

MODELADO MOLECULAR APLICADO A LA PREDICCIÓN DE LA AFINIDAD DE FÁRMACOS A LA GLICOPROTEÍNA P

Andrés Perez, Pablo Palestro, Luciana Gavernet, Luis Bruno-Blanch

Cátedra de Química Medicinal, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. Calle 47 s/n. La Plata. C.P 1900. pablopalestro@biol.unlp.edu.ar

Introducción:

La Glicoproteína-P (P-gp) es una proteína transportadora de membrana dependiente de ATP que actúa como una bomba de expulsión de sustancias intracelulares. Se encuentra en diversos tejidos, incluyendo el endotelio capilar del cerebro o barrera hematoencefálica. Se sabe que la P-gp puede expulsar numerosas sustancias y fármacos estructuralmente no relacionados, siendo una de los responsables del fenómeno de resistencia múltiple a fármacos (MDR) [1].

La publicación de la estructura cristalográfica de la P-gp de ratón [2] ha permitido el desarrollo de métodos de predicción de la afinidad de compuestos a partir del conocimiento de la estructura del receptor [3, 4].

En el presente trabajo se reporta la validación de un modelo de predicción de la afinidad de unión a esta glicoproteína utilizando docking molecular de compuestos con capacidad de unión conocida. Para ello se construyó la estructura tridimensional de la P-gp humana, mediante modelado comparativo. El modelo de predicción propuesto puede ser de utilidad en la aplicación de estudios de tamizado virtual, con el fin de detectar y descartar rápidamente compuestos que se predigan activos frente a un blanco molecular pero que interactúan con P-gp.

Metodología:

La estructura de la P-gp humana fue generada mediante I-TASSER [5], partiendo de la secuencia correspondiente (P08183 de UNIPROT) y utilizando la estructura de la P-gp de ratón (PDB=3G60) como referencia. Posteriormente esta fue minimizada mediante el programa AMBER11[6] con solvente explícito.

Para el desarrollo del modelo se creó una base de compuestos con afinidad conocida a la P-gp, estos fueron seleccionados a partir de datos bibliográficos de estudios in-vitro e in-vivo [7-11], separándose las estructuras en sustratos (26) y no sustratos (13) de este transportador. Para equilibrar la base de datos se agregaron como no sustratos 13 compuestos endógenos tomados de KEGG[12].

El docking molecular se realizó definiendo la ubicación del sitio activo mediante el análisis de la posición del ligando cristalizado conjuntamente con la P-gp de ratón. Se realizaron diversos modelos modificando las condiciones de corrida, entre ellas, residuos flexibles, estados de protonación de los ligandos, posición y tamaño de la grilla y programas de docking a utilizar (AutoDock4.2[13] y AutoDock Vina[14]). El desempeño de los distintos modelos se analizó tomando como referencia la conformación de menor "score" obtenida para cada compuesto en cada modelo y evaluado estos resultados mediante el uso de curvas ROC (receiver operating characteristic) [15].

Una vez seleccionado el modelo con las mejores características de predicción para la base de compuestos inicial, se procedió a evaluar su comportamiento frente a un conjunto de compuestos mucho más numeroso obtenido por Broccatelli y col[16] (1275 compuestos, 666 inhibidores y 609 no inhibidores de P-gp). Las estructuras de esta base de datos fueron analizadas y corregidas tomándose como referencia el nombre indicado por los autores. Se eliminaron aquellas estructuras que no pudieron

encontrarse en PUBCHEM[17] ya sea a partir del nombre o mediante su código SMILE.

Resultados:

En el modelado por homología se obtuvieron 4 estructuras tridimensionales de P-gp humana, eligiéndose para la aplicación del docking, aquella con menor valor de RMSD (2.022 Å) respecto a la de referencia.

En el docking el mejor modelo fue obtenido a partir del programa AutoDock Vina, con una grilla definida como una caja de 24 x 24 x 24 Å, permitiéndose la movilidad de los residuos del sitio activo Tyr-307, Tyr-953, Phe-343, Phe-978. Los ligandos fueron protonados a pH 7.4 y se les asignó cargas parciales mediante el método de Marsilli-Gasteiger. En este modelo el área bajo la curva (AUC) fue de 0.916 (punto de corte = -7.4, Sensibilidad = 0.85, Especificidad = 0.77)

Del conjunto inicial de Broccatelli y col. se obtuvieron 1206 estructuras correctamente identificadas. Con este conjunto se realizó el docking utilizando el modelo anteriormente seleccionado, obteniéndose un área bajo la curva de 0.836 (punto de corte = -9, Sensibilidad = 0.80, Especificidad = 0.73).

Conclusiones:

El poder predecir la afinidad de un nuevo fármaco a la P-gp en las etapas iniciales de diseño resulta muy ventajoso, dado que compuestos con alta afinidad a esta proteína serán excretados fácilmente, limitándose su biodisponibilidad y, por lo tanto, su acción. El modelo obtenido ha demostrado una gran capacidad de predicción, por lo que consideramos puede ser una herramienta útil para detectar afinidad de los compuestos frente a P-gp.

Referencias:

1. Chen, L., et al. *Drug discovery today* 00, 1-9 (2011).
2. Aller, S., et al. *Science* 323, 1718-1722 (2009).
3. Quevedo, M., et al. *European journal of pharmaceutical sciences* 43, 151-9 (2011).
4. Dolgih, E., et al. *PLoS computational biology* 7, e1002083 (2011).
5. Roy, A., et al. *Nat. Protoc.*, 5, 725-738 (2010).
6. www.ambermd.org
7. Schwab, D., et al. *Journal of medicinal chemistry* 46, 1716-25 (2003).
8. Doan, K., et al. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 303, 1029 (2002).
9. Polli, J. W., et al. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 299, 620-8 (2001).
10. Feng, B., et al. *Drug Metabolism and Disposition* 36, 268-275 (2008).
11. Zhang, C., et al. *Advanced Drug Delivery Reviews* 64, 10, 930-942 (2012).
12. M. Kanehisa, et al. *Nucleic Acids Research*, 38(1), Article ID gkp896, pp. D355-D360, 2009.
13. Huey, R., et al. *Journal of computational chemistry*, 28(6), 1145-1152 (2007).
14. Trott, O., et al. *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455-461 (2010).
15. Triballeau, N., et al. *Journal of medicinal chemistry*, 48(7), 2534-47 (2005).
16. Broccatelli, F., et al. *Journal of Medicinal Chemistry*, 54(6), 1740-51. (2011)
17. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>