

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS
AMÉRICAS**

CARRERA DE LICENCIATURA EN FARMACIA

**DISEÑO MOLECULAR *IN SILICO* A PARTIR DE LA
MOLÉCULA DE RIMONABANT COMO UN
ANTAGONISTA DEL RECEPTOR CANNABINOIDE 1
PARA LA POSIBLE IMPLEMENTACIÓN COMO UN
FÁRMACO COADYUVANTE PARA EL CONTROL DE
LA OBESIDAD**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL GRADO DE
LICENCIATURA EN FARMACIA**

KIMBERLY FENG CHEN

TUTOR: DENNIS JIMÉNEZ VARGAS

LECTOR: CARLOS MORA RODRÍGUEZ

SAN JOSÉ, AGOSTO, 2018

Pensamiento

“No es valiente aquel que no tiene miedo sino el que sabe conquistarlo.”

Nelson Mandela

Agradecimiento

Agradezco a mis padres por ser un apoyo incondicional y esencial en mi vida, por ayudarme a ser una mejor persona y profesional y además por darme la oportunidad de estudiar.

A mis hermanos, que han estado siempre en los momentos más complicados y por ser también un apoyo fundamental en mi vida.

Agradezco al profesor Dennis Jiménez Vargas, por todo el tiempo y conocimiento brindado durante esta investigación.

Dedicatoria

A mis padres, que merecen todos mis triunfos.

Contenido

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	10
Planteamiento del problema	10
Hipótesis	12
Objetivo General	12
Objetivos Específicos	12
Justificación	13
Antecedentes	14
Internacionales	16
Nacionales	19
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	20
Obesidad y sobrepeso	20
Concepto de obesidad y sobrepeso	20
Epidemiología	20
Obesidad y sobrepeso en Costa Rica	21
Clasificación de la obesidad y sobrepeso	21
Etiología	22
Criterios diagnósticos de la obesidad y sobrepeso	23
Complicaciones de la obesidad y sobrepeso	25
Tratamiento no farmacológico de la obesidad y sobrepeso.	27
Farmacoterapia de la obesidad y sobrepeso	29
Sistema endocannabinoide	31
Funciones del sistema endocannabinoide	32
Receptores cannabinoides.	34
Ligandos cannabinoides endógenos	35
Ligandos exógenos de los receptores cannabinoides	37
Sistema regulador de los endocannabinoides	43
Mecanismo sináptico de los endocannabinoides.	46
Aplicaciones terapéuticas de los cannabinoides	48
Rimonabant	49
Cribado o <i>screening</i> virtual en el desarrollo de fármacos	50
Descriptorios moleculares	53

CAPÍTULO 3: MARCO METODOLÓGICO -----	57
Enfoque-----	57
Diseño -----	57
Objetos de investigación -----	58
Variables -----	58
Instrumentos de recolección de información -----	61
Procedimiento de recolección y análisis de los datos-----	63
Diseño del ligando -----	63
Estimación y análisis de las propiedades fisicoquímicas y estructurales de los derivados ---	63
Acople molecular -----	64
Determinación de la molécula hit-----	64
CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS-----	65
Selección del objetivo macromolecular -----	65
Sitio de unión de los receptores CB1, GABAa y CB2-----	67
Biblioteca de compuestos-----	72
Propiedades fisicoquímicas analizadas -----	73
Masa molar-----	73
Coeficiente de reparto (LogP)-----	75
Área polar superficial (PSA) -----	76
Donadores y aceptores de hidrógenos-----	77
Refractividad molar (RM) -----	78
Enlaces rotables -----	79
Número de anillos-----	79
Número de átomos pesados-----	80
<i>Scoring</i> del diseño 46 y los receptores CB1, GABAa y CB2 -----	81
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES -----	91
Conclusiones -----	91
Recomendaciones-----	92
Referencias -----	93

Contenido Tablas

Tabla 1. Clasificación de la obesidad y sobrepeso según la OMS-----	22
Tabla 2. Mecanismos fisiológicos-genéticos y ambientales-----	23
Tabla 3. Complicaciones de la obesidad y sobrepeso-----	26
Tabla 4. Estrategias de terapia conductual-----	28
Tabla 5. Medicamentos actualmente disponibles para el manejo de la obesidad y sobrepeso ----	30
Tabla 6. Efectos centrales y periféricos del bloqueo de CB1 en la regulación de la ingesta de alimentos y el metabolismo periférico-----	49
Tabla 7. Definición de los descriptores moleculares-----	53
Tabla 8. Variables-----	58
Tabla 9. Rangos establecidos para la masa molecular-----	73
Tabla 10. Rangos establecidos para el coeficiente de reparto-----	75
Tabla 11. Rangos establecidos para el área polar superficial-----	77
Tabla 12. Rangos establecidos para donadores y aceptores de hidrógeno-----	78
Tabla 13. Rango establecido para la cantidad de anillos-----	80
Tabla 14. Energía de unión de la molécula control para el estudio-----	82
Tabla 15. Energía de unión de las moléculas analizadas-----	82
Tabla 16. Residuos y distancias de enlaces involucrados en las interacciones intermoleculares de las diferentes dianas con los ligandos-----	87

Contenido Figuras

Figura 1. <i>Cannabis sativa</i> y su principio activo (Δ^9 THC) -----	31
Figura 2. Acción multiorgánica del sistema endocannabinoide -----	33
Figura 3. Representación esquemática de los receptores cannabinoides y los sistemas sobre los que actúan-----	35
Figura 4. Ligandos cannabinoides endógenos-----	37
Figura 5. Fitocannabinoides y análogos sintéticos-----	38
Figura 6. Anandamida y sus análogos sintéticos-----	39
Figura 7. Aminoalquilindoles -----	40
Figura 8. Diarilpirazoles -----	41
Figura 9. Otras estructuras cannabinoides -----	42
Figura 10. Inhibidores del transporte de endocannabinoides-----	44
Figura 11. Biosíntesis, transporte e inactivación de la anandamida -----	45
Figura 12. Inhibidores de la enzima FAAH-----	46
Figura 13. Señalización retrógrada por endocannabinoides -----	48
Figura 14. Múltiples enfoques aplicados en el descubrimiento de fármacos y en las distintas etapas del desarrollo. -----	52
Figura 15. Estructura cristalográfica del receptor cannabinoide 1 (PDB ID= 5TGZ) proyectado en Chimera -----	66
Figura 16. Estructura cristalográfica del receptor GABA _A (PDB ID= 5OSA) proyectado en Chimera -----	66
Figura 17. Estructura cristalográfica del CB2 proyectado en Chimera -----	67
Figura 18. Sitio de unión del receptor CB1 utilizando CASTp -----	69
Figura 19. Sitio de unión del receptor GABA _A utilizando CASTp-----	69
Figura 20. Gridbox de la diana CB1 -----	70
Figura 21. Gridbox de la diana GABA _A -----	71
Figura 22. Gridbox de la diana CB2 -----	71
Figura 23. Estructura de rimonabant (SR141716) con enumeración según IUPAC -----	72
Figura 24. Cantidad de análogos diseñados que cumplen con los filtros de masa molecular -----	74
Figura 25. Cantidad de análogos diseñados que cumplen con los filtros de coeficiente de reparto -----	76

Figura 26. Distancia de enlaces entre residuos involucrados del CB1 y el diseño 46 -----	88
Figura 27. Distancia de enlaces entre residuos involucrados del GABAa y el Rimonabant-----	88
Figura 28. Distancia de enlaces entre residuos involucrados del GABAa y el diseño 46-----	89
Figura 29. Distancia de enlaces entre residuos involucrados del CB2 y el Rimonabant -----	89
Figura 30. Distancia de enlaces entre residuos involucrados del CB2 y el diseño 46 -----	90

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Planteamiento del problema

Actualmente, a nivel mundial el sobrepeso y la obesidad han venido en auge por lo que según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2016, el 39% de las personas adultas de 18 o más años tenían sobrepeso y el 13% eran obesas. Además, en el mismo año, 41 millones de niños menores de cinco años tenían sobrepeso o eran obesos. Es importante indicar que la obesidad es prevenible y no es considerado una enfermedad transmisible, pero la causa fundamental se debe a un desequilibrio energético entre calorías consumidas y las calorías gastadas.

El sobrepeso y la obesidad son considerados epidemias del siglo XXI. En América Latina, la obesidad ha aumentado considerablemente llegando a convertirse en un problema de salud pública en casi todos los países. En su condición de padecimiento crónico, la obesidad representa un costo adicional tanto para los servicios de salud como para los individuos. (García, García, Rodríguez y Gálvez, 2010)

Existe un fuerte vínculo entre la obesidad y un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares, diabetes y el cáncer de mama y el cáncer colorrectal. El riesgo de contraer estas enfermedades no transmisibles crece con el aumento del índice de masa corporal. El aumento de la incidencia de la diabetes tipo 2 se debe en gran medida a la mayor prevalencia de la obesidad. Los aumentos en el peso corporal conducen a cambios en los niveles de lípidos y colesterol en la sangre, lo que predispone a un mayor riesgo de aterosclerosis. (Londoño, 2012)

El alarmante crecimiento de la prevalencia de obesidad a nivel mundial indica que se debe estar muy alerta, para el diagnóstico precoz de esta patología de alta repercusión en la salud de las personas y en los costos asociados a ella. El uso de indicadores como el índice de masa corporal y la medición de la circunferencia de cintura representan estrategias de detección clínica, que permiten una adecuada clasificación de la severidad de la enfermedad y del riesgo asociada a esta,

para establecer así medidas de prevención o de manejo tanto de la obesidad como de sus enfermedades asociadas, especialmente en las poblaciones genéticamente susceptibles. (OMS, 2017)

Se ha estimulado la búsqueda de fármacos anti obesidad y se han encontrado diversas estrategias terapéuticas, ya sea suprimiendo el apetito, alterando el metabolismo o inhibiendo la absorción de calorías, algunos de estos fármacos son: inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina (agentes anorexígenos), inhibidores de lipasa, agonistas β 3-adrenérgicos, agonistas de leptina y agonistas de melanocortina-3 (Drug Development Technology, 2008; Londoño, 2012)

Sin embargo, los fármacos comúnmente prescritos han generado eventos adversos importantes para la seguridad de los pacientes, a tal punto que se han retirado del mercado europeo medicamentos líderes como el Rimonabant. A consecuencia de esta situación, hay pocos medicamentos contra la obesidad en desarrollo, por lo que en este proyecto de investigación se pretende realizar, a partir de la molécula de Rimonabant, un análogo que a futuro sea un posible fármaco coadyuvante que logre actuar contra la obesidad.

El diseño de fármacos asistido por computadora tiene como objetivos el diseño, optimización y selección de compuestos con actividad biológica. Esta forma parte de un esfuerzo multidisciplinario y tiene numerosas aplicaciones específicas durante el proceso de desarrollo de fármacos. (Medina, Fernández, y Navejaa, 2015). Los ensayos *in silico* utilizan métodos computacionales de gran detalle a nivel atómico e información tridimensional de la proteína en estudio para la experimentación del acople con el nuevo fármaco en desarrollo (Lionta, Spyrou, Vassilatis y Cournia, 2014).

La pregunta de esta investigación es: ¿Es posible diseñar una molécula a partir del Rimonabant como antagonista del receptor cannabinoide tipo 1 (CB1) para utilizarlo como tratamiento coadyuvante para el control de la obesidad?

Hipótesis

Es factible diseñar un antagonista del receptor cannabinoide 1 a partir de la molécula Rimonabant para utilizarlo como tratamiento coadyuvante para el control de la obesidad.

Objetivo General

Diseñar una molécula *in silico* capaz de antagonizar el receptor cannabinoide tipo 1 para un tratamiento coadyuvante para el control de la obesidad mediante métodos asistidos por computadora.

Objetivos Específicos

Desarrollar una biblioteca virtual de cincuenta derivados de la molécula de Rimonabant empleando un método *in silico*.

Contrastar la energía de unión de las moléculas de la biblioteca virtual con el receptor cannabinoide tipo 1, receptor GABA y receptor cannabinoide tipo 2.

Determinar la molécula de la biblioteca con las mejores propiedades fisicoquímicas y que tenga mejor ajuste con su respectivo receptor.

Justificación

En esta investigación se pretende obtener una alternativa de un tratamiento coadyuvante para el control de la obesidad. Entre 1975 y 2016, la prevalencia mundial de la obesidad se ha, casi, triplicado (OMS, 2017). En el 2016, según las estimaciones de la OMS (2017), unos 41 millones de niños menores de cinco años tenían sobrepeso o eran obesos. Si bien el sobrepeso y la obesidad se consideraban antes un problema propio de los países de ingresos altos, actualmente ambos trastornos aumentan en los países de ingresos bajos y medianos, en particular en los entornos urbanos. La obesidad es una enfermedad crónica con repercusiones negativas para la salud. Existe una asociación clara y directa entre el grado de obesidad y la morbi-mortalidad (Martín y Anón, 2002).

Según la OMS (2017), la gran mayoría de las personas con sobrepeso u obesas deben de modificar su tipo de alimentación para reducir la ingesta de energía diaria. Sin embargo, las dietas hipocalóricas no son recomendables, estas son abandonadas con mayor facilidad que las de restricción moderada y a largo plazo generan el mismo resultado e incluso provocan una alteración en el metabolismo del cuerpo humano tal que requieren más cantidades de los nutrientes que se retuvieron en dicha dieta y a corto plazo ocasionan obesidad. Por ello, resulta difícil tener una estrategia para bajar de peso y reducir la ingesta calórica, situación que crea la necesidad de buscar alternativas terapéuticas de prevención y tratamiento de esta enfermedad (Londoño, 2012).

En los últimos años, el desarrollo *in silico* de fármacos ha sido un método de trascendencia científica, debido a que permite explorar y descubrir un sinnúmero de estructuras químicas por un costo realmente menor en comparación con los métodos tradicionales como lo es la síntesis química *in vitro* (Kar y Roy, 2013). El cribado molecular es una herramienta del desarrollo *in silico* de fármacos flexible e ideal para el estudio virtual de los comportamientos farmacológicos entre la unión de moléculas pequeñas con su proteína diana, lo cual permite seleccionar una molécula candidata con la mejor estabilidad fisicoquímica, que posteriormente será sometida a un proceso de optimización con el fin de perfeccionar el efecto terapéutico (Lionta, Spyrou, Vassilatis y Cournia, 2014).

Con la implementación de una biblioteca virtual de diferentes moléculas se pueden analizar diferentes variables derivadas de una molécula de interés. Entre las variables incluyen la predicción conformacional y direccional del ligando al sitio de unión, la masa molecular, el logP, la refractividad molar, los enlaces rotables y los donares y aceptores de hidrógeno. En efecto es de gran importancia conocer la estructura de la proteína diana y sus lugares de unión con el ligando, para así idear la estrategia de optimización del fármaco en diseño. Esta metodología sugiere una disminución del tiempo y dinero en el proceso de desarrollo molecular, logrando observar una amplia aplicación en las diferentes etapas de los ensayos preclínicos (Ou-Yang *et al.*, 2012).

Los ensayos de laboratorio y optimización de compuestos son métodos caros y lentos. Sin embargo, la bioinformática puede facilitar enormemente la investigación clínica para los fines mencionados, proporcionando la predicción de la toxicidad de fármacos y su actividad en enfermedades nuevas, así como la evolución de los compuestos activos descubiertos en ensayos clínicos (Pérez, Cano, García y Cecilia, 2015).

Esta dinámica de investigación permite agilizar el descubrimiento de compuestos activos, especialmente para procesar inmensos conjuntos de datos que describen estructuras de proteínas conocidas en bases de datos biológicas.

Antecedentes

Cannabis sativa es una planta herbácea, anual, generalmente dioica, de la familia *Cannabaceae*, que crece libremente en las regiones tropicales y subtropicales. Su tallo proporciona una fibra textil, mientras que sus semillas oleaginosas producen un aceite y las glándulas de las inflorescencias femeninas una resina. El término marihuana describe al preparado elaborado a partir de las flores, hojas y tallos pequeños provenientes de la planta (Rodríguez, 2012).

C. sativa y *C. indica* son las principales especies con actividad psicoactiva y narcótica. Los primeros reportes de esta sustancia surgen del año 8000 a. C.; pero desde el año 4000 a. C. se

empezaron a describir algunos usos medicinales como analgésico, antiepiléptico, hipnótico, ansiolítico y antiinflamatorio. El cultivo de esta planta está prohibido o restringido en muchos países debido a sus propiedades psicoactivas (Escobar, Berrouet y González, 2009).

El término cannabinoides se aplicó, originalmente, a los productos químicos de *Cannabis sativa* con estructura típica de C₂₁ y a sus metabolitos; ahora, y como producto de los estudios más recientes, se refiere a todas las moléculas que se unen a receptores cannabinoides, incluidos los ligandos endógenos (endocannabinoides) y los análogos sintéticos (exocannabinoides) (Rodríguez, 2012).

Dentro de los 66 compuestos que se han aislado de la planta, conocidos como fitocannabinoides, la principal sustancia activa es el Δ^9 -tetrahydrocannabinol (THC). Esta sustancia se encarga de generar los efectos psicoactivos. (Escobar, Berrouet y González, 2009) Con el descubrimiento del TCH se demostró que los cannabinoides actúan de una manera similar a las hormonas y neurotransmisores y que un receptor de membrana que es el responsable de sus efectos. El desarrollo de ligandos altamente selectivos llevó al descubrimiento de dos tipos principales de receptores, canabinoide tipo 1 (CB1) y tipo 2 (CB2) (Formiguera y Sierra, 2007).

Debido a su potencial de especificidad terapéutica, los receptores cannabinoides se han convertido en uno de los blancos más importantes en la investigación sobre mecanismos de acción de drogas. La síntesis de Rimonabant (SR141716, Acomplia®), en 1994, constituyó un avance significativo en la farmacología del sistema cannabinoide. SR141716 ha sido catalogado como un antagonista del receptor CB1 desde 1994 cuando inició su producción. Fue lanzado al mercado comercial en junio del 2006. Dicho compuesto ha sido ampliamente utilizado como una herramienta para evaluar los mecanismos mediante los cuales los agonistas cannabinoides producen sus efectos farmacológicos y adicionalmente dilucidar los respectivos roles fisiológicos y fisiopatológicos del receptor CB1 (Formiguera y Sierra, 2007).

El sistema endocannabinoide está involucrado en la regulación de la conducta alimentaria. Tanto los cannabinoides exógenos como los endógenos tienden a aumentar la ingesta de alimentos

en organismos vivos. Debido a esto, el antagonismo de receptores CB1 afecta al proceder alimentaria. La primera evidencia del efecto de Rimonabant en los circuitos que modulan el apetito se basó en la observación de la inhibición que Rimonabant ejerce en la ingestión de sacarosa, etanol y alimentos, sin alterar otras conductas; por lo que se consideró como un medicamento anti-obesidad. Sin embargo, en noviembre del 2008, se presentó una advertencia de retirar del mercado el medicamento previamente dicho, por los efectos adversos que producía a nivel del sistema nervioso central (Formiguera y Sierra, 2007).

Internacionales

A nivel internacional se han realizado cuatro ensayos clínicos RIO: Rimonabant In Obesity que presentaron el mismo diseño aplicado a diferentes grupos de pacientes obesos o con sobrepeso con factores de riesgo asociados: RIO-North America, RIO-Europe, ambos de dos años de duración, RIO-Lipids (pacientes con dislipidemias) y RIO-Diabetes (pacientes con *Diabetes Mellitus 2*), de un año.

En el 2001, en 8 países se realizaron los estudios RIO-Lipids en un lapso de 12 meses para evaluar efecto de Rimonabant en una dosis de 5 mg o 20 mg, en comparación con placebo, junto con una dieta hipocalórica. Se hizo en pacientes con sobrepeso u obesidad con un índice de masa corporal de 27 a 40 que presentaban dislipidemias no tratadas y que no tenían diabetes. Estos estudios dieron como resultado que el bloqueo del receptor canabinoide tipo1 con Rimonabant reducía significativamente el peso corporal y la circunferencia de la cintura y además mejoraba el perfil de varios factores de riesgo metabólico en pacientes de alto riesgo que tienen sobrepeso u obesidad y que tienen una dislipidemia aterogénica (Després, Golay, y Sjöström).

El estudio RIO-Europe realizado en el 2001, que consistió en evaluar el efecto de Rimonabant en la pérdida de peso y el mantenimiento del peso en pacientes obesos con índice de masa corporal de 27 a 30 con o sin comorbilidades (hipertensión tratada / no tratada, dislipidemia

o ambos). Los pacientes fueron asignados aleatoriamente a un tratamiento doble ciego con placebo, Rimonabant 5 o 20 mg una vez al día más un contenido calórico restringido dieta durante 1 año. Los autores indican que el medicamento produce mejoras duraderas en varios factores de riesgo cardiometabólico. Además, concluyen que Rimonabant de 20mg produjo significativamente pérdida de peso y mejoras en los niveles séricos de lípidos, glucosa e insulina y que se mantuvieron durante 2 años con condiciones favorables de seguridad y tolerabilidad en pacientes sin antecedentes graves de trastorno depresivo o ansiedad severa.

El estudio RIO-Norteamerica realizado en Estados Unidos y en Canadá en el 2001, tuvo como objetivo comparar la eficacia y seguridad del rimobant de 5mg o 20 mg al día con placebo en conjunto con dieta y ejercicio en pacientes obesos y con factores de riesgo cardiometabólicos. En este estudio el tratamiento con 20 mg/día de Rimonabant junto con dieta durante 2 años provocó reducciones moderadas pero sostenidas en el peso y la circunferencia de la cintura y cambios favorables en los factores de riesgo cardiometabólico. Sin embargo, el ensayo fue limitado por una alta tasa de abandono y los efectos a largo plazo de la droga.

Por otra parte, con respecto al estudio RIO-Diabetes efectuado en el 2001, se evaluó la eficacia y seguridad de Rimonabant en pacientes con sobrepeso u obesos con diabetes tipo 2 que eran controlados con metformina o sulfonilureas. los datos indican que 20 mg / día de Rimonabant, en combinación con dieta y ejercicio, producían reducción clínicamente significativa del peso corporal y mejoraban la hemoglobina glicosilada (HbA1c) y factores de riesgos cardiovasculares y metabólicos en estos tipos de pacientes.

En Estados Unidos, Gelfand y Cannon (2006) mencionan que el Rimonabant es el primer bloqueador selectivo de los receptores cannabinoideos CB1 desarrollado para el tratamiento de la obesidad y el tabaquismo. Después de 1 año de tratamiento, Rimonabant 20 mg al día conduce a una mayor pérdida de peso en comparación con el placebo. Además, se menciona que la terapia con Rimonabant también se asocia con cambios favorables en los lípidos séricos y una mejora en el control glucémico en diabéticos tipo 2. En fin, concluyen que el Rimonabant presenta el

potencial de ser un complemento útil para la modificación del estilo de vida en el tratamiento de la obesidad y síndrome metabólico.

Tucci y Kirkham (2006), en la Universidad de Liverpool, mencionan la primera evidencia del efecto de Rimonabant que se basó en la observación de la inhibición que Rimonabant ejercía en la ingestión de sacarosa, etanol y alimentos, sin alterar otras conductas. Posteriormente, a estas observaciones iniciales, varios estudios demostraron que Rimonabant, administrado de manera aguda o crónicamente, por vía sistémica o intracerebral, consistentemente suprimía la ingesta alimentaria en animales, tanto en ayunas como en saciedad.

El hecho de que Rimonabant posee la capacidad de suprimir la ingesta alimentaria y como consecuencia reducir el peso corporal, condujo a la investigación de su potencial como un tratamiento anti-obesidad. Varios estudios realizados en animales demostraron que la reducción de la ingesta alimentaria inducida por la administración crónica de Rimonabant solo duraba pocos días. Sin embargo, a pesar de la relativa corta duración de efectos en el consumo de alimentos, la supresión en la ganancia de peso se mantuvo durante todo el tratamiento. Este efecto está más marcado en el animal obeso y reversible al suspender la droga (Tucci y Kirkham, 2006).

Kelly *et al.*, durante 2011, realizaron un estudio de varias semanas, controlado con placebo y Rimonabant 20 mg diarias en esquizofrénicos, donde los pacientes tenían sobrepeso y/u obesidad con hiperlipidemia y/o dependencia actual de sustancias como el *Cannabis* (excepto la nicotina) y/o signos de depresión/suicidio. La prueba finalizó precoz debido a la retirada de Rimonabant del mercado europeo. Mayoritariamente los que utilizaron Rimonabant se asociaron con una mayor reducción en puntaje total de la escala de calificación psiquiátrica breve versus placebo impulsado por las diferencias en la breve escala de ansiedad / depresión psiquiátrica y factores de hostilidad. El medicamento fue bien tolerado sin efectos metabólicos ni psiquiátricos.

Por otra parte, en Suiza, Baur, Gertsch y Sigel (2011) consideraron demostrar que Rimonabant no actuaba en los receptores gabaérgicos. Sin embargo, fue al contrario, experimentaron utilizando receptores de GABA recombinantes expresados en ovocitos de *Xenopus*

usando técnicas electrofisiológicas estándar para controlar las corrientes iónicas. Dando así como positivo en la identificación de Rimonabant como modulador alostérico de los receptores de GABA.

Nacionales

Es importante recalcar que en Costa Rica no existen estudios acerca del uso de Rimonabant a nivel público ni privado, debido a que cuando este medicamento se lanzó al mercado en el 2006, solo se le comercializó a la Unión Europea y a países como México, Estados Unidos y Brasil. Aproximadamente 2 años después, en el 2008 se lanzó una advertencia por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) debido a los efectos adversos detectados (depresión y signos de suicidio).

Debido a esto, el Titular de la autorización de comercialización del fármaco, solicitó en diciembre de 2008 la retirada de la autorización de comercialización para este. El laboratorio titular indicó, que no se disponía de nuevos datos clínicos después de su decisión de suspender los ensayos clínicos en marcha.

La importancia de esta investigación es que se pretende diseñar un fármaco *in silico* a partir de la ya existente (Rimonabant), una molécula que sea capaz de antagonizar los receptores cannabinoides de tipo 1, mediante la utilización de un cribado virtual. Y que sea un tratamiento coadyuvante y eficaz para pacientes con obesidad o sobrepeso.

Proyecciones

La obtención de una molécula con función de antagonista del receptor cannabinoide tipo 1 puede posibilitar la implementación de un fármaco coadyuvante para el tratamiento de la obesidad.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

Este segundo capítulo abarca temas importantes para el entendimiento y el desarrollo de la investigación buscadas en diferentes fuentes bibliográficas. Se expone sobre el sobrepeso y la obesidad, las complicaciones de esta patología y se indica el tratamiento farmacológico. También se explica el sistema endocannabinoide y su relación con la obesidad. Además, se argumenta la importancia del descubrimiento de nuevas moléculas y el desarrollo de nuevos medicamentos usando herramientas computacionales.

Obesidad y sobrepeso

Concepto de obesidad y sobrepeso

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la obesidad y sobrepeso como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud.

Epidemiología

La obesidad es una de las mayores problemáticas a la que se enfrenta la sociedad en el siglo XXI. Es tal su prevalencia que en el año 2004 se empezó a considerar como una pandemia. (Suárez, Sánchez y González, 2017)

La OMS, menciona que entre 1975 y 2016, la prevalencia mundial de la obesidad estuvo cerca de triplicarse. En consecuencia, en el 2016, de la población mundial, el 39% de las personas adultas mayores de 18 años tenía sobrepeso y el 13% era obesa. Con respecto a los niños menores de 5 años, 41 millones de padecían de sobrepeso o eran obesos.

Obesidad y sobrepeso en Costa Rica

Según las Encuestas Nacionales de Nutrición 1982, 1996 y 2009, la prevalencia de obesidad en Costa Rica ha aumentado en todas las edades incluyendo a la niñez, tanto en hombres como en mujeres. En la encuesta realizada por la Caja Costarricense del Seguro Social (CCSS) en el año 2010, en la población mayor de 20 años se encontró una prevalencia de sobrepeso y obesidad de 36.1% y 26%, respectivamente.

Por otra parte, la Universidad de Costa Rica (UCR) en un estudio del 2017 dio a conocer que el sobrepeso registra un promedio de 37% entre mujeres y hombres, al tiempo que la obesidad ronda un 20%; otra variable interesante es que la clasificación del índice de masa corporal por género y edad en mujeres y hombres indicó que el peso normal se da entre los 18 y 29 años y tanto el sobrepeso como la obesidad inicia con mayor intensidad a partir de los 30 años.

Clasificación de la obesidad y sobrepeso

El valor del índice de masa corporal (IMC) es una estimación el cual la OMS lo utiliza para la clasificación de adulto con sobrepeso u obesidad (tabla 1). El IMC se calcula mediante peso en kilogramos entre el cuadrado de la estatura en metros (kg/m^2).

Los pacientes se consideran en fase estática cuando se mantienen un peso estable con un balance energético neutro. Por el contrario, se considera que están en una fase dinámica de aumento de peso, cuando se está incrementando el peso corporal producto de un balance energético positivo, es decir, la ingesta calórica es superior al gasto energético (Moreno, 2012).

Tabla 1. Clasificación de la obesidad y sobrepeso según la OMS

Grado de obesidad	Valores límites del IMC (kg/m²)
Normopeso	18,5-24,9
Sobrepeso	25-29,9
Obesidad grado 1	30-34,9
Obesidad grado 2	35-39,9
Obesidad grado 3	≥ 40

Fuente: OMS, 2017

Para clasificar el sobrepeso y la obesidad en menores de 18 años se emplea los puntos de corte internacionalmente aceptados, de acuerdo con los patrones de crecimiento, la desviación estándar y los percentiles. A pesar de la utilidad clínica del IMC, es importante tener en consideración que la masa grasa y la masa libre de grasa pueden ser afectadas por variaciones en el agua corporal, la masa ósea y el tejido muscular, por lo que es prudente hacer un diagnóstico de la obesidad y el sobrepeso con base en la medida del porcentaje de la grasa corporal (Salas, González, Cornejo, Llanas y Cruz, 2011).

Etiología

La obesidad y sobrepeso tiene un origen multifactorial y resultan un desequilibrio en la ingesta calórica con respecto al gasto energético, provocando así un aumento de la grasa corporal (Bray, 2004). Las causas de este desequilibrio se deben a mecanismos fisiológicos, genéticos y ambientales (Tabla 2) (Dickey *et al.*, 1998).

Algunos factores que se encuentran involucrados son la susceptibilidad genética, los estilos de vida pocos saludables, fármacos, sedentarismo, hábitos alimenticios inadecuados con influencia de diversos determinantes subyacentes como la globalización, la cultura, la condición económica, la baja escolaridad, la publicidad y las condiciones sociopolíticas (Barrera *et al.*, 2013).

Tabla 2. Mecanismos fisiológicos-genéticos y ambientales

Mecanismos Fisiológicos-Genéticos	Mecanismos Ambientales
Dismorfismos	Drogas
Predisposición genética	Factores sociales
Baja energía de salida	Alto consumo de grasa
Regulación de Péptidos y Neurotransmisores	Inactividad física
Anormalidades hipotalámicas	Factores psicológicos

Fuente: Elaboración propia con base en Dickey *et al.*, 1998

Criterios diagnósticos de la obesidad y sobrepeso

La evaluación médica inicial tiene como objetivo identificar a los individuos con sobrepeso u obesidad, así como a aquellos en riesgo de padecerlos que se pueden beneficiar con la pérdida de peso. En el estudio de la población con sobrepeso y obesidad, la historia clínica es fundamental para investigar los hábitos de vida, de alimentación y de actividad física; evaluar el riesgo actual y futuro de comorbilidad; e investigar la disposición de cambios de comportamiento del paciente y de su familia (Krebs, *et al.*, 2007).

Al evaluar a los pacientes con sobrepeso y obesidad, se debe realizar una historia clínica específica para determinar la etiología de la obesidad; investigar la historia familiar de obesidad; los factores de riesgo cardiovascular; la comorbilidad asociada; los estilos de vida, con énfasis en el estado nutricional (frecuencia de ingesta de alimentos e historia dietética) y los hábitos de actividad física (Barrera *et al.*, 2013).

Durante el interrogatorio del paciente con sobrepeso y obesidad es prioritario identificar la edad de inicio de la obesidad, los periodos de máximo incremento del peso y los factores precipitantes, así como excluir las causas secundarias e investigar las enfermedades y las condiciones asociadas. Se recomienda documentar la siguiente información del paciente: estatura, peso, índice de masa corporal (IMC), circunferencia de la cintura, signos vitales, hábitos de actividad física y alimentaria, historia familiar de obesidad, antecedente de tabaquismo y/o alcoholismo, empleo de medicina alternativa y síntomas de apnea del sueño, enfermedad cardiovascular y articular (Barrera *et al.*, 2013).

La historia clínica nutricional requiere identificar los factores de riesgo que causen obesidad y los hábitos alimentarios (tipo y horarios), de actividad física y las fallas de tratamientos previos de obesidad. La medición de la circunferencia abdominal es válida para promover la salud e identificar a las personas en riesgo de enfermedad cardiovascular, trastornos del sueño y diabetes. Se debe medir la circunferencia abdominal y calcular el IMC para evaluar el riesgo de comorbilidad asociado con la obesidad. La valoración clínica del estado nutricional requiere la exploración física sistemática por órganos, con el objetivo de evaluar el estado general y el tipo de distribución de la grasa corporal, así como para obtener medidas antropométricas básicas (peso, talla, perímetro braquial y pliegues cutáneos) (Scottish Intercollegiate Guidelines Network, 2010).

El médico debe evaluar el nivel de preparación y las barreras al cambio antes de proponer cambiar los estilos de vida para el control de peso mediante un programa, el cual deberá incluir intervenciones de soporte psicológico o psiquiátrico, individual o grupal, en pacientes que presenten ansiedad, depresión, conducta bulímica u otros trastornos de la conducta alimentaria. Los

profesionales de la salud deben investigar la posibilidad de trastorno por atracón en pacientes que tienen dificultad para perder y mantener la pérdida de peso (Scottish Intercollegiate Guidelines Network, 2010).

Durante el interrogatorio del paciente con sobrepeso y obesidad, se debe investigar el empleo de fármacos que interfieran con la pérdida de peso: antiinflamatorios no esteroideos, calcioantagonistas, insulina, inhibidores de la proteasa, sulfonilureas, tiazolidinedionas, valproato de sodio, gapapentina, amitriptilina, paroxetina, risperidona, olanzapina, clozapina y esteroides (Barrera *et al.*, 2013).

Se deben solicitar análisis de hemograma o estudios bioquímicos que incluyen biometría hemática completa, perfil de lípidos, pruebas de función hepática, glucosa sérica en ayuno, creatinina sérica, electrolitos séricos (potasio, calcio y magnesio) y examen general de orina. En la población infantil con sobrepeso y factores de riesgo (historia familiar de enfermedades relacionadas con obesidad, hipertensión, dislipidemia, tabaquismo), se recomienda solicitar al menos el perfil de lípidos, la cuantificación de las transaminasas y de la glucosa plasmática en ayuno (Krebs *et al.*, 2007).

Complicaciones de la obesidad y sobrepeso

La obesidad y sobrepeso causa una serie de condiciones médicas crónicas debilitantes y no transmisibles, incluida la *diabetes mellitus* tipo 2 (DM2), hipertensión arterial, dislipidemia, enfermedad coronaria, apoplejía, osteoartritis, apnea obstructiva del sueño, depresión, reflujo gastroesofágico, esteatosis hepática y enfermedad de la vesícula biliar. La importancia radica en que aumentan significativamente el riesgo de muerte prematura y el uso de los servicios de salud (Barrera *et al.*, 2013; Hussain y Bloom, 2011).

Tabla 3. Complicaciones de la obesidad y sobrepeso

Nivel	Manifestaciones
Psicosociales	Discriminación con compañeros, aceptación escolar disminuida.
	Aislamiento, reducción en la promoción social
Crecimiento	Edad ósea avanzada
	Incremento de la talla
	Menarquía precoz
SNC	Pseudotumor cerebri
Respiratorio	Apnea durante el sueño,
	infecciones
	Síndrome de hipoventilación y obesidad
Cardiovascular	Hipertensión
	Hipertrofia cardíaca
	Muerte súbita
Metabólico	Resistencia a la insulina
	Diabetes tipo II
	hipertrigliceridemia
	hipercolesterolemia
	gota
	Esteatosis hepática
	Enfermedad de ovario poliquístico

Fuente: Elaboración propia

Tratamiento no farmacológico de la obesidad y sobrepeso.

El tratamiento no farmacológico de la obesidad abarca modificaciones dietéticas, actividad física e intervención conductual y/o psicológica.

Dieta.

La intervención dietética busca restringir la ingesta calórica, puede suponer modificaciones cualitativas de la selección de alimentos, alteración de la frecuencia de comidas y recomendaciones cuantitativas de restricciones de kilocalorías para mejorar la adherencia, es importante investigar la historia alimentaria del paciente, donde es conveniente adaptar la composición dietética a las preferencias individuales del paciente (Hussain y Bloom, 2011; Socarrás, Bolet y Licea, 2002).

Ejercicio

Un estilo de vida sedentario promueve el aumento de peso y la mortalidad en adultos. La actividad física de cualquier forma puede ayudar a proteger contra el desarrollo de la obesidad y tiene efectos beneficiosos sobre el metabolismo y la composición corporal.

Como tratamiento único, la terapia con ejercicios ha sido demostrado ser ineficaz. Asimismo, la terapia de ejercicio en la combinación con la terapia dietética no ha demostrado ser superior a la terapia dietética sola (Hussain y Bloom, 2011).

Terapia Conductual

Esta terapia tiene como objetivo cambiar hábitos que promueven el aumento de peso mediante una alimentación saludable y patrones de actividades que mantienen la pérdida de peso, como también busca proporcionar el apoyo y la motivación necesaria para que los pacientes obesos se adhieran a su pérdida de peso (Hussain y Bloom, 2011).

Tabla 4. Estrategias de terapia conductual

Estrategias	Actividades
Auto monitoreo	Diarios de alimentos y registros de actividad
Control de estímulo	Controlar los factores desencadenantes ambientales para comer y eliminar los mismos que promueven el comer en exceso, incluidos los factores estresantes
Establecimiento de metas	Establecer metas realistas de pérdida de peso
Contracción y refuerzo del comportamiento	Proporcionar incentivos para perder peso y recompensar los resultados exitosos
Educación nutricional	Asesoramiento dietético y promoción de una alimentación saludable
Comer despacio	Disminuir el proceso de comer para permitir que las señales de saciedad eviten comer en exceso
Incrementando actividad física	Fomentar el ejercicio y promover la actividad física en las rutinas diarias
Apoyo social	Inclusión de miembros de la familia para ayudar a reforzar los objetivos

Reestructuración cognitiva	Pensamiento positivo
Resolución de problemas y asertividad	Hacer frente a situaciones que promueven la ingesta de alimentos

Fuente: Elaboración propia con base en Hussain y Bloom, 2011

Farmacoterapia de la obesidad y sobrepeso

Los primeros medicamentos que se utilizaron fueron los simpaticomiméticos (fentermina) y los serotoninérgicos como la fenfluramina, pero fueron retirados del mercado en Europa por el riesgo de eventos cardíacos, entre otros. Posteriormente, se han utilizado un gran número de diferentes grupos terapéuticos, como antiepilépticos, antidepresivos o antidiabéticos.

Sin embargo, la historia del uso de los medicamentos para la pérdida de peso ha conllevado siempre problemas de seguridad. Medicamentos como Rimonabant, sibutramina y orlistat, que estuvieron disponibles en 2007 se suspendieron la comercialización de dos de ellos por efectos adversos: el Rimonabant debido a problemas psiquiátricos, depresión e ideaciones suicidas, y la sibutramina por riesgo de eventos cardiovasculares graves.

La FDA recomienda la farmacoterapia para perder peso cuando las intervenciones de estilo de vida (dieta, ejercicio y terapia conductual) han fallado y el IMC es $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ sin factores de riesgo relacionados con la obesidad concomitantes, o si el IMC es $\geq 27 \text{ kg/m}^2$ y el paciente tiene al menos un factor de riesgo relacionado con la obesidad (Isidro y Cordido, 2010).

Hasta hace relativamente poco tiempo, el orlistat era el único medicamento disponible para el manejo de la obesidad en pacientes con un IMC $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ o en pacientes con sobrepeso (IMC $\geq 28 \text{ kg/m}^2$) con factores de riesgo asociado, conjuntamente con una dieta hipocalórica moderada.

No obstante, recientemente, se han comercializado dos nuevos medicamentos para el tratamiento de la obesidad: la combinación bupropión/naltrexona y la liraglutida (Tabla 6). Están indicados en pacientes con un IMC ≥ 30 kg/m² o con sobrepeso (IMC ≥ 27 kg/m²) y en presencia de otras enfermedades concomitantes relacionadas con el peso, como *diabetes mellitus* tipo 2, dislipemia o hipertensión controlada.

Tabla 5. Medicamentos actualmente disponibles para el manejo de la obesidad y sobrepeso

Medicamento	Mecanismo de acción
Orlistat	Inhibidor de las lipasas gástricas y pancreáticas
Bupropión/ naltrexona	Inhibidor recaptación serotonina-dopamina/ antagonista del receptor opioide
Liraglutida	Análogo GLP1

Fuente: Diego, Madridejos y Robert, 2017

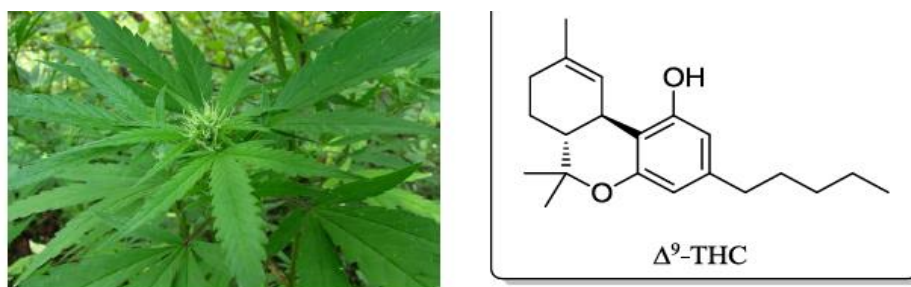
El tratamiento farmacológico del sobrepeso y la obesidad está limitado por la modesta eficacia de los nuevos medicamentos y los efectos adversos graves, así como por la baja adherencia al tratamiento y la recuperación de peso una vez se suspende el tratamiento. Por esta razón, la adherencia a las intervenciones de estilo de vida debe continuar durante el tratamiento farmacológico. Una vez que se ha establecido que el paciente es un candidato para la terapia con medicamentos, la elección de un medicamento en particular debe tener en cuenta: asociado comorbilidades, efectos secundarios, posibles efectos beneficiosos independientes de la pérdida de peso, respuesta, costo y las preferencias del paciente (Isidro y Cordido, 2010).

Sistema endocannabinoide

Los cannabinoides constituyen un conjunto de compuestos presentes en la resina de las hojas y brotes florecidos de la planta *Cannabis sativa*. El uso con fines terapéuticos de los preparados obtenidos a partir de la planta se utiliza hace más de 4000 años en China e India. Posteriormente, su cultivo llegó desde Oriente a la civilización romana, que lo extendió por Europa.

Durante el siglo XIX, se difundieron las aplicaciones médicas y lúdicas del cannabis por Europa y Estados Unidos, pero durante el siglo XX el cannabis fue prohibido ya que se consideró una droga de abuso debido a sus efectos psicoactivos. Dado que era considerada una sustancia ilegal, la investigación científica del cannabis fue ignorada en la primera mitad del siglo XX. Sin embargo, en 1964 se aisló y caracterizó el principal compuesto psicoactivo de la planta, el (-)- Δ^9 -tetrahidrocannabinol (Δ^9 -THC, Figura 1) lo que abrió la puerta a la investigación de los compuestos químicos presentes en el cannabis, su mecanismo de acción y el desarrollo de cannabinoides sintéticos, y al estudio del sistema endocannabinoide endógeno (Gaoni y Mechoulam, 1964).

Figura 1. *Cannabis sativa* y su principio activo (Δ^9 THC)



Fuente: Gaoni y Mechoulam, 1964

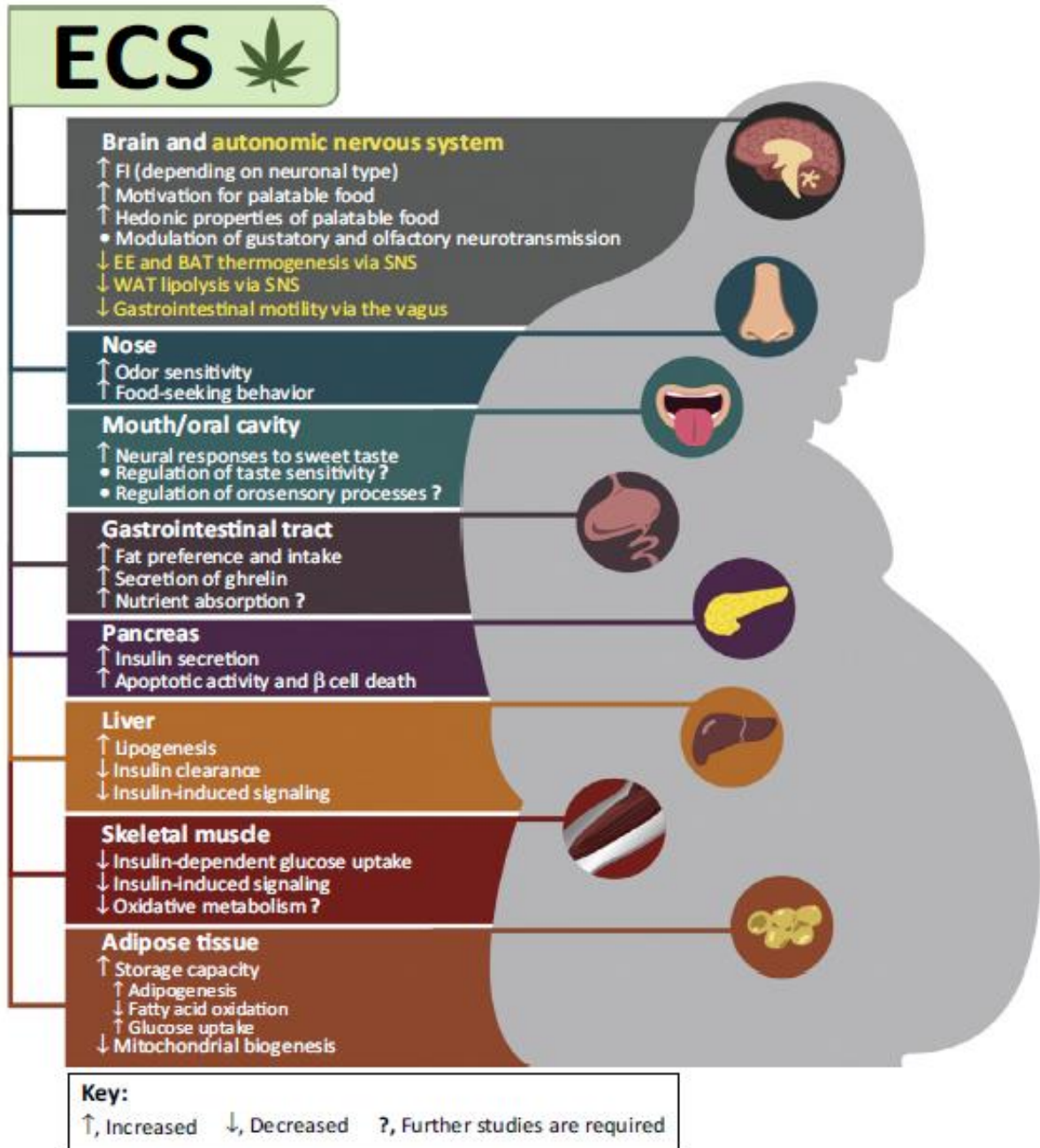
El sistema endocannabinoide está constituido por los receptores cannabinoides, los ligandos endógenos y las enzimas que catalizan su biosíntesis y degradación. Este sistema actúa como un neuromodulador que participa en procesos fisiológicos como regulador del equilibrio energético y en la secreción de adipocitos (Di Marzo y Matías, 2005).

Funciones del sistema endocannabinoide

El sistema endocannabinoide favorece la ingesta y la conservación de la energía a nivel del organismo al ejercer acciones claves en diferentes tejidos. En particular, al actuar sobre el cerebro y el sistema nervioso autónomo, este sistema favorece la ingesta de alimentos mientras disminuye el gasto de energía y el uso de lípidos como substratos energéticos en la periferia. Además, afecta también en la alimentación mediante la modulación del olfato y el gusto, y en la inducción específica de la preferencia y la ingesta de grasa a través de su acción en el tracto gastrointestinal (Mazier *et al.*, 2015).

El sistema endocannabinoide también ejerce un control multiorgánico del metabolismo de la glucosa al modular el hígado y el músculo esquelético en la capacidad de respuesta a la insulina, en la eliminación de insulina hepática y en la secreción de insulina pancreática. Finalmente, este sistema regula el metabolismo de lípidos mediante el aumento de la capacidad de almacenamiento en el tejido adiposo y favoreciendo la acumulación de grasa y, posteriormente, la esteatosis hepática (Figura 2) (Mazier *et al.*, 2015).

Figura 2. Acción multiorgánica del sistema endocannabinoide



Fuente: Mazier *et al.*, 2015

Receptores cannabinoides.

El carácter altamente lipófilo de los cannabinoides naturales dificultó durante muchos años la identificación de receptores específicos para este tipo de sustancias. De hecho, se pensó que estos compuestos realizaban sus efectos mediante interacciones con los componentes de la membrana celular. Sin embargo, Howlett (1984) demostró que los cannabinoides reducían el adenosín monofosfato cíclico (AMPC) en células de neuroblastoma y que esta actividad era mediada a través de receptores acoplados a proteínas G lo que demostró la existencia de los receptores cannabinoides.

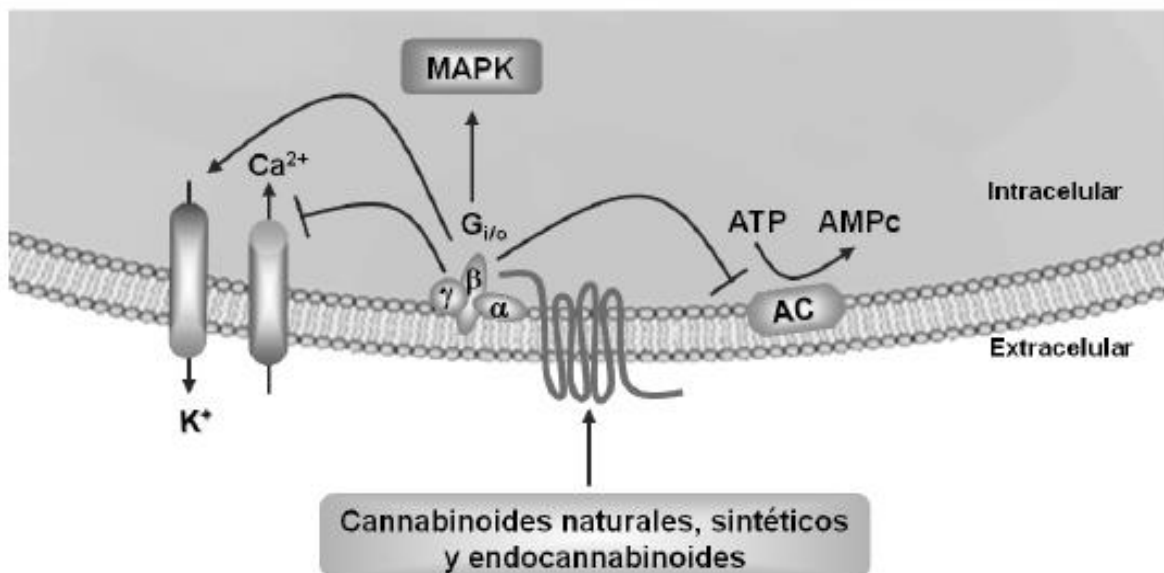
Los mecanismos centrales y periféricos están involucrados por la acción de dos subtipos de receptores, el cannabinoide-1 (CB1) y cannabinoide-2 (CB2). La distinción entre ellos se basa sobre las diferencias en su secuencia de aminoácidos, sus mecanismos de señalización y su distribución tisular (Howlett, 2002).

Los receptores cannabinoides pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteínas G heterotriméricas (GPCRs), son llamados de esa manera porque interaccionan con el nucleótido guanosintrifosfato (GTP) y que actúan como transductores de la señal extracelular al interior de la célula a través de la membrana celular activando las proteínas G (Figura 3). Estos receptores están formados por siete hélices α que atraviesan la membrana plasmática, estando el extremo C-terminal orientado intracelularmente, y el N-terminal extracelularmente. El receptor CB2 tiene un 44 % de homología con el CB1 en total y un 68% en las regiones transmembrana. Como indica el nombre de la familia a la que pertenecen, están acoplados a las proteínas Gi/o, formadas por las subunidades α , β y γ (Howlett, 2002).

La interacción de un ligando con uno de estos receptores produce la activación de estas proteínas, que a su vez actúan sobre diferentes sistemas mensajeros: inhiben el sistema de la adenilato ciclasa (AC), lo que supone un descenso de los niveles de AMP cíclico (AMPC); se activa

la ruta de las quinasas activadas por mitógeno (MAPK), y la de las fosfolipasas (PL) A, C y D (Deadwyler *et al.*, 1995). En el caso del receptor CB1, se produce también la activación de canales de potasio (K^+), y la inactivación de canales de calcio (Ca^{2+}) tipo N y tipo Q. El receptor CB2 no tiene influencia sobre los canales iónicos (Felder *et al.*, 1995).

Figura 3. Representación esquemática de los receptores cannabinoides y los sistemas sobre los que actúan



Fuente: Felder *et al.*, 1995

Ligandos cannabinoides endógenos

La identificación de un receptor cannabinoide en el sistema nervioso central hizo pensar en la existencia de sus ligandos endógenos. Los ligandos cannabinoides endógenos o endocannabinoides son compuestos de naturaleza lipídica, en concreto amidas, ésteres y éteres de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga.

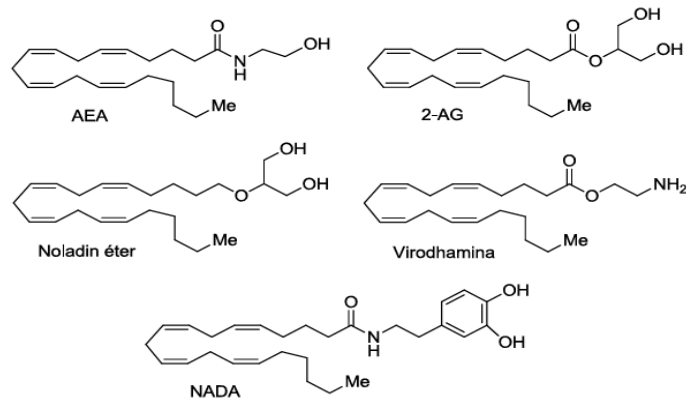
En 1992, Mechoulam aisló por primera vez la anandamida (AEA) a partir de cerebro porcino y se identificó como una amida estructuralmente relacionada con el ácido araquidónico (figura 4). Presenta afinidad por los dos tipos de receptores cannabinoides (CB1 y CB2) aunque se une preferentemente al primero (Thakur *et al.*, 2005).

La anandamida es un agonista parcial de dichos receptores y actúa además sobre otros receptores como el receptor vanilloide (TRPV1) (Zygmunt *et al.*, 1999). Un agonista es una sustancia que produce un efecto combinándose y estimulando al receptor, con lo que un agonista parcial es un agonista que activa al receptor, pero no causa tanto efecto fisiológico como un agonista completo. Por otro lado, un antagonista es una sustancia que bloquea al receptor y, por lo tanto, es capaz de reducir o eliminar el efecto de un agonista.

Posteriormente, se han descrito cuatro endocannabinoides más, todos ellos derivados del ácido araquidónico (Figura 4). El primero fue el 2- araquidonilglicerol (2-AG) aislado de intestino canino y que actúa como un agonista potente frente a los dos receptores cannabinoides (CB1 y CB2) participando en la regulación de la sensación de hambre y en la de la temperatura corporal. En 2001 se aisló de cerebro porcino el 2-araquidonilglicerol éter (noladín éter) que es un agonista selectivo CB1 y que ha mostrado tener efectos sedantes, analgésicos e inhibidores de la motilidad intestinal en animales de experimentación (Hanus *et al.*, 2001; (Pertwee, 2008).

Consecutivamente, en 2002, se caracterizó un nuevo endocannabinoide llamado virodhamina (*O*-araquidoniletanolamina) que es un agonista parcial CB1 frente al receptor cannabinoide CB2 (Porter *et al.*, 2002). Por último, se ha identificado al endocannabinoide NADA (*N*-araquidonildopamina) que, además de unirse al receptor CB1, también se une al receptor vanilloide TRPV1 y a los receptores de dopamina (Bisogno *et al.*, 2000).

Figura 4. Ligandos cannabinoides endógenos



Fuente: Thakur *et al.*, 2005

Ligandos exógenos de los receptores cannabinoides

Ligandos cannabinoides refiere a toda molécula exógena capaz de actuar sobre los receptores cannabinoides. Según su procedencia o su estructura se pueden clasificar en: fitocannabinoides y sus análogos, eicosanoides, heterocícllos, y con estructuras variadas.

Fitocannabinoides y análogos.

De la planta *Cannabis sativa* se han aislado más de 60 compuestos con actividad cannabinoide siendo el Δ^9 -THC el más relevante por ser, como ya se ha mencionado, el responsable de las propiedades psicoactivas del *Cannabis*, pero también ha mostrado poseer unas propiedades terapéuticas importantes. A nivel estructural la mayoría de los fitocannabinoides poseen un esqueleto tricíclico tipo terpénico siendo uno de los tres ciclos un anillo de pirano (Figura 5) (Devane, 1988).

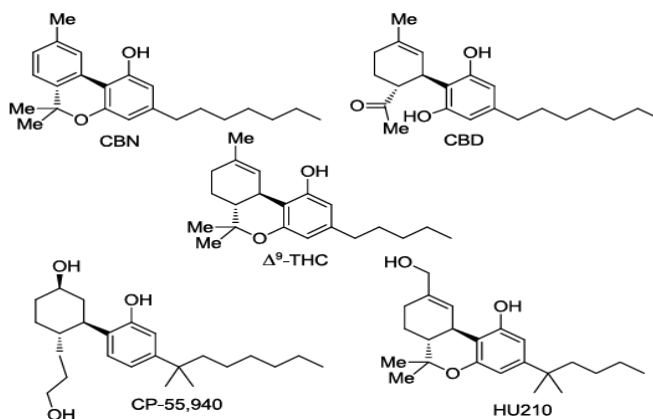
Destacan el cannabiol (CBN) con menos efectos psicoactivos y mayor afinidad por el receptor CB2 que, por el CB1, y el cannabidiol (CBD) que no presenta efectos psicoactivos y ha

mostrado tener un efecto neuroprotector *in vitro* y efectos antiinflamatorios, analgésicos, anticonvulsivantes, antipsicóticos, antioxidantes, e inmunomoduladores en modelos de experimentación con animales (Condie *et al.*, 1996).

El conocimiento de las relaciones estructura-actividad (SAR) de los fitocannabinoides ha permitido el diseño de análogos para obtener derivados con mayor afinidad por los receptores y menos efectos secundarios. Así, se diseñaron análogos sintéticos del Δ^9 -THC como el HU21056 que es el más potente de los actualmente conocidos caracterizándose por presentar un grupo hidroxilo más que el Δ^9 -THC y una cadena alifática de 1,1-dimetilheptilo (Ottani y Giuliani, 2001).

La empresa farmacéutica Pfizer desarrolló compuestos bicíclicos como el (-)-CP-55,94057 que permitió determinar ciertos requisitos farmacofóricos necesarios para la interacción con los receptores cannabinoides, como la cadena lateral y los tres grupos hidroxilo (Fouda, Lukaszewicz y Luther, 1987; Khanolkar, Palmer y Makriyannis, 2000). El primer radioligando desarrollado para la caracterización de cannabinoides fue el derivado tritiado de CP-55,940 que actualmente se sigue empleando en la mayoría de los ensayos farmacológicos (Figura 5) (Devane, 1988).

Figura 5. Fitocannabinoides y análogos sintéticos



Fuente: Devane, 1988

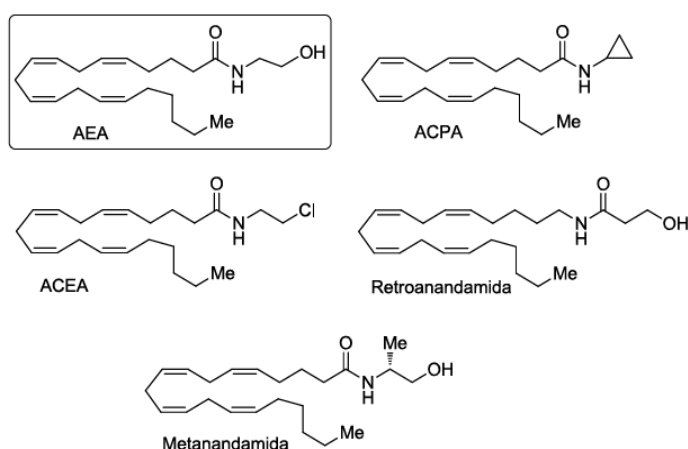
Eicosanoides.

Estos ligandos abarcan tanto a los endocannabinoides como a los análogos sintéticos de éstos y a los inhibidores del transporte de endocannabinoides e inhibidores de las enzimas amidohidrolasa de ácidos grasos (FAAH) o monoacilglicerol lipasa (MAGL).

Los que más se han desarrollado son los análogos de la AEA cuyas modificaciones más significativas muestran que la presencia del grupo hidroxilo de la AEA no es indispensable ya que se mantiene la afinidad por los receptores cannabinoides cuando dicho grupo se ve modificado (Figura 6). Estas modificaciones junto con los estudios conformacionales y de modelización molecular han permitido establecer relaciones estructura-actividad (SAR) de la familia de los eicosanoides (Thomas, *et al.*, 1996; Palmer, *et al.*, 2000).

En una revisión realizada por Mahaveda y Razdan, se recogen los avances realizados sobre los eicosanoides durante los primeros años del siglo XXI. También se muestran nuevos análogos del 2-AG64 o análogos de la N-araquidonilserotonina con actividad dual como inhibidores de la FAAH y como antagonistas del receptor vanilloide TRPV1 para el tratamiento del dolor.

Figura 6. Anandamida y sus análogos sintéticos



Fuente: Thomas, *et al.*, 1996

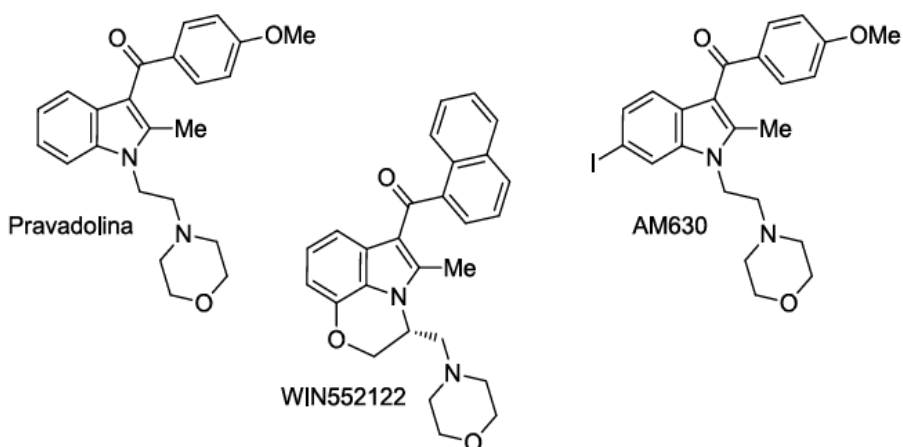
Cannabinoides heterocíclicos y otras estructuras

Dentro de este grupo se destacan los aminoalquilindoles y los diarilpirazoles.

En los años 90, una compañía farmacéutica americana desarrolló el WIN55212267, un aminoalquilindol con una potente afinidad tanto por el receptor CB1 como por el receptor CB2 (Dambra *et al.*, 1992). La familia de los aminoalquilindoles incluye moléculas cuya estructura química deriva del analgésico pravadolina, es decir, no están relacionados estructuralmente con los cannabinoides clásicos, pero muestran un perfil farmacológico cannabimimético.

El WIN552122 es un compuesto de referencia en la farmacología cannabinoide por lo que se utiliza en la caracterización de receptores cannabinoides. El primer antagonista selectivo CB2 descrito fue el AM630 o iodopravadolina (Figura 7).

Figura 7. Aminoalquilindoles

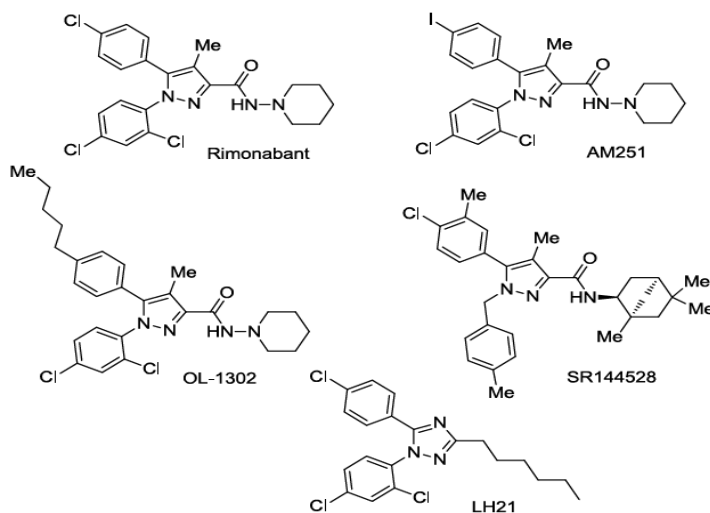


Fuente: Pertwee *et al.*, 1995

En cuanto a los diarilpirazoles, su principal representante es el Rimonabant (SR141716) descrito por la empresa farmacéutica Sanofi-Synthelabo (ahora Sanofi) en 1998 (Rinaldicarmona *et al.*, 1994). Fue el primer antagonista cannabinoide que llegó al mercado en 2006 (aunque fue posteriormente retirado en 2008) por lo que desde entonces se recogen en la bibliografía numerosas modificaciones estructurales para dar paso a nuevos ligandos cannabinoides.

Se han publicado una gran variedad de análogos del Rimonabant (Figura 8) en los cuales se ha modificado la naturaleza de sus cuatro sustituyentes: el metilo de la posición C-4, los anillos aromáticos de las posiciones 1 y 5, y los sustituyentes de estos anillos. Dentro de las modificaciones de los sustituyentes de la posición C-5, la presencia de un grupo fenilo parece ser esencial y, si además posee un halógeno (AM251) o una cadena alquílica en la posición 4 del grupo fenilo, aumenta su afinidad (OL-1302). El sustituyente en posición C-3 no es crucial para la actividad excepto el oxígeno de la amida que forma un puente de hidrógeno con una lisina del receptor cannabinoide CB1 (Gatley *et al.*, 1996; Wiley *et al.*, 2001; Fleischer *et al.*, 2006).

Figura 8. Diarilpirazoles



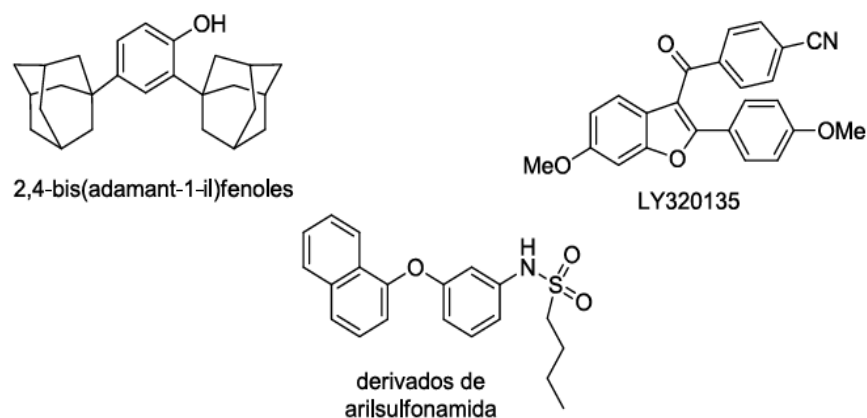
Fuente: Fleischer *et al.*, 2006

Aunque la mayoría de estos derivados presentan propiedades de antagonista/agonista inversos del receptor CB1, algunos de estos compuestos han resultado ser selectivos frente al receptor CB2 como es el caso del ligando SR144528 (Rinaldi-Carmona *et al.*, 1998).

También se han llevado a cabo modificaciones a nivel del heterociclo sustituyéndose el anillo de pirazol por otros heterociclos como los 1,2,4- triazoles preparados en el grupo de investigación. Uno de ellos, el LH21, está en la actualidad siendo objeto de numerosos estudios como posible fármaco anti obesidad (Lange *et al.*, 2005).

Existe una gran cantidad de nuevos ligandos cannabinoides con o sin una estructura principal heterocíclica y varias empresas farmacéuticas se han interesado en este tipo de compuestos. Se ha planteado los 2,4-bis (adamant-1-il) fenoles para modular la actividad cannabinoide, derivados de arilsulfonamida como agonistas CB1, o el benzofurano LY320135 como antagonista CB1 (Figura 9) (Goya y Jagerovic, 2000).

Figura 9. Otras estructuras cannabinoides



Fuente: Goya y Jagerovic, 2000

Sistema regulador de los endocannabinoides

Desde el descubrimiento de la existencia de ligandos endógenos, numerosos estudios pusieron de manifiesto su función neuromoduladora a través de su síntesis, liberación y degradación principalmente a nivel de las células nerviosas.

Los ligandos endógenos de los cannabinoides son neurotransmisores que no se acumulan y almacenan, sino que se liberan inmediatamente después de ser producidos. Una vez que son biosintetizados, son transportados al interior de otra célula, y allí se degradan. Existe, por lo tanto, un sistema enzimático de biosíntesis, transporte e inactivación de estos ligandos endógenos (De Petrocellis, et al., 2004).

Biosíntesis de los endocannabinoides

La síntesis de AEA y del 2-AG se produce después de una despolarización de membrana en un proceso dependiente de Ca^{2+} . La AEA se forma a partir de *N*-araquidonilfosfatidiletanolamina (NAPE) por hidrólisis mediada por la fosfolipasa D (PLD) (Okamoto *et al.*, 2004). En cambio, el 2-AG se sintetiza mediante una ruta diferente en la que el diacilglicerol (DAG) actúa como precursor y las enzimas implicadas en su biosíntesis son la fosfolipasa C (PLC) y la diacilglicerol lipasa (DAGL).

Las enzimas implicadas en la biosíntesis de endocannabinoides son unas nuevas dianas de interés terapéutico. Además, el desarrollo de inhibidores y activadores de estas enzimas puede utilizarse como herramienta farmacológica para conocer el papel de los endocannabinoides en condiciones patológicas y fisiológicas. Una vez que los ligandos endógenos, se biosintetizan de

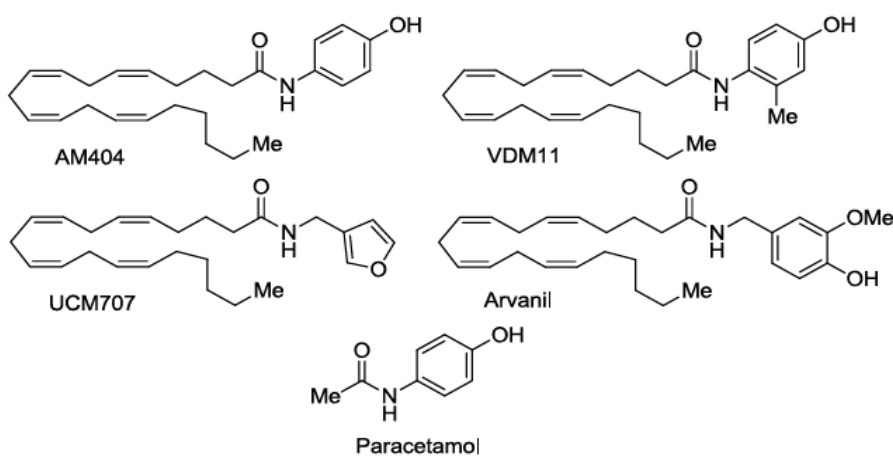
manera estímulo-dependiente, se liberan al espacio extracelular donde pueden actuar sobre los receptores cannabinoides (CBs), vanilloides (TRPV1) o bien inactivarse (Liu, Tonai y Ueda, 2002).

Transporte de los endocannabinoides

Los endocannabinoides son transportados al interior de la célula mediante un proceso facilitado caracterizado por ser selectivo, saturable, dependiente de la temperatura e independiente de Na⁺ (Baker *et al.*, 2001). El transportador de anandamida a través de la membrana (AMT) presenta diferentes análogos estructurales de la anandamida que inhiben su transporte (López *et al.*, 2004).

Se han descrito varios inhibidores del AMT entre los que cabe destacar el AM40436, el VDM1137, el UCM70738 y el arvanil (Figura 10). Actualmente, se menciona que los efectos analgésicos del paracetamol se deben a que en su degradación en el metabolismo se transforma en el inhibidor de recaptación de anandamida AM404 (Ashton, 2008).

Figura 10. Inhibidores del transporte de endocannabinoides

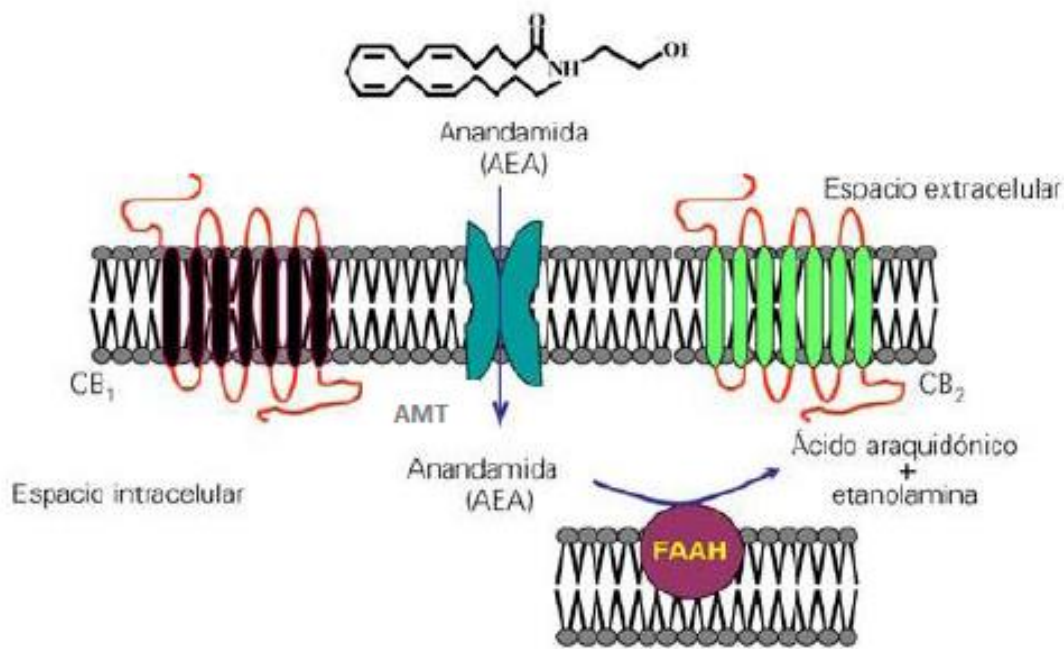


Fuente: Ashton, 2008

Inactivación de los endocannabinoides

Una vez en el interior de la célula se produce el proceso de hidrólisis enzimática intracelular. La enzima más estudiada es la amidohidrolasa de ácidos grasos (FAAH) que fue clonada de hígado de rata. La FAAH hidroliza la AEA y el 2-AG para generar ácido araquidónico (Figura 11). Pero se ha identificado otra enzima que hidroliza específicamente el 2-AG, la monoacilglicerol lipasa (MAGL) clonada de tejido adiposo de ratón (Bracey *et al.*, 2002).

Figura 11. Biosíntesis, transporte e inactivación de la anandamida

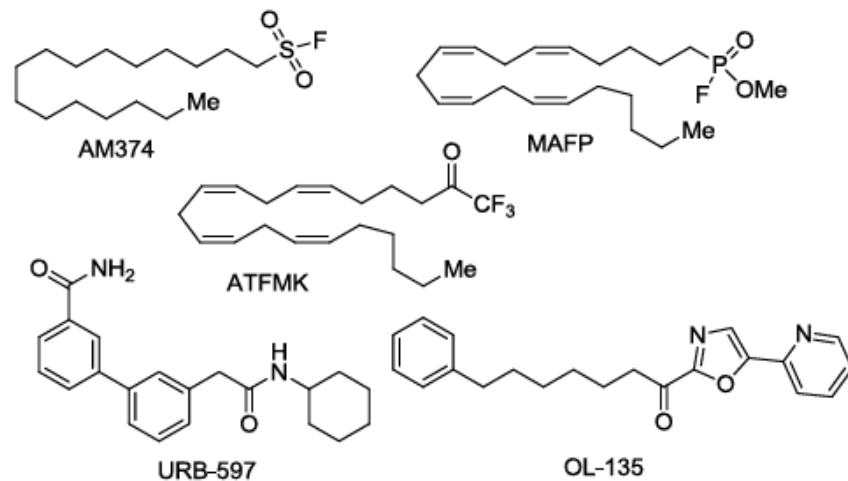


Fuente: Bracey *et al.*, 2002

Con respecto a la inactivación de los otros endocannabinoides, se menciona que la FAAH también hidroliza la virodhamina, y que el noladín éter y la NADA son estables al hidrólisis.

En consideración a la inactivación de los otros endocannabinoides, se sabe que la FAAH también hidroliza la virodhamina, y que el noladín éter y la NADA son estables al hidrólisis. Al igual que otras proteínas implicadas en el sistema endocannabinoide, la FAAH constituye una buena diana terapéutica para el desarrollo de fármacos empleados en disminuir estados de dolor agudo o neuropático. Por esta razón, se encuentra en desarrollo y estudio de inhibidores de la FAAH siendo algunos de los más destacados el AM374, el MAFP, el ATFMK, el URB-597 y el OL-135 (Figura 12) (Bracey *et al.*, 2002).

Figura 12. Inhibidores de la enzima FAAH



Fuente: Bracey *et al.*, 2002

Mecanismo sináptico de los endocannabinoides.

Como se mencionó anteriormente, los receptores CB1 se expresan en altos niveles en muchas regiones del cerebro, y varios lípidos cerebrales endógenos han sido identificados como ligandos de CB1. A diferencia de los neurotransmisores endógenos clásicos, los cannabinoides pueden funcionar como mensajeros sinápticos retrógrados, es decir, se liberan de neuronas

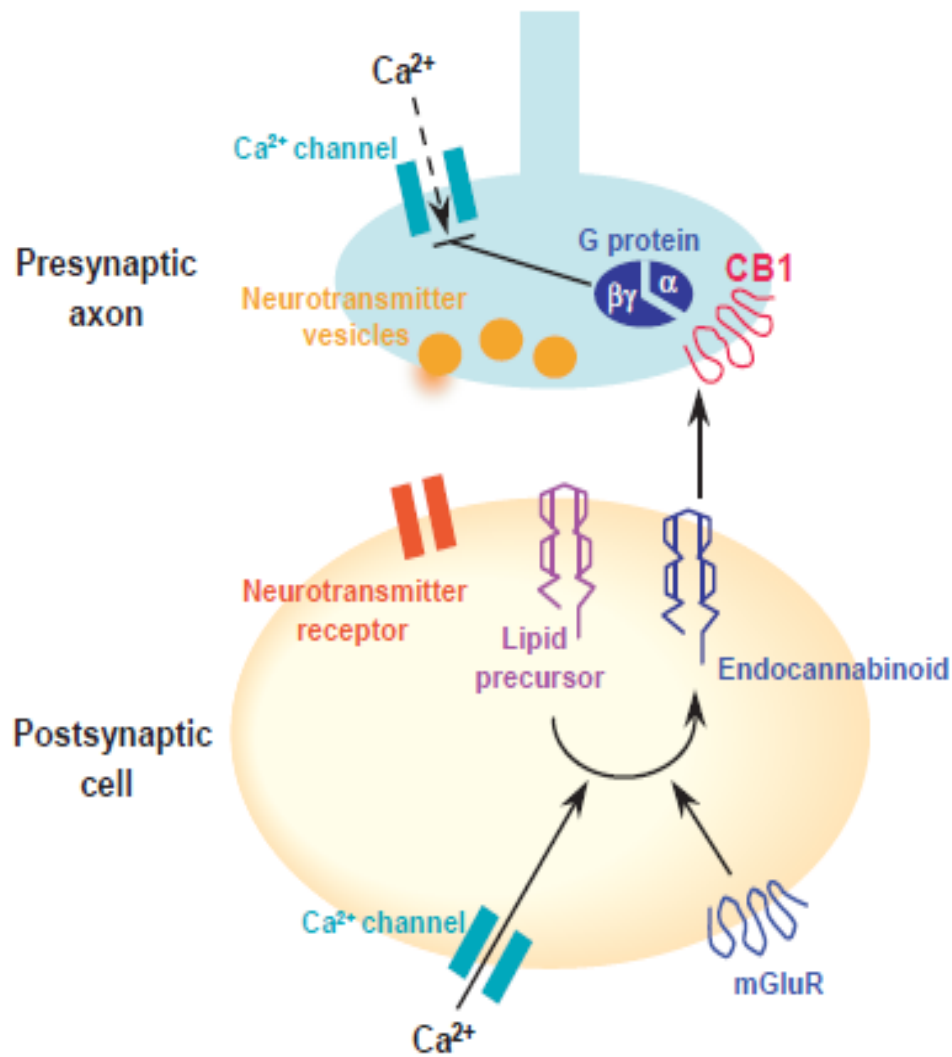
postsinápticas y viajan hacia atrás a través de las sinapsis, activando CB1 en axones presinápticos y la supresión de la liberación de neurotransmisores. Por esta razón, los cannabinoides pueden afectar la memoria, cognición y percepción del dolor por medio de este mecanismo celular (Howlett *et al.*, 2004).

Wilson y Nicoll (2001) vinculan los receptores cannabinoides con el fenómeno conocido como supresión inducida por la despolarización de inhibición (DSI). Este proceso DSI implica la supresión en la inhibición del hipocampo mediada por GABA de las células piramidales. Mostraron que DSI podría ser bloqueado por la administración del receptor CB1 antagonista, SR141716A, que implica liberación de endocannabinoides y participación de receptores CB1 presinápticos en este proceso.

Los compuestos endocannabinoides difunden de la membrana postsináptica y se unen a receptores CB1 en terminales presináptica de una subclase de interneuronas, donde inhiben la liberación de GABA (Alger, 2002). El proceso por el que se reduce la liberación de GABA no ha sido completamente determinado, pero puede involucrar canales de K^+ (Daniel *et al.*, 2004).

La señalización retrógrada por endocannabinoides inicialmente produce la despolarización postsináptica abriendo los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje, luego Ca^{2+} postsináptico activa las enzimas que sintetizan endocannabinoides de los lípidos precursores (Wilson y Nicoll, 2001). Seguidamente, la activación de mGluRs (receptores de glutamato metabotrópicos) postsinápticos también puede producir endocannabinoides, posiblemente por activación de fosfolipasa C, generando diacilglicerol, que luego se escinde por diacilglicerol lipasa para producir 2-araquidonilglicerol. Los endocannabinoides luego abandonan la célula postsináptica y activan los receptores CB1 presinápticos. La activación de la proteína G libera Gbg, que luego inhibe directamente la afluencia de Ca^{2+} presináptico; generando así una disminución en la probabilidad de liberar una vesícula de neurotransmisor (Howlett *et al.*, 2004).

Figura 13. Señalización retrógrada por endocannabinoides



Fuente: Wilson y Nicoll, 2001

Aplicaciones terapéuticas de los cannabinoides

El uso terapéutico de los cannabinoides se utiliza desde la antigüedad cuando se prescribía el cannabis para tratar la malaria, la gota, el reumatismo, el estreñimiento o la fatiga. O'Shaughnessy (1984) introdujo los cannabinoides en la medicina occidental, primero en el Reino

Unido y posteriormente en Estados Unidos, donde se usó el extracto de la planta como sedante, hipnótico y anticonvulsionante.

Hoy en día, los compuestos susceptibles que consiguen modificar el transporte o el metabolismo de los endocannabinoides o que actúan sobre sus receptores pueden tener aplicaciones terapéuticas muy variadas como antiepilépticos, hipnóticos, analgésicos, antieméticos, antiinflamatorios, para el tratamiento del glaucoma, del crecimiento óseo, de la fibrosis hepática, del arterioesclerosis, de la obesidad, de la esclerosis múltiple, del Parkinson o del Alzheimer (Mazier *et al.*, 2015).

Rimonabant

El Rimonabant ((N-(piperidin-1-yl)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4-metil-1H-pirazol-3-carboxamida) conocido también como SR141716, mencionado anteriormente, es un bloqueador selectivo del receptor CB1, capaz de interrumpir el tono endocannabinoide central y periférico que determina la reducción de la ingesta de alimentos y la regulación de secreción de adipocitos. Este efecto toma parte en la central del sistema nervioso, así como en terminales periféricos como en el tracto gastrointestinal y en el tejido muscular. En la tabla se muestran los efectos centrales y periféricos cuando se antagoniza este receptor.

Tabla 6. Efectos centrales y periféricos del bloqueo de CB1 en la regulación de la ingesta de alimentos y el metabolismo periférico

Sitio de acción	Mecanismo de acción
Hipotálamo / núcleo accumbens	Disminución en la ingesta de alimentos

Tracto gastrointestinal	Disminución en la ingesta de alimentos (signos de saciedad)
Tejido adiposo	Disminución de la lipogénesis, mejora la dislipidemia, aumento de la tolerancia a la glucosa, aumento de adiponectina
Músculo	Aumento en la absorción de glucosa (menos resistencia a la insulina)
Hígado	Disminución de la lipogénesis

Fuente: Rubio *et al.*, 2007

Cribado o *screening* virtual en el desarrollo de fármacos

La química medicinal se define como una ciencia interdisciplinaria que cubre un amplio dominio, incluyendo química orgánica, ciencias de la salud como bioquímica, farmacología, farmacocinética, biología molecular y genética; asimismo, disciplinas basadas en la química como fisicoquímica y técnicas computacionales como simulación análisis y visualización de datos (Blanco, 2017; Georges *et al.*, 2015, p4.).

En la investigación clínica es imprescindible determinar la seguridad y la eficacia de los fármacos como también acelerar el descubrimiento de compuestos activos, para procesar estructuras de proteínas utilizando técnicas como el modelado de homología (Berman *et al.*, 2000). Los ensayos de laboratorio y optimización de compuestos son métodos caros y lentos. Sin embargo, el avance tecnológico de la química combinatoria y la bioinformática facilita la investigación clínica para los fines mencionados anteriormente, proporcionando la predicción de la toxicidad de fármacos y su actividad en diferentes enfermedades nuevas, así como la evolución de los compuestos activos descubiertos en ensayos clínicos (Berman *et al.*, 2000; Ou-Yang *et al.*, 2012).

Shekhar (2008) menciona que la combinación de química y la biología junto con la informática ha llevado a los avances en la farmacología *silica* en donde los métodos *in silico* simulan prácticamente todos los aspectos del descubrimiento de drogas y su desarrollo. Este se basa en la interacción entre drogas ya sean sintéticas o naturales con diversos receptores biológicos. Las drogas son identidades químicas capaces de interactuar con complejos de sistemas biológicos (Blanco, 2017; Georges *et al.*, 2015, p3.).

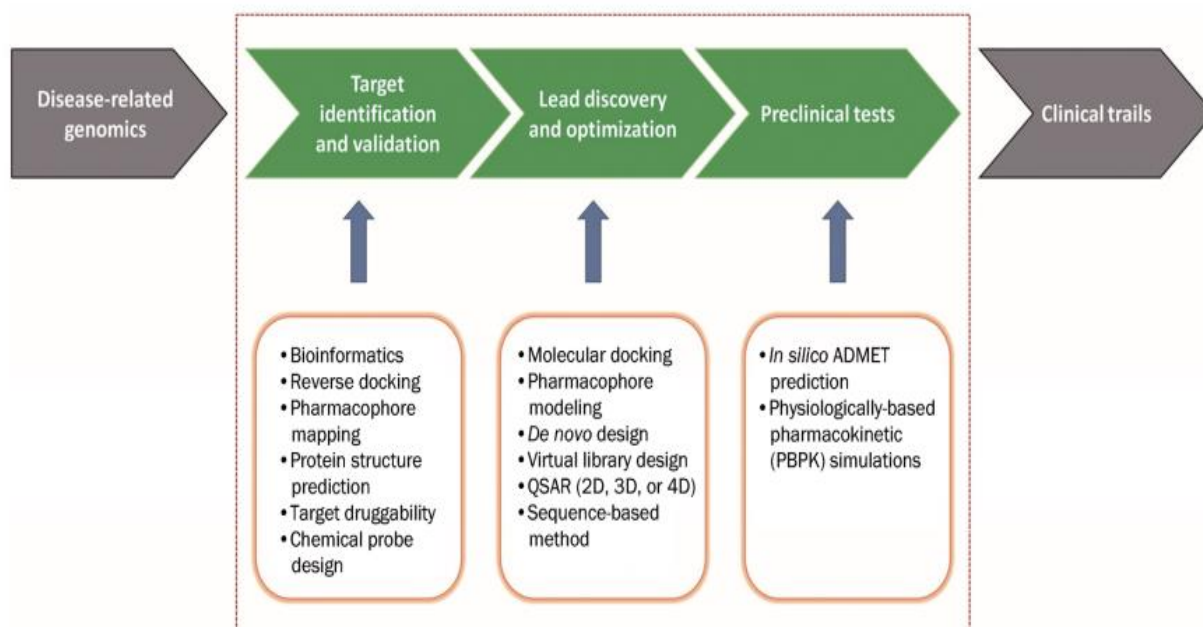
En pruebas bioquímicas y basadas en células, de manera virtual, estas se realizan contra un objetivo aislado o que se incorpora fisiológicamente; asimismo, ha de involucrarse en un proceso patológico. Los compuestos que sobrepasan un determinado valor umbral en la vinculación con el objetivo fisiológico o la modulación de ciertas señales funcionales son llamados *hits*. Si la identidad y la pureza del compuesto y los resultados del ensayo se confirman en una determinación de actividad multipunto, el compuesto se eleva al estado de *validated hit*, de él se espera que se deriven los *leads*. Estos últimos son un compuesto o una serie de compuestos con actividad y selectividad probada de forma virtual y que cumple con ciertos criterios de desarrollo de fármacos como originalidad, patentabilidad y accesibilidad, por extracción o síntesis. La variación molecular se espera que cambie los parámetros fisicoquímicos y adecúe el proceso ADME (absorción, distribución, metabolismo y excreción) (Georges *et al.*, 2015, p4.; Blanco, 2017).

Si el resultante, candidato preclínico (*optimized lead*) demuestra no poseer toxicidad en modelos celulares y en animales, se convierte en un candidato clínico. Si el candidato cumple con los criterios establecidos para eficacia y seguridad en humanos y supera los obstáculos de comercialización, este se convierte en un *new drug entity*, es decir, una nueva identidad farmacológica (Blanco, 2017).

La aplicación de técnicas computacionales está surgiendo para facilitar el descubrimiento de nuevas entidades moleculares. Diseño de droga asistida por computadora o *Computer-aided drug design* (CADD) es un término que representa herramientas computacionales y recursos para el almacenamiento, gestión, análisis y modelado de compuestos. En donde incluye el desarrollo de

repositorios digitales para estudio de las relaciones de interacción química y softwares computacionales para diseñar compuestos con características fisicoquímicas, así como herramientas para la evaluación sistemática de posibles candidatos principales antes de que sean sintetizados y probados (Song, Lim y Tong, 2009). En la Figura 14 se exponen los diferentes enfoques aplicados en el descubrimiento de fármacos y en las distintas fases del desarrollo del mismo.

Figura 14. Múltiples enfoques aplicados en el descubrimiento de fármacos y en las distintas etapas del desarrollo.



Fuente: Ou-Yang et al., 2012

La elección de enfoques CADD para ser empleado, generalmente se establece por la disponibilidad de estructuras tridimensionales determinadas de proteínas diana y se pueden aplicar a la detección virtual para la identificación del *lead* y su optimización. Si las estructuras de la proteína son desconocidas, se utilizan métodos basados en ligandos como la actividad de estructura

cuantitativa relación (QSAR) y análisis del farmacóforo. Sin embargo, si el objetivo de estructura es conocido, se pueden usar enfoques basados en el acoplamiento o *docking* molecular, que emplea las estructuras 3D para diseñar nuevos compuestos activos con potencia mejorada, los cuales se obtienen principalmente de estructuras cristalinas, información recopilada por resonancia magnética nuclear, rayos X y homología en los modelos (Zhang, 2011; Ou-Yang *et al.*, 2012)

Descriptores moleculares

Con el propósito de evaluar el posible comportamiento de las moléculas para esta investigación, se manejaron como descriptores moleculares los parámetros fisicoquímicos y los indicadores de acople molecular, estos se muestran a continuación.

Parámetros fisicoquímicos

Zúñiga (2017) menciona que, al utilizar propiedades químicas para la predicción de características de un fármaco, estas se basan en los descriptores moleculares por medio de filtros o reglas con criterios preestablecidos que delimitan en rangos aceptables las propiedades fisicoquímicas de las moléculas candidatas a fármacos (Tabla 8). Estas reglas tienen como objetivo en filtrar moléculas con inconvenientes de absorción potenciales. Sin embargo, estas reglas no proveen un estimado de la absorción del compuesto o sobre el mecanismo de transporte.

Tabla 7. Definición de los descriptores moleculares

Lipinski	La regla de los cinco de Lipinski estudia el peso molecular, el logP y la capacidad de donar o aceptar hidrógenos. En su estudio establece que cerca del 90
----------	---

	<p>% de los fármacos cumplen este criterio y se utiliza en la elección y predicción de la absorción por vía oral (Lipinski Lombardo, Dominy y Feeney, 2001).</p>
Ghose	<p>El filtro de Ghose estudia el cumplimiento del LogP, el peso molecular, la refractividad molar y el número total de átomos. Ghose en este filtro define rangos preferibles para estos parámetros fisicoquímicos, lo cual hace más restrictivo los criterios de aceptación (Ghose, Viswanadhan y Wendoloski, 1999).</p>
Muegge	<p>Muegge estudia el peso molecular, la cantidad de anillos, los átomos de carbono, el logP, los aceptores y donares de hidrogeno, los enlaces rotables y el área polar superficial. Este último es incluido como contraparte del LogP, ya que se define como la suma de los átomos polares en la superficie de la molécula (Muegge, 2003).</p>
Veber	<p>El filtro Veber sugiere que es de importancia analizar la biodisponibilidad oral de un medicamento independientemente a la masa molecular. Así, incluye en su filtro los enlaces rotables, el área polar superficial y los donares o aceptores de hidrógeno (Veber, Johnson, Cheng, Smith, Ward y Kopple, 2002).</p>
Biodisponibilidad	<p>Para predecir la biodisponibilidad oral de un fármaco, es necesario que cumpla con los rangos dados por Chemaxon (2015) en cuanto a la masa molecular, el logP, los enlaces rotables, el área polar superficial, los anillos aromáticos y los donares y aceptores de hidrógeno.</p>

Fuente: Zúñiga, 2017

Indicadores de acople moleculares

Energía libre de Gibbs (ΔG)

El ΔG es un parámetro que mide la magnitud y describe la probabilidad de la ocurrencia de los procesos biológicos, es decir, describe la interacción de los patrones de unión entre la molécula y el objetivo. De este modo, un evento de unión que ocurre con una energía libre negativa, ocurre espontáneamente (Zúñiga, 2017). Sin embargo, si se obtiene una energía libre positiva, la unión no se da de forma espontánea, pero requiere de energía para que suceda la interacción; asimismo, cuanto más estrecha y dirigida sea una interacción, menos se favorece entrópicamente (Blanco, 2017).

Además, cabe mencionar que la energía libre de Gibbs se encuentra acompañada de cambios estructurales ya sea en el compuesto o en la enzima. Esto provee un medio para definir las contribuciones energéticas de tipos específicos de interacciones entre grupos de la enzima y funcionalidades en los compuestos a la interacción global de enlace (Copeland, 2013; Zúñiga, 2017)

Residuos involucrados

Las moléculas activas, que también se conocen como reactantes o sustratos, están anexados específicamente a sitios de unión a sustratos en la enzima a través de distintas interacciones con residuos de aminoácidos de la enzima, que pueden ser interacciones hidrofóbicas, electroestáticas o puentes de hidrógeno, de esa manera, brindan la capacidad de generar un cambio conformacional y un posterior efecto (Lieberman, Marks y Peet 2013, p. 112; Blanco, 2017).

Distancia de enlace

Se define la distancia de enlace como la longitud promedio entre los núcleos de dos átomos enlazados mediante fuerzas intramoleculares o intermoleculares. Blanco (2017) menciona que las longitudes de un enlace son datos experimentales que se relacionan inversamente con la fuerza de él mismo, es decir, cuanto menor sea la distancia más fuerte será el enlace.

CAPÍTULO 3: MARCO METODOLÓGICO

Este capítulo comprende el diseño, el enfoque y los objetos de estudio a realizar. Además, se muestran los métodos de recolección de datos como también las etapas o pasos que se siguen para el desarrollo de los análogos derivados de la molécula de Rimonabant utilizando la técnica *in silico*.

Enfoque

Este estudio tiene un enfoque cuantitativo debido a que se basa en investigaciones previas, utiliza la recolección y el análisis de datos para contestar preguntas de investigación y probar hipótesis previamente hechas. Este enfoque confía en la medición numérica, el conteo y el uso de estadística para establecer con exactitud patrones de comportamiento en una población (Hernández, Fernández y Baptista, 2014).

Diseño

La presente investigación tiene un enfoque cuantitativo, a causa de que se va a analizar los datos que conforman las propiedades de las moléculas desarrolladas, así como los resultados de las pruebas de modelaje mediante anclaje molecular.

La investigación también tiene características de un diseño transeccional descriptivo, debido a que pretende clasificar y describir las propiedades moleculares de los derivados del análogo de Rimonabant, el impacto fisicoquímico en el acomodo espacial del receptor cannabinoide tipo 1 y los efectos del mismo para una posible implementación como fármaco coadyuvante para el tratamiento de la obesidad (Hernández *et al.*, 2014).

Objetos de investigación

El objeto de investigación principal se realiza a partir de la molécula Rimonabant y por medio de este desarrollar análogos, creando una biblioteca virtual de cincuenta compuestos. En donde al final, mediante el cribado molecular se selecciona una sola estructura que posea más estabilidad con la unión de los receptores en estudio.

Variables

En esta sección se muestran las doce variables con su respectivo concepto, parámetro e instrumento que se van a utilizar para su análisis.

Tabla 8. Variables

N°	Variable	Conceptual	Operacional	Instrumental
1	Masa Molecular	Representa la suma de las masas atómicas en una molécula. (Chemaxon, 2015)	Lipinski, biodisponibilidad, Ghose, Muegge	Biblioteca virtual de compuestos
2	Logaritmo del coeficiente de reparto entre agua y n-octanol (Log P)	Es una relación de concentraciones de un compuesto no ionizado en dos fases de disolventes inmiscibles (agua y n-octanol) en equilibrio. LogP es la medida logarítmica en	Lipinski, biodisponibilidad, Ghose, Muegge	Biblioteca virtual de compuestos

		base 10 del coeficiente (Chemaxon, 2015).		
3	Área polar superficial	Está formado por los átomos polares de una molécula. Muestra una buena correlación con el transporte molecular pasivo a través de membranas, y así permite la estimación de las propiedades de transporte de fármacos (Chemaxon, 2015).	Biodisponibilidad, Muegge, Veber	Biblioteca virtual de compuestos
4	Aceptores de puentes de hidrógeno	Es el cálculo de los donadores y aceptores atómicos de hidrógeno.	Lipinski, biodisponibilidad	Biblioteca virtual de compuestos
5	Donadores de puentes de hidrógeno	Se toman microespecies y proporciones de donadores y aceptores según diferentes valores de pH. (Chemaxon, 2015).	Lipinski, biodisponibilidad	Biblioteca virtual de compuestos
6	Número de átomos	Un átomo se define como la unidad básica de un elemento que puede intervenir en la combinación química (Chang, 2007).	Ghose, Muegge	Biblioteca virtual de compuestos
7	Número de enlaces rotables	El enlace rotable se define como cualquier enlace sencillo, que no está en un anillo, unido a un átomo pesado no terminal (Veber <i>et al.</i> , 2002).	Biodisponibilidad, Muegge, Veber	Biblioteca virtual de compuestos

8	Número de anillos	Un anillo es un compuesto cuyos átomos están conectados para formar un ciclo (Smith y March, 2007).	Muegge	Biblioteca virtual de compuestos
9	Refractividad	Está fuertemente relacionada con el volumen de las moléculas y las fuerzas de dispersión de London que tienen efecto importante en la interacción fármaco-receptor (Chemaxon, 2015).	Ghose	Biblioteca virtual de compuestos
10	<i>Docking</i>	Es un término utilizado para los esquemas computacionales, en el cual se intenta encontrar el mejor acople entre la diana y el ligando (Halperin, Ma, Wolfson y Nussinov, 2002). El proceso comienza con la aplicación de algoritmos de acoplamiento que enlazan las moléculas en el sitio activo de la diana (Kitchen, Decornez, Furr y Bajorath, 2004).	Diseño de unión con el receptor	Modelaje por anclaje molecular
11	Scoring	Función que predice la actividad biológica a través de la evaluación de las interacciones entre los compuestos y las dianas	Energía de unión con el receptor	Modelaje por anclaje molecular

		potenciales y se basan en las interacciones de los compuestos mediante aproximaciones de la estructura y sus propiedades electroestáticas (Kitchen, Decornez, Furr y Bajorath, 2004).		
12	Energía libre de Gibbs	Es la energía libre necesaria para realizar un trabajo (Chang, Chen y Gilson, 2007). Es determinante como criterio de aceptación; menor energía, mayor afinidad con el receptor.	Energía de unión con el receptor	Modelaje por anclaje molecular

Fuente: Cruz, 2015; Blanco, 2017; Zúñiga, 2017

Instrumentos de recolección de información

Al ser un enfoque cuantitativo la recolección de datos, se basa en instrumentos estandarizados. Los datos se obtienen por observación, medición y documentación. Se utilizan instrumentos que han demostrado ser válidos y confiables en estudios previos o se generan nuevos basados en la revisión de la literatura y se prueban y ajustan (Hernández, *et al.*, 2014).

Inicialmente, la recolección de información científica se realiza mediante revistas científicas, tesis, bases de datos y libros de texto. Para posteriormente con el uso de diferentes programas computacionales como Marvin Sketch, PubChem, CASTp, UCSF Chimera y PYRx Virtual Screening tool, diseñar y desarrollar la biblioteca virtual.

Chemicalize es un programa desarrollado por Chemaxon, que proporciona cálculos y predicciones basadas en estructura para cualquier estructura de molécula. Los cálculos incluyen análisis elementales, nombres e identificadores, pKa, logP / logD, así como también solubilidad. También permite determinar las propiedades básicas y estructurales, como la visualización 2D y 3D de la estructura, la masa molar exacta, la fórmula, del mismo modo el conteo de átomos, aceptador de enlaces de hidrógeno y recuento de donantes, área de superficie polar topológica y polarizabilidad (Chemicalize, 2018).

PyRx utiliza un software de cribado virtual útil para el descubrimiento de fármacos computacionales para la detección de bibliotecas de compuestos contra posibles dianas farmacológicas. Además, incluye el asistente de acoplamiento con una interfaz de usuario fácil de usar que lo convierte en una herramienta valiosa para el diseño de medicamentos asistidos por computadora.

PubChem es una base de datos de química abierta en los Institutos Nacionales de Salud (NIH). Permite la recopilación de información sobre estructuras químicas, identificadores, propiedades químicas y físicas, actividades biológicas, patentes, salud, seguridad, datos de toxicidad, entre otros.

UCSF Chimera es un programa extensible que permite generar imágenes y animaciones de alta calidad para la visualización interactiva y análisis de estructuras moleculares y datos relacionados, incluyendo mapas de densidad, ensamblajes supramoleculares, alineamientos de secuencia, resultados de acoplamiento, trayectorias y conjuntos conformacionales.

Procedimiento de recolección y análisis de los datos

A continuación, se muestra una breve descripción de la metodología para realizar el desarrollo de compuestos derivados del análogo de Rimonabant y el análisis de los datos obtenidos.

Diseño del ligando

Para realizar la biblioteca virtual, de inicio se utiliza el programa Marvin Sketch la cual permite el diseño bidimensional de estructuras, a partir de la ya existente (Rimonabant). A cada molécula se le realizan diferentes modificaciones estructurales para la generación de nuevas propiedades fisicoquímicas.

Estimación y análisis de las propiedades fisicoquímicas y estructurales de los derivados

De cada molécula, se obtiene un código alfanumérico llamado SMILES, el cual es exclusivo de cada estructura, lo que permite obtener las propias características de cada una. Al ingresar este código en Chemicalize, se despliegan los cálculos y predicciones basadas, como la masa molar, logP, refractividad molar, área polar superficial, entre otras propiedades fisicoquímicas.

Al momento de obtener las características de cada estructura, se utilizan las hojas de cálculo para recopilar y mantener un control de los datos estimados y posteriormente se analizan, comparando las propiedades fisicoquímicas de la molécula *hit* y los cincuenta análogos correspondientes.

Acople molecular

Para realizar el *docking*, se selecciona de inicio dos proteínas como el objetivo macromolecular, obtenidas en el sitio web Protein Data Bank (PDB), en donde la primera consistió en el CB1 con una resolución de 2.8 Å y el receptor GABA 2.75 Å. No obstante, para el CB2 se realizó una predicción estructural basada en homología a partir de CB1 utilizando la herramienta Swiss Model. Se toma en cuenta la herramienta CASTp para obtener los sitios de unión de cada macromolécula.

Mediante la herramienta virtual Chimera, se preparan todas las estructuras tomando en cuenta el receptor como los ligandos con las mejores propiedades.

Utilizando PYRx Virtual Screening tool se realiza el acople molecular de los análogos realizados para definir el sitio de unión de la molécula y el receptor CB1, contrastando la unión con el receptor GABA como también con el CB2.

Determinación de la molécula hit

Se toman en cuenta los candidatos potenciales, es decir, las moléculas que muestran una actividad química tomando en cuenta su afinidad de unión con el receptor y se analizan para la elección definitivo de la molécula. Este se basa en la estructura que presente mejor unión con el receptor CB1 y no así con el receptor GABA ni CB2.

CAPÍTULO 4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

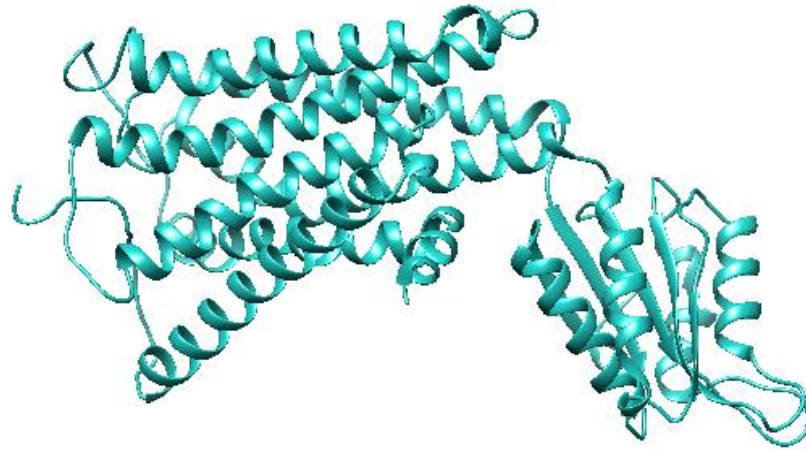
Selección del objetivo macromolecular

La elección de un receptor u objetivo macromolecular involucra la identificación de una estructura cristalográfica por microscopía electrónica que presente cualidades potenciales para definir y delimitar un sitio de unión. Esta delimitación del sitio de unión muestra las interacciones que puedan estar involucradas en las modificaciones conformacionales y que además produzcan una respuesta o efecto como parte de un cambio esperado en la actividad biológica (Zúñiga, 2017).

Reggio (2010) menciona que las estructuras experimentales para el receptor CB2 no se encuentran disponibles. Sin embargo, en esta investigación se realizó una predicción estructural basada en homología para dicho receptor. Se seleccionó el receptor humano cannabinoide 1 CB1 (PDB-ID 5TGZ; Figura 15 buscado en el banco de proteínas Protein Data Bank (PDB) con una resolución de 2.8 Å, el receptor GABA_A (Figura 16), con el PDB ID= 5OSA, resolución de 2.75 Å y por último el receptor cannabinoide 2 CB2 (Figura 17), obtenido en la herramienta Swiss Model.

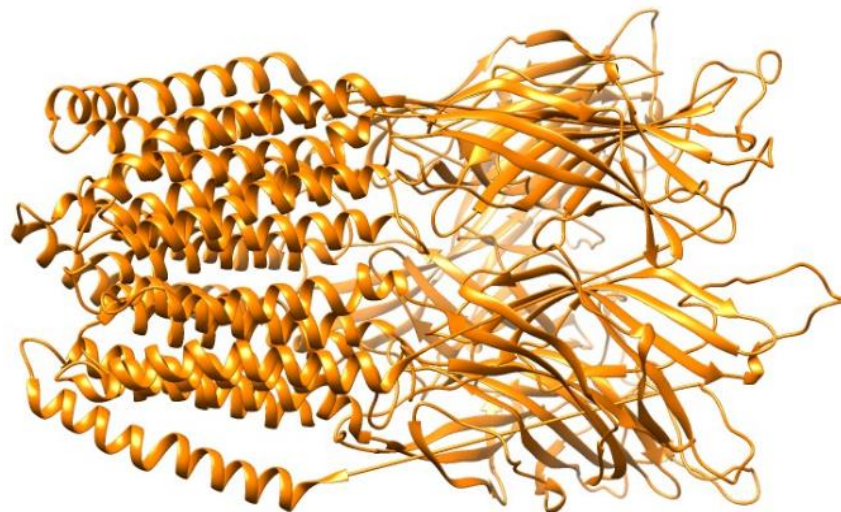
Como se mencionó previamente, para el receptor CB2 se efectuó una predicción estructural basada en homología utilizando como referencia la proteína CB1. Es importante referir que las proteínas CB1 y CB2 son homólogas porque presentan un origen evolutivo en común. Como menciona Lodis *et al.*, (2005) la evidencia principal de la homología entre proteínas y por ende de su ancestro común, es la similitud en sus secuencias.

Figura 15. Estructura cristalográfica del receptor cannabinoide 1 (PDB ID= 5TGZ) proyectado en Chimera



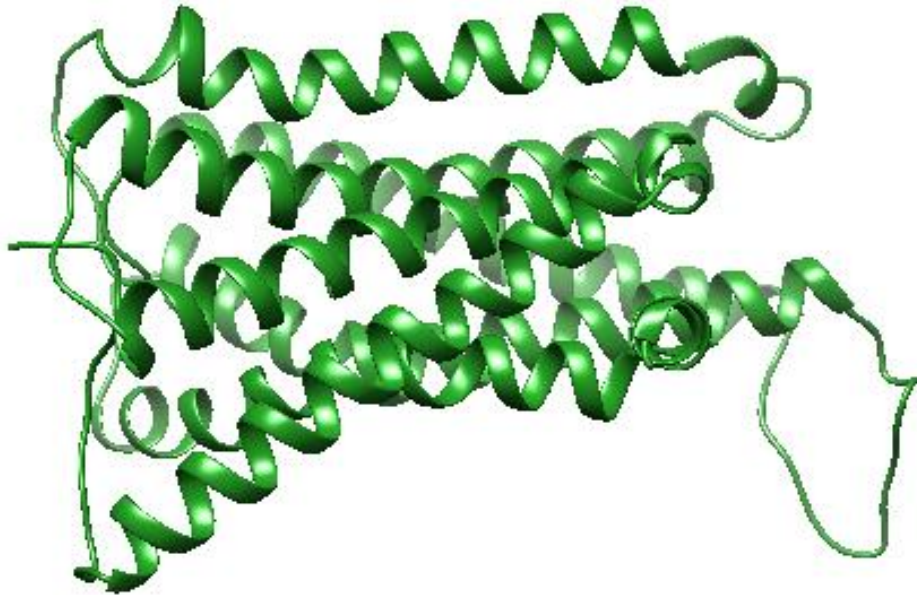
Fuente: Protein Data Bank, 2018

Figura 16. Estructura cristalográfica del receptor GABA_A (PDB ID= 5OSA) proyectado en Chimera



Fuente: Protein Data Bank, 2018

Figura 17. Estructura cristalográfica del CB2 proyectado en Chimera



Fuente: Swiss Model

Sitio de unión de los receptores CB1, GABA_A y CB2

El sitio de unión corresponde el área de la macromolécula en donde se da la unión de un ligando que puede generar un efecto o respuesta fisiológica mediada en la conductancia de iones a nivel extracelular (Zúñiga, 2017).

Chichero *et al.*, (2008) exponen que se encuentran tres diferentes subcavidades del receptor CB1 catalogados como P1, P2 y P3, en donde están involucrados en la interacción receptor-ligando. Básicamente, P1 es un sitio de unión considerado crucial para el antagonismo del receptor; que está formado por Lisina192, Tirosina197 y Serina383. La subcavidad P2 aloja residuos de Fenilalanina174, Fenilalanina177, Valina196, Alanina380, Metionina384 y Leucina387; en donde estos son capaces de presentar interacciones de Van der Waals con el ligando. Por último, P3, que

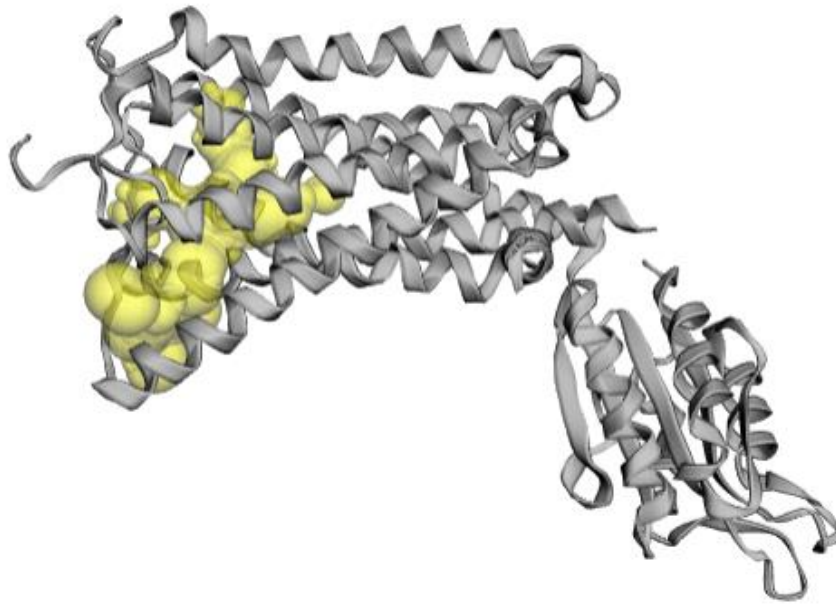
es una región hidrofóbica en donde puede ocurrir interacciones de Van der Waals y además está compuesto por Fenilalanina²⁰⁰, Tirosina²⁷⁵, Triptófano²⁷⁹, Triptófano³⁵⁶, Metionina³⁶³ y Fenilalanina³⁷⁹.

Como método de comprobación se realizó el acople molecular de Rimonabant junto con CB1, se lograron observar 3 sitios de unión con la mejor energía de unión, en donde el primer sitio, presentaba interacciones con los residuos de Cisteína¹², Glisina²¹, Metionina ¹⁴ y Valina¹⁵. En el segundo sitio, Fenilalanina¹³, Metionina ¹⁴, Glicina ²¹ y por último en la tercera región únicamente se demostraban interacciones con Glicina²¹.

Con respecto al sitio de unión de Rimonabant (SR141716) y GABA_A se observó que únicamente presentaba interacciones con Isoleucina¹³⁴¹. No obstante, con CB2 se mostraban enlaces de unión con Aspargina⁵, y Fenilalanina¹⁶⁸.

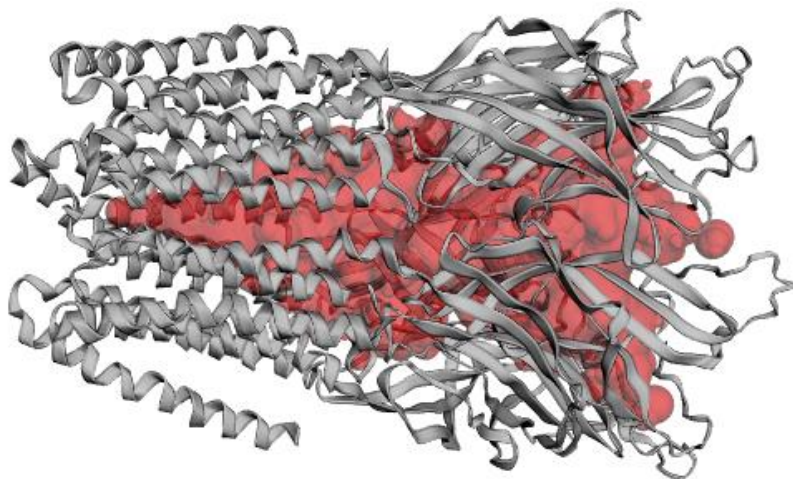
Por otro lado, mediante la herramienta CASTp se logró determinar la hendidura en la estructura proteica de los objetivos macromoleculares, denominado como *pocket*, lo que corresponde como el sitio activo del CB1 y GABA_A respectivamente (Figura 18 y 19). En consideración con el receptor CB2 se tomó como referencia el sitio activo de CB1, dado que presentan un mismo origen, es decir, son homólogas.

Figura 18. Sitio de unión del receptor CB1 utilizando CASTp



Fuente: Tian *et al.*, 2018

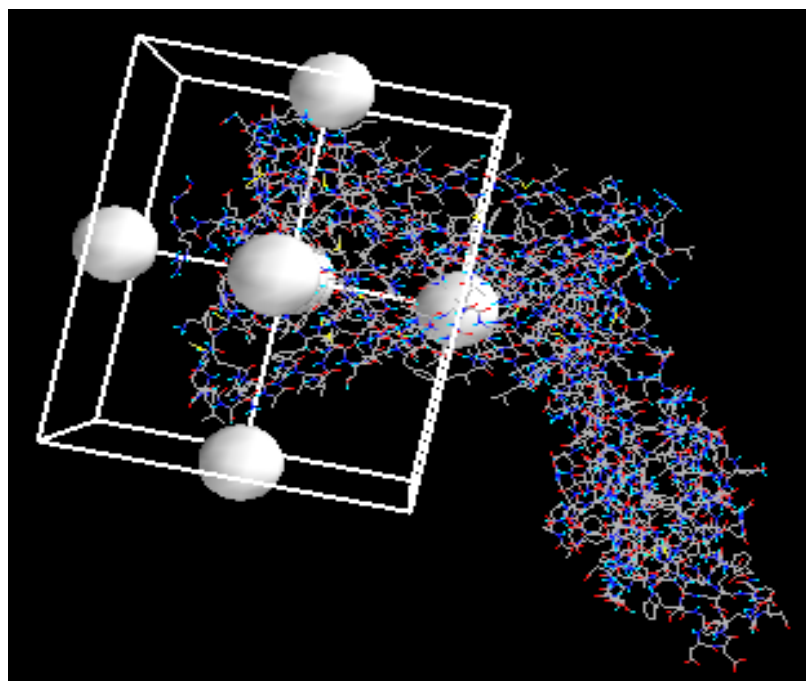
Figura 19. Sitio de unión del receptor GABA_A utilizando CASTp



Fuente: Tian *et al.*, 2018

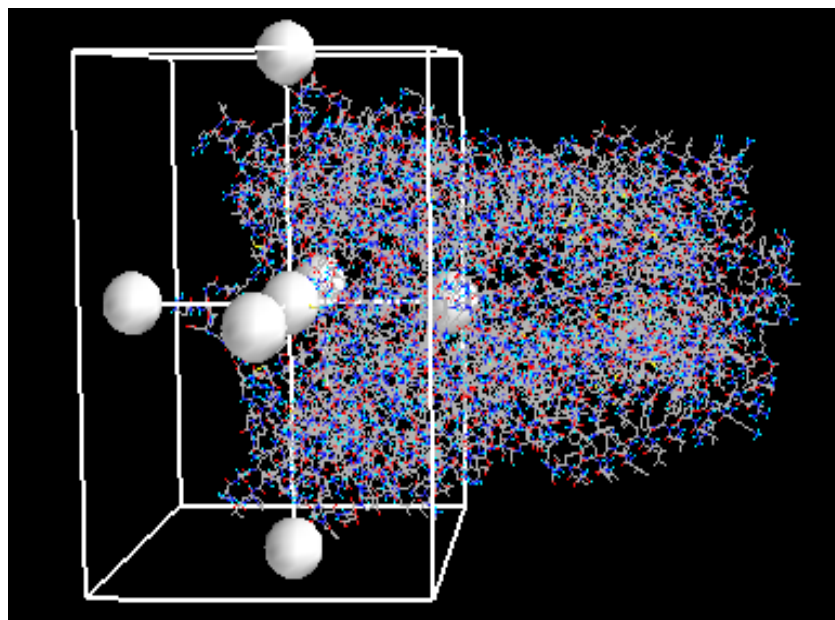
Seguidamente, al obtener el *pocket* se procedió a preparar los 3 objetivos macromoleculares de la misma manera usando Chimera, se eliminaron los ligandos y las moléculas de agua que rodeaban las proteínas. Para tener un buen acople y especificación del sitio de unión respectivamente, se definió el Gridbox de CB1, GABAa Y CB2 mediante PyRX (Figura 20, 21, y 22).

Figura 20. Gridbox de la diana CB1



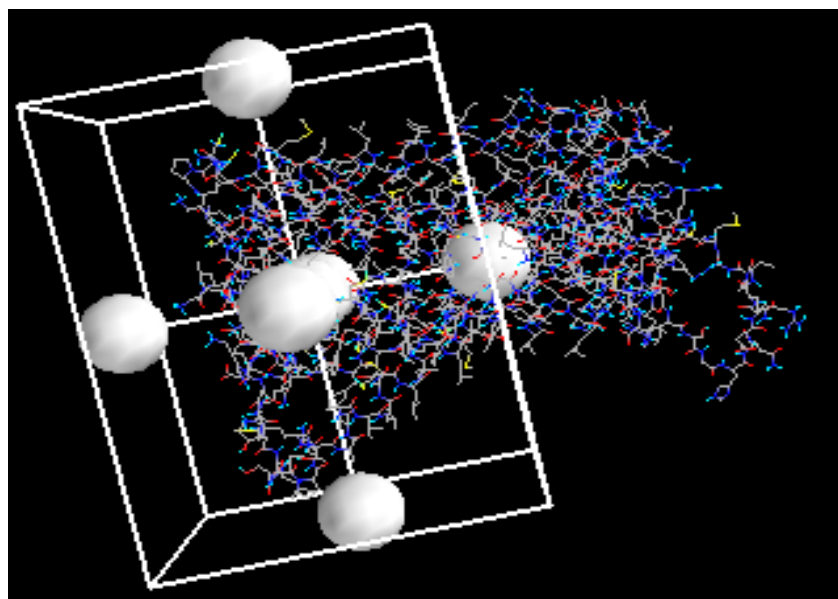
Fuente: PyRX, 2018

Figura 21. Gridbox de la diana GABA_A



Fuente: PyRX, 2018

Figura 22. Gridbox de la diana CB2



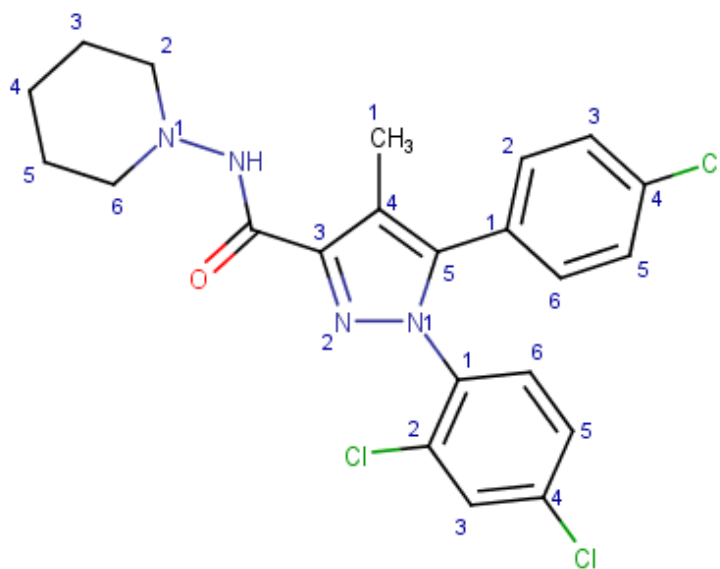
Fuente: PyRX, 2018

Biblioteca de compuestos

Para realizar el diseño de la biblioteca de compuestos de 50 estructuras se efectuaron variaciones moleculares a partir de la base de Rimonabant, esto para identificar las propiedades fisicoquímicas capaces de modular la afinidad por CB1, GABA_A y CB2.

Lange y Kruse (2005), exponen que para que exista una unión óptima en el receptor CB1 se requiere de un anillo de fenilo *para*-sustituido en la posición 5 de pirazol y un patrón de sustitución de 2-cloro o 2,4-dicloro-fenilo en la posición 1 de pirazol. Sería favorable también una sustitución de anillo en el grupo 3-carboxamida, como el grupo 1-piperidinio como sucede con el Rimonabant (Figura 23).

Figura 23. Estructura de rimonanbant (SR141716) con enumeración según IUPAC



Con base en lo anteriormente mencionado, para el diseño de la biblioteca de compuestos orgánicos se modificó el anillo de pirazol en ciertos diseños, como también se cambiaron los halógenos de cloro por bromo y yodo, entre otras modificaciones realizadas.

Propiedades fisicoquímicas analizadas

Para valorar las posibilidades de las moléculas incluidas en la biblioteca como prototipos viables para el diseño de fármacos, se establecieron parámetros estructurales y fisicoquímicos para efectuar una caracterización de aspectos transcendentales que pueden influir en la predicción de las propiedades como prototipo y como fármaco.

Masa molar

La masa molecular es una de las propiedades que caracteriza el tamaño molecular, la diversidad estructural y uno de los parámetros básicos para determinar la biodisponibilidad oral, pues a menor masa molecular, mayor biodisponibilidad (Zuñiga, 2017; Veber *et al.*, 2002).

En la Tabla 9 se observan los rangos establecidos por los diferentes filtros (Lipinski, Ghose, Muegge y biodisponibilidad) utilizados para determinar la masa molecular.

Tabla 9. Rangos establecidos para la masa molecular

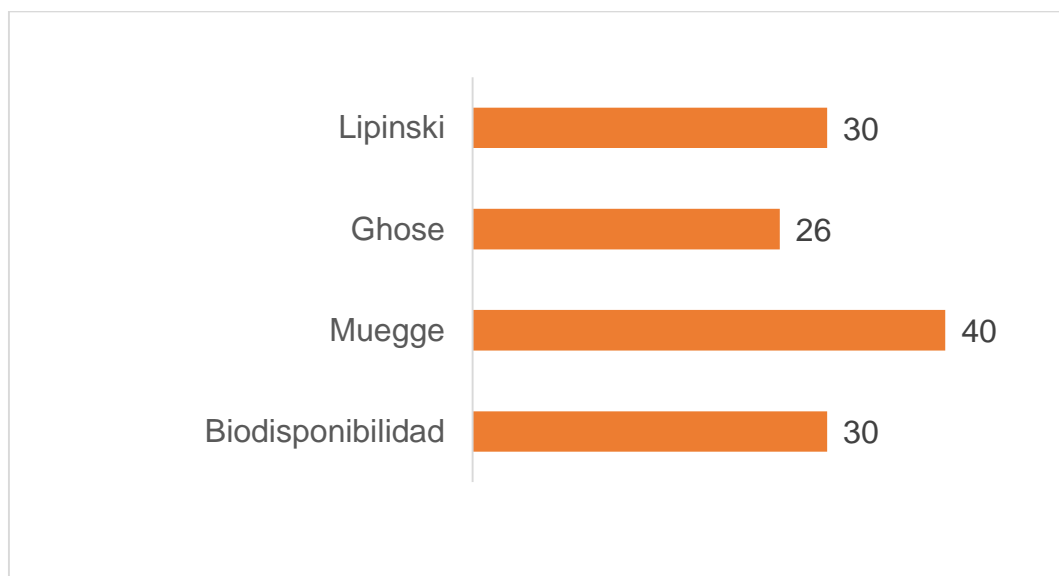
Filtro	Rango
Lipinski	Menor a 500 Da
Ghose	Entre 160 y 480 Da, con un rango de preferencia de 230 a 390 Da

Muegge	Entre 200 y 600 Da
Biodisponibilidad	Menor a 500 Da

Fuente: Cruz, 2015

En la Figura 24 se observa que de las 50 moléculas diseñadas, sólo 26, lograron cumplir el filtro de Ghose. Esto indica que este filtro delimita de manera crítica las moléculas con el rango de masa molar entre 160 y 480. En comparación con el filtro Muegge, este presenta de una manera más amplia el rango entre 200 y 600 Da, en donde 40 moléculas fueron aprobadas para esta regla.

Figura 24. Cantidad de análogos diseñados que cumplen con los filtros de masa molecular



Fuente: Elaboración propia

Coefficiente de reparto (LogP)

La lipofilidad, se expresa como una relación entre la solubilidad en octanol y la solubilidad en agua (LogP), es decir, permite determinar la hidrofobicidad de una molécula. Se calcula en análisis fisicoquímicos relacionados con la absorción (Lipinski *et al.*, 2001). LogP es una propiedad dependiente del tamaño molecular, la polaridad y los donadores y aceptores de hidrógeno, por lo que requiere un mínimo de lipofilidad para contribuir a la biodisponibilidad oral (Veber *et al.*, 2002).

No obstante, es conveniente e importante controlar el LogP de igual manera, el límite inferior como el superior debido a que la lipofilidad favorece la absorción, pero si esta es muy elevada, se solubilizará menos la molécula, lo que desfavorece su absorción (Cruz, 2015).

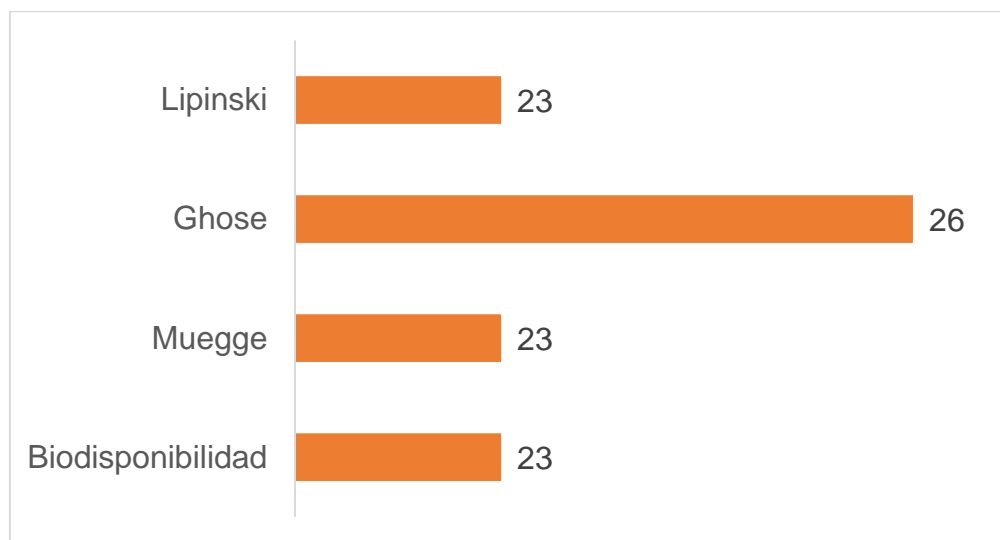
Los filtros que establecen los rangos para el coeficiente de reparto son Lipinski, Ghose, Muegge y Biodisponibilidad (Tabla 10).

Tabla 10. Rangos establecidos para el coeficiente de reparto

Filtro	Rango
Lipinski	Menor a 5
Ghose	Entre -0,4 y 5,6 Da, con un rango de preferencia de 1,3 a 4,1
Muegge	Entre -2 y 5
Biodisponibilidad	Menor a 5

Fuente: Cruz, 2015

Figura 25. Cantidad de análogos diseñados que cumplen con los filtros de coeficiente de reparto



Fuente: Elaboración propia

Área polar superficial (PSA)

El área polar superficial corresponde a la superficie de Van der Waals ocupada por átomos de oxígeno y nitrógeno y los hidrógenos polares unidos a estos heteroátomos, por lo que se relaciona con los donadores y aceptores de hidrógenos (Muegge, 2003).

En la siguiente Tabla 11, se exponen los rangos de los filtros utilizados para determinar el área polar superficial. Todas las 50 moléculas modificadas cumplieron con los filtros de Veber, Muegge y biodisponibilidad.

Tabla 11. Rangos establecidos para el área polar superficial

Filtro	Rango
Veber	140 Å
Muegge	150 Å
Biodisponibilidad	200 Å

Fuente: Cruz, 2015

Donadores y aceptores de hidrógenos

Los donadores y aceptores de puentes de hidrógenos aumentan con la masa molecular, es decir; incrementan con la adición carbonos y grupos funcionales no polares. (Veber *et al.*, 2002) Además, están implicados con el área polar superficial en cuanto al análisis de la biodisponibilidad oral; al existir un excesivo número de donadores y aceptores de hidrógeno, afectan la permeabilidad de la molécula a través de las membranas biológicas. Sin embargo, se ha observado que, a menor cantidad de donadores y aceptores, hay mayor permeabilidad (Lipinski *et al.*, 2001).

En la Tabla 12 se muestran los rangos que se utilizaron para limitar a las moléculas, en donde a partir de los datos que se obtienen de la biblioteca virtual de compuestos, se logró observar que todas las moléculas presentan menos de 6 aceptores y menos de 4 donadores, por lo que todas las estructuras están dentro del rango de los filtros utilizados.

Tabla 12. Rangos establecidos para donadores y aceptores de hidrógeno

Filtro	Rango
Veber	Menos de 12 aceptores y donadores
Muegge	Menos de 10 aceptores y menos de 5 donadores
Biodisponibilidad	Menos de 10 aceptores y menos de 5 donadores
Lipinski	Menos de 10 aceptores y menos de 5 donadores

Fuente: Elaboración propia

Refractividad molar (RM)

La refractividad molar se relaciona con el volumen estérico de las moléculas, la lipofilidad y las fuerzas de dispersión de London que generan un efecto importante en la interacción fármaco-receptor. Esta propiedad está influida en un carácter hidrofóbico dado por las interacciones de Van der Waals por lo que conciernen con la unión del receptor, así como en la permeabilidad a través de membranas biológicas y por lo tanto en la biodisponibilidad (Ghose *et al.*, 1999).

Esta propiedad fisicoquímica permite tener una probabilidad de aproximar las interacciones electrostáticas entre el ligando y el receptor, que resultan de la fuerza de atracción entre cargas positivas y negativas de dos moléculas. En donde la fuerza de atracción entre estas cargas opuestas genera interacciones como carga-carga, carga-dipolo y dipolo-dipolo. Cuando se da la inducción de los dipolos, la fuerza de interacción va a depender del momento dipolar y de la polarizabilidad, formando una transferencia de cargas, manifestando así cambios en las propiedades a causa de la

deformación de las capas de electrones de los iones por la influencia de cargas vecinas o a la polarización (Pacak, 1989).

En cuanto a la investigación, solo Ghose incluye en su filtro esta propiedad, con un rango de 40-130, y, sin embargo, de las 50 moléculas diseñadas, 24 lograron estar dentro del mismo.

Enlaces rotables

El enlace rotable se detalla como cualquier enlace sencillo, que no está en un anillo, unido a un átomo pesado no terminal. Estos enlaces generan complejidad estructural y flexibilidad de torsión; es decir, brinda mayor libertad de movimiento, lo que genera mayores posibilidades al ligando de tener distintas conformaciones (Cruz, 2015).

Es necesario tomar la molécula con mejor conformación para considerar la unión con la diana; si existe mayor rigidez es debido a que el movimiento en el espacio disminuye por el aumento de afinidad a la diana causado por el cambio entrópico. Este cambio se genera por una disminución de entropía que es compensado con lo que se conoce como entalpía (Ferrante y Gorski, 2012).

Número de anillos

Un anillo es un compuesto cuyos átomos están conectados para formar un ciclo. Los anillos generan complejidad estructural a las moléculas y también forman parte de la rigidez estructural (Cruz, 2015). En la Tabla 13 se muestran los filtros que incluyen esta propiedad con sus respectivos rangos.

La molécula base presenta normalmente en su estructura 4 anillos incluyendo 2 anillos de benceno, 1 de pirrol y 1 de pirrazol; sin embargo, al realizar la biblioteca de compuestos, el máximo de anillos fueron 6, dado que como se mencionó anteriormente, esta última permite buen acople en la estructura proteica por lo que no se modificó.

Tabla 13. Rango establecido para la cantidad de anillos

Filtro	Rango
Muegge	Menor a 7 anillos
Biodisponibilidad	Menor a 5 anillos

Fuente: Zúñiga, 2017

Número de átomos pesados

El número de átomos pesados, que no incluye hidrógenos está implicado con el tamaño molecular, así como también en la energía libre de unión durante las interacciones. Cuando se realiza una comparación de moléculas según la energía libre de unión por átomo, se le designa eficiencia de ligando o de unión, es decir cuantifica como la molécula utiliza sus características moleculares para unirse al receptor (Cruz, 2015; Reynolds, Bembenek, y Tounge, 2007).

El cálculo se realiza dividiendo la afinidad entre el número de átomos pesados; por ende, si aumenta el número de átomos pesados, reduce la eficiencia de ligando, no obstante, según indica Cruz (2015), también se puede mostrar alta afinidad con poca cantidad de átomos, lo que representa que la fuerza de interacción de estos átomos es mayor. Esta medida sirve para valorar si un ligando

deriva su potencia por acoplar de forma óptima con el receptor o presentar contactos con el sitio de unión (Reynolds, Bembenek, y Tounge, 2007).

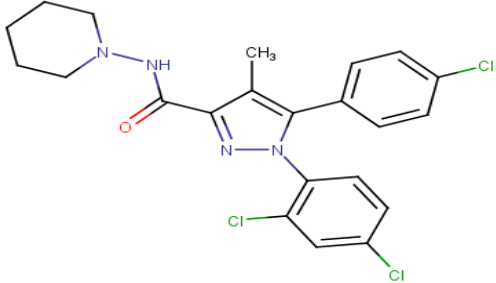
***Scoring* del diseño 46 y los receptores CB1, GABA_A y CB2**

El *scoring* es el enlace de afinidad al receptor, se estima en el modelo físico la suma de las energías electroestáticas y las interacciones de Van der Waals. Básicamente, este modelo empírico es basado en las propiedades fisicoquímicas como puentes de hidrógeno, cambios de entropía y contactos hidrofóbicos. Las funciones del *scoring* se basan en la suposición de esa afinidad de unión que se puede representar como la suma de términos independientes. Estas funciones son necesarias desde el punto de vista cualitativo como cuantitativo (Tuccinardi, 2009).

Para cada ligando, un algoritmo de acoplamiento generalmente produce un gran número de soluciones y el primer papel de una función de puntuación para cada ligando es clasificar la calidad de las soluciones. El segundo rol es clasificar los resultados según la vinculación de afinidades relativas de diferentes ligandos (Tuccinardi, 2009).

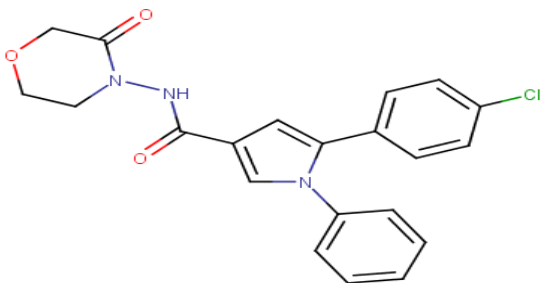
Mediante el acople molecular y comprobar la afinidad con los receptores, se obtuvieron y se analizaron 17 moléculas. Se utilizó el *scoring* para comparar las energías de unión de la molécula control (Rimonabant) (Tabla 14) y los ligandos con mayor afinidad al receptor CB1 y de menor afinidad respectivo a los receptores GABA_A y CB2 (Tabla 15).

Tabla 14. Energía de unión de la molécula control para el estudio

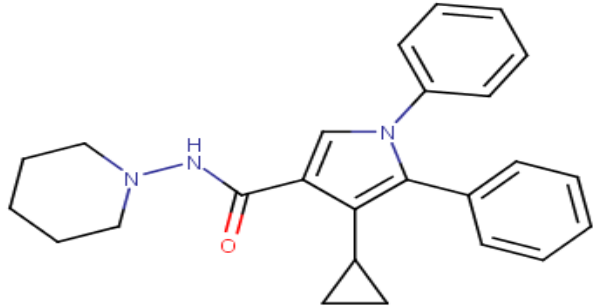
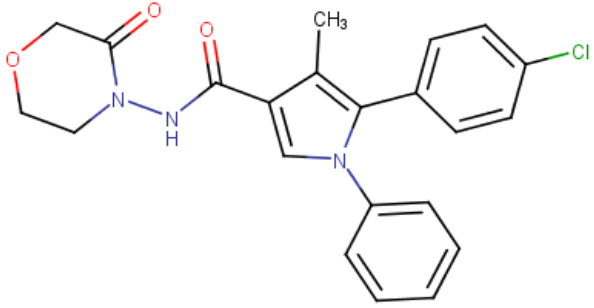
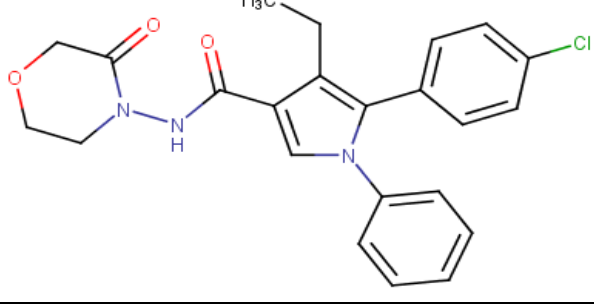
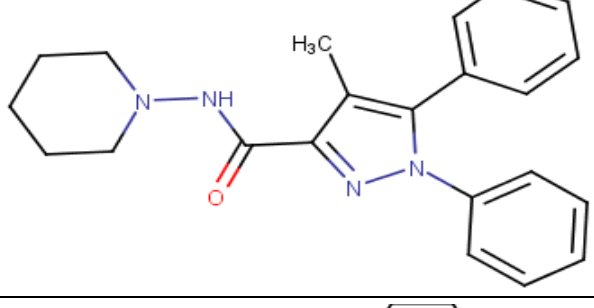
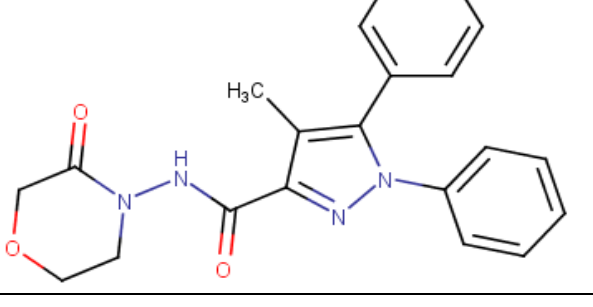
Código	Estructura	Energía de unión (kcal/mol)		
		CB1	GABAa	CB2
SR141716		-8.1	-7.8	-8.1

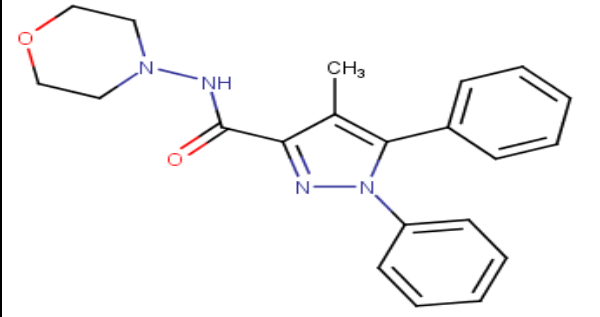
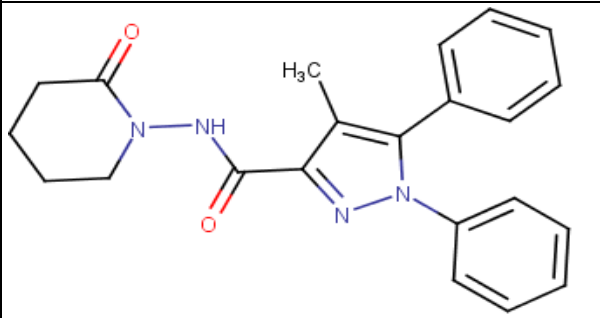
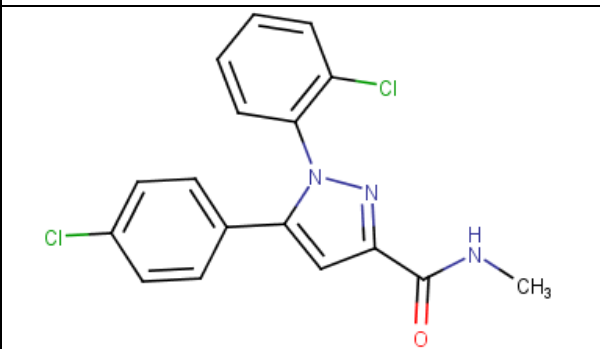
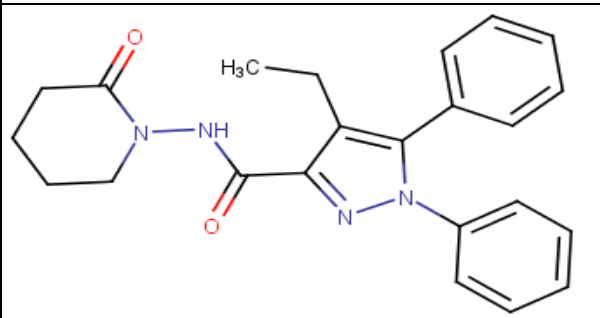
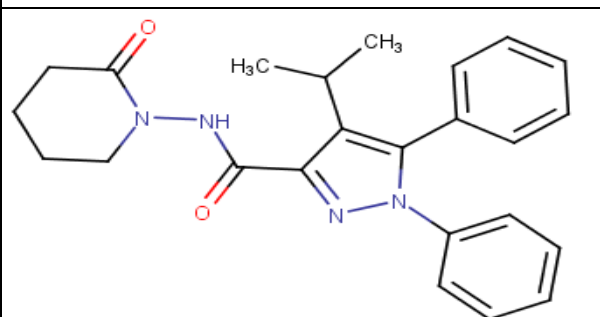
Fuente: Elaboración propia

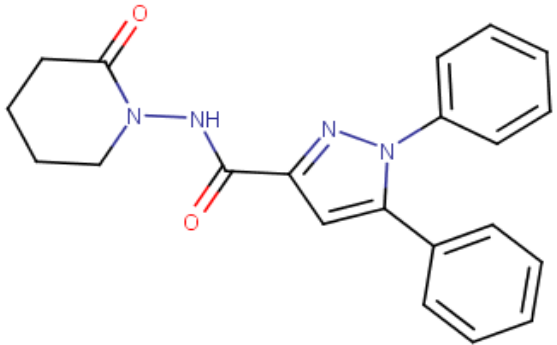
Tabla 15. Energía de unión de las moléculas analizadas

N° de Diseños moleculares	Estructura	Energía de unión (kcal/mol)		
		CB1	GABAa	CB2
7		-8.3	-8.6	-6.8

8		-7.8	-8.8	-8.2
21		-8.5	-8.1	-8.3
24		-9.7	-7.7	-7.8
34		-7.3	-7.4	-7.0
38		-9.3	-8.1	-8.3

39		-7.4	-7.7	-7.1
40		-9.4	-8.2	-7.6
41		-8.4	-8.1	-7.6
42		-8.5	-8.2	-8.6
43		-8.5	-7.9	-8.5

44		-8.2	-8.0	-6.6
45		-8.0	-7.6	-8.5
46		-8.3	-6.2	-7.9
47		-8.0	-8.1	-6.9
48		-7.8	-8.0	-7.0

49		-8.0	-8.6	-7.0
----	---	------	------	------

Fuente: Elaboración propia

Análisis del *docking* de Rimonabant y el diseño 46 con los receptores CB1, GABAa y CB2

Las estructuras aromáticas son necesarias para alcanzar una mayor estabilidad molecular e interacción con macromoléculas ya que los residuos de aminoácidos suelen formar interacciones de Van der Waals con ciclos aromáticos (Zúñiga, 2017). Dado esto, en las estructuras diseñadas, no se les realizó ninguna modificación con respecto a los grupos fenilo, esto para que presente una adecuada lipoficidad y una penetración a través de membranas biológicas.

Se obtuvo como resultado, que el diseño 46 tiene las mejores propiedades fisicoquímicas como también de acople molecular en comparación con la molécula de control. En esta investigación concierne presentar un valor menor o igual de energía de unión del ligando seleccionado y CB1, y un aumento de la energía de unión con GABAa y CB2. Aunque este ligando no tuvo la mejor energía de unión con CB1 ($\Delta G = -8.3$), sin embargo, sí lo hizo para finalidad de este experimento con GABAa y CB2 respectivamente ($\Delta G = -6.2$ y -7.9); por lo que se tomó en consideración este diseño.

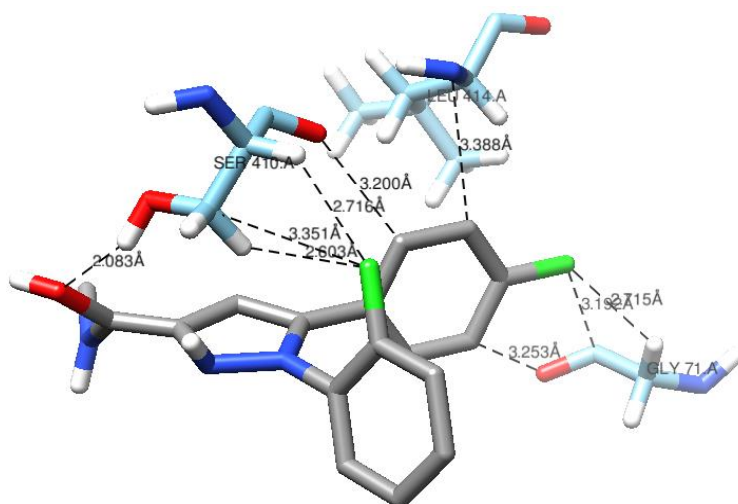
Se observa que el ligando 46 produjo diferentes interacciones dipolo-dipolo, ión-dipolo incluido también por puentes de hidrógeno con los residuos involucrados y su respectiva diana

(Figura 26, 28 y 30). En las Figuras 27 y 29 se muestran el *docking* de Rimonabant y los receptores GABA_A y CB2 respectivamente. No obstante, se tomó este ligando como molécula *hit* aunque esta se diferencia a la de control debido en la relación con CB1, el cual en la primera se tomó como referencia las tres regiones mencionadas por Chichero *et al.*, (2008) y, además, con GABA_A, la molécula 46 presentó diferencia en la interacción con Glu698, como también CB2 se difiere con la interacción con Ala68 (Tabla 16).

Tabla 16. Residuos y distancias de enlaces involucrados en las interacciones intermoleculares de las diferentes dianas con los ligandos

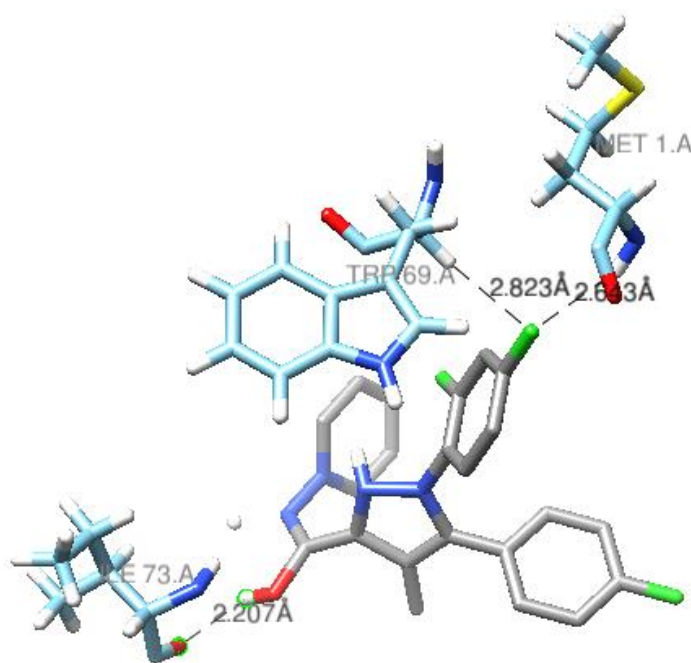
Residuos / Diana	CB1	GABA	CB2
Gly71	2.715 Å, 3.192 Å, 3.253 Å	NA	NA
Ser410	2.083 Å, 2.603 Å, 3.351 Å, 2.716 Å, 3.200 Å	NA	NA
Leu 414	3.388 Å		NA
Glu698	NA	2.671 Å	NA
Ile699	NA	2.024 Å	NA
Trp695	NA	2.584 Å	NA
Phe72	NA	NA	3.436 Å, 2.701 Å, 2.815 Å
Ala68	NA	NA	3.143 Å, 2.507 Å, 2.037 Å

Figura 26. Distancia de enlaces entre residuos involucrados del CB1 y el diseño 46



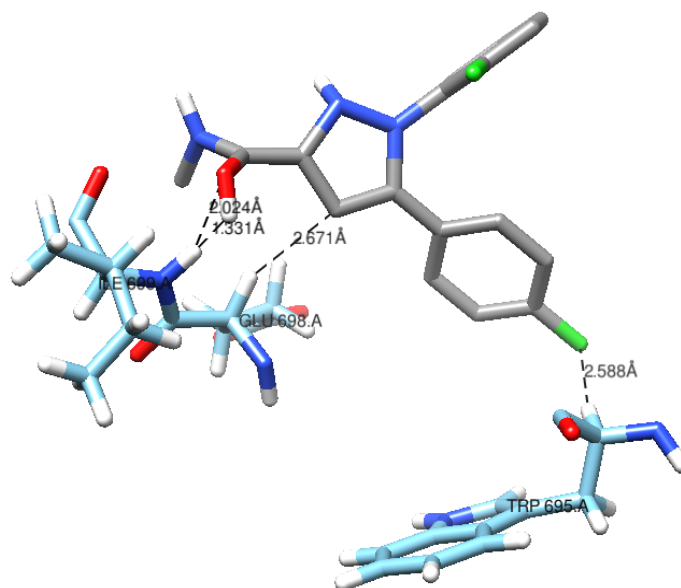
Fuente: Elaboración propia mediante Chimera, 2018

Figura 27. Distancia de enlaces entre residuos involucrados del GABA_A y el Rimonabant



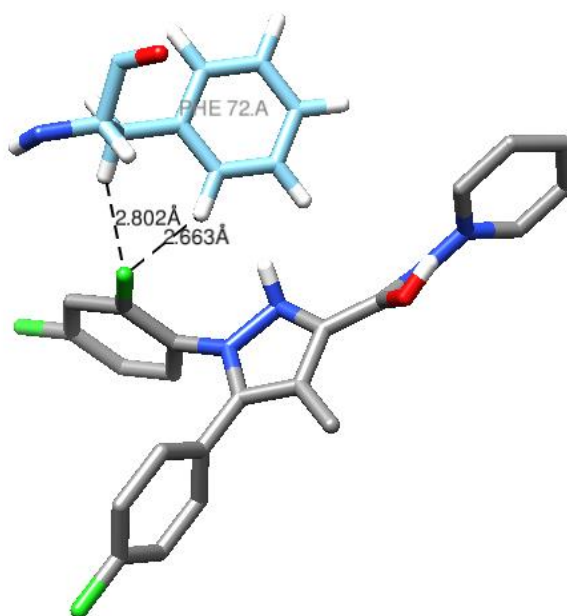
Fuente: Elaboración propia mediante Chimera, 2018

Figura 28. Distancia de enlaces entre residuos involucrados del GABAa y el diseño 46



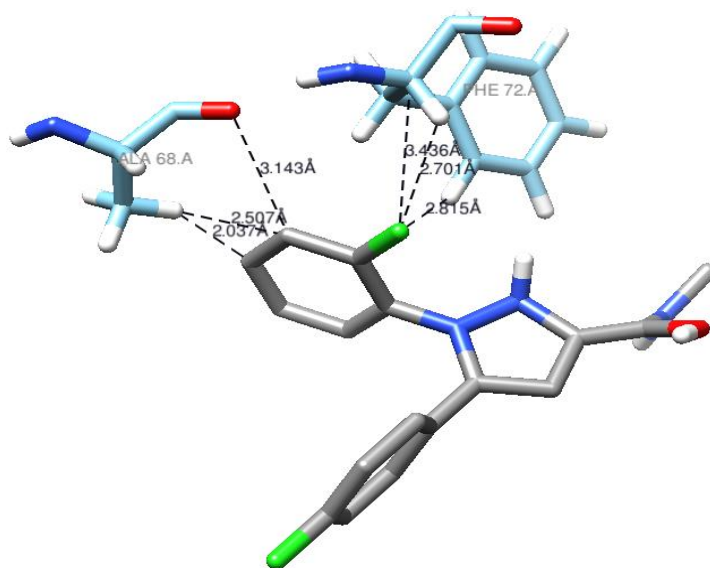
Fuente: Elaboración propia mediante Chimera, 2018

Figura 29. Distancia de enlaces entre residuos involucrados del CB2 y el Rimonabant



Fuente: Elaboración propia mediante Chimera, 2018

Figura 30. Distancia de enlaces entre residuos involucrados del CB2 y el diseño 46



Fuente: Elaboración propia mediante Chimera, 2018

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

El sistema endocannabinoide fisiológicamente favorece la ingesta y la conservación de la energía en el organismo, al ejercer acciones claves en diferentes tejidos. El antagonismo de este sistema puede funcionar como un posible tratamiento coadyuvante contra la obesidad

En esta investigación se diseñó un antagonista del receptor CB1, componente clave del sistema endocannabinoide, utilizando como referencia Rimonabant y técnicas de modelaje molecular.

Se construyó una biblioteca virtual de cincuenta moléculas derivadas de Rimonabant mediante herramientas computacionales, y se estimaron las propiedades fisicoquímicas

Se realizó anclaje molecular con 17 moléculas seleccionadas de la biblioteca previamente construida, que presentan las mejores características fisicoquímicas estimadas.

Se determinó como molécula hit a la estructura 1-(2-clorofenil)-5-(4-clorofenil)-N-metil-1H-pirazol-3-carboxamida (diseño 46). Esta molécula presentó la mejor energía de acople molecular con los receptores CB1 (-8.3 kcal/mol), GABA_A (-6.2 kcal/mol), y CB2 (-7.9 kcal/mol).

Recomendaciones

Se sugiere desarrollar fuentes de información con una mayor cantidad de moléculas para utilizarlos como próximas investigaciones para el descubrimiento y desarrollo de nuevas drogas.

Se deben extender los estudios del sistema endocannabinoide y su relación con el sobrepeso y la obesidad para alternar y ampliar en el mercado la farmacoterapia de esta patología.

Se debe realizar estudios experimentales concretamente pruebas de absorción y de dosificación con el fin de demostrar la eficacia de manera *in vitro* la molécula 1-(2-clorofenil)-5-(4-clorofenil)-N-metill-1H-pirazol-3.

Referencias

- American Association of Clinical Endocrinologist/American College of Endocrinology (AACE/ACE) Obesity Task Force. AACE/ACE Position statement on the prevention, diagnosis, and treatment of obesity. (1998). *Endocr Pract.* 4. Pp. 297-330.
- Ashton, J. (2008). Pro-Drugs for Indirect Cannabinoids as Therapeutic Agents. *Curr Drug Deliv.* 5. Pp. 243-247.
- Baker, D.; Pryce, G.; Croxford, J.; Brown, P.; Pertwee, R.; Makriyannis, A.; Khanolkar, A.; Layward, L.; Fezza, F.; Bisogno, T. y Di Marzo, V. (2001). Endocannabinoids Control Spasticity in a Multiple Sclerosis Model" *Faseb Journal*, 15. P. 300.
- Baur, R.; Gertsch, J.; y Sigel, E. (2011). The cannabinoid CB1 receptor antagonists Rimonabant (SR141716) and AM251 directly potentiate GABA receptors. *British Journal of Pharmacology*. Pp. 2479–2484. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2011.01405.x
- Barrera, A.; Ávila, L.; Cano, E.; Molina, M.; Parrilla, J.; Ramos, R.; Sosa, A.; Sosa, M.; Gutiérrez, J. (2013). Guía de práctica clínica Prevención, diagnóstico y tratamiento del sobrepeso y la obesidad exógena. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 51(3) Pp. 344-357
- Berman, H.; Westbrook, J.; Feng, Z.; Gilliland, G.; Bhat, T. y Weissig, H. (2000) The protein data bank, *Nucleic. Acids. Res.* 28 Pp. 235–242. DOI:
- Bisogno, T.; Melck, D.; Bobrov, M.; Gretskaya, N.; Bezuglov, V.; De Petrocellis, L. y Di Marzo, V. (2000). N-Acyl-Dopamines: Novel Synthetic Cb1 Cannabinoid- Receptor Ligands and Inhibitors of Anandamide Inactivation with Cannabimimetic Activity *in vitro* and *in Vivo*. *Biochemical Journal*, 351. Pp. 817-824. Recuperado de ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1221424/pdf/11042139.pdf
- Blanco, A. (2017). Docking para el diseño de ésteres derivados de benzotiazol como posibles antifúngicos inhibidores de la N-miristoiltransferasa para el uso en procedimientos de limpieza contra el hongo *Aspergillus fumigatis*. (Tesis). Universidad Internacional de las Américas. San José, Costa Rica.

- Bracey, M.; M. A. Hanson, K. R. Masuda, R. C. Stevens y B. F. Cravatt. (2002). Structural Adaptations in a Membrane Enzyme That Terminates Endocannabinoid Signaling" *Science*, 298 P. 1793-1796. DOI: 10.1126/science.1076535
- Carmona, R.; Barth, F.; Héaulme, M.; Alonso, R.; Shire, D.; Congy, C.; Soubrié, P.; Brelière, J y Le Fur, G (1995). Biochemical and pharmacological characterisation of SR141716A, the first potent and selective brain cannabinoid receptor antagonist. *56(23-24)* Pp.1941-1947 DOI: 10.1016/0024-3205(95)00174-5
- Chang, C., Chen, W. y Gilson, M. (2007). Ligand configurational entropy and protein binding. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104 (5): 1534-1539. DOI: 10.1073/pnas.0610494104.
- Chang, R. (2007). *Química*, (9° ed.). México: McGraw-Hill Interamericana.
- Colman, R.; Anderson, R.; Johnson, S.; Kastman, E.; Kosmatka, K.; Beasley, T.; Allison, D.; Cruzen, C.; Simmons, H.; Kemnitz, J.; Weindruch, R. (2009). Caloric Restriction Delays Disease Onset and Mortality in Rhesus Monkeys. *Science*. 325. Pp. 201-204. DOI: 10.1126/science.1173635
- Condie, R.; Herring, A.; Koh, W.; Lee, M. y Kaminski, N. (1996). Cannabinoid Inhibition of Adenylate Cyclase-Mediated Signal Transduction and Interleukin 2 (Il-2) Expression in the Murine T-Cell Line, El4.II-2" *Journal of Biological Chemistry*, 271 (22). Pp. 13175-13183. DOI: 10.1074/jbc.271.22.13175
- Cruz, C. (2015). Identificación de un inhibidor de la proteasa NS3/NS2B en productos naturales descritos en la biodiversidad costarricense por técnicas de modelaje molecular para el diseño de un potencial prototipo de fármaco para el tratamiento del virus del dengue. (Tesis). Universidad Internacional de las Américas. San José, Costa Rica.
- Dansinger M.; Gleason J.; Griffith J.; Selker H.; Schaefer E. (2005). Comparison of the Atkins, Ornish Weight Watchers, and Zone diets for weight loss and heart disease risk reduction: a randomized trial. *JAMA.*; 293(1) Pp. 43–53. DOI: 10.1001/jama.293.1.43
- Deadwyler, S.; Hampson, R.; Mu, J.; Whyte, A.; Childers, S. (1995). Cannabinoids Modulate Voltage-Sensitive Potassium a-Current in Hippocampal-Neurons Via a Camp- Dependent Process. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Pp. 273, 734.

- Després, J.; Golay, A.; Sjöström, L. (2005). Effects of Rimonabant on Metabolic Risk Factors in Overweight Patients with Dyslipidemia. *The new england journal of medicine*. Pp. 2121-2134. DOI: 10.1056/NEJMoa044537
- Devane, W.; Dysarz, F.; Johnson, M.; Melvin, L. y Howlett, A. (1988). Determination and Characterization of a Cannabinoid Receptor in Rat-Brain. *Molecular Pharmacology*, 34 (5). Pp. 605-613.
- De Petrocellis, L.; Cascio, M.; Di Marzo, V. (2004). The Endocannabinoid System: A General View and Latest Additions. *British Journal of Pharmacology* 141, 765.
- Escobar, I.; Berrouet, M.; González, D. (2009). Mecanismos moleculares de la adicción a la Marihuana. *Rev. Colomb. Psiquiat.*, 38 (1). Pp. 126-142. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=80615419010>
- Felder, C.; Joyce, K.; Briley, E.; Mansouri, J.; Mackie, K.; Blond, O.; Lai, Y.; Ma, A y Mitchell, R. (1995). Comparison of the Pharmacology and Signal-Transduction of the Human Cannabinoid Cb1 and Cb2 Receptors" *Molecular Pharmacology*. 48, P. 443.
- Ferrante, A. y Gorski, J. (2012). Enthalpy-entropy compensation and cooperativity as thermodynamic epiphenomena of structural flexibility in ligand-receptor interactions. *Journal of Molecular Biology*, 417(5). Pp. 454–467. doi:10.1016/j.jmb.2012.01.057
- Fouda, H.; Lukaszewicz, J. y Luther, E. (1987). Selected Ion Monitoring Analysis of Cp- 55,940, a Cannabinoid Derived Analgesic Agent" *Biomedical and Environmental Mass Spectrometry*, 14. Pp. 599.
- Fonseca, F.; Navarro, M.; Gomez, R.; Escuredo, L.; Nava, F.; Fu, Murillo, J.; Giuffrida, A. LoVerme, J.; Gaetani, S.; Kathuria, S.; Gall, C. y Piomelli, D. (2001). An Anorexic Lipid Mediator Regulated by Feeding" *Nature*, 414, Pp. 209-212. DOI: 10.1038/35102582
- Formiguera, X y Sierra, A. (2007). Nuevos aspectos terapéuticos para el control de los factores de riesgo de la obesidad. *Med Clin Barc*. 128 (13) Pp. 508-514. DOI: 10.1157/13100945
- Fowler, C. (2012). MonoacylGLYcerol lipase - A target for drug development? *Br. J. Pharmacol*. 166. Pp. 1568–1585

- Galante, M.; O'donnell, V.; Gaudio, M.; Begue, C.; King, A. y Goldberg, L. (2016). Epidemiological Condition of Obesity in Argentina. *Rev Argent Cardiol.* 84 (2). Pp. 126-132. DOI: 10.7775/rac.v84.i2.8028
- Gaoni, Y. y Mechoulam, R (1964). "Isolation Structure + Partial Synthesis of Active Constituent of Hashish. *Journal of the American Chemical Society.* 86, 1646-1647. DOI: 10.1021/ja01062a046
- García, J.; García, A.; Rodríguez, G.; Gálvez, A. (2010). Dimensión económica del sobrepeso y la obesidad como problemas de salud pública. *Salud en Tabasco.* 16. Pp. 891-896. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/487/48719442006.pdf>
- Gatta, B.; Matias, I.; Vallée, M.; Tabarin, A.; Marsicano, G.; Piazza, P.; Cota, D. (2012) Simultaneous postprandial deregulation of the orexigenic endocannabinoid anandamide and the anorexigenic peptide YY in obesity. *Int. J. Obes.* 36, Pp. 880–885 DOI: 10.1038/ijo.2011.165
- Gatley, S.; Gifford, A.; Dambra, N.; Estep, T.; Bell, K.; M.; Eissenstat, M.; Josef, K.; Ward, S.; Haycock, D.; Baizman, E.; Casiano, F.; Beglin, N.; Chippari, S.; Grego, J.; Kullnig, R. y Daley, G. (1992). Conformationally Restrained Analogs of Pravadoline – Nanomolar Potent, Enantioselective, (Aminoalkyl) Indole Agonists of the Cannabinoid Receptor. *Journal of Medicinal Chemistry,* 35 P.124.
- Gelfand, E.; y Cannon, C. (2006) Rimonabant: a selective blocker of the cannabinoid CB1 receptors for the management of obesity, smoking cessation and cardiometabolic risk factors. *Expert Opin. Investig. Drugs* (2006) 15(3) Pp.307-315 DOI: 10.1517/13543784.15.3.307
- Georges, C.; Aldous, D.; Raboisson, P. y Rognan, D. (2015). *The Practice of Medicinal Chemistry.* United Kingdom, United States: Elsevier.
- Goya, P. y Jagerovic, N. (2000).. Recent Advances in Cannabinoid Receptor Agonists and Antagonists" *Expert Opinion on Therapeutic Patents,* 10, Pp. 1529.

- Halperin, I., Ma, B., Wolfson, H., y Nussinov, R. (2002). Principles of docking: An overview of search algorithms and a guide to scoring functions. *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 47(4), 409–443. doi:10.1002/prot.10115
- Hanus, L.; Abu-Lafi, S. ; Fride, A.; Breuer, A.; Vogel, Z.; Shalev, D.; Kustanovich, I. y Mechoulam, R. (2001). 2-Arachidonyl Glyceryl Ether, an Endogenous Agonist of the Cannabinoid Cb1 Receptor" *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98 (7). Pp. 3662–3665 DOI: 10.1073/pnas.061029898
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). *Metodología de la investigación*. México: McGraw Hill.
- Howlett, C. (1984). Inhibition of Neuroblastoma Adenylate Cyclase by Cannabinoid and Nantradol Compounds. *Life Sci*, 35. P. 1803.
- Hurst, D.; Umejiego, U.; Lynch, D.; Seltzman, H.; Hyatt, S.; Roche, M.; McAllister, S.; Fleischer, D.; Kapur, A.; Abood, M.; Shi, S.; Jones, J.; Lewis D.; y Reggio P. (2006) Biarylpyrazole Inverse Agonists at the Cannabinoid Cb1 Receptor: Importance of the C-3 Carboxamide Oxygen/Lysine3.28(192) Interaction. *Journal of Medicinal Chemistry*. 49, 5969.
- Hussain, S.; Bloom, S (2011). The Pharmacological Treatment and Management of Obesity *Postgraduate Medicine*, 123 (1). Pp. 34-44. DOI: 10.3810/pgm.2011.01.2243.
- Kar, S y Roy, K. (2013). How far can virtual screening take us in drug discovery *Expert Opin Drug Discov.*, 8 (3) Pp. 245-61. DOI: 10.1517/17460441.2013.761204. DOI:10.1038/aps.2012.109.
- Kelder, J., Grootenhuis, P., Bayada, D., Delbressine, L., y Ploemen, J. (1999). Polar molecular surface as a dominating determinant for oral absorption and brain penetration of drugs. *Pharmaceutical Research*. 16 (10). Pp. 1514-1519. DOI: 10.1023/A:1015040217741
- Kelly, D.; Gorelick, N.; Conley, R.; Boggs, D.; Linthicum, J., Liu, F.; Feldman, S.; Ball, P.; Wehring, H.; McMahon, R.; Huestis, M.; Heishman, S.; Warren, K.; y Buchanan R. (2011). Effects of the Cannabinoid-1 Receptor Antagonist Rimonabant on Psychiatric Symptoms in Overweight People With Schizophrenia. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 31 (1), DOI: 10.1097/JCP.0b013e318204825b

- Khanolkar, A.; Palmer, S. y Makriyannis, A. (2000). Molecular Probes for the Cannabinoid Receptors. *Chemistry and Physics of Lipids*. 108. Pp. 37-52. DOI: 10.1016/S0009-3084(00)00186-9
- Kitchen, D., Decornez, H., Furr, J. y Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 3, 935–949. DOI: 10.1038/nrd1549.
- Krebs, N.; Himes, J; Jacobson, D.; Nicklas, T.; Guilday, P.; Styne, D. (2007). Assessment of child and adolescent overweight and obesity. *Pediatrics*. 120 Pp.193-228.
- Lange, J.; Van Stuivenberg, H.; Coolen, H.; Adolfs, T.; McCreary, A.; Keizer, H.; Wals, H.; Veerman, W.; Borst, A.; de Loeff, W.; Verveer, P. y Kruse, C. (2005). Bioisosteric Replacements of the Pyrazole Moiety of Rimonabant: Synthesis, Biological Properties, and Molecular Modeling Investigations of Thiazoles, Triazoles, and Imidazoles as Potent and Selective Cb1 Cannabinoid Receptor Antagonists" *Journal of Medicinal Chemistry*. 48, Pp. 1823.
- Lionta, E., Spyrou, G., Vassilatis, D. y Cournia, Z. (2014). Structure-based virtual screening for drug discovery: principles, applications and recent advances. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 14 (16). Pp. 1923-1928. DOI: 10.2174/1568026614666140929124445
- Lieberman, M.; Marks, A. y Peet, A. (2013). *Bioquímica Médica Básica: Un Enfoque Clínico*. 4ta Edición. Lippincott Williams and Wilkins.
- Liu, Q.; Tonai, T. y Ueda, N. (2002). Activation of N-Acylethanolamine-Releasing Phospholipase D by Polyamines" *Chemistry and Physics of Lipids*, 115, P.77. DOI: 10.1042/BJ20040031
- Londoño, M. (2012). Tratamiento farmacológico contra la obesidad. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas*. 41 (2). Pp. 217- 261. Recuperado de <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/45098/46454>
- Lopez, M.; Viso, A.. Ortega, S.; Fowler, C.; Tiger, G.; De Lago, E.; Fernandez, J. y Ramos, J. (2003). Design, Synthesis and Biological Evaluation of New Endocannabinoid Transporter Inhibitors" *European Journal of Medicinal Chemistry*. 38, P. 403.

- Martín, G.; Antón, S. (2002). Tratamiento farmacológico de la obesidad. *Inf Ter Sist Nac Salud.* 26 (5). Pp. 117-127. Recuperado de http://www.msc.es/biblioPublic/publicaciones/docs/vol26_5_obesidad.pdf
- Mazier, W., Saucisse, N., Gatta-Cherifi, B., Cota, D. (2015). The Endocannabinoid System: Pivotal Orchestrator of Obesity and Metabolic Disease. *Trends Endocrinol. Metab.* 26, Pp. 524–537. DOI: [dx.doi.org/10.1016/j.tem.2015.07.007](https://doi.org/10.1016/j.tem.2015.07.007)
- Medina, J.; Fernández, E.; Navejaa, J. (2015). Avances en el diseño de fármacos asistido por computadora. *Educación Química.* 26. Pp. 180-186. DOI: [dx.doi.org/10.1016/j.eq.2015.05.002](https://doi.org/10.1016/j.eq.2015.05.002)
- Moreno, M. (2012). Definición y clasificación de la obesidad. *Rev. Med. Clin. Condes.* 23(2). Pp.124-128. DOI: [doi.org/10.1016/S0716-8640\(12\)70288-2](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(12)70288-2)
- Okamoto, Y.; Morishita, J.; Tsuboi, K.; Tonai, T y Ueda, N. (2004). Molecular Characterization of a Phospholipase D Generating Anandamide and Its Congeners" *Journal of Biological Chemistry.* Pp. 279 (9). 5298. DOI: [10.1074/jbc.M306642200](https://doi.org/10.1074/jbc.M306642200)
- Ottani, A. y Giuliani, D. (2001). "Hu 210: A Potent Tool for Investigations of the Cannabinoid System" *Cns Drug Reviews,* 7 (2). Pp. 131-145. DOI: doi.org/10.1111/j.1527-3458.2001.tb00192.x
- Ou-Yang, S., Lu, J., Kong, X., Liang, Z., Luo, C. y Jiang, H. (2012). Computational drug discovery. *Acta Pharmacológica Sinica,* 33 (9). Pp.1131–1140. DOI:[10.1038/aps.2012.109](https://doi.org/10.1038/aps.2012.109).
- Palmer, S.; Khanolkar, A. y Makriyannis, A. (2000). Natural and Synthetic Endocannabinoids and Their Structure-Activity Relationships. *Current Pharmaceutical Design,* 6 (3). Pp. 1381-1397. DOI: doi.org/10.2174/1381612003399419
- Pacak, P. (1989). Molar refractivity and interactions in solutions I . Molar refractivity of some monovalent ions in aqueous and dimethyl sulfoxide solutions. *Chemical Papers,* 43(2). Pp. 489–500.
- Pertwee, R.; Griffin, G. ;Fernando, S. ; Li, X. ; Hill A. y Makriyannis, A. (1995). Am630, a Competitive Cannabinoid Receptor Antagonist" *Life Sciences.* 56, Pp. 1949-1955. DOI: [doi.org/10.1016/0024-3205\(95\)00175-6](https://doi.org/10.1016/0024-3205(95)00175-6)

- Porter, A.; Sauer, J.; Knierman, M.; Becker, G.; Berna, M.; Bao, J.; Nomikos, G.; Carter, P.; Bymaster, F.; Leese, A.; y Felder, C. (2002). Characterization of a Novel Endocannabinoid, Virodhamine, with Antagonist Activity at the Cb1 Receptor" *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 301 (3). Pp. 1020-1024. DOI: doi.org/10.1124/jpet.301.3.1020
- Rinaldi-Carmona M, Barth, F.; Héaulme, M.; Shire, D.; Calandra, B.; Congy, C.; Martinez, S.; Maruani, J.; Néliat, G.; Caput, D.; Ferrara, P.; Soubrie, P.; Breliere, J. y Le fur. G. (1994). Sr141716a, a Potent and Selective Antagonist of the Brain Cannabinoid Receptor. *Febs Letters*, 350 Pp. 240-244. DOI: doi.org/10.1016/0014-5793(94)00773-X
- Rodríguez, R. (2012). Los productos de Cannabis sativa: situación actual y perspectivas en medicina. *Salud Mental*, 35. Pp. 247-256. Recuperado de www.redalyc.org/articulo.oa?id=58223340009
- Rubio, M.; Gargallo, M.; Millán.; Moreno, B. (2007). Drugs in the treatment of obesity: sibutramine, orlistat and Rimonabant. *Public Health Nutrition*: 10(10A). Pp. 1200–1205. DOI: 10.1017/S1368980007000717
- Salas, R.; González, B.; Cornejo, J.; Llanas, J.; Cruz, C. (2011). Composición corporal por análisis de impedancia bioeléctrica y prevalencia de obesidad en niños en edad escolar. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.*; 49: Pp. 493-98
- Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). 2010. Management of obesity. A national clinical guideline. Edinburgh, Scotland, UK.
- Serra, G y Fratta, W. (2007). A possible role for the endocannabinoid system in the neurobiology of depression. *Clinical Practice and Epidemiology in Mental Health*. Pp. 1-11. DOI: 10.1186/1745-0179-3-25
- Shekhar, C. (2008). *In silico* pharmacology: computer-aided methods could transform drug development. *Chem Biol*; 15 (5). 413–414. DOI: 10.1016/j.chembiol.2008.05.001.
- Smith, M. y March, J. (2007). *March's Advanced Organic Chemistry*, (6° ed.). John Wiley & Sons.
- Suárez, W.; Sánchez, A.; González, J. (2017). Fisiopatología de la obesidad: Perspectiva actual. *Rev Chil Nutr* 44 (3) Pp. 226-233 DOI: 10.4067/s0717-75182017000300226

- Song, C.; Lim S.; Tong J. (2009). Recent advances in computer-aided drug design. *Brief Bioinform*; 10: Pp. 579–591.
- Texeira, D.; Pestana, D.; Faria, A.; Calhau, C.; Azevedo, I.; Monteiro, R. (2010). Modulation of Adipocyte Biology by Δ^9 -Tetrahydrocannabinol. *Obesity Journal* 18 (11) Pp. 2077–2085. DOI: 10.1038/oby.2010.100
- Thakur, G.; Duclos, R. y Makriyannis, A. (2005). Natural Cannabinoids: Templates for Drug Discovery. *Life Sciences*. 78 (5). Pp. 454-466. DOI: 10.1016/j.lfs.2005.09.014
- Thomas, B.; Adams, I.; Mascarella, S.; Martin, B. y Razdan, R. (1996). Structure- Activity Analysis of Anandamide Analogs: Relationship to a Cannabinoid Pharmacophore. *Journal of Medicinal Chemistry*. 39 (2). Pp. 471-479 DOI: 10.1021/jm9505167
- Tucci, S., y Kirkham, T., (2006). Antagonismo del sistema endocannabinoide: implicaciones en el tratamiento de la obesidad síndrome metabólico y adicción a drogas. *Rev Venez Endocrinol Metab*; 4 (2). Pp. 3-13. Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/3755/375540019002.pdf>
- Van Gaal, L., Pi-Sunyer, L., Després, J., McCarthy, C., y Scheen, A. (2008). Efficacy and Safety of Rimonabant for Improvement of Multiple Cardiometabolic Risk Factors in Overweight/Obese Patients: pooled 1-year data from the Rimonabant in Obesity (RIO) program. DOI: 10.2337/dc08-s258.
- Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H.-Y., Smith, B. R., Ward, K. W. y Kopple, K. D. (2002). Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. *Journal of Medicinal Chemistry*, 45 (12), 2615–2623. DOI: 10.1021/jm020017n
- Volkow, R.; Lan, X. y Makriyannis, A. (1996). I-123-Labeled Am251: A Radioiodinated Ligand Which Binds in Vivo to Mouse Brain Cannabinoid Cb1 Receptors" *European Journal of Pharmacology*, 307 P.331.
- Wiley, J.; Jefferson, R.; Grier, M.; Mahadevan, A.; Razdan R.; y Martin, B. (2001). "Novel Pyrazole Cannabinoids: Insights into Cb1 Receptor Recognition and Activation" *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 296. Pp. 1013-1022.

- Xiang, M.; Cao, Y.; Fan, W.; Chen, L. y Mo Y. (2012). Computer-aided drug design: lead discovery and optimization. *Comb Chem High Throughput Screen*; 15. 328–337. DOI: 10.2174/138620712799361825
- Xie, S.; Furjanic, M.; Ferrar, J.; McAndrew, N.; Ardino, E.; Ngondara, A.; Bernstein, Y.; Thomas, K.; Kim, E.; Walker, J.; Nagar, S.; Ward, S.; Raffa, R. (2007). The endocannabinoid system and Rimonabant: a new drug with a novel mechanism of action involving cannabinoid CB1 receptor antagonism – or inverse agonism – as potential obesity treatment and other therapeutic use. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 32. Pp. 209–231. DOI: 10.1111/j.1365-2710.2007.00817.x
- Zhang S. (2011). Computer-aided drug discovery and development. *Methods Mol Biol*. 716. Pp.23–38. DOI: 10.1007/978-1-61779-012-6_2.
- Zuñiga, L. (2017). Diseño molecular *in silico* de un anestésico local a partir del metabolito espilantol presente en la planta *Acmella oleracea* (Asteraceae) como agonista nociceptivo de la proteína TRPV1. (Tesis). Universidad Internacional de las Américas. San José, Costa Rica.
- Zygmunt, P.; Petersson, J.; Andersson, D.; Chuang, H.; Sorgard, M.; Di Marzo, V.; Julius, D. y Hogestatt, E. (1999). Vanilloid Receptors on Sensory Nerves Mediate the Vasodilator Action of Anandamide. *Nature*, Pp.452-457. DOI: 10.1038/22761

Apéndice A. Estructura de los análogos derivados de Rimonabant

Diseños moleculares	SMILES	Fórmula Molecular	Estructura molecular
Rimonabant	<chem>CC1=C(N(N=C1C(=O)NN2CCC(CC2)C3=C(C=C(C=C3)Cl)Cl)C4=CC=C(C=C4)C</chem> I	$C_{22}H_{21}Cl_3N_4O$	
Diseño 1	<chem>IC1=CC=C(C=C1)C1=CC(=CN1C1=C(I)C=C(I)C=C1)C(=O)NN1CCCOC1</chem>	$C_{21}H_{18}I_3N_3O_2$	
Diseño 2	<chem>IC1=CC=C(C=C1)C1=CC(=CN1C1=C(I)C=C(I)C=C1)C(=O)NN1CCCCC1</chem>	$C_{22}H_{20}I_3N_3O$	
Diseño 3	<chem>CC1=C(N(C=C1C(=O)NN1CCC(CC1)C1=C(Cl)C=C(Cl)C=C1)C=C(Cl)C=C1)C=C</chem> 1	$C_{23}H_{22}Cl_3N_3O$	

Diseño 4	<chem>CC1=C(N(C=C1C(=O)NN1CCC(CC1)C1=C(I)C=C(I)C=C1)C1=C(C=C(I)C=C1</chem>	$C_{23}H_{22}I_3N_3O$	
Diseño 5	<chem>CIC1=CC=C(C=C1)C1=CC(=CN1C1=C(Cl)C=C(Cl)C=C1)C(=O)NN1CCCCC1</chem>	$C_{23}H_{22}Cl_3N_3O$	
Diseño 6	<chem>OC1CCCCN1NC(=O)C1=CN(C(=C1)C1=CC=C(Cl)C=C1)C1=C(I)C=C(I)C=C1</chem>	$C_{22}H_{20}ClI_2N_3O_2$	
Diseño 7	<chem>CIC1=CC=C(C=C1)C1=CC(=CN1C1=CC=CC=C1)C(=O)NN1CCOCC1=O</chem>	$C_{21}H_{18}ClN_3O_3$	
Diseño 8	<chem>NCC1CN(NC(=O)C2=CN(C(=C2)C2=CC=C(Cl)C=C2)C2=CC=CC=C2)C(=O)CO1</chem>	$C_{22}H_{21}ClN_4O_3$	

Diseño 9	<chem>OC1COCCN1N</chem> <chem>C(=O)C1=CN(C</chem> <chem>(=C1)C1=CC=C</chem> <chem>(I)C=C1)C1=C(</chem> <chem>O)C=CC=C1</chem>	$C_{21}H_{20}IN_3O_4$	
Diseño 10	<chem>CC1=C(N(C=C1</chem> <chem>C(=O)NN1CCC(</chem> <chem>CC1=O)C1=CC</chem> <chem>=CC=C1)C1=C(</chem> <chem>I)C=C(I)C=C1)C</chem> <chem>1=CC=C(I)C=C</chem> <chem>1</chem>	$C_{29}H_{24}I_3N_3O_2$	
Diseño 11	<chem>COC1CN(CCO1</chem> <chem>)NC(=O)C1=CN</chem> <chem>(C=C1)C1=CC</chem> <chem>=C(Cl)C=C1)C1</chem> <chem>=C(I)C=C(I)C=C</chem> <chem>1</chem>	$C_{22}H_{20}ClI_2N_3O_3$	
Diseño 12	<chem>CC1=C(N(C=C1</chem> <chem>C(=O)NN1CCC(</chem> <chem>O)C1)C1=C(I)C</chem> <chem>=C(I)C=C1)C1=</chem> <chem>C(I)C=C(I)C=C1</chem>	$C_{22}H_{19}I_4N_3O_2$	
Diseño 13	<chem>CC1=C(C=C(N1</chem> <chem>CN1CCOCC1)C</chem> <chem>1=CC=C(I)C=C</chem> <chem>1)C(=O)NN1CC</chem> <chem>CCC1</chem>	$C_{22}H_{29}IN_4O_2$	

Diseño 14	<chem>C1C=C(C(=O)N2CCCCC2)C(Cl)=C(N1C1=C(Cl)C=C(Cl)C=C1)C1=CC=C(I)C=C1</chem>	<chem>C22H18Cl4IN3O</chem>	
Diseño 15	<chem>CC1=C(C=C(N1C1=C(C)C=C(C)C=C1)C1=CC=C(I)C=C1)C(=O)NN1CCOCC1</chem>	<chem>C24H26I3N3O2</chem>	
Diseño 16	<chem>IC1=C(C(=O)N2CCOCC2)C(I)=C(N1C1=C(I)C=C(I)C=C1)C1=CC=C(I)C=C1</chem>	<chem>C21H16I5N3O2</chem>	
Diseño 17	<chem>C[NH+](N1CCOCC1)C(=O)C1=CN(C=C1)C1=CC=C(I)C=C1)C1=C(I)C=C(I)C=C1</chem>	<chem>C22H21I3N3O2</chem>	
Diseño 18	<chem>IC1=CC=C(C=C1)C1=CC(=CN1CN1CCOCC1)C(=O)NN1CCOCC1</chem>	<chem>C20H25I4O3</chem>	

Diseño 19	<chem>CC1=CC=C(CN2C=C(C=C2C2=CC=C(Br)C(Br)=C2)C(=O)NN2CCOCC2)C=C1</chem>	C ₂₃ H ₂₃ Br ₂ N ₃ O ₂	
Diseño 20	<chem>IC1=CC=C(C=C1)N1C=C(C=C1C1=CC=C(I)C=C1)C(=O)NN1CCOCC1</chem>	C ₂₁ H ₁₉ I ₂ N ₃ O ₂	
Diseño 21	<chem>OC1OCCN(NC(=O)C2=CN(C=C2)C2=CC=C(C(I)C=C2)C2=CC=CC=C2Cl)C1=O</chem>	C ₂₁ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₄	
Diseño 22	<chem>OC1=CC=CC(CNC(=O)C2=CN(C=C2)C2=CC=C(C(Cl)C=C2)C2=CC=C(Cl)C=C2Cl)=C1</chem>	C ₂₄ H ₁₇ Cl ₃ N ₂ O ₂	
Diseño 23	<chem>ClC1=CC=C(C=C1)C1=CC(=CN1C1=C(Cl)C=C(Cl)C=C1)C(=O)NN1CCOCC1=O</chem>	C ₂₁ H ₁₆ Cl ₃ N ₃ O ₃	

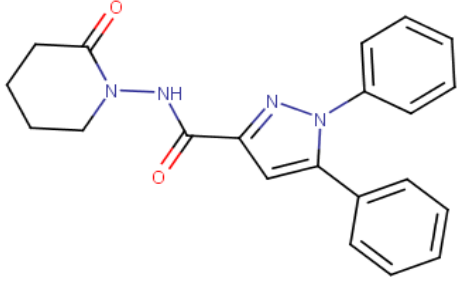
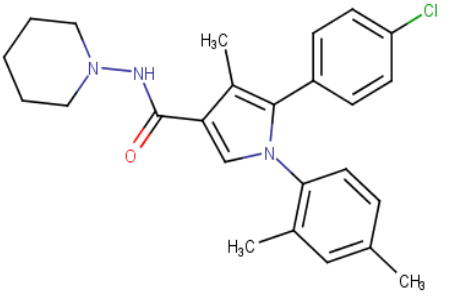
Diseño 24	<chem>C1C=CC=C(C=C1)C1=CC(CN2CCCCO2)=CN1CC1=CC=CC=C1</chem>	$C_{22}H_{24}ClN_3O$	
Diseño 25	<chem>CC#CC1=C(N(C=C1C(=O)NN1CCCC1)C1=C(Cl)C=C(Cl)C=C1)C1=CC=C(Cl)C=C1</chem>	$C_{25}H_{22}Cl_3N_3O$	
Diseño 26	<chem>C1C=CC=C(C=C1)C1=C(CC2CCCC2)C(=NN1C1=C(Cl)C=C(Cl)C=C1)C(=O)NN1CCCC1</chem>	$C_{28}H_{31}Cl_3N_4O$	
Diseño 27	<chem>CC(C)CCC1=C(N(N=C1C(=O)N1CCCC1)C1=C(Cl)C=C(Cl)C=C1)C1=CC=C(Cl)C=C1</chem>	$C_{26}H_{29}Cl_3N_4O$	
Diseño 28	<chem>C1C=CC=C(C=C1)C1=C(C2CC2)C(=CN1C1=C(Cl)C=C(Cl)C=C1)C(=O)NN1CCCC1</chem>	$C_{27}H_{28}Cl_3N_3O$	

Diseño 29	<chem>CC(O)C1=C(N(C=C1C(=O)NN1CCCC1)C1=C(Cl)C=C(Cl)C=C1)C1=CC=C(Cl)C=C1</chem>	$C_{24}H_{24}Cl_3N_3O_2$	
Diseño 30	<chem>OC1CCC(CC1)C1=C(N(C=C1C(=O)NN1CCCC1)C1=C(Cl)C=C(Cl)C=C1)C1=CC=C(Cl)C=C1</chem>	$C_{28}H_{30}Cl_3N_3O_2$	
Diseño 31	<chem>CC(C)C1=C(N(C=C1C(=O)NN1CCCC1)C1=C(Cl)C=C(Cl)C=C1)C1=CC=C(Cl)C=C1</chem>	$C_{25}H_{26}Cl_3N_3O$	
Diseño 32	<chem>ClC1=CC=C(C=C1)C1=C(C2CCCCC2)C(=CN1)C1=C(Cl)C=C(Cl)C=C1)C(=O)N1CCCCC1</chem>	$C_{28}H_{30}Cl_3N_3O$	
Diseño 33	<chem>CCC1=C(N(C=C1C(=O)NN1CCCC1)N1CCCC1)C1=CC=C(Cl)C=C1</chem>	$C_{22}H_{29}ClN_4O_2$	

Diseño 34	<chem>CCCCC1=C(N(C=C1C(=O)NN1CCCC1)N1CCOCC1)C1=CC=C(Cl)C=C1</chem>	$C_{24}H_{33}ClN_4O_2$	
Diseño 35	<chem>C1C=CC=C(C=C1)C1=C(C2CCC(CCC2)C(=CN1C1CCCCC1)C(=O)NN1CCCC1</chem>	$C_{28}H_{38}ClN_3O$	
Diseño 36	<chem>CC1CC(CC1C)C1=C(N(C=C1C(=O)NN1CCCC1)C1=CC=CC=C(Cl)C=C1</chem>	$C_{29}H_{34}ClN_3O$	
Diseño 37	<chem>CCC1=C(N(C=C1C(=O)NN1CCCC1)C1=C(Cl)C=CC=C1)C1=CC=C(Cl)C=C1</chem>	$C_{24}H_{25}Cl_2N_3O$	
Diseño 38	<chem>CCCC1=C(N(C=C1C(=O)NN1COCC1=O)C1=CC=CC=C1)C1=CC=CC=C1</chem>	$C_{24}H_{25}N_3O_3$	

Diseño 39	<chem>O=C(NN1CCCC1)C1=CN(C=C1C1CC1)C1=CC=CC=C1</chem>	$C_{25}H_{27}N_3O$	
Diseño 40	<chem>CC1=C(N(C=C1C(=O)NN1CCOCC1=O)C1=CC=CC=C1)C1=C(C=C(Cl)C=C1</chem>	$C_{22}H_{20}ClN_3O_3$	
Diseño 41	<chem>CCC1=C(N(C=C1C(=O)NN1CCOCC1=O)C1=CC=CC=C1)C1=C(C=C(Cl)C=C1</chem> 1	$C_{23}H_{22}ClN_3O_3$	
Diseño 42	<chem>CC1=C(N(N=C1C(=O)NN1CCC1)C1=CC=C(C=C1)C1=CC=CC=C1</chem>	$C_{22}H_{24}N_4O$	
Diseño 43	<chem>CC1=C(N(N=C1C(=O)NN1CCOCC1=O)C1=CC=CC=C1)C1=C(C=C(Cl)C=C1</chem>	$C_{21}H_{20}N_4O_3$	

Diseño 44	<chem>CC1=C(N(N=C1C(=O)NN1CCOCC1)C1=CC=C(C=C1)C1=CC=CC=C1</chem>	$C_{21}H_{22}N_4O_2$	
Diseño 45	<chem>CC1=C(N(N=C1C(=O)NN1CCC(C1=O)C1=CC=CC=C1)C1=CC=CC=C1</chem>	$C_{22}H_{22}N_4O_2$	
Diseño 46	<chem>CNC(=O)C1=N(N(C(=C1)C1=C(C=C(Cl)C=C1)C1=C(Cl)C=CC=C1</chem>	$C_{17}H_{13}Cl_2N_3O$	
Diseño 47	<chem>CCC1=C(N(N=C1C(=O)NN1CCCC1=O)C1=CC=CC=C1)C1=CC=CC=C1</chem>	$C_{23}N_{24}N_4O_2$	
Diseño 48	<chem>CC(C)C1=C(N(N=C1C(=O)NN1CCCC1=O)C1=CC=CC=C1)C1=CC=CC=C1</chem>	$C_{24}H_{26}N_4O_2$	

Diseño 49	<chem>O=C(NN1CCCC1=O)C1=NN(C(=C1)C1=CC=C(C=C1)C1=CC=CC=C1)</chem>	$C_{21}H_{20}N_4O_2$	
Diseño 50	<chem>CC1=C(N(C=C1C(=O)NN1CCC(CC1)C1=C(C)C=C(C)C=C1)C1=CC=C(Cl)C=C1</chem> <p style="text-align: center;">1</p>	$C_{25}H_{28}ClN_3O$	

Apéndice B. Propiedades fisicoquímicas de los análogos derivados de Rimonabant

N° diseños	Masa molar (Da)	LogP	PSA (Å)	ADH⁺	DDH⁺	RM	N° enlaces rotables	N° anillos
SR141716	462.07	5.91	50.20	3	1	122.83	4	4
Diseño 1	724.85	5.96	46.50	3	1	151.83	4	4
Diseño 2	722.87	6.86	37.27	2	1	155.23	4	4
Diseño 3	461.08	6.40	37.27	2	1	134.59	4	4
Diseño 4	736.88	7.37	37.27	2	1	160.27	4	4
Diseño 5	461.08	6.33	37.27	2	1	134.15	4	4
Diseño 6	646.93	5.94	57.50	3	2	147.81	4	4
Diseño 7	395.10	3.25	63.57	3	1	116.95	4	4
Diseño 8	424.13	2.25	89.59	4	2	124.57	5	4
Diseño 9	505.04	3.26	86.96	5	3	128.44	4	4
Diseño 10	826.90	8.38	54.34	2	1	184.93	5	5
Diseño 11	662.92	5.74	55.73	4	1	149.38	5	4
Diseño 12	864.76	6.71	57.50	3	2	170.35	3	4
Diseño 13	508.13	3.45	49.74	4	1	125.46	5	4
Diseño 14	606.92	7.13	37.27	2	1	147.72	3	4
Diseño 15	515.10	5.16	46.50	3	1	140.66	3	4
Diseño 16	976.64	7.46	46.50	3	1	177.18	3	4
Diseño 17	739.87	6.01	38.91	3	1	157.85	4	4
Diseño 18	496.09	2.18	58.97	5	1	117.24	5	4
Diseño 19	531.01	5.12	46.50	3	1	126.87	5	4
Diseño 20	598.95	4.86	46.50	3	1	138.80	4	4
Diseño 21	445.05	3.56	83.80	4	2	122.96	4	4
Diseño 22	470.03	6.81	54.26	2	2	135.81	5	4
Diseño 23	463.02	4.45	63.57	3	1	126.56	4	4

Diseño 24	381.160	4.39	29.43	3	1	121.60	6	4
Diseño 25	485.08	6.87	37.27	2	1	140.23	5	4
Diseño 26	544.15	6.18	50.16	3	1	148.58	6	5
Diseño 27	518.14	7.53	50,16	3	1	141,18	7	4
Diseño 28	515.12	7.55	37.27	2	1	151.14	5	5
Diseño 29	491.09	5.53	57.50	3	2	140.79	5	4
Diseño 30	545.14	6.61	57.50	3	2	157.41	5	5
Diseño 31	489.11	7.13	37.27	2	1	143.74	5	4
Diseño 32	529.14	8.00	37.27	2	1	155.74	5	5
Diseño 33	416.19	2.73	49.74	4	1	118.17	5	5
Diseño 34	444.22	3.62	49.74	4	1	127.37	7	4
Diseño 35	467.27	6.93	37.27	2	1	137.05	5	5
Diseño 36	475.23	6.92	37.27	2	1	150.63	5	5
Diseño 37	441.13	6.24	37.27	2	1	134.39	5	4
Diseño 38	403.18	4.94	63.57	3	1	126.39	6	4
Diseño 39	385.24	4.85	37.27	2	1	127.53	5	5
Diseño 40	409.11	3.76	63.57	3	1	122.00	4	4
Diseño 41	423.13	4.20	63.57	3	1	126.60	5	4
Diseño 42	360.19	4.10	50.16	3	1	108.42	4	4
Diseño 43	376.15	2.66	76.46	4	1	105.43	4	4
Diseño 44	362.17	3.03	59.39	4	1	105.35	4	4
Diseño 45	374.17	3.68	67.23	3	1	108.44	4	4
Diseño 46	345.04	3.45	46.92	2	1	92.65	3	3
Diseño 47	388.18	4.13	67.23	3	1	113.04	5	4
Diseño 48	402.20	4.41	67.23	3	1	117.59	5	4
Diseño 49	360.15	3.17	67.23	3	1	103.40	4	4
Diseño 50	421.19	6.22	37.27	2	1	135.07	4	4