

ÍNDICE DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	1
ÍNDICE DE CONTENIDOS	3
INDICE DE TABLAS	7
ÍNDICE DE FIGURAS	9
RESUMEN	13
ABSTRACT	14
1 Introducción	15
1.1 Relevancia estadística del estudio de los nAChRs	15
1.2 Estructura molecular de los nAChRs	16
1.2.1 Descripción	16
1.2.2 Organización y arquitectura	17
1.2.3 Mecanismo de acción	19
1.2.4 Interacciones en el sitio de unión a ligando	20
1.3 Subunidades de los nAChRs	23
1.4 Estudio en los subtipos $\alpha 4\beta 2$ y $\alpha 7$ de los nAChRs	25
1.4.1 Subtipo $\alpha 4\beta 2$	26
1.4.2 Subtipo $\alpha 7$	28

1.5	Cristales disponibles del nAChR.....	28
1.6	Estudios computacionales en nAChRs	29
2	Hipótesis y objetivos	32
2.1	Hipótesis.....	32
2.2	Objetivos	32
2.2.1	Objetivo general	32
2.2.2	Objetivos específicos.....	32
3	Materiales y Métodos	33
3.1	Estructuras Moleculares	33
3.2	Modelamiento por Homología.....	39
3.2.1	Construcción de las subunidades	39
3.2.2	Relajación de los modelos.....	39
3.2.3	Ensamblaje de las subunidades	40
3.2.4	Validación de los modelos.....	40
3.3	Protocolo QM/MM-MM/GBSA.....	41
3.3.1	Ensamblaje de los complejos con antagonistas	41
3.3.2	Minimización QM/MM.....	41
3.3.3	Cálculos de energía libre	41
3.4	Protocolo Docking-DM-MM/GBSA	42

3.4.1	Docking Molecular	42
3.4.2	Simulaciones de Dinámica Molecular	42
3.4.3	Selección de frames	43
3.4.4	Cálculos de energía libre de unión	44
4	Resultados y Discusión.....	45
4.1	Modelos por homología	45
4.2	Protocolo minimización QM/MM y cálculos de energía libre por MM/GBSA.....	50
4.3	Protocolo de Docking, DM y cálculos de energía libre por MM/GBSA	52
5	Conclusiones	64
6	Anexos.....	66
6.1	Descripción de los programas y métodos computacionales	66
6.1.1	Modelamiento por homología	66
6.1.2	Formato de Especificación de Interacción	68
6.1.3	Simulaciones de Dinámica Molecular	69
6.1.4	QM/MM	76
6.1.5	Prime MM/GBSA	77
6.1.6	Docking	79
6.2	Resultados suplementarios.....	81
6.2.1	Modelos construidos.....	81

6.2.2	Adaptación de DH β E en las estequiometrias α 4(3) β 2(2) y α 4(2) β 2(2) α 5(1)	83
6.2.3	Distancias de interacciones	84
6.2.4	Cálculo de Δ G desde protocolo Docking, DM y MM/GBSA	92
6.3	Logros académicos de la tesis.....	97
6.3.1	Congresos.....	97
7	Referencias.....	99

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ligandos antagonistas.	34
Tabla 2. Ligandos agonistas.	36
Tabla 3. ΔG computacional y experimental en antagonistas del nAChRs.	52
Tabla 4. Transformación desde IC50 a ΔG experimental en los ligandos agonistas del receptor nAChR subtipo $\alpha 7$	57
Tabla 5. Tipos de fenómenos y tiempo de DM requerido.	70
Tabla 6. Los valores de ΔG (kcal mol ⁻¹) basándose en la selección de <i>frames</i> según la interacción catión- π	93
Tabla 7. Los valores de ΔG (kcal mol ⁻¹) basándose en la selección de <i>frames</i> según la interacción de enlace de H.	93
Tabla 8. Los valores de ΔG (kcal mol ⁻¹) basándose en la selección de <i>frames</i> según las interacciones catión- π y enlace de H.	93
Tabla 9. Los valores de ΔG (kcal mol ⁻¹) basándose en la selección aleatoria de <i>frames</i>	94
Tabla 10. Valores de ΔG (kcal mol ⁻¹) en $\alpha 7$ basándose en la selección de <i>frames</i> según la interacción de catión- π	94
Tabla 11. Valores de ΔG (kcal mol ⁻¹) en $\alpha 7$ basándose en la selección de <i>frames</i> según la interacción de enlace de H.	95
Tabla 12. Valores de ΔG (kcal mol ⁻¹) en $\alpha 7$ basándose en la selección de <i>frames</i> según las interacciones catión- π y enlace de H.	95

Tabla 13. Valores de ΔG (kcal mol ⁻¹) en $\alpha 7$ basándose en la selección aleatoria de <i>frames</i>	96
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura básica del receptor nicótico de acetilcolina.	17
Figura 2. Subunidad del nAChR.....	18
Figura 3. Sitio de unión de Ls-AChBP en presencia de DH β E.	21
Figura 4. Farmacóforo.....	23
Figura 5. Subtipos de nAChRs.	25
Figura 6. Subtipos de nAChRs α 4 β 2 y α 7.	26
Figura 7. Sobreposición entre los modelos del nAChR (LBD) y el cristal de AChBP.	46
Figura 8. RMSD de las subunidades α 4, α 5 y β 2 del nAChR (LBD).	47
Figura 9. Variación de los valores de RMSD de los subtipos de nAChR (LBD) modelados.	48
Figura 10. RMSD de los ligandos en cada interfaz del sitio de unión.	49
Figura 11. Evolución de los valores de RMSD del nAChR α 4 β 2 unido a antagonistas.	53
Figura 12. Evolución de los valores de RMSD de los ligandos antagonistas.....	54
Figura 13. Fluctuaciones de distancia entre antagonistas y el nAChR.	55
Figura 14. Evolución de los valores de RMSD de los complejos nAChR α 7 unido a agonistas.	59
Figura 15. Evolución de los valores de RMSD de los ligandos agonistas.....	59

Figura 16. Fluctuaciones de las interacciones entre agonistas y el nAChR.....	60
Figura 17. Pasos del modelamiento por homología.	67
Figura 18. Proceso de DM en la suite de Schrödinger.	74
Figura 19. Regiones del método QM/MM.....	76
Figura 20. RMSD de los ligandos en $\alpha 4(3)\beta 2(2)$	83
Figura 21. RMSD de los ligandos en $\alpha 4(2)\beta 2(2)\alpha 5(1)$	84
Figura 22. Fluctuaciones de distancia para antagonista 1 y el nAChR $\alpha 4\beta 2$	85
Figura 23. Fluctuaciones de distancia para antagonista 3 y el nAChR $\alpha 4\beta 2$	85
Figura 24. Fluctuaciones de distancia para antagonista 4 y el nAChR $\alpha 4\beta 2$	86
Figura 25. Fluctuaciones de distancia para antagonista 5 y el nAChR $\alpha 4\beta 2$	86
Figura 26. Fluctuaciones de distancia para antagonista 6 y el nAChR $\alpha 4\beta 2$	87
Figura 27. Fluctuaciones de distancia para agonista 1 y el nAChR $\alpha 7$	88
Figura 28. Fluctuaciones de distancia para agonista 2 y el nAChR $\alpha 7$	88
Figura 29. Fluctuaciones de distancia para agonista 3 y el nAChR $\alpha 7$	89
Figura 30. Fluctuaciones de distancia para agonista 4 y el nAChR $\alpha 7$	89
Figura 31. Fluctuaciones de distancia para agonista 5 y el nAChR $\alpha 7$	90
Figura 32. Fluctuaciones de distancia para agonista 6 y el nAChR $\alpha 7$	90
Figura 33. Fluctuaciones de distancia para agonista 7 y el nAChR $\alpha 7$	91
Figura 34. Fluctuaciones de distancia para agonista 8 y el nAChR $\alpha 7$	91

Figura 35. Fluctuaciones de distancia para agonista 9 y el nAChR $\alpha 7$92