

# Modelos teóricos de relación estructura química-actividad biológica de flavonoides estrogénicos

Julio César Escalona, Ramón Carrasco\*, Katherine Guerra y Jesús Centeno\*\*

Departamento de Farmacia, Universidad de Oriente, \*Centro de Química Farmacéutica, Ciudad de La Habana, Cuba, \*\*Departamento de Química, Universidad de Oriente, Cuba

Recibido: 25 de agosto de 1999

Aceptado: 8 de marzo del 2000

Palabras clave: Estrógenos, flavonoides, distancia,  $17\beta$ -estradiol, estructura-actividad  
Key words: Estrogens, flavonoids, distance,  $17\beta$ -estradiol, structure-activity

**RESUMEN.** Se reportan los resultados de un estudio de modelación molecular en una familia de 33 flavonoides con actividad estrogénica reportada en la literatura. Para la optimización de la geometría de la estructura de los compuestos como molécula aislada, se empleó el método PM3 que se encuentra en el paquete MOPAC de cálculos químico-cuánticos. Se discute la influencia de los patrones de sustitución en los flavonoides estudiados ante la respuesta estrogénica, y se ofrece una explicación teórica a la baja efectividad mostrada por algunos de ellos, no obstante presentar patrones de sustitución aparentemente óptimos para esta actividad. Se proponen las posiciones que justificarían la mayor potencia en estos compuestos. Se demostró teóricamente que la mayoría de los flavonoides evaluados que presentan sustituciones hidroxílicas en 4',7- y la 4',5- son capaces de alcanzar una distancia cercana a aquellas reportadas por cristalografía de rayos X para los estrógenos naturales. Los valores teóricos de distancia encontrados pudieran justificar la capacidad de unión al receptor estrogénico de aquellos compuestos que presentan dicha actividad. La excepción la constituyen las flavononas, las cuales sólo logran alcanzar la distancia teórica necesaria para la unión con el receptor con los sustituyentes en posiciones 4',7-.

**ABSTRACT.** The results of a molecular modeling study in a 33 flavonoids family with estrogenic activity are reported. The PM3 semiempirical method included in the MOPAC package of quantum-chemical calculations was used for the full geometry optimization of each one the structures of the compounds in the sample. The influence of the pattern substitution in the flavonoids with apparently good pattern substitution is explained, from the theoretical point of view. The substituent positions to achieve the maximum activity are proposed. It was theoretical demonstrated that, when in the structure of the compounds are included hydroxyl groups in 4',7- and 4',5-positions, it is possible to reach an almost equal distance that reported by X-ray cristalography for naturally occurring estrogens. The theoretical values we found, could justify the capability of the compounds which act as estrogens to bind to the estrogen receptor. The exception are the flavononas, which can reach the theoretical distance only when the hydroxyl groups are in the 4',7-positions.

## INTRODUCCION

Los flavonoides son un grupo de metabolitos secundarios de naturaleza polifenólica distribuidos ampliamente en frutas y vegetales, cuyo número oscila alrededor de los 5 000

compuestos. Son varios los reportes de actividad que van, desde su empleo en la terapia como antioxidantes<sup>1-3</sup> hasta su acción contra el virus del SIDA.<sup>4</sup> En los últimos años, los flavonoides han llamado la atención en cuanto a propiedades estrogénicas

respecta. Muchas son las investigaciones realizadas en este sentido,<sup>5,6</sup> destacándose el estudio experimental realizado por Miksicek<sup>7</sup> en el cual se determinó la capacidad de estos compuestos de estimular el receptor estrogénico mediante la técnica de transfección en un ensayo *in vitro* en células HeLa y se sugirió de forma empírica algunos sustituyentes y posiciones indispensables para lograr esta respuesta.

La actividad más conocida de los estrógenos endógenos es la del desarrollo y mantenimiento de los caracteres sexuales femeninos. Recientemente, además de estas funciones, se ha demostrado que estos compuestos juegan un papel relevante en otros sistemas; como los sistemas músculo esquelético, cardiovascular y nervioso central, tanto en machos como en hembras.<sup>8</sup> Tal distribución de los receptores estrogénicos, así como el hecho de que éste sea el único receptor dentro de la superfamilia de los receptores esteroidales capaz de ser activado por sustancias que no presentan el núcleo esteroide, ha sido motivo de múltiples investigaciones y de una nueva reclasificación.<sup>9</sup>

El aspecto estructural reportado como indispensable para la unión del fármaco al receptor estrogénico es la presencia de dos grupos capaces de interaccionar por puente de hidrógeno con las cadenas polipeptídicas del receptor<sup>10</sup> situados, para el caso del  $17\beta$ -estradiol, en posiciones 3 y 17 (Fig. 1).

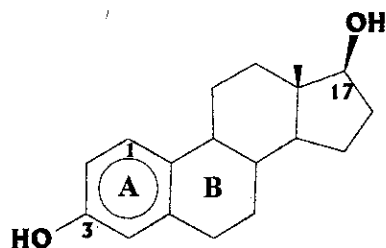


Fig. 1. Esquema de la molécula del 17  $\beta$ -estradiol

En un estudio reciente por cristalografía de rayos X del complejo receptor-estrogénico/17  $\beta$ -estradiol, se demostró la necesidad del OH fenólico para el anclaje directo de la molécula al receptor,<sup>11</sup> el cual forma enlaces por puente de hidrógeno con los restos glutámico 353 de la hélice H3, la arginina 394 de la H6 y con una molécula de agua. Por otra parte, el grupo hidroxilo de posición 17 interacciona con el nitrógeno heterocíclico de la histidina 524 de la H11. El resto de la molécula establece interacciones hidrofóbicas concentradas sobre el anillo A y la interfase A/B. Las contribuciones energéticas de los grupos hidroxilo y de las interacciones hidrofóbicas del 17  $\beta$ -estradiol han sido analizadas por Anstead.<sup>12</sup> Estudios de relación estructura-actividad tridimensionales (3D-QSAR) confirman la importancia de las contribuciones de los grupos hidroxilo y de la interfase A/B.<sup>13</sup>

Los flavonoides, al igual que otros fitoestrógenos relacionados, son considerados como agonistas parciales del receptor estrogénico, ya que reproducen la mayoría de las actividades del 17  $\beta$ -estradiol. No obstante ello, los más activos son capaces de mimetizar estos efectos en concentraciones del orden de los  $\mu$ g, lo que les confiere una alta afinidad hacia el receptor.<sup>7</sup>

El objetivo del presente trabajo es identificar, desde un punto de vista teórico, aquellos requerimientos estructurales necesarios para que este grupo de compuestos presente actividad estrogénica, como contribución a la dilucidación de la naturaleza del farmacóforo estrogénico.

## MATERIALES Y METODOS

En el estudio se emplearon los datos de actividad estrogénica reportados por Miksicek,<sup>7</sup> (Tabla 1), para 33 compuestos de la familia de los flavonoides divididos en 4 subgrupos: flavon(oles)as, flavanon(oles)as, calconas, y catequinas (Fig. 2).

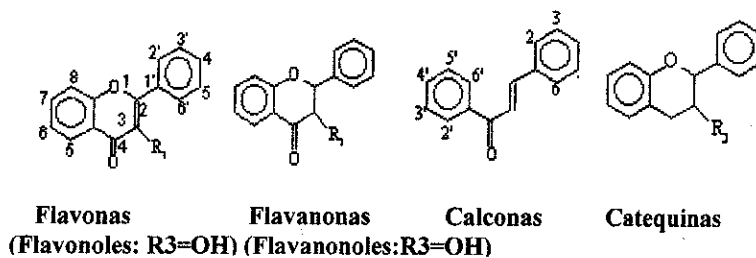


Fig. 2. Esquema del núcleo básico de los flavonoides empleados en el estudio

En el ensayo de transfección transiente de células HeLa se mide la actividad de la cloramfenicol acetil transferasa después de la adición del compuesto a evaluar y se calcula en términos de *p*moles de cloramfenicol acetilado por mg de proteína citosólica.<sup>7</sup> Según el reporte, los datos se compilaron de 30 ensayos independientes de transfección y su significación se analizó por la prueba *t* de Student.

La generación y una optimización previa de las estructuras se realizaron por mecánica molecular con el programa HyperChem.<sup>14</sup> El método de cálculo químico-cuántico utilizado fue la parametrización semiempírica MNDO/PM3 incluido dentro del programa MOPAC 6.0.<sup>15</sup> A las estructuras se les realizó una optimización total de geometría utilizando el método EF, incluyendo la opción PRECISE y GEO-OK, y una norma de gradiente de 0,01 Kcal/mol  $\text{Å}^{-1}$ .

Las estructuras así generadas fueron objeto de un análisis de distancia entre los grupos hidroxilo, comparándola en cada caso con la existente en el 17  $\beta$ -estradiol y la estrona, según datos de cristalografía de rayos X.<sup>16,17</sup> Posteriormente, se analizaron las influencias intermoleculares de cada grupo sustituyente con respecto al núcleo básico de los flavonoides y su interacción con el resto de los grupos sustituyentes.

## RESULTADOS Y DISCUSION

A pesar de disponer de datos de cristalografía de rayos X para las distancias entre las funciones oxigenadas de las posiciones 3 y 17  $\beta$  del núcleo de la estrona y del 17  $\beta$ -estradiol, se procedió a la optimización de sus geometrías para comprobar la diferencia entre los valores teóricos y los experimentales. Los resultados aparecen recogidos en la Tabla 2.

Como puede observarse en la Tabla 2, las diferencias entre los valores calculados y los experimentales están

en el orden de los 0,02  $\text{Å}$ ; aunque hay que tener en cuenta que el valor cristalográfico del 17  $\beta$ -estradiol no se ha calculado de forma directa, pues no han podido obtenerse cristales de él. En este trabajo empleamos el valor reportado que corresponde al derivado 3,4,17  $\beta$ -triol. Para el caso de la estrona, la diferencia es de sólo 0,001  $\text{Å}$ , por lo que la precisión de los cálculos se considera suficiente.

Teniendo en cuenta que para que una sustancia presente actividad estrogénica se requiere la presencia en la molécula de dos grupos capaces de interactuar por puentes de hidrógeno con el receptor y que las distancias entre estos grupos con el receptor oscilan, para los estrógenos naturales, alrededor de los 10,8  $\text{Å}$ . Sólo se tuvieron en cuenta aquellas estructuras flavonólicas que estuvieran sustituidas en los dos anillos benzénicos.

Considerando las diferencias estructurales de los diferentes tipos de flavonoides estudiados, se procedió a realizar un análisis de los mismos por subfamilias.

De las 21 flavonas presentes en la muestra de estudio, sólo se presentan los resultados de las distancias obtenidas para 14 de ellas, pues son las que cumplen las premisas anteriormente señaladas. Nótese que las 7 estructuras omitidas en la tabla presentan valores de actividad bajos (menores de 300 *p*moles/min). Los resultados de las distancias se reflejan en la Tabla 3.

Como se puede observar en la Tabla 3, las posiciones entre sustituyentes que alcanzan valores de distancia similares a los 10,79 y 10,84  $\text{Å}$  obtenidos para la estrona y el 17  $\beta$ -estradiol respectivamente, son las posiciones 4'-5, 4'-7 y 5'-7. En tal sentido puede considerarse que estas posiciones, de cumplirse la hipótesis de distancia como farmacóforo, son las óptimas para lograr una buena respuesta como fármaco estrogénico.

Tabla 1. Actividad estrogénica de flavonoides y otros compuestos

Compuesto	Nombre genérico	Actividad	
		Media $\pm$ EE*	Rango**
Etanol	Etanol	82 $\pm$ 12	34-214
17 $\beta$ -estradiol	17 $\beta$ -estradiol	964 $\pm$ 117*10 <sup>3</sup>	435-2 037
3,4',5,7-tetrahidroxiflavona	Kaempferol	858 $\pm$ 143	321-1 171
4',5,7-trihidroxiflavona	Apigenina	544 $\pm$ 157	179-1 169
4',6-dihidroxiflavona	-	427	420-434
4',5-dihidroxiflavona	-	389 $\pm$ 95	234-563
6-hidroxiflavona	-	287	203-370
4'-hidroxiflavona	-	237	149-324
3',4',5,7-tetrahidroxiflavona	Luteolina	168	114-221
3',7-dihidroxiflavona	-	162 $\pm$ 30	107-211
3',6-dihidroxiflavona	-	161	93-230
3,3',4',7-tetrahidroxiflavona	Fisetina	135 $\pm$ 34	73-228
3,5,7-trihidroxiflavona-4'-metoxiflavona	Kaempferide	130 $\pm$ 31	95-193
7-hidroxiflavona	-	93 $\pm$ 22	55-155
3-hidroxiflavona	-	92 $\pm$ 9	81-110
3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona	Quercetina	75 $\pm$ 28	25-123
3,3',4',5,5',7-hexahidroxiflavona	Miricetina	74 $\pm$ 18	48-120
7,8-dihidroxiflavona	-	72 $\pm$ 19	17-146
3,5,7-trihidroxiflavona	Galangina	72 $\pm$ 17	42-119
4',7,8-trihidroxiflavona	-	68	n/a
2',3,4',5,7-pentahidroxiflavona	Morina	67 $\pm$ 11	46-80
Flavona	-	52 $\pm$ 11	35-85
3',4',7-trihidroxiflavona	-	42	n/a
4',7-dihidroxiflavanona	-	903 $\pm$ 202	450-1 396
4',5,7-trihidroxiflavanona	Naringenina	574 $\pm$ 235	174 $\pm$ 1 930
3,3',4',5,7-pentahidroxiflavanona	Taxifolina	97 $\pm$ 28	44-139
3,3',4',5,7-Flavan pentol	( $\pm$ ) Catequina	97 $\pm$ 16	67-140
3',5,7-trihidroxiflavanona-4'-metoxiflavanona	Hesperetina	86	n/a
Flavanona	-	40 $\pm$ 13	21-66
2',4,4'-trihidroxicalcona	Isoliquiritigenina	994 $\pm$ 219	300-1 801
4,4'-dihidroxicalcona	-	471 $\pm$ 156	163-1 218
2',4,4',6-tetrahidroxidihidrocalcona	Floretina	402 $\pm$ 68	124-711
2',4,4',6-tetrahidroxicalcona	Naringenin Calcona	156 $\pm$ 35	41-301
4-hidroxicalcona	-	152 $\pm$ 99	44-350
4-hidroxiflavanona-4'-metoxicalcona	-	86	n/a

\*Valor medio de 30 ensayos de transfección independientes en células HeLa y error estándar

\*\*Intervalo en que se determinaron los datos de actividad

Tabla 2. Valores experimentales y teóricos entre sustituyentes 3 y 17 $\beta$  de la estrona y el 17 $\beta$ -estradiol

Compuesto	Valor rayos X (Å)	Valor calculado (Å)	Diferencia (Å)
Estrona	10,791	10,792	0,001
4-OH, 17 $\beta$ -estradiol	10,863	10,837	0,026

Tabla 3. Distancia entre los grupos sustituyentes con posibilidades de interactuar con el receptor estrogénico

Compuesto	Distancias entre grupos según las posiciones (Å)											Actividad
	4'-5	4'-6	4'-7	4'-8	3'-5	3'-6	3'-7	2'-5	2'-7	5'-5	5'-7	
3,4',5,7-tetrahidroxiflavona	<b>10,74</b>		<b>10,71</b>									<b>858</b>
4',5,7-trihidroxiflavona	<b>10,70</b>		<b>10,81</b>									<b>544</b>
4',6-dihidroxiflavona		11,80										<b>427</b>
4',5-dihidroxiflavona	<b>10,70</b>											<b>389</b>
3',4',5,7-tetrahidroxiflavona	<b>10,72</b>		<b>10,84</b>		9,74		8,77					168
3',7-dihidroxiflavona							8,80					162
3',6-dihidroxiflavona							10,42					161
3,3',4',7-tetrahidroxiflavona			<b>10,62</b>				8,52					135
3,5,7-trihidroxiflavona	<b>10,75</b>		<b>10,68</b>									130
3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona	<b>10,76</b>		<b>10,62</b>		9,70		8,52					75
3,3',4',5,5',7-hexahidroxiflavona	<b>10,74</b>		10,58		9,78		8,59			9,57	<b>10,66</b>	74
4',7,8-trihidroxiflavona			<b>10,86</b>	8,20								68
2',3,4',5,7-pentahidroxiflavona	<b>10,75</b>		<b>10,65</b>					7,37	6,15			67
3',4',7-trihidroxiflavona			<b>10,62</b>				8,51					42

La actividad esta expresada en pmoles/min

Los valores destacados en negritas representan las distancias consideradas como cercanas a la de los esteroides naturales y las actividades consideradas como buenas

Los compuestos con valores de actividad considerados como buenos, incluyen patrones de sustitución 4'-5 y 4'-7 con excepción de la 4'-6 dihidroxiflavona, pero no todos los sustituidos en esta posición presentan buena actividad. Un análisis más detallado de las estructuras revela que un gran número de los compuestos, presentan un grupo catecólico, ya sea en el anillo benzopiránico o en el de benceno. Estas estructuras catecólicas implican enlaces por puentes de hidrógenos intramoleculares, tal y como lo revelan las distancias de 2,34 Å obtenidas para los catecoles formados por sustituciones hidroxílicas sobre posiciones 3',4'- y de 2,33 Å para los catecoles de posiciones 7,8. La formación de estos puentes de hidrógeno intramoleculares entre los hidroxilos catecólicos ha sido descrita con anterioridad en la literatura.<sup>18</sup>

Tomando en consideración los datos cristalográficos obtenidos para el complejo receptor estrogénico 17  $\beta$ -estradiol, en el cual los dos grupos hidroxilo se encontraban interactuando con el receptor con donación del protón, resulta evidente que los protones de los grupos hidroxilo ubicados en posiciones óptimas para interactuar con el receptor deben estar libres para poder unirse al mismo, cosa que no ocurriría si éstos se

encontraran involucrados en enlaces de hidrógeno intramoleculares. Por esta misma razón, el bloqueo de la posición 4' en la 3,5,7-trihidroxiflavona, generara una disminución de actividad. Estas observaciones han sido realizadas en los esteroides naturales, encontrándose valores bajos de actividad para los derivados 4-OH y 2-OH estradiol, especialmente para el derivado 2-OH, en el cual el protón del grupo hidroxilo de la posición 3 está orientado hacia el oxígeno de la posición 2.<sup>12</sup> De tal manera, las sustituciones con grupos hidroxilo en 4'-5 y 4'-7 generan moléculas con una elevada afinidad por el receptor estrogénico, siempre y cuando estos grupos hidroxilos se encuentren "libres" para poder interactuar con el receptor.

Sólo quedarían las excepciones de la 2',3,4',5,7-pentahidroxiflavona y de la 4',6 dihidroxiflavona. En el caso de la primera, la baja actividad puede estar relacionada con la presencia del grupo hidroxilo en posición 2', el cual se ubicaría por superposición espacial con los estrógenos en una zona correspondiente al carbono 1 (Fig. 3), la cual no admite sustituciones.<sup>12</sup> En el segundo caso, la actividad de la 4'-6 dihidroxiflavona puede estar relacionada con la flexibilidad que puede mostrar el receptor,<sup>11</sup> pues el raloxifeno,

compuesto de actividad antiestrogénica reconocida, presenta los hidroxilos ubicados a una distancia teórica de 11,66 Å, según cálculos realizados por nosotros con las mismas condiciones de trabajo empleadas en este estudio.

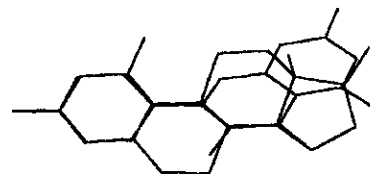


Fig. 3. Esquema de las estructuras superpuestas del 17  $\beta$ -estradiol y la 2',3,4',5,7-pentahidroxiflavona.

En orden decreciente de actividad, los compuestos 3,4',5,7-tetrahidroxiflavona, 4',5,7-trihidroxiflavona y 4',5-dihidroxiflavona son los considerados como mejores agonistas del receptor estrogénico. La 4',5-dihidroxiflavona presenta una buena actividad al presentar los grupos hidroxilos de posición 4' y 5 a una distancia de 10,70 Å, valor muy próximo al de los estrógenos naturales. La 4',5,7-trihidroxiflavona presenta un valor de actividad superior al compuesto anterior. Esto puede estar dado por la doble posibilidad de interacción con el receptor

que le pueden brindar las combinaciones 4',5- y 4',7-diOH, ambas con distancias consideradas como óptimas para su interacción con el mismo. El compuesto más activo de toda la serie lo constituye la 3,4',5,7-tetrahidroxiflavona, el cual, al poseer un grupo hidroxilo en posición 3, puede formar un enlace por puente de hidrógeno intramolecular con el grupo carbonilo de la posición 4 (2,39 Å). La formación de este enlace favorecería la actividad, al quedar disponible el grupo hidroxilo de posición 5 que también puede formar enlace por puente de hidrógeno con el grupo carbonilo de la posición 4 (2,32 Å), aumentando así su posibilidad de interacción con el receptor<sup>17</sup> tal y como se refleja en la Fig. 4.

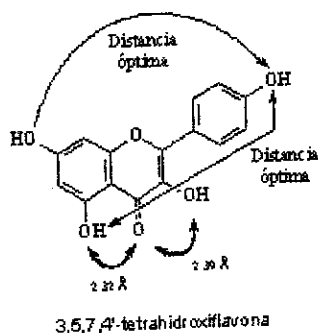


Fig. 4. Interacciones por puente de hidrógeno entre los grupos OH en las posiciones 3 y 5 con el grupo carbonilo de la posición 4 y posiciones favorecidas para la interacción con el receptor

En el caso de las flavonas, al ser estructuras rígidas o semirígidas, los datos de distancias obtenidos a partir de los mínimos energéticos fueron considerados los reales. Las flavononas, la catequina y las calconas presentan grados de libertad rotacional, por lo que una vez obtenida la estructura de mínima energía se procedió a forzar la distancia entre los grupos hidroxilos de las posiciones 4',7 hasta un valor de 10,79 Å (4,4' para el caso de las calconas), por ser estas posiciones las que no se encuentran involucradas en ningún tipo de interacción intramolecular en las moléculas más activas. El análisis de distancia y de las desestabilizaciones sufridas por estos conformeros obtenidos al forzar estos grupos a la distancia considerada como óptima se presentan en la Tabla 4.

Como se aprecia en la Tabla 4, no todas las calconas, flavononas y catequinas alcanzan la distancia de 10,79 entre sus grupos hidroxilos. No obstante, las desestabilizaciones energéticas sufridas por la totalidad de los compuestos al forzar la distancia entre posiciones 4',7 hasta 10,79 Å son bajas. Estos resultados sugieren una relativa facilidad de interconversión entre los conformeros de mínima energía y aquellos en los que las distancias fueron forzadas a ese valor. De tal manera, conformaciones con distancia óptima de sustitución para la actividad estrogénica de calconas, flavononas y catequinas serán posibles de obtener

para los compuestos estudiados y, por lo tanto, existirán posibilidades de que éstos puedan ser agonistas efectivos del receptor estrogénico. Todo lo anterior debe estar condicionado además, por un patrón de sustitución óptimo. En tal sentido, se observa que al igual que en las flavonas, aquellos compuestos con grupos catecólicos en su estructura o con el grupo hidroxilo de la posición 4' bloqueado por metoxilación no presentan buena actividad, por lo que en este grupo de flavonoides también es aplicable la teoría de la distancia óptima y el no bloqueo de los grupos hidroxilos sobre las posiciones definidas como importantes.

Contrario a lo esperado, la 4',5,7-trihidroxiflavanona presenta menor actividad que su análoga, 4',7-. La introducción del OH en posición 5 al parecer impide que la molécula adopte una conformación más extendida. El análisis de los datos de la optimización de ambas estructuras muestra que en el caso de la primera (Fig. 5), el anillo B se encuentra casi perpendicular al plano del anillo benzopiránico (84.32°; 1'-2-3-4), mientras que en la segunda estos mismos átomos forman un ángulo de 174.39°. Una razón para la mayor planaridad del derivado 4',5,7- es la formación de puente de hidrógeno ( $d = 1,819$  Å) entre el grupo OH de posición 5 y el grupo carbonilo sobre posición 4. Otros datos de la geometría calculada de estas moléculas y que justifican el comportamiento encontrado se presentan en la Tabla 5.

Tabla 4. Valores de distancias obtenidos antes y después de forzar las posiciones 4',7 a 10,79 Å

Compuesto	Distancias entre grupos según las posiciones (Å)							Actividad	
	Confórmero de mínimo				Confórmero forzado				
	4'-5	4'-7	3'-5	3'-7	4'-5	3'-5	3'-7		$\Delta H_f$ (Kcal/mol)
4',7-dihidroxiflavanona		<b>10,70</b>						1,264	<b>903</b>
4',5,7-trihidroxiflavanona	8,52	9,28			9,50			3,855	<b>574</b>
3,3',4',5,7-pentahidroxiflavanona	<b>10,62</b>	10,58	10,03	9,76	<b>10,63</b>	10,02	9,86	0,206	97
3',5,7-trihidroxi-4'-metoxiflavanona	<b>10,65</b>	<b>10,70</b>	9,89	9,69	<b>10,65</b>	9,88	9,74	0,040	86
3,3',4',5,7-Flavan pentol	10,59	<b>10,63</b>	9,40	9,03	10,56	9,44	9,18	0,151	97
2',4,4'-trihidroxicalcona	<b>8,84</b>	11,92					8,78	1,553	<b>994</b>
4,4'-dihidroxicalcona		12,08						1,377	<b>471</b>
2',4,4',6'-tetrahidroxi-dihidrocalcona	10,43	12,61				8,80		0,013	<b>402</b>
2',4,4',6'-tetrahidroxicalcona	<b>10,68</b>	12,59				8,87		0,467	156
4-hidroxi-4'-metoxicalcona		11,40						0,272	86

La actividad esta expresada en pmoles/min

Los valores destacados en negritas representan las distancias consideradas como cercanas a la de los esteroides naturales y las actividades consideradas como buenas

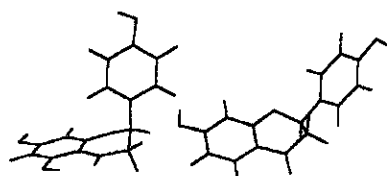


Fig. 5. Conformaciones más estables de la 4',5,7-trihidroxi-flavanona y la 4',7-dihidroxi-flavanona

Las variaciones conformacionales están íntimamente relacionadas con las posibles variaciones energéticas asociadas con la interacción fármaco receptor. En esta unión existe un delicado balance entálpico-entrópico asociado a los grados de libertad rotacionales y traslacionales del ligando y a los cambios entálpicos y entrópicos que ocurren en el receptor. Según Wermuth y Langer, la diferencia de energía entre la conformación más estable del ligando y la de mejor ajuste al receptor, debe ser  $\leq 5$  Kcal/mol.<sup>19</sup> En este caso, la 4',5,7-trihidroxi-flavanona presenta una desestabilización conformacional, cercana al límite propuesto por estos autores, pudiendo ser ésta la causa de la baja actividad mostrada por la misma. Además, en esta molécula las posiciones 4',5 quedan a una distancia de 9,50 Å al forzar hasta 10,79 Å los OH de 4',7, distancia ésta inferior a la definida como óptima para estos compuestos, por lo que la doble posibilidad de interacción que le ofrece este patrón de sustitución en las flavonas no se cumple para este compuesto.

Esto no ocurre en el caso de las calconas, en las que el compuesto 2',4,4'-trihidroxicalcona (el análogo 4',5,7 de las flavonas) es el más activo, pues aunque en el conformero donde se fuerza la distancia la sustitución 2',4' no se encuentra en posición "óptima", al forzar la misma a 10,79 Å se obtiene otro conformero tan estable como el anterior (datos no mostrados). Esto puede estar dado por el hecho de que

Tabla 5. Datos comparativos de las geometrías obtenidas para 4',5,7-trihidroxi-flavanona y la 4',7-dihidroxi-flavanona

	4',5,7-trihidroxi-flavanona	4',7-dihidroxi-flavanona
dc=O	1,229 Å	1,217 Å
dc-C4	1,465 Å	1,479 Å
dc4-C3	1,507 Å	1,514 Å
<C-C4-C3-C2	26,588 °	35,413 °

las calconas al carecer de un anillo piranósico central tienen un mayor grado de libertad de rotación conformacional y por tanto ellas pueden ajustar las distancias entre átomos con una mayor facilidad que el resto de los flavonoides.

### CONCLUSIONES

Se demostró teóricamente que la mayoría de los flavonoides evaluados con sustituciones hidroxílicas en 4',7- y la 4',5- son capaces alcanzar una distancia cercana a aquella reportada por cristalografía de rayos X para los estrógenos naturales, lo cual pudiera justificar la capacidad de unión al receptor estrogénico de dichos compuestos. La excepción la constituyen las flavanonas, las cuales sólo logran alcanzar la distancia teórica necesaria para la unión con el receptor con los sustituyentes en posiciones 4',7-.

### REFERENCIAS

- Saskia van Acker A.B. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Rad. Biol. Chem.*, 20, 331, 1996.
- Bland J. Oxidants and antioxidants in clinical medicine: Pass, present and future potential. *J. Nutricional & Environmental Medicine*, 5, 225, 1995.
- Jovanovic S. and Tosic M. Flavonoids as antioxidants. *J. Am. Chem. Soc.*, 116, 4846, 1994.
- Critchfield J.W., Butera S.T. and Folks T.M. Inhibition of HIV activation in latently infected cells by flavonoids compounds. *Aids Research and Human Retroviruses*, 39, 1996.
- Miksicek R.J. Interaction of naturally occurring nonsteroidal estrogens with expressed recombinant human estrogen receptor. *Steroid Biochem. Biol.*, 49, 153, 1994.

- Obermeyer W.R. et al. Chemical studies of phytoestrogens and related compounds in dietary supplements flax and chaparral. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 208, 6, 1995.
- Miksicek R.J. Estrogenic flavonoids. Structure requirements for biological activity. *P. S. E. B. M.*, 208, 44, 1995.
- Grese T.A. et al. Structure-activity relationships of selective estrogen receptor modulators: modifications to the 2-arylbenzothiophene core of raloxifene. *J. Med. Chem.*, 40, 146, 1997.
- Grese T.A. and Dodge J.A. Selective estrogen receptor modulators (SERMs). *Curr. Pharm. Design*, 4, 71, 1998.
- Grese T.A. and Dodge J.A. Estrogen receptor modulators: Effects in non-traditional target tissues annual reports in medicinal Chemistry, Ed. Academic Press, Inc., New York, 31, 181, 1996.
- Brzozowski A.M. et al. Molecular basis of agonism and antagonism in the oestrogen receptor. *Nature*, 389, 753, 1997.
- Anstead G.M. and Carlson K.E. and Katzenellenbogen J.A. The estradiol pharmacophore: Ligand structure-estrogen receptor binding affinity relationships and a model for the receptor binding site. *Steroids*, 62, 268, 1997.
- Tong W. et al. Quantitative structure-activity relationships (QSARs) for estrogen binding to the estrogen receptor: Predictions across species. *Environmental Health Perspectives*, 105, 1 116, 1997.
- HyperChem, Hypercube, Inc. and Autodesk, Inc. Realase for Window, 1993.
- Stewart J.J.P. MOPAC: A semiempirical molecular orbital program. *J. Comp. Aid. Mol. Design*, 4, 1, 1990.
- Busetta B. and Courseille C. Hospital M. *Acta Crystallogr., Sect. B*, 29, 298, 1973.
- Wawrzak Z., Duax W.L., Strong P.D. and Weisz J. J. *Steroid Biochem.*, 29, 387, 1988.
- Bors W.; Heller W. and Michel C. Flavonoids and polyphenols: Chemistry and Biology in: Handbook of antioxidants. Ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1996.
- Wermuth C.G. and Langer T. 3D QSAR in Drug Design, Theory, Methods and Applications. ESCOM Science Pub. B.V., Germany H. Kubinyi, Ed. 1993.