

## DOCKING APLICADO AL ESTUDIO DE SUSTRATOS DE GLICOPROTEÍNA P

Pablo Palestro,<sup>a</sup> Luciana Gavernet,<sup>a</sup> Guillermina Estiu,<sup>b</sup> Luis Bruno-Blanch<sup>a</sup>

<sup>a</sup> 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](mailto:pablopalestro@biol.unlp.edu.ar)

<sup>b</sup> Walther Cancer Research Center and Department of Chemistry and Biochemistry, University of Notre Dame, Notre Dame, Indiana 46556-5670

### 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 expresa en muchos 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 posiblemente responsable 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 de la estructura del receptor [3, 4].

En este estudio se presenta la validación de un modelo de predicción de la afinidad de unión a esta glicoproteína a partir del docking molecular de compuestos con capacidad de unión conocida sobre la estructura de la P-gp humana obtenida por homología. El modelo propuesto puede ser de utilidad en la aplicación de estudios de screening virtual.

### Metodología:

Para la validación de los modelos se creó una base de datos, en la que los compuestos fueron seleccionados a partir de datos bibliográficos de estudios in-vitro [5-9], separándose las estructuras en sustratos (34) y no sustratos (18).

La estructura de la P-gp humana fue generada usando I-TASSER [10] y la P-gp de ratón (PDB=3G60) como referencia. Posteriormente esta fue minimizada mediante el programa AMBER11[11] con solvente explícito.

Para la realización del docking molecular, el sitio activo se basó en la posición del ligando de la estructura cristalográfica de la P-gp de ratón. La grilla fue definida como una caja de 24 x 24 x 24 Å, y se permitió la movilidad de 2 grupos de residuos: En el modelo 1 se flexibilizaron Phe-335, Phe-343, Phe-728, Phe-732 y Phe-978; y en el modelo 2 Tyr-307, Tyr-953, Phe-343, Phe-978. Ambos modelos fueron desarrollados usando los programas AutoDock4.2[12] y AutoDock Vina[13], cuyas principales diferencias se basan en las funciones de búsqueda local y en la parametrización de la función de scoring. Los ligandos fueron considerados neutros y se les asignó cargas parciales mediante el método de Marsilli-Gasteiger utilizando AutoDockTools1.5.2.

### Resultados:

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

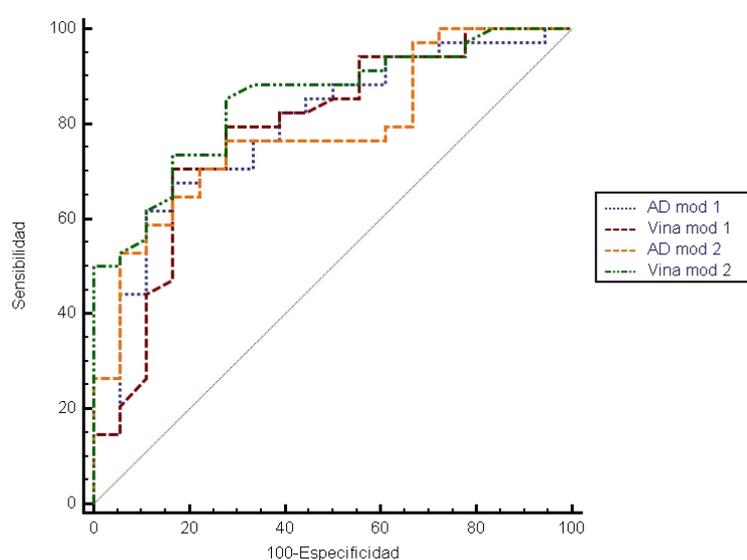
En el docking se consideró la conformación de menor "score" obtenida para cada compuesto en cada uno de los modelos y se graficaron curvas ROC (receiver operating characteristic) [14]. En el caso de drogas con isomería R/S ambos isómeros fueron evaluados, encontrándose que no hay diferencias significativas en cuanto a los valores de "score", usándose para la construcción de las curvas ROC aquella con el menor valor.

La tabla 1 muestra los resultados obtenidos en cada modelo, y la figura 1 las curvas ROC para cada uno de ellos.

En Vina, en el modelo 1, el área bajo la curva (AUC) fue de 0.784, el punto de corte seleccionado fue de -8.1 (Se=70.59; Sp=83.33). El modelo 2 presentó un AUC de 0.848 y el punto de corte fue de -7.8 (Se=85.29; Sp=72.22).

En el caso de AutoDock4.2 el modelo 1 mostró un AUC de 0.792, mientras que en el 2 fue de 0.783. En el modelo 1 ambos programas presentan predicciones similares, sin embargo, en el 2 Vina muestra una mayor capacidad de predicción respecto de AutoDock4.2.

	AUC Modelo 1	AUC Modelo 2
Vina	0.784	0.848
AutoDock4.2	0.792	0.783



#### Conclusiones:

El conocimiento de 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 concentración (y por lo tanto su acción) en el sitio de acción. A partir del modelo 2 aplicado en Vina se dispone de una herramienta precisa para la predicción de la afinidad de los compuestos frente a P-gp.

#### Referencias:

1. Chen, L., Li, Y., Yu, H., Zhang, L. & Hou, T. Drug discovery today 00, 1-9 (2011).
2. Aller, S., Yu, J., Ward, A., Weng, Y. & Chittaboina, S. Science 323, 1718-1722 (2009).
3. Quevedo, M. a, Nieto, L.E. & Briñón, M.C. European journal of pharmaceutical sciences 43, 151-9 (2011).
4. Dolgih, E., Bryant, C., Renslo, A.R. & Jacobson, M.P. PLoS computational biology 7, e1002083 (2011).
5. Schwab, D., Fischer, H., Tabatabaei, A., Poli, S. & Huwyler, J. Journal of medicinal chemistry 46, 1716-25 (2003).

6. Doan, K.M.M. et al. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 303, 1029 (2002).
7. Polli, J. W., Wring, S. a, Humphreys, J. E., Huang, L., Morgan, J. B., Webster, L. O., and Serabjit-Singh, C. S. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 299, 620-8 (2001).
8. Feng, B., Mills, J., Davidson, R. & Mireles, R. *Drug Metabolism and* 36, 268-275 (2008).
9. Zhang, C., Kwan, P., Zuo, Z. & Baum, L. T. *Advanced drug delivery reviews* (2011).
10. Roy,A., Kucukural,A. and Zhang,Y. (2010) *Nat. Protoc.*, 5, 725–738
11. [www.ambermd.org](http://www.ambermd.org)
12. Huey, R., Morris, G. M., Olson, A. J., & Goodsell, D. S. (2007). *Journal of computational chemistry*, 28(6), 1145–1152.
13. Trott, O., & Olson, A. J. (2010). *Journal of computational chemistry*, 31(2), 455–461.
14. Triballeau, N., Acher, F., Brabet, I., Pin, J.-P., & Bertrand, H.-O. (2005). *Journal of medicinal chemistry*, 48(7), 2534-47.