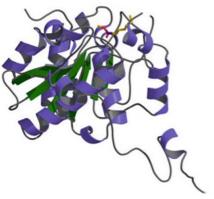




# APLICACIÓN DE TÉCNICAS COMPUTACIONALES DE ACOPLAMIENTO MOLECULAR EN DESARROLLO ENZIMÁTICO



Autor : Marta Maigler López

## INTRODUCCIÓN

Las enzimas o biocatalizadores son proteínas naturales, producidas por organismos vivos, con propiedades catalíticas. Cuentan con un sitio activo en el que se une el sustrato, activando o inhibiendo a la enzima y produciendo una respuesta fisiológica.

La aplicación de la biocatálisis es, en la actualidad, un objetivo de interés en la investigación química y biológica.

Para un mayor conocimiento de la estructura de enzimas y sustratos, con el fin de saber que regiones podrían ser modificadas para mejorar la interacción, se han comenzado a aplicar técnicas computacionales de acoplamiento molecular como la técnica docking en el desarrollo de fármacos en cuya acción intervienen enzimas.

## TÉCNICA DOCKING

La técnica docking o de acoplamiento molecular es una técnica de mecánica molecular utilizada para predecir la estructura del complejo ligando-receptor, así como la energía de esa unión.

Técnica que, mediante la aplicación de modelos informáticos, predice de forma teórica, cual es la mejor orientación del sustrato y la enzima cuando se unen.

Forma parte de las técnicas conocidas como métodos basados en la estructura, por lo que es necesario conocer la estructura tanto del sustrato como de la enzima previamente.

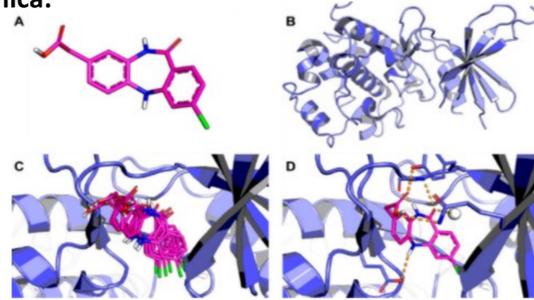
Componentes o funciones que constituyen esta técnica:

Método de muestreo

- Componente estructural
- Simulación de las diferentes conformaciones o poses que adopta el complejo sustrato-enzima.

Función de puntuación o scoring

- Componente energético
- Determinación y evaluación matemática de la energía de unión de cada una de las poses.



## OBJETIVOS

- Revisión bibliográfica de los principios básicos de reacciones catalizadas por enzimas y las ventajas que supone su aplicación en síntesis química.
- Revisión bibliográfica de las bases de la técnica de acoplamiento molecular basada en la estructura o docking y su aplicación.
- Aportar ejemplos de aplicaciones de la técnica docking en el desarrollo de fármacos en cuya actividad intervienen enzimas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Tipos de docking

#### ❑ Docking rígido

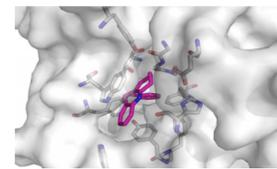
Ligando y receptor se consideran elementos rígidos, sin grados de libertad conformacional.

#### ❑ Docking de diana rígida y ligando flexible

Basado en la teoría de ajuste inducido de Koshland, el ligando es flexible y se adapta a la forma del sitio de unión de la diana.

#### ❑ Docking flexible

Tanto ligando como diana se consideran moléculas de naturaleza flexible.



## RESULTADOS

### ➤ Conocimiento mediante técnica docking de sitio alostérico de inhibición de la DENV RdRp, polimerasa del virus del dengue.

DENV RdRp es una polimerasa del virus del dengue (DENV) esencial para su replicación. El hecho de que estas enzimas no se encuentren en células humanas lo convierte en una diana de estudio para el desarrollo de fármacos antivirales.

El primer inhibidor alostérico de la DENV RdRp fue el compuesto NITD-1, identificado mediante cribado de alto rendimiento, el segundo se modificó en el plomo del ácido N-sulfonilnitrilo, compuesto NITD-2. NITD-29 es un compuesto fotoreactivo de NITD-2, que se ha utilizado para mapear el sitio de unión del compuesto y por tanto definir el sitio alostérico.

Se simula el acoplamiento de NITD-1, NITD-2 y NITD-29 y sustratos similares estructuralmente mediante la aplicación del método AutoDock/Vina para el conocimiento del bolsillo de unión alostérico cerca de los residuos de Arg737, Thr413 y Met343 situados en el túnel de la plantilla de la polimerasa DENV RdRp. Este conocimiento de la diana será aplicado en el desarrollo de nuevos fármacos antivirales, inhibidores de la polimerasa DENV RdRp.

### ➤ Conocimiento estructural de la enzima ADN girasa bacteriana para el desarrollo de fármacos antibacterianos.

La ADN girasa es una enzima bacteriana que produce superenrollamientos negativos en el ADN de la bacteria y lo desenrolla.

Se analizaron estructuras tridimensionales de la enzima con inhibidores conocidos como ciprofloxacino y novobiocina, ambos inhibidores ceden un enlace de hidrógeno al resto Asp73 de la enzima y aceptan un enlace de hidrogeno de una molécula de agua conservada localizada en los residuos de la enzima que intervienen en la unión, de esta forma se obtiene un modelo de acoplamiento común entre enzima y ligando. También se tiene que tener en cuenta la inclusión de fragmentos de naturaleza lipófila en la molécula para una mejor interacción con el receptor.

El éxito de aciertos posterior se debió sobre todo al conocimiento de la estructura 3D del complejo en, lo que permitió el desarrollo de inhibidores de la ADN girasa altamente potentes.

### ➤ Búsqueda de tratamiento para la infección causada por el virus SARS-CoV-2



La información disponible de la secuencia genética del virus y el uso de modelos computacionales de homología y acoplamiento molecular han llevado a científicos de la Universidad de Drexel (Filadelfia) a estudiar varios tratamientos disponibles para combatir este virus.

El modelo de acoplamiento molecular se utilizó para el estudio de la proteasa 3CL vírica, responsable del control de las principales funciones del virus que hacen posible la replicación.

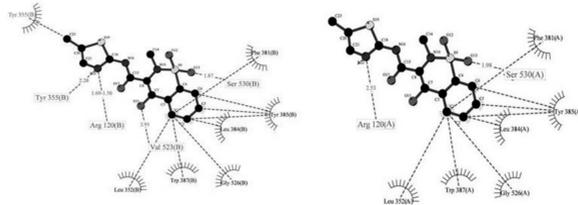
Los fármacos sometidos a estudio fueron Zanamivir, Bortezomib, Idoxuridina, Saquinavir, FAD Adeflavin, Coenzima A, Tiludronato, loperol, Cangrelor, Carfilzomib y Remdesivir.

Los estudios de acoplamiento molecular *in silico* demostraron que los antivirales Zanamivir, Idoxuridina, Saquinavir y Remdesivir son capaces de inhibir la proteasa viral 3CL.

Tras los análisis con modelos computacionales, los resultados parecen ser prometedores ya que estos antivirales están aprobados para su tratamiento en otros virus ARN. Remdesivir, por ejemplo, se ha usado para tratar SARS, ébola y actualmente está siendo usado en pacientes infectados por SARS-CoV-2.

### ➤ Análisis de la conformación del complejo formado por meloxicam con la enzima ciclooxigenasa (COX).

Estudio de la unión de los compuestos piroxicam, meloxicam, lornoxicam, normeloxicam y 4-meloxicam (AINEs) con la enzima ciclooxigenasa (COX). El piroxicam, inhibidor no selectivo, fue elegido como prototipo de esta familia. Normeloxicam y 4'-meloxicam, también inhibidores no selectivos, son elegidos para analizar cómo influye en la selectividad por la COX-2 del meloxicam, la presencia del grupo metilo en la posición 5 del sulfatiazol. Por último, el lornoxicam, también no selectivo, se usa para ver la influencia que tiene el anillo de benceno en la interacción con la COX y qué efectos tendrá si es reemplazado por otros grupos equivalentes.



Figuras 1 y 2: interacciones de meloxicam con COX-2 (izquierda) y COX-1 (derecha)

## CONCLUSIÓN

Podemos concluir que el uso de técnicas de acoplamiento molecular como la técnica docking, es un método rápido y efectivo que nos permite conocer las conformaciones tridimensionales del complejo de unión enzima-sustrato, aportando información clave para llevar a cabo modificaciones que aumenten la afinidad de la unión y por tanto la efectividad de la reacción de biocatálisis.

## BIBLIOGRAFÍA

1. K. Faber, *Bioretransformations in Organic Chemistry*. Springer Berlin Heidelberg, 2011.
2. M. Arroyo, C. Acebal, and I. De La Mata, "Biocatálisis y biotecnología," *Arbor*, vol. 190, no. 768, p. a156, Aug. 2014, doi: 10.3989/arbor.2014.768a4010.
3. L. Ferreira, R. dos Santos, G. Oliva, and A. Andricopulo, "Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies," *Molecules*, vol. 20, no. 7, pp. 13384–13421, Jul. 2015, doi: 10.3390/molecules200713384.
4. M. Gupta, R. Sharma, and A. Kumar, "Docking techniques in pharmacology: How much promising?," *Computational Biology and Chemistry*, vol. 76, Elsevier Ltd, pp. 210–217, Oct. 01, 2018, doi: 10.1016/j.compbiolchem.2018.06.005.
5. A. Morreale, A. Perona, J. Klett, A. Cortés-Cabrera y H. G. Dos Santos. Parte V. "Dinámica estructural y diseño de fármacos". Cap 16. "Diseño de fármacos asistido por ordenador" págs. 401-424.
6. V. Galiano, P. Garcia-Valtanen, V. Micol, and J. A. Encinar, "Looking for inhibitors of the dengue virus NS5 RNA-dependent RNA-polymerase using a molecular docking approach," *Drug Des. Devel. Ther.*, vol. 10, pp. 3163–3181, Oct. 2016, doi: 10.2147/DDDT.S117369.
7. J. H. Gris, M. A. Dragonetti, B. M. Fernández, and A. G. Moglioni, "Modelado Molecular e Interacción Enzima-Ligando (Docking) de Antiinflamatorios Derivados de 4-Hidroxi 1,2-Benzotiazinas-3-Carboxamidas, 1,1-Dióxido," *Inf. tecnológica*, vol. 20, no. 4, pp. 51–61, 2009, doi: 10.4067/s0718-07642009004000007.
8. Hall D et al. Search for Medications to Treat COVID-19 via *in silico* Molecular Docking Models of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein and 3CL Protease. *Travel Medicine*. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101646>.