

# USO DE MÉTODOS COMPUTACIONALES PARA DESCUBRIR NUEVOS FÁRMACOS PARA EL TRATAMIENTO DE LA ALOPECIA ANDROGENÉTICA

Marcos López, Pablo Ignacio<sup>1</sup>; Martínez Tirado, Gabriel<sup>1</sup>

Tutora: Garrido Arandia, María<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Biotecnología-Biología Vegetal. E.T.S.I.A.A.B. Universidad Politécnica de Madrid

Correo electrónico: [pablo.marcos.lopez@alumnos.upm.es](mailto:pablo.marcos.lopez@alumnos.upm.es)

## RESUMEN

La Alopecia Androgenética (AA) es una variación genética que provoca la caída del cabello en debido a la hipersensibilidad de los folículos pilosos del cuero cabelludo a la dihidrotestosterona (DHT). El fármaco actualmente más utilizado, el finasteride (FNS), actúa bloqueando la generación de DHT en el cuero cabelludo por parte de la 5- $\alpha$ -reductasa, cuya isoforma II es la más activa en este tejido. Sin embargo, por sus efectos secundarios (depresión, disfunción eréctil, disminución de la libido...) no es adecuado para todo el mundo, lo que ha motivado nuestra búsqueda. En este contexto, la utilización de métodos computacionales está adquiriendo cada vez más importancia, pues permite analizar un gran número de compuestos reduciendo tanto el tiempo como los costes.

En este trabajo, hemos llevado a cabo un cribado virtual frente al finasteride, análogo de la testosterona que es la diana de la AA. Los resultados obtenidos han permitido identificar un nuevo compuesto con una menor constante de inhibición que el FNS, pasando de 26 nmol/l a 21 nmol/l y manteniendo una selectividad del 63% entre los tipos I y II, lo que esperamos permita evitar los efectos secundarios del FNS.

**Palabras clave:** Alopecia Androgenética, Descubrimiento de fármacos, Finasteride

## INTRODUCCION

La calvicie, o Alopecia Androgenética (AA), es una variación genética presente en cerca del 40% de los hombres españoles que provoca la caída del cabello en el cuero cabelludo debido a la hipersensibilidad de los folículos pilosos a la dihidrotestosterona (DHT), un potente andrógeno derivado de la testosterona (Randall, 2010).

A excepción de los trasplantes capilares, que reposicionan folículos de los laterales y la parte posterior de la cabeza (insensibles a la DHT) en la parte superior, sólo hay dos fármacos aprobados para tratar la AA: el minoxidil y el finasteride. Mientras que el primero simplemente retrasa el proceso de caída, nutriendo los folículos pilosos y aumentando temporalmente su resistencia (Suchonwanit et al., 2019), el segundo trata directamente la raíz del problema (Leyden et al., 1999). Así, el FNS inhibe de forma competitiva y no suicida la 5 $\alpha$ -reductasa, la enzima que convierte la testosterona en DHT en el cuero cabelludo, actuando selectivamente contra la isoforma tipo II (expresada en el cuero cabelludo), y sólo ligeramente contra la tipo I (expresada en el hígado y en la piel). Esto permite disminuir sus efectos secundarios (disminución de la libido y los niveles de esperma, la disfunción eréctil y depresión), manteniendo su efectividad: puede frenar la caída del cabello hasta en un 60% de los pacientes y aumentar la densidad capilar en un 35% (Leyden et al., 1999). Sin embargo, los efectos secundarios, que siguen existiendo, así como la posibilidad de tratar también la Hiperplasia Benigna de Próstata, con la que la AA comparte mecanismo, nos motivan a la hora de buscar un nuevo y mejor fármaco.

Así, hemos llevado a cabo un cribado virtual de una base de datos de 177000 moléculas usando FNS como guía, con el fin de identificar un compuesto con mayor eficacia y que mantenga la selectividad contra el 5 $\alpha$ R tipo II (de forma que se mantengan ciertos niveles de DHT fuera del cuero cabelludo), lo que esperamos limite los efectos secundarios.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Cribado Virtual Basado en el Ligando

Se realizaron dos cribados consecutivos. Primero, usamos SwissSimilarity (Zoete et al., 2016) para obtener una lista de moléculas similares al FNS, usando el método "Combined" y la base de datos de moléculas bioactivas de ChEMBL (con más de 177.000 entradas). Sobre la nueva lista, seleccionamos las moléculas de mayor similitud química a la inicial, usando RDKit (Rdkit Team, 2022) para calcular las huellas moleculares MACCS y el índice de Dice, seleccionando aquellas moléculas con un valor superior a 0.75, el Q2 de la distribución.

### Cribado Virtual Basado en la utilización de Farmacóforos

Se generó un farmacóforo utilizando la estructura de cuatro moléculas selectivas: CHEMBL2282655, CHEMBL2282779, CHEMBL2282654 y CHEMBL2282782. A estas moléculas se les otorgó estructura 3D usando el software USCF Chimera en modo "Build Structure", añadiendo cargas e hidrógenos y minimizando posteriormente la estructura con cinco ciclos de 500 *steepest descent steps* y 50 pasos de *conjugate gradient steps*. Se añade la estructura 3D del FNS, obtenida del *Protein Data Bank* (PDB 7BW1).

Una vez preparadas las moléculas, se genera el farmacóforo usando PharmaGist (Schneidman-Duhovny et al., 2008). Debido a la importancia de las interacciones hidrofóbicas en este compuesto, se cambia el *scoring* de la propiedad *Hydrophobic* a 0.5. Se usa este modelo para filtrar a base de datos obtenida en el apartado anterior, validando los resultados mediante la inclusión en la base de datos resultante de aquellos compuestos con capacidad conocida de unirse a la diana.

### Análisis de propiedades ADME

El análisis de las propiedades ADME (Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción) se realizó mediante RDKit, evaluando si los compuestos presentes en la anterior base de datos cumplen la Regla de Cinco (Peso molecular < 500 Da, nº de átomos aceptores de  $\text{pH} < 10$  y donadores < 5, coeficiente de partición n-octanol/agua < 5 y superficie polar < 14 nm)(Lipinski, 2004). No hemos realizado un análisis QSAR (relación cuantitativa estructura-actividad) del traspaso de la barrera hematoencefálica, pues las hormonas esteroideas (de las que nuestro fármaco será análogo) la atraviesan sin causar problema.

### Cribado Virtual Basado en la Estructura

Finalmente, la afinidad de los compuestos candidatos fue analizada mediante *docking* o acoplamiento molecular. Para llevar a cabo dicho proceso, se utilizó la herramienta web Dock Thor (Guedes et al., 2021), un servicio de docking online proporcionado por el *Laboratório Nacional de Computação Científica do Brasil*.

Así, para analizar la selectividad de las moléculas, se usaron dos estructuras: la de la 5 $\alpha$ R tipo II (PDB 7BW1 #A) y la de la 5 $\alpha$ R tipo I (que, al no estar presente de forma experimental, se tomó de las predicciones de AlphaFold (Jumper et al., 2021), con identificador #P18405).

Para validar el proceso y confirmar las dimensiones y el centro de la caja de acoplamiento seleccionada (expresados en la **Tabla 1**, y usados para ambas isoformas), realizamos un redocking del finasteride (PDB 7BW1 #A), obteniendo como Raíz del Error Cuadrático Medio (*RMSD* en inglés, una medida de la validez del estimador) 45,3 nm.

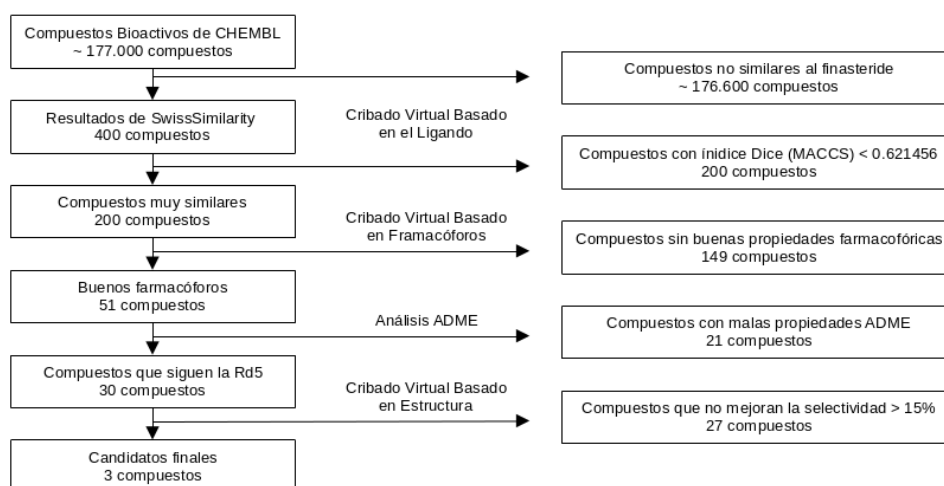
**Tabla 1. Caja de docking usada durante el Cribado Virtual Basado en la Estructura**

	x	y	z
Centro de la Caja	-2.36	1.41	3.4
Dimensiones (nm)	1.2	1.3	0.88

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para obtener un nuevo inhibidor selectivo de la 5αR tipo II, hemos realizado una serie de cribados virtuales sobre la base de datos de 177.000 compuestos bioactivos presentes de ChEMBL, tomando como referencia al FNS y siguiendo el esquema de la **Figura 1**.

**Figura 1. Proceso de Cribado Virtual**



Inicialmente se realizaron dos filtrados consecutivos basados en la similitud de la estructura con el FNS, uno de ellos mediante el método *Combined* de Swiss similarity y otro mediante el análisis de las huellas moleculares. De esta forma se obtuvo una base de datos en la que solo se encontraban compuestos similares tanto en forma como en características químicas al FNS, reduciendo la base de datos 177.000 a 200 compuestos.

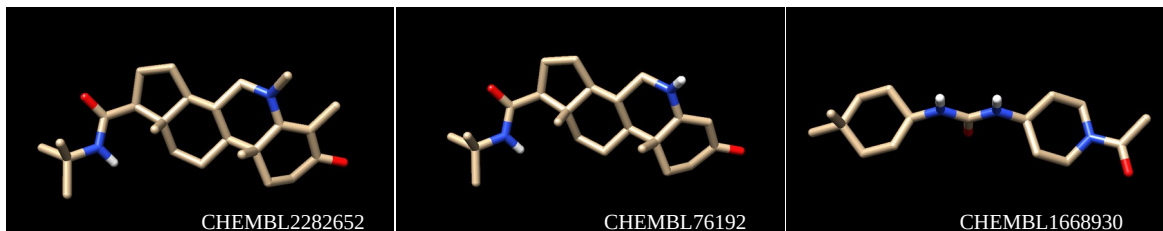
Después, con el objetivo de seleccionar aquellas moléculas con selectividad detectable hacia la isoforma tipo II, creamos un modelo farmacofórico usando la estructura cristalográfica del finasteride y otros cuatro compuestos selectivos, que provienen del mismo paper y tienen el mismo mecanismo que el FNS, lo que ayuda al *targetting* (Kumar & Kumar, 2013). Este filtrado permitió reducir la base de datos a 51 candidatos posibles, sobre los que se llevó a cabo un análisis de sus propiedades ADME. Tras la eliminación de los compuestos que no cumplieran completamente con la Regla de los Cinco de Lipinski, se obtuvieron 30 que se utilizaron para calcular la energía de interacción con las dos isoformas de la enzima usando Dock Thor. Después, se seleccionaron aquellos compuestos con una ganancia del 15% de afinidad respecto a la 5αR tipo II, y una pérdida del 15% de afinidad respecto a la 5αR tipo I, obteniendo la **Tabla 2**, que recoge los distintos compuestos según su constante de inhibición ( $K_i$ ) predicha por Dock Thor.

**Tabla 2. Posibles fármacos. En azul, FNS, y sus predicciones de  $K_i$  (en nmol/l). En verde, el mejor hit. El Ratio de selectividad =  $100 \cdot (K_i \text{ tipo I} - K_i \text{ tipo II}) / K_i \text{ tipo II}$**

Chembl ID	$K_i$ para la 5αR tipo II	$K_i$ para la 5αR type I	Ratio de Selectividad
Finasteride	26.7135	30.8614	15.53
CHEMBL2282652	24.8536	36.2249	45.75
CHEMBL76192	24.6041	39.9923	62.54
CHEMBL1668930	21.7651	35.5565	63.36

Como podemos ver, todos los fármacos propuestos presentan tanto una mayor selectividad (potencialmente, menos efectos secundarios) como una mayor afinidad (y, así, una mayor eficacia) respecto a la isoforma II. Sin embargo, de todos ellos, destaca como el mejor *CHEMBL1668930*, pues no sólo es el más selectivo, sino, también, el que presenta una mayor afinidad hacia la isoforma II de la 5aR, y, por tanto, mayor potencial eficacia clínica. La estructura de los tres compuestos puede visualizarse en la **Figura 2**.

**Figura 1. Estructuras 3D de CHEMBL2282652, CHEMBL76192 y CHEMBL1668930, en su conformación predicha para la 5aR tipo II**



## CONCLUSIONES

En este trabajo, hemos logrado, a partir de una base de datos de 177.000 compuestos y a través de una serie de cribados virtuales, seleccionar las moléculas similares al finasteride con mejores características físico-químicas y farmacológicas.

En el mejor de los compuestos, hemos logrado disminuir la  $K_i$  de 26 nmol/l (Hulin-Curtis et al., 2010) a 21 nmol/l, lo que hace al inhibidor más efectivo, y, por tanto, más potente a la hora de bloquear la conversión de la testosterona en DHT; mientras que, al mismo tiempo, hemos aumentado la selectividad del 15.53 al 63.36%, lo que permite concentrar la actuación del fármaco en la zona del cuero cabelludo y, de esta manera, potencialmente reducir los efectos secundarios debidos a la falta de DHT en el cuerpo.

Además, el cumplimiento de la Regla de Cinco nos indica que el compuesto puede ser activo vía oral en seres humanos, lo que sería beneficioso, no sólo en el tratamiento de la Alopecia Androgenética en sí, sino, potencialmente, también de la Hiperplasia Benigna de Próstata, con la que comparte mecanismo molecular.

## BIBLIOGRAFÍA

- Guedes, I. A.; Barreto, A. M. S.; Marinho, D.; Krempser, E.; Kuenemann, M. A.; Sperandio, O.; Dardenne, L. E.; Miteva, M. A., 2021, *Sci Rep*, vol. 11, n.º 1, p 3198 - <https://dockthor.lncc.br/v2/>
- Hulin-Curtis S.L., Petit D., Figg, D., Hsing A.W. & Reichardt KV J, 2010, *Future Medicine*, vol 6, n.º 12
- Jumper, J et al., 2021, *Nature*, vol. 596, pp. 583–589 - <https://alphafold.ebi.ac.uk>
- Randall A.V., Trüeb R. M., Tobin D. J., 2010, *Aging Hair*, editorial Berlin, pp. 9–24
- Kumar, R. & Kumar, M., 2013, *Medicinal Chemistry Research*, vol. 22, pp. 105–114
- Leyden J, Dunlap F, Miller B, 1999, *Journal of the American Academy of Dermatology*, Vol 4, n.º 6, pp 930-937
- Lipinski, C.A., 2004, *Drug Discovery Today: Technologies*, vol. 1, n.º 4, pp. 337-341
- RDKit Team, 2022: <http://www.rdkit.org>
- Schneidman-Duhovny D, Dror O, Inbar Y, Nussinov R., 2008, *Nucleic Acids Research*, vol 36, n.º 2 - <http://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/pharma/>
- Suchonwanit P., Thammarucha S., Leerunyakul K., 2019, *Drug Design, Dev. and Tre.*, vol 3, pp 2777-2786
- Zoete, V., Daina, A., Bovigny, C., & Michielin, O 2016, *J. Chem. Inf. Model.*, vol 56, n.º 8, pp 1399-1404