

**ESTUDIO DE LA ENERGÍA DE UNIÓN Y SELECTIVIDAD DE INHIBIDORES DE
CDK2/CDK4: ENERGÍA DE INTERACCIÓN QM/MM COMO DESCRIPTOR
DE ACTIVIDAD BIOLÓGICA**

**INGRID DANIELA ARAYA DURÁN
INGENIERO EN BIOINFORMÁTICA**

RESUMEN

Las quinasas dependientes de ciclina (CDK) son enzimas que están involucradas en la regulación del ciclo celular en todos los organismos eucariontes (Malumbres y col., 2005). Específicamente, la enzima CDK2 es sobre-expresada en células cancerígenas, contribuyendo al crecimiento celular desregulado, por lo que se transforma en un blanco terapéutico para el tratamiento del cáncer. Al estudiar la capacidad inhibitoria de un conjunto de moléculas, insertas en el bolsillo de unión a ATP, esta no solo depende de la potencia de inhibición de los posibles fármacos, sino también de su selectividad por CDK2 sobre otros miembros altamente homólogos de la familia de CDKs. Por lo tanto, como punto de comparación se incluyó en este estudio la enzima CDK4, que posee alrededor de un 70% de identidad en el sitio de unión con CDK2, lo cual puede originar un efecto biológico no deseado. El objetivo fundamental de esta investigación es realizar un estudio, mediante métodos computacionales, de la potencia de unión y selectividad de un conjunto de inhibidores de CDK2 y CDK4, evaluando además la correlación entre la energía de interacción y los datos experimentales de actividad biológica. Además, se pretende identificar los residuos del sitio activo que son determinantes en dicha selectividad. Para ello, se emplearon métodos de acoplamiento molecular, métodos híbridos de cálculo QM/MM y componentes de solvatación MM-GBSA. Las estructuras obtenidas del acoplamiento molecular presentaron una orientación óptima de los ligandos en el sitio activo de la proteína (de acuerdo con reportes previos (Hamdouchi y col., 2005)). Los datos de correlación estadística, entre los valores de afinidad obtenidos computacionalmente y los datos biológicos reportados, validan el modelo computacional utilizado para predecir la energía de unión CDK2-ligando, sin embargo, no hubo correlación para los complejos CDK4-ligando. Esto se debe a que los modelos estructurales de CDK4 utilizados no representan el sitio de unión de la enzima en su estado activo, por lo cual no contribuyen en la unión del ligando al receptor.

Finalmente, se logró determinar la contribución energética de los residuos clave dentro del sitio de unión de las CDKs, que probablemente son responsables de las diferencias en la selectividad de los inhibidores entre diferentes CDKs, concluyendo que el modelo computacional utilizado es adecuado para obtener la contribución de un residuo en la selectividad de un inhibidor por su receptor.

ABSTRACT

Cyclin-dependent kinases (CDK) are enzymes involved in regulation of the cell cycle in all eukaryotic organisms (Malumbres et al., 2005). Specifically, the CDK2 enzyme is over-expressed in cancer cells, contributing to the deregulated cell growth, becoming an important therapeutic target for cancer treatment.

When a researcher wants to perform a study on the inhibitory capacity of a set of molecules embedded in the ATP binding pocket, he/she needs to have in mind that this does not depend only on the potency of inhibition of potential drugs, but also on the selectivity of the drug for CDK2 over other highly homologous members of the CDKs family. Therefore, the CDK4 enzyme was included in this study as a comparison point, which shares about 70% identity with CDK2 in their binding sites, which may cause an undesired biological effect.

The goal of this work is to study, by means of several computational methods, the binding potency and selectivity of a set of CDK2 and CDK4 inhibitors, evaluating also the correlation between the interaction energy and the biological experimental data. Additionally, the identification of residues within the CDK2/CDK4 active sites that are critical for selectivity was also performed. For this, the molecular docking methods, QM/MM hybrid methods of calculation and MM-GBSA solvation contributions, were employed.

The structures obtained from molecular docking had a good orientation of the ligands within the protein binding site (according to previous reports by Hamdouchi et al., 2005). The statistical correlation data, between predicted interaction energy and experimental binding data, validate the computer model used to predict the binding energy of CDK2-ligand complexes; however no correlation was found for CDK4-ligand complexes. This may be because the structural model of CDK4 used does not represent the binding site of the enzyme in its active state, thus it does not contribute to ligand binding receptor.

Finally, it was possible to determine the energetic contribution from key residues within CDKs binding site, which are probably responsible of differences in inhibitors selectivity among different CDKs, concluding that the computational model used should be appropriate in order to obtain the contribution of a residue in the selectivity of an inhibitor for its receptor.