

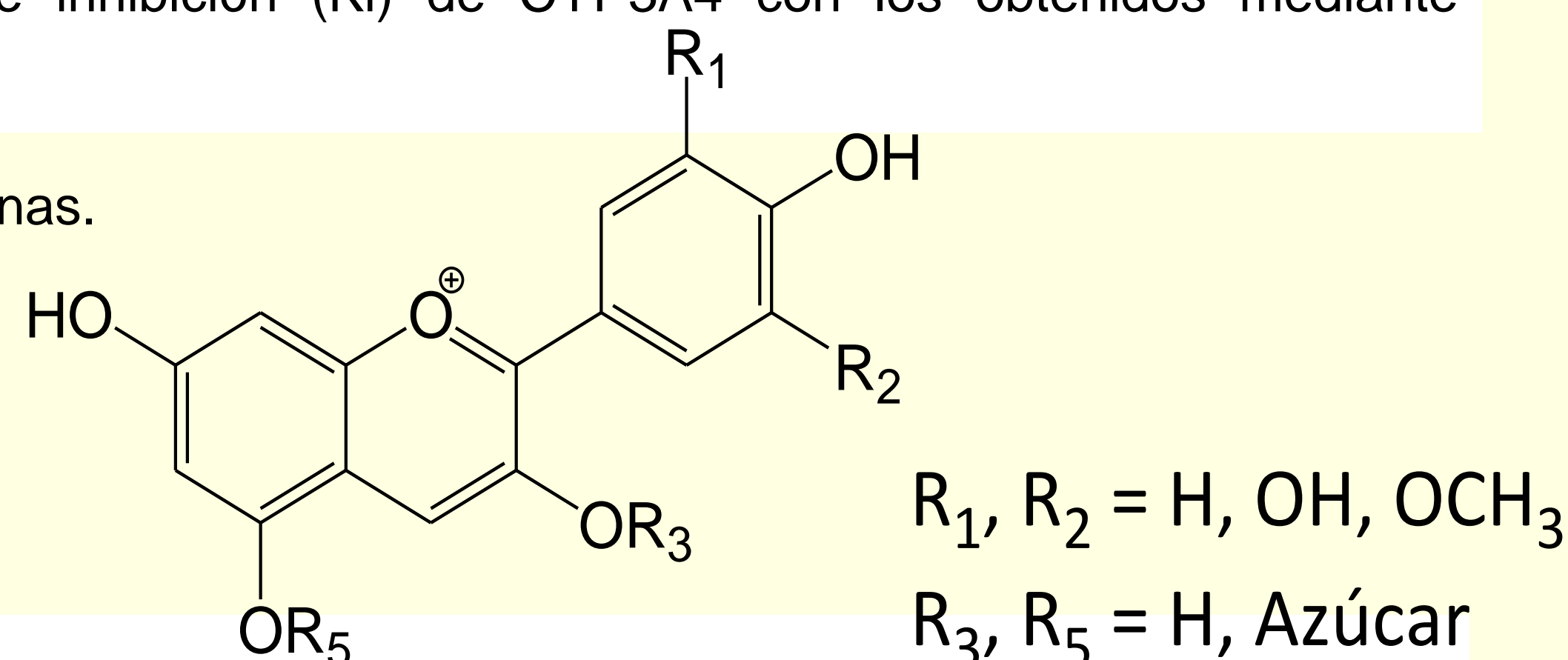
1. INTRODUCCIÓN

Las antocianinas son compuestos de la familia de los flavonoides [1,2]. Se encuentran principalmente como derivados glicosídicos de las antocianidinas cianidina, delphinidina, malvidina, pelargonidina, peonidina y petunidina [2]. La administración oral de frutas, extractos y compuestos puros que contienen antocianinas ha demostrado ser eficaz en la prevención y / o tratamiento de algunas enfermedades, como trastornos cardiovasculares, diabetes, artritis y cáncer, debido a las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias [2,3,4,5].

La familia de proteínas del citocromo P450 (CYP) está ampliamente distribuida en todos los reinos de la vida. CYP3A4 es la isoforma humana más abundante. CYP3A4 se encuentra en el hígado y metaboliza, total o parcialmente, alrededor del 45-60% de los fármacos clínicos [6]. Por tanto, la regulación de su expresión y/o actividad es clínicamente relevante [7]. Algunos miembros de la familia de los flavonoides, incluidas las proantocianidinas [8] y los biflavonoides [9], presentes en frutas, verduras y suplementos dietarios, han demostrado poseer la capacidad de modificar la actividad del CYP [10], cambiando así la farmacodinámica y la farmacocinética de muchos fármacos comerciales [11,12].

Ha surgido interés en realizar una búsqueda predictiva y selectiva dentro de la familia de las antocianinas, varios precursores y derivados, a través de estudios de Relaciones Cuantitativas Estructura-Actividad (QSAR) [13,14], para obtener un modelo matemático con poder predictivo al relacionar la estructura molecular, codificada dentro de los denominados descriptores moleculares, con una actividad biológica de interés. De esta manera se desarrollaron sistemas QSAR novedosos, sencillos y fácilmente interpretables para evaluar una serie de derivados de antocianinas como inhibidores de CYP3A4 mediante el análisis y comparación de los valores experimentales de la constante de inhibición (Ki) de CYP3A4 con los obtenidos mediante modelos predictivos.

Fig. 1. Estructura base de antocianinas.



2. METODOLOGÍA

Las actividades inhibitorias experimentales de P450 3A4 se extrajeron de la literatura [15] y se expresan como el logaritmo decimal negativo de la constante de inhibición experimental (pKi), que se ha obtenido utilizando el valor calculado de p/C_{50} [16] según la ecuación de interacción enzima-sustrato de Michaelis-Menten para especies no competitivas. El parámetro pKi varía en el intervalo (3.6030, 4.9100).

Las estructuras de las 16 antocianinas se representan con descriptores moleculares independientes de la conformación, con el fin de contemplar su naturaleza constitucional y topológica. Las moléculas se dibujan en formato MDL mol (V2000) en ACD/ChemSketch [17], mientras que PaDEL [18], PyDescriptor [19], Mold2 [20], Epi Suite [21], QuBiLS-MAS [22] y ISIDA/Fragmentor [23] permiten calcular 47,117 descriptores linealmente independientes. Todos estos programas son gratuitos y de libre acceso.

Las 16 moléculas de antocianinas se dividen en un conjunto de entrenamiento (12 compuestos, 75%) para el ajuste del modelo y un conjunto de prueba (4 compuestos, 25%) para la validación del modelo. A efectos de comparación, esto se realiza de dos formas alternativas: a) utilizando la misma metodología que en el estudio anterior de Shityakov *et al.* [15], es decir, utilizando un método de selección aleatoria que forma parte del módulo Strike 1.9 integrado en la suite de modelado molecular Maestro 9.1 [24]; y b) mediante el Método de Subconjuntos Equilibrados (BSM) [25].

Los modelos QSAR se establecen con el "Método del Reemplazo" (RM) [26], técnica matemática que permite seleccionar los mejores descriptores a partir un gran número de ellos al minimizar la raíz cuadrada del error cuadrático medio del conjunto de calibración (RMS_{cal}).

Aparte de utilizar un conjunto de validación, cada modelo se valida teóricamente por medio de validación cruzada 'Dejar-Uno-Afuera' (loo) [27]. Todos los algoritmos de Matlab [28] utilizados se desarrollaron en nuestro grupo de investigación y están disponibles por solicitud.

REFERENCIAS

- [1] Kahkonen, M. P., Heinonen, M. 2003. J. Agric. Food Chem. 51, 628. [2] Mercader, A. G., Pomilio, A. B. Capítulo 9. En: "Studies in Natural Products Chemistry" (Bioactive Natural Products), Prof. Atta-ur-Rahman (Ed.), Elsevier Science Publishers, The Netherlands, 2017. [3] Bentz, E. N., Pomilio, A. B., Lobayan, R. M. 2017. Comput. Theor. Chem. 1110, 14. [4] Putta, S., Yarla, N. S., Kumar, E. K., Lakkappa, D. B., Kamal, M. A., Scotti, L., Aliev, G. et al. 2018. Curr. Med. Chem. 25, 5347. [5] Chen, Z., Wang, C., Pan, Y., Gao, X., Chen, H. 2018. Food Funct. 9, 426. [6] Li, A., Yeo, K., Welty, D., Rong, H. 2018. Paediatr. Drugs 20, 181. [7] Zanger, U. M., Schwab, M. 2013. Pharmacol. Ther. 138, 103. [8] Lobayan, R. M., Jubert, A. H., Vitale, M. G., Pomilio, A. B. 2009. J. Mol. Model. 15, 537. [9] Mercader, A. G., Pomilio, A. B. 2011. Biflavonoids: Occurrence, Structural Features and Bioactivity. New York: Nova Science Publishers, Inc. [10] Miron, A., Aprotosoie, A. C., Trifan, A., Xiao, J. 2017. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1398, 152. [11] Moon, Y. J., Wang, X., Morris, M. E. 2006. Toxicol. In Vitro 20, 18. [12] Dreiseitel, A., Schreier, P., Oehme, A., Locher, S., Hajak, G., Sand, P. G. 2008. Mol. Nutr. Food Res. 52, 1428. [13] Hansch, C., Leo, A. Exploring QSAR. Fundamentals and Applications in Chemistry and Biology. American Chemical Society, Washington, D. C., 1995. [14] Duchowicz, P. R., Szewczuk, N. A., Pomilio, A. B. 2019. Food Sci. Technol. 56, 5518. [15] Shityakov, S., Puskás, I., Roewer, N., Förster, C., Broscheit, J. 2014. Adv. Appl. Bioinform. Chem. 7, 11. [16] Selvaraj, C., Tripathi, S. K., Reddy, K. K., Singh, S. K. 2011. Curr. Trends Biotechnol. Pharm. 5, 1104. [17] ACD/ChemSketch, www.acdlabs.com [18] PaDEL, <http://www.yapcwsoft.com/dd/padeldescriptor> [19] Masand, V. H., Rastija, V. 2017. Chemom. Intell. Lab Syst. 169, 12. [20] Hong, H., Xie, Q., Ge, W., Qian, F., Fang, H., Shi, L., Su, Z., Perkins, R. Tong, W., 2008. J. Chem. Inf. Model. 48, 1337. [21] Epi Suite 4.11, <https://www.epa.gov/tsca-screening-tools/epi-suite-estimation-program-interface> [22] Valdes-Martini, J.R., García Jacas, C.R., Marrero-Ponce, Y., Silveira Vaz 'd Almeida, Y., Morrel, C. Versión 1.0.CAMD-BIR Unit, CENDA Number of register: 2373-2012, 2012. [23] ISIDA/Fragmentor. 2017. <http://complex-matter.unistra.fr/equipos-de-recherche/laboratoire-dechemoinformatique/home> [24] Maestro 9.1. (2019) (n.d.). Schrödinger LLC. [25] Rojas, C., Duchowicz, P. R., Tripaldi, P., Pis Diez, R., 2015. J. Chromatogr. A 1422, 277. [26] Duchowicz, P.R., Castro, E.A., Fernández, F.M., 2006. MATCH Commun. Math. Comput. Chem. 55, 179. [27] Gramatica, P., 2007. QSAR Comb. Sci. 26, 694. [28] Matlab 7.6, <http://www.mathworks.com>

3. RESULTADOS

La partición aleatoria del conjunto de datos conduce a un modelo QSAR de un descriptor:

$$pK_i = -0.0029d_1 + 5.33 \quad (1)$$

$$N_{train} = 12, R_{train}^2 = 0.97, RMS_{train} = 0.07$$

$$R_{loo}^2 = 0.95, RMS_{loo} = 0.09, o_{2.5} = 0, R_{rand}^2 = 0.94, RMS^{rand} = 0.09, R_m^2 = 0.86$$

$$N_{test} = 4, R_{test}^2 = 0.98, RMS_{test} = 0.10$$

Por otro lado, la utilización del Método de Subconjuntos Equilibrados (BSM) brinda un nuevo modelo de 1 descriptor:

$$pK_i = -0.45d_2 + 0.84 \quad (2)$$

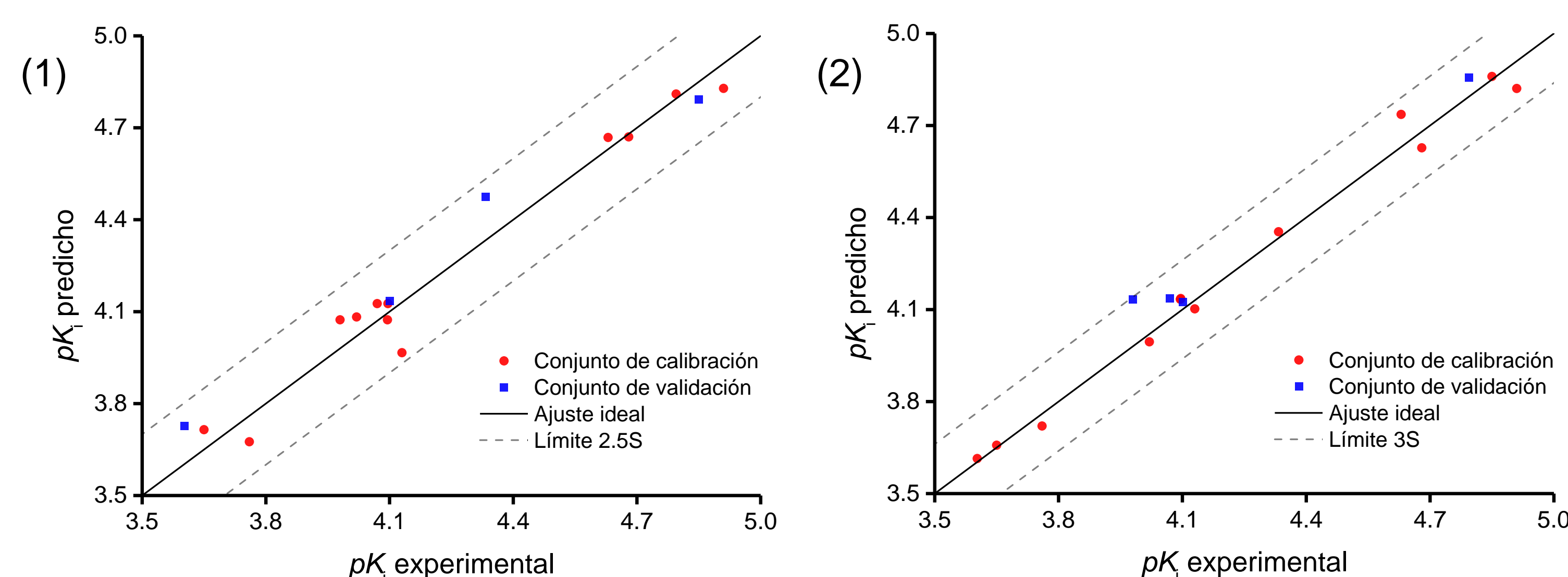
$$N_{train} = 12, R_{train}^2 = 0.99, RMS_{train} = 0.05$$

$$R_{loo}^2 = 0.98, RMS_{loo} = 0.06, o_3 = 0, R_{rand}^2 = 0.91, RMS^{rand} = 0.13, R_m^2 = 0.94$$

$$N_{test} = 4, R_{test}^2 = 0.98, RMS_{test} = 0.09$$

La capacidad predictiva de estas ecuaciones QSAR es satisfactoria según sugieren los parámetros estadísticos de calibración, validación cruzada (loo) y validación externa. Las moléculas de validación de las Ecs. 1-2 están contenidas dentro del dominio de aplicabilidad de cada modelo, por lo que sus predicciones pueden considerarse confiables. La relación número de moléculas cal a número de variables del modelo es aceptable.

Fig. 2. Predicciones de la actividad antioxidante por los modelos QSAR 1 y 2.



Los resultados QSAR sobre la inhibición del citocromo P450 3A4 por derivados de antocianinas se comparan bastante bien con los modelos 3D-QSAR propuestos [15], en donde se establecen modelos CoMFA (Análisis Comparativo de Campos Moleculares) y CoMSIA (Análisis Comparativo de Semejanza Molecular).

Fig. 3. Calidad estadística de los modelos 3D-QSAR y el presente estudio para predecir la constante de inhibición

Modelo	R_{train}^2	RMS_{train}	R_{test}^2	RMS_{test}
CoMFA	0.96	0.08	0.82	0.20
CoMSIA	0.95	0.09	0.81	0.20
Ecuación 1	0.97	0.07	0.98	0.10
Ecuación 2	0.99	0.05	0.98	0.09

4. CONCLUSIONES

El análisis de 102.260 descriptores moleculares no conformacionales, a través de modelos de regresión lineal univariable, provee mejores resultados predictivos en el conjunto de pruebas en comparación a resultados obtenidos a través de técnicas más sofisticadas, como CoMSIA y CoMFA. El modelo propuesto proporciona una guía QSAR prospectiva para la búsqueda de nuevos derivados de antocianinas que posean una actividad mutagénica predicha alta o baja.

AGRADECIMIENTOS

A CONICET, UNLP y UBA por subsidios e infraestructura. N.A.S. agradece a CONICET por Beca Interna Doctoral.