

ISSN: 2395-9711

Revista Digital

www.congresoinvestigacion.com

Vol. 4, No.1, Noviembre de 2016

Memorias 8º Congreso Internacional de Investigación Científica Multidisciplinaria

Sección Salud

MEMORIAS CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA MULTIDISCIPLINARIA, Año 4, No. 1, Enero – Diciembre 2016, es una publicación anual editada por el Instituto Tecnológico de Monterrey Campus Chihuahua, Calle H. Colegio Militar, 4700, Col. Nombre de Dios, Chihuahua, Chih. C.P. 31300, Tel (614) 439-5000 ext. 5524, www.congresoinvestigacion.com, investigacion.chi@itesm.mx. Editor Responsable: Elías Solís Rivera. Reserva de Derechos uso exclusivo No. 04-2014-082208051900-01, ISSN en trámite, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor, calle Puebla 143, Col Roma, Delegación Cuauhtémoc. C.P. 06700. Responsable de la última Actualización de este número, Departamento de Investigación del Tecnológico de Monterrey Campus Chihuahua, Ing. Elías Solís Rivera, Calle H. Colegio Militar, 4700, Col. Nombre de Dios, Chihuahua, Chih. C.P. 31300, fecha de última modificación 16 de Diciembre del 2016

El Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey es un sistema universitario que tiene como misión formar personas íntegras, éticas, con visión humanística y competitivas internacionalmente en su campo profesional, que al mismo tiempo sean ciudadanos comprometidos con el desarrollo económico, político, social y cultural de su comunidad y con el uso sostenible de los recursos naturales. La misión incluye programas de investigación y desarrollo.

Consejo Editorial

Director del Tecnológico de Monterrey Campus Chihuahua

Dr. Rodolfo Julio Castelló Zetina

Director de la División Investigación y Desarrollo

Dr. Antonio Ríos Ramírez

Director de la Escuela de Negocios y Humanidades

Ing. Ivone Juárez Barco

Director de la Escuela de Ingeniería

Dr. Armando Román Flores

Director Editorial y del Área de Investigación

MCP. Elías Solís Rivera

MA. María Cristina Torres Espinosa

Revista semestral publicada por:

Tecnológico de Monterrey Campus Chihuahua
Heróico Colegio Militar 4700 Col. Nombre de Dios C.P. 31300
Chihuahua, Chih., México
Teléfono: (614) 439-5000 Ext. 5525
<http://www.chi.itesm.mx>

investigacion.chi@itesm.mx

PREDICCIÓN DE LA REACTIVIDAD QUÍMICA DE TAMOXIFENO EN RECEPTORES HORMONALES

Linda-Lucila Landeros-Martínez, Erasmo Orrantia-Borund1, Norma Flores-Holguín*.

Grupo Nanocosmos, Centro de Investigación de Materiales Avanzados, S.C.

Av. Miguel de Cervantes 120, Complejo Industrial Chihuahua, México, 31109.

E-mail:

linda.landeros@cimav.edu.mx

erasmo.orrantia@cimav.edu.mx

norma.flores@cimav.edu.mx

Tel +52-614-439-11-49.

Resumen

El acoplamiento molecular del fármaco antitumoral Tamoxifeno con los receptores hormonales se estudió en solución acuosa. Este análisis permitió determinar el sitio activo del receptor de estrógeno y progesterona con el fármaco. El Tamoxifeno tiene una energía de enlace en la cavidad del receptor de estrógeno de -10,38 kcal / mol y de -9,38 kcal / mol en el receptor de progesterona. Esto indica un acoplamiento espontáneo entre el fármaco y el sitio activo de los receptores hormonales. Por otro lado se determinó la reactividad química del fármaco con los aminoácidos que conforman el sitio activo. Estos estudios se obtuvieron dentro del marco de la Teoría del Funcional de la Densidad, utilizando el funcional M06 con el conjunto base 6-31G (d). Los resultados indican que la mayor intensidad de transferencia de carga del fármaco se da en el residuo Leu 346-Thr 347 del receptor de estrógeno y en el residuo Leu719-Asp719 del receptor de progesterona.

Palabras clave: Tamoxifeno, acoplamiento molecular, energía de enlace y transferencia de carga.

1. Introducción.

En México, el cáncer de mama ocupa las mayores incidencias de las neoplasias malignas en las mujeres que representan el 11.34% de todos los casos de cáncer y tiene un incremento global del 1.5% anual. En las células mamarias se encuentran los receptores hormonales (receptores de estrógeno (RE) y receptores de progesterona (RP)) los cuales funcionan como un interruptor que activa o desactiva una función particular en la célula mamaria.

El Tamoxifeno (TAM) conocido como un modulador selectivo del receptor estrógeno (SERMs)(Altmeyer, Karam, Khalil, & Mainardes, 2016; Khan, Wakade, de Sevilla, & Brann, 2015), se usa para el tratamiento de receptores hormonales que expresan el cáncer de mama (Gao, 2 Tu, Wegman, Wingren, & Eriksson, 2011). Este fármaco es metabolizado en el hígado produciendo tres distintos metabolitos: 4-hidroxi-Tamoxifen (4OHTAM), N-dismetil-Tamoxifen y 4-hidroxi-N-dismetil-Tamoxifen (IRARRÁZAVAL O, 2011; Sanyakamdhorn, Agudelo, Bekale, & Tajmir-Riahi, 2016). Estudios in vivo han comprobado que el TAM compite con los estrógenos para unirse a sus receptores, lo que resulta en una atenuación de la respuesta celular medida por estrógenos(Beverage, Sissung, Sion, Danesi, & Figg, 2007).

Existen a la fecha algunos estudios teóricos sobre Tamoxifeno. En uno de ellos se estudió la interacción del Tamoxifeno y el receptor RE utilizando cálculos de mecánica molecular. En otro se realizó un estudio de la quiralidad del fármaco TAM utilizando la teoría de funcionales de la densidad (DFT) con

los funcionales B3LYP and BLYP con un conjunto base 6-311++G(2d,2p)(Gao et al., 2011). También se ha reportado un análisis de la cantidad de transferencia de carga y la dirección del flujo de carga de fármacos alquilantes en presencia de bases del DNA permitiendo predecir cuál de sus bases es el objetivo principal de estos fármacos antitumorales(Kumar, Jain, Kishor, & Ramaniah, 2011). Una técnica también utilizada es el Docking, o acoplamiento molecular, el cual permite predecir la conformación preferida de una molécula, al estar unida a otra (Lengauer & Rarey, 1996), proporcionando así, una idea de cómo esas moléculas podrán unirse potencialmente in vivo o in vitro. Este método es de amplio uso en el diseño de fármacos(Kitchen, Decornez, Furr, & Bajorath, 2004). Algunos autores han usado el acoplamiento molecular ligando-macromolécula en el análisis de una amilasa maltogénica de *Bacillus lehensis* G1 donde se proporciona una visión del sustrato y la especificidad en la macromolécula (Manas, Bakar, & Ilias, 2016). También se ha reportado su uso en la predicción de los modos de enlace y las afinidades de los inhibidores de la unión al receptor de una anhidrasa carbónica (Samanta & Das, 2016) y en el análisis del acoplamiento de DNA de inhibidores de metiltransferasa de productos naturales, los cuales se han convertido en una alternativa para terapias contra el cáncer(Maldonado-Rojas, Olivero-Verbel, & Marrero-Ponce, 2015).

El objetivo de esta investigación es analizar el acoplamiento molecular del TAM con la macromolécula RE y RP, para obtener el dominio de unión de los receptores hormonales con el fármaco utilizando el programa de acoplamiento molecular llamado Autodock (Norgan, Coffman, Kocher, Katzmann, & Sosa, 2011).

Por otra parte se presenta a detalle un estudio de propiedades químicas como son el potencial de ionización, afinidad electrónica, electrofilicidad, dureza química, potencial químico y electronegatividad, tanto del TAM como de los aminoácidos que forman el dominio de los receptores estrógeno y progesterona. También se presenta transferencia de carga y la dirección de flujo de carga entre el fármaco y los aminoácidos del sitio activo de los receptores hormonales.

2. Métodos computacionales

2.1 Acoplamiento molecular.

El receptor de estrógeno y progesterona se obtuvieron de bases de datos en la red, como lo es Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org>) de donde se tomaron las estructuras cristalinas PDB:1A52 y PDB:1A25, respectivamente. El acoplamiento molecular se calculó con el programa AutoDock 4.2 empleando el algoritmo genético lamarckiana (LGA) (Morris et al., 2009) para explorar los modos de unión del RE y RP con el TAM. Las moléculas de agua presentes en los receptores se eliminan y sólo se añaden los átomos de hidrógeno polares. El área de acoplamiento en el RE se selecciona mediante la construcción de una celda de tamaño $52 \times 36 \times 34$, centrada en las coordenadas x, y, z de 89.304, 14.745 y 70.512, respectivamente y en el RP el tamaño de la celda es $20 \times 18 \times 26$, centrada en las coordenadas x, y, z de 36.999, 31.767 y 42.694, respectivamente, utilizando en ambos receptores la rejilla de espaciamiento de 0.375 Å en AutoGrid (Morris et al., 1998). Los parámetros del acoplamiento utilizados para la base conformacional LGA son ensayos de acoplamiento: 150, tamaño de la población: 150, número máximo de evaluaciones de energía: 25000000, número máximo de individuos superiores para sobrevivir a la siguiente generación:1, tasa de mutación genética: 0.02, tasa de cruce: 0.8, la media de distribución de Cauchy para el gen de mutación:0.0, varianza de la distribución de Cauchy para la mutación del gen: 1.0 y el número de generaciones para escoger el peor individual: 10

2.2 Cálculos de estructura electrónica

Los cálculos de energía de los aminoácidos que conforman el sitio activo del receptor de estrógeno, progesterona y el fármaco Tamoxifeno son calculados con el funcional híbrido meta-GGA (Y. Zhao & D. Truhlar, 2008; Y. Zhao & D. G. Truhlar, 2008) desarrollado por el grupo Truhlar en la Universidad de Minnesota, combinado con el conjunto base 6-31G(d) propuesto por People (Rassolov, Ratner, Pople, Redfern, & Curtiss, 2001) y el modelo continuo polarizable (CPCM) (Tomasi & Persico, 1994) usando como solvente agua. Todos los cálculos se hicieron usando la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT) (P. H. a. W. Kohn, 1964; W. Kohn & Sham, 1965; Y. W. Robert G. Parr, 1989) con el programa Gaussian 09 (Frisch, 2009). La distribución de carga para los aminoácidos y el TAM se obtuvieron con el análisis poblacional de cargas de Hirshfeld (Hirshfeld, 1977).

Utilizando el marco DFT se calcularon los descriptores de reactividad química de los sistemas moleculares estudiados. Estos parámetros incluyen, el potencial de ionización (I), afinidad electrónica (AE), la dureza química (η) (Pearson, 1986), la electronegatividad (χ) (Pearson, 1986), la electrofilicidad (ω) (Parr, Szentpály, & Liu, 1999) y el potencial químico (μ) (Parr et al., 1999).

La interacción global entre el fármaco TAM y los aminoácidos que conforma el sitio activo del RE y RP puede ser representado por la transferencia de carga (ΔN), parámetro que determina el número fraccional de electrones transferidos de un sistema A al sistema B donde A es el fármaco TAM y B son los aminoácidos que forman el sitio activo del receptor de estrógeno y progesterona respectivamente, donde μ_A , μ_B son el potencial químico y η_A , η_B son la dureza química y se da por la fórmula (R. G. P. Robert G. Parr, 1983). La interpretación de los resultados de ΔN se interpretan de la siguiente manera: si $\Delta N < 0$, la carga fluye de A a B (A actúa como donador de electrones), y si $\Delta N > 0$ la carga fluye de B a A (A actúa como receptor de electrones). Las ecuaciones de los descriptores de reactividad y transferencia de carga se muestran en la Tabla 1.

Ecuaciones	
$\eta = \frac{(I - AE)}{2}$	(1)
$\chi = \frac{(I + AE)}{2}$	(2)
$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta}$	(3)
$\mu = -\chi$	(4)
$\Delta N = \frac{\mu_B - \mu_A}{2(\eta_A + \eta_B)}$	(5)

Tabla 1. Ecuaciones de parámetros de reactividad global y transferencia de carga.

3. Resultados y discusión

1.1 Validación del acoplamiento

La validación del acoplamiento se realizó para cada uno de los receptores hormonales utilizando el programa PyMOL (DeLano, 2002), el cual es un código especializado en cálculos de moléculas de gran tamaño como las proteínas. La media cuadrática entre ligando TAM y su cálculo de acoplamiento se realizó para cada uno de los receptores hormonales. El valor de RMSD se considera como una medida de la exactitud de los resultados de acoplamiento. La posición óptima se reconoce si el valor de RMSD es menor de 2 Å (Samanta & Das, 2016). En el caso del acoplamiento del TAM se utilizó como plantilla para la superposición molecular, el 4OHTAM, en virtud de que se conoce que este metabolito posee la conformación más bioactiva de los derivados del TAM en los receptores hormonales. El TAM se alineó a la plantilla por rotación y traslación para la obtención del RMSD, usando la opción align en PyMOL. Donde el Tamoxifeno se muestra de color azul y el 4OHTAM en color rosa. Ver Figura 1.

Los valores obtenidos fueron para receptor de estrógeno, 0.672 Å y en el receptor de progesterona, 1.387 Å.

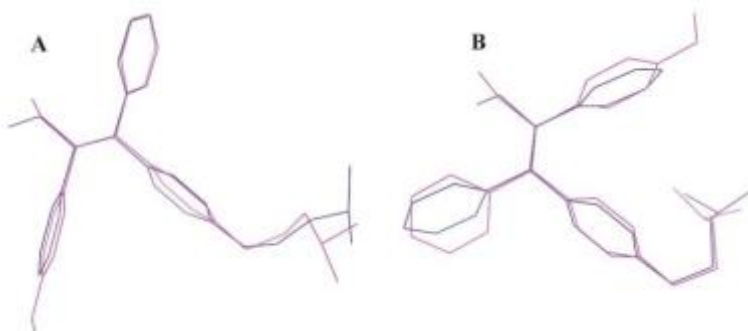


Figura 1. Validación del acoplamiento en los receptores A) Estrógeno y B) Progesterona.

3.2. Análisis del Receptor de estrógeno con el Tamoxifeno.

Un análisis del acoplamiento molecular entre el RE y el TAM se llevó a cabo, obteniendo sitio activo del receptor de estrógeno, seguido de la descripción del sitio activo, análisis de parámetros de reactividad química de los residuos y el fármaco, así como la descripción de los puentes de hidrógeno formados entre el TAM y el sitio activo del RE.

3.2.1 Acoplamiento molecular.

La energía de enlace del TAM en el sitio activo del receptor de estrógeno se ha predicho mediante la realización de los cálculos de acoplamiento molecular. La estructura esquemática del sitio de activo y las energías de enlace se muestran en la Figura 2. El valor negativo de la energía de enlace en el acoplamiento indican que el sistema es estable y que hay una interacción entre el RE con el fármaco en el sitio activo con -10.38 kcal/mol.

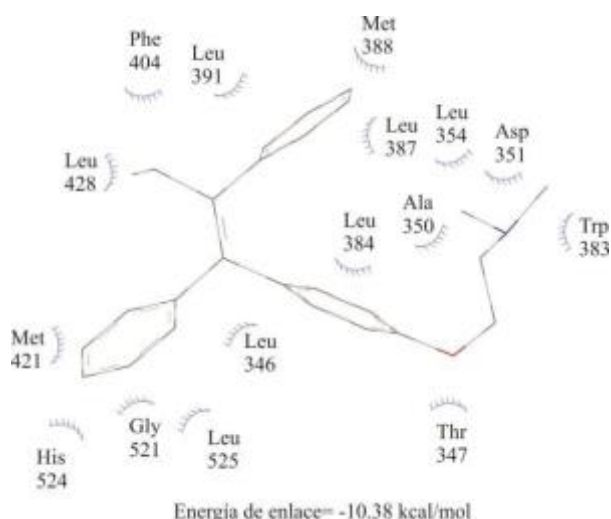


Figura 2. Posición óptima de acoplamiento del receptor de estrógeno con el Tamoxifeno.

3.1.2. Descripción del sitio activo del receptor de estrógeno.

Los residuos que están en contacto con el TAM en el sitio activo del receptor de estrógeno mostrados en la figura anterior, son 16. De éstos, solamente diez de ellos están unidos entre sí en la secuencia de la proteína (Leu346-Thr347), (Trp383-Leu384), (His524-Leu525), (Ala350-Asp 351) y (Leu 387-Met 388). Con carácter altamente hidrofílico, se encuentra el residuo glicina (Gly 521), que es uno de los aminoácidos más pequeño y el único no quiral de los 20 aminoácidos presentes en la célula. De los residuos hidrofóbicos se encuentran la fenilalanina (Phe 404) característica dada debido a su anillo fenílico; tres residuos de leucina (Leu 354, 391 y 428) que contiene un radical alquilo y la metionina (Met 421) que contiene un átomo de azufre. El sitio de interacción identificado por el acoplamiento molecular del TAM en el RE, coincide con el sitio activo obtenido por difracción de rayos X por Shiau y colaboradores (Shiau et al., 1998).

3.1.3 Reactividad química del sitio activo del receptor de estrógeno y el fármaco Tamoxifeno

Una vez definida la conformación más estable y la estructura esquemática del sitio activo del TAM, se realizó un análisis de la reactividad de los residuos del receptor de estrógeno por medio de los descriptores de reactividad química como son el potencial de ionización (I) y la afinidad electrónica (AE), el potencial químico (μ), la dureza química (η) y la electrofilicidad (ω). Los parámetros de reactividad del fármaco, así como los parámetros de reactividad de los residuos del receptor de estrógeno se muestran en la Tabla 2.

Sitio activo	AE (eV)	I (eV)	η (eV)	$\chi = -\mu$ (eV)	ω (eV)
Phe 404	0.51	6.4	2.95	3.46	2.03

Leu 354	0.34	7	3.33	3.67	2.02
Leu 391	0.27	6.21	2.97	3.24	1.77
Leu 428	0.47	7	3.26	3.73	2.14
Met 421	0.88	6.18	2.65	3.53	2.35
Gly 521	0.21	7.03	3.41	3.62	1.92
Leu346-Thr347	0.88	7.74	3.43	4.31	2.71
Trp383-Leu384	0.91	6.04	2.56	3.47	2.35
His524-Leu525	0.81	6.1	2.65	3.46	2.25
Ala350-Asp351	0.45	5.77	2.66	3.11	1.81
Leu387-Met388	0.51	6.25	2.87	3.38	1.99
TAM	0.74	5.54	2.4	3.14	2.06

Tabla 2. Parámetros de reactividad química del sitio activo del receptor de estrógeno y del fármaco

Tamoxifeno.

Las afinidades electrónicas de los residuos fluctúan de 0.21 eV a 0.91 eV. La mayor facilidad de formar un anión corresponde al residuo Trp383-Leu384 con 0.91 eV que se encuentran en contacto con el TAM. De acuerdo al potencial de ionización, quien tiene la mayor facilidad de perder un electrón de su estructura es el residuo Leu346-Thr347 con 7.74 eV. El potencial químico presenta un rango de -3.11 eV a -4.31 eV. Este parámetro representa el efecto promedio entre la tendencia a atraer y transferir electrones que tienen las moléculas. En este caso, el residuo Leu346-Thr347 con -4.31 eV presenta mayor facilidad de atraer y transferir sus electrones. La electronegatividad ($\chi = -\mu$) que es la tendencia de atraer electrones se presenta la mayor tendencia en el residuo Leu346-Thr347 con 4.31 eV. Por otro lado, la dureza química oscila entre 3.11 eV a 4.31 eV, este parámetro mide la resistencia al cambio en la configuración electrónica. De acuerdo con lo anterior, el residuo Trp383-Leu384 con 2.56 eV reaccionará con mayor facilidad en presencia del TAM. La electrofilicidad ω , cuantifica la tendencia de una molécula para absorber electrones, por lo tanto entre mayor sea el índice de electrofilicidad, mayor es la propensión del complejo de atraer electrones de una molécula donante (Partjasarathi, et al., 2003 y Partjasarathi, et al., 2004). La electrofilicidad en los residuos que se encuentran estructuralmente en el sitio activo del TAM decrece en el orden de Leu346-Thr 347 > Trp383-Leu 384 > Met421 > His524-Leu525 > Leu428 > Phe404 > Leu354 > Leu387-Met388 > Gly521 > Ala350-Asp351 > Leu391.

3.1.4 Descriptor de transferencia de carga del receptor de estrógeno.

Los descriptores de reactividad química discutidos anteriormente son parámetros intramoleculares cuyos valores son calculados a través de las propiedades electrónicas de la molécula. Para conocer a fondo la reacción química se debe también de considerar el parámetro intermolecular como es el descriptor de transferencia de carga. La cantidad de transferencia de carga entre el fármaco y los residuos fueron calculados utilizando la Ecuación 5. Los resultados se encuentran en la Tabla 3. Un valor positivo de ΔN indica que el fármaco actúa como un aceptor de electrones, mientras que un valor negativo de ΔN indica que el fármaco actúa como un donador de electrones. Por lo tanto el TAM en presencia del residuo Ala 350-Asp351 actúa como un aceptor de electrones, mientras que la transferencia de carga con el resto de los residuos que conforman el sitio

activo son valores negativos, comportándose el TAM como un donador de electrones.

Residuo	ΔN
Phe 404	-0.030
Leu 354	-0.046
Leu 391	-0.009
Leu 428	-0.052
Met 421	-0.039
Gly 521	-0.041
Leu346-Thr347	-0.100
Trp383-Leu384	-0.033
His524-Leu525	-0.032
Ala350-Asp351	0.003
Leu387-Met388	-0.023

Tabla 3. Transferencia de carga entre el Tamoxifeno y los residuos del receptor de estrógeno

El orden en el que el TAM tiene una mayor intensidad de transferencia de carga con los residuos es: Leu346- Thr347 > Leu428 > Leu354 > Gly521 > Met421 > Trp383-Leu384 > His524-Leu525 > Phe404 > Leu387-Met388 > Leu391. En presencia del residuo Ala350-Asp351 se comporta el TAM como aceptor de electrones. Ver figura 3.

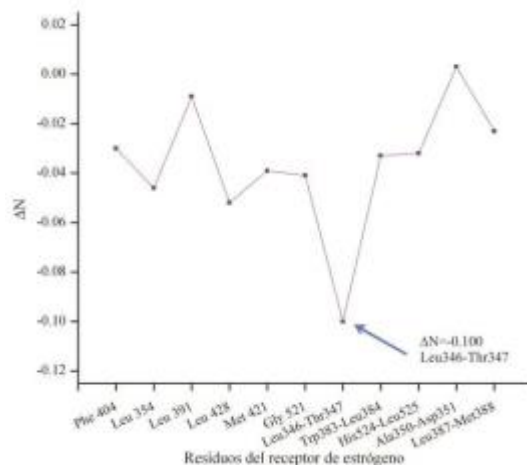


Figura 3. Variación de la transferencia de carga ΔN del Tamoxifeno con los residuos del receptor de estrógeno.

De acuerdo a la Figura 3 el TAM tiene una mayor transferencia de carga con -0.100 en presencia del residuo Leu346-Thr347. Donde se observó que los éstos residuos están en contacto con el grupo funcional éter y uno de los anillos de fenilo del fármaco TAM.

3.1.4 Puentes de hidrógeno.

Adicionalmente se realizó un análisis de los puentes de hidrógeno que se obtuvieron en entre el receptor de estrógeno y el TAM. El fármaco presenta un puente de hidrógeno (N---O=C) con el residuo Asp351 entre el grupo donador (N) perteneciente al fármaco y el grupo aceptor C=O del residuo Asp351. Ver Figura 4. En este caso, se cumple con la regla de cinco de Lipinski (Lipinski, Lombardo, Dominy, & Feeney, 2001), que menciona que cuando se tienen cinco o menos puentes de hidrógeno el fármaco cumple con su función farmacológica.



Figura 4. Puentes de hidrógeno en el sitio activo del receptor de estrógeno con el Tamoxifeno.

3.2. Análisis del Receptor de progesterona con el Tamoxifeno.

El análisis del acoplamiento molecular entre el RP y el TAM mostró el sitio activo del receptor de progesterona: se describió el sitio activo y se llevó a cabo el cálculo y análisis de parámetros de reactividad química de los residuos y el fármaco, así como la descripción de los puentes de hidrógeno formados entre el TAM y el sitio activo del RP.

3.2.1 Acoplamiento molecular.

La energía de enlace del TAM en el sitio activo del receptor de progesterona se ha predicho mediante la realización de los cálculos de acoplamiento molecular. La estructura esquemática del sitio de activo y las energías de enlace se muestran en la Figura 5. El valor negativo de la energía de enlace en el acoplamiento indican que el sistema es estable y que hay una interacción entre el RP con el fármaco en el sitio activo es de -9.38 kcal/mol.

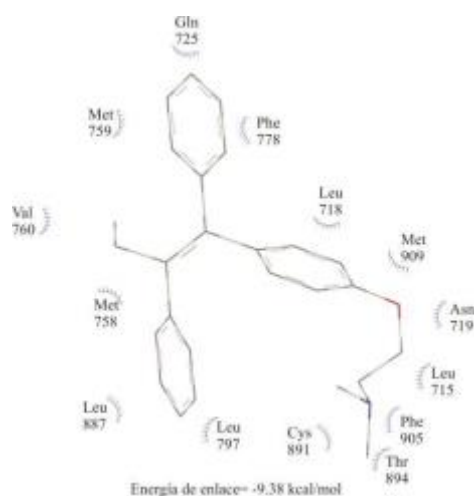


Figura 5. Posición óptima de acoplamiento del receptor de progesterona con el Tamoxifeno.

3.2.2. Descripción del sitio activo del receptor de progesterona.

El sitio activo del receptor de progesterona está formado por 15 residuos, de éstos, solamente cuatro de ellos están unidos entre sí en la secuencia de la proteína (Met759-Val760 y Leu 718-Asn719). Con carácter hidrofílico hay tres residuos como son la glutamina (Gln725), que contiene dos átomos de nitrógeno cuya característica convierte a este aminoácido ideal para proporcionar nitrógeno a las actividades metabólicas, la treonina (Thr894), que tiene un grupo oxidrilo, la cisteína (Cys891) que contiene el grupo funcional tiol que se considera importante para el ensamblaje y la estabilidad de algunas proteínas. De los residuos hidrofóbicos que se encuentran esta la fenilalanina (Phe905 y 778) característica dada debido a su anillo fenílico; tres residuos de leucina (Leu715, 797 y 787) que contienen un radical alquilo, y las metioninas (Met756, 801 y 909) que contiene un azufre en su estructura.

3.2.3 Reactividad química del sitio activo del receptor de progesterona y el Tamoxifeno.

Una vez definida la estructura esquemática del sitio activo del receptor de progesterona, se realizó un análisis cuantitativo de la reactividad química de los residuos del RP y el TAM por medio de los descriptores de reactividad los cuales se muestran en la Tabla 4.

Sitio activo	AE (eV)	I (eV)	η (eV)	$\chi=-\mu$ (eV)	θ (°)
Leu 715	0.6	7.02	3.21	3.31	2.26
Leu 797	0.67	6.86	3.09	3.76	2.29
Leu 887	0.43	7.01	3.29	3.72	2.1

Cys 891	0.55	6.89	3.13	3.72	2.19
Gln 725	0.7	7.1	3.2	3.9	2.38
Thr 894	0.49	6.57	3.04	3.53	2.05
Phe 778	0.86	6.6	2.87	3.73	2.42
Phe 905	0.93	6.58	2.82	3.76	2.5
Met 756	0.75	6.3	2.77	3.52	2.24
Met 801	0.64	6.27	2.82	3.42	2.12
Met 909	0.5	6.21	2.85	3.36	1.97
Met759-Val760	1.05	6.26	2.61	3.65	2.56
Leu718-Asn719	1.06	7.06	3	4.06	2.74
TAM	0.92	5.58	2.33	3.25	2.27

Tabla 4. Parámetros de reactividad química del sitio activo del receptor de progesterona.

De acuerdo con estos resultados, el potencial de ionización varía de 6.27 eV a 7.10 eV, teniendo el residuo Gln725 la mayor facilidad de perder un electrón de su estructura con 7.10 eV. Las afinidades electrónicas de los residuos fluctúan de 0.43 eV a 1.06 eV. La mayor facilidad de formar un anión corresponde al residuo Leu718-Asn719 con 0.91eV. El potencial químico presenta un rango de -3.31 eV a -4.06 eV. En este caso el residuo Leu718-Asn719 con -4.06 eV presenta mayor facilidad de atraer y transferir sus electrones. La dureza química oscila entre 2.61 a 3.29 eV, siendo el residuo Leu887 con 3.29 eV el que reaccionará con mayor facilidad en presencia del TAM. La electrofilicidad decrece en el orden Leu718-Asn719> Met759-Val760> Phe905> Phe778> Gln725> Leu797> Leu715> Met756> Cys891> Met801> Leu887> Thr894> Met909, siendo el residuo Leu718-Asn719 quien tienen la mayor estabilidad de recibir los electrones del entorno.

3.1.4 Descriptor de transferencia de carga del receptor de estrógeno.

La cantidad de transferencia de carga entre el TAM y los residuos del RP fueron calculados utilizando la Ecuación 5. Los resultados se encuentran en la Tabla 5. Los valores obtenidos de ΔN son negativos es decir el fármaco actúa como un donador de electrones con todos los residuos que conforman el sitio activo del RP.

Residuo	ΔN
Leu 715	-0.005
Leu 797	-0.047
Leu 887	-0.042
Cys 891	-0.043
Gln 725	-0.059
Thr 894	-0.026
Phe 778	-0.046

Phe 905	-0.050
Met 756	-0.026
Met 801	-0.017
Met 909	-0.011
Met759-Val760	-0.040
Leu718-Asn719	-0.076

Tabla 5. Transferencia de carga entre el Tamoxifeno y los residuos del receptor de progesterona.

El orden en el que el TAM tiene una mayor intensidad de transferencia de carga con los residuos es: Leu718-Asn719 > Gln725 > Phe905 > Leu797 > Phe778 > Cys891 > Leu887 > Met759 > Val760 > Met756 > Thr894 > Met801 > Met909 > Leu715. De acuerdo a la Figura 6 el TAM con -0.076 tiene una mayor intensidad de transferencia de carga en presencia del residuo Leu718-Asn719

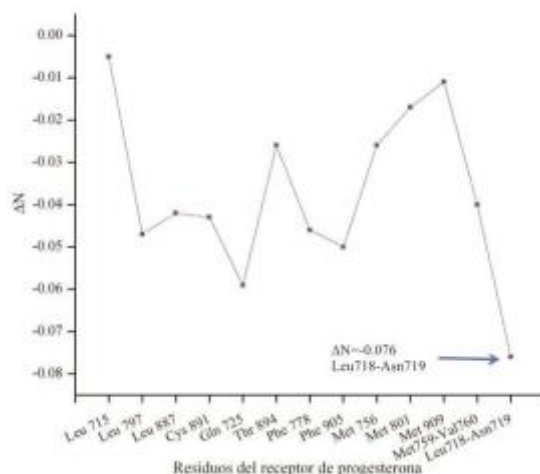


Figura 6. Variación de la transferencia de carga ΔN del Tamoxifeno con los residuos del receptor de progesterona.

3.2.5 Puentes de hidrógeno.

Adicionalmente se realizó el análisis de los puentes de hidrógeno que se obtuvieron entre el sitio activo del receptor de progesterona y el TAM. El fármaco presenta un puente de hidrógeno bifurcado (O----C=O) con el residuo Leu718-Asn719. Entre el grupo donador (O) perteneciente al grupo funcional éter del fármaco y el grupo aceptor C=O de los residuos Asp719 y Leu718 la cual se muestra en la Figura 7. En este caso, se cumple con la regla de cinco de Lipinsky (Lipinski, Lombardo, Dominy, & Feeney, 2001), por lo tanto el TAM cumple con su función farmacológica.

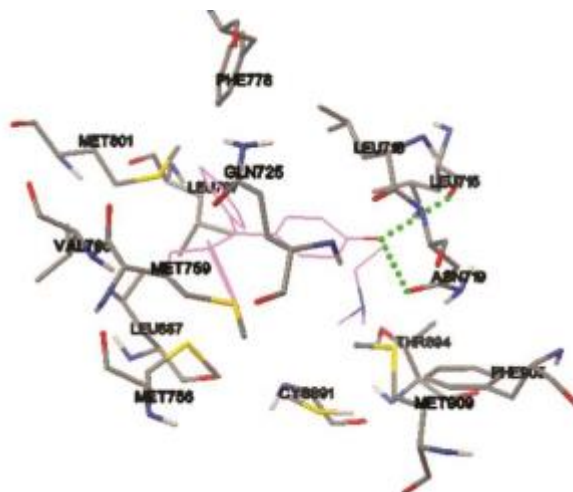


Figura 7. Puentes de hidrógeno en el sitio activo del receptor de estrógeno con el Tamoxifeno

Conclusiones

En este trabajo, se analizó el acoplamiento molecular del receptor de estrógeno y progesterona con el fármaco Tamoxifeno, donde se determinó el sitio activo de ambos receptores hormonales. También se obtuvieron puentes de hidrógeno y parámetros de transferencia de carga del fármaco Tamoxifeno. La interacción a través de la transferencia de carga entre el fármaco y los residuos de los receptores hormonales se determinaron usando la fórmula de Parr. Los resultados muestran que en el receptor de estrógeno el TAM actúa como donador de electrones en presencia de los residuos a excepción del residuo Ala350-Asp351 en donde tiene un comportamiento como donador de electrones. Por otro lado el TAM actúa como donador de electrones en presencia de todos los residuos que conforman el sitio activo del receptor de progesterona. Mientras que el análisis de puentes de hidrógeno en los receptores hormonales indican que el fármaco cumple con su acción farmacológica en ambos receptores, se observó en base a la energía de enlace que el TAM es más estable en el receptor de estrógeno con -10.38kcal/mol . Esto nos permite establecer un protocolo de referencia para trabajos futuros en la determinación de la transferencia de carga del sitio activo de los receptores hormonales con otro ligando.

Agradecimientos

Este trabajo fue soportado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y el Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S.C. (CIMAV). LLLM agradece la beca del CONACYT. EOB es investigador de CIMAV y CONACYT y NFH es investigador de CIMAV y CONACYT.

Referencias

1. Altmeyer, C., Karam, T. K., Khalil, N. M., & Mainardes, R. M. (2016). Tamoxifen-loaded poly(L-lactide) nanoparticles: Development, characterization and in vitro evaluation of cytotoxicity. *Materials Science and Engineering: C*, *60*, 135-142. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2015.11.019>
2. Beverage, J. N., Sissung, T. M., Sion, A. M., Danesi, R., & Figg, W. D. (2007). CYP2D6 polymorphisms and the impact on tamoxifen therapy. *Journal of pharmaceutical sciences*, *96*(9), 2224-2231.
3. DeLano, W. L. (2002). The PyMOL molecular graphics system.
4. Frisch, M. J. T., G. W.; Schlegel, H. B.; Scuseria, G. E.; Robb, M. A.; Cheeseman, J. R.; Scalmani, G.; Barone, V.; Mennucci, B.; Petersson, G. A.; Nakatsuji, H.; Caricato, M.; Li, X.; Hratchian, H. P.; Izmaylov, A. F.; Bloino, J.; Zheng, G.; Sonnenberg, J. L.; Hada, M.; Ehara, M.; Toyota, K.; Fukuda, R.; Hasegawa, J.; Ishida, M.; Nakajima, T.; Honda, Y.; Kitao, O.; Nakai, H.; Vreven, T.; Montgomery, J. A., Jr.; Peralta, J. E.; Ogliaro, F.; Bearpark, M.; Heyd, J. J.; Brothers, E.; Kudin, K. N.; Staroverov, V. N.; Kobayashi, R.; Normand, J.; Raghavachari, K.; Rendell, A.; Burant, J. C.; Iyengar, S. S.; Tomasi, J.; Cossi, M.; Rega, N.; Millam, J. M.; Klene, M.; Knox, J. E.; Cross, J. B.; Bakken, V.; Adamo, C.; Jaramillo, J.; Gomperts, R.; Stratmann, R. E.; Yazyev, O.; Austin, A. J.; Cammi, R.; Pomelli, C.; Ochterski, J. W.; Martin, R. L.; Morokuma, K.; Zakrzewski, V. G.; Voth, G. A.; Salvador, P.; Dannenberg, J. J.; Dapprich, S.; Daniels, A. D.; Farkas, Ö.; Foresman, J. B.; Ortiz, J. V.; Cioslowski, J.; Fox, D. J. (2009). Gaussian 09. *Gaussian, Inc., Wallingford CT*.
5. Gao, L., Tu, Y., Wegman, P., Wingren, S., & Eriksson, L. A. (2011). Conformational Enantiomerization and Estrogen Receptor α Binding of Anti-Cancer Drug Tamoxifen and Its Derivatives. *Journal of Chemical Information and Modeling*, *51*(2), 306-314. doi:10.1021/ci100401t
6. Hirshfeld, F. L. (1977). Bonded-atom fragments for describing molecular charge densities. *Theoretica chimica acta*, *44*(2), 129-138. doi:10.1007/bf00549096
7. IRARRÁZVAL O, M. E. (2011). Tamoxifeno y antidepresivos: ¿Antagonistas en la prevención del cáncer de mama? *Revista médica de Chile*, *139*, 89-99. Retrieved from http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872011000100013&nrm=iso
8. Khan, M. M., Wakade, C., de Sevilla, L., & Brann, D. W. (2015). Selective estrogen receptor modulators (SERMs) enhance neurogenesis and spine density following focal cerebral ischemia. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, *146*, 38-47. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jsbmb.2014.05.001>
9. Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., & Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature reviews Drug discovery*, *3*(11), 935-949.
10. Kohn, P. H. a. W. (1964). Inhomogeneous Electron Gas. *Phys. Rev.*, *136*, B864-B871.
11. Kohn, W., & Sham, L. J. (1965). Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. *Physical Review*, *140*(4A), A1133-A1138. Retrieved from <http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRev.140.A1133>

12. Kumar, V., Jain, G., Kishor, S., & Ramaniah, L. M. (2011). Chemical reactivity analysis of some alkylating drug molecules—A density functional theory approach. *Computational and Theoretical Chemistry*, 968(1), 18-25.
13. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings¹. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 46(1–3), 3-26. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00129-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0)
14. Lengauer, T., & Rarey, M. (1996). Computational methods for biomolecular docking. *Current opinion in structural biology*, 6(3), 402-406.
15. Maldonado-Rojas, W., Olivero-Verbel, J., & Marrero-Ponce, Y. (2015). Computational fishing of new DNA methyltransferase inhibitors from natural products. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 60, 43-54. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jmgm.2015.04.010>
16. Manas, N. H. A., Bakar, F. D. A., & Illias, R. M. (2016). Computational docking, molecular dynamics simulation and subsite structure analysis of a maltogenic amylase from *Bacillus lehensis* G1 provide insights into substrate and product specificity. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 67, 1-13. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jmgm.2016.04.004>
17. Morris, G. M., Goodsell, D. S., Halliday, R. S., Huey, R., Hart, W. E., Belew, R. K., & Olson, A. J. (1998). Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of Computational Chemistry*, 19(14), 1639-1662. Retrieved from <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-11644261806&partnerID=40&md5=6c24d48033c51d985d3f2bc2772cff69>
18. Morris, G. M., Ruth, H., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). Software news and updates AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785-2791. doi:10.1002/jcc.21256
19. Norgan, A. P., Coffman, P. K., Kocher, J.-P. A., Katzmann, D. J., & Sosa, C. P. (2011). Multilevel parallelization of AutoDock 4.2. *Journal of cheminformatics*, 3(1), 1.
20. Parr, R. G., Szentpály, L. v., & Liu, S. (1999). Electrophilicity Index. *Journal of the American Chemical Society*, 121(9), 1922-1924. doi:10.1021/ja983494x
21. Pearson, R. G. (1986). Absolute electronegativity and hardness correlated with molecular orbital theory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 83(22), 8440-8441. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC386945/>
22. Rassolov, V. A., Ratner, M. A., Pople, J. A., Redfern, P. C., & Curtiss, L. A. (2001). 6-31G* basis set for third-row atoms. *Journal of Computational Chemistry*, 22(9), 976-984. doi:10.1002/jcc.1058
23. Robert G. Parr, R. G. P. (1983). Absolute hardness: companion parameter to absolute electronegativity. *J. AM. CHEM. SOC.*, 105(20), 7512-7516. doi:10.1021/ja00364a005
24. Robert G. Parr, Y. W. (1989). *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules* New York, NY, USA: Oxford University Press.
25. Samanta, P. N., & Das, K. K. (2016). Prediction of binding modes and affinities of 4-substituted-2,3,5,6-tetrafluorobenzenesulfonamide inhibitors to the carbonic anhydrase receptor by docking and ONIOM calculations. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 63, 38-48. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jmgm.2015.11.010>

26. Sanyakamdhorn, S., Agudelo, D., Bekale, L., & Tajmir-Riahi, H. A. (2016). Targeted conjugation of breast anticancer drug tamoxifen and its metabolites with synthetic polymers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 145, 55-63. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.04.035>
27. Shiau, A. K., Barstad, D., Loria, P. M., Cheng, L., Kushner, P. J., Agard, D. A., & Greene, G. L. (1998). The Structural Basis of Estrogen Receptor/Coactivator Recognition and the Antagonism of This Interaction by Tamoxifen. *Cell*, 95(7), 927-937. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81717-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81717-1)
28. Tomasi, J., & Persico, M. (1994). Molecular Interactions in Solution: An Overview of Methods Based on Continuous Distributions of the Solvent. *Chemical Reviews*, 94(7), 2027-2094. doi:10.1021/cr00031a013
29. Zhao, Y., & Truhlar, D. (2008). The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. *Theoretical Chemistry Accounts*, 120(1-3), 215-241. doi:10.1007/s00214-007-0310-x
30. Zhao, Y., & Truhlar, D. G. (2008). Density Functionals with Broad Applicability in Chemistry.