

# DISEÑO COMPUTACIONAL Y ESTUDIO TEORICO DE LA ESTRUCTURA Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE FARMACOS

Esthela Paola García Tejada (1), Juvencio Robles García (2)

1 [Licenciatura Químico Farmacéutico Biólogo, Universidad de Guanajuato] | [espa.gate@gmail.com]

2 [Departamento de Farmacia, División Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato] | [roblesj@ugtomx.onmicrosoft.com]

## Resumen

El diseño de fármacos es el proceso por el cual se propone una nueva molécula que tenga una actividad farmacológica. Este proceso puede llevarse a cabo, principalmente, a través de dos vías: Conociendo la estructura del ligando (fármaco propuesto) o conociendo la estructura del receptor (blanco biológico). En este proyecto se plantea el modelado, optimización geométrica y obtención de parámetros mecano-cuánticos de una familia de quinolonas y derivados, con importancia clínica como antibióticos, a través de métodos de la química teórica y computacional, empleando el paquete Gaussian 09. A su vez se plantea establecer una correlación entre las propiedades electrónicas y geométricas de las quinolonas con la concentración mínima inhibitoria (MIC experimental) que tienen dichos compuestos sobre algunos cultivos bacterianos, por medio de un estudio de Relación Cuantitativa Estructura Actividad (QSAR, por sus siglas en inglés). Para finalizar trataremos de entender el mecanismo por el cuál las quinolonas inhiben el crecimiento bacteriano por medio de un estudio Docking. Como resultados, se obtienen dos modelos QSAR para esta familia de quinolonas y a su vez se diseñan tres nuevos compuestos con posible actividad antibiótica, los cuales resultaron tener mejor actividad "teórica" que la familia de quinolonas estudiada. También se obtuvo que las interacciones stacking cara-cara, entre los anillos de las quinolonas y los del ADN, son de vital importancia y parte del mecanismo de acción de estos fármacos.

## Abstract

Drug design is the process through which it is proposed a new molecule with possible pharmacological activity. This process is carried out mainly in two ways: from the knowledge of the structure of the ligand (like a lead drug) or from knowing the structure of the receptor (Biological target). In this project we are proposing a QSAR model, we perform geometry optimization and calculate meaningful quantum mechanics parameters of a family of quinolones and their derivatives, with clinical importance as antibiotic agents, through theoretical and computational chemistry methods, using the Gaussian 09 package. Furthermore we are proposing a correlation between electronic and geometrical properties with the medium inhibitory concentration (Experimental MIC), from a study of Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR). The last lap of this work consist in understanding the mechanism of bacterial grow inhibition, using Docking methodologies. As results, we are proposing two QSAR models for a selected family of quinolones and we propose three new compounds as possible antibiotic agents, this last resulting with a better predicted "theoretical" activity than the selected family of quinolones. Also, we obtain the stacking interactions, face-to-face, between the quinolone and DNA rings, which are key in the action mechanism of this kind of drugs.

## Palabras Clave

Quinolonas; Antibióticos; QSAR; Docking; Mecanismo de acción.

## INTRODUCCIÓN

### Quinolonas

El desarrollo de antibióticos de amplio espectro es cada día más frecuente, precisamente las quinolonas son un ejemplo claro, por la efectividad que tienen contra bacterias de tipo Gram (+) y (-), aerobias, algunas anaerobias y otros organismos como *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Mycobacterium*, *Rickettsia* [1, 2, 3].

La importancia de seguir buscando nuevas estructuras es debido a que los microorganismos crean resistencia a los fármacos, de ahí la importancia clínica del diseño de nuevos antibióticos. El ácido nalidíxico fue la primera molécula usada para tratar infecciones de vías urinarias y conforme se ha modificado la estructura de dicha quinolona, se han generado nuevas generaciones, cada vez más efectivas [4].

Las quinolonas están estructuralmente conformadas por bicírculos heteroaromáticos, con un núcleo de piridona- $\beta$ -ácido carboxílico y un anillo aromático [5]. El mecanismo de acción de las quinolonas consiste en generar un complejo con la cadena de ADN de la enzima topoisomerasa (IV), bloqueando la replicación y transcripción de la bacteria [1,6] Estudios anteriores con quinolonas (Fig. 1) pudieron discernir que el uso de sustituyentes de diferente naturaleza permitía que la molécula tuviera un mejor efecto como antibiótico, utilizando como sustituyentes Cl, Br, O y CH<sub>3</sub> (Fig. 2), determinando que las moléculas con Br presentan mejor actividad, debido a su capacidad electro-aceptora; otro punto importante es geometría y el impedimento estérico que genera en referencia a su diana biológica, lo cual en otro estudio se hizo la intercalación de una misma estructura y un mismo sustituyente en diferentes carbonos del anillo bencénico, pudiendo comprobar que dependiendo del carbono en el que se encuentre, causará mayor impedimento, presentando mayor efectividad. [7]

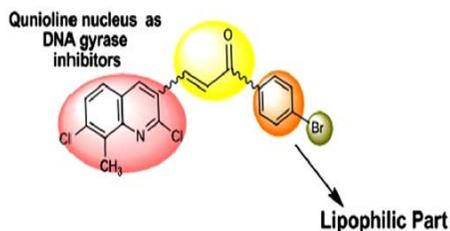


Fig. 1. Constituyentes clave en una quinolona.

### Estudio QSAR

El QSAR es la *relación cuantitativa estructura actividad*, en la cual se genera un modelo matemático lineal y multivariable, de manera que a través de dicho modelo se predice un *parámetro experimental de interés*, utilizando una serie de *descriptores, estructurales o electrónicos* (afinidad electrónica, electronegatividad,  $E_{GAP}$ , electrofilicidad, superficie o área de la estructura, número de átomos electro-donadores, entre otros), de un grupo de moléculas de prueba, de las que se conoce cierta efectividad experimental [8, 9]. En este trabajo se utilizará la *concentración mínima inhibitoria (MIC, por sus siglas en inglés)* como dato experimental [9] y parámetro a calcular.

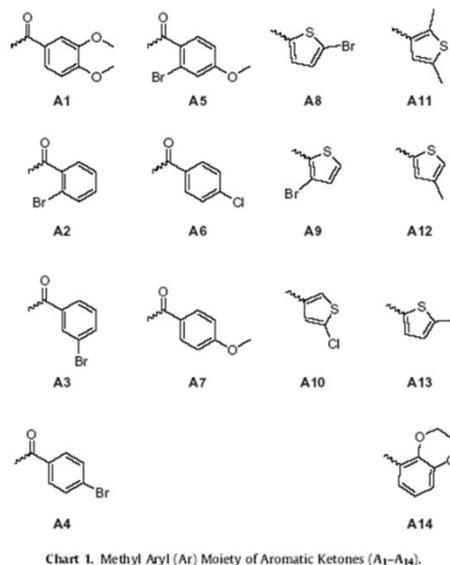


Fig. 2. Estructuras lipofílicas que se pueden agregar a las quinolonas.

## Estudio Docking

La manera de realizar los acoplamientos moleculares *in silico* es teniendo conocimiento del receptor (Diana biológica) y de la estructura cristalizada de dicho blanco biológico con un ligando específico. En este trabajo seleccionamos como receptor de las quinolonas, la topoisomerasa (IV), que se cree forma un complejo con metales en medio fisiológico [1, 9].

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionó y modeló una familia de quinolonas (Fig. 3) y derivados por medio del software GaussView 03 (GV03) [10]. La selección fue a través de su importancia clínica y respuesta biológica (Medida por el MIC).

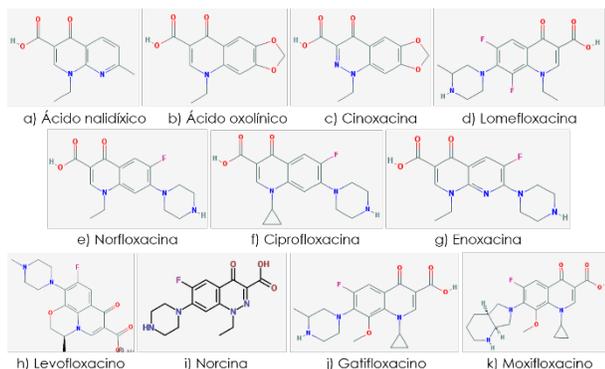


Fig. 3. Familia de quinolonas para estudio QSAR.

Posteriormente se hizo la optimización y obtención de propiedades electrónicas, a través de la teoría de funcionales de la densidad conceptual (conceptual DFT, por sus siglas en inglés, (Tab. 1), empleando el software Gaussian 09 (G09), con un nivel de teoría de TPSS/6-31G (d, p) [11].

El estudio QSAR se realizó por medio de la creación de un modelo matemático (Modelo QSAR) empleando el software MobyDigs, y obteniendo los descriptores a través de los software Dragon y molecular operating environment (MOE) [12, 13],

así como a partir de los descriptores globales obtenidos de la etapa de optimización.

Los acoplamientos moleculares *in silico* de la familia de las quinolonas, al igual que de las moléculas propuestas por nuestro grupo de investigación, se realizaron empleando el paquete Molegro Virtual Docker, con la función de scoring MoldockScore [14] y utilizando específicamente la topoisomerasa IV cristalizada, obtenida de la base de datos Protein Data Bank, con código PDB: 3RAE [15].

Tab. 1. Formulas para la obtencion de descriptores electronicos a partir de DFT conceptual.

$I = E_{cación} - E_{neutro}$		$\omega^- = \frac{(3I + A)^2}{16(I - A)}$	
$A = E_{neutro} - E_{anión}$		$\omega^+ = \frac{(I + 3A)^2}{16(I - A)}$	
$E_{Gap} = E_{Homo} - E_{Lumo}H$			
$\chi = \frac{I + A}{2}$	$\eta = I - A$	$S = \frac{1}{\eta}$	$\omega = \frac{\chi^2}{2\eta}$

*I*: potencial de ionización     $\omega$ : electrofilicidad  
*A*: afinidad electronica     $\omega^-$ : capacidad electrodonadora  
 $\chi$ : electronegatividad     $\omega^+$ : capacidad electroaceptora  
 $\eta$ : dureza     $E_{Gap}$ : diferencia homo - lumo  
*S*: blandura

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Estudio QSAR

Considerando el análisis de componentes principales para los descriptores obtenidos a partir de Dragon y los generados por las ecuaciones ya mencionadas (Tabla 1), podemos elegir aquellos descriptores que sean más independientes uno del otro, por ejemplo  $E_{GAP}$  y  $RGyr$ , resultan no tener tanta correlación entre ellos por estar separados en la gráfica (Fig. 4).

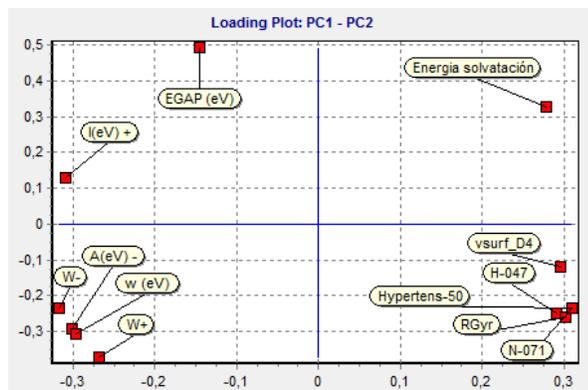


Fig. 4. Comparación de la correlación en los componentes principales para el modelo QSAR en sus distintas dimensiones.

Los modelos QSAR seleccionados contienen descriptores de Dragon y electrónicos, los cuales consideran características electrónicas y geométricas de las moléculas, que son de vital importancia para la interacción blanco-ligando.

#### Modelo 1

$$-\text{Log}(\text{MIC}) = -1.2063(\text{RGyr}) - 4.2572(\text{EGAP}) - 2.9652(\omega +) + 23.1043$$

$$Q2 = 83.88; R^2 = 94.79; S = 0.299; F = 36.4 \text{ (df=3, 6)}$$

#### Modelo 2

$$-\text{Log}(\text{MIC}) = -1.0900(\text{RGyr}) - 3.4316(\text{EGAP}) - 4.3275(\omega) + 22.2257$$

$$Q2 = 81.99; R^2 = 94.05; S = 0.320; F = 31.6 \text{ (df=3, 6)}$$

RGYr: Radio de giro en relación a su masa (descriptor geométrico).

$\omega$ : Electrofilicidad (descriptor electrónico).

$\omega^*$ : Potencia electro-aceptora (descriptor electrónico).

EGAP: Diferencia entre Homo – Lumo

De acuerdo a los modelos realizados, se observó que las moléculas propuestas deben cumplir con ciertas características, como un radio de giro de 3.7 a 3.9 y un potencia electro-aceptora <1 eV. Con base en estas observaciones, se diseñaron tres nuevas propuestas (Fig. 5) que cumplieran con dichas características y que potencialmente podrían ser nuevos fármacos.

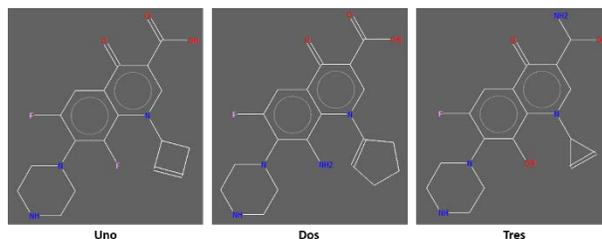


Fig. 5. Quinolonas propuestas a partir del QSAR.

Se evaluaron dichas propuestas en los dos modelos QSAR, resultando que tienen una mejor actividad “teórica” que las moléculas comerciales estudiadas (Tab. 2).

Tab. 2. Comparación entre MIC experimental, calculado y valores de descriptores usados.

Quinolona	MIC Exp	-Log (MIC)	-Log (MIC) Teórico		RGyr	$\omega$	$\omega^*$	EGAP
			Mod 1	Mod 2				
Naloxo	6.3	-0.80	-1.66	-1.73	3.00	2.00	2.18	3.29
Oxocina	0.2	0.70	0.65	0.68	3.25	1.70	1.80	3.10
Cinloma	3.1	-0.49	-0.15	-0.23	3.23	2.29	2.75	2.68
Lomox	0.12	0.92	1.00	1.16	3.96	1.74	1.98	2.69
Nrfex	0.125	0.90	1.55	1.59	3.82	1.66	1.81	2.75
Ciprodano	0.06	1.22	1.04	1.09	3.89	1.68	1.82	2.80
Enoxilona	0.05	1.30	1.15	1.16	3.98	1.88	2.19	2.50
Levofloxacina	0.0063	2.20	2.24	2.15	3.92	1.66	1.85	2.51
Nrofloxacina	3.13	-0.50	-0.54	-0.36	3.84	2.37	2.95	2.40
Gatifloxacina	0.0063	2.20	1.67	1.62	3.97	1.71	1.92	2.55
moxifloxacina	0.25	0.60	0.79	0.54	4.17	1.85	2.05	2.65
Unoxilona	—	—	7.25	8.78	3.76	0.07	0.04	2.62
doxiciclina	—	—	8.75	10.02	3.77	0.06	0.04	2.26
Treosina	—	—	5.62	7.50	3.82	0.07	0.05	2.98

#### Estudio Docking

La calibración del método a partir de la desviación cuadrática media (RMSD) se realizó empleando la proteína ya mencionada y el fármaco cocrystalizado que tenía incluido, obteniendo un RMSD de 1.038 (Fig. 6).

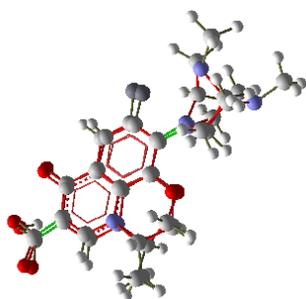


Fig. 6. Calibración del método empleando Levofloxacinacocrystalizada. RMSD= 1.038

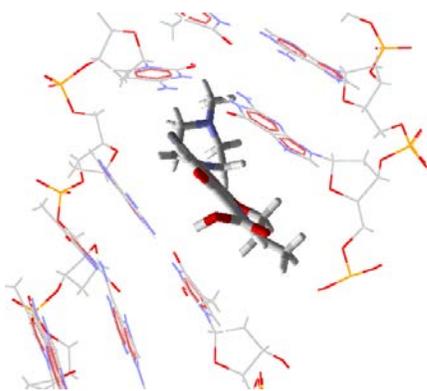


Fig. 7. Levofloxacinay ADN cristalizado

A partir de los resultados del docking, observamos que, las quinolonas estudiadas resultaron acoplarse en el surco mayor del ADN (Fig. 7, 8).

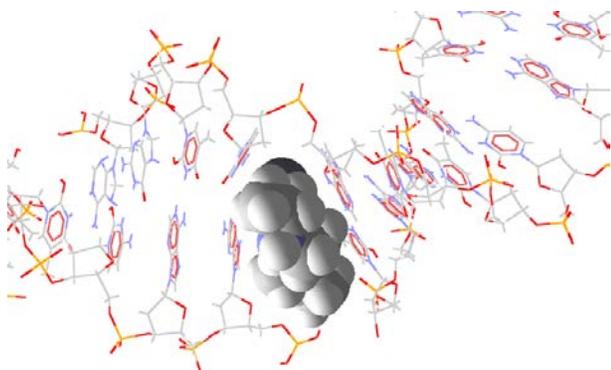


Fig. 8. Gatifloxacinacoplada en el surco mayor del ADN cristalizado.

También podemos observar que hay una interacción tipo *stacking*, cara-cara, entre la quinolona y el surco del ADN, permitiendo entrar a la quinolona en dicho surco mayor, pero además hay una interacción electrostática entre la cadena del ADN y el Magnesio del medio fisiológico, resultando en la inhibición de la replicación del fragmento de ADN bacteriano.

Cómo ya se había mencionado, nuestras tres propuestas tuvieron buenas respuestas en los modelos QSAR y resultaron acoplarse de forma similar que las quinolonas estudiadas, al “sitio activo” del DNA (Fig. 9).

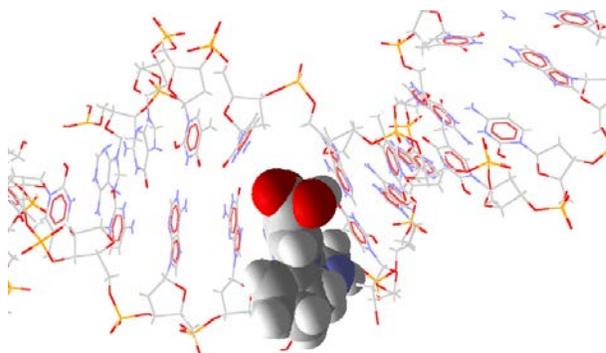


Fig. 9. Pose de la molécula propuesta (Dos) en el “sitio activo” del DNA.

### Perspectivas

Realizar un estudio de orbitales moleculares y de descriptores locales (funciones condensadas de Fukui) de la interacción DNA-quinolona.

### CONCLUSIONES

Se propusieron dos modelos QSAR, con los cuales se lograron proponer tres quinolonas, aparentemente más efectivas que las comerciales estudiadas. Se pudo conocer un poco más como es el mecanismo de inhibición de las quinolonas en el ADN bacteriano.

## AGRADECIMIENTOS

En el trabajo tan arduo quiero agradecer a mi asesor Dr. Juvencio por darme la oportunidad de conocer algo nuevo cada día; en especial a Erik Díaz por ser el mejor acompañante siempre paciente y atento en este grato paso en el área de teórico computacional que siempre contribuyo con mi aprendizaje y entendimiento. Finalmente queda agradecer a la Universidad de Guanajuato por las oportunidades y los apoyos que me brindó.

## REFERENCIAS

1. Young L.S., Berlin O. G., Am. J. Med., 1987, 82, 23.
2. Van Caekenberghe D.L., Pattyn S. R., Antimicrob Agents Chemother, 1984, 25, 518.
3. Barr L. Barry A. L., Jones R. N., Am. J. Med., 1987, 82, 27.
4. Morejón-García M., Salup-Díaz R.; 2003, Actualización en quinolonas.; Electrón J. Biomed; 1, 3.
5. Mella-M. S., Acuña-M. G., Muñoz-Q. M., Perez-C. C., Labarca-L. J., Gonzalez-R. G., Bello-T. H., Dominguez-Y. M., Zemelman-Z. R., Rev. Chil. Infect., 2000, 17, 53.
6. Hawkey P.M., J.A.C., 2003, 51, 29.
7. Abdullah M.I., Mahmood A., Madni M., Masood S., Kashif M., Bioorg. Chem., 2014, 54, 31.
8. Burger, A. Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, Volume 1, Principles and Practice. 5 th ed. Ed. Wolf, M. E.; John Wiley and Sons, N. York, 1995. P. 497-571.
9. Robles J., Martín-Polo J., Álvarez-Vallieria, Hinojosa L., Mendoza-Díaz G., Met. Based Drug, 2000, 7, 301.
10. Gaussview 5.0.8, R.D. Dennington II, T.A. Keith and J.M. Millam. Gaussian, Inc. 2000-2008 semichem, Inc.
11. Hawkey P.M., J.A.C., 2003, 51, 29.
12. QSAR MobyDigs software:  
<http://www.ccl.net/qsar/archives/0407/0516.html>; recuperado julio 2015.
13. Todeschini R., Consonni V.: "Molecular Descriptors for Chemoinformatics", (2 volumes), WILEY-VCH, Weinheim (Germany) 2009, 1257 pp.
14. Thomsen, R.; Christensen, M. H. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. J. Med. Chem., 2006, 49(11), 3313321.
15. PDB ID: 3RAE; Laponogov, I., Pan, X.-S., Veselkov, D.A., McAuley, K.E., Fisher, L.M., Sanderson, M.R. Quinolone(Levofloxacin)-DNA cleavage complex of type IV topoisomerase from *S. pneumoniae*.