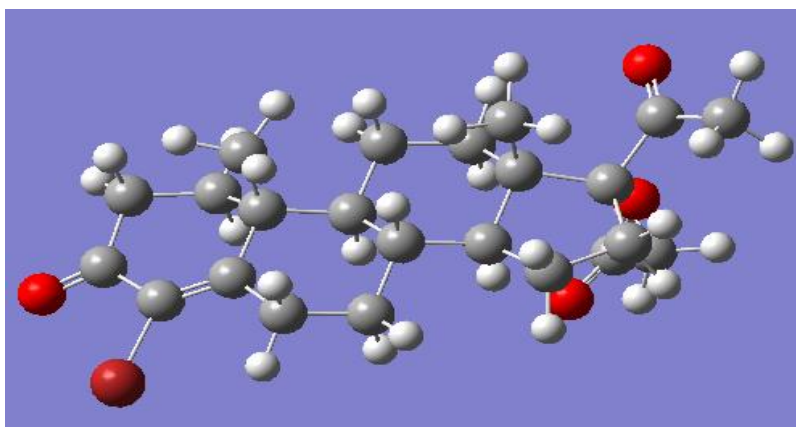


Imagen 21. Geometría del esteroide 33 con PM3.

Al realizar las optimizaciones geométricas empleando los métodos semiempíricos se encontró que los modelos AM1 Y PM3 no pueden describir de manera confiable los esteroides ya que presentaron frecuencias negativas (no reales) con lo que podemos concluir que las geometrías obtenidas no tienen el mínimo de energía electrónico. Así que a estas geometrías no se les realizara a sobreposición con las estructuras de los esteroides de rayos X.

PRO	Prolina
ILE	Isoleucina
PHE	Fenilalamina
LEU	Leucina
ASN	Asparagina
VAL	Valina
GLU	Glutamato
ALA	Alanina
GLY	Glicina
CYS	Cisteina

HIS	Histidina
ASP	Aspartato
GLN	Glutamina
SER	Serina
ARG	Arginina
LYS	Lisina
MET	Metionina
THR	Treonina
TYR	Tirosina
TRP	Triptofano

Tabla 7. Abreviaturas de Aminoácidos.

Dockings flexible-flexible del esteroide 6.

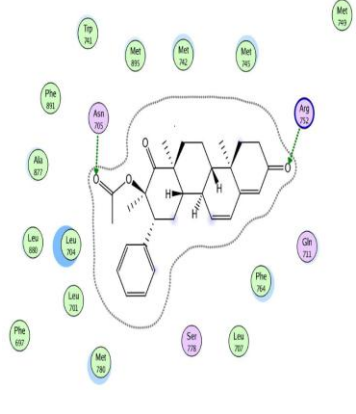
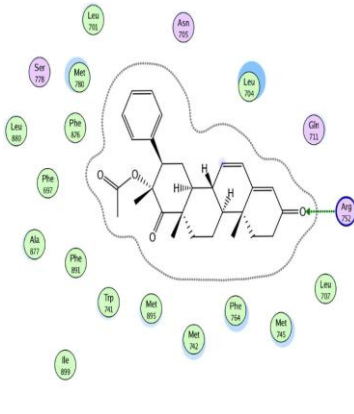
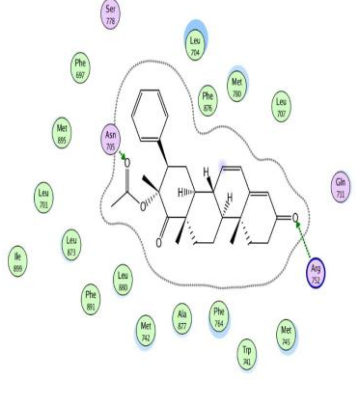
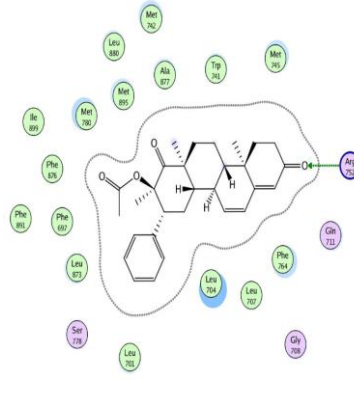
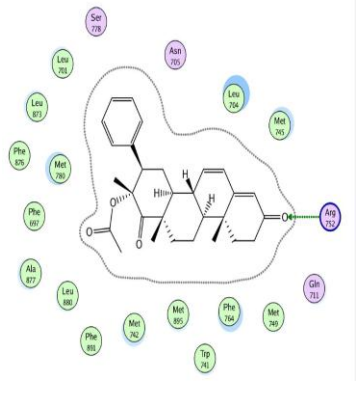
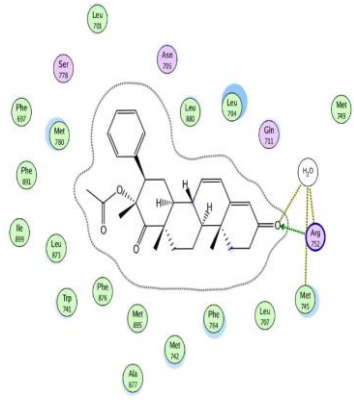
<p>Molécula 6 Docking FF 1.</p> <p>Interacción: *Arg donador (base). *Asp donador (polar).</p>		<p>Molécula 6 Docking FF 7.</p> <p>Interacción: *Arg donador (base).</p>	
<p>Molécula 6 Docking FF 2.</p> <p>Interacción: *Arg donador (base). *Asp donador (polar).</p>		<p>Molécula 6 Docking FF 8.</p> <p>Interacción: *Arg donador (base).</p>	
<p>Molécula 6 Docking FF 5.</p> <p>Interacción: *Arg donador (base).</p>		<p>Molécula 6 Docking FF 10.</p> <p>Interacción: *Arg donador (base). *Punto de hidrogeno Met (grasa) y Arg (base).</p>	

Tabla 8. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 6.

<p>Molécula 6 Docking FF 12.</p> <p>Interacción: *Arg donador (base).</p>		<p>Molécula 6 Docking FF 15.</p> <p>Interacción: *Arg donador (base).</p>	
---	--	---	--

Tabla8. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 6 (Continuación).

Como se observó en los dockings flexible-flexible del esteroide 6 la interacción de la arginina básica (Arg 752) es la que más se repite, con esto podemos concluir que es poco probable que el esteroide 6 presente la misma actividad biológica que el CPA ya que solo muestra una de las interacciones que tiene este.

Dockings flexible-flexible del esteroide 33.

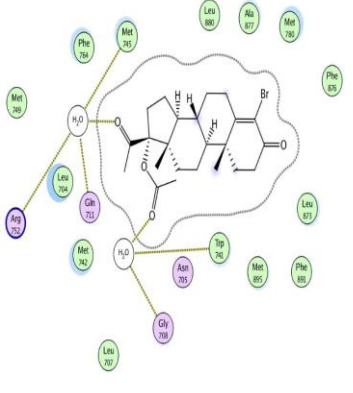
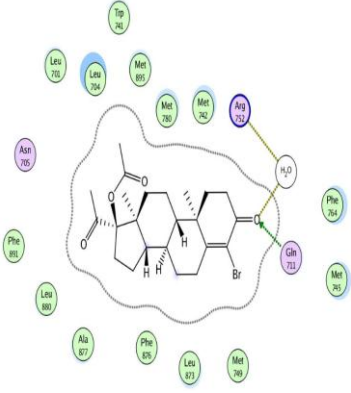
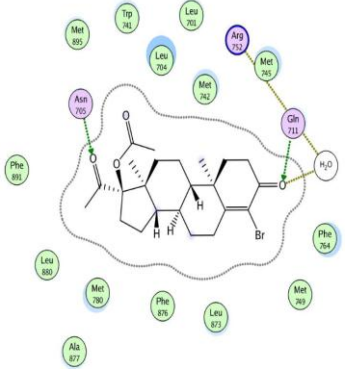
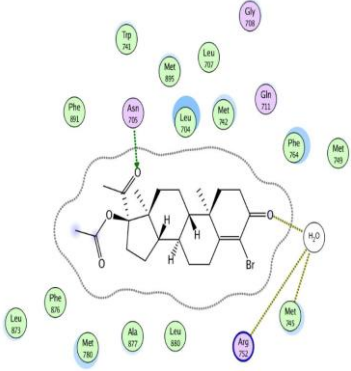
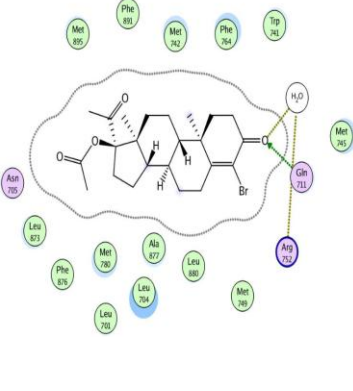
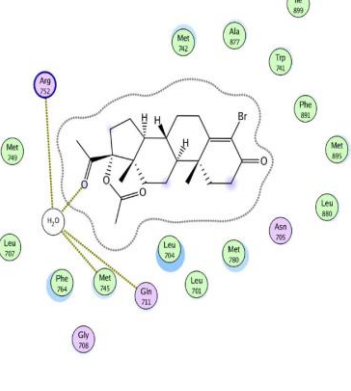
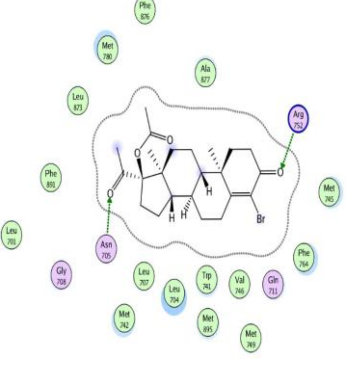
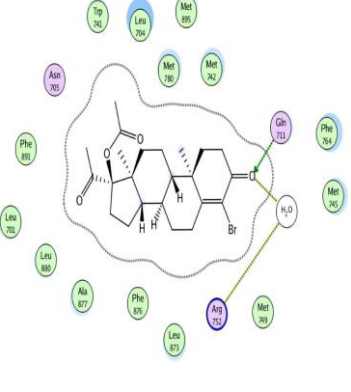
<p>Molécula 33 Docking FF 1.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Met (grasa), Arg (base) y Gln (polar). *Puede de hidrogeno Trp (grasa) y Gly (polar).</p>		<p>Molécula 33 Docking FF 10.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Gln donador (polar).</p>	
<p>Molécula 33 Docking FF 3.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base) y Gln (polar). *Gln donador (polar). *Asn donador (polar)</p>		<p>Molécula 33 Docking FF 12.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Asn donador (polar).</p>	
<p>Molécula 33 Docking FF 7.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Gln donador (polar).</p>		<p>Molécula 33 Docking FF 18.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base), Met (grasa) y Gln (polar).</p>	
<p>Molécula 33 Docking FF 9.</p> <p>Interacción: *Arg donador (base). *Asn doandor (polar).</p>		<p>Molécula 33 Docking FF 20.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base) *Gln donador (polar).</p>	

Tabla 9. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 33

<p>Molécula 33 Docking FF 21.</p> <p>Interacción: *Punto de hidrogeno Arg (base), Met (polar) y Gln (polar). *Gln donador (polar).</p>		<p>Molécula 33 Docking FF 25.</p> <p>Interacción: *Punto de hidrogeno Arg (base). *Gln donador (polar).</p>	
<p>Molécula 33 Docking FF 23.</p> <p>Interacción: *Punto de hidrogeno Arg (base) y Met (polar). *Gln donador (polar).</p>		<p>Molécula 33 Docking FF 26.</p> <p>Interacción: *Punto de hidrogeno Arg (base) y Gln (polar). *Gln donador (polar).</p>	
<p>Molécula 33 Docking FF 24.</p> <p>Interacción: *Punto de hidrogeno Arg (base), Met (polar) y Gln (polar). *Gln donador (polar).</p>		<p>Molécula 33 Docking FF 27.</p> <p>Interacción: *Punto de hidrogeno Arg (base) y Gln (polar).</p>	

Tabla 9. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 33 (Continuación).

Como se observa en los dockings flexible-flexible del esteroide 33 la interacción por medio de una molécula de H₂O con la arginina básica (ARG 752), e incluso en algunos casos con la metionina polar (Met 745), es la que más se repite; esto nos lleva a concluir que este esteroide puede tener una actividad biológica semejante al CPA ya que las interacciones son muy semejantes.

Dockings flexible flexible del esteroide 44.

<p>Molécula 44 Docking FF 1.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base).</p>		<p>Molécula 44 Docking FF 5.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base). *Asn donador (polar).</p>	
<p>Molécula 44 Docking FF 2.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base). *Asn donador (polar).</p>		<p>Molécula 44 Docking FF 6.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base). *Asn donador (polar).</p>	
<p>Molécula 44 Docking FF 3.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base). *Asn donador (polar).</p>		<p>Molécula 44 Docking FF 8.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Arg donador (base)</p>	
<p>Molécula 44 Docking FF 4.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base). *Asn donador (polar).</p>		<p>Molécula 44 Docking FF 11.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base)</p>	

Tabla 10. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 44.

<p>Molécula 44 Docking FF 12.</p> <p>Interacción: *Puento de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base). *Asn donador (polar).</p>		<p>Molécula 44 Docking FF 27.</p> <p>Interacción: *Puento de hidrogeno Arg (base)y Met (grasa). *Arg donador (base).</p>	
<p>Molécula 44 Docking FF 23.</p> <p>Interacción: *Puento de hidrogeno Arg (base). *Asn donador (polar).</p>		<p>Molécula 44 Docking FF 28.</p> <p>Interacción: *Puento de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base). *Asn donador (polar).</p>	
<p>Molécula 44 Docking FF 24.</p> <p>Interacción: *Puento de hidrogeno Arg (base) y Gln (polar) *Gln donador (polar).</p>		<p>Molécula 44 Docking FF 29.</p> <p>Interacción: *Puento de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Asn donador (polar).</p>	

Tabla 10. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 44 (Continuación).

Como se observó en los dockings flexible-flexible del esteroide 44 la interacción arginina básica (ARG 752) es la que más se repite esto nos lleva a una conclusión similar a las del esteroide 6 y es que probablemente este esteroide tampoco presente una actividad biológica semejante a CPA ya que no presenta interacciones similares.

Dockings flexible-flexible del esteroide 157.

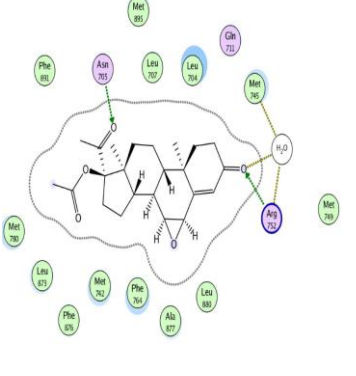
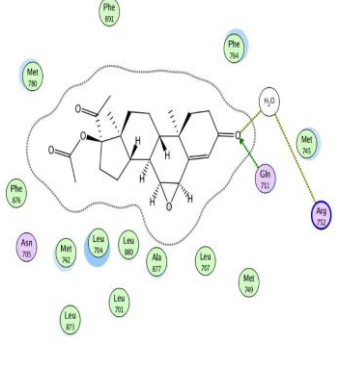
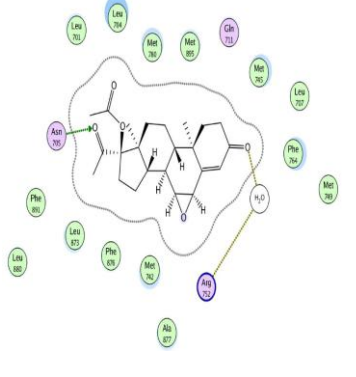
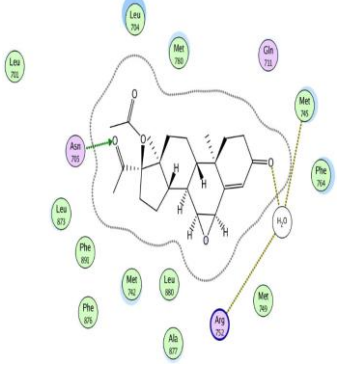
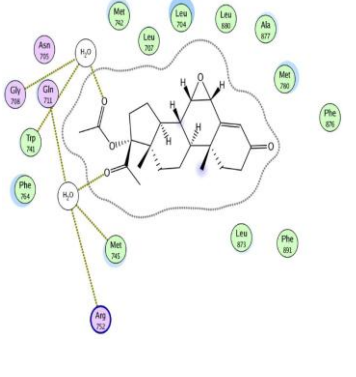
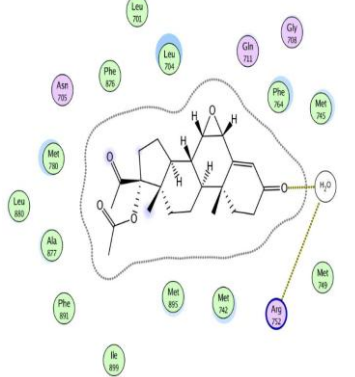
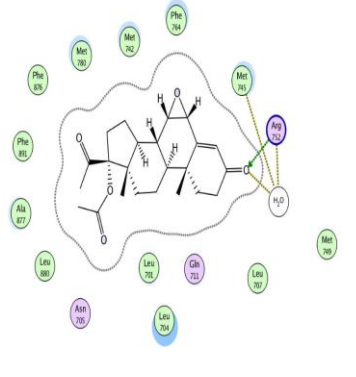
<p>Molécula 157 Docking FF 2.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Arg donador (base). *Asn donador (polar).</p>		<p>Molécula 157 Docking FF 9.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Gln donador (polar).</p>	
<p>Molécula 157 Docking FF 3.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Asn donador (polar).</p>		<p>Molécula 157 Docking FF 11.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Asn donador (polar).</p>	
<p>Molécula 157 Docking FF 5.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base), Met (grasa) y Gln (polar). *Puede de hidrogeno Gly (polar) y Trp (grasa).</p>		<p>Molécula 157 Docking FF 12.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base).</p>	
<p>Molécula 157 Docking FF 6.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Arg donador (base).</p>			

Tabla 11. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 157.

<p>Molécula 157 Docking FF 13.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Puede de hidrogeno Trp (grasa), Gly (polar) y Gln (polar).</p>		<p>Molécula 157 Docking FF 18.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Arg donador (base).</p>	
<p>Molécula 157 Docking FF 14.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Gln donador (polar).</p>		<p>Molécula 157 Docking FF 22.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base) y Gln (polar). *Gln donador (polar).</p>	
<p>Molécula 157 Docking FF 16.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Gln donador (polar).</p>		<p>Molécula 157 Docking FF 23.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Puede de hidrogeno Trp (grasa), Gly (polar) y Gln (polar).</p>	
<p>Molécula 157 Docking FF 17.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Gln donador (polar).</p>		<p>Molécula 157 Docking FF 30.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base).</p>	

Tabla 11. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 157 (Continuación).

Como se observó en los dockings flexible-flexible del esteroide 157 la interacción por medio de una molécula de H₂O con la arginina básica (ARG 752) y con la metionina polar (Met 745) es la que más se repite, esto nos lleva a pensar que este esteroide tanto como el esteroide 33 pueden tener una actividad biológica considerable ya que las interacciones son muy parecidas al del CPA.

Dockings flexible-flexible del esteroide 246.

<p>Molécula 246 Docking FF 1.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Asn donador (polar).</p>		<p>Molécula 246 Docking FF 6.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base).</p>	
<p>Molécula 246 Docking FF 2.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base). *Asn donador (polar).</p>		<p>Molécula 246 Docking FF 7.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Gln donador (polar).</p>	
<p>Molécula 246 Docking FF 4.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base).</p>		<p>Molécula 246 Docking FF 13.</p> <p>Interacción: *Puede de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Arg donador (base).</p>	

Tabla 12. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 246.

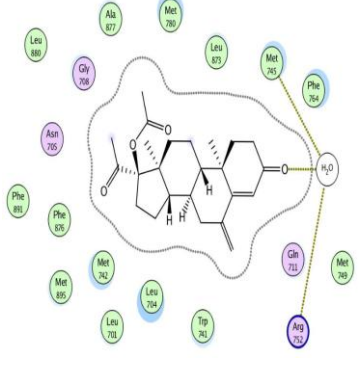
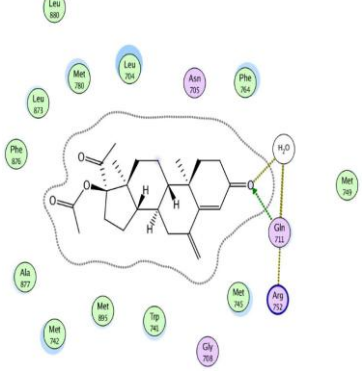
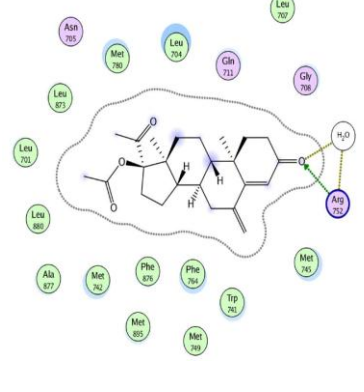
<p>Molécula 246 Docking FF 17. Interacción: *Punto de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa).</p>	 <p>The diagram shows the steroid molecule 246 docked in a protein binding pocket. A water molecule (H₂O) is positioned between the steroid's carbonyl group and the side chain of Arginine 752 (ARG 752), forming a hydrogen bond. Another hydrogen bond is shown between the steroid's hydroxyl group and the side chain of Methionine 785 (MET 785). Other residues like Leu 889, Leu 875, Met 780, Phe 784, and Glu 711 are also visible in the pocket.</p>	<p>Molécula 246 Docking FF 28. Interacción: *Punto de hidrogeno Arg (base). *Gln donador (polar).</p>	 <p>The diagram shows the steroid molecule 246 docked in a protein binding pocket. A water molecule (H₂O) is positioned between the steroid's carbonyl group and the side chain of Arginine 752 (ARG 752). Another hydrogen bond is shown between the steroid's hydroxyl group and the side chain of Glutamine 711 (GLN 711). Other residues like Leu 889, Leu 875, Met 780, Phe 784, and Met 785 are also visible in the pocket.</p>
<p>Molécula 246 Docking FF 25. Interacción: *Punto de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base).</p>	 <p>The diagram shows the steroid molecule 246 docked in a protein binding pocket. A water molecule (H₂O) is positioned between the steroid's carbonyl group and the side chain of Arginine 752 (ARG 752). Other residues like Leu 889, Leu 875, Met 780, Phe 784, and Glu 711 are also visible in the pocket.</p>		

Tabla 12. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 246 (Continuación).

Como se observo en los dockings flexible-flexible del esteroide 246 la interacción arginina basica (ARG 752) es la que más se repite esto nos lleva a una conclusión similar a la del esteroide 6 y el esteroide 44 la cual es que probablemente este esteroide es poco probable que presente una actividad biológica importante ya que no presenta interacciones similares que el CPA

Dockings flexible-flexible del esteroide 261.

<p>Molécula 261 Docking FF 1.</p> <p>Interacción: *Punto de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base). *Asn donador (polar).</p>		<p>Molécula 261 Docking FF 7.</p> <p>Interacción: *Punto de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Gln donador (polar).</p>	
<p>Molécula 261 Docking FF 4.</p> <p>Interacción: *Punto de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Gln donador (polar).</p>		<p>Molécula 261 Docking FF 8.</p> <p>Interacción: *Punto de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base).</p>	
<p>Molécula 261 Docking FF 5.</p> <p>Interacción: *Punto de hidrogeno Arg (base). *Arg donador (base).</p>		<p>Molécula 261 Docking FF 11.</p> <p>Interacción: *Punto de hidrogeno Arg (base) y Met (grasa). *Arg donador (base).</p>	

Tabla 13. Tabla de imágenes del docking flexible-flexible de la molécula 261.

4.6 Huellas digitales de la interacción proteína ligando (PLIF).

Una forma sencilla de analizar los resultados del de los dockings flexible-flexible es usando las huellas digitales de la interacción proteína ligando (PLIF) con este método se pueden observar las diferentes interacciones y cercanía relativa que tiene cada uno de nuestros dockings con aminoácidos y moléculas de agua, como se muestran a continuación:

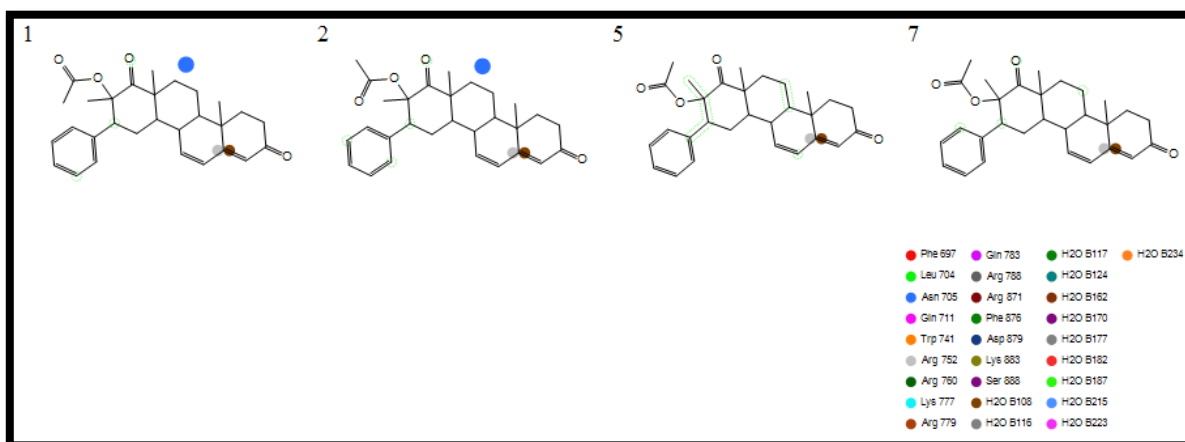


Imagen 24. PLIF de la molécula 6.

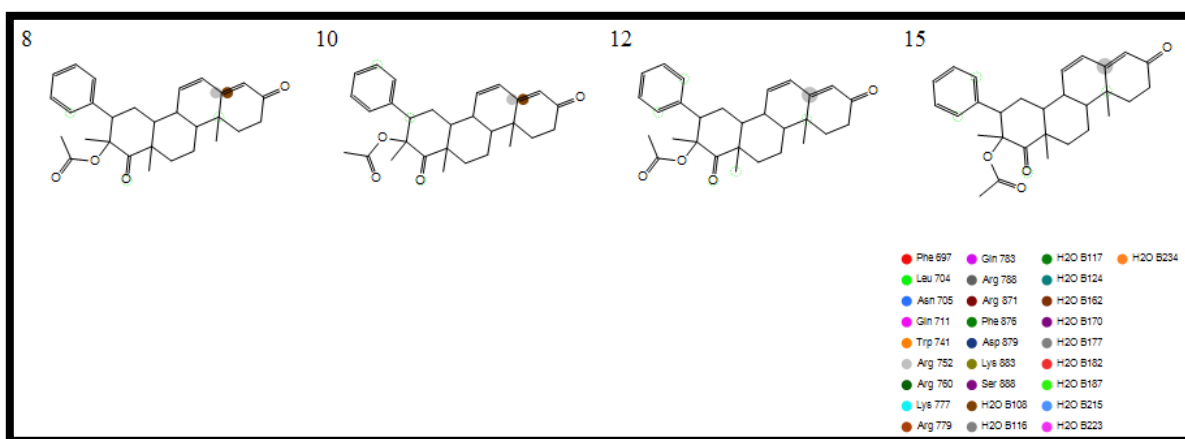


Imagen 24. PLIF de la molécula 6 (Continuación).

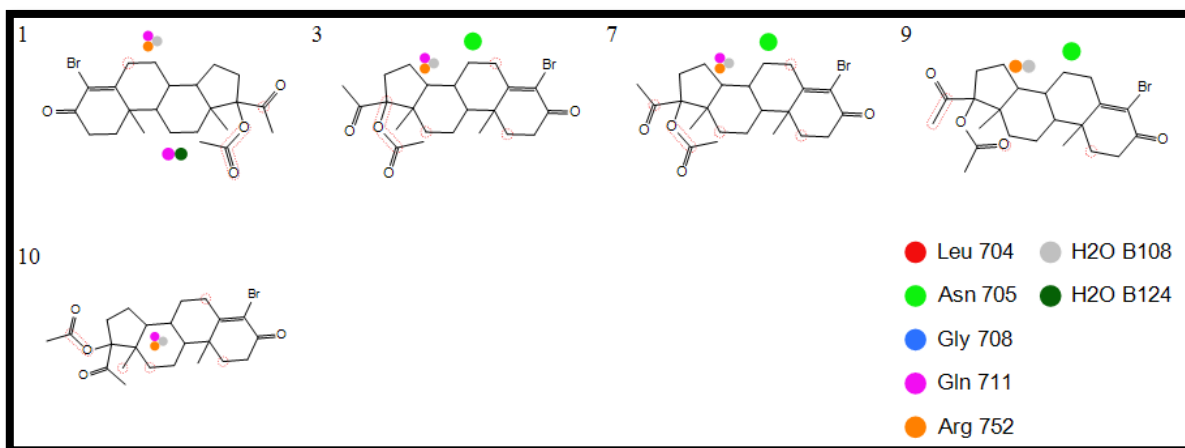


Imagen 25. PLIF de la molécula 33.

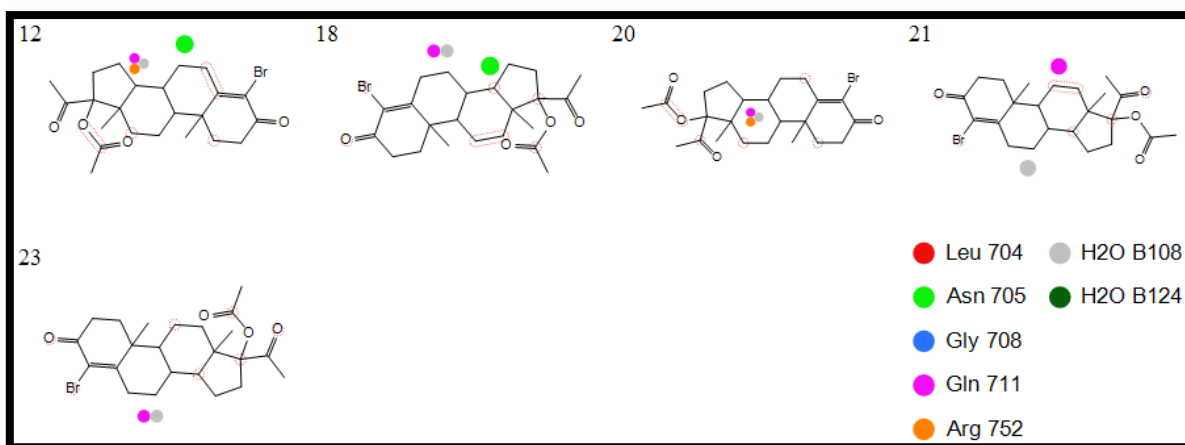


Imagen 25. PLIF de la molécula 33 (Continuación).

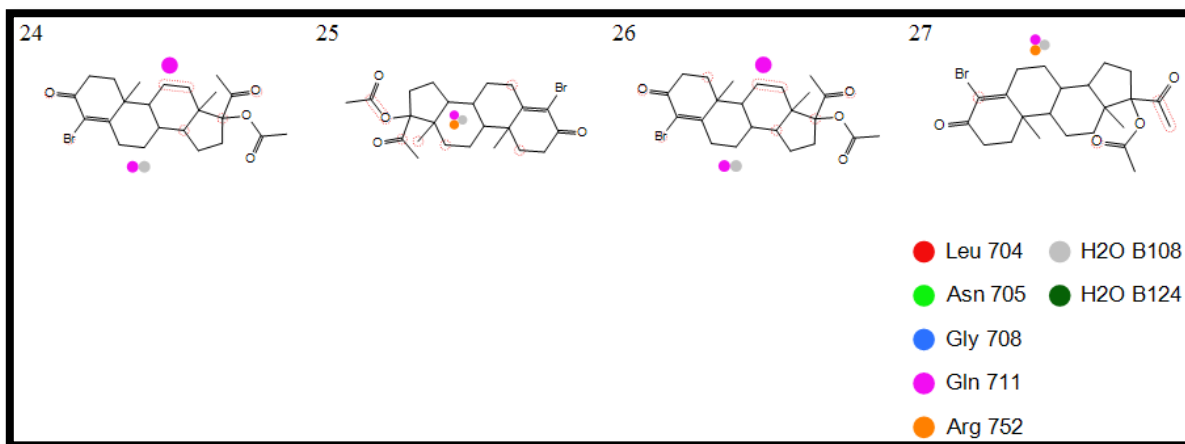


Imagen 25. PLIF de la molécula 33 (Continuación).

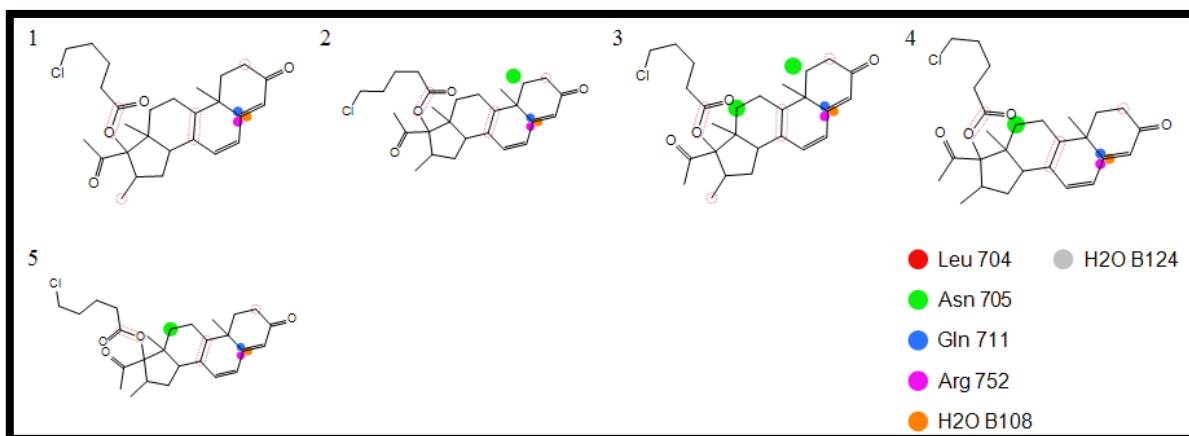


Imagen 26. PLIF de la molécula 44.

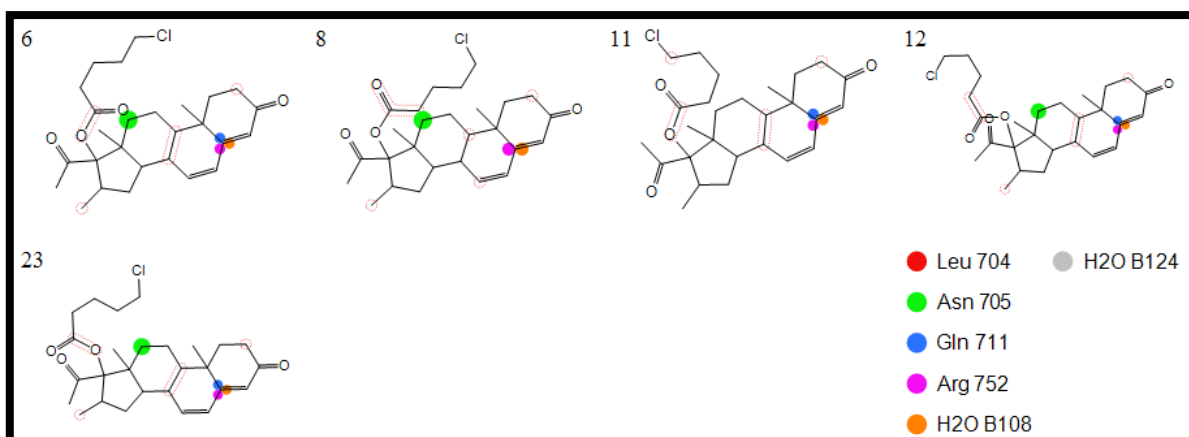


Imagen 26. PLIF de la molécula 44 (Continuación).

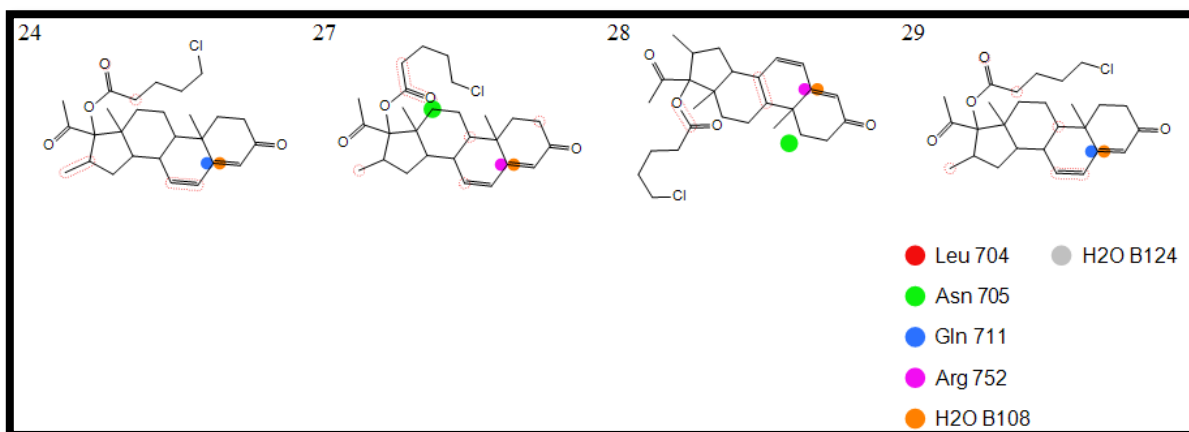


Imagen 26. PLIF de la molécula 44 (Continuación).

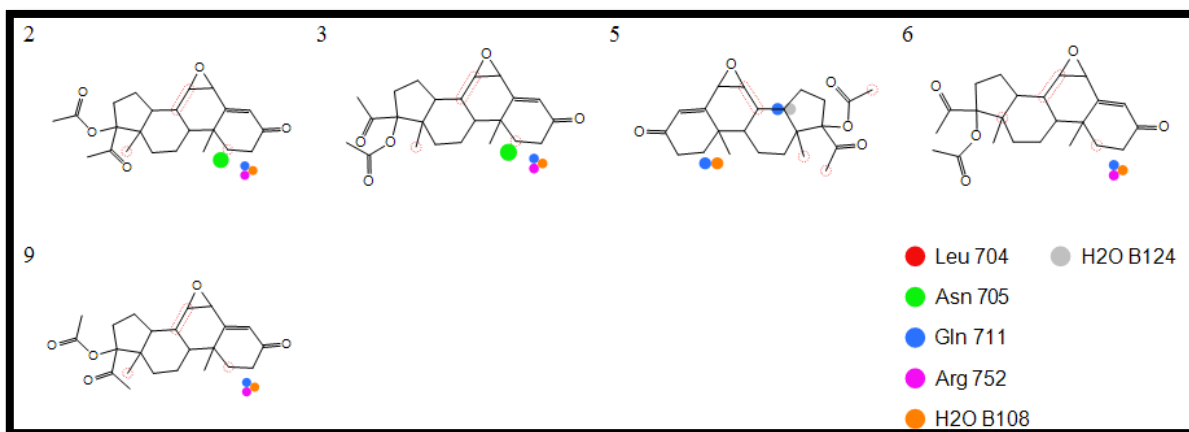


Imagen 27. PLIF de la molécula 157.

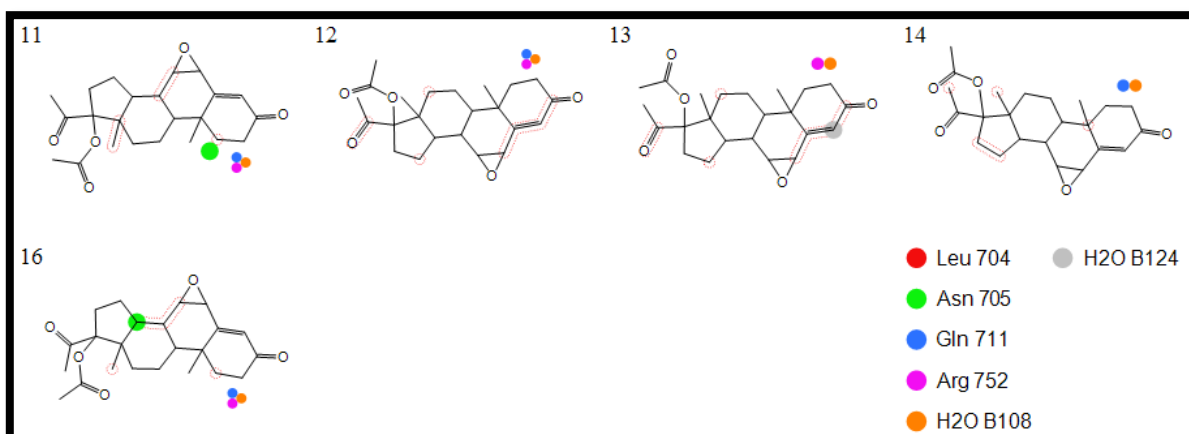


Imagen 27. PLIF de la molécula 157 (Continuación).

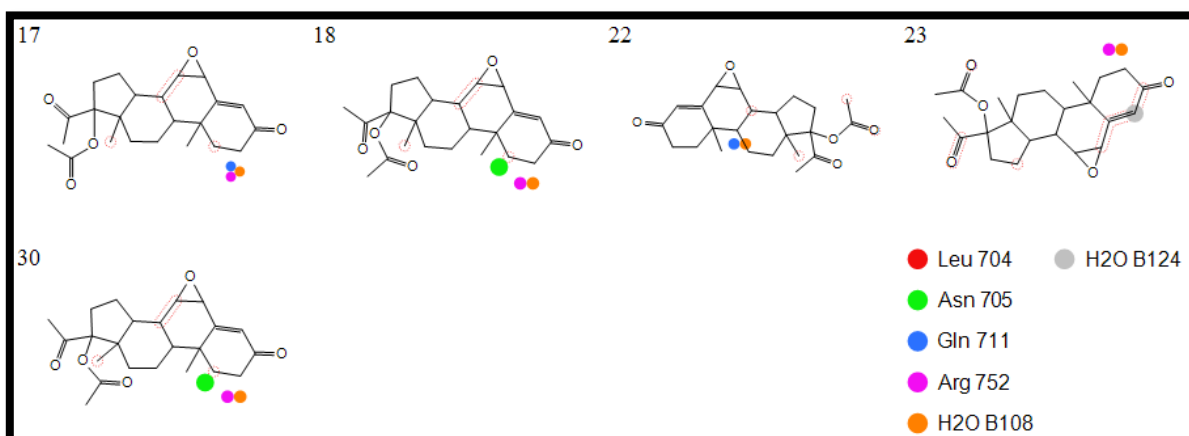


Imagen 27. PLIF de la molécula 157 (Continuación).

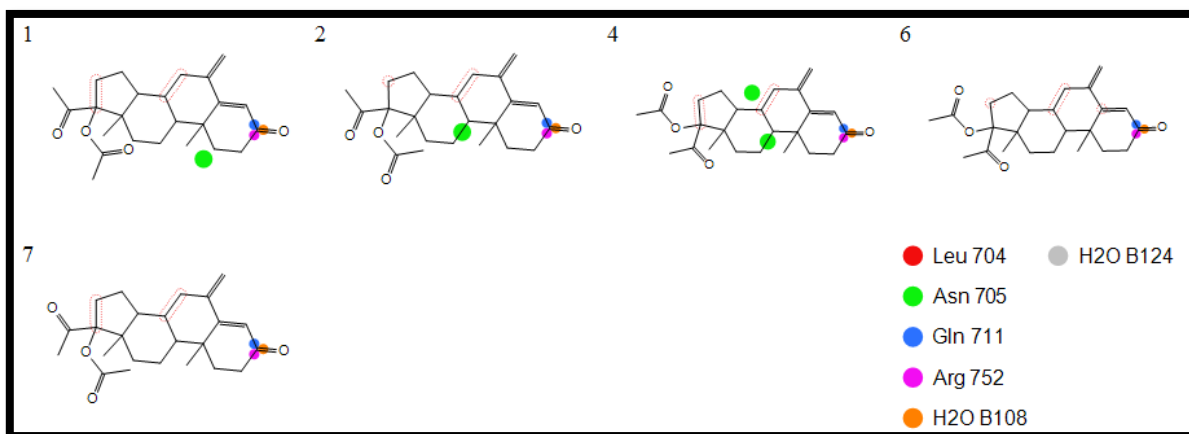


Imagen 28. PLIF de la molécula 246.

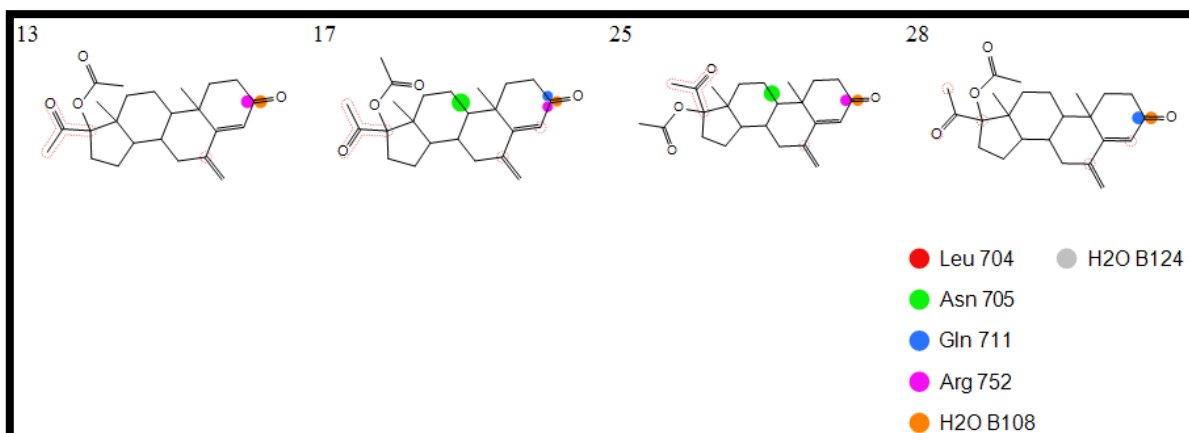


Imagen 28. PLIF de la molécula 246 (Continuación).

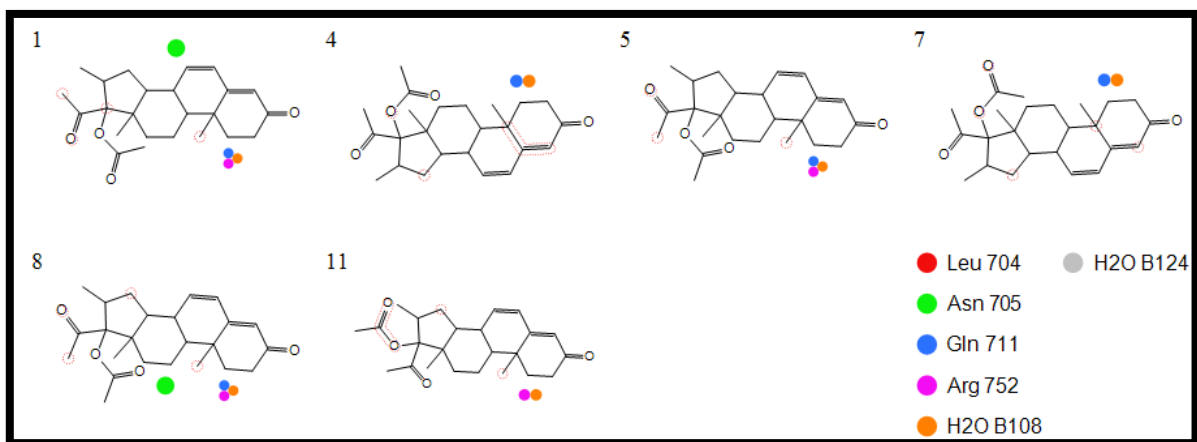


Imagen 29. PLIF de la molécula 261.

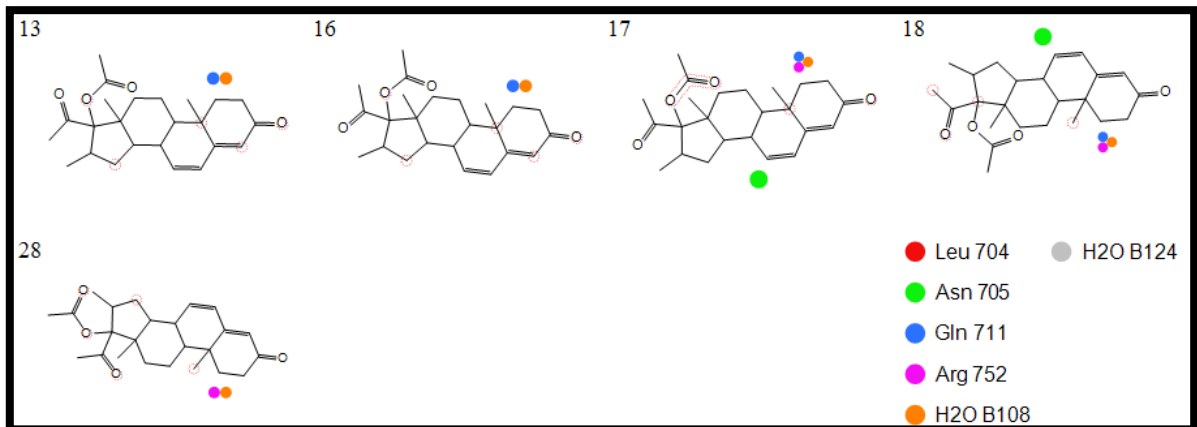


Imagen 29. PLIF de la molécula 261 (Continuación).

Nuevamente como se mencionó al inicio de este tema los PLIF solo es una herramienta para realizar un análisis más sencillo de las interacciones y la cercanía relativa que se muestran en los dockings flexible-flexible.

4.7 Superposicionamientos.

Los superposicionamientos se llevaron a cabo usando el programa MOE y se realizaron con el fin de conocer la desviación que existía entre las moléculas optimizadas geoméricamente (*ab initio*, DFT y MM) en comparación con las de rayos x.

En las siguientes imágenes se mostrarán las optimizaciones geométricas más sobresalientes (*ab initio*, DFT y MM) y se realizaran superposiciones con los esteroides de rayos X.

Superposicionamiento de HF/6-31G y la estructura de Rayos X.

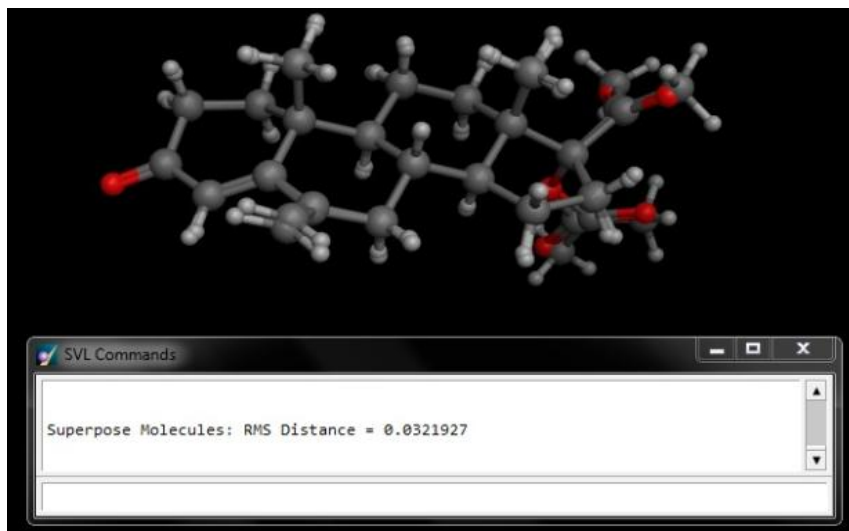


Imagen 30. Sobreposicionamiento del esteroide 246.

Superposicionamiento de HF/6-31G* y la estructura de Rayos X.

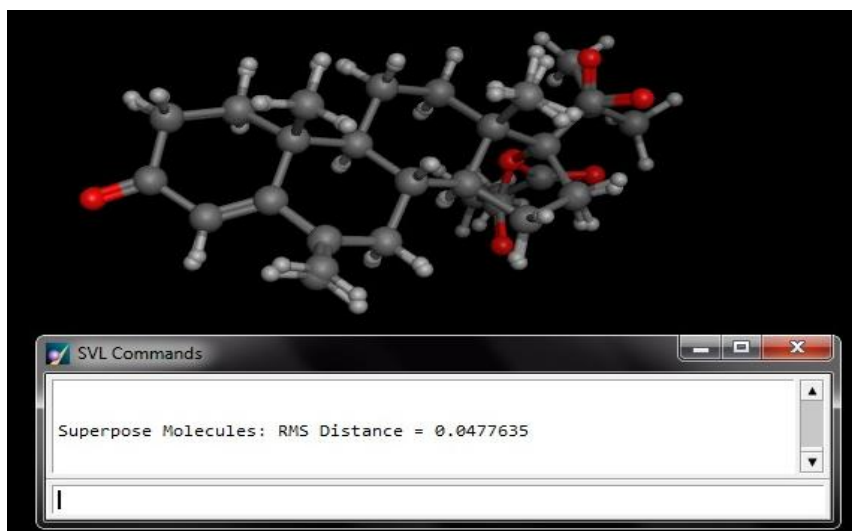


Imagen 31. Sobreposicionamiento del esteroide 246.

Superposicionamiento de HF/6-31G** y la estructura de Rayos X

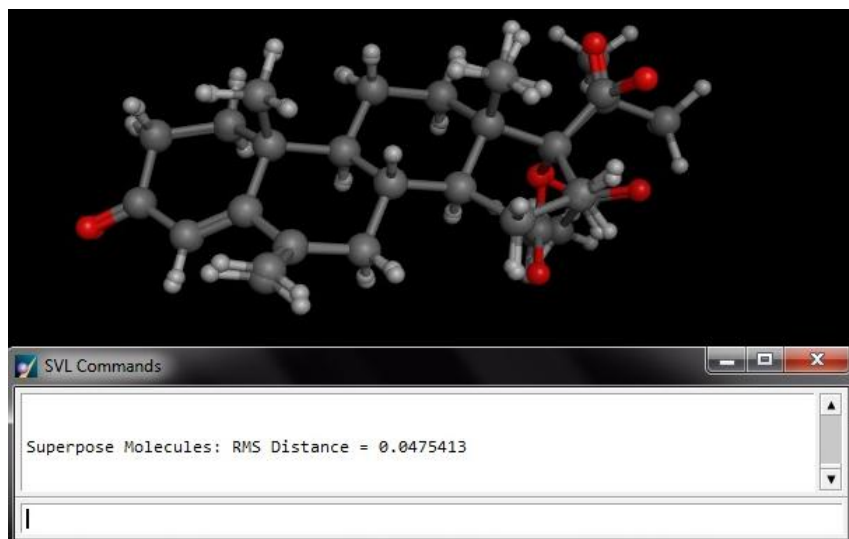


Imagen 32. Sobreposicionamiento del esteroide 246.

Superposicionamiento de B3LyP/6-31G y la estructura de Rayos X.

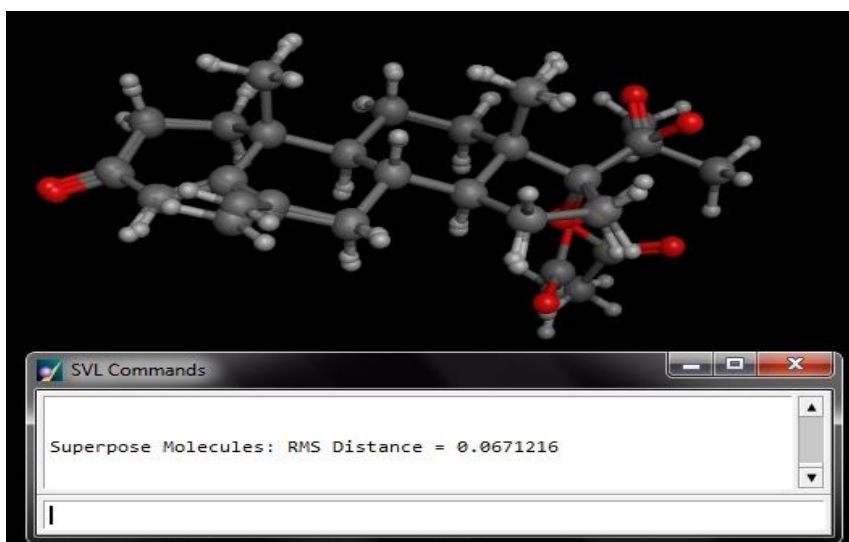


Imagen 33. Sobreposicionamiento del esteroide 246.

Superposicionamiento de B3LyP/6-31G* y la estructura de Rayos X.

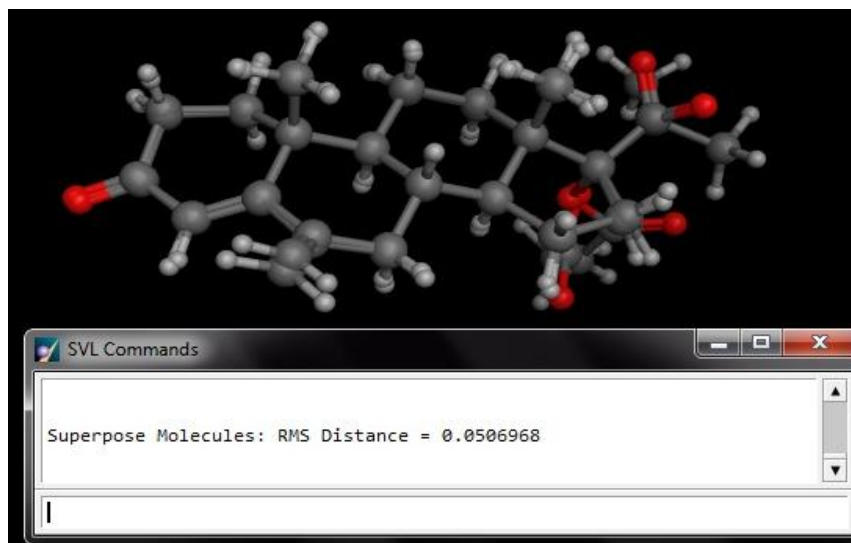


Imagen 34. Sobreposicionamiento del esteroide 246.

Superposicionamiento de B3LyP/6-31G** y la estructura de Rayos X.

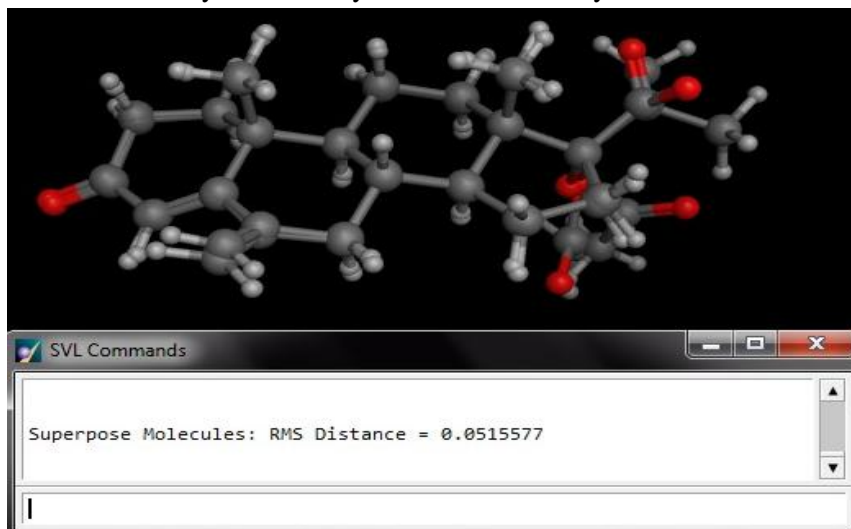


Imagen 35. Sobreposicionamiento del esteroide 246.

Superposicionamiento con MM y la estructura de Rayos X.

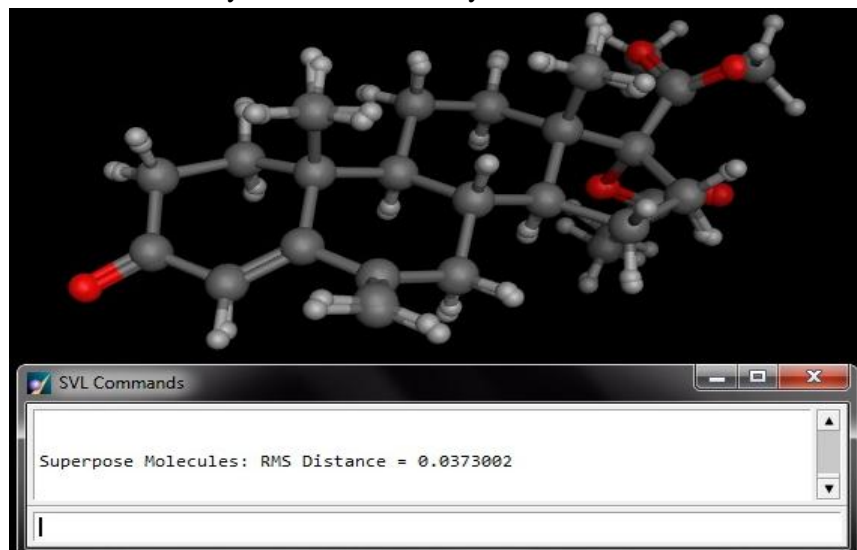


Imagen 36. Sobreposicionamiento del esteroide 246.

	HF/ 6-31G	HF/ 6-31G*	HF/ 6-31G**	B3LyP/ 6-31G	B3LyP/ 6-31G*	B3LyP/ 6-31G**	MM
Mol 6	0.0345165	0.043093	0.042709	0.077882	0.068391	0.069520	0.060879
Mol 33	0.0537142	0.810886	0.038669	0.071999	0.052259	0.055864	0.091495
Mol 44	0.0712284	0.063019	0.062940	0.082212	0.068956	0.069701	0.067797
Mol 157	0.0885266	0.102072	0.102216	0.101179	0.103514	0.103085	0.044993
Mol 246	0.0321927	0.047763	0.047541	0.067121	0.050696	0.051557	0.037300
Mol 261	0.0476398	0.047755	0.047616	0.045057	0.061251	0.061916	0.082020

Tabla 14. Comparativa de los RMS de las sobreposiciones realizadas.

En la tabla 13 se muestran unas marcas estas pertenecen a los menores RMS, el RMS nos permite calcular la diferencia geométrica que existe entre una estructura y otra.

Hablando en términos generales se encontró que los resultado de los métodos *ab initio* el HF/6-31G y el HF/6-31G** presentaron menor diferencia geométrica respecto a las estructuras de rayos X. También se encontró que la mecánica molecular tuvo resultados semejantes a los de mecánica cuántica geoméricamente hablando y una vez más se comprobó que el tiempo de computo es menor en comparación con los cálculos mecánico cuánticos.

CONCLUSIONES

- Se llevaron a cabo satisfactoriamente los estudios teóricos de reconocimiento molecular (docking) para cada esteroide.
- Se encontró que el método cuántico que reportó una menor energía electrónica en los esteroides fue el DFT, con un nivel de teoría B3LyP/6-31G**.
- En cuanto a las optimizaciones geométricas se encontró que los métodos HF/6-31G y HF/6-31G** presentaron un menor RMS al realizar las sobreposiciones con las estructuras de rayos X.
- Con base en el estudio de reconocimiento molecular de la serie de esteroides con la enzima HAR se encontró con resultados satisfactorios ya que los esteroides 33, 157 y 246 mostraron interacciones similares al del CPA lo que nos lleva a pensar que la actividad biológica para estos esteroides puede ser muy semejante al CPA.
- Desde el punto de vista geométrico se comprobó que con la mecánica molecular se obtuvieron resultados semejantes a los de mecánica cuántica y la ventaja al emplearlos es que consumen menor tiempo de computo.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Base de datos de PDB; <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=2OZ7>
2. Boggio, Juan Carlos (1993). **Estudio cronofarmacocinético del acetato de ciproterona en el conejo**. Barcelona, España.
3. Burton, G. (2003). **Desarrollo de un Agonista de Mineralocorticoides y un Antagonista de Glucocorticoides**. Argentina.
4. Casey E. Bohl, Zengru Wu, Duane D. Miller, Charles E. Bell, and James T. Dalton. (2006). **Crystal Structure of the T877A Human Androgen Receptor Ligand-binding Domain Complexed to Cyproterone Acetate Provides Insight for Ligand-induced Conformational Changes and Structure-based Drug Design**. The Journal of Biological Chemistry Vol. 282 NO 18 pp.
5. Cuevas G. Cortes F. (2003). **Introducción a la Química Computacional**. Ed. Fondo de cultura económico. 15, 28-31, 42, 60, 71-72, 73, 93.
6. Dewar, M.J.J., Zoebisch, E.G., Healey, E.F., Stewart, J.J.P. (1985). **J. Amer. Chem. Soc.**, **107**,3902.
7. Huq, Fazlul. (2007). **Molecular modelling analysis of the metabolism of trilostane**. Discipline of Biomedical Science, Faculty of Medicine, The University of Sydney, Australia. International Journal of Pure & Applied Chemistry.
8. Harada Takanori; Yamagishi Kenji; Nakano Tatsuya; Kitaura Kazuo; Tokiwa Hiroaki (2008). **Ab initio fragment molecular orbital study of ligand binding to human progesterone receptor ligand-binding domain**. Research Information Center for Extremophile, Rikkyo University, 3-34-1 Nishi-ikebukuro, Toshima-ku, Tokyo, 171-8501, Japan, Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology.
9. Jensen, F. (1999). **Introduction to Computational Chemistry**. Wiley, Nueva York. 60
10. Landis, C. R., en Lipkowitz, K. B. (1955). **Reviews in Computational Chemistry**, 6 VCH, capítulo 2.
11. Levine Ira (2008). **Química cuántica**. 5ta. Edición. Prentice Hall
12. McQuaire, D. A. (1983). **Quantum Chemistr**, University Science Books.
13. Minaev, B. F.; Minaeva, V. A. (2006). **Study of IR spectrum of the 17 α -estradiol using quantum-chemical density functional method**. Cherkass. Gos. Tekh. Univ., Cherkasy, Ukraine. Biopolimerii Klitina.

14. Minaeva, V. A.; Minaev, B. F.; Hovorun, D. M. Bohdan Khmelnytsky. (2008). **Vibrational spectra of the steroid hormones, estradiol and estriol, calculated by density functional theory. The role of the low-frequency vibrations.** National University, Cherkassy, Ukraine. *Ukrains'kii Biokhimichnii Zhurnal*.
15. Minaeva, V. A.; Minaev, B. F.; Kapinus, S. S. (2010). **Study of IR spectrum of the testosterone and ethynyltestosterone by quantum-chemical density functional theory.** Ukraine. *Biopolymers and Cell*. Sharma, Kamlesh; Lal, Bhajan (2008). **Synthesis and density functional theoretical study of steroidal spiro-triazolidinone.** Department of Chemistry, University of Pretoria, Pretoria, S. Afr. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*.
16. MOE 2009.10. PLIF tutorial.
17. Notimex (2007). **Mueren más de 4 mil hombres por cáncer de próstata.** El Universal. Recuperado el 20 de julio de 2012 de <http://www.eluniversal.com.mx/articulos/44223.html>
18. Raya, Angelica; Barrientos-Salcedo, Carolina; Rubio-Poo, Consuelo; Soriano-Correa, Catalina. (2011). **Electronic structure evaluation through quantum chemical descriptors of 17 α -aminoestrogens with an anticoagulant effect.** Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingenieria Campus Guanajuato, Instituto Politecnico Nacional, Silao de la Victoria, Guanajuato, Mex. *European Journal of Medicinal Chemistry*.
19. Rogachevskii, I. V.; MacKey, M. L.; Shchegolev, B. F.; Krylov, B. V. (2002). **Ab initio Calculation of the Electronic Structure and Equilibrium Geometry of Cortisol and Its Derivatives.** St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia.
20. Stewart, J.J.P. (1989). *J. Comput. Chem.*, **10**,209,221.
21. Stewart, J.J.P. (1990). *J. Comput. Chem.*, **11**,543.
22. Szabo, A., Ostlund, N.S. (1982). **Modern Quantum Chemistry** Mc Graw-Hill; Mcweeny, R. (1992). **Methods of Molecular Quantum Mechanic.** Academic Press; Hehre, W.J., Random. L., Pople, J.A., Scheleyer, P.V.R. (1986). **Ab Initio Molecular Orbital Theory.** Wiley; Simons. (1991). *J. Phys. Chem.* **95**,1017; Bartlett, R.J., Staton, J.F. (1994). *Rev. Comput. Chem.*, **5**,65.
23. Thiel, W. (1996). *Adv. Chem. Phys.* **58**.
24. UAM (2010). **Investigadores sintetizan moléculas para enfermedades prostáticas.** Universia. Recuperado el 20 de julio de 2012 de <http://noticias.universia.net.mx/ciencia-nt/noticia/2010/09/28/508498/investigadores-sintetizan-moleculas-tratar-enfermedades-prostaticas.html>
25. Wilson, S. (1986). **Chemistry by Computers.** Plenum Press, Nueva York. (1986).