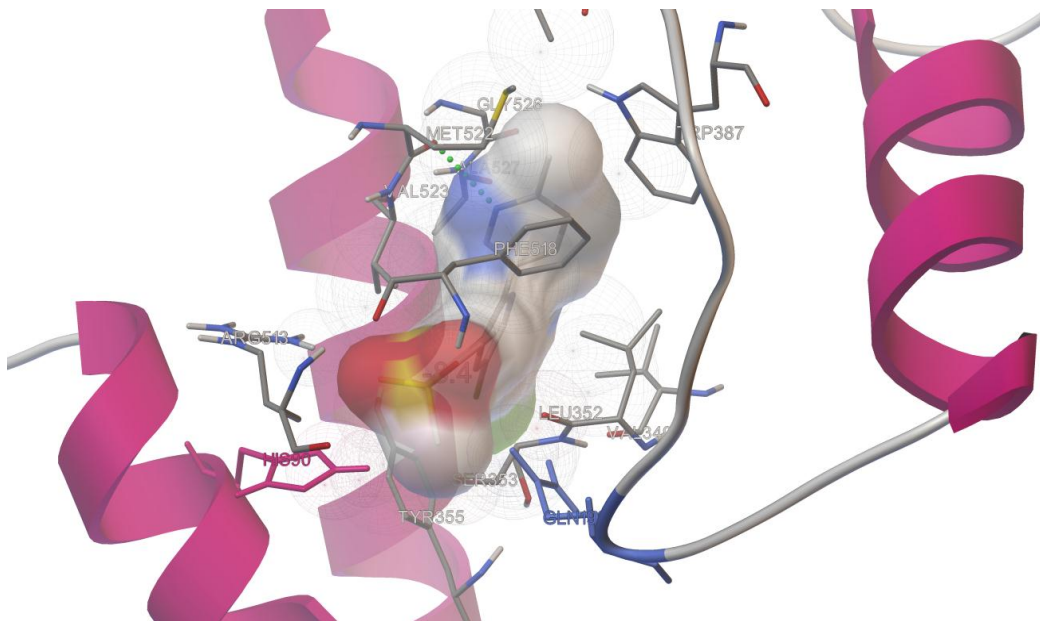


[2012-2013]

# Modelització molecular

Estudi computacional de les proteïnes causants de 7 patologies diferents mitjançant la tècnica del Docking



Grup Computacional

## Breu introducció del contingut del treball

La lluita envers les malalties és tan antiga com la presència humana sobre la capa de la Terra.

Els primers remeis contra les patologies més corrents eren productes naturals de molt pobre manipulació.

Els antics alquimistes obriren el pas a la moderna química que ha produït una infinitat de compostos sintètics actius contra una gran densitat de malalties.

Creiem que l'increment de la població als països civilitzats té una inequívoca relació amb el progrés de la indústria química.

No obstant, el procés de fabricació d'un principi actiu és, en el seu conjunt, costós, complex i lent.

La química computacional es presenta com una moderna alternativa a la tradicional síntesi química. Els programes informàtics capaços de dissenyar molècules i simular la seva actuació en entorns virtuals que imitin situacions reals amb eines de precisió cada vegada millor.

La seva utilització no s'ha d'entendre com la substitució de la síntesi tradicional de laboratori, si no com el preludi *in silico* de futures actuacions *in vitro* i *in vivo*.

El nostre treball representa un intent d'aproximació a la síntesi de fàrmacs virtuals per set diferents patologies humanes fent servir el mètode del Docking.

## Índex de Continguts

<b>Capítol 1 Parkinson.....</b>	<b>4</b>
1.1 Introducció.....	5
1.2 Aspectes històrics de la malaltia del Parkinson .....	7
1.3 Introducció al Docking mètode pràctic.....	11
1.4 Docking-Càlcul i resultat .....	17
1.5 Conclusions .....	21
1.6 Especificacions .....	24
<b>Capítol 2 El dolor .....</b>	<b>26</b>
2.1 Introducció.....	27
2.2 Estudi dels medicaments existents.....	32
2.3 Millores de medicaments existents .....	36
2.4 Conclusions .....	63
<b>Capítol 3 L'Alzheimer.....</b>	<b>64</b>
3.1 Introducció.....	65
3.2 Antecedents i justificació.....	67
3.3 Objectius .....	70
3.4 Pla de treball .....	70
3.5 Material i mètode .....	71
3.6 Resultats .....	72
3.7 Discussió .....	104
3.8 Conclusions .....	105
<b>Capítol 4 Les al·lèrgies .....</b>	<b>106</b>
4.1 Introducció.....	107
4.2 Estudi de les al·lèrgies.....	108
4.3 Antecedents i justificació.....	109
4.4 Objectiu i monografia .....	110
4.5 Treball .....	112
4.6 Resultats.....	114
4.7 Conclusions .....	128
<b>Capítol 5 El VIH.....</b>	<b>130</b>
5.1 Introducció.....	131
5.2 Mecanisme d'estudi del VIH .....	135
5.3 Disseny i estudi d'estructures .....	142
5.4 Conclusions .....	171
<b>Capítol 6 La Diabetis .....</b>	<b>172</b>
6.1 Introducció.....	173
6.2 La Diabetis Mellitus.....	175
6.3 La insulina .....	177
6.4 La prevalença .....	179
6.5 Tractament de la diabetis .....	179
6.6 Dockings.....	183

6.7	Conclusions .....	205
<b>Capítol 7</b>	<b>L'Obesitat .....</b>	<b>210</b>
7.1	Introducció.....	211
7.2	Història de l'Obesitat .....	212
7.3	Estudi de la malaltia .....	216
7.6	Factors on influeixen la malaltia .....	217
7.5	Antecedents i justificació .....	218
7.6	Causes de l'obesitat .....	221
7.7	Tractaments farmacològics d'avui dia .....	221
7.8	Efectes de l'Orlistat .....	224
7.9	Introducció al Docking.....	226
7.10	Interpretació de Dockings.....	227
7.11	Conclusions .....	244
<b>8.</b>	<b>Agraïments.....</b>	<b>245</b>
<b>9.</b>	<b>Bibliografia .....</b>	<b>246</b>

# **1.ElParkinson**

## 1.1 Introducció

Hi ha molts factors a tenir en compte a l'hora de triar el tema d'una monografia. Així com manera en què es durà a terme i quan.

En el meu moment, vaig triar la, aquí present monografia, sobre química. Concretament el camp de la Química Computacional.

cal dir que l'elecció d'aquest treball no va ser una iniciativa totalment personal. D'aquest àmbit d'estudi jo tenia; sí és veritat, curiositat i entusiasme, en combinar dos de les meves passions: la química i la informàtica. Alhora que un gran desconeixement, ja que es tracta d'un camp molt nou i no gaire conegut (referint-me als àmbits escolars, familiars i socials en els quals jo em trobava).

El meu tutor va ser qui em va proposar la idea i em va brindar cert material al que podria accedir, a fi de realitzar l'aquest treball. És a dir, em vaig trobar davant la possibilitat d'explorar un camp, en la seva majoria, desconegut per a mi, comptant amb un important suport, el qual em permetrien aprofundir en ell. Per a mi, era una proposició molt difícil de rebutjar.

Explicat, ja, el per què d'aquest camp d'investigació, cal dir que la raó per la qual el tema que vaig triar va ser: "La malaltia de Parkinson" té diversos motius:

En primer lloc, les línies d'investigació sobre aquesta malaltia en aquest camp, actualment, són de les més tractades, àdhuc sent una assignatura jove. Per tant se m'oferia una matèria nova i la vegada que amb suficients recursos i informació com per poder-la dur a terme en les meves condicions d'estudiant del batxillerat. Per una altra banda, per la relació familiar molt propera que he tingut amb persones que, al llarg de la seva vida, han sofert aquesta malaltia. Era aquest treball una gran oportunitat d'honrar-los.

Introduït això, tractem, en si, el treball:

La modelització molecular, com defineix el departament de biotecnologia de la universitat Pablo de Olavide de Sevilla és, en el sentit ampli de la paraula, l'estudi de l'estructura i funcions moleculars amb ajuda de models i de computació.

El sentit d'aquest treball resideix en l'ús d'aquestes tècniques computacionals per elaborar uns hipotètics fàrmacs a partir de la modificació i millora d'uns medicaments reals i actualment en ús.

Concretament, ens centrarem en la malaltia de Parkinson o Paràlisi Agitant, a partir dels principis actius dels tractaments que en aquest moment s'estan administrant a els qui sofreixen d'aquesta malaltia.

En aquest estudi seguirem el patró d'anàlisi i desenvolupament computacional que es duu a terme a la universitat de Navarra. Com és lògic a un nivell menys avançat, per dues causes: la falta de preparació, per ser alumnes de batxillerat i per no ser est l'únic treball que ha de realitzar-se al llarg del curs escolar, encara que si sigui el més important.

## 1.2.Aspectes històrics de la malaltia de Parkinson:

El coneixement actual sobre la malaltia va començar a desenvolupar-se al segle XIX. Aquest mal era atribuït a toxines que es creien produïdes pel desenvolupament de tecnologies al llarg de la revolució industrial, creient-se també que anteriorment la malaltia no existia.

Un altre cas curiós, fou el de mariners britànics que en sabotejar un vaixell espanyol, es van intoxicar amb mercuri i van sofrir símptomes molt similars, entre uns altres, greus dificultats cardíques i la caiguda de peces dentals, com a aspectes més cridaners. Es va atribuir a toxines.

Posteriorment, diverses investigacions van ser confirmant que sí havia existit però, com creuen els investigadors actuals, no es va associar a una malaltia concreta, sinó a un conjunt de mals sense cap relació entre ells. Poc a poc es va ser demostrant que sí que existia una relació.

Se'ns presenten diversos antecedents històrics. Alguns dels més destacats els trobem en textos com “Les Vedes”, base de la religió vèdica, predecessora de l’ hinduisme. En aquests textos la descrivien com a persones tremoloses, es tractaven aquests símptomes amb una planta, la qual conté L-Dopa en gran quantitat (3%), que com veurem ha estat un de les substàncies més emprades en el seu tractament.

La tradició egípcia, la xinesa i la Bíblia han descrit aquests símptomes en diferents moments de la història. Els grecs, per la seva banda, també es refereixen a un mal amb símptomes similars.

Podem atribuir-li a **Leonardo da Vinci** el ser el primer en descriure’l com a malaltia, ja que va advertir que algunes persones experimentaven simultàniament moviments anormals i involuntaris amb dificultat a l'hora de realitzar accions voluntàries. Relatava: “apareix clarament en paralítics els membres dels quals es mouen sense consentiment de la voluntat i aquesta voluntat, amb tot el seu poder no pot impedir que les extremitats tremolin”

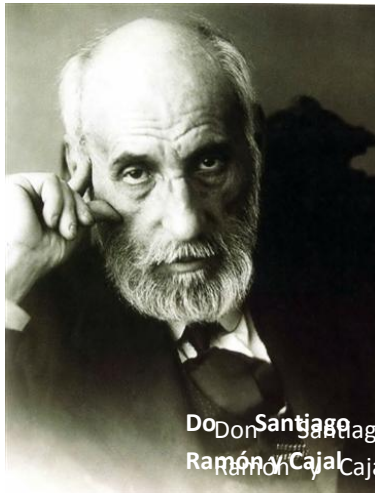
Altres intel·lectuals de diferents àmbits culturals, com **Franciscus de li Bøe**, anomenat Sylvius; **John Hunter**; **William Shakespeare**, en Enrique VI; **Rembrandt**, en el seu Bon Samarità, descriuen a alguns personatges amb els símptomes d'aquesta malaltia.

Malgrat que la Paràlisi Agitant no es comencés a tenir en compte com un mal d'origen comú fins al segle XIX, pot dir-se que des de molt antic ha existit.



No va anar fins al segle XIX quan **James Parkinson**<sup>1</sup> va elaborar la seva hipòtesi, que va basar en conjectures i no en estudis rigorosos, com ell mateix reconeix. No va ser reconegut en la seva època, doncs els seus estudis no van anar prou estrictes com per obtenir renom en un camp ni investigat si més no fins a aquell moment.

En 1880 es parla per primera vegada de rigidesa associada a la Paràlisi Agitant. **Jean-Marie Charcot**<sup>2</sup>, la va descriure, després d'explorar, aquesta vegada sí, meticulosament als seus pacients. Va ser, llavors,



ell qui la va rebatejar com a "Malaltia de Parkinson" en tribut a James Parkinson, qui temps enrere ja l'havia descrit, sense haver-li atorgat el reconeixement que hagués merescut.



Ja a la fi del segle XIX, investigadors de la talla de **Do Santiago Ramón y Cajal**<sup>3</sup> i **Charles Scott Sherrington**<sup>4</sup> van explorar la fisiologia del cervell, entre altres investigacions, definint substàncies com la nigra, els globus palidus, el tàlem, etc., i englobant tots ells, sota el nom genèric de ganglis basals.

**Édouard Brissaud**<sup>5</sup>, va suggerir en 1894, després de les investigacions dels científics anteriorment nomenats, que la "Paràlisi Agitant" podia ser deguda a una lesió de la

<sup>1</sup> James Parkinson: (11 d'abril de 1755 – 21 de desembre de 1824). Va ser metge clínic, sociòleg, botànic, geòleg, i paleontòleg britànic. Va dedicar part dels seus estudis a la gota, i va publicar diversos tractats sobre aquesta malaltia. Però el llibre que li va donar més fama va ser "An Essay on the shaking palsy" (1817) on descriu la paràlisi agitant, malaltia que avui porta el seu nom, malaltia de \*Parkinson. (Wikipedia).

<sup>2</sup> Jean-Marie Charcot: (29 de novembre de 1825, a París, França - † 16 d'agost de 1893, en Montsauche-els-Settons, Nièvre, França), neuròleg francès, professor d'anatomia patològica i pare de la neurologia clínica, titular de la càtedra de malalties del sistema nerviós, membre de la Académie de médecine (1873) i de la Académie des Sciences (1883). Fundador al costat de Guillaume Duchenne de la neurologia moderna i un dels més grans metges francesos. (Wikipedia).

<sup>3</sup> Don Santiago Ramón: (Petilla d'Aragó, Navarra, 1 de maig de 1852 - Madrid, 17 d'octubre de 1934). Va ser un metge espanyol, especialitzat en histologia i anatomopatologia.

Va obtenir el premi Nobel de Medicina en 1906 per descobrir els mecanismes que governen la morfologia i els processos connectius de les cèl·lules nervioses, una nova i revolucionària teoria que va començar a ser cridada la "doctrina de la neurona", basada que el teixit cerebral està compost per cèl·lules individuals. (Wikipedia)

<sup>4</sup> Sir Charles Scott Sherrington: (Londres, 27 de novembre de 1857 - f. Eastbourne, 4 de març de 1952) Va ser un metge neurofisiòleg britànic, premi Nobel de Medicina l'any 1932. Va estudiar les funcions de l'escorça cerebral. (Wikipedia)

<sup>5</sup> Édouard Brissaud: (15 d'abril de 1852, Besançon - 20 desembre 1909). Va ser un metge i patòleg francès. Va ser deixeble de Jean Martin Charcot a l'hospital Pitié-Salpêtrière. Es va interessar en una sèrie de disciplines mèdiques, incloent trastorns de moviment, l'anatomia, neurologia i psiquiatria. (Wikipedia - Traduït).

nigra, ja que ell va relacionar un tuberculoma<sup>6</sup> d'aquesta zona amb la simptomatologia que havien tingut els pacients. D'aquesta forma rebutjava terminantment les teories que li imputaven una causa muscular o que la consideraven neurosi.

Anys més tard, El suec **Arvid Carlsson**<sup>7</sup>, en 1956, va reproduir un model experimental de parkinsonisme en conills tractats amb reserpina<sup>8</sup>. Va establir que la noradrenalina<sup>9</sup> i dopamina, la qual no havia estat reconeguda en aquest temps com a neurotransmissor, estaven reduïdes. Carlsson va sostenir que la dopamina era un neurotransmissor i la simptomatologia parkinsoniana es devia a la seva disminució, la qual cosa inicialment, va ser objectada. Afortunadament, passat un temps, la seva teoria va ser confirmada, i l'any 2000 va ser guardonat amb el Premi Nobel de Fisiologia.

A poc a poc es va ser avançant en la investigació de la Malaltia de Parkinson, fins que en 1967, George **Constantin Cotzias**<sup>10</sup>, en *el Brookhaven National Laboratory N.I*<sup>11</sup>, va administrar L-Dopa en dosis progressives per via oral a pacients que sofrien els símptomes, obtenint un mètode terapèutic altament efectiu.



D'esquerra a dreta: el nostre professor de Biologia al costat de Arvid Carlsson, premi Nobel de Medicina de l'any 2000. Eucys: European Union Contest For Young Students. 2006.

<sup>6</sup> Creixement d'aspecte tumoral, poc freqüent, de teixit tuberculós localitzat en el sistema nerviós central, que es caracteritza per presentar els símptomes d'un procés expansiu en el cervell o cerebel medul·la espinal o meninges cerebrals o espinals.

<sup>7</sup>**Arvid Carlsson**: (Upsala, Suècia 25 de Gener de 1923). Es va doctorar en Medicina a la Universitat de Lund i des de 1959 fins a 1988 va ser catedràtic de Farmacologia de la Universitat de Gotemburgo, Suècia. Des d'aquesta data continua com a professor emèrit d'aquesta universitat.

Va rebre el Premi Nobel de Fisiologia o Medicina l'any 2000 per les seves investigacions sobre la dopamina.

En els seus estudis descriu la forma en què la dopamina es distribueix a les diferents regions del cervell, sobretot en els ganglis basals i la seva relació amb el moviment. A partir d'aquesta troballa estudia l'eficàcia de la L-dopa, l'aplicació de la qual en el tractament de malalties com el Parkinson ha estat fonamental. (Wikipedia).

<sup>8</sup> Alcaloide de la família del indol, usat en farmacologia com antipsicòtic i antihipertensiu, per al control de la pressió arterial o per al control de comportaments psicòtics.

<sup>9</sup> Catecolamina amb múltiples funcions fisiològiques i homeostàtiques que pot actuar com a hormona i com a neurotransmissor.

<sup>10</sup>**Constantin \*Cotzias**: Científic grec (1918-1977) que va efectuar en els anys cinquanta, estudis sobre els efectes de la L-Dopa en pacients amb símptomes de la Malaltia de \*Parkinson.

<sup>11</sup> **Brookhaven National Laboratory N.I.**: És un laboratori nacional situat en Upton New York en Long Island, formalment establert en 1947. Brookhaven és operat pel Departament d'Energia dels Estats Units i la seva divisió Brookhaven Science Associates, s'especialitza en investigacions sobre física nuclear. És atès per més de 3,000 científics, enginyers, tècnics i personal d'assistència, a més de que allotja a 4,000 investigadors convidats cada any. Descobriments fets en el laboratori han guanyat sis Premis Nobel.(Wikipedia)

La importància que arran d'això va perdre la cirurgia s'ha recuperat a poc a poc actualment, a causa dels efectes col·laterals de la medicació, el seu alt cost i els avanços en neurofisiologia.

## 1.3 Introducció al Docking – Mètode pràctic

Abans de realitzar cap càlcul hem d'assentar diversos conceptes i tenir-los sempre presents durant el transcurs d'aquest treball.

En primer lloc presentarem les eines que anem a usar i fitarem el seu ventall d'usos, possibilitats, característiques, etc.

Començarem definint Docking: “Acoblament molecular o Docking (de l'anglès, “ancorar-se”). En el camp del Modelatge molecular, est és un mètode que prediu la conformació preferida d'un molècula, en estar unida a una altra, amb la finalitat de formar un complex estable”. (Wikipedia)

Prèviament a realitzar cap Docking haurem d'informar-nos que fàrmacs anem a usar. Consultant amb **el tutor**<sup>12</sup>, qui ens va donar un curs d'ús dels programes que més endavant usarem per al nostre objectiu, resollem que el principi actiu que estudiarem en aquest treball serà la “Dopa Decarboxylasa o Carbidopa”. Per obtenir aquesta molècula de manera virtual procedirem a descarregar-la del *Proteine Data Base*.

D'aquesta base de dades descarregarem el complex cristal·litzat de la “Structure of Dopa Decarboxylase in complex with the inhibitor” (Estructura de la Dopa Decarboxylasa formant un complex amb l'inhibidor). D'aquí obtindrem un arxiu l'extensió del qual serà . *pdb* i que se'ns presenta per defecte, amb el nom d'1JS3. Aquest arxiu és el pilar major i fonamental del nostre treball, ja que tot es desenvoluparà a partir d'ell...

Vist això, hem de fer un pas més cap a la resolució del treball i presentar les que seran, pròpiament aquestes, les nostres eines de treball; els diversos programes informàtics que usarem al llarg de tot el procés.

AutoDockTools → És el programa fonamental, ja que és el que ens prepararà la molècula per enviar el càlcul del Docking. El qual realitzarem amb el programa AutoDock Vina.

Gaussviewer i Gaussian → Són uns programes que van units en una “Suit” informàtica, que ens permetran el disseny de la molècula del principi actiu o dit d'una altra forma, fer l'esbós d'aquesta. Manar a la computadora a optimitzar el, és a dir, calcular la

---

<sup>12</sup>Tutor d'aquesta monografia conjuntament amb el nostre professor de Biologia. Llicenciat en Química i Bioquímica, amb un Màster en Medicaments (desenvolupament de nous fàrmacs per a estudis farmacèutics) per la Universitat de Navarra. Actualment està acabant el seu doctorat en aquesta matèria.

distància entre enllaços, la seva posició en l'espai, etc., donant-nos com a resultat final una molècula virtual en 3D, la qual podrem, primer tractar i modificar (per redissenyar el fàrmac) i segon, enviar al programa AutoDockTools per preparar-la per al Docking, que és l'etapa final del nostre treball, quant a labor de computadora ens referim.

AutoDock Vina → És un programa, basat en MSDOS el qual, a través de la línia de comandos ens realitzarà el càlcul del Docking i ens donarà una taula de resultats, la qual compararem entre els diferents hipotètics fàrmacs i conclourem en un resultat.

Open Babel → Aquest programa és una petita eina que usarem, de comodí, ja que ens permet canviar el format de diferents arxius; passar esbossos de 2D a 3D i vic eversa, canviar l'extensió d'un arxiu per editar-ho i analitzar-lo des d'un altre programa, etc.

Una vegada hàgim instal·lat i configurat adequadament aquests programes, preparat els arxius i altres passos necessaris, tindrem la part logística preparada i començarem realment a treballar.

Dividirem aquesta segona part de la monografia en dos grans blocs:

- Disseny experimental de nous fàrmacs amb els programes de modelització molecular.
- Càlcul del Docking d'aquests hipotètics nous fàrmacs, prèviament dissenyats.

### 1.3.1 Disseny experimental de nous fàrmacs amb els programes de modelització molecular:

OBTENCIÓ DEL PRINCIPI ACTIU QUE ES VA A MODIFICAR:

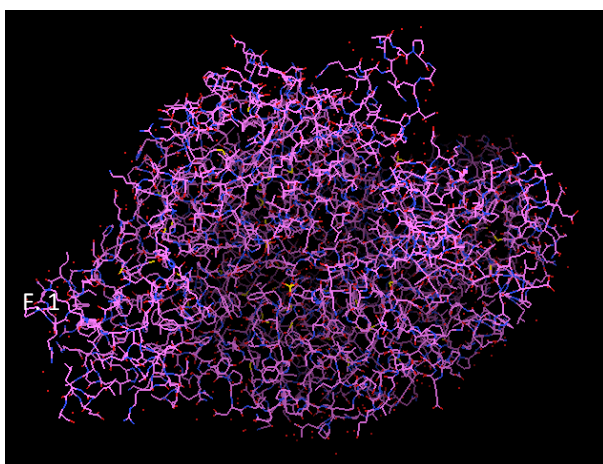
En aquesta etapa de l'estudi realitzarem una sèrie de possibles fàrmacs eficaços contra la malaltia de Parkinson, és a dir, lligands eficaços contra la nostra diana biològica.

El procés consta de diversos passos:

Primerament buscarem un lligand, proteïna o principi actiu d'un fàrmac eficaç contra els símptomes de la nostra malaltia.

Per obtenir aquest principi actiu ens informarem de quin és: nom, referències químiques, etc. En el meu cas vaig acudir al tutor, qui treballa en aquest camp i em va aconsellar treballar amb la "Carbidopa", per a això vaig recórrer al "[RCSB Protein Data Bank \(www.rcsb.org\)](http://www.rcsb.org)". D'est assetjo web vaig obtenir una estructura cristal·lina formada per l'esmentada "Carbidopa", el nostre principi actiu, sobre el qual treballarem, congelada amb la diana biològica que ens interessa combatre: la "Dopa decarboxylasa".

D'aquest lloc ens descarreguem un arxiu nomenat: "1J53.pdb" aquest arxiu serà fonamental per a tot el treball, ja que sobre ell desenvoluparem les nostres

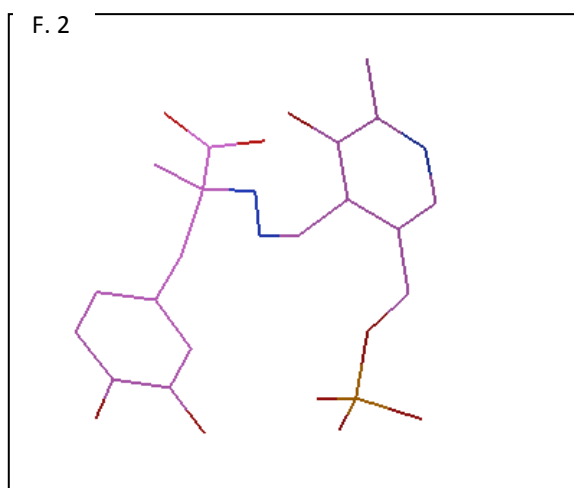


investigacions. Aquest arxiu és interpretat pel programa AutoDock. In els annexos trobarem una imatge d'aquest detalladament.

*(Imatge del cristall del complex Dopa decarboxylasa (estructura principal) & Carbidopa (Situada en el centre de l'anterior) vist des del programa AutoDock)*

Una vegada hem obtingut aquest arxiu realitzarem una sèrie de particions del mateix, a fi de treballar en el nostre nou i hipotètic fàrmac. Aquest procés és relativament senzill. De l'arxiu primari hem d'aconseguir la informació relativa al lligand, la Carbidopa, aïllada dels altres compostos del cristall. És a dir, crearem un nou arxiu amb sols una part concreta de la informació de l'original, aquest el renombrarem com

“1JS3-lig.pdb”, i de manera antagònica, crearem un altre nou arxiu amb la informació de la diana biològica, la *Dopa Decarboxylasa*, que guardarem amb el nom de “1JS3-rec.pdb”. D'aquesta manera, hem preparat dos arxius nous però de la mateixa extensió, és a dir, que tots dos són per treballar des de AutoDock, di igual manera que el .pdb original. Aquests dos nous arxius els podrem consultar detalladament en l'apartat dels annexos. No està de més insistir que aquests arxius ens aporten un model tridimensional de les estructures químiques estudiades.



(Detall de lligand Carbidopa en 3D, vist des de AutoDock)

Una vegada elaborats aquests arxius, entrem realment en el disseny de nous i hipotètics principis actius per a aquesta diana biològica concreta.

Amb programes d'edició molecular, dibuixem la nostra molècula de Carbidopa. En el meu cas el “Gaussviewer”.

Aquest pas consisteix a realitzar una senzilla còpia, un esbós, de la molècula que nus havíem descarregat del RCSB.

Una vegada obtingut aquest esbós, usant un programa adjunt, el “Gaussian” ordenem a la computadora optimitzar aquest esbós, és a dir, calcular les possibles conformacions d'aquesta molècula a la qual nosaltres solament li hem definit els àtoms que la formen i els tipus d'enllaços que es presenten entre ells. La computadora, després d'un temps variable d'entre deu i trenta minuts (en la majoria dels casos que jo vaig tractar) ens retorna el càlcul con la conformació més probable.

Amb est passo hemos passat d'un disseny en 2D esquemàtic de nostre lligand a una vista en 3D, més propera a la realitat possible, amb el nostres mitjans tecnològics.

Obtingut aquest arxiu, amb nostre lligands, ara sí, comencem a dissenyar hipotètics lligands més eficaces.

Atès que la nostra molècula d'origen té nou enllaços C-H en els quals, per coneixements teòrics, és possible fer una modificació favorable, dissenyem 30 possibles nous fàrmacs, modificant, individualment un d'aquests Hidrògens, és a dir, substituïm un hidrogen per diversos nous grups radicals cada vegada, en cadascuna de les diferents extensions.

Usant el programa Gaussian manem a la computadora realitzar les següents 28 optimitzacions:

Càlcul de l'optimització 2: Fluor posició 11 (no vàlid)
Càlcul de l'optimització 3: Fluor posició 13 (no valgut)
Càlcul de l'optimització 4: Fluor posició 8
Càlcul de l'optimització 5: Fluor posició 7
Càlcul de l'optimització 6: Fluor posició 9
Càlcul de l'optimització 7: Fluor posició 15
Càlcul de l'optimització 9: Fluor posició 16
Càlcul de l'optimització 10: Fluor posició 17
Càlcul de l'optimització 11: Fluor posició 18
Càlcul de l'optimització 12: Grup carboxil (OH) posició 9
Càlcul de l'optimització 13: Grup carboxil (OH) posició 8
Càlcul de l'optimització 14: Grup carboxil (OH) posició 7
Càlcul de l'optimització 15: Grup carboxil (OH) posició 15
Càlcul de l'optimització 16: Grup carboxil (OH) posició 16
Càlcul de l'optimització 17: Grup carboxil (OH) posició 18
Càlcul de l'optimització 18: Grup metil (CH3) posició 9
Càlcul de l'optimització 19: Grup metil (CH3) posició 8
Càlcul de l'optimització 20: Grup metil (CH3) posició 15
Càlcul de l'optimització 21: Grup metil (CH3) posició 7
Càlcul de l'optimització 22: Grup metil (CH3) posició 16
Càlcul de l'optimització 23: Grup metil (CH3) posició 18



Càlcul de l'optimització 24: Grup Amino (NH <sub>2</sub> ) posició 8
Càlcul de l'optimització 25: Grup Amino (NH <sub>2</sub> ) posició 9
Càlcul de l'optimització 26: Grup Amino (NH <sub>2</sub> ) posició 7
Càlcul de l'optimització 27: Grup Amino (NH <sub>2</sub> ) posició 16
Càlcul de l'optimització 28: Grup Amino (NH <sub>2</sub> ) posició 15
Càlcul de l'optimització 29: Grup Amino (NH <sub>2</sub> ) posició 18

S'observa que la que seria la "optimització 1" no està, això es deu al fet que esta és la del propi fàrmac original, que vam fer amb anterioritat; la primera transformació del nostre esbós a partir del disseny obtingut en l'arxiu .pdb.

En la llista s'observa, que dels vint-i-vuit càlculs realitzats computacionalment, es ressalten en verd quatre. Aquests són aquells que han donat una major electronegativitat. Son els que podrien generar-nos un nou fàrmac eficaç. És a dir, és el primer filtre que prenem abans d'arribar a la nova i com aquest treball tracta d'aconseguir, millorada molècula.

Dit això, passem a l'elaboració dels Dockings d'aquestes molècules.

Abans de realitzar el Docking, un nou pas, haurem de transformar els arxius (.log) resultants del programa d'optimització Gaussian a arxius d'extensió compatible amb el programa AutoDock.

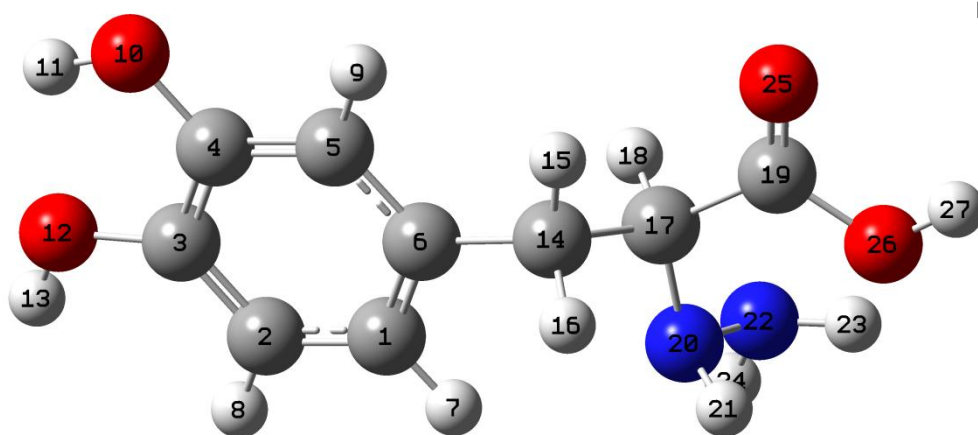
En el meu cas vaig optar per fer aquesta conversió des del propi programa Gaussian, ja que ens permet una opció per guardar els seus arxius de sortida en diversos formats. Vaig usar un format compatible amb AutoDock; vaig usar el format de sortida .mol, cal concretar que AutoDock treballa amb format .pdb però accepta l'extensió .mol, realitza automàticament la conversió i ens permet treballar sense cap problema.

Ara sí podem avançar i realitzar els Dockings pertinents.

## 1.4. Docking, càlcul i resultats

Partirem de la molècula de Carbidopa mostrada en la imatge següent, que és la molècula del fàrmac original, a la qual substituïrem diferents grups radicals o enllaços per intentar obtenir una major afinitat. Com hem assenyalat en l'apartat anterior, aquests nous grups que afegirem, té la seva raó d'ésser, doncs els càlculs realitzats amb el programa Gaussian així ens ho indiquen. No queda gens a l'atzar.

Aquesta és la nostra molècula de Carbidopa, que hem obtingut del cristall inicial de



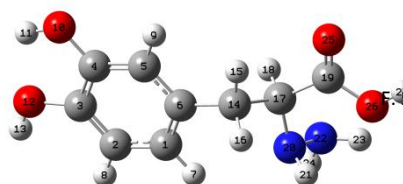
F. 4

l'arxiu *.pdb*, i que hem tractat mitjançant diversos programes, relacionats anteriorment, amb la finalitat d'obtenir la conformació virtual i els càlculs més ajustats a la realitat.

En la imatge veiem numerats cadascun dels àtoms d'aquesta molècula. Isto ens servirà per ordenar posteriorment els canvis realitzats a la recerca d'una millor afinitat electrònica. També ens proporciona el lloc ocupat en la llista de càlculs d'optimització, per cadascun dels grups.

Com partim de quatre modificacions potencialment eficaces, les quals s'han realitzat i explicat en l'anterior apartat, elaborarem el Docking de cadascuna d'elles, obtenint els següents resultats ( per motius d'espai, al final tenim una breu explicació de les abreviatures a continuació utilitzades):

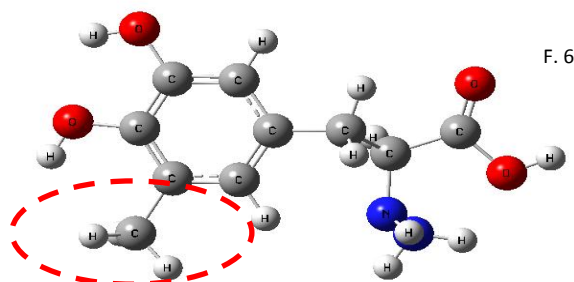
Principi actiu del fàrmac original:



Manera	Afinitat   (kcal/mol)	Distància des de la millor manera	
		rmsd l.b	rmsd o.b
1	0.0	0.000	0.000
2	0.0	4.397	6.699
3	0.0	9.526	12.813
4	0.0	6.015	8.118
5	0.0	9.066	11.180
6	0.0	8.998	11.227
7	0.0	5.281	8.091
8	0.0	8.910	11.343
9	0.0	3.325	6.223

T. 1

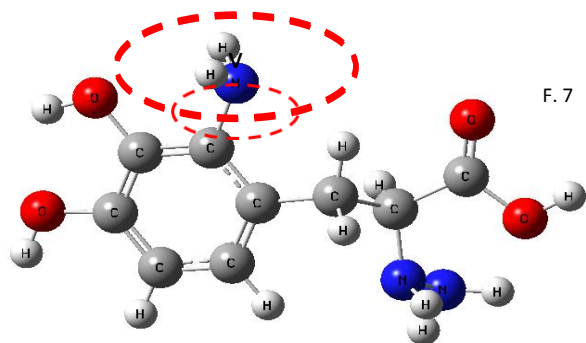
Grup metil (CH<sub>3</sub>) Posició 8:



Manera	Afinitat   (kcal/mol)	Distància des de la millor manera	
		rmsd l.b	rmsd o.b
1	-0.0	0.000	0.000
2	-0.0	3.945	5.028
3	-0.0	4.560	5.475
4	-0.0	7.789	9.204
5	-0.0	5.524	6.959
6	-0.0	9.558	10.657
7	-0.0	3.256	4.840
8	-0.0	12.223	13.839
9	-0.0	4.408	6.094

T. 2

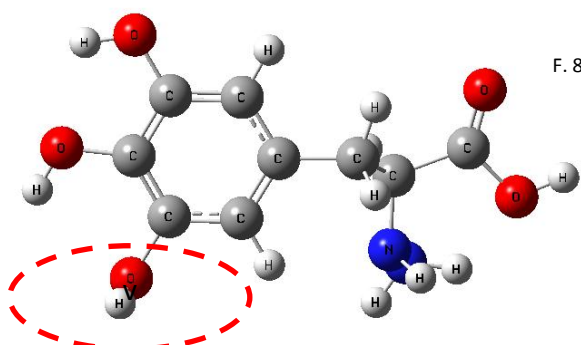
Grup amino (NH<sub>2</sub>) Posició 9:



Manera	Afinitat   (kcal/mol)	Distància des de la millor manera	
		rmsd l.b	rmsd o.b
1	-0.0	0.000	0.000
2	-0.0	15.464	16.614
3	-0.0	7.930	8.768
4	-0.0	6.904	8.746
5	-0.0	6.134	8.681
6	-0.0	11.409	13.288
7	0.0	10.407	11.167
8	0.0	8.750	10.174
9	0.0	14.524	16.459

T. 3

Grup Carboxil (OH) Posició 8:

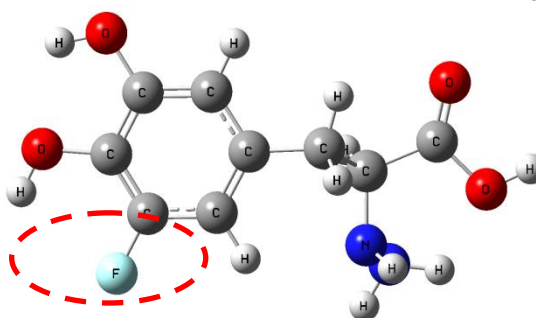


Manera	Afinitat   (kcal/mol)	Distància des de la millor manera	
		rmsd l.b	rmsd o.b
1	-0.0	0.000	0.000
2	-0.0	10.535	11.652
3	-0.0	5.649	6.661
4	-0.0	13.546	15.113
5	0.0	4.993	7.074
6	0.0	9.608	10.831
7	0.0	4.631	6.331
8	0.0	8.732	10.104
9	0.0	5.733	7.389

T. 4

Fluor (F) Posició 8:

F. 9



Manera	Afinitat   (kcal/mol)	Distància des de la millor manera	
		rmsd l.b	rmsd o.b
1	-0.0	0.000	0.000
2	-0.0	7.305	8.016
3	0.0	3.045	3.562
4	0.0	9.452	10.725
5	0.0	7.330	8.943
6	0.0	9.857	11.367
7	0.0	5.745	7.254
8	0.0	8.074	10.049
9	0.0	4.912	5.584

T. 5

Les abreviatures “Rmsd l.b” i “Rmsd o.b” són les variants del càlcul de la millor manera (o conformació) relatiu en usar solament els àtoms mòbils de la molècula. Són el càlcul per la part inferior (lower) i la superior (upper).

## 1.5. Conclusions

Amb aquests resultats, el següent pas és realitzar un filtrat de les dades parella esbrinar si veritablement s'ha obtingut una millora teòrica del fàrmac original. Per a això haurem de comparar el nivell d'afinitat electrònica de cadascun dels hipotètics nous fàrmacs amb l'original. Si s'obté un resultat que ens indiqui que aquesta nova molècula té major eficàcia, podrem dir que hem obtingut un nou i hipotètic fàrmac.

El que fem és una comparativa entre les taules de dades de cada hipotètic fàrmac, estudiant les columnes "rmsd l.b" i la "rmsd o.b".

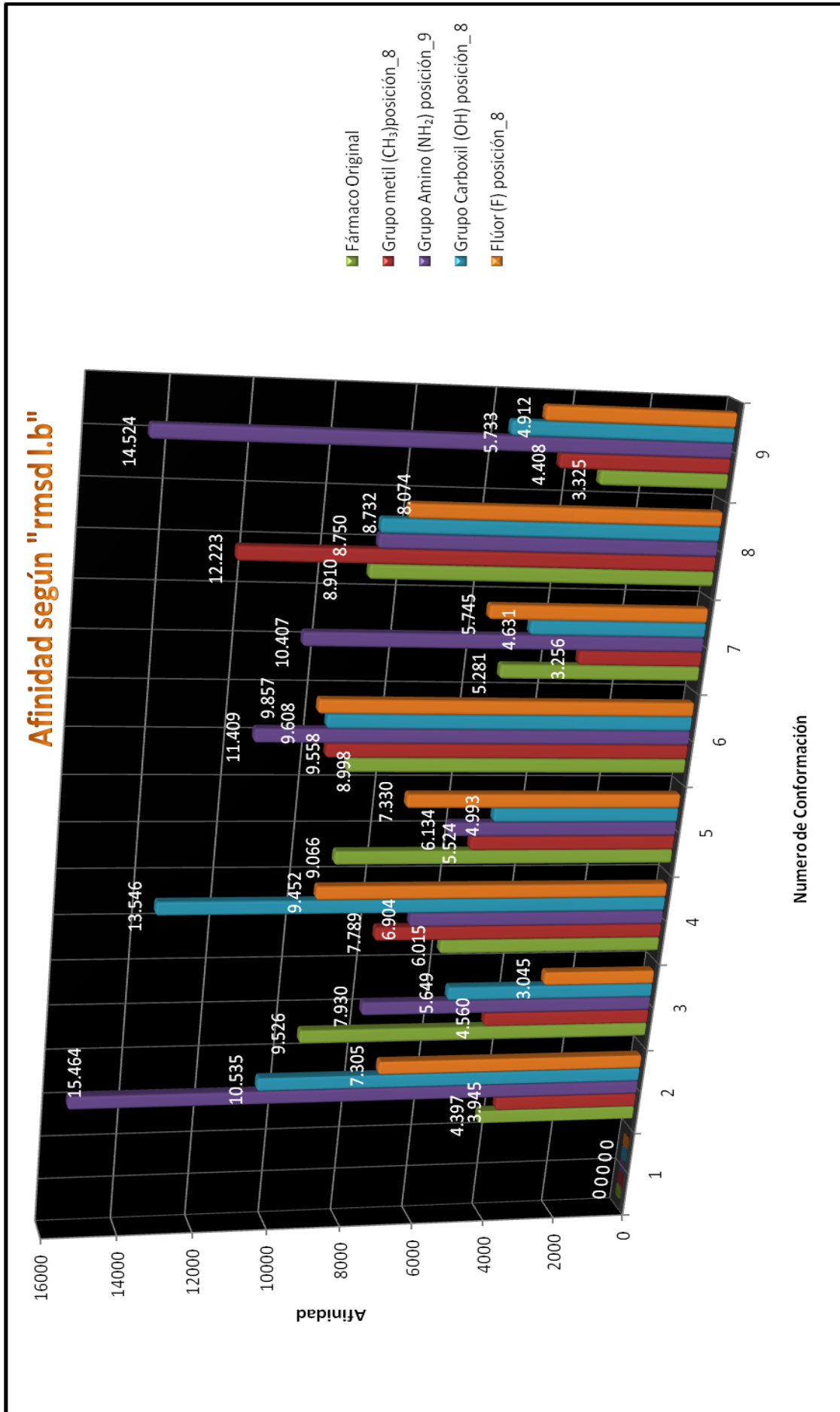
D'això obtindrem, dos gràfics, qualitativament iguals, és a dir que es respecten les mateixes proporcions ordinals:

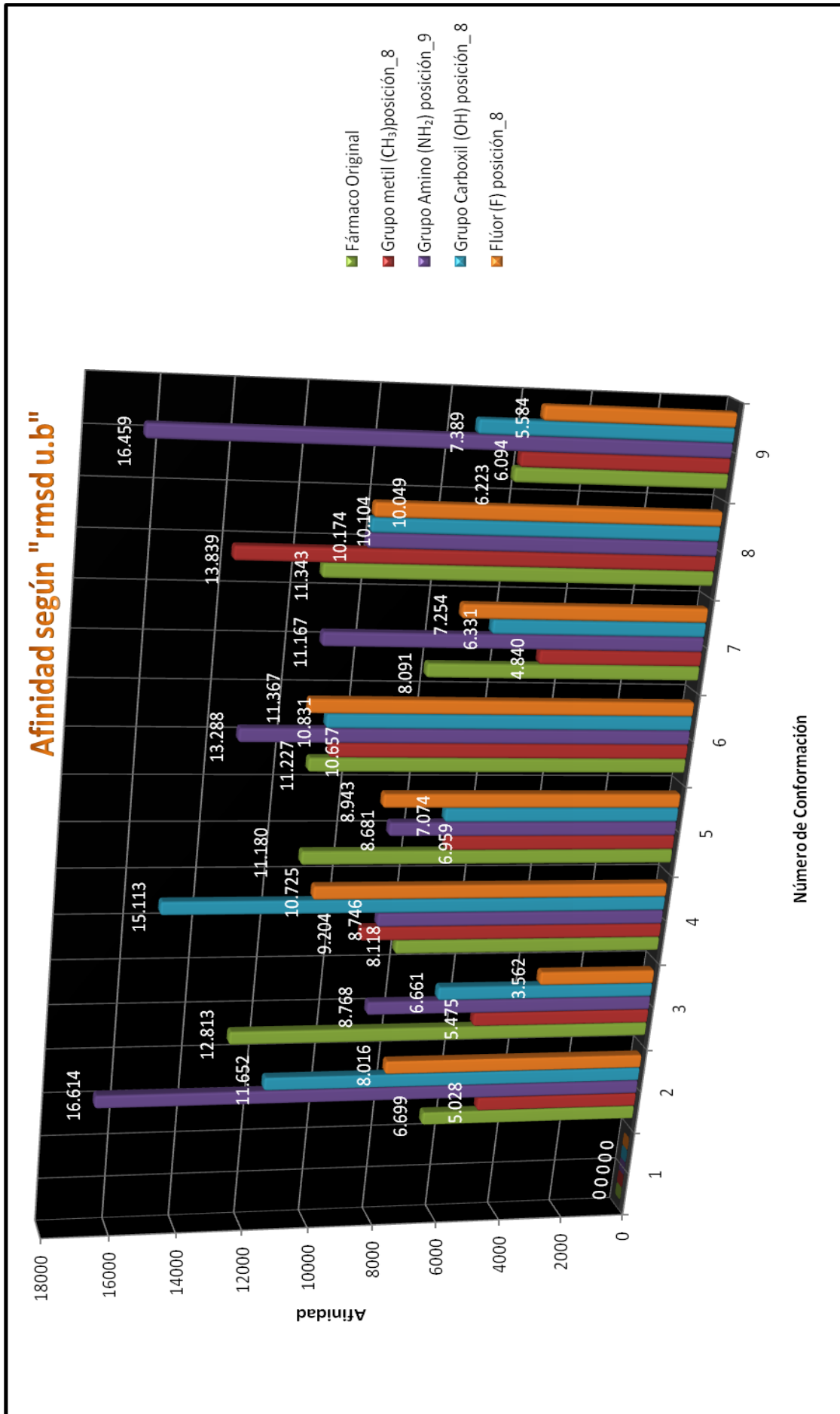
(Veure gràfic d'afinitats en les fulles 29 i 30)

Observant els valors apreciem:

En primer lloc, que totes les modificacions donen una millor afinitat, per consegüent una major eficàcia teòrica, vista des d'aquest únic camp d'estudi, que el fàrmac original. Les hem millorat. Això té un factor lògic important, ja que prèviament s'ha fet una selecció, per mitjà dels programes utilitzats, per optimitzar els recursos.

In segon lloc, que la modificació realitzada per mitjà de la substitució de l'hidrogeno en posició 9, per un grup amino (NH<sub>2</sub>), ens dona la major afinitat. És a dir, est seria "el nou fàrmac més efectiu". Pel que podem afirmar que aquesta modificació concreta aporta una millora considerablement més eficaç a el fàrmac original. Hem dissenyat un nou i més eficaç fàrmac teòric, que és, finalment, l'objectiu del present treball de recerca.







## 1.6. Especificacions:

### 1.6.1 Fotografies:

F.1: *Imatge del cristall del complex Dopa decarboxilasa (estructura principal) & Carbidopa (Situada en el centre de l'anterior) vist des del programa AutoDock.*

F.2: *Detall de lligant Carbidopa en 3D, vist des de AutoDock.*

F.3: *Detall en 3D d'una de les cadenes de la diana biològica, receptor, Dopa Carboxilasa, vista des de AutoDock.*

F.4: *Molècula de Carbidopa, obtinguda a partir del cristall inicial de l'arxiu .pdb, tractat mitjançant Gaussviewer.*

F.5: *Miniatura de la molècula de Carbidopa modificada, obtinguda a partir del cristall inicial de l'arxiu .pdb, tractat mitjançant Gaussviewer.*

F.6: *Molècula de Carbidopa modificada amb un Grup Metil (CH<sub>3</sub>) en posició 8, obtinguda a partir del cristall inicial de l'arxiu .pdb, tractat mitjançant Gaussviewer.*

F.7: *Molècula de Carbidopa modificada amb un Grup Amino (NH<sub>2</sub>) en posició 9, obtinguda a partir del cristall inicial de l'arxiu .pdb, tractat mitjançant Gaussviewer.*

F.8: *Molècula de Carbidopa modificada amb un Grup Carboxil (OH) en posició 8, obtinguda a partir del cristall inicial de l'arxiu .pdb, tractat mitjançant Gaussviewer.*

F.9: *Molècula de Carbidopa modificada amb un Fluor (F) en posició 8, obtinguda a partir del cristall inicial de l'arxiu .pdb, tractat mitjançant Gaussviewer.*

### 1.6.2 Taules:

T. 1: *Taula referent a les 9 millors afinitats electròniques entre lligant i receptor i de millors manera de conformació entre tots dos. De la molècula original de Carbidopa cap a la diana biològica. Taula obtinguda per mitjà del Docking de AutoDock Vina.*

T. 2: *Taula referent a les 9 millors afinitats electròniques entre lligant i receptor i de millors manera de conformació entre tots dos. De la molècula Carbidopa modificada amb un Grup Metil (CH<sub>3</sub>) en posició 8 cap a la diana biològica. Taula obtinguda per mitjà del Docking de AutoDock Vina.*

T. 3: Taula referent a les 9 millors afinitats electròniques entre lligant i receptor i de millors manera de conformació entre tots dos. De la molècula Carbidopa modificada amb un Grup Amino ( $\text{NH}_2$ ) en posició 9, cap a la diana biològica. Taula obtinguda per mitjà del Docking de AutoDock Vina.

T. 4: Taula referent a les 9 millors afinitats electròniques entre lligant i receptor i de millors manera de conformació entre tots dos. De la molècula Carbidopa modificada amb un Grup Carboxil ( $\text{OH}$ ) en posició 8 cap a la diana biològica. Taula obtinguda per mitjà del Docking de AutoDock Vina.

T. 5: Taula referent a les 9 millors afinitats electròniques entre lligant i receptor i de millors manera de conformació entre tots dos. De la molècula Carbidopa modificada amb un Fluor ( $\text{F}$ ) en posició 8, cap a la diana biològica. Taula obtinguda per mitjà del Docking de AutoDock Vina.

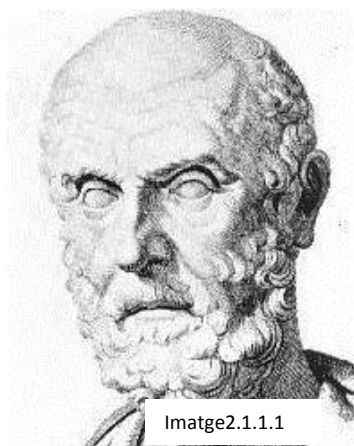
# **2. El Dolor**

## 2.1 Introducció

### 2.1.1 De la planta de Salix a l'Aspirina

La raça humana lluita incessantment contra el dolor. Ja als segles a. de C. trobem referències sobre la seva cura. Un clar exemple d'aquesta lluita incessant al llarg de la història, és l'ús de la planta *Salix*.

La planta *Salix* i en concret la seva escorça (escorça de salze) va ser usada a Assíria, Sumèria i Egipte com un remei contra els dolors i la febre. D'això tenim coneixement gràcies a esments en antics textos de l'època. També Hipòcrates, metge de l'Antiga Grècia i pare de la Medicina, va deixar per escrit textos sobre les seves propietats medicinals cap al segle V a. de C.



Imatge2.1.1.1

Hipòcrates



Imatge2.1.1.2

Raffaele Piria



Imatge2.1.1.3

Felix Hoffman

No és fins a 1828 que tornem a tenir destacats esments sobre la planta *Salix*, quan Johann Buchner<sup>13</sup> va obtenir el principi actiu de l'escorça de salze. Un any més tard, en 1829, Henri Leroux<sup>14</sup> va aïllar extracte actiu de l'escorça de salze en la seva forma cristal·lina (sal·licina) i Raffaele Piria<sup>15</sup> va separar l'àcid en el seu estat pur de la

---

<sup>13</sup> Johann Buchner va ser professor de Farmàcia a la Universitat de Munich, Alemanya. Va ser el primer a obtenir sal·licina però de baixa puresa. Va néixer a Munich el 1783 i va morir el 1852 a la mateixa ciutat.

<sup>14</sup> Henri Leroux va ser un farmacèutic francès que va aïllar la forma cristal·lina de l'àcid sal·licílic el 1828.

<sup>15</sup> Raffaele Michele Rocco Piria va néixer a Sicília, Itàlia el 1814 i va morir en 1865 a Torí, Itàlia. Va estudiar Medicina i Química. Va aconseguir descomposar la sal·licina en dos compostos: D-glucosa i saligenina (que per oxidació donaria lloc a l'àcid sal·licílic). Va ser professor de Química a la Universitat de Pisa. Un dels seus alumnes destacats va ser Stanislao Cannizzaro.

sal·licina en dissolució saturada en aigua, la qual resulta ser àcida en aquestes condicions. Charles Frédéric Gerhardt<sup>16</sup> va sintetitzar per primera vegada l'àcid sal·licílic en 1853. Sis anys més tard va ser sintetitzat l'àcid sal·licílic en forma salina per Hermann Kolbe<sup>17</sup> (1859).

En 1897, Felix Hoffman<sup>18</sup> va sintetitzar una nova versió derivada de l'àcid sal·licílic a causa que aquest causava problemes digestius. Aquesta nova substància es va denominar àcid acetil- sal·licílic i va ser nomenada Aspirina per l'empresa farmacèutica Bayer Ag.

### **2.1.2 Els AINE**

L'aspirina es classifica com a fàrmac antiinflamatori no esteroïdal (AINE) a causa de la seva qualitat de antiinflamatori<sup>19</sup>, analgèsic<sup>20</sup>, antipirètic<sup>21</sup>. Aquest grup de fàrmacs (AINE) és molt variat i químicament heterogeni, és a dir que els principis actius dels diferents medicaments que conformen el grup poden presentar geometries moleculars molt diferents entre si.

Les tres premises per considerar que un medicament és AINE són les tres ja esmentades: antiinflamatori, analgèsic i antipirètic, però a més és de recalcar el terme "no esteroïdal". Això és a causa que els antiinflamatoris naturals segregats pel propi organisme són derivats dels corticoides, substàncies d'origen esteroïdal que causen importants efectes secundaris. En tractar-se estrictament de substàncies "no esteroïdals", els AINE eviten molts d'aquests efectes no desitjats.

### **2.1.3 La prostaglandina-endoperòxid sintassa**

---

<sup>16</sup> Charles Frédéric Gerhardt va néixer a Estrasburg el 1816 i va morir a la mateixa ciutat l'any 1856. Va ser professor titular de Química. Va sintetitzar l'àcid acetil-sal·licílic però en una forma inestable i impura.

<sup>17</sup> Adolph Wilhelm Hermann Kolbe va ser professor de Química a la Universitat de Marburg. Va treballar en l'electròlisi per a l'obtenció d'àcids, entre ells l'àcid sal·licílic (electròlisi de Kolbe). Va néixer en 1818 a Hannover, Alemanya i va morir en Leipzig, Alemanya 1884.

<sup>18</sup> Felix Hoffman va ser el químic alemany que va sintetitzar en 1897 l'àcid acetil-sal·licílic (analgèsic, antipirètic i antiinflamatori eficaç i ben tolerat. Va néixer l'any 1868 en Ludwigsburg, Alemanya i va morir el 1946 a Suïssa.

<sup>19</sup> Definició RAE de antiinflamatori: Que combat la inflamació (adjectiu, Medicina).

<sup>20</sup> Definició RAE d'analgèsic: Medicament o droga que produeix analgèsia, és a dir la falta o suspensió de tota sensació dolorosa sense pèrdua de les restants maneres de la sensibilitat (nom, Medicina).

<sup>21</sup> Definició RAE d'antipirètic: Paraula composta culta d'origen grec; anti- i πυρετικός (febril), és a dir eficaç contra la febre (adjectiu, Medicina).

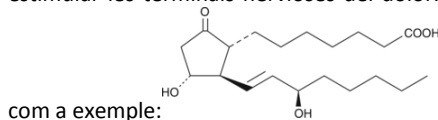
Dins d'aquest grup trobem fàrmacs igual de coneguts que l'Aspirina : l'Ibuprofè, el Naproxè, el Paracetamol, etc. Tots ells actuen com inhibidors de l'enzim ciclooxigenasa 1 i 2, abreujada COX.

La COX o prostaglandina-endoperòxid sintassa és l'enzim que catalitza la reacció  $Araquinodat + AH_2 + 2O_2 \leftrightarrow Prostaglandina - H_2 + A + H_2O$ . És a dir, la COX permet a l'organisme formar les substàncies anomenada Prostaglandina<sup>22</sup> a partir d'Àcid Araquidònic<sup>23</sup>. Per tant, els AINE han d'actuar com a competidors de l'Àcid Araquidònic per inhibir la COX evitant el sentiment de dolor provocat per l'actuació de les Prostaglandines en el sistema nerviós.

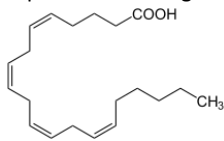
### 2.1.4 Les dues isoformes de la prostaglandina-endoperòxid sintassa

La COX presenta dues isoformes: la COX 1 i la COX 2. Ambdues tenen el mateix lloc actiu. Es diferencien entre si estructuralment tan sols per un aminoàcid dels 600 dels que estan formades aproximadament. La diferència entre elles radica en la seva funció: la COX 1 actua de reguladora de la proliferació de les cèl·lules normals o neoplàsticament transformades mentre que la COX 2 fa de mediadora en els processos d'inflamació i en la senyalització per prostanoïdes (del grup de les prostaglandines i els tromboxans<sup>24</sup>; estimuladors de les terminals nervioses del dolor).

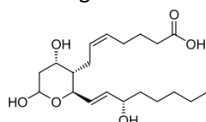
<sup>22</sup> Les prostaglandinas (PG) són mediadors cel·lulars de caràcter lipídic. Participen en les respostes inflamatòries en estimular les terminals nervioses del dolor. Van ser descobertes per Kurgok i Lieb. Mostro a continuació la PGE1



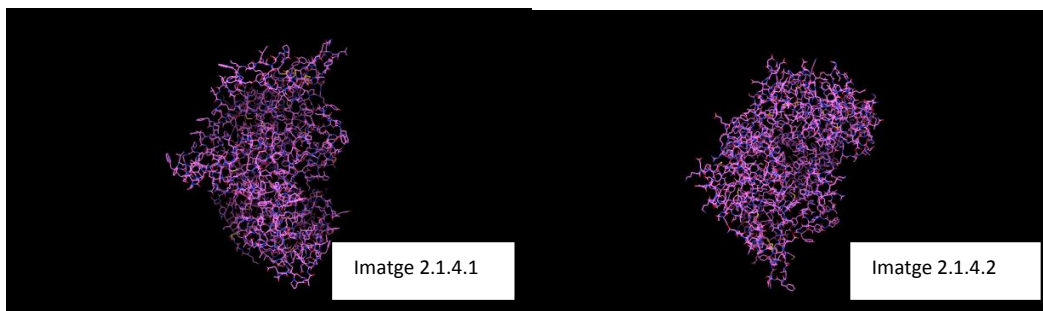
<sup>23</sup> L'àcid araquidònic és àcid gras essencial poliinsaturat. La seva geometria molecular és la següent:



<sup>24</sup> Els tromboxanos són el resultat de l'actuació de l'enzim COX sobre l'àcid araquidònic. La seva geometria molecular és la següent:

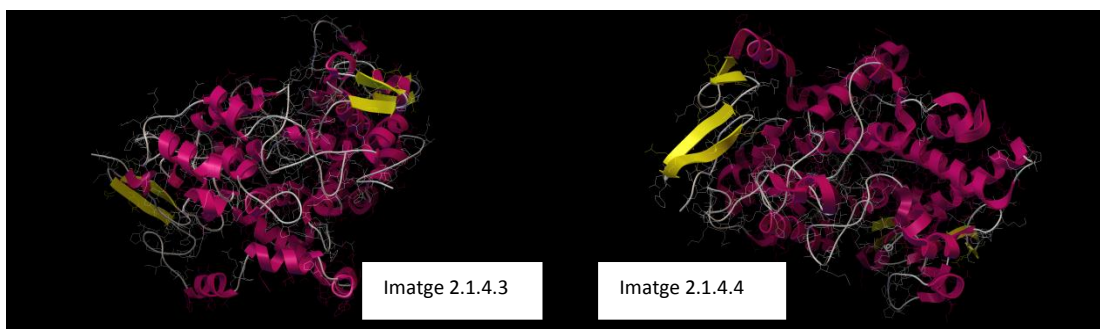


Aquestes són dues imatges preses amb el programa de modelització molecular que uso de les dues isoformes de la COX:



La Imatge 2.1.4.1 mostra la isoforma COX 1

La Imatge 2.1.4.2 mostra la isoforma COX 2



La Imatge 2.1.4.3 mostra l'estructura secundària de la isoforma COX 1

La Imatge 2.1.4.4 mostra l'estructura secundària de la isoforma COX 2

### 2.1.5 Inhibidors selectius

Certs AINE que tenen la finalitat d'acabar amb la sensació de dolor (inhibir la COX 2) produeixen forts efectes secundaris en inhibir la COX 1. És per aquesta raó que la ciència ha desenvolupat inhibidors selectius per la COX 2 que resulten més efectius i que provoquen menys efectes adversos. Són exemples d'inhibidors selectius de la COX 2 el Celecoxib, el Rofecoxib i l'Etoricoxib.

A causa d'aquesta diferenciació entre les dues isoformes, uso la COX 2 com a receptor de lligands en el meu estudi computacional perquè és la que està relacionada directament amb el dolor.

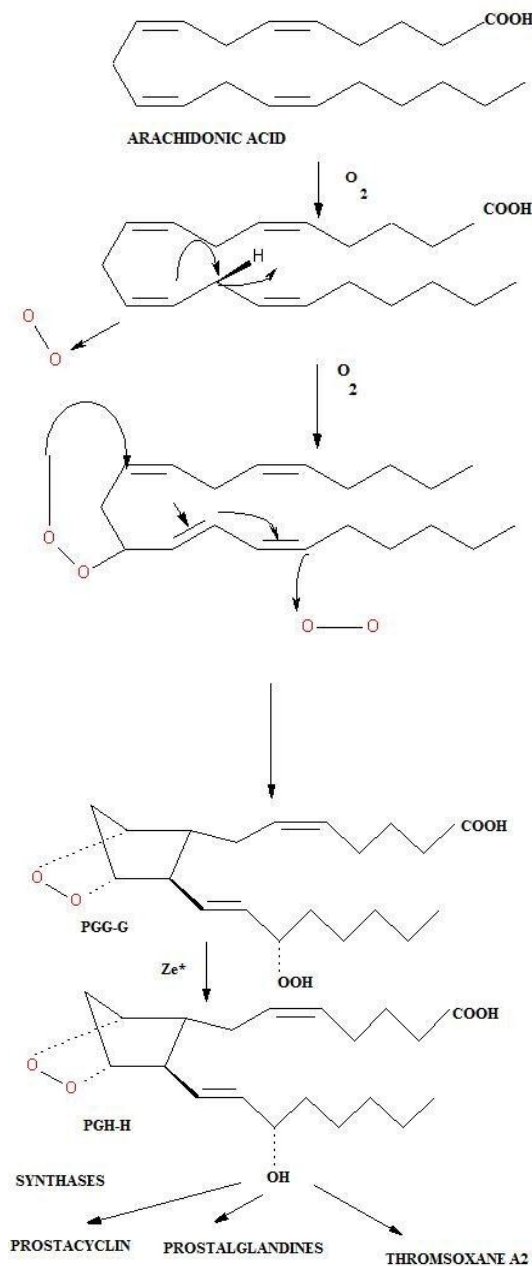


## 2.2. Estudi de medicaments existents

### 2.2.1 Diana biològica i substrat natural

L'àcid araquidònic (substrat natural) és alliberat dels fosfolípids de la membrana de la cèl·lula catalitzat per la fosfolipassa 2 i és captat en el centre actiu de la COX 2 (diana biològica), on es dona la via metabòlica de l'àcid araquidònic per a la síntesi de prostaglandinas i tromboxans.

A continuació mostro un esquema de les reaccions que catalitza la COX 2 sobre l'àcid araquidònic:



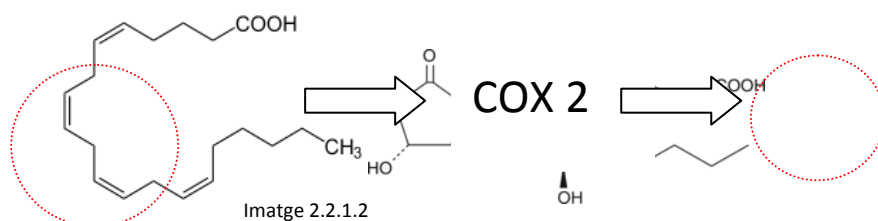
En la Imatge 2.1.1 s'observa la ruta cíclica de l'àcid araquidònic provocada per l'actuació de la COX2 té dos components catalítics:

- La conversió de l'àcid araquidònic en endoperòxid cíclic ( $PGG_2$ ) és realitzada per un enzim de la COX2. Es duu a terme introduint oxigen molecular formant així un ciclopentà.
- El producte ( $PGG_2$ ) de la conversió anterior és tractat per l'enzim peroxidasa formant-se el endoperòxid cíclic ( $PGH_2$ ).

Aquesta última ( $PGH_2$ ) és la precursora de les prostaglandines.

Imatge 2.2.1.1

En resum, l'acció de la COX2 provoca una torsió de la molècula d'àcid araquidònic formant el pentàgon cíclic en la molècula de les prostaglandines:



Imatge 2.2.1.2

Imatge 2.2.1.3

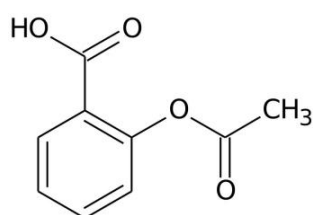
En la Imatge 2.1.2 es mostra l'estructura molecular de l'Àcid araquidònic

En la Imatge 2.1.3 es mostra l'estructura molecular de la Prostaglandina I1

## 2.2.2 Estudi de medicaments existents

Els medicaments que estudio en el meu treball es divideixen en dos tipus: AINEs i inhibidors selectius de COX 2. Els AINE que he escollit han estat l'Aspirina, el Ibuprofeno, el Paracetamol i el Naproxeno. Els inhibidors selectius han estat el Celecoxib, l'Etoricoxib i el Rofecoxib. A continuació dono una breu explicació de cadascun dels AINE i de cadascun dels inhibidors selectius. En total, set medicaments:

### 2.2.2.1 AINE

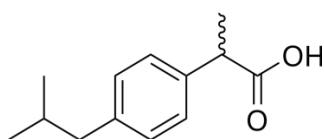


Imatge 2.2.2.1.1

#### **ASPIRINA**

PA: Àcid acetil-sal·licílic

Nom IUPAC: Àcid 2-(acetiloxi)-benzoic

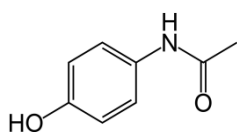


Imatge 2.2.2.1.2

#### **IBUPROFÈ**

PA: Ibuprofè

Nom IUPAC: Àcid (RS)-2-(4-isobutilfenil)propioníc

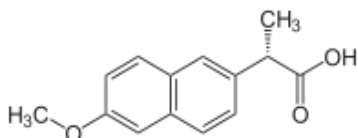


Imatge 2.2.2.1.3

**PARACETAMOL**

PA: Paracetamol

Nom IUPAC: N-(4-hidroxifenil)acetamida

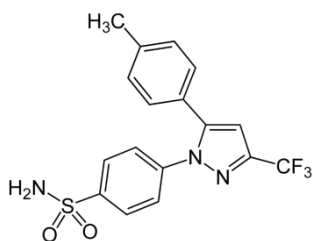


Imatge 2.2.2.1.4

**NAPROXÈ**

PA: Naproxè

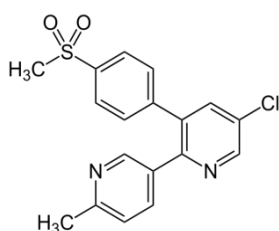
Nom IUPAC: Àcid (S)-2-(6-metoxi-naftil)propanoic

**2.2.2.2 Inhibidors selectius**

Imatge 2.2.2.2.1

**CELECOXIB**

PA: Celecoxib

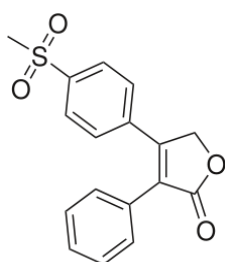
Nom IUPAC: 4-[5-(4-metilfenil)-3-(trifluorometil)pirazol-1-  
í]benzè sulfonamida

Imatge 2.2.2.2

**ETORICOXIB**

PA: Etoricoxib

Nom IUPAC: 5-clor-6'-metil-3-[4-(metilsulfonil)fenil]-2,3'-  
bipirimidina



Imatge 2.2.2.3

**ROFECOXIB**

PA: Rofecoxib

Nom IUPAC: 4-(4-metilsulfonilfenil)-3-fenil-5H-furan-2-ona

### 2.2.2.3 Semblances entre les geometries moleculars dels principis actius

Els quatre dels principis actius dels AINE que estudi tenen diversos punts en comú:

- Tots tenen grups aromàtics. El Paracetamol, l'Aspirina i el Ibuprofè tenen un. El Naproxè té dos.
- El Naproxè, l'Aspirina i el Ibuprofè tenen un grup àcid.
- L'Aspirina i el Paracetamol presenten una cetona cadascun.
- També contenen grups hidroxil- el Naproxè, l'Aspirina i el Paracetamol.

Els tres inhibidors selectius de la COX 2 també tenen similituds:

- Tots tenen tres grups aromàtics.
- Tots tenen el grup  $O = S = O$ .

Aquestes semblances em seran útils per establir farmacòfors i fer provatures de *Docking* amb ells.

## **2.3 Estudi per Docking de la unió dels medicaments a la COX 2 i l'anàlisi de les interaccions més importants**

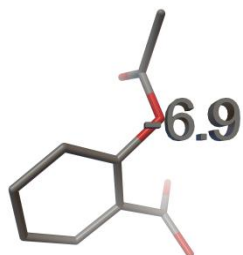
De l'estudi per Docking realitzat en tots els medicaments sobre la COX 2 obtinc una energia d'afinitat del fàrmac en la unió amb el lloc actiu de l'enzim<sup>25</sup>. Aquesta energia d'afinitat depèn de la quantitat d'interaccions del lligand amb el receptor. De més a menys efectives, les interaccions possibles són: ponts d'hidrogen (representada amb línies de punts verds en les imatges), interaccions  $\pi - \pi$ , interaccions  $\pi - T$  i forces de Van der Waals o interaccions hidrofòbiques.

---

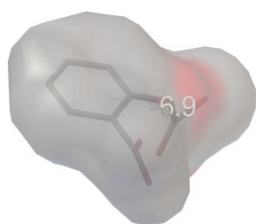
<sup>25</sup> El lligand interacciona amb els aminoàcids del centre catalític de la proteïna. En l'annex 2 es mostra el llistat d'aminoàcids que han interaccionat amb els lligands usats.

## 2.3.1 AINEs

### 2.3.1.1 Aspirina



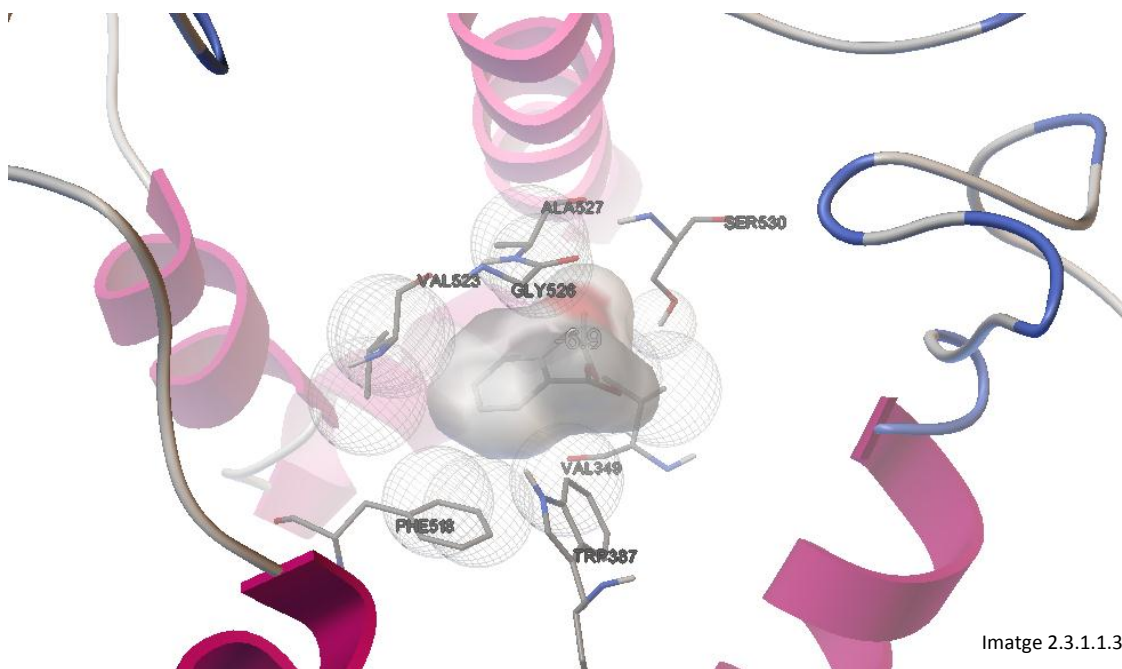
Imatge 2.3.1.1.1



Imatge 2.3.1.1.2

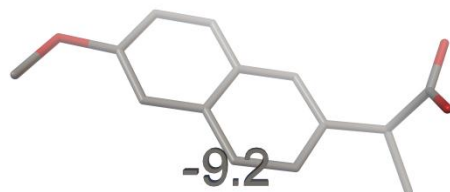
L'àcid acetil sal·licílic té una energia d'afinitat amb la COX2 de -6.9 kcal/mol . Presenta un sol tipus d'interaccions amb la COX 2: 25 forces de Van der Waals o interaccions hidrofòbiques. Les interaccions de l'aspirina amb els diferents aminoàcids són les següents:

- Dos amb l'ALA527.
- Tres amb la GLY526.
- Dos amb la LEU352.
- Dos amb la LEU531.
- Tres amb la PHE518.



Imatge 2.3.1.1.3

### 2.3.1.2 Naproxè

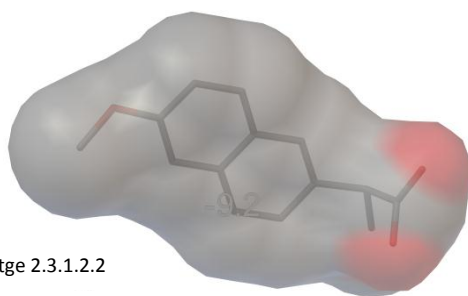


Imatge 2.3.1.2.1

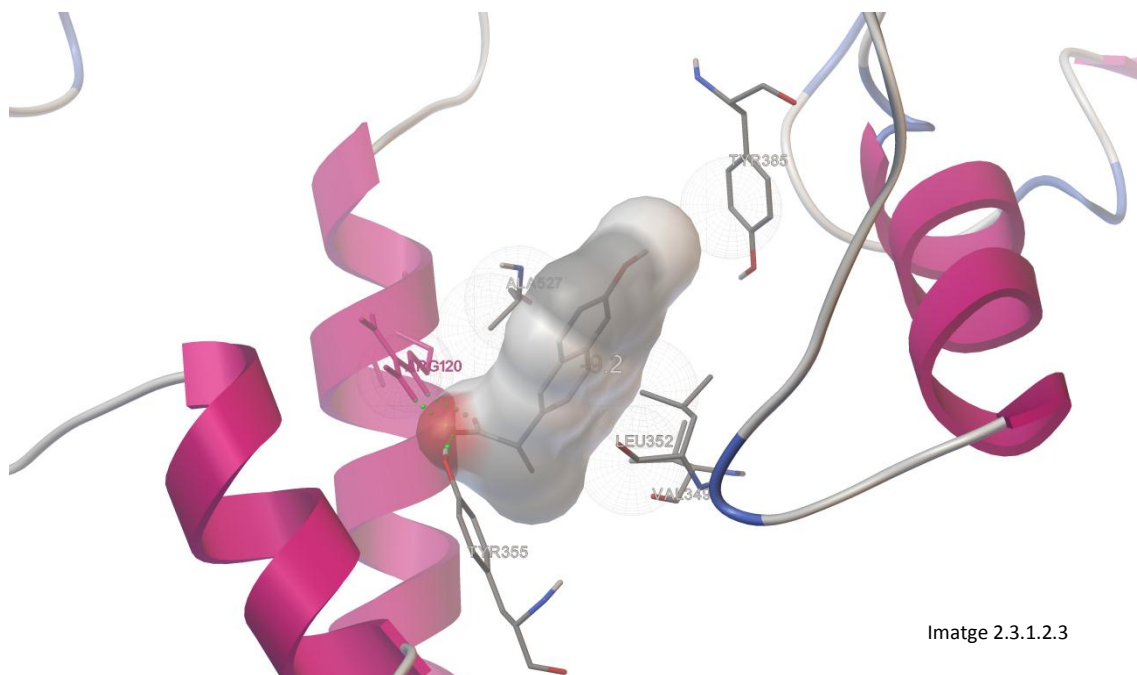
El Naproxè presenta una millor energia d'afinitat que la de l'àcid acetil sal·licílic ( $-9.2$  kcal/mol  $<$   $-6.9$  kcal/mol) perquè a diferència de l'Aspirina, el Naproxè presenta tres ponts d'hidrogen amb la COX 2 a més de forces de Van der Waals (22 interaccions hidrofòbiques).

Les interaccions hidrofòbiques del Naproxè amb els aminoàcids del centre actiu de l'enzim són les següents:

- Vuit amb l'ALA527.
- Una amb la GLY526.
- Tres amb la LEU352.
- Una amb la TRP387.

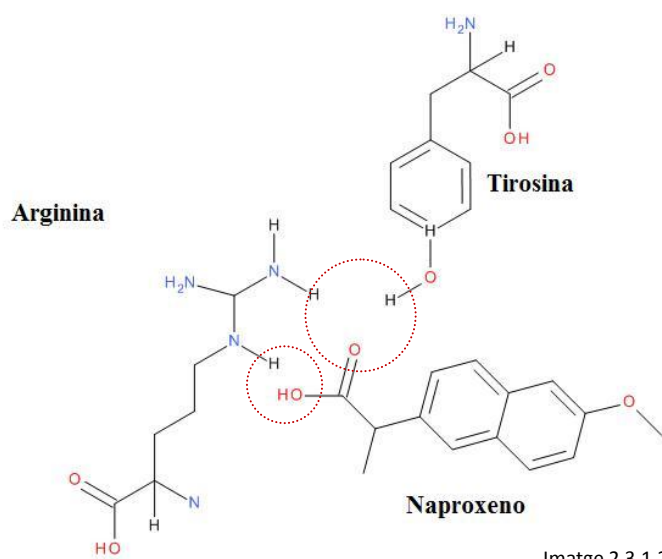
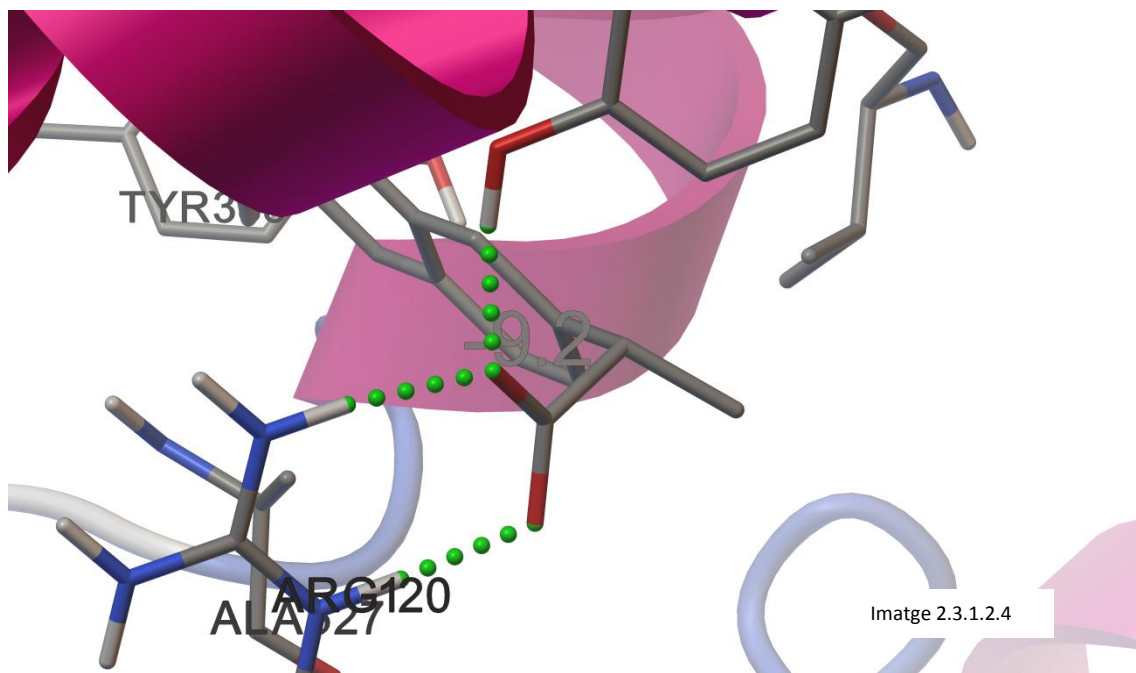


Imatge 2.3.1.2.2



Imatge 2.3.1.2.3

Els tres ponts d'hidrogen del Naproxè amb els aminoàcids del centre actiu de la COX2 els facilita el grup carboxil del Naproxè. Dos dels esmentats ponts d'hidrogen es donen amb l'ARG120 i el restant amb la TYR355. Es mostren en la Imatge 2.3.1.2.4:

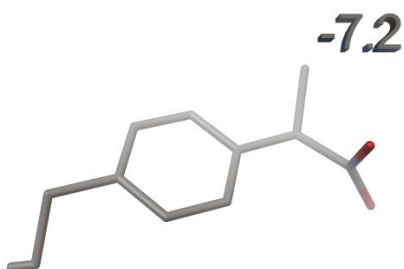




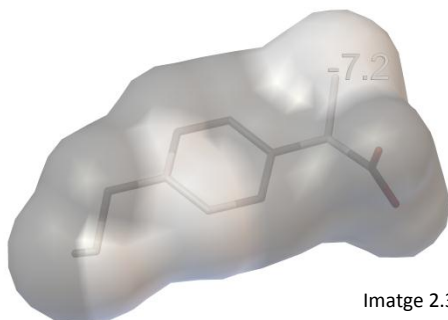
### 2.3.1.3 Ibuprofè

El ibuprofè té una energia d'afinitat al centre actiu de la COX 2 de -7.2 kcal/mol. Tan solament presenta interaccions hidrofòbiques amb els aminoàcids de l'enzim. Els seus 19 forces de Van der Waals són:

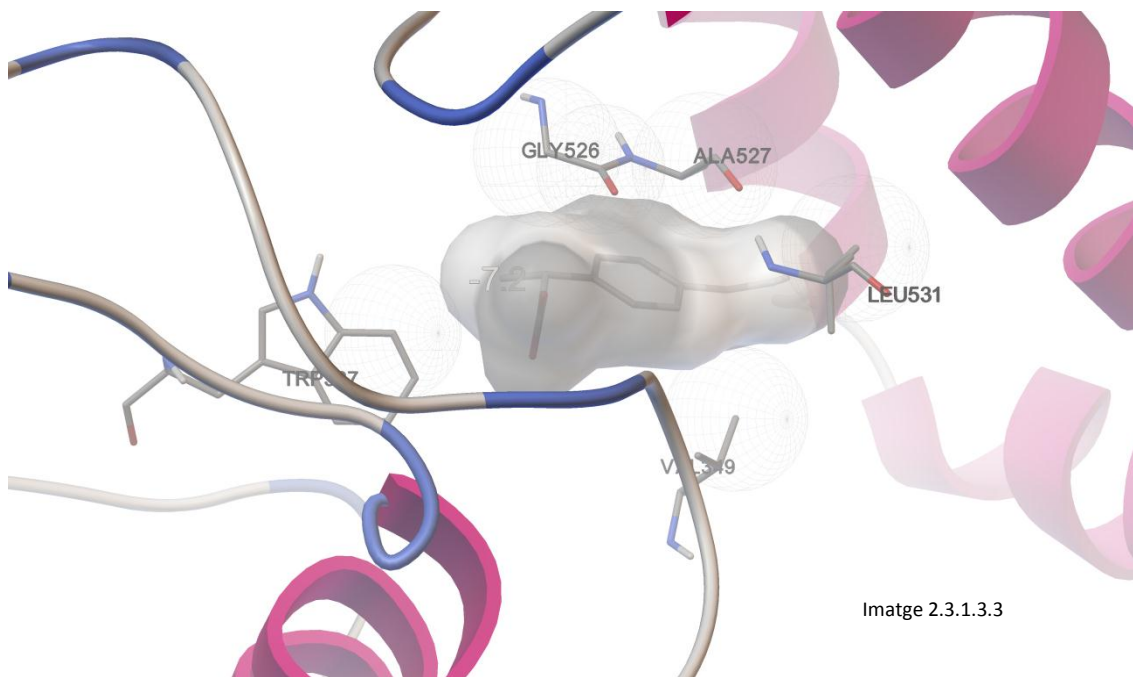
- Tres amb l'ALA527.
- Tres amb la GLY526.
- Tres amb la LEU352.
- Dos amb la LEU351.
- Un amb la PHE518.



Imatge 2.3.1.3.1

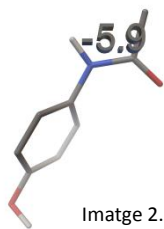


Imatge 2.3.1.3.2



Imatge 2.3.1.3.3

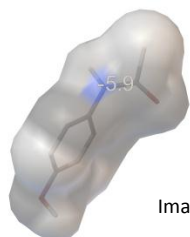
### 2.3.1.4 Paracetamol



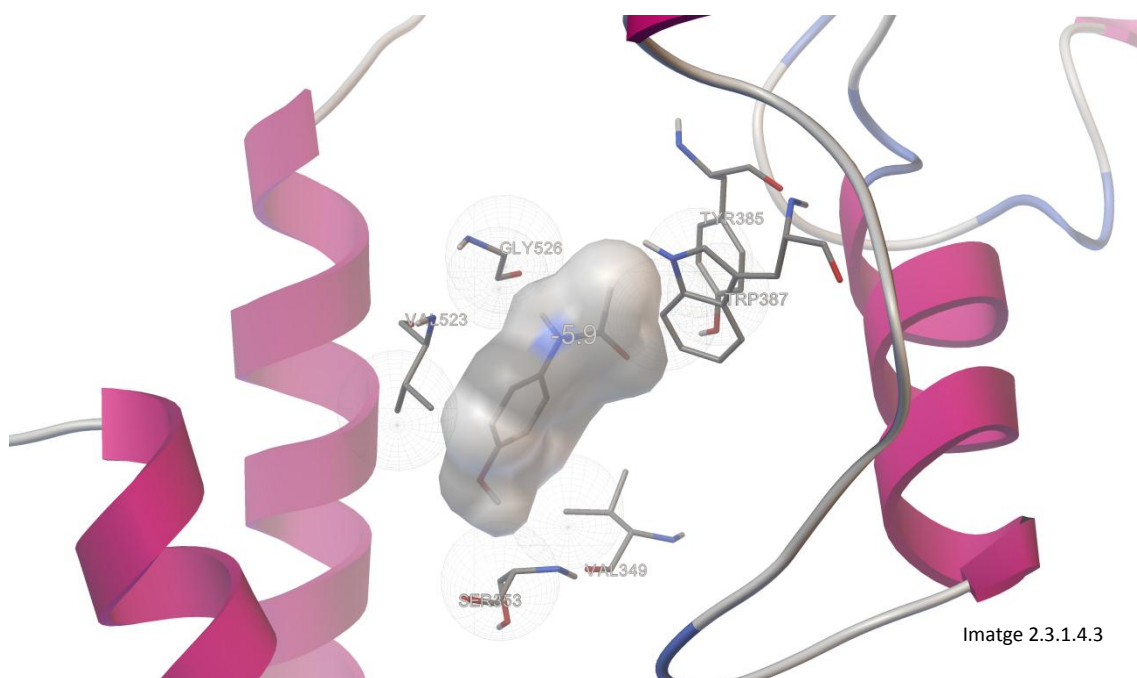
Imatge 2.3.1.4.1

El paracetamol tan solament presenta interaccions hidrofòbiques amb els aminoàcids de l'enzim. Té una energia d'afinitat al centre actiu de la COX 2 de -5.9 kcal/mol. Les seves interaccions amb la proteïna són les següents:

- Disset amb la LEU352.
- Una amb la PHE198.
- Una amb la TRP387.



Imatge 2.3.1.4.2



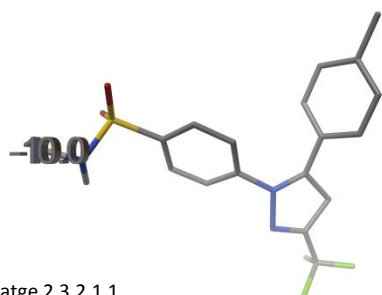
Imatge 2.3.1.4.3

## 2.3.2 Inhibidors selectius

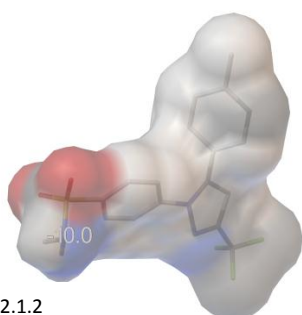
### 2.3.2.1 Celecoxib

El celecoxib és el medicament de millor afinitat en aquest apartat del treball d'estudiar els medicaments ja existents. La seva energia d'afinitat és -10 kcal/mol. Al no presentar cap pont d'hidrogen, aquesta forta afinitat és deguda al gran nombre d'interaccions hidrofòbiques amb el centre actiu de la COX 2, en total 43:

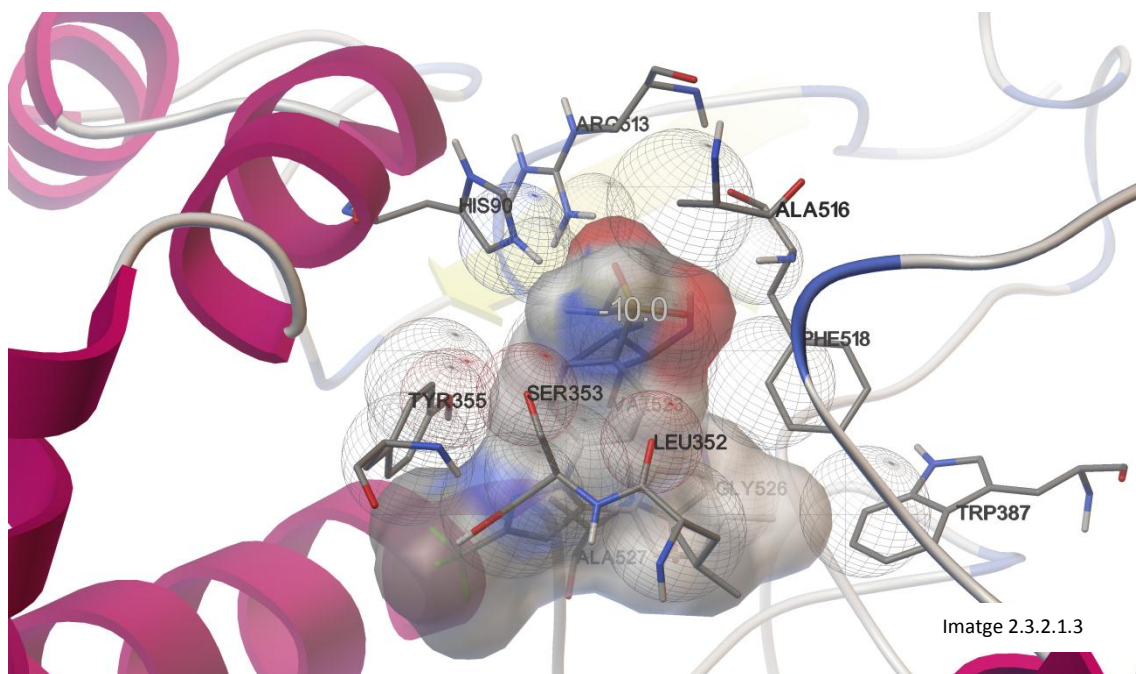
- Dos amb l'ALA527.
- Cinc amb la GLY526.
- Una amb la HIS90.
- Vuit amb la LEU352.
- Una amb la LEU384.
- Una amb la PHE518.



Imatge 2.3.2.1.1



Imatge 2.3.2.1.2

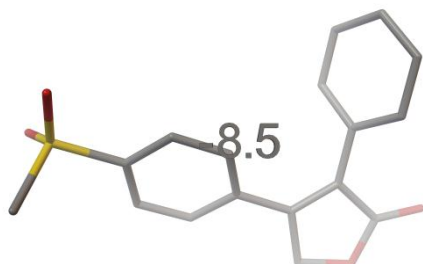


Imatge 2.3.2.1.3

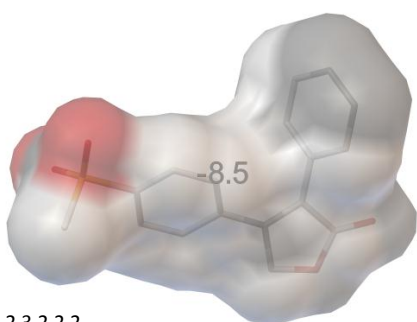
### 2.3.2.2 Rofecoxib

El Rofecoxib té una energia d'afinitat de -8.5 kcal/mol amb la COX 2 (menor que la del Celecoxib). Tota la seva energia d'afinitat amb l'enzim és provocada solament per interaccions hidrofòbiques. Són les següents:

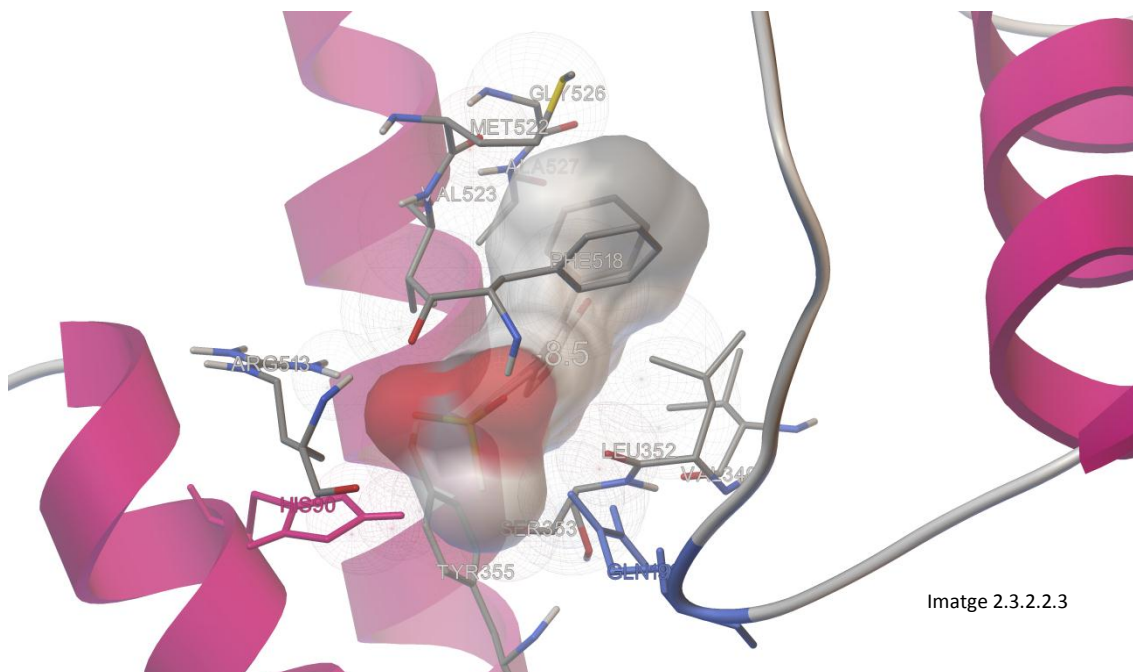
- Una amb l'ALA516.
- Una amb l'ALA527.
- Una amb la GLN192.
- Tres amb la GLY526.
- Deu amb la LEU352.
- Una amb la MET522.
- Una amb la PHE518.
- Vuit amb la SER353.



Imatge 2.3.2.2.1



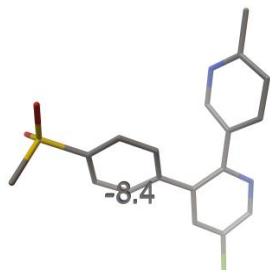
Imatge 2.3.2.2.2



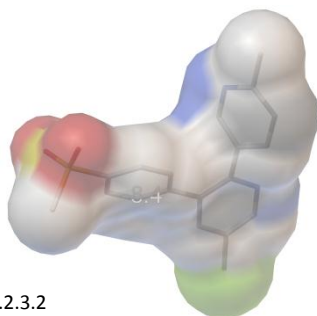
Imatge 2.3.2.2.3

### 2.3.2.3 Etoricoxib

El Etoricoxib és l'inhibidor selectiu que estudi de pitjor energia d'afinitat (-8.4 kcal/mol) amb el centre actiu de la COX2. Presenta 51 interaccions hidrofòbiques amb l'enzim:

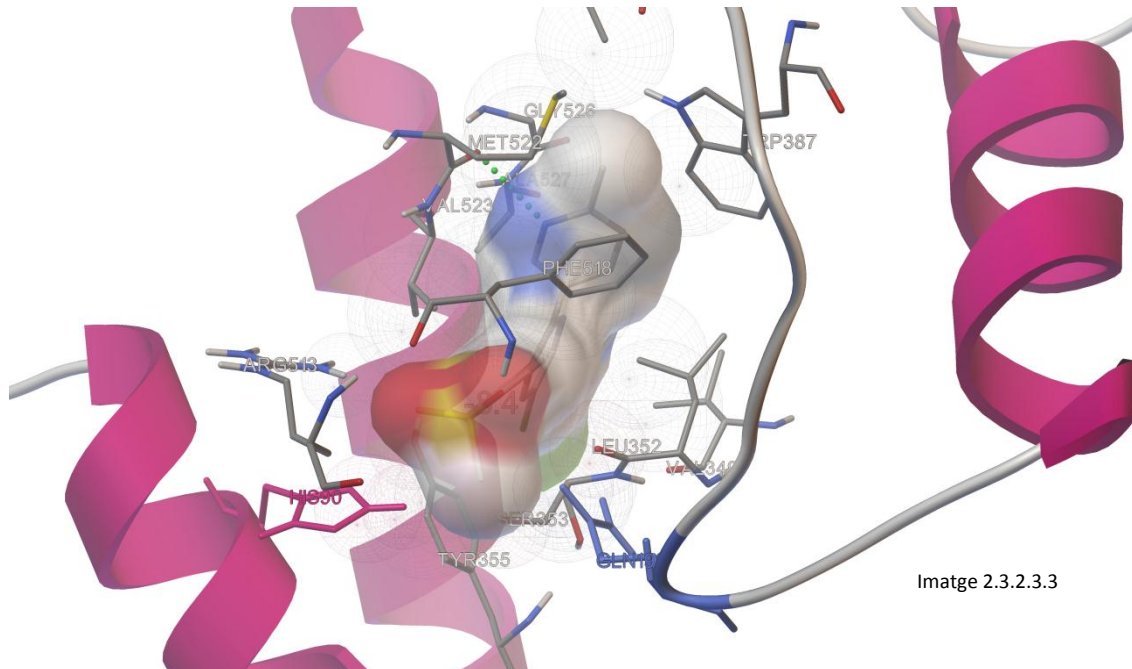


Imatge 2.3.2.3.1



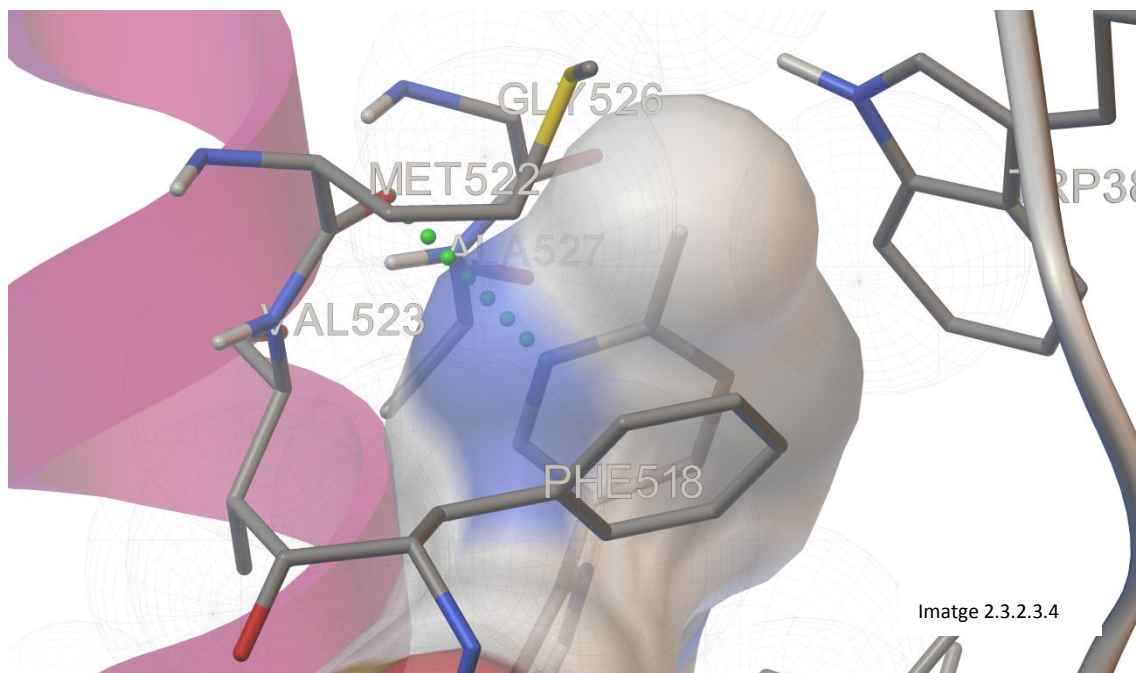
Imatge 2.3.2.3.2

- Una amb l'ALA516.
- Dos amb l'ALA 527.
- Una amb la GLN192.
- Una amb la GLY526.
- Deu amb la LEU352.
- Una amb la LEU359.
- Una amb la LEU 384.
- Una amb la MET522.
- Una amb la PHE518.



Imatge 2.3.2.3.3

A més, aquest fàrmac és especialment interessant perquè és l'únic inhibidor selectiu de la COX2 que presenta un pont d'hidrogen amb la proteïna mostrat en la Imatge 2.3.2.3.4:

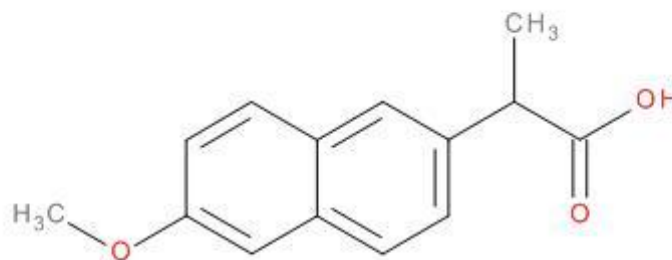


## 2.3. Millores de medicaments existents

### 2.3.1. AINE: Naproxè

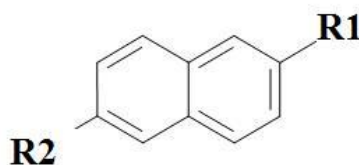
#### 2.3.1.1 Millores per substitució de radicals

La geometria molecular del principi actiu Naproxè és la següent:



Imatge 2.3.1.1.1

Per tant, hi ha dues posicions on són possibles canvis que millorin la seva afinitat amb la COX2, els següents:



Imatge 2.3.1.1.2

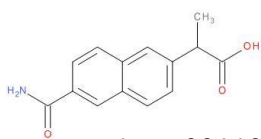
He fet els canvis més importants en aquests R1 i R2. El motiu pel qual no distingeixo entre els dos grups aromàtics del Naproxè és perquè cap dels canvis provats ha estat efectiu, com mostraré més endavant.

Els radicals que substitueixen en les posicions de R1 i R2 van ser:  $-CH_3$ ,  $-CHO$ ,  $-Cl$ ,  $-CN$ ,  $-AMBH_2$ ,  $-CONHCH_3$ ,  $-COOH$ ,  $-F$ ,  $-H$ ,  $-N(CH_3)_2$ ,  $-NH_2$ ,  $-NHCH_3$ ,  $O(CH_3)_2$ ,  $-OCH_3$ ,  $-OH$ . En llençar els seus pertinents dockings amb la COX2 les afinitats resultat van ser les que es mostren en la següent taula:

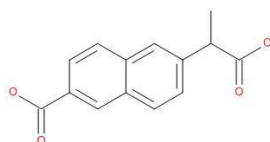
RADICALES	AFINIDAD CON LA COX2 DE LA NUEVA MOLÉCULA DE NAPROXENO (kcal/mol)														
	$CH_3$	CHO	Cl	CN	CON $H_2$	CONH $CH_3$	COOH	F	H	$N(CH_3)_2$	$NH_2$	NH $CH_3$	$O(CH_3)_2$	$OCH_3$	OH
R1	-7,7	-7,5	-7,6	-7,6	-7,9	-8,0	-7,9	-7,7	-7,1	-7,7	-7,1	-7,3	-8,1	-7,3	-7,2
R2	-9,2	-9,1	-9,0	-9,2	-9,3	-9,1	-9,3	-9,0	-8,4	-9,3	-8,7	-9,1	-9,1	-9,1	-8,7

Vaig obtenir dues molècules que igualaven en afinitat al Naproxè (de fons groc de fons verd en la taula anterior) i tres que superaven per una desena en afinitat al Naproxè (de fons verd en la taula anterior).

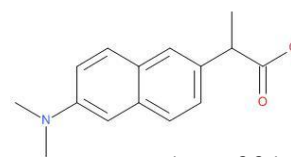
Aquestes tres últimes molècules són les següents:



Imatge 2.3.1.1.3



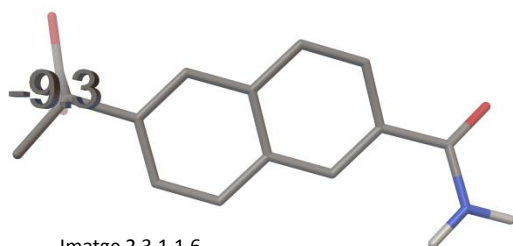
Imatge 2.3.1.1.4



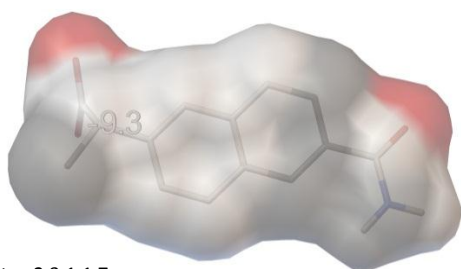
Imatge 2.3.1.1.5

En aquesta monografia desenvolupo només la molècula de la Imatge 3.1.3. Faig el seu estudi computacional detallat a la pàgina següent.





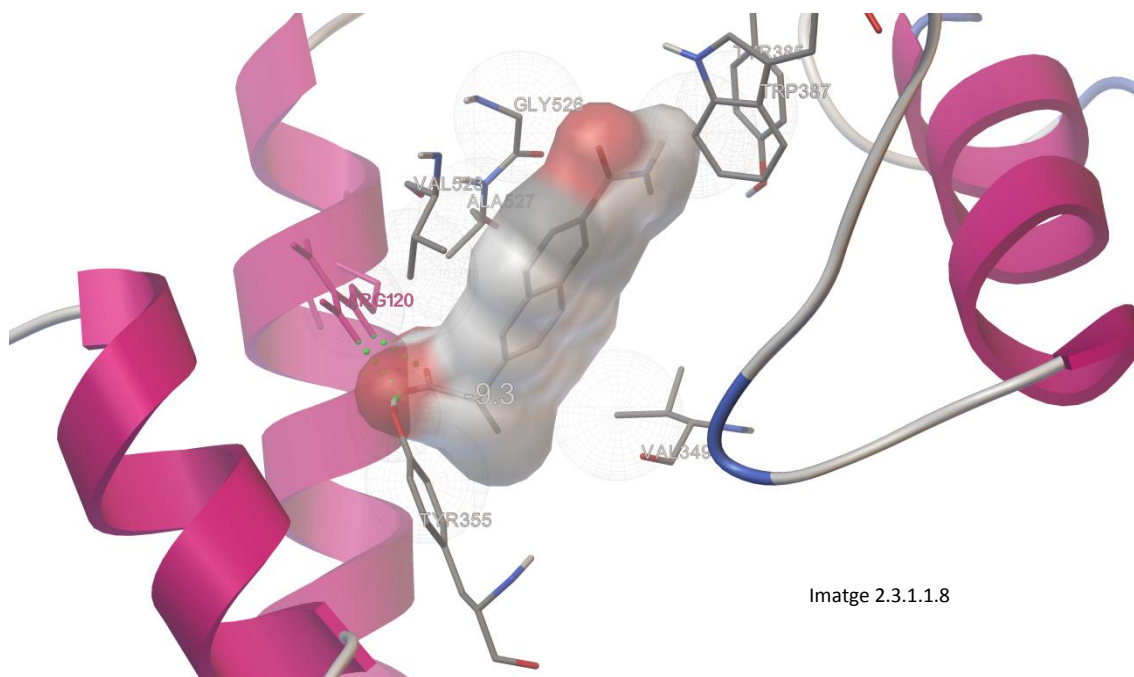
Imatge 2.3.1.1.6



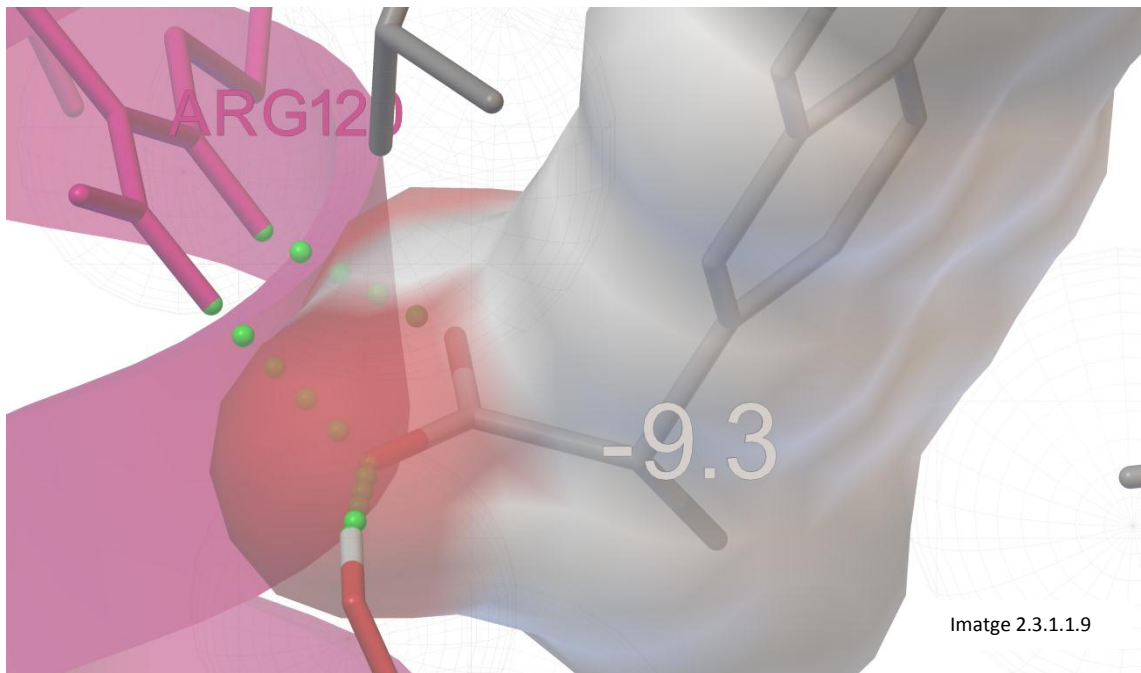
Imatge 2.3.1.1.7

La molècula en qüestió té una energia d'afinitat amb la COX2 de -9.3 kcal/mol causada pels tres ponts d'hidrogen i les quantioses interaccions hidrofòbiques que forma amb ella, llistades a continuació:

- Tretze amb l'ALA202.
- Vuit amb la LEU352.
- Una amb la PHE198.
- Dos amb la PHE518.
- Deu amb la PHE205.
- Dos amb la PHE201.



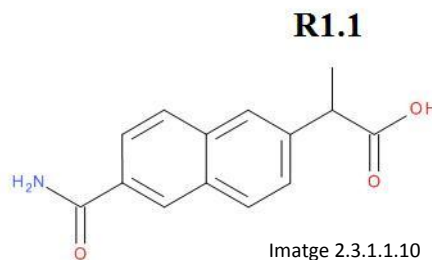
Imatge 2.3.1.1.8



Imatge 2.3.1.1.9

En aquesta Imatge (2.3.1.1.9) es veuen clarament els tres ponts d'hidrogen reminiscents de la molècula de partida (Naproxè) i ja han estat comentats en l'apartat 2.3 del treball.

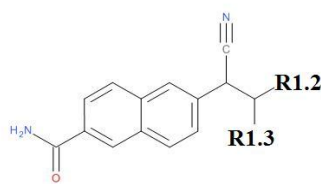
Sobre la base de l'estructura d'aquesta molècula, prossegueixo les meves millores llençant dockings amb els radicals abans esmentats col·locats en la posició R1.1



Imatge 2.3.1.1.10

		AFINIDAD CON LA COX2 DE LA NUEVA MOLÉCULA DE NAPROXENO (kcal/mol)													
RADICALES	<chem>C#N</chem>	<chem>CHO</chem>	<chem>Cl</chem>	<chem>CN</chem>	<chem>CONH2</chem>	<chem>CONHCH3</chem>	<chem>COOH</chem>	<chem>F</chem>	<chem>H</chem>	<chem>N(CH3)2</chem>	<chem>NO2</chem>	<chem>NHCH3</chem>	<chem>OCH3</chem>	<chem>OC(=O)CH3</chem>	<chem>OH</chem>
R1,1	-9,3	-8,8	-9,1	-9,4	-8,8	-9,0	-9	-9	-8,6	-7,5	-8,7	-8,4	-8,1	-8,5	-8,6

Una de les molècules millora l'afinitat del Naproxè amb la proteïna (de fons groc) mentre que tan sols una de les molècules prova m'és útil, doncs iguala l'afinitat de la molècula de partida amb la COX2 (-9.4 kcal/mol). Sobre la base de la seva estructura, prossegueixo amb els canvis, aquesta vegada substituint els diferents radicals en les posicionis R1.2 i R1.3:

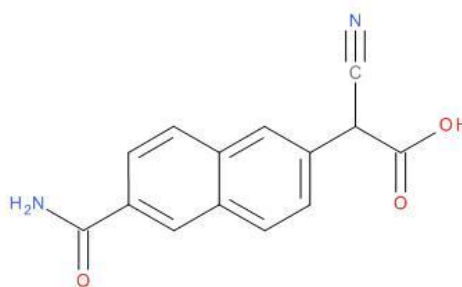


Imatge 2.3.1.1.11

Les afinitats resultants del llançament dels dockings de les molècules de prova es mostren en la següent taula:

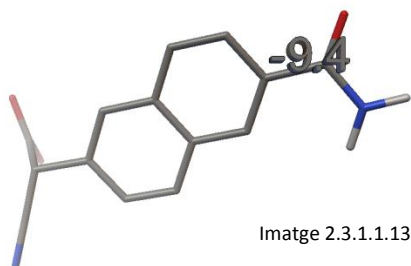
	AFINIDAD CON LA COX2 DE LA NUEVA MOLÉCULA DE NAPROXENO (kcal/mol)														
RADICALES	CH <sub>3</sub>	CHO	Cl	CN	CON H <sub>2</sub>	CONH CH <sub>3</sub>	COOH	F	H	N (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	NE <sub>2</sub>	NH CH <sub>3</sub>	O (CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	O CH <sub>3</sub>	OH
R1,2	-8,9	-8,6	-9	-8,9	-8,5	-8,7	-8,5	-9,2	-8,8	-8,5	-9	-8,5	-8,6	-8,4	-9,4
R1,3	-8,7	-9,4	-8,6	-8,4	-8,2	-7,8	-8,3	-8,8	-8,5	-7,8	-8,2	-8	-8,3	-8,3	-8,3

En gris de fons recalco les dues molècules de millor afinitat amb la COX2 que resulten ser les mateixes que la molècula de partida. Per tant, la molècula de millor afinitat en finalitzar tot aquest procés de provatures és la següent:

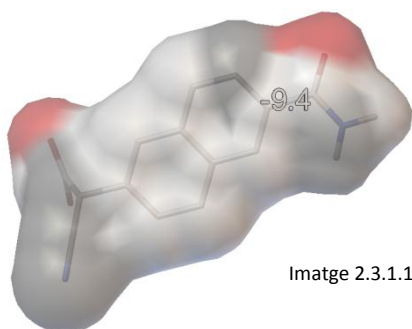


Imatge 2.3.1.1.12

A la pàgina següent desenvolupament el seu estudi computacional detallat.



Imatge 2.3.1.1.13

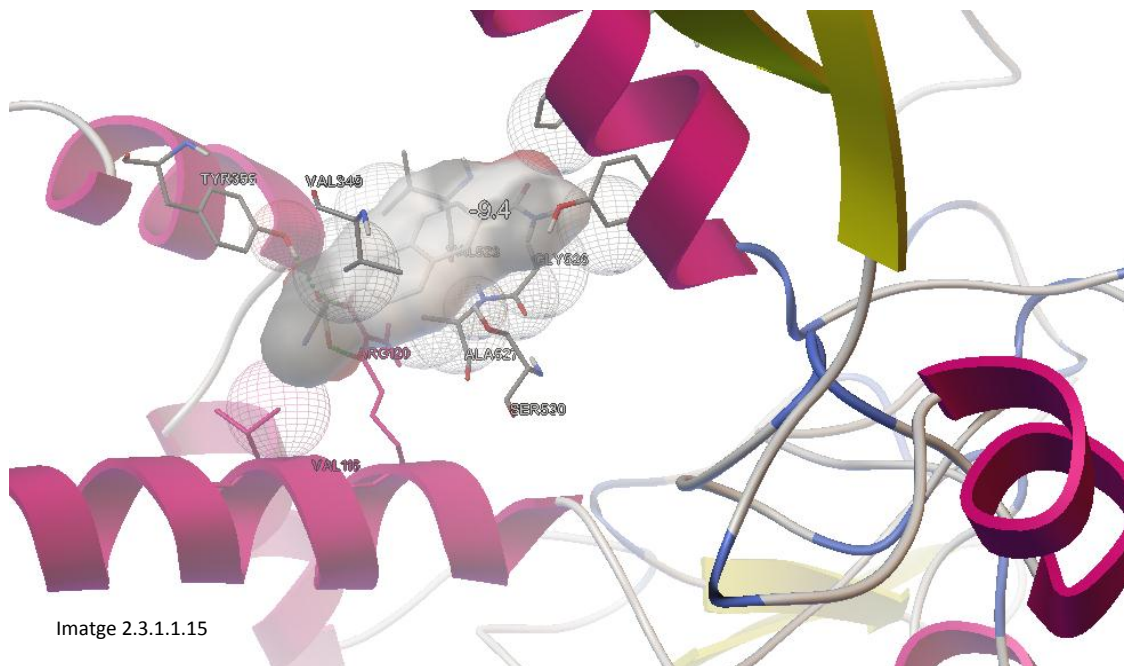


Imatge 2.3.1.1.14

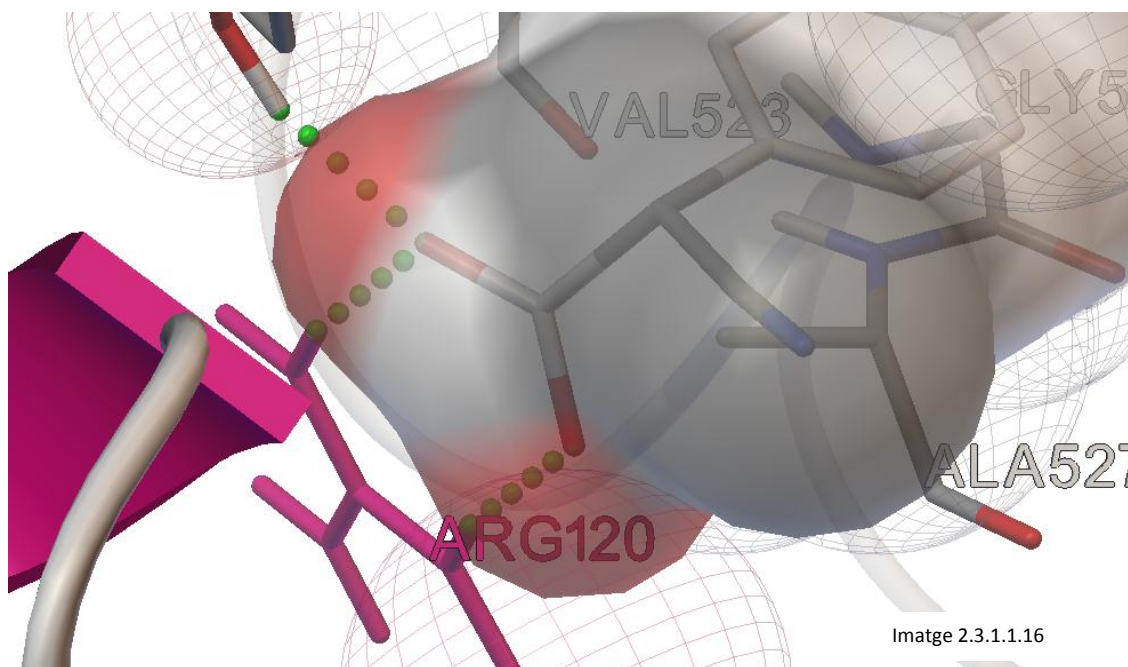
De nou, l'afinitat de  $-9.4$  kcal/mol de la molècula en qüestió amb la COX2 són degudes als tres ponts d'hidrogen i a les quantioses interaccions hidrofòbiques que forma amb ella, llistades a continuació:

- Dos amb l'ALA527.
- Una amb la GLU524.
- Catorze amb la GLY526.
- Un amb la LEU384.
- Dotze amb la LEU352.

Desamb la MET522



Imatge 2.3.1.1.15

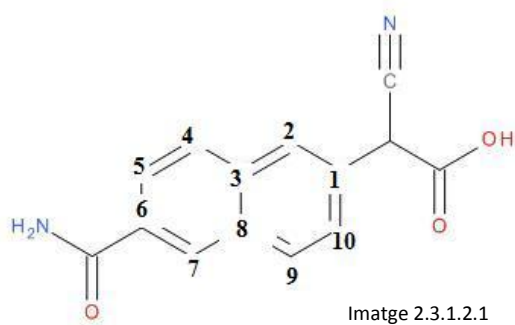


La molècula en qüestió conserva els ponts d'hidrogen que el Naproxè ja formava amb la proteïna comentats en l'apartat 2.2.3, per la qual cosa en aquest aspecte no hi ha millora resultant.

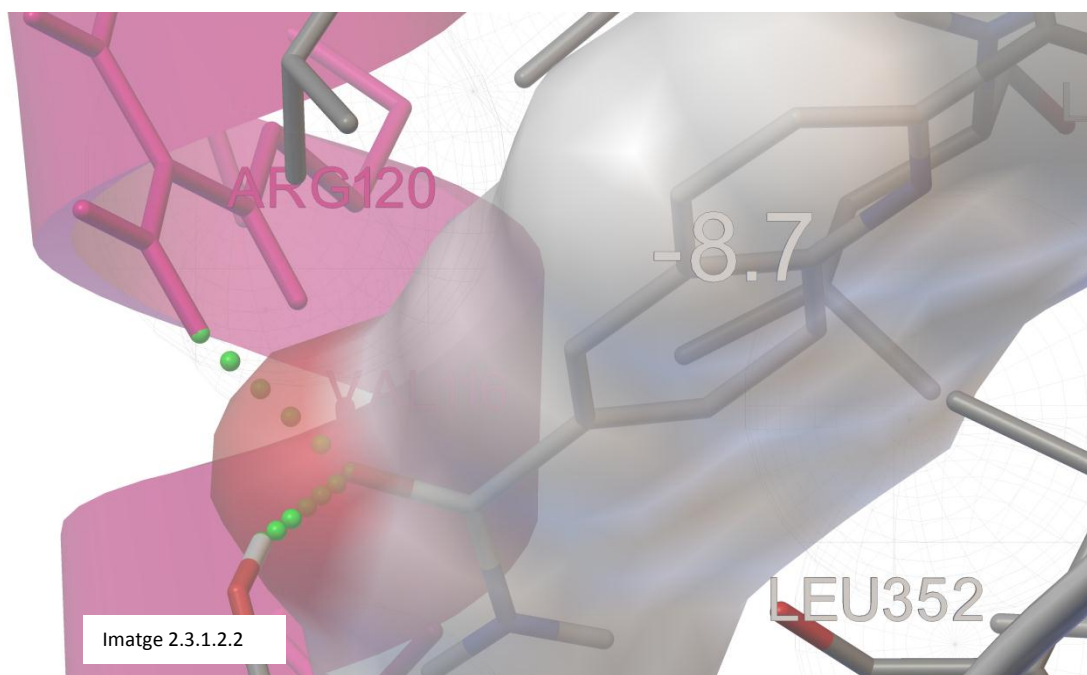
### **2.3.1.2 Millores per substitució de carbonis per nitrògens en els grups aromàtics**

Els canvis en els grups aromàtics de l'última molècula esmentada han consistit a canviar carbonis dels anells aromàtics per nitrògens amb la intenció d'aconseguir nous ponts d'hidrogen o millors interaccions electrostàtiques amb la proteïna. He provat aquestes substitucions en les deu posicions possibles en els anells, però cap ha obtingut un resultat útil com es mostra en la següent taula:

POSICIÓN	AFINIDAD (kcal/mol)
1	-8,3
2	-8,7
3	-8,0
4	-8,6
5	-8,5
6	-8,6
7	-8,6
8	-8,3
9	-8,5
10	-8,6



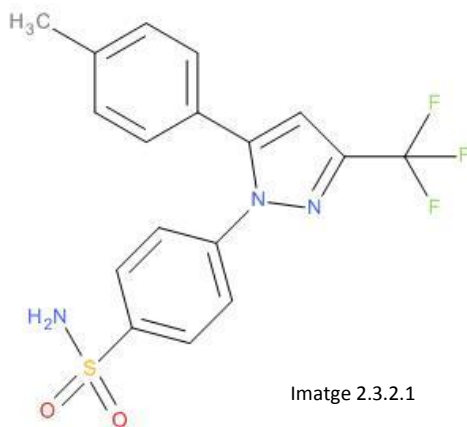
No aprofundeixo en l'estudi computacional complet de cap de les molècules prova, però sí incloc una imatge amb la intenció de mostrar que l'objectiu marcat d'aconseguir nous ponts d'hidrogen no s'ha complert:



Els canvis aromàtics en aquesta molècula no solament empitjoren l'afinitat amb la COX2, sinó que provoquen la pèrdua d'un pont d'hidrogen amb ella.

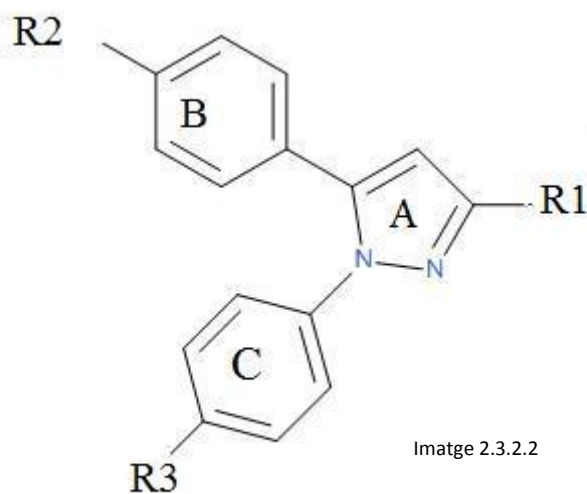
### 2.3.2. Inhibidor selectiu: celecoxib

La geometria molecular del principi actiu celecoxib és la següent:



Imatge 2.3.2.1

Les possibles posicions aptes per a algun canvi en la molècula són:



Imatge 2.3.2.2

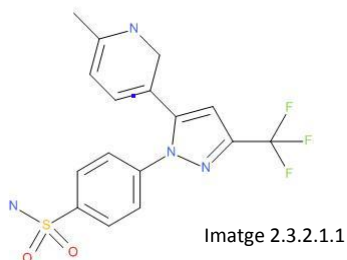
Els canvis importants que he provat han estat els grups aromàtics A i B i en els radicals -R1 i -R2.

### 2.3.2.1 Millores per substitució en els grups aromàtics

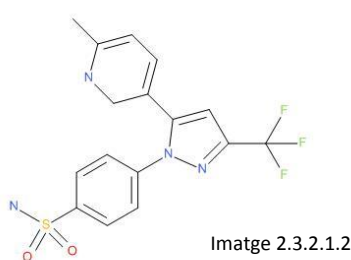
El primer canvi que vaig proposar va ser afegir un grup NH en el grup aromàtic B del celecoxib amb la finalitat de provocar un pont d'hidrogen amb algun aminoàcid de la proteïna imitant així a un dels inhibidors selectius estudiats prèviament, el etorixicib. Aquest principi actiu s'uneix en part a la proteïna gràcies al pont d'hidrogen que el nitrogen del seu grup aromàtic B li proporciona, com he mostrat en la part anterior del treball (2.3.2 Etoricoxib)

Voltejant el nitrogen en quatre posicions diferents del grup aromàtic pertinent, les molècules resultants van ser les següents:

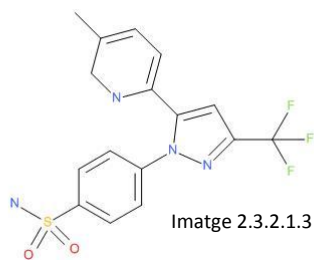
Prova 1:



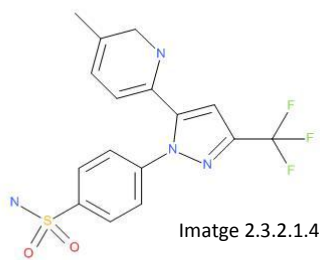
Prova 2:



Prova 3:



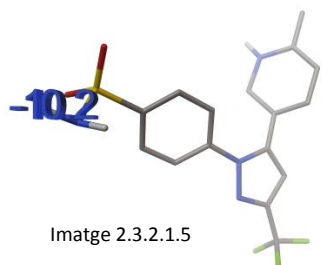
Prova 4:



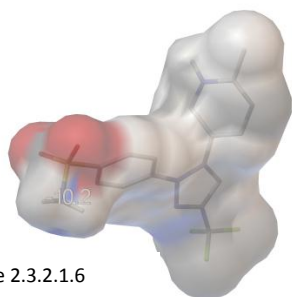
En llençar els dockings de la Prova 1, la 2, la 3 i la 4, les seves afinitats van ser -9.8, -10.2, -9.7, i -10.0 kcal/mol respectivament.

Per tant, amb la molècula de la Prova 2 vaig millorar dues desenes l'afinitat del celecoxib amb la COX2. Mostro a la pàgina següent l'estudi computacional detallat de la Prova 2 amb la COX2.





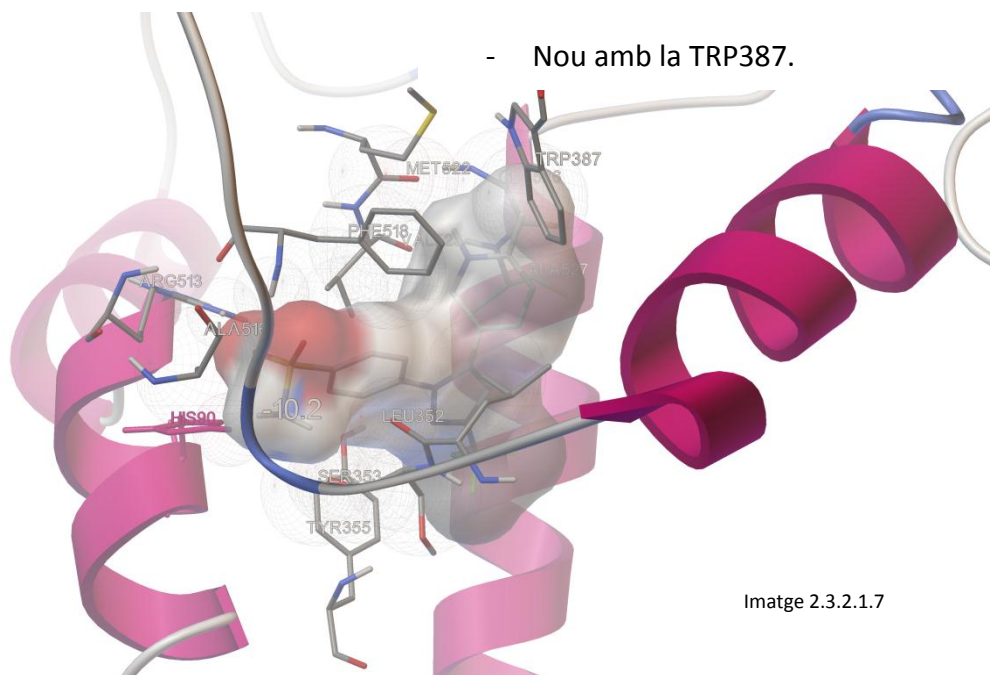
Imatge 2.3.2.1.5



Imatge 2.3.2.1.6

La molècula en qüestió presenta una energia d'afinitat de -10.2 kcal/mol amb la COX2. Tota aquesta energia és causada per interaccions hidrofòbiques o de Van der Waals amb diferents aminoàcids de la proteïna, llistats a continuació:

- Cinc amb l'ALA527.
- Set amb la GLY526.
- Una amb la LEU384.
- Dinou amb la LEU525.
- Dos amb la MET522.
- Sis amb la SER353.
- Nou amb la TRP387.

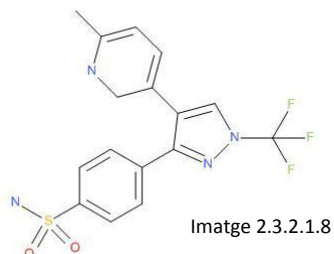


Imatge 2.3.2.1.7

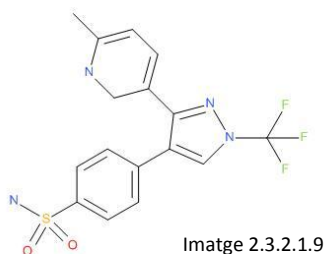
Àdhuc havent millorat l'afinitat, no havia complert l'objectiu d'aconseguir un pont d'hidrogen amb algun aminoàcid de la COX2 afegint el nitrogen al grup aromàtic B.

Partint de la molècula de la Prova 2 d'afinitat  $-10.2$  kcal/mol amb la COX2, el segon canvi que vaig fer va ser en el grup aromàtic A. Vaig pensar que potser variaria de manera favorable l'afinitat del compost amb la proteïna si el subgrup N-N es trobava en alguna posició diferent.

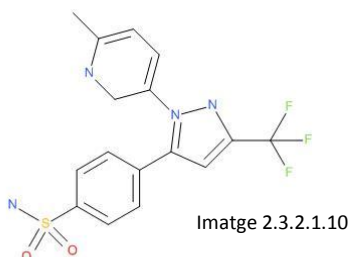
Prova 2.1:



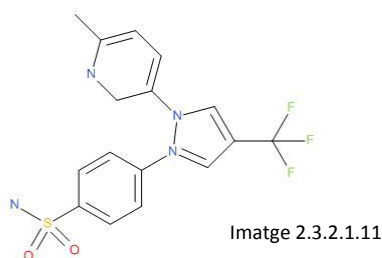
Prova 2.2:



Prova 2.3:

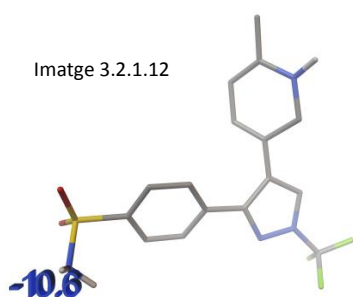


Prova 2.4:



En realitzar els dockings de les Proves 2.1, 2.2, 2.3 i 2.4 amb la COX2, les afinitats resultants van ser de  $-10.6$ ,  $-10.5$ ,  $-10.0$  i  $-9.5$  kcal/mol respectivament.

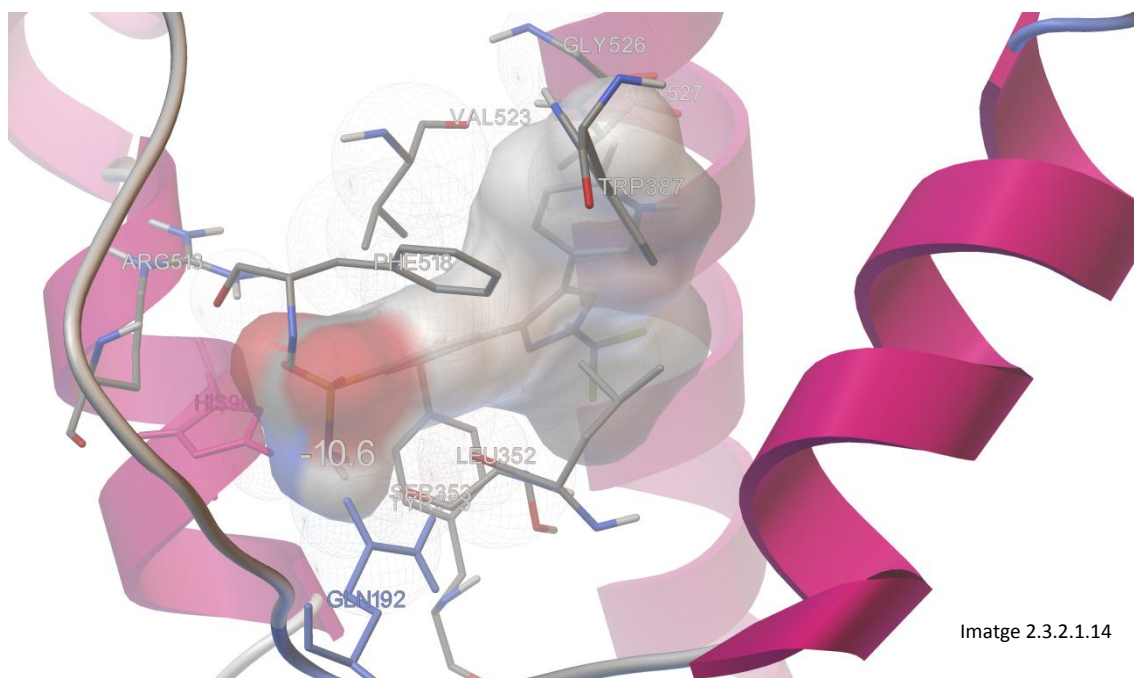
Per tant, de nou hi havia millorat l'afinitat de la molècula Celecoxib amb la COX2. Aquesta vegada, amb la molècula de la Prova 2.1 havia millorat sis desenes de Kcal/mol respecte la molècula inicial. A la pàgina següent mostro el respectiu estudi computacional detallat.



Imatge 3.2.1.13

La molècula de la Imatge 3.2.1.12 té una energia d'afinitat de  $-10.6$  kcal/mol amb la COX2. La causa d'aquesta energia són les interaccions hidrofòbiques de la molècula en qüestió amb els diferents aminoàcids de la proteïna, els següents:

- Tres amb la GLN350.
- Vint-i-vuit amb la HIS351.
- Nou amb la ILE517.
- Cinquanta-ú amb la LEU352.



Imatge 2.3.2.1.14

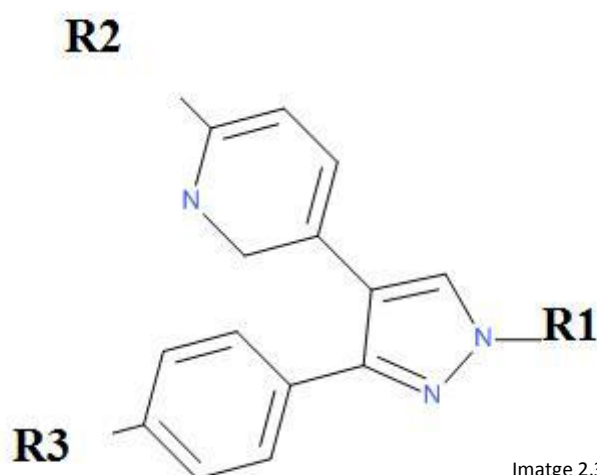
### 2.3.2.2 Millores per substitució en els radicals

Finalitzats els canvis dels grups aromàtics del celecoxib<sup>26</sup>, dono pas a l'explicació de les millores a partir dels radicals.

Els radicals que vaig substituir pels que el celecoxib ja tenia per notar alguna millora en l'afinitat van ser els mateixos que els que vaig usar amb el Naproxè:  $-CH_3$ ,  $-CHO$ ,  $-Cl$ ,  $-CN$ ,  $-AMBH_2$ ,  $-CONHCH_3$ ,  $-COOH$ ,  $-F$ ,  $-H$ ,  $-N(CH_3)_2$ ,  $-NH_2$ ,  $-NHCH_3$ ,  $O(CH_3)_2$ ,  $-OCH_3$ ,  $-OH$ .

Aquests radicals van ser col·locats d'un en un en els següents radicals de la molècula de la prova 2.1 (d'afinitat  $-10.6$  kcal/mol amb la COX2):

<sup>26</sup> Els canvis en el grup aromàtic C estan en l'annex, ja que cap d'ells va resultar útil.



Imatge 2.3.2.2.1

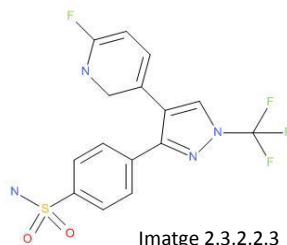
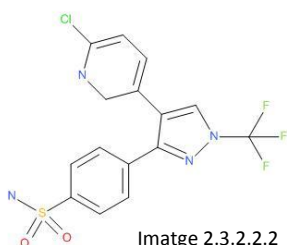
En llençar el docking de cadascuna de les 45 molècules de prova, els resultats d'afinitat segons el radical usat van ser:

RADICALES USADOS	AFINIDAD CON LA COX2 DE LA NUEVA MOLÉCULA DE CELECOXIB (kcal/mol)														
	CH <sub>3</sub>	CHO	Cl	CN	CONH <sub>2</sub>	CONHCH <sub>3</sub>	COOH	F	H	N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	SH	NHCH <sub>3</sub>	O(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH
R1	-9,7	-9,6	-9,8	-9,8	-9,7	-8,7	-10,1	-9,6	-9,2	-9,6	-9,2	-9,6	-9,6	-9,4	-9,4
R2	-10,6	-10,3	-10,6	-10,3	-10,4	-8,3	-10,3	-10,6	-10,2	-9,9	-10,2	-10,2	-10,2	-10,4	-10,2
R3	-9,2	-9,1	-8,9	-9,3	-9,9	-8,8	-9,8	-9,1	-8,7	-8,8	-8,6	-8,8	-9,1	-8,9	-8,5

- De color gris: la molècula original
- De color groc: les molècules l'afinitat de les quals supera la del Celecoxib
- De color verd: les molècules de millor afinitat (-10.6 kcal/mol) juntament amb la molècula de la Prova 2.1

Com es pot apreciar, cap de les noves molècules va millorar les -10.6 kcal/mol de les quals es partia. Així i tot, vaig obtenir onze molècules que milloraven el Celecoxib en afinitat i dues que van igualar l'afinitat de la molècula de la Prova 2.1.

L'estructura de les molècules que van igualar en energia d'afinitat a la Prova 2.1 són les següents:

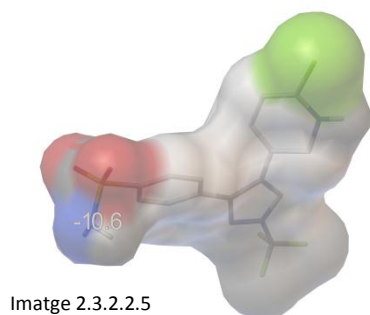
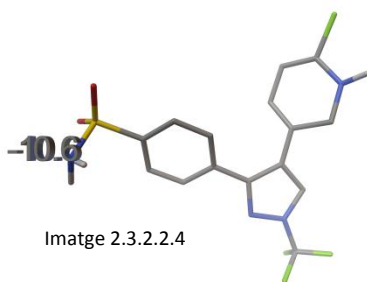


-La imatge 2.3.2.16 correspon a la molècula de la Prova R2-Cl.

-La imatge 2.3.2.17 correspon a la molècula de la Prova R2-F.

En les pàgines següents mostro l'estudi computacional detallat d'ambdues.

Prova R2-Cl:



L'energia d'afinitat de la molècula de la Prova R2-Cl amb la COX2 és de -10.6 kcal/mol. Tota aquesta energia és deguda a les interaccions hidrofòbiques llistades a continuació que la molècula forma amb la proteïna.

- Una amb la GLY526.

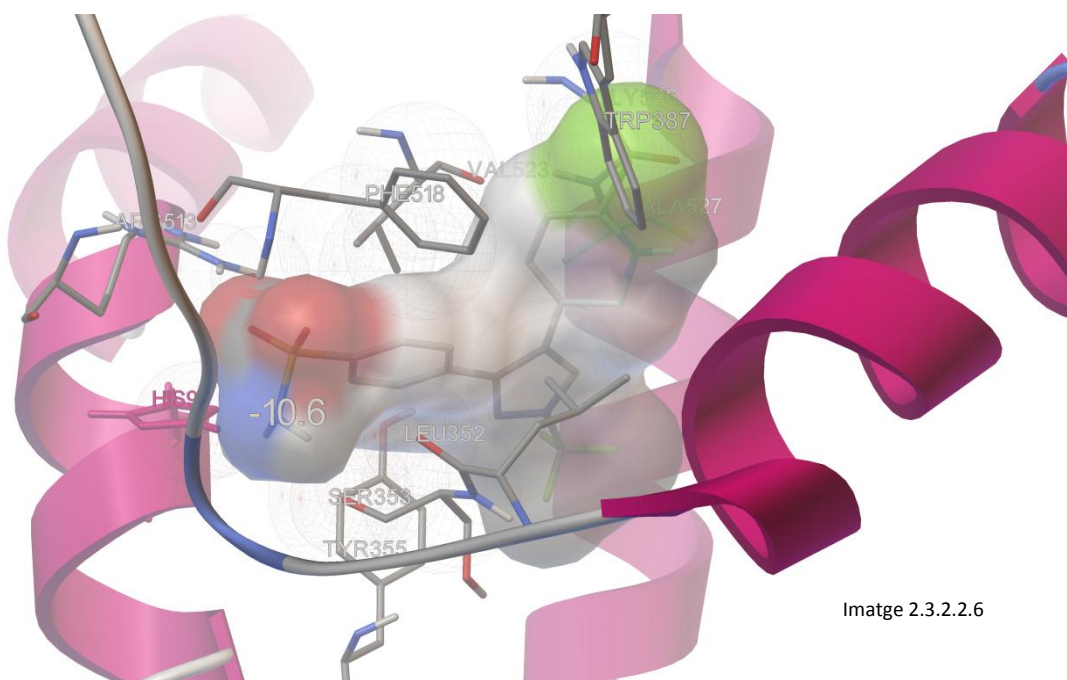
Trenta-sis amb la LEU352.

- Cinc amb la MET522.

- Nou amb la PHE518.

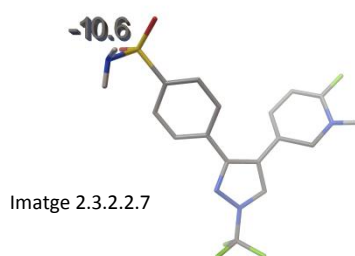
- Una amb la PHE198.

- Cinc amb la SER353.



Imatge 2.3.2.2.6

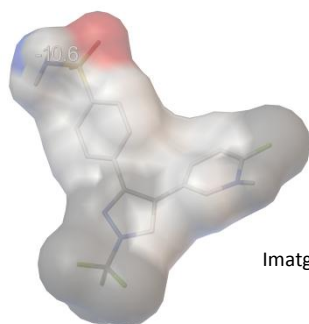
## Prova R2-F:



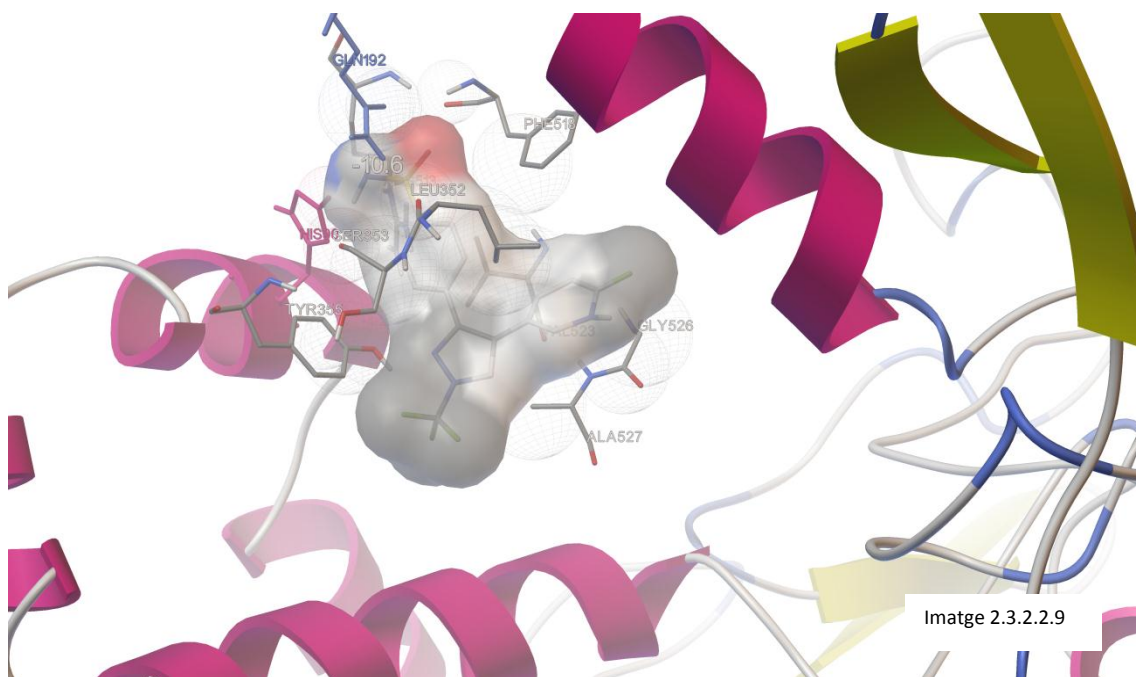
Imatge 2.3.2.2.7

La molècula de la Prova R2-F també forma una energia d'afinitat amb la COX2 de -10.6 kcal/mol. També en aquest cas tota l'energia esmentada és causada per interaccions hidrofòbiques de la molècula amb els diferents aminoàcids de la proteïna llistats a continuació:

- Sis amb l'ALA527.
- Set amb la GLY526.
- Vint amb la LEU352.
- Tres amb la SER530.
- Una amb la SER353.
- Una amb la TRP387.
- Cinc amb la TYR385.
- Sis amb la TYR348.
- Vint-i-nou amb la VAL349.



Imatge 2.3.2.2.8



Imatge 2.3.2.2.9

## 2.4. Conclusions

Conclusió del mètode usat:

- Queda demostrat que mitjançant la tècnica de la Química Computacional s'aconsegueix determinar d'una manera barata i fiable si determinat fàrmac pot ser adequat o no per inhibir certa proteïna. Per tant, és una eina útil per a la ciència.

Conclusions del treball experimental dut a terme:

- Els medicaments estudiats computacionalment són actius en la sensació de dolor ja que la seva energia d'afinitat amb la proteïna COX2 és sempre negativa i majoritàriament inferior a les -7 kcal/mol.
- S'ha vist clarament al llarg d'aquest treball que els Inhibidors Selectius per la COX2 són de millor afinitat que els AINE, per tant amb ells es pot inhibir més i millor la proteïna per alleujar la sensació de dolor.
- El grup químic -SOO- és de destacada importància per a molècules inhibidores de COX2.
- Les meves dues propostes de molècules útils per a la inhibició de la COX2 són efectives segons el simulador AutoDockVina.



# **3. L'ALZEHIMER**

### **3.1. Introducció**

En aquest treball de recerca s'ha estudiat la malaltia d'Alzheimer; s'han proposat nous medicaments inhibidors de l'enzim Acetilcoliniesterasa (iACE) sobre la base dels existents i s'ha comprovat la seva possible eficàcia mitjançant la simulació teòrica de la unió a la proteïna i el càlcul de l'entalpia de formació (Eb: Energy of Binding) del complex Enzim-compost.

Per a això s'exposarà què és la malaltia d'Alzheimer, què és la sinapsi i la seva degeneració en el transcurs de la malaltia. A continuació s'explicaran les bases de la modelització molecular i els aspectes generals sobre el Docking, l'eina que s'ha utilitzat per avaluar l'eficàcia teòrica de les modificacions proposades als medicaments de referència.



Fig 1: Doctor Alois

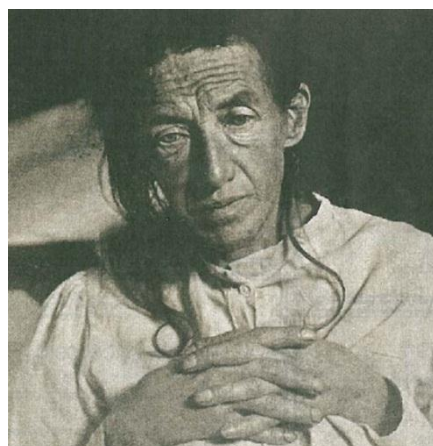


Fig 2: Auguste Deter

Per situar-nos històricament, va ser el mateix Alois Alzheimer qui, l'any 1901, va tractar una pacient anomenada Auguste Deter amb clars símptomes de degeneració memorística. El marit d'Auguste li va explicar a Alois el canvi dràstic de la seva dona amb només un any; les seves conseqüències directes en els aspectes més ordinaris de la pròpia vida: molts d'ells li eren molt dificultosos o impossibles de realitzar.

En l'actualitat, la pèrdua de memòria causada per la neurodegeneració és irreversible. Aquesta malaltia afecta al pacient i aquelles persones que conviuen amb ell. A causa de l'increment del nombre de casos registrats, hi han experts en salut pública que pronostiquen que serà l'epidèmia del segle XXI.

### **3.1.1. La malaltia d'Alzheimer**

Segons l'Institut de Química Biològica, la malaltia d'Alzheimer es pot definir com "el deteriorament de les funcions cognitives que és capaç d'afectar les activitats funcionals del pacient de forma suficientment intensa com per interferir amb la seva vida social o laboral normal".

Aquesta malaltia provoca també efectes intel·lectuals negatius lesionant el sistema neurològic amb repercussions a l'hipocamp<sup>27</sup>, alhora la pèrdua de la memòria, el desenvolupament de les seves tasques ordinàries com rentar-se, menjar, ja en fases més avançades. Aquest procés és lent i progressiu atès que hi ha diversos nivells en la patologia depenent de l'estat del pacient.

### **3.1.2. Alois Alzheimer i el descobriment de la malaltia**

Biografia i treball científic del doctor Alois Alzheimer. **(Veure a l'Apèndix 1).**

### **3.1.3. La sinapsis neuronal**

Explicació general del procés de la sinapsis neuronal. **(Veure a l'Apèndix 2).**

### **3.1.4. El procés d'obtenció de nous fàrmacs**

Dades per tenir una idea sobre el cost d'un fàrmac. **(Veure a l'Apèndix 3).**

### **3.1.5. La modelització molecular**

La Modelització Molecular són un grup de tècniques informàtiques que busquen estudiar el comportament dels compostos. Existeixen, en aquest camp, dos tipus de tractaments moleculars possibles: segons la mecànica quàntica o segons la mecànica clàssica newtoniana. **(Veure a l'Apèndix 4).**

### **3.1.6. Disseny de medicaments**

Diverses formes de treball amb els medicaments. **(Veure a l'Apèndix 5).**

---

<sup>27</sup> Situat en el lòbul central del cervell, té la funció de controlar la memòria (juntament amb la memòria espacial) y la orientació.

## **3.2. Antecedents i justificació**

### **3.2.1. Prevalença y repercussió social de l'Alzheimer**

Com a dada important, obtinguda del CSIC<sup>28</sup>, l'Alzheimer és la tercera causa de mortalitat entre les persones adultes majors de 65 anys als països desenvolupats, després de les malalties cardiovasculars i el càncer.

Això ens afirma el perquè de la gran quantitat de línies d'investigació a tot el món aquests últims anys per eradicar la seva causa, ja que es troba en la següent situació: trobar solucions en les conseqüències que provoca la patologia.

### **3.2.2. Tractaments farmacològics actuals**

Els diferents tractaments farmacològics<sup>29</sup> busquen un dels següents objectius:

- Retardar el deteriorament de les neurones.
- Recuperar les funcions que s'han perdut o mantenir-les en estat de conservació.
- Millorar la qualitat de vida del pacient, és a dir, les manifestacions conductuals del pacient.

Són de summa importància tenir molt ben controlats aquests tres aspectes.

En cadascun d'ells, hi ha una base més àmplia a la qual tot investigador busca millorar: que aquests actuïn de forma eficaç en els símptomes cognitius i conductuals de la persona que pateix qualsevol malaltia.

L'evolució de la malaltia d'Alzheimer s'ha classificat en tres etapes: precoç, moderada i severa. Cadascun d'aquests fàrmacs té el seu nom comercial amb el seu corresponent nom genèric. Els principals fàrmacs iACE que actualment s'utilitzen en clínica són **Razadyne® (Galantamine)**, **Exelon® (Rivastigmine)**, **Aricept® (Donezepil)** i **Cognex® (Tacrine)**<sup>30</sup>. Estan aprovats per l'agència americana de medicaments \*FDA<sup>31</sup>.

---

<sup>28</sup> El CSIC (Consell Superior d'Investigacions Científiques) és l'organisme públic d'investigació més gran d'Espanya i tercer a Europa.

<sup>29</sup> Descartant els mitjans que segueixin una altra forma de curar les malalties (els no farmacològics).

<sup>30</sup> Aquest fàrmac va ser retirat de la venda al mercat per la seva altahepatotoxicidad.

<sup>31</sup> Food Drugs Administration, és l'agència que aprova i supervisa els medicaments a Estats Units.

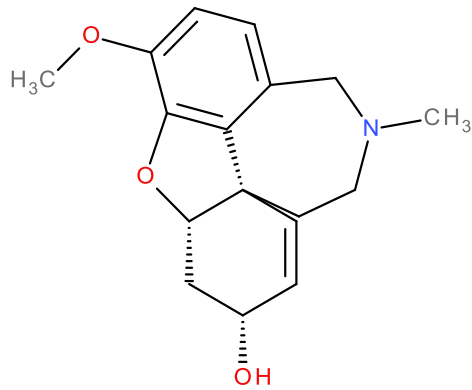


Fig. 6: Galantamine.

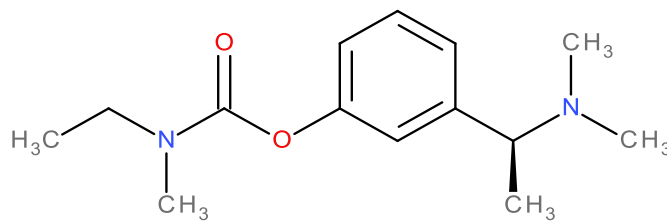


Fig. 7: Rivastigmine.

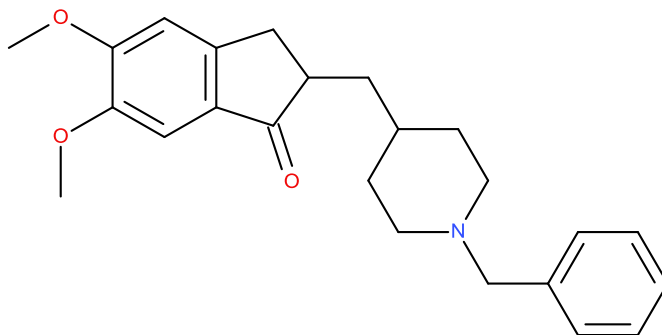


Fig. 8: Donepezil.

La principal funció dels fàrmacs iACE és facilitar la comunicació sinàptica colinèrgica evitant la hidròlisi d'Acetilcolina. Els fàrmacs Cognex, Exelon i Galantamina es poden utilitzar únicament en l'etapa precoç de la malaltia, mentre que el Donepezil es pot utilitzar també en l'etapa moderada.

El fàrmac Exelon preveu la degradació de butyrylcholine<sup>32</sup> (una altra substància química que té moltes semblances amb la (AC) en el cervell). La Razadyne estimula els receptors nicotínic<sup>33</sup> perquè s'alliberi més quantitat de (AC) en el cervell.

<sup>32</sup> Transmeten senyals elèctrics transmembrana a través de la bicapa lipídica.

<sup>33</sup> Són canals iònics colinèrgics, és a dir, tenen la capacitat de rebre els senyals químics de l'acetilcolina. Es diuen nicotínic perquè es poden activar a través de la nicotina. (Pots veure, en la imatge anterior de la sinapsi, quin és el receptor nicotínic).

Colinèrgics: substància que té la responsabilitat de transmetre missatges químics de les cèl·lules cap a les neurones (el cervell).

El fàrmac Memantina també s'utilitza en el tractament de l'Alzheimer, però el seu mecanisme d'acció és diferent: bloqueja el receptor glutamatèrgic de NMDA (N-Metil-D-Aspartat).

### **3.2.3.Necessitat de nous tractaments**

La necessitat de nous medicaments és encara actual per a moltes malalties i l'Alzheimer és una d'elles. És veritat que no es guarirà fins que es conegui la seva causa última, és a dir, saber perquè es produeix aquesta malaltia.

Els tractaments actuals de la malaltia estan dirigits a disminuir les manifestacions conductuals i frenar la degeneració cognitiva, però és veritat que aquest fre és molt lleuger i és imparable amb els mitjans terapèutics que proposem. Per aquest motiu s'ha de continuar investigant en les línies conegudes de la malaltia i en aquelles noves que puguin donar llum sobre causes ulteriors i que permeten revertir aquesta lenta i imparable evolució.

A més de la investigació en nous iACE, s'està treballant en la inhibidor de la beta i gamma secretases, nous inhibidors de la inflamació, etc. Es creu que una polimedicació podria ajudar al tractament d'una malaltia com l'Alzheimer que és multifactorial.

### **3.3.Objectius**

L'objectiu és molt clar: disseny de nous inhibidors de Acetilcolinesterasa pel tractament de la malaltia d'Alzheimer.

En el projecte de treball al que em vaig a regir i seguir està compost per una sèrie d'etapes per poder fer els càlculs, obtenir els resultats analitzant cadascun d'ells i extreure les conclusions pertinents després de realitzar tots els procediments.

Vaig a estudiar la diana terapèutica de l'Alzheimer concretada en el procés de sinapsi de les neurones. La proteïna (ACE) ha de ser inhibida a través dels fàrmacs comentats en capítols anteriors. En el meu cas, he escollit dos d'ells per poder-los analitzar correctament. Aquests són l'aricept<sup>®</sup> (donezepil) i l'exelon<sup>®</sup> (rivastigmine).

Cada un d'ells té les seves característiques estructurals, geomètriques ja sigui el receptor com el lligand al que s'unirà per bloquejar la proteïna biològica ACE. Això és "a grosso modo" el treball a realitzar.

### **3.4. Pla de treball**

Aquests punts de l'apartat "Pla de Treball" són el resum per poder aconseguir els objectius proposats anteriorment.

#### **3.4.1.Estudi de la diana biològica i del seu substrat i producte natural.**

En aquest primer apartat, farem l'estudi de la diana biològica de la proteïna acetilcolinesterasa, el seu substrat i el producte natural.

#### **3.4.2.Estudi dels medicaments existents**

Els medicaments que vaig a tractar han estat explicats en l'apartat de tractaments farmacològics actuals. Els que han estat tractats en els càlculs a través del Docking són Aricept<sup>®</sup> (Donepezil) i Exelon<sup>®</sup> (Rivastigmine) a través de la diana biològica indicada en l'apartat anterior.

#### **3.4.3.Estudi del Docking de la conformació bioactiva dels medicaments**

S'ha fet l'anàlisi entre la interacció del medicament amb la diana biològica; en concret amb el centre catalític de la pròpia.

### **3.4.4. Anàlisi de las principals interaccions dels medicaments amb la diana**

He fet els càlculs a través del medicament de referència, Donepezil, per veure les seves interaccions amb la diana. L'altre fàrmac, Rivastigmine, també l'he utilitzat com a referència.

### **3.4.5. Disseny de nous medicaments, avaluació a través del Docking i anàlisi del complex**

Des de l'anàlisi dels dos fàrmacs inicials, s'han anat dissenyant la resta dels fàrmacs fent canvis en la seva estructura per la formació de nous medicaments. També s'han analitzat les interaccions que produeixen els medicaments amb la diana biològica acetilcolinesterasa.

## **3.5. Material i Mètode**

### **3.5.1. Model cristal·logràfic de la diana biològica**

La base de dades Brookhaven Protein Data Bank (PDB) conté els models cristal·lins d'estructures biològiques. De tots els possibles models es va triar l'1EVE per la qualitat del cristall i pel compost que conté el lloc actiu, el medicament iACE Donepezil.

Aquestes estructures les necessitarem per poder fer el seu procediment computacional adequat i analitzar els càlculs per treure les conclusions.

En primer lloc, hem de situar quines són cadascuna d'elles. La diana biològica cristal·litzada és tota l'estructura proteica macromolecular de la ACE: els seus elements, enllaços, distribució en l'espai (geometria).

Treballarem amb ella de forma simple: l'estructura cristal·litzada no estarà influenciada pel mitjà en què es fa la reacció: l'aigua (dissolvent) amb els seus components no causessin efecte ja que serà menyspreada la seva influència.

El substrat és l'Acetilcolina: el lloc on passarà la unió del receptor amb el lligand (fàrmac), el lloc exacte en què es produeix la reacció. El producte és el resultat de la hidròlisis del substrat, en aquest cas Colina i Aspartat. El fàrmacs tenen l'objectiu de bloquejar el lloc actiu per impedir l'entrada amb el substrat perquè no s'inactivi. Explicarem en el mètode com hem fet per crear els nous medicaments.



### 3.5.2. Estructura química dels medicaments de referència

Aquestes són les estructures que, amb el symyx draw, he dibuixat per veure com eren els compostos. Vaig a posar els dos medicaments:

Exelon® (Rivastigmine):

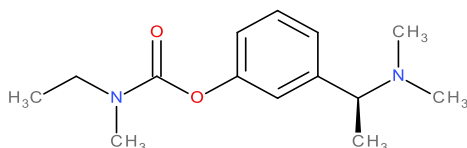


Fig. 9

Aricept® (Donepezil):

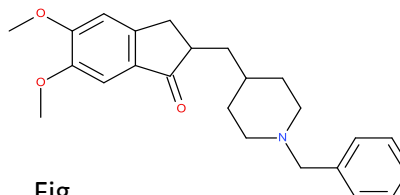


Fig.

### 3.5.3. Programari per la realització de l'estudi computacional

Programes i procediment per el treball computacional. (Veure Apèndix 6).

## 3.6. Resultats

### 3.6.1. Descripció de l'ACE

L'ACE és la diana biològica en què he treballat amb tots els fàrmacs obtinguts des de la protein data bank (en el cas del Donepezil) o dissenyant-los amb el programa *Symyx Draw 4.0* en 2D.

Quan els neurotransmissors ja han traspasat la informació en el període de la sinapsi, no es poden quedar en el mateix lloc i agrupar-se amb els altres senyals químics. Allí és on la acetilcolinesterasa actua. Aquesta proteïna té com a funció principal hidrolitzar l'acetilcolina. Trenca l'enllaç èster de l'acetilcolina en un grup acetat i un grup colina. Així, aquests components es podran reutilitzar com a nous neurotransmissors de senyals químics. Aquesta acció evita la barreja entre els diferents senyals. En la Fig. 9 es mostra l'estructura secundària de la ACE. La ACE provoca aquesta reacció amb una velocitat molt elevada, prop de 80 micro-segons per cada molècula.

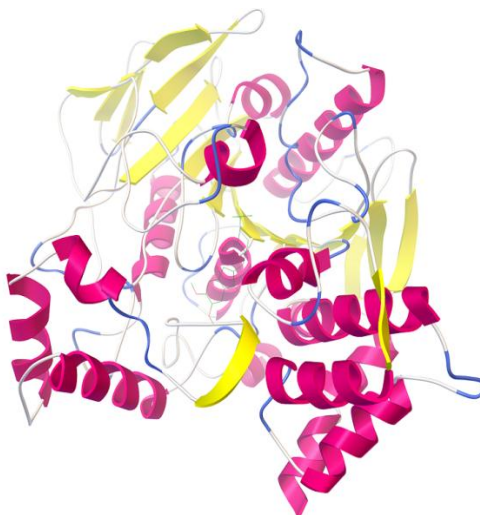


Fig 9: Proteïna ACE

### **3.6.2.Mecanisme d'acció de l'ACE**

El mecanisme on s'uneixen lligand i receptor és el centre d'unió de la proteïna. L'ACE té la peculiaritat de formar, en el centre d'unió (en el lloc actiu) una tríada catalítica. Aquesta tríada està composta per tres aminoàcids: la serina, la histidina i el glutamat.

El lloc actiu es troba situat en l'anomenada butxaca acil. Aquesta butxaca provoca moltes interaccions hidrofòbiques, la qual cosa fa que el lloc actiu es trobi interioritzat dins d'ell. Això determina en major grau l'especificitat en la unió amb el medicament. La tríada aconsegueix trencar enllaços del grup ester en grups àcid i alcohol. Pot ser actiu o no ja que també pot ocórrer que, en unir-se en un altre lloc amb enllaços molt forts, impedeixi la unió amb la tríada catalítica.

### **3.6.3.Manera d'unió del medicament cristal·litzat en l'ACE**

Hi ha diverses interaccions que influeixen en unir-se, en el lloc actiu, el receptor i el lligand. Els més principals en què m'he fixat han estat: els enllaços o ponts d'hidrogen, les interaccions hidrofòbiques (repel·leixin l'aigua), les interaccions electrostàtiques (enllaços de Van der Waals), els enllaços pi-pi i els enllaços en forma de T (interaccions entre dos benzens un en perpendicular amb l'altre) entre grups aromàtics.

### **3.6.4.Docking dels medicaments de referència**

Donepezil i Rivastigmine són els dos medicaments de referència. Vaig a posar la seva estructura i les seves diferents interaccions amb la proteïna. Cada un dels passos serà repetit en cada fàrmac.

Donepezil original:

Aquesta és l'estructura molecular del medicament original. La seva fórmula molecular és  $C_{24}H_{29}NO_3$ .

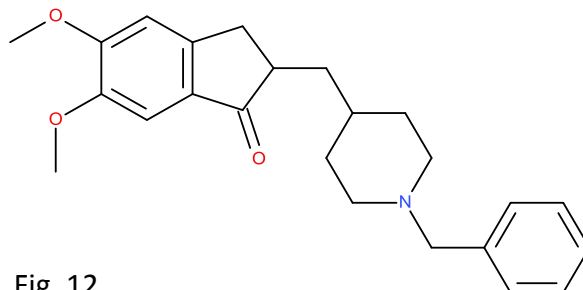


Fig. 12

Les diferents energies d'unió (Ebinding) o afinitat del medicament amb la proteïna ACE, en les diferents conformacions, són les següents:

Confòrmers	Afinitat(Kcal/mol)
1	-11.1
2	-10.9
3	-10.6
4	-10.6
5	-10.5
6	-10.4
7	-10.1
8	-9.8
9	-9.8

Taula 1

Amb el programa Ligand Explorer, hem obtingut les interaccions.

Interaccions Hidrofòbiques 1EVE y Donepezil original		
Nº Aminoàcid (Aa.)	Aa. i Carboni que s'uneix	Distància (Å)
<b>A<sup>34</sup>:279</b>	TRP:CE3	3.77
A:279	TRP:CZ3	3.64
A:279	TRP:CE3	3.74
A:279	TRP:CZ3	3.66
A:279	TRP:CH2	3.86
A:331	PHE:CD2	3.75
A:331	PHE:CD2	3.79
A:334	TYR:CB	3.66
A:334	TYR:CG	3.73
A:331	PHE:CD2	3.77

<sup>34</sup> Es refereix a la cadena que tractem en la proteïna.

A:331	PHE:CE2	3.30
A:331	PHE:CZ	3.71
A:330	PHE:CG	3.78
A:330	PHE:CD1	3.80
A:330	PHE:CE1	3.49
A:334	TYR:CG	3.82
A:334	TYR:CD1	3.82
A:334	TYR:CD2	3.73
A:334	TYR:CE1	3.76
A:334	TYR:CE2	3.67
A:334	TYR:CZ	3.68
A:84	TRP:CD1	3.80
A:330	PHE:CZ	3.65
A:84	TRP:CG	3.63
A:84	TRP:CD1	3.82
A:84	TRP:CD2	3.78
A:84	TRP:CB	3.78
A:84	TRP:CG	3.77
A:84	TRP:CD2	3.88
A:84	TRP:CE3	3.76
A:84	TRP:CE3	3.69
A:84	TRP:CZ3	3.79
A:84	TRP:CE2	3.88
A:84	TRP:CD2	3.75
A:84	TRP:CE2	3.62
A:330	PHE:CE2	3.47
A:70	TYR:CZ	3.84
A:279	TRP:CE2	3.74

Taula 2

Fotografia de les interaccions 1EVE-Donepezil original:

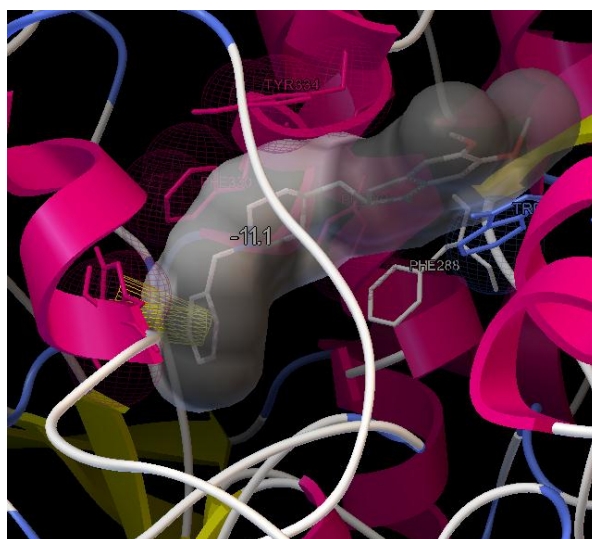


Fig. 13: Imatge general del receptor- lligand.  
És una visió frontal del medicament amb el fons



Fig. 14: Imatge general rec-lig amb les seves interaccions. És una visió lateral del medicament i amb un fons blanc.

Podem veure, en les Fig. 13 i 14, les diferents interaccions que es produeixen entre la proteïna ACE i el lligand Donepezil original. Les dades anteriors són totes les interaccions hidrofòbiques que es produeixen en el bloqueig. Aquest és el confòrmer amb una energia d'unió més estable (-11.1 kcal / mol), la millor dels 9 confòrmeres que el Docking va proposar com a possibles interaccions. Jo, en cada cas, he anat analitzant sempre el confòrmer amb la millor entalpia de formació ( $E_{\text{binding}}$  més negativa).

La Fig. 15 no s'aprecia l'estructura secundària sinó només els aminoàcids (Aa.) que estan més a prop i, per tant, els que interaccionen amb el Fàrmac.

Les Fig. 16 i 17 són detalls que ens ensenyen l'única interacció pi-pi que es produeix (entre dues benzens que es troben paral·lelament) i una interacció hidrofòbica de les moltes que hi ha. Aquestes interaccions es representen amb esferes de radi de Van der Waals.

**Rivastigmine original:**

Aquesta és l'estructura molecular del medicament. La fórmula molecular és  $C_{14}H_{22}N_2O_2$ .

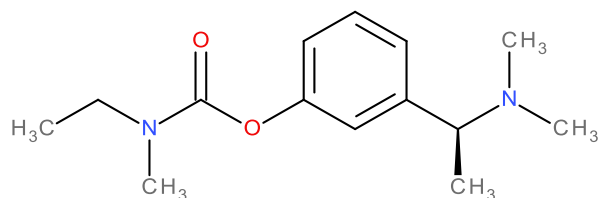


Fig. 18

Les diferents energies d'unió (Ebinding) del medicament amb la proteïna ACE, en les diferents conformacions, són les següents:

Confòrmers	Afinitat(Kcal/mol)
1	-7.7
2	-7.7
3	-7.6
4	-7.3
5	-7.3
6	-7.3
7	-7.3
8	-7.1
9	-7.1

Taula 3

Seguidament es mostren totes les interaccions hidrofòbiques.

Interaccions Hidrofòbiques 1EVE y Rivastigmine original		
Nº Aminoàcid (Aa.)	Aa. i Carboni que s'uneix	Distància (Å)
A:331	PHE:CE2	3.82
A:331	PHE:CE2	3.77
A:330	PHE:C	3.62
A:330	PHE:CB	3.69
A:330	PHE:CG	3.69
A:330	PHE:CD1	3.51
A:331	PHE:CD2	3.78
A:331	PHE:CE2	3.80
A:330	PHE:C	3.82
A:331	PHE:CA	3.70
A:331	PHE:CD2	3.48
A:331	PHE:CE2	3.88
A:334	TYR:CB	3.72
A:334	TYR:CG	3.76
A:331	PHE:CD2	3.74
A:118	GLY:CA	3.77
A:334	TYR:CB	3.78
A:331	PHE:CD2	3.63
A:279	TRP:CZ3	3.82
A:279	TRP:CH2	3.70
A:290	PHE:CE1	3.73

Taula 4

Fotografia de les interaccions 1EVE- Rivastigmine:

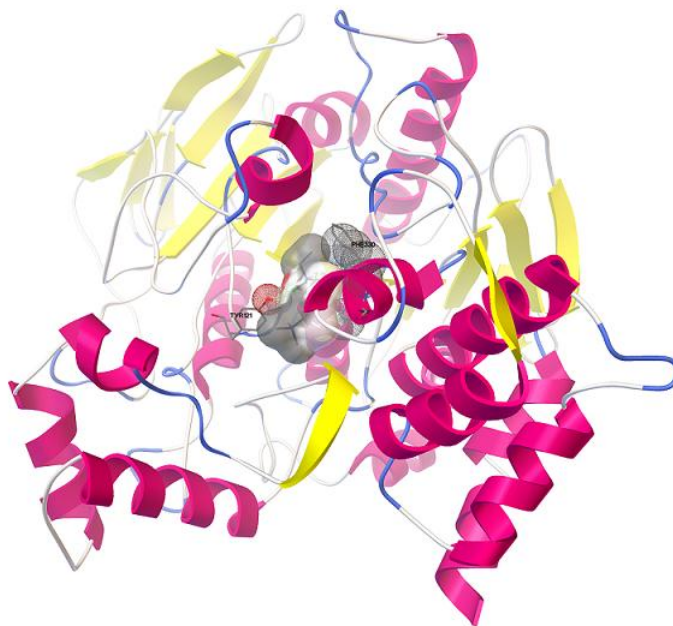


Fig. 19: Imatge general del receptor-ligand.



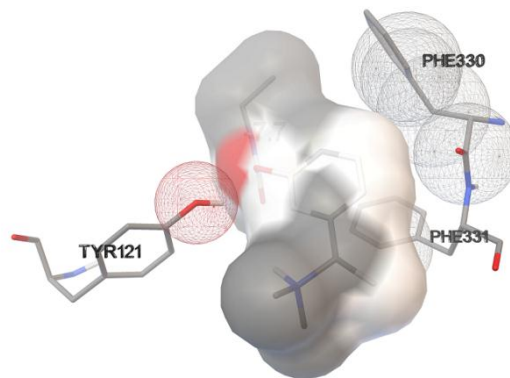


Fig. 20: Fàrmac amb els Aminoàcids de la proteïna en què interaccionen.

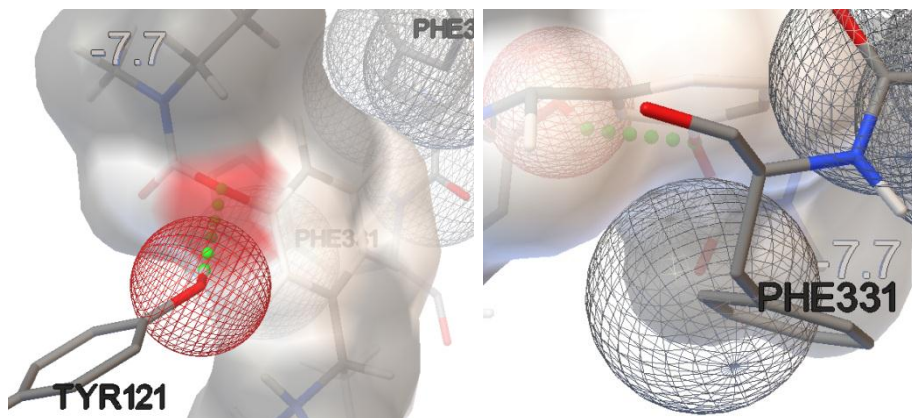


Fig. 21: Pont d'hidrògen (H. Bond) amb l'Aminoàcid tirosina TYR121.

Fig. 22: Interacció hidrofòbica amb l'Aminoàcid fenilalanina PHE331.

Podem veure, a la Fig. 19, una imatge general de les diferents interaccions que es produeixen entre la proteïna ACE i el lligand Rivastigmine. Seguint la mateixa estructura de treball que el Donepezil original, tenim totes les interaccions Hidrofòbiques que es produeixen en el bloqueig. També, els 9 confòrmers estan ordenats des més a menys energia d'unió segons les seves possibles interaccions i llocs d'unió amb la proteïna. La més estable és de  $-7.7$  kcal / mol.

La Fig. 20 es poden veure les interaccions sense l'estructura secundària de la proteïna. En les imatges següents trobem les interaccions en detall.

La Fig. 21 s'hi pot veure un pont d'hidrogen amb el Aminoàcid TYR121 i la Fig. 22 una interacció hidrofòbica amb l'Aminoàcid PHE331.

### 3.6.5. Canvis proposats als medicaments iACE

Amb l'estructura inicial de cada un dels fàrmacs, s'han proposat petites variacions creant nous medicaments que es mostren a continuació.

#### Del Donepezil original al Fàrmac 1:

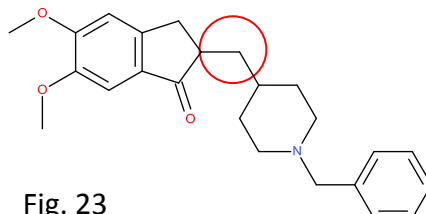


Fig. 23

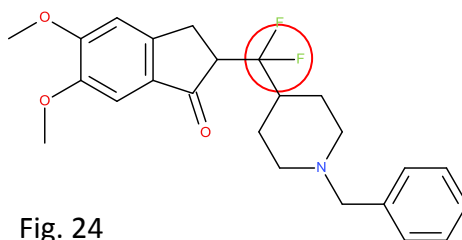
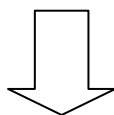


Fig. 24

#### Del Donepezil original al Fàrmac 2:

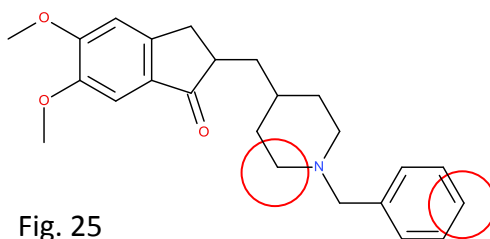


Fig. 25

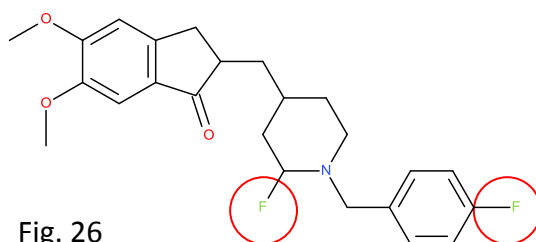
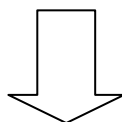


Fig. 26

Del Donepezil original al Fàrmac 3:

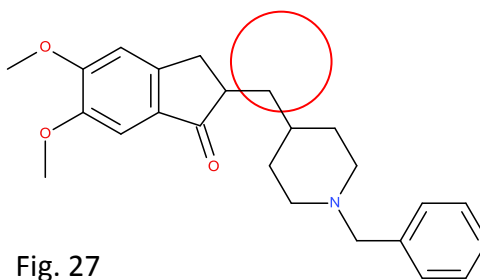


Fig. 27

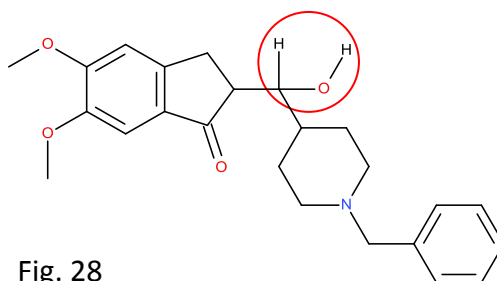
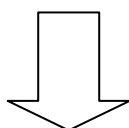


Fig. 28

De la Rivastigmine original al Fàrmac 4:

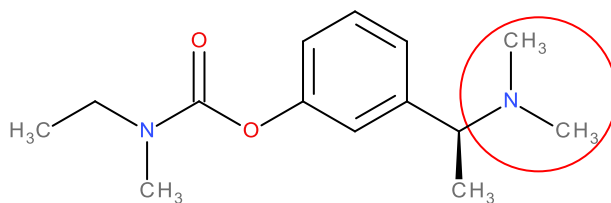


Fig. 29

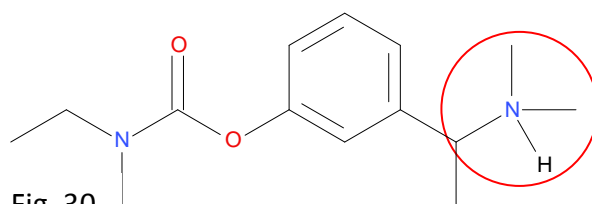
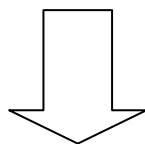


Fig. 30

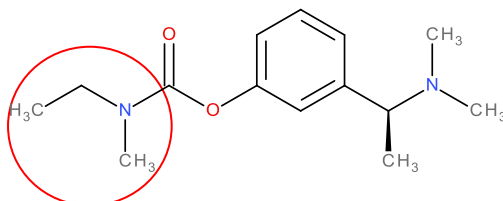
De la Rivastigmine original al Fàrmac 5:

Fig. 31

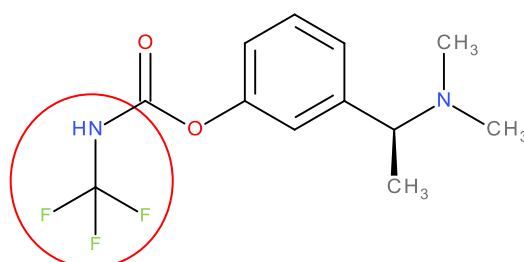
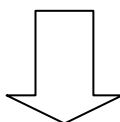


Fig. 32

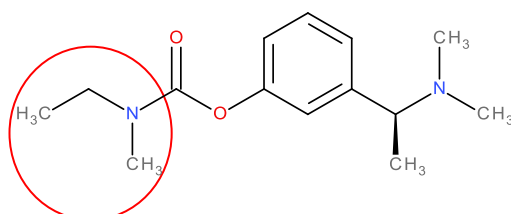
De la Rivastigmine original al Fàrmac 6:

Fig. 33

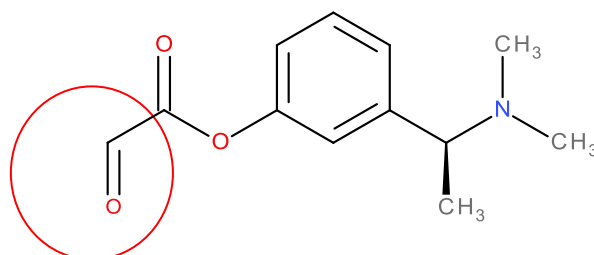
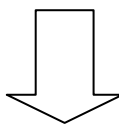


Fig. 34

### 3.6.5. Docking dels nous compostos i estudi del canvi de les formes d'unió en modificar el medicament

#### Fàrmac 1:

Aquesta és l'estructura molecular del medicament. La seva fórmula molecular és  $C_{24}H_{27}F_2NO_3$ .

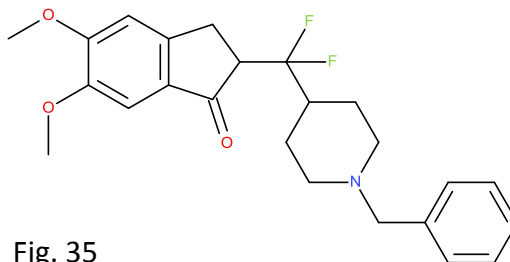


Fig. 35

Les diferents energies d'unió ( $E_{\text{binding}}$ ) del medicament amb la proteïna ACE, en les diferents conformacions, són les següents:

Confòrmers	Afinitat(Kcal/mol)
1	-12.6
2	-12.4
3	-12.3
4	-12.3
5	-12.1
6	-12.1
7	-11.6
8	-11.4
9	-11.2

Taula 5

Seguidament, amb el programa Ligand Explorer, hem obtingut les diferents interaccions.

Interaccions Hidrofòbiques 1EVE y Fàrmac 1		
Nº Aminoàcid (Aa.)	Aa. i Carboni que s'uneix	Distància (Å)
A:334	TYR:CB	3.77
A:334	TYR:CG	3.79
A:334	TYR:CB	3.89
A:334	TYR:CG	3.75
A:334	TYR:CD1	3.78
A:334	TYR:CB	3.41
A:334	TYR:CB	3.56
A:331	PHE:CA	3.85
A:331	PHE:CD2	3.32
A:331	PHE:CE2	3.79
A:334	TYR:CB	3.75
A:331	PHE:CD2	3.77
A:331	PHE:CE2	3.83
A:331	PHE:CD2	3.79
A:331	PHE:CE2	3.61
A:330	PHE:CD2	3.76
A:330	PHE:CE2	3.65
A:330	PHE:CZ	3.74
A:330	PHE:CG	3.41
A:330	PHE:CD1	3.52
A:330	PHE:CD2	3.57
A:330	PHE:CE1	3.78
A:330	PHE:CE2	3.83
A:84	TRP:CB	3.82
A:84	TRP:CG	3.72
A:84	TRP:CG	3.81
A:84	TRP:CD2	3.61
A:84	TRP:CD2	3.7
A:84	TRP:CE3	3.58
A:84	TRP:CZ3	3.85
A:84	TRP:CE3	3.62
A:118	GLY:CA	3.59
A:84	TRP:CB	3.86
A:70	TYR:CE2	3.89
A:279	TRP:CZ2	3.78
A:279	TRP:CH2	3.86
A:334	TYR:C	3.89

Taula 6

Fotografia de les interaccions 1EVE- Fàrmac 1:

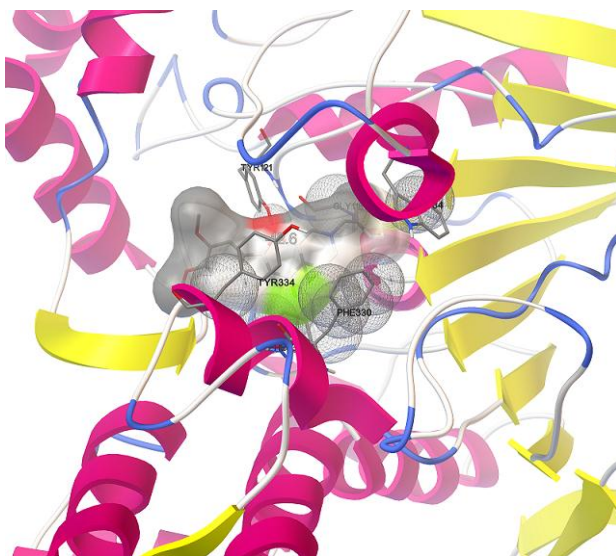


Fig. 36: Imatge general del receptor-

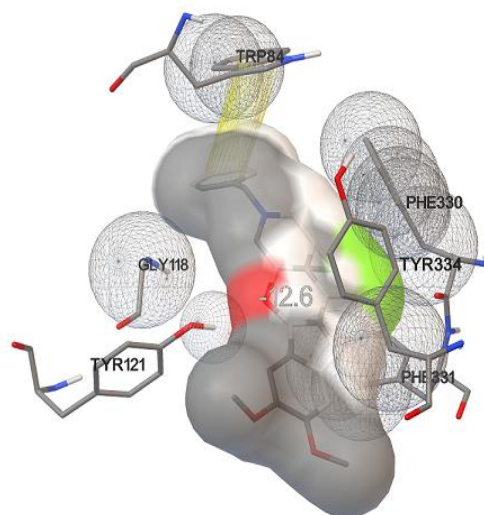


Fig. 37: Fàrmac amb els Aminoàcids de la proteïna en què interaccionen.

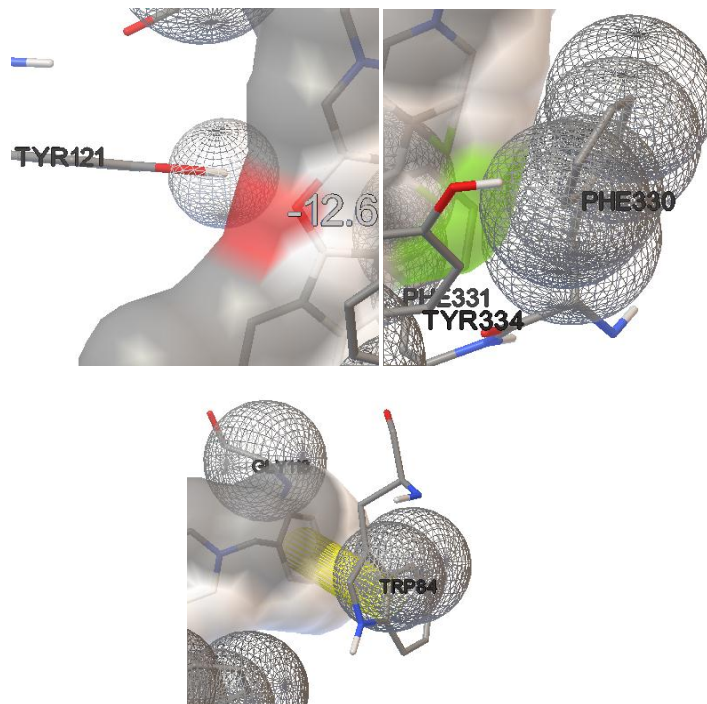


Fig. 38: Possible interacció entre l'OH de la TYR121 amb l'O del carbonil del Fàrmac 1 per formar un Hbond.

Fig. 39: Possible interacció entre l'OH de la TYR121

A diferència del Donepezil original, el Fàrmac 1 conté dos àtoms de fluor que són electronegatius i possibles acceptors de ponts d'hidrogen sobre un grup metilè. En veure la disposició espacial dels Aminoàcids al Donepezil original, semblava un punt amb probabilitat de formació de pont d'hidrogen. Aquests han estat els resultats:

Podem veure, en la Fig.36, les diferents interaccions que es produeixen entre la proteïna ACE i el Fàrmac 1. A la Taula de dades hi ha les Ebinding dels 9 confòrmers i les interaccions Hidrofòbiques que es produeixen en el bloqueig. El confòrmer més estable té una energia de  $-12.6$  kcal / mol, superior al medicament inicial.

La Fig. 37 és una visió general de les interaccions sense l'estructura secundària de la Fig. 36. La Fig. 38 i la 39 mostren un possible pont d'hidrogen que no es pot fer a la zona de color vermell (oxigen) i verd (fluor) respectivament del medicament. A la primera amb el radical OH integrat al Aminoàcid TYR121 i l'altra amb el PHE330. La Fig. 40 mostra una interacció pi-pi amb l'Aminoàcid TRP84.

El Fàrmac 1 té 2 interaccions electrostàtiques més que el Donepezil. Això fa que la Ebinding disminueixi des de  $-11.1$  kcal / mol a  $-12.6$  kcal / mol i així bloquejar millor l'ACE.



## Fàrmac 2:

Aquesta és l'estructura molecular del medicament amb la seva fórmula molecular és  $C_{24}H_{27}F_2NO_3$ .

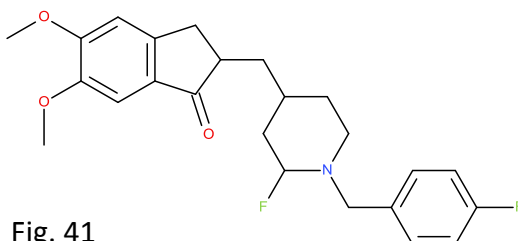


Fig. 41

Les Ebinding dels millors confòrmers del Fàrmac 2 són les següents:

Confòrmers	Afinitat(Kcal/mol)
1	-12.4
2	-12.2
3	-12.2
4	-12.2
5	-12.1
6	-12.0
7	-11.9
8	-11.9
9	-11.8

Taula 7

Seguidament es mostren totes les interaccions hidrofòbiques.

Interaccions Hidrofòbiques 1EVE y Fàrmac 2: Donepezil		
Nº Aminoàcid (Aa.)	Aa. i Carboni que s'uneix	Distància (Å)
A:334	TYR:CB	3.77
A:334	TYR:CG	3.79
A:334	TYR:CB	3.89
A:334	TYR:CG	3.75
A:334	TYR:CD1	3.78
A:334	TYR:CB	3.41
A:334	TYR:CB	3.56
A:331	PHE:CA	3.85
A:331	PHE:CD2	3.32
A:331	PHE:CE2	3.79
A:334	TYR:CB	3.75
A:331	PHE:CD2	3.77
A:331	PHE:CE2	3.83

A:331	PHE:CD2	3.79
A:331	PHE:CE2	3.61
A:330	PHE:CD2	3.76
A:330	PHE:CE2	3.65
A:330	PHE:CZ	3.74
A:330	PHE:CG	3.41
A:330	PHE:CD1	3.52
A:330	PHE:CD2	3.57
A:330	PHE:CE1	3.78
A:330	PHE:CE2	3.83
A:84	TRP:CB	3.82
A:84	TRP:CG	3.72
A:84	TRP:CG	3.81
A:84	TRP:CD2	3.61
A:84	TRP:CD2	3.7
A:84	TRP:CE3	3.58
A:84	TRP:CZ3	3.85
A:84	TRP:CE3	3.62
A:118	GLY:CA	3.59
A:84	TRP:CB	3.86
A:70	TYR:CE2	3.89
A:279	TRP:CZ2	3.78
A:279	TRP:CH2	3.86
A:334	TYR:C	3.89

Taula 8

Fotografia de les interaccions 1EVE- Fàrmac 2:

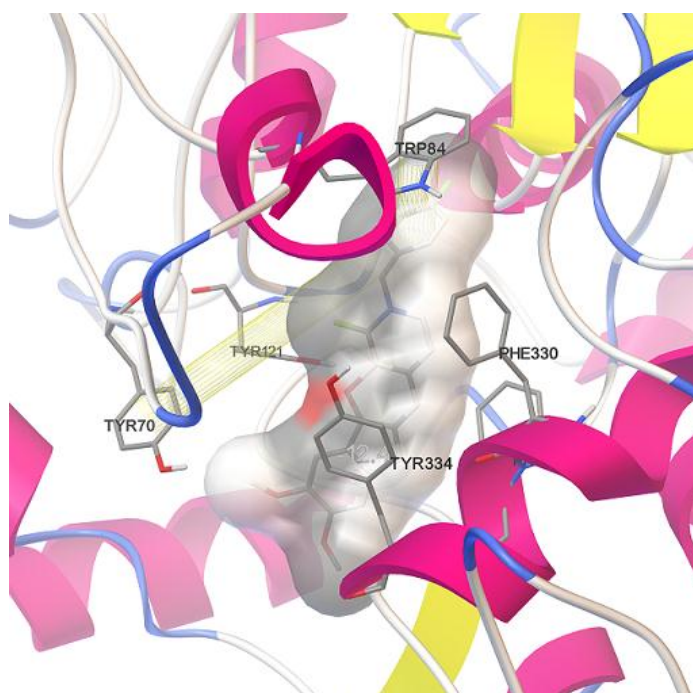


Fig. 42: Imatge general del receptor-ligand.

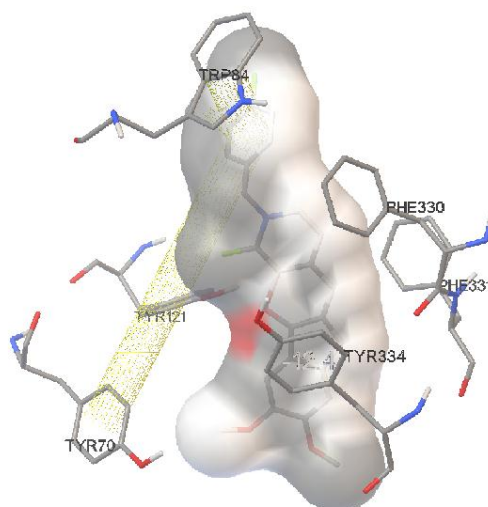


Fig. 43: Fàrmac amb els Aminoàcids de la proteïna en què interaccionen.

El Fàrmac 2 també té dos àtoms de fluor que són electronegatius i possibles acceptors de ponts d'hidrogen. Aquests són dos radicals situats un en un fenil i l'altre en una piperidina. Els resultats han estat els següents:

Podem veure, en la Fig. 42, les diferents interaccions que es produeixen entre la proteïna ACE i el Fàrmac 2. En aquest cas, el conformat més estable té una energia de  $-12.4$  kcal / mol, superior al medicament inicial.

La Fig. 43 és una visió general de les interaccions sense l'estructura secundària. Aquest Fàrmac manté les mateixes característiques que el Fàrmac 1 però no aconsegueix interaccionar amb l'Aminoàcid PHE330.

### Fàrmac 3:

L'estructura molecular del medicament original i la seva fórmula molecular és  $C_{24}H_{27}F_2NO_3$ .

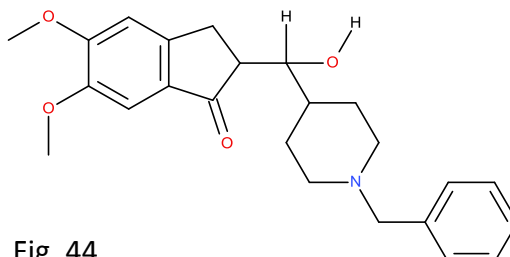


Fig. 44

Les Ebinding dels millors confòrmers del Fàrmac 3 són les següents:

Confòrmers	Afinitat(Kcal/mol)
1	-12.0
2	-12.0
3	-11.8
4	-11.8
5	-11.8
6	-11.7
7	-11.7
8	-11.5
9	-11.5

Taula 9

Seguidament es mostren totes les interaccions hidrofòbiques.

Interaccions Hidrofòbiques 1EVE y Fàrmac 3.		
Nº Aminoàcid (Aa.)	Aa. i Carboni que s'uneix	Distància (Å)
A:334	TYR:CB	3.77
A:334	TYR:CG	3.79
A:334	TYR:CB	3.89
A:331	PHE:CD2	3.7
A:334	TYR:CB	3.85
A:334	TYR:CG	3.75
A:334	TYR:CD1	3.78
A:334	TYR:CB	3.41
A:331	PHE:CD2	3.71
A:334	TYR:CB	3.55
A:334	TYR:CG	3.67
A:331	PHE:CD2	3.78
A:331	PHE:CE2	3.79

A:330	PHE:CD1	3.63
A:331	PHE:CE2	3.75
A:331	PHE:CD2	3.83
A:331	PHE:CE2	3.52
A:290	PHE:CE1	3.74
A:331	PHE:CD2	3.82
A:331	PHE:CE2	3.61
A:331	PHE:CD2	3.76
A:330	PHE:CG	3.71
A:330	PHE:CD1	3.73
A:330	PHE:CD2	3.8
A:330	PHE:CE1	3.85
A:330	PHE:CE2	3.74
A:118	GLY:CA	3.46
A:118	GLY:CA	3.45
A:118	GLY:CA	3.56
A:84	TRP:CB	3.67
A:84	TRP:CB	3.8
A:123	GLY:CA	3.64
A:84	TRP:CE3	3.57
A:84	TRP:CE3	3.51
A:117	GLY:C	3.74
A:279	TRP:CZ3	3.59
A:279	TRP:CH2	3.4
A:290	PHE:CD1	3.85
A:290	PHE:CE1	3.56
A:331	PHE:CA	3.62
A:331	PHE:CB	3.8
A:331	PHE:CD2	3.75
A:334	TYR:CB	3.66

Taula 10

Fotografia de les interaccions 1EVE- Fàrmac 3:

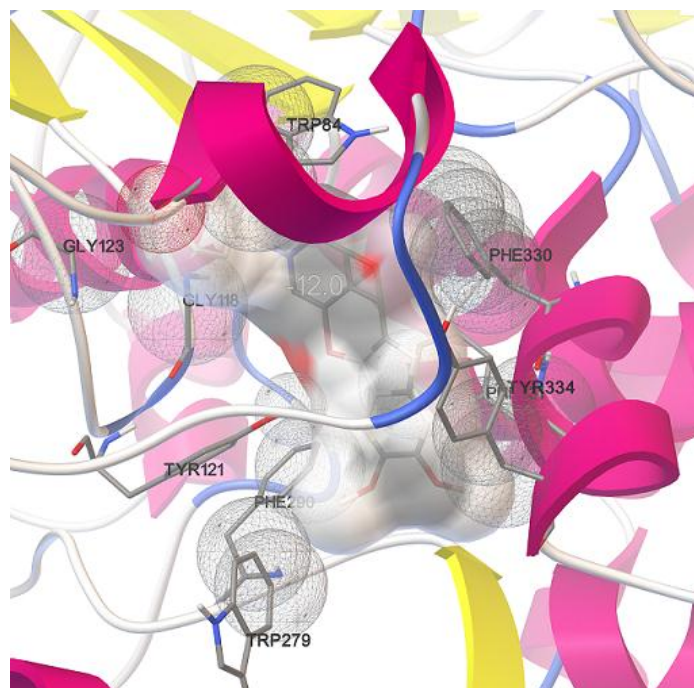


Fig. 45: Imatge general del receptor-ligand.

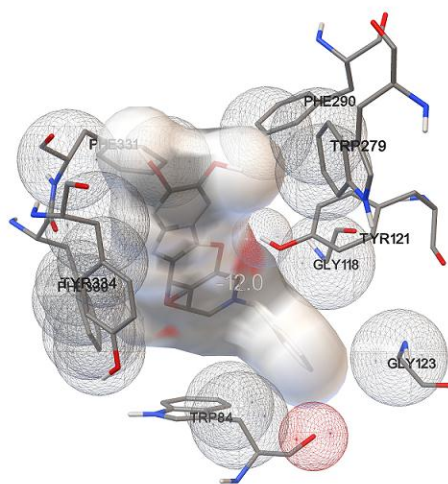


Fig. 46: Fàrmac amb els Aminoàcids de la proteïna en què interaccionen.

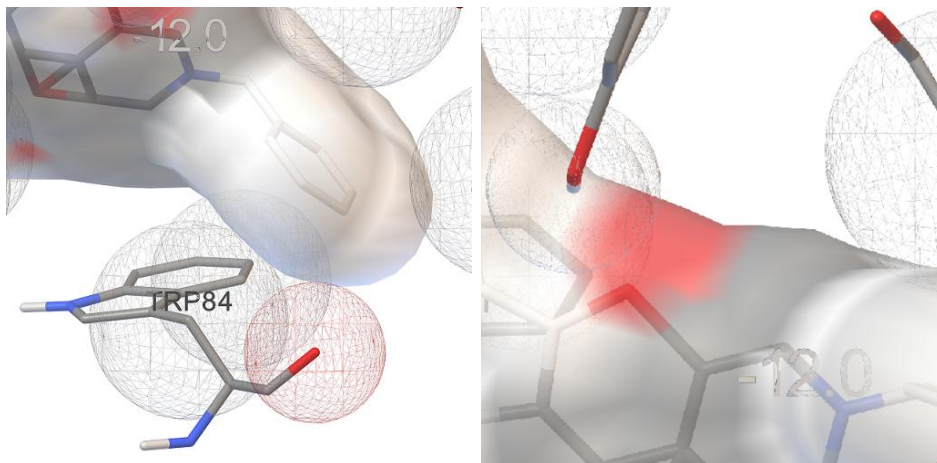


Fig. 47: Possible interacció per formar un Hbond amb l'Aa. TRP84.

Fig. 48: Possible interacció per formar un Hbond per el Fàrmac.

El Fàrmac 3 conté un grup hidroxil que pot actuar com a donador i / o acceptor de ponts d'hidrogen.

Podem veure, a la Fig. 45, les diferents interaccions que es produeixen entre la proteïna ACE i el Fàrmac 3. El confòrmer més estable té una energia superior al medicament inicial de  $-12.0$  kcal / mol.

La Fig. 46 és una visió general de les interaccions sense l'estructura secundària. La Fig. 47 ens indica una possible interacció per part de la proteïna per formar un pont d'hidrogen. La Fig. 48 mostra un possible pont d'hidrogen que no es pot fer a la zona de color vermell (oxigen) del medicament. Encara que les Interaccions Hidrofòbiques siguin 37 (una menys que al Donepezil) tenen un Ebinding inferior perquè s'uneix amb més força a través de les interaccions electrostàtiques.

## Fàrmac 4:

Aquesta és l'estructura molecular del medicament derivat de Rivastigmine. La seva fórmula molecular és  $C_{24}H_{27}F_2NO_3$ .

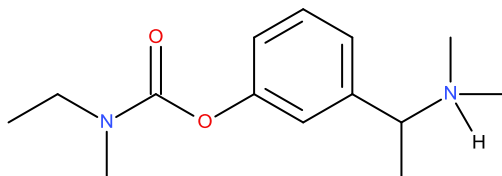


Fig. 49

Les Ebinding dels millors confòrmers del Fàrmac 4 són les següents:

Confòrmers	Afinitat(Kcal/mol)
1	-7.8
2	-7.4
3	-7.2
4	-7.2
5	-7.2
6	-7.2
7	-7.1
8	-7.1
9	-7.0

Taula 11

Seguidament es mostren totes las interaccions hidrofòbiques.

Interaccions Hidrofòbiques 1EVE y Fàrmac 4.		
Nº Aminoàcid (Aa.)	Aa. i Carboni que s'uneix	Distància (Å)
A:330	PHE:CD1	3.89
A:334	TYR:CD1	3.86
A:331	PHE:CA	3.85
A:331	PHE:CD2	3.61
A:334	TYR:CB	3.47
A:334	TYR:CG	3.63
A:330	PHE:C	3.81
A:330	PHE:CD1	3.85
A:334	TYR:CG	3.82
A:334	TYR:CD1	3.73
A:334	TYR:CB	3.45
A:334	TYR:CG	3.61
A:334	TYR:CD2	3.77
A:334	TYR:CD2	3.68
A:334	TYR:CE2	3.74
A:334	TYR:CG	3.82



A:334	TYR:CD2	3.53
A:84	TRP:CB	3.36
A:84	TRP:CD1	3.87
A:84	TRP:CD1	3.61
A:330	PHE:CE1	3.73
A:330	PHE:CE2	3.83
A:330	PHE:CZ	3.39
A:334	TYR:CB	3.55
A:334	TYR:CB	3.66
A:290	PHE:CE1	3.76
A:279	TRP:CZ3	3.75
A:279	TRP:CH2	3.87

Taula 12

Fotografia de les interaccions 1EVE- Fàrmac 4:

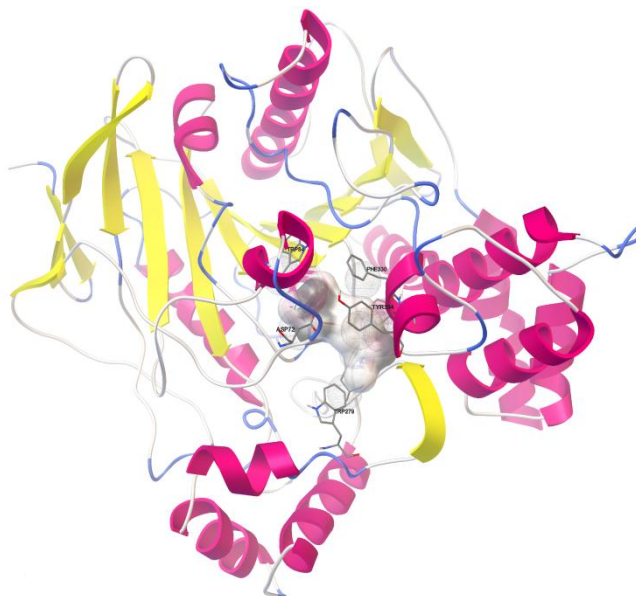


Fig. 50: Imatge general del receptor-ligand.

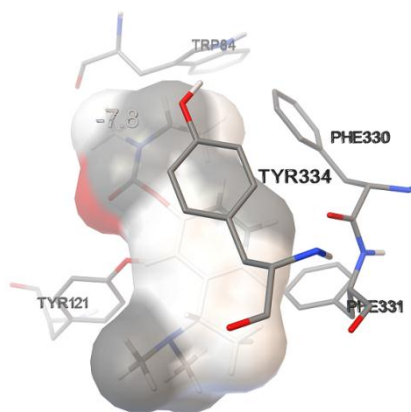


Fig. 51: Fàrmac amb els Aminoàcids de la proteïna en què interaccionen.

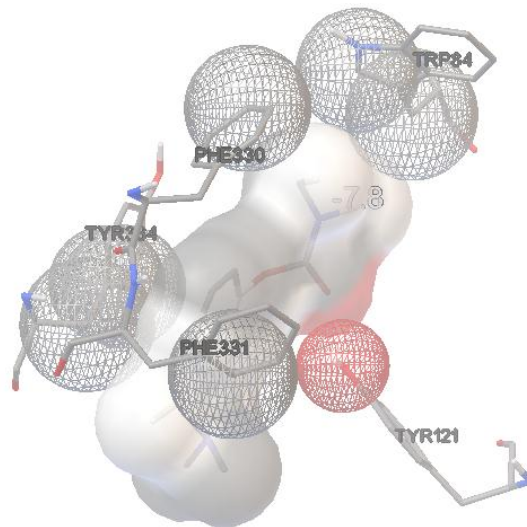


Fig. 52: Possible interacció entre OH-O per formar un Hbond de part de la proteïna i del Fàrmac. També hi han vàries interaccions hidrofòbiques.

A diferència de la Rivastigmine, el Fàrmac 4 conté un nitrogen quaternari per ser donant de pont d'hidrogen. Volia provar si era possible, amb un radical petit, canviar la disposició, l'enllaç d'unió amb la proteïna. Aquests han estat els resultats:

Podem veure, a la Fig. 50, les diferents interaccions que es produeixen entre la proteïna ACE i el Fàrmac 4. En les taules de dades trobem les Ebinding dels 9 confòrmers i les Interaccions Hidrofòbiques que es produeixen en el bloqueig. El confòrmer més estable té una energia de -7.8 Kcal / mol, variant molt poc respecte al medicament inicial.

La Fig. 51 és una visió general de les interaccions sense l'estructura secundària. La Fig. 52 veiem que la petita variació ha provocat que el pont d'hidrogen no es produeixi tot i que en ambdues parts s'aprecia la possibilitat de formar-se.

Sembla estrany que, perdent el pont d'hidrogen de la Rivastigmine, el Fàrmac 4 superi la Ebinding augmentant una dècima la seva valor.

**Fàrmac 5:**

Aquesta és l'estructura molecular del medicament. La seva fórmula molecular és  $C_{12}H_{15}F_3N_2O_2$ .

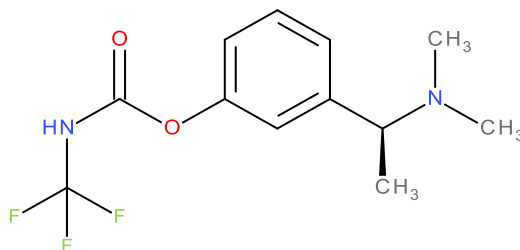


Fig. 53

Les Ebinding dels millors confòrmers del Fàrmac 5 són les següents:

Confòrmers	Afinitat(Kcal/mol)
1	-8.8
2	-8.7
3	-8.7
4	-8.7
5	-8.7
6	-8.6
7	-8.4
8	-8.3
9	-8.2

Taula 13

Seguidament es mostren totes les interaccions hidrofòbiques.

Interaccions Hidrofòbiques 1EVE y Fàrmac 5.		
Nº Aminoàcid (Aa.)	Aa. i Carboni que s'uneix	Distància (Å)
A:330	PHE:CD1	3.89
A:334	TYR:CD1	3.86
A:334	TYR:CB	3.77
A:334	TYR:CG	3.79
A:331	PHE:CA	3.85
A:331	PHE:CD2	3.61
A:334	TYR:CB	3.47
A:334	TYR:CG	3.63
A:334	TYR:CG	3.75
A:334	TYR:CD1	3.78
A:334	TYR:CD1	3.78
A:334	TYR:CE1	3.77
A:334	TYR:CZ	3.86

A:334	TYR:CD2	3.89
A:334	TYR:CE2	3.74
A:334	TYR:CD2	3.48
A:334	TYR:CE2	3.68
A:334	TYR:CB	3.79
A:334	TYR:CG	3.65
A:334	TYR:CD2	3.48
A:334	TYR:CB	3.34
A:334	TYR:C	3.78
A:335	GLY:CA	3.69
A:84	TRP:CG	3.86
A:84	TRP:CD1	3.72
A:84	TRP:CD1	3.59
A:330	PHE:CE1	3.63
A:330	PHE:CZ	3.53
A:84	TRP:CD1	3.71
A:330	PHE:CD2	3.65
A:330	PHE:CE1	3.53
A:330	PHE:CE2	3.05
A:330	PHE:CZ	2.98

Taula 14

Fotografia de les interaccions 1EVE- Fàrmac 5:

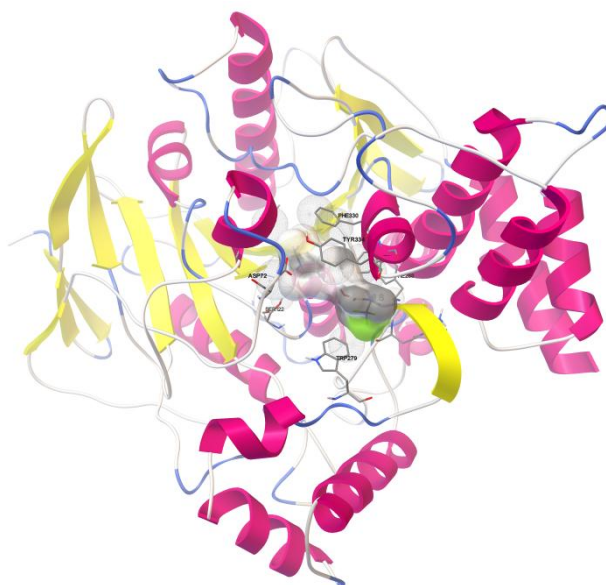


Fig. 54: Imatge general del receptor-ligand.

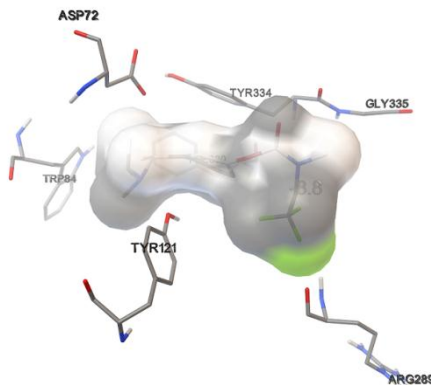


Fig. 55: Fàrmac amb els Aminoàcids de la proteïna en què interaccionen.

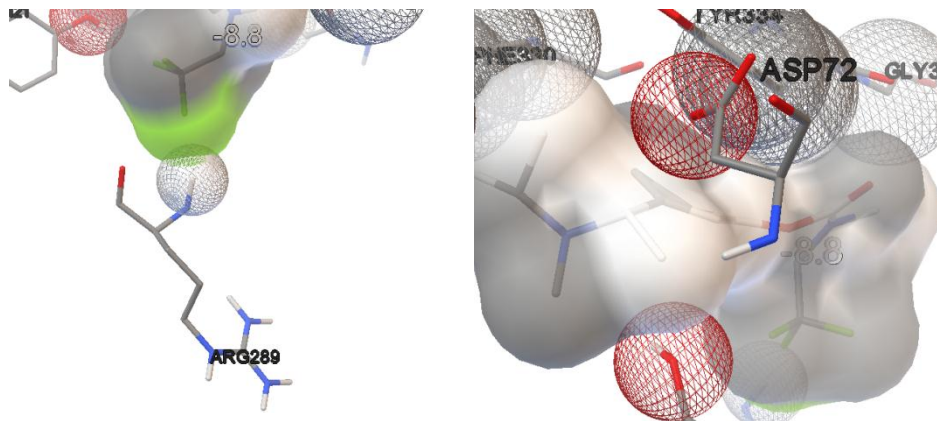


Fig. 56: Possible interacció del F per formar un Hbond.

Fig. 57: Possible interacció del O per formar un Hbond.

El Fàrmac 5 li he eliminat el metil del nitrogen amídic i he substituït el metil pel trifluorur de metil.

Podem veure, en la Fig.33, les diferents interaccions que es produeixen entre la proteïna ACE i el Fàrmac 5. En les taules de dades trobem les Ebinding dels 9 confòrmers i les Interaccions Hidrofòbiques que es produeixen en el bloqueig. El confòrmer més estable té una energia de -8.8 kcal / mol. Ara sí que és superior al medicament inicial.

La Fig. 55 és una visió general de les interaccions sense l'estructura secundària. La Fig. 56 es veu la probabilitat a la zona verda (fluor), per part del medicament, per formar un pont d'hidrogen amb el Aminoàcid arginina ARG289. La Fig. 57 veiem la possibilitat de formar una interacció per part del Aminoàcid ASP72.

El Fàrmac 5 té 1 interacció electrostàtica més que la Rivastigmine però perd el pont d'hidrogen. Tot i això, provoca una disminució de la Ebinding des -7.7 kcal / mol a -8.8 kcal / mol bloquejant millor la ACE.

**Fàrmac 6:**

Aquesta és l'estructura molecular del medicament. La seva fórmula molecular és  $C_{12}H_{15}NO_3$ .

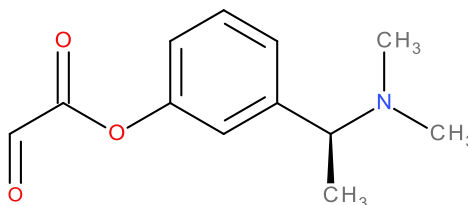


Fig. 58

Les Ebinding dels millors confòrmers del Fàrmac 6 són les següents:

Confòrmers	Afinitat(Kcal/mol)
1	-7.4
2	-7.4
3	-7.3
4	-7.3
5	-7.2
6	-7.1
7	-7.1
8	-7.0
9	-7.0

Taula 15

Seguidament, es mostren totes las interaccions hidrofòbiques.

Interaccions Hidrofòbiques 1EVE y Fàrmac 6		
Nº Aminoàcid (Aa.)	Aa. i Carboni que s'uneix	Distància (Å)
A:331	PHE:CD2	3.7
A:334	TYR:CB	3.85
A:331	PHE:CE2	3.73
A:331	PHE:CD2	3.71
A:334	TYR:CB	3.55
A:334	TYR:CG	3.67
A:331	PHE:CE2	3.7
A:330	PHE:C	3.64
A:330	PHE:CB	3.8
A:330	PHE:CG	3.82
A:330	PHE:CD1	3.61
A:331	PHE:CD2	3.75
A:331	PHE:CE2	3.8
A:331	PHE:CA	3.84
A:331	PHE:CD2	3.57

A:334	TYR:CB	3.74
A:334	TYR:CG	3.74
A:331	PHE:CD2	3.74
A:331	PHE:CE2	3.86
A:331	PHE:CE2	3.8
A:121	TYR:CE2	3.7
A:290	PHE:CE1	3.73
A:290	PHE:CZ	3.68
A:331	PHE:CE2	3.89
A:334	TYR:CB	3.87
A:334	TYR:CB	3.7
A:334	TYR:CD2	3.88
A:290	PHE:CE1	3.66
A:331	PHE:CD2	3.66
A:331	PHE:CA	3.76
A:331	PHE:CB	3.89
A:331	PHE:CD2	3.77
A:334	TYR:CB	3.77

Taula 16

Fotografia de les interaccions 1EVE- Fàrmac 6:

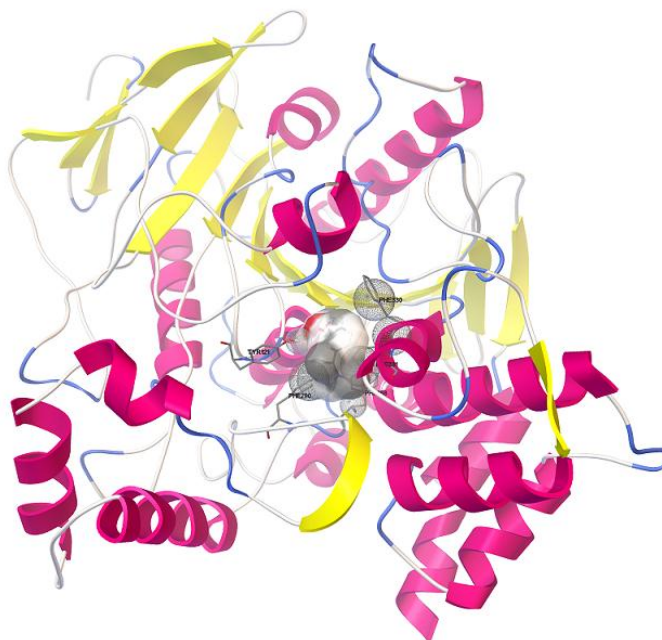


Fig. 59: Imatge general del receptor-ligand.

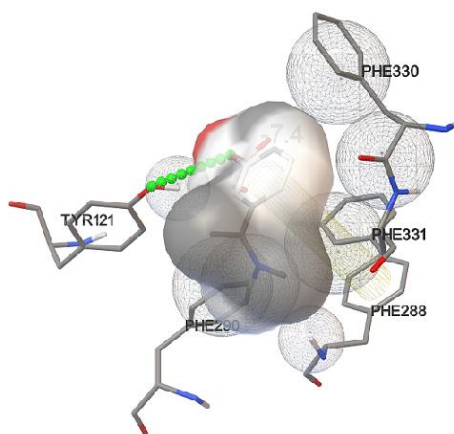


Fig. 60: Fàrmac amb els Aminoàcids de la proteïna en què interaccionen.

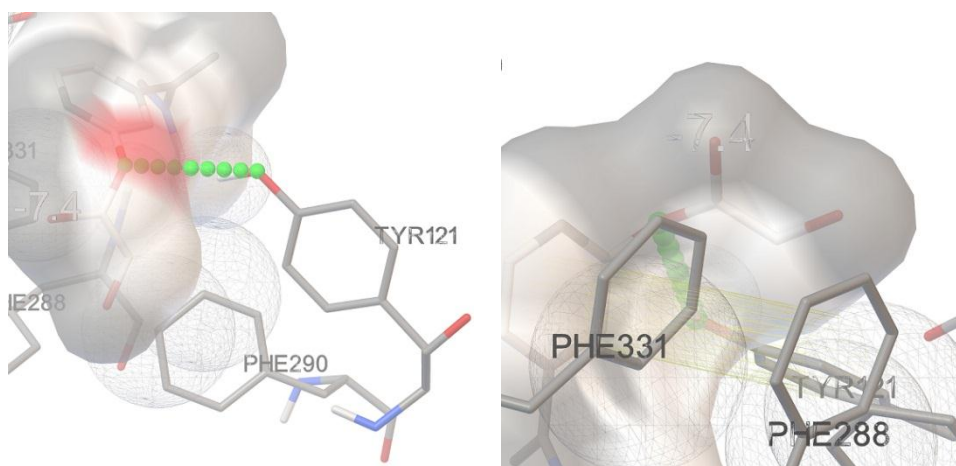


Fig. 61: Pont d'hidrògen entre l'Aminoàcid TYR121 i el Fàrmac.

Fig. 62: Interacció pi-pi de l'Aminoàcid PHE288.

El Fàrmac 6 he canviat el mateix nitrogen amídic del Fàrmac 5 per un grup formil. És per veure si hi ha la possibilitat d'aconseguir un pont d'hidrogen. Aquests han estat els resultats:

Podem veure, en la Fig.59, les diferents interaccions que es produeixen entre la proteïna ACE i el Fàrmac 6. En les taules de dades trobem les Ebinding dels 9 confòrmers i les interaccions Hidrofòbiques que es produeixen en el bloqueig. El confòrmer més estable té una energia de -7.4 kcal / mol. Aquest resultat no és millor que el del medicament inicial.

La Fig. 60 és una visió general de les interaccions sense l'estructura secundària. Hi veiem que hi ha, darrere el pont d'hidrogen, una zona vermella (oxigen) indicant-nos que, per part del medicament, hi ha possibilitat d'interacció. La Fig. 61 veiem que es manté el pont d'hidrogen del Fàrmac inicial. La Fig. 62 es produeix una interacció pi-pi per part del Aminoàcid PHE288.

El Fàrmac 6, en canviar l'estructura, té possibilitat d'interacció amb el grup formal aldehid. En unir-se de forma diferent amb la proteïna, no es pot produir la interacció per falta d'Aminoàcids al seu voltant.



### **3.7.Discussió**

#### **3.7.1.Repercussió de les modificacions proposades sobre la manera d'unir-se i l'afinitat del compost per la diana**

Hi han diversos factors a comentar en veure els diferents Fàrmacs que he proposat i calculat amb el Donepezil i la Rivastigmine.

En els derivats del Donepezil, he pogut observar que les interaccions electrostàtiques i els enllaços pi-pi afavoreixen l'estabilitat dels Fàrmacs en unir amb la proteïna ACE. Només cal veure que, en els tres Fàrmacs, s'han mantingut les interaccions o hi ha hagut un increment en elles.

El Donepezil té una interacció electrostàtica d'oxigen amb l'Aminoàcid PHE 331 i també un enllaç pi-pi amb l'Aa. TRP84. El Fàrmac 1, el millor dels tres, manté una interacció electrostàtica d'oxigen però amb l'Aa. TYR121, i incorpora una interacció de fluor amb l'Aa. PHE330. El Fàrmac 2 té una interacció electrostàtica d'oxigen amb l'Aa. TYR121 i també dos enllaços pi-pi amb els Aminoàcids TRP84 i el TYR70. El Fàrmac 3 té una interacció electrostàtica d'oxigen amb dos possibles Aminoàcids: la glicina GLY 118 o el TYR 121.

Les Interaccions Hidrofòbiques han estat bastant aproximades al Donepezil. Aquest té 38 interaccions mentre que el Fàrmac 1, 2 i 3; 37, 36 i 42 respectivament.

En veure els seus Ebinding, tots els Fàrmacs han superat el Donepezil. Els valors han estat, per part del Donepezil, de -11,6 kcal / mol i els Fàrmacs 1, 2 i 3, de -12.6 -12.4 i -12. kcal / mol respectivament.

De la mateixa manera, en els derivats de la Rivastigmine, es pot treure la mateixa conclusió.

La Rivastigmine té un pont d'hidrogen amb l'Aa. TYR121. El Fàrmac 4, perd el pont d'hidrogen deixant una interacció electrostàtica d'oxigen en el mateix lloc de formació del HBond. El Fàrmac 5, tampoc té un pont d'hidrogen però sí que es forma una interacció electrostàtica de fluor amb l'Aa. ARG289. El Fàrmac 6 manté el pont d'hidrogen i forma un enllaç pi-pi amb el PHE288.

Les interaccions Hidrofòbiques han variat al respecte. La Rivastigmine té 20 interaccions mentre que el Fàrmac 4, 5 i 6; 27, 32 i 32 respectivament.

En veure els seus Ebinding, no tots els Fàrmacs han superat la Rivastigmine. Els valors han estat, per part de la Rivastigmine, de -7,7 kcal / mol i els Fàrmacs 4, 5 i 6, de -7.8 -8.8 i 7.4 kcal / mol respectivament.

Les petites variacions no solen afectar la unió del medicament. En el cas del Fàrmac 4, és l'exemple a destacar. D'altra banda en el Fàrmac 6, he comprovat que, en tenir tants oxígens agrupats en el mateix lloc, produeixen un canvi notable en la manera d'unió amb la proteïna ACE.

En buscar amb insistència la creació de ponts d'hidrogen, ha ajudat en la majoria de casos augmentar les possibilitats d'interaccions, com són el cas del Fàrmac 1 i 5 amb l'element fluor, i el Fàrmac 3 amb l'element oxigen.

## **3.8. Conclusions**

### **3.8.1. Requeriments estructurals per la inhibició de ACE**

### **3.8.2. Avantatges de l'ús de tècniques computacionals en el disseny de medicaments**

### **3.8.3 Limitacions de les tècniques computacionals**

Amb el conjunt d'interaccions amb què el Fàrmac s'uneix amb la proteïna, crec que és necessària, en els dos Fàrmacs, la necessitat d'interaccions electrostàtiques i els ponts d'hidrogen com a referents per a l'estabilitat de la unió. La diana biològica, com he explicat anteriorment, és molt específica i es troba en un espai més limitat en referència a altres proteïnes.

L'avantatge a destacar amb més importància són la quantitat de cribratges que un investigador pot fer sintetitzant molts Fàrmacs. Això li permet treure molta informació en milers d'aspectes. El treball s'ha centrat en localitzar interaccions amb la valoració final del Ebinding per saber l'estabilitat del medicament. Aquestes proves a gran escala mostren quantitat de detalls. L'investigador ha d'aprofitar per anar acotant i buscant els millors compostos per a la malaltia pertinent.

Una d'elles és el temps que es necessita per fer tot el procés i arribar al mercat amb la fiabilitat que el compost és realment bo i amb una garantia total al pacient de la seva efectivitat.

# **4. Les Al·lèrgies**

## **4.1. Introducció**

Una gran part de la població pateix un tipus de malalties que normalment són associades a reaccions del cos que causen una gran molèstia en l'individu. Segons el NIH (National Institute of Health d'Estats Units), les al·lèrgies són reaccions del sistema immunològic cap a alguna cosa que no molesta a la majoria de les persones.

Les al·lèrgies han estat des de sempre un problema per a la societat, ja que com ampliarem a l'interior del treball, des del voltant del 3000 a. de C. un faraó va morir per l'al·lèrgia a una picada d'abella.

Creiem que si es documentessin les causes mortals des d'abans dels Egipcis, de tots els ciutadans, probablement, obtindríem proves que va anar molt més anterior a la primera aparició.

En el nostre treball, l'objectiu és, mitjançant les tècniques que ens ofereix la Química Computacional, analitzar uns compostos, anomenats lligands que, mitjançant uns programes, s'intentaran unir al receptor d'histamina de la forma menys energètica possible per intentar de forma teòrica, bloquejar aquest receptor perquè la histamina no es pugui acoblar a aquest, i no desencadeni les reaccions típiques del tipus d'al·lèrgia que pateixi l'individu.

Provarem de dissenyar un parell de lligands que intentin millorar l'energia amb la qual s'uneixin a la macromolècula<sup>35</sup> del receptor d'histamina H1.

En llenguatge col·loquial, intentarem dissenyar medicaments que teòricament tindrien efectes antihistamínic, és a dir, que quan l'individu entri en contacte amb la substància que li produeix al·lèrgia, en subministrar-li el medicament dissenyat de forma virtual els efectes de la histamina es redueixin o desapareguin del tot.

---

<sup>35</sup> Molècula de pes molecular molt elevada, és a dir, formada per un gran nombre d'àtoms. (Més de 1000 àtoms )

## **4.2. Estudi de las al·lèrgies**

### **4.2.1. Tipus de malaltia**

El grup de les al·lèrgies pertany al grup de malalties del sistema immune (També classificades com a immunològiques.) Els sistemes immunològics són els primers mitjans de defensa del cos humà, i d'aquest grup formen part les cèl·lules especialitzades per identificar als organismes exteriors. El sistema immunològic té el seu propi sistema circulatori, el sistema limfàtic. Els conductes que ho formen (gots limfàtics), transporten els materials de deixalla i les cèl·lules immunològiques en un líquid anomenat limfa.

També formen part d'aquest grup la malaltia d'empelt contra l'amfitrió, les de deficiència immunològica i les autoimmunes.

### **4.2.2. Que afecta?**

Les al·lèrgies afecten a una hormona que si la persona està en contacte amb l'al·lergogen<sup>36</sup> s'allibera i produeix els símptomes típics de cada tipus d'al·lèrgia, que poden ser cutanis, pulmonars, oculars,...

## **2.3. Tipus d'al·lèrgies segons l'origen de la causa (al·lergogen)**

Segons el tipus de substància que no és identificada pel organisme, les podem classificar en 6 tipus:

- Al·lèrgia a aliments: Com pot ser la llet, les maduixes, al plàtan i a l'ou entre les més corrents.
- Al·lèrgia al pol·len: Sobretot en determinades èpoques de l'any.
- Al·lèrgia als àcars: Abunden en coixins i coixins.
- Al·lèrgia a les picades d'insectes
- Al·lèrgia als animals
- Al·lèrgia als metalls: Com al níquel i aliatges de metalls no nobles<sup>37</sup>

---

<sup>36</sup> Substància que produeix l'al·lèrgia a la persona que entra en contacte amb ell, ja que allibera histamina, i activa els receptors d'aquesta.

## **4.3. Antecedents i justificació**

### **4.3.1. Història i repercussió social.**

Els primeres referències a les al·lèrgies estan relacionats al voltant de l'any 3000 a. de C., on, en Egipt, el faraó *Menes*<sup>38</sup> va morir a conseqüència d'una picada de vespa.



Il·lustració : Representació del faraó Menes

Al cap d'uns milers d'anys, l'any 1800 un metge anglès va descriure la rinitis<sup>39</sup> al·lèrgica com un “refredat d'estiu”.

Avui dia, entre el 30 i el 40 % de la població mundial sofreix algun tipus d'al·lèrgia (630 milions de persones), i va en augment, ja que amb la combinació de factors com la higiene, la contaminació de l'aire i l'estil de vida, hi ha moltes més probabilitats que tinguem una al·lèrgia.

Una nova teoria està sortint a la llum, que és que prestem massa atenció a la higiene, i no deixem que el nostre sistema immunològic s'estimuli de forma natural, i així, detecti algunes substàncies com a nocives per causa d'una forta atenció a la higiene.

---

<sup>37</sup> Els metalls nobles són caracteritzats per ser molt inerts químicament, és a dir es combinen molt poc amb altres metalls. De gran interès per a la joieria i la tecnologia. L'or i el platí són exemples d'aquest grup.

<sup>38</sup> Considerat 1r Faraó de l'Antic Egipt i fundador de la dinastia I al voltant de l'any 3050 a. de C.

<sup>39</sup> Tipus d'al·lèrgia associat al pol·len, que afecta les mucoses del nas.

### **4.3.2. Tipus de tractaments farmacològics existeixen avui dia i la seva forma de presentació.**

Veure Apèndix 8.7.

### **4.3.3. Necessitat de nous fàrmacs**

Avui dia, existeix la necessitat d'obtenir nous fàrmacs relacionats amb les al·lèrgies, ja que és un problema molt greu en la societat actual, segons la WAO (Organització Mundial de les Al·lèrgies), entre un 30 i 40 % de la població mundial pateix una o més al·lèrgies.

El camí que obriria un nou fàrmac amb la capacitat d'eliminar de forma permanent el problema de les al·lèrgies, ja que anar injectant vacunes periòdicament no pot ser una solució final, ja que s'ha de seguir investigant en aquest tema, perquè tres de cada deu humans pateixen una o més tipus d'al·lèrgies.

## **4.4. Objectiu de la monografia**

### **4.4.1. Estudi de la diana terapèutica (Histamina H1)**

La nostra diana terapèutica que anem a analitzar és el receptor de Histamina H1, en aquest apartat del treball explicarem les característiques de la nostra macromolècula receptor:

### **4.4.2. Història de la Histamina**

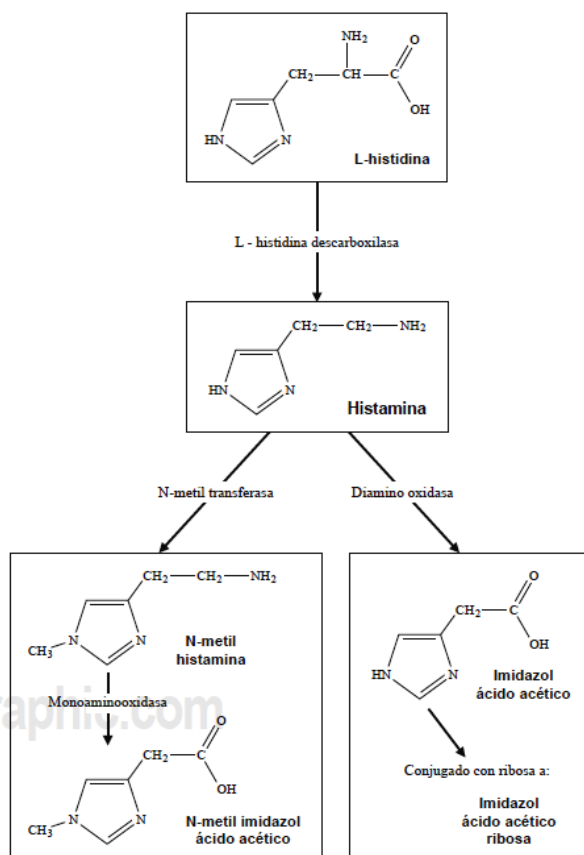
Veure Apèndix 8.9.

### **4.4.3. Síntesi i metabolisme de la histamina**

Com ja hem explicat en el punt anterior, la histamina va ser aïllada en 1907. En els últims anys s'ha descobert el procés de síntesi i el corresponent metabolisme.

El metabolisme de la proteïna que produeix les reaccions al·lèrgiques en estar en contacte amb el receptor adequat (Receptor H1 en el nostre cas) es resumeix en l'esquema de la pàgina següent:

Il·lustració : Esquema de la síntesi i metabolisme de la histamina. Procedent de: *Article de revisió: Histamina, receptors i antagonistas. José Montes Montes, José Flores Flores i Enrique Alfonso Barrón, Publicat a la Revista Médica de l'Hospital General de Mèxic, S. S*





### **Explicació de l'esquema:**

La histamina es sintetitza partint de la L-histidina descarboxilasa, que perd el grup àcid d'un dels finals i passa a histamina. Després, la histamina es divideix en N -metil transferasa i a Dinamo oxidasa. La N-metil transferasa es descompon en Monoaminoxidasa i passa a ser finalment N-Metil imidazol àcid acètic. Com podem veure, aquesta substància, té l'àcid acètic com a radical del cicle pentà, a més d'un metil en posició 3 del compost ciclat.

Aquesta mateixa substància, apareix en l'altra part de la divisió de la histamina, que, conjugat amb ribosa, s'obté Imidazol àcid acètic ribosa.

#### **4.4.4 Mecanisme d'acció de la histamina:**

Veure Apèndix 8.4.

#### **4.4.5. Localització i funció dels receptors**

Veure Apèndix 8.8.

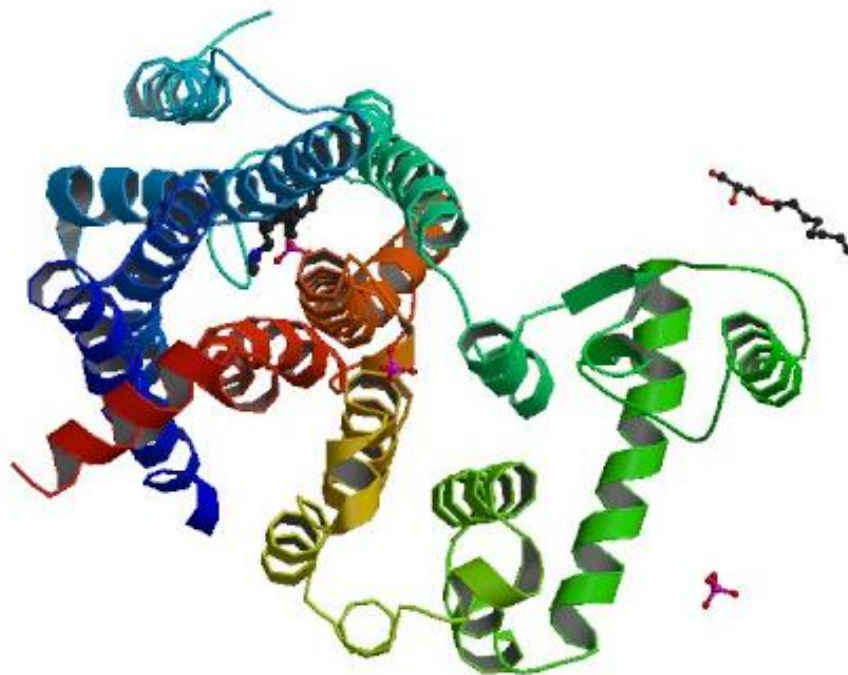
#### **4.4.6. Clasificació dels antihistamínics H1**

Veure Apèndix 8.3.

### **4.5. Treball:**

#### **4.5.1. Estudi de la diana biològica i el seu substrat natural**

El receptor d'histamina H1, és una macromolècula que es troba de forma natural en el cos humà, i que si l'individu està en contacte amb l'al·lèrgogen que produeix la reacció al·lèrgica, aquest al·lèrgogen, fa que el cos alliberi histamina, que va a parar al receptor d'histamina H1, que fa que el cos reaccioni de forma exagerada, com pot ser inflamació, coïssor, taquicàrdia, ...

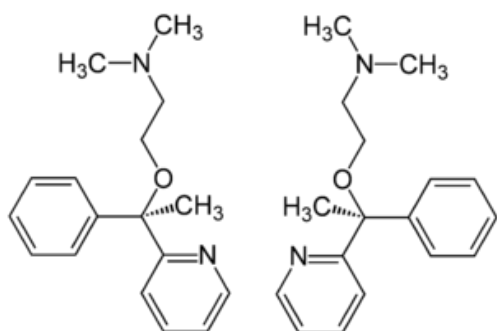


Il·lustració : Esquema de les estructures secundàries del receptor d'histamina H1 amb els seus respectius lligands. A baix a la dreta es pot distingir de color rosa el primer lligand que hem utilitzat, un dels grups fosfats (PO<sub>4</sub>)

#### 4.5.2. Estudi dels medicaments antihistamítics existents.

A continuació anem a posar exemples de medicaments antihistamítics que existeixen al mercat actual, i el principi actiu del com estan formats.

- Medicament 1: *Cariban*, de *Laboratoris Inibisa*, que conté com a principi actiu Doxilamina Succinato, administrat en forma de càpsules dures, contenint 10 mg del principi actiu.

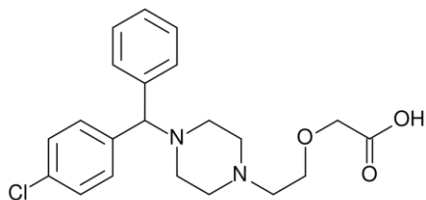


Il·lustració : Esquema del principi actiu Doxilamina



Il·lustració : Medicament *Cariban*, de *Laboratoris Inibisa*.

- Medicament 2: Cetirizina, de Kern Pharma, un genèric, que conté cetirizina com a principi actiu, contenint 10 mg del principi actiu presentats en forma de càpsules recobertes amb pel·lícula. Considerat de segona generació al no provocar somnolència.



Il·lustració : Esquema del principi actiu Cetirizina

Il·lustració : Medicament genèric Cetirizina

### 4.5.3. Estudi del docking de la unió dels medicaments.

#### 4.5.3.1. Presentació del receptor

Macromolècula usada com a receptor: Receptor **d'histamina H1 humà**.

Aquesta proteïna presenta les següents característiques:

Polímer, de 452 aminoàcids, amb només una cadena d'aminoàcids. Hidrolasa.

Extreta de l'espècie humana i del virus bacteriòfag *T4 entero bacteria*, un virus que infecta bacteris *E.coli* i que posseeix unes característiques úniques, amb una alta velocitat de còpia de l'ADN en el seu cicle bacterià, amb només un error cada 300 còpies.

#### 4.5.3.2. Presentació dels lligands existents i els afegits

Veure Apèndix 8.1.

### 4.6. Resultats.

### **4.6.1. Introducció als resultats**

Com ja hem explicat anteriorment, la nostra proteïna que anem a analitzar-li els dockings és el receptor d'histamina H1, el qual, té 452 aminoàcids i 4 lligands de forma natural (un d'ells repetit 3 vegades).

En aquest apartat, anem a explicar els diferents dockings<sup>40</sup> que hem realitzat, mitjançant 2 programes informàtics. Un, l'AutoDock Tools i l'altre, el Ligand Explorer, el qual, com podrem veure més endavant, té uns gràfics menys desenvolupats, però podem observar totes les interaccions hidrofòbiques de forma més clara i simple que en l'AutoDock, que té molt bons gràfics, però la forma d'interpretar les interaccions formades entre lligand i proteïna és més complexa.

Per tant, mitjançant aquests 2 programes, anem a analitzar els 7 dockings amb els 7 diferents lligands que tenim i/o hem dissenyat.

### **4.6.2. Descripció del lloc actiu.**

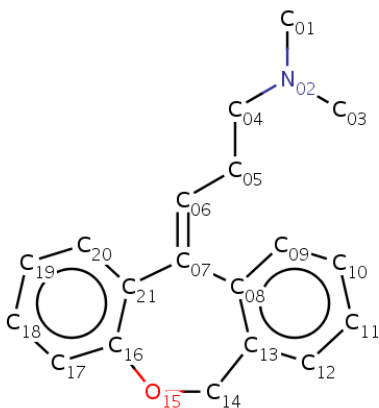
Veure Apèndix 8.10.

### **4.6.3. Estudi dels tres millors dockings de la Diana Biològica amb els lligands presents.**

#### **4.6.3.1. Docking lligand 5EH**

Aquest lligand, es compon de 42 àtoms, de caràcter neutre, i un pes molecular de 279.38 g/mol. Els diferents àtoms s'uneixen amb 44 enllaços, 12 d'ells aromàtics.

La fórmula d'aquest compost és  $C_{19}H_{21}NO$ .

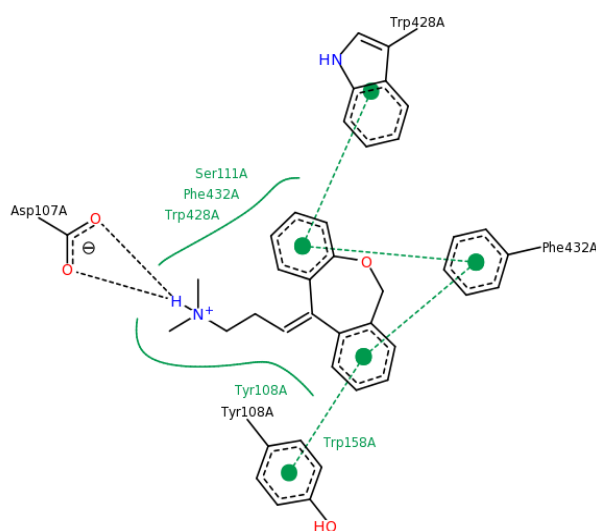


<sup>40</sup>El concepte *Docking* està exp

## Il·lustració : Esquema del lligand 2 5EH

En completar el docking amb la nostra proteïna receptor general (Receptor d'histamina H1), veiem que es enllaça dins de l'única cadena del receptor (nomenada com a cadena A ), formant ponts d'hidrogen amb l'aminoàcid ASP107 , i interaccions hidrofòbiques amb els aminoàcids TYR108, PHE432 i TRP428.

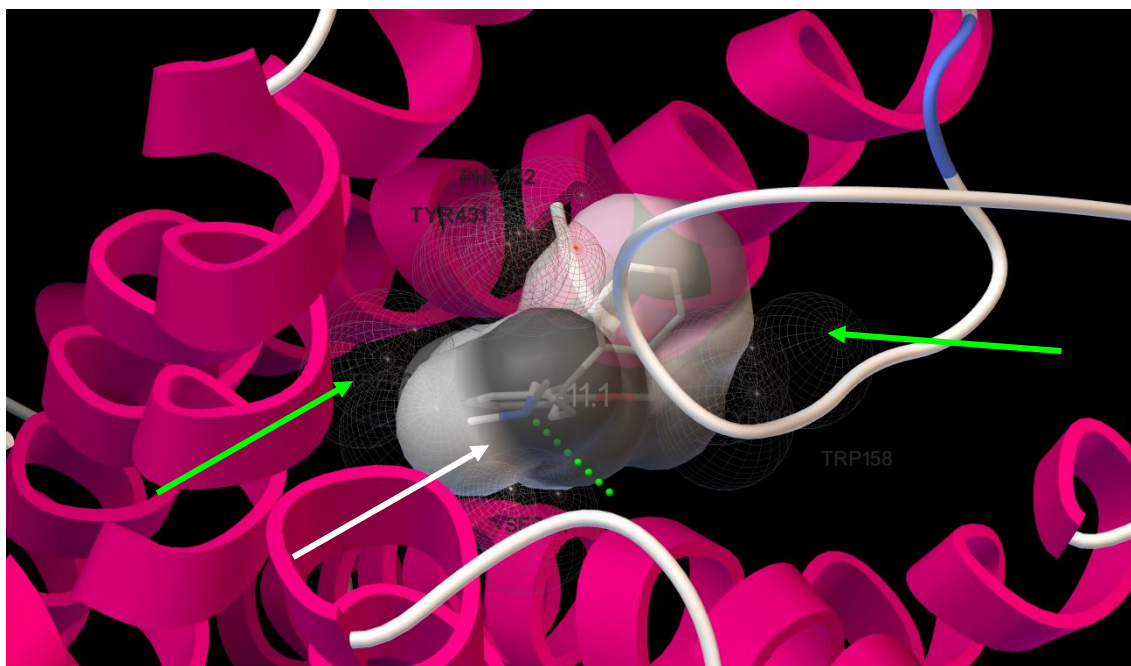
Això mateix, ho podem observar en la fotografia següent.



Il·lustració : Esquema de les interaccions que manifesta aquest lligand 5EH amb els aminoàcids que li envolten en el lloc actiu del receptor d'Histamina H1

Mitjançant el programa AutoDockTools, podem observar les interaccions que es produeixen entre el lligand i la proteïna. Com en totes les fotos, la línia de punts verds, són els ponts d'hidrogen, i la superfície en 3D pintada de color blanc, són les zones on actua el lligand, en el centre catalític de la molècula.

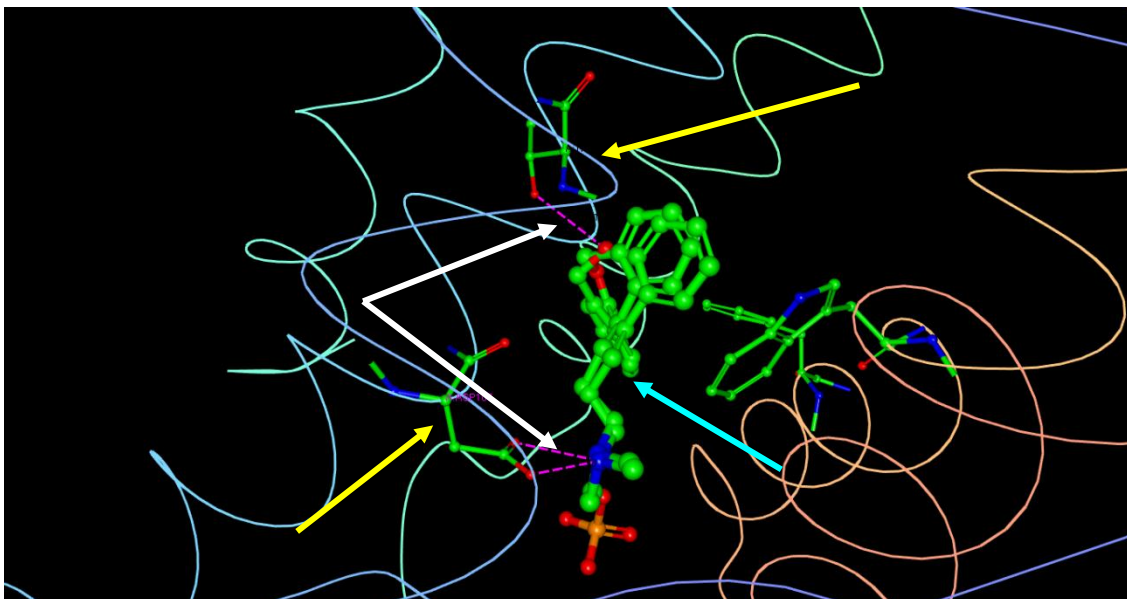
En color rosa, apareix l'estructura secundària de les proteïnes, en forma de  $\alpha$ -hèlix. Les línies de color blanc es refereixen a la primera estructura de les proteïnes, la qual cosa representa una seqüència d'aminoàcids.



Il·lustració : Docking amb el lligand 5EH i el receptor d'histamina H1, com es poden veure les interaccions del lligand en color blanc-gris, assenyalades amb una fletxa blanca i les interaccions que forma la proteïna en boles incolores de línies, assenyalades amb una fletxa verda. Els punts verds signifiquen el pont d'hidrogen que es forma entre lligand i receptor.

Tal com podem observar, apareix el lligand dins de la superfície de color blanc-gris i el valor que correspon a l'afinitat química ( en Kcal/mol ) amb la qual s'ha unit el lligand a la proteïna.

En gris, estan els noms dels aminoàcids que hem nomenat amb anterioritat.



Il·lustració : Fotografia del programa Ligand Explorer, amb el qual podem visualitzar els punts d'hidrogen formats, de color rosa, i assenyalats mitjançant fletxes de color blanc. També es poden observar els aminoàcids que causen aquests enllaços, que els hem assenyalat de color groc. Retolat amb una fletxa blava, assenyalem el lligand 5EH, enantiòmer del D7V, per sota d'aquest.

També podem observar, d'una altra forma, la unió entre els aminoàcids que es troben al voltant de nostre lligand 5EH, i la respectiva formació dels punts d'hidrogen amb línies roses.

Com es pot veure, existeix un altre tipus de lligand, sota el que ens ocupa, molt similar, però amb característiques diferents, tal com analitzarem en el punt següent.

Així que una vegada completats els passos necessaris per executar el docking, només haurem d'esperar al fet que l'ordinador i el programa ens diguin els resultats.

En aquest cas, el programa només troba una conformació adequada, per tant, només tenim un resultat.

Config.	Afinitat (Kcal/mol)
1	-11.1

Taula : Resultats del docking 2. Amb el lligand 5EH i el receptor d'histamina H1.

Com podem veure, aquest lligand obté una afinitat mínima de -11.1, valor, que està molt bé, comparant-ho amb el lligand anterior, el  $\text{IPO}_4$ , que només obtenia -3.1.

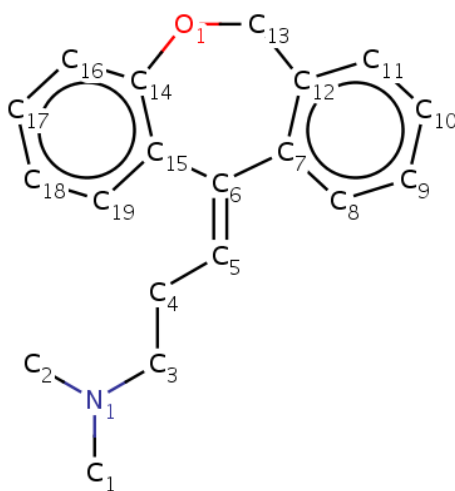
Aquest valor ho considerem que està molt bé perquè aconseguim una afinitat química (concepte explicat en els apèndixs) molt baixa, i amb aquest lligand es podrien començar a buscar variants per intentar desenvolupar un medicament que tingués com a principi actiu aquesta substància.

I, intentar millorar farmacèuticament el medicament perquè, en el cas d'acceptar-ho com a fàrmac, hauria de recórrer totes les proves corresponents, la seva eficàcia fos relativament alta, i no com en el lligand  $1 \text{ PO}_4$  que aconseguim una afinitat mínima de -3.1, que és molt baixa, i creiem que la seva eficàcia com a medicament seria pràcticament nul·la.

#### 4.6.3.2. Docking lligand D7V

Aquest lligand, es compon de 42 àtoms, de caràcter neutre, i un pes molecular de 279.38 g/mol. Els diferents àtoms s'uneixen amb 44 enllaços, 12 d'ells aromàtics.

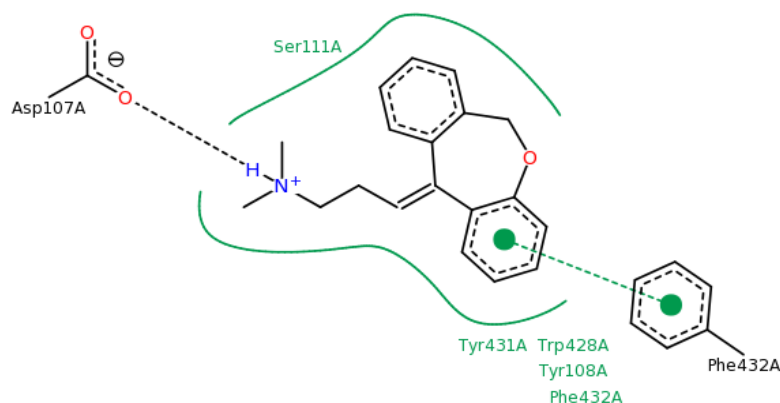
La fórmula d'aquest compost és  $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}$ . Si ens fixem bé, aquest lligand és el enantiòmer del lligand anterior. Si els sobreposem, veiem que encaixen i a més, tenen una localització molt similar en la configuració del docking.



Il·lustració : Esquema del lligand D7V.



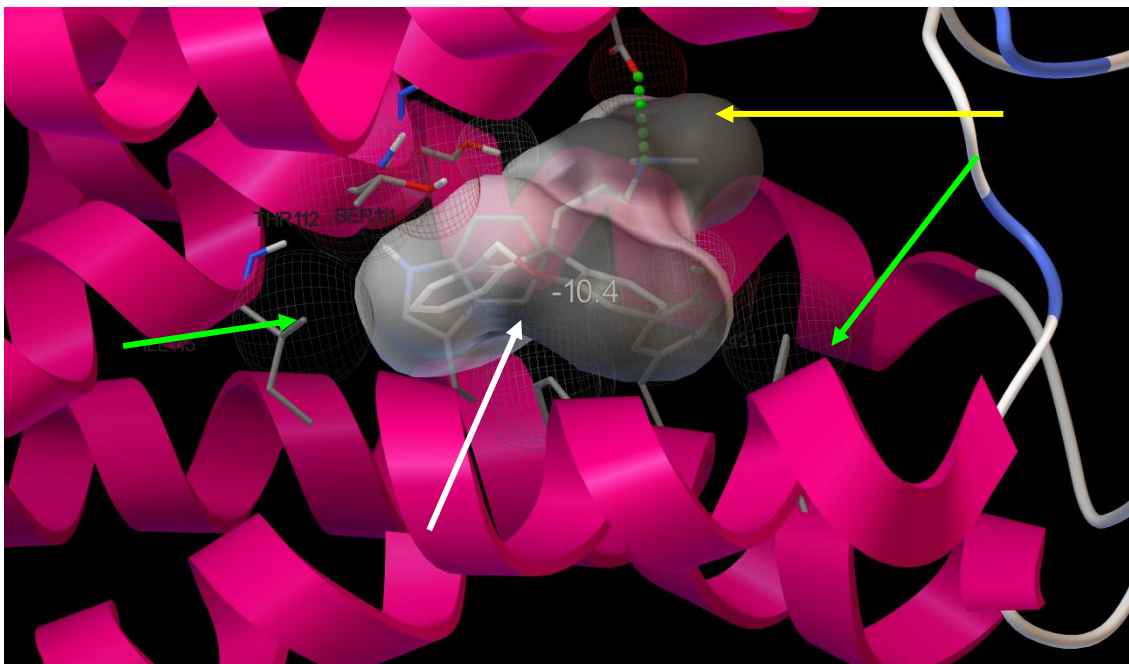
En completar el docking amb la nostra proteïna receptor general (Receptor d'histamina H1), veiem que s'enllaça dins de l'única cadena del receptor (nomenada com a cadena A ), formant un pont d'hidrogen amb l'aminoàcid ASP107 i interaccions hidrofòbiques amb els aminoàcids SER111, TYR431, TRP428, TYR108 i PHE432.



Il·lustració : Esquema de les diferents interaccions que es produeixen en el lligand D7V

Mitjançant el programa AutoDockTools, podem observar les interaccions que es produeixen entre el lligand i la proteïna. Com en totes les fotos, la línia de punts verds, són els ponts d'hidrogen, i la superfície en 3D pintada de color blanc, són les zones on actua el lligand, al centre catalític de la molècula.

En color rosa, apareix l'estructura secundària de les proteïnes, en forma de  $\alpha$ -hèlix. Les línies de color blanc es refereixen a la primera estructura de les proteïnes, la qual cosa és una seqüència d'aminoàcids.

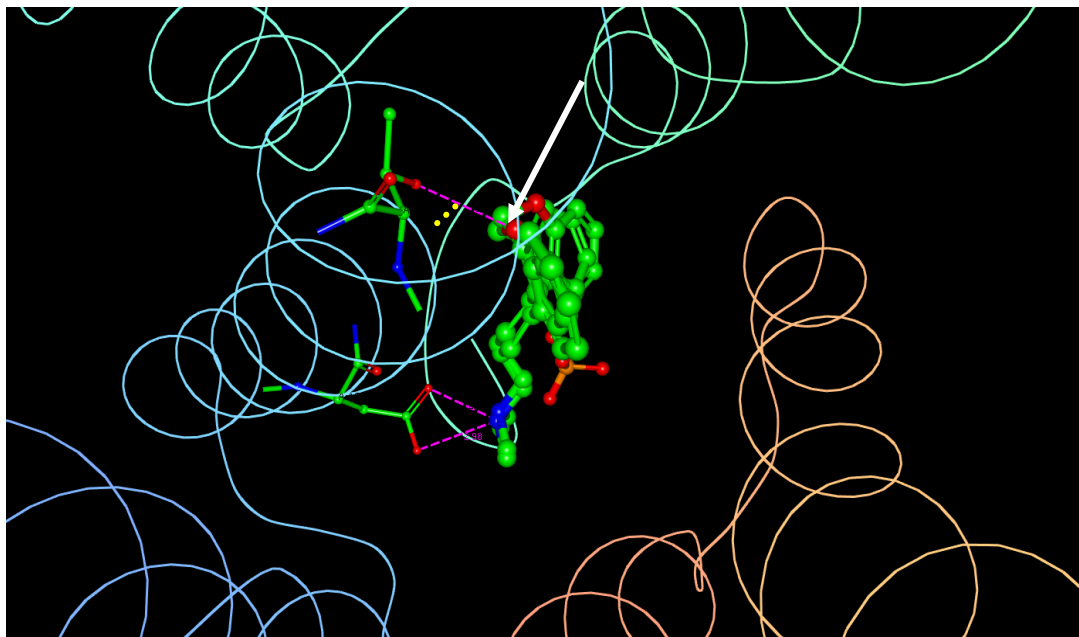


Il·lustració : Fotografia del programa AutoDockTools, on es poden observar les interaccions entre lligand i proteïna.

Marcat amb una fletxa blanca podem observar les interaccions que forma el lligand, i amb una fletxa verda i, les interaccions que forma la proteïna en les boles de línies. Els punts successius que apareixen a la part superior de la foto, és un pont d'hidrogen, que està assenyalat amb una fletxa de color groc.

Tal com podem observar, apareix el lligand dins de la superfície de color blanc-gris i el valor que correspon a l'afinitat química ( en Kcal/mol ) amb la qual s'ha unit el lligand a la proteïna.

La línia de punts és l'únic punt d'hidrogen que es forma, tal com vèiem en l'esquema anterior. En gris, estan els noms dels aminoàcids que hem nomenat amb anterioritat.



Il·lustració : En aquesta foto es pot observar les interaccions lligand-receptor que formen amb el programa Ligand Explorer. Amb una fletxa blanca es pot observar els ponts d'hidrogen, representats amb línies roses a la foto. El lligand està marcat de color groc. Els espirals que es formen al voltant de la foto, són les estructures secundàries de les proteïnes plegades en l'espai en forma de  $\alpha$ -hèlix.

També podem observar, d'una altra forma, la unió entre els aminoàcids que es troben al voltant de nostre lligand D7V, i la respectiva formació dels ponts d'hidrogen amb línies roses.

Com es pot veure, existeix un altre tipus de lligand, al costat del que estem analitzant, com ja hem dit, enantiòmer del lligand anterior.

Mitjançant el programa AutoDock Tools, podem executar un docking amb nostre lligand en qüestió i de forma automàtica, que el programa ens doni uns resultats amb les millors posicions del lligand dins de l'àrea limitada<sup>41</sup> dins de la proteïna receptor general.

Així que una vegada completats els passos necessaris per executar el docking, només haurem d'esperar al fet que l'ordinador i el programa ens diguin els resultats.

---

<sup>41</sup> Àrea limitada, al programa s'usa el terme GridBox.

En aquest cas, el programa només troba una conformació adequada, per tant, només tenim un resultat.

Config.	Afinitat (Cal/mol)
1	-10.40

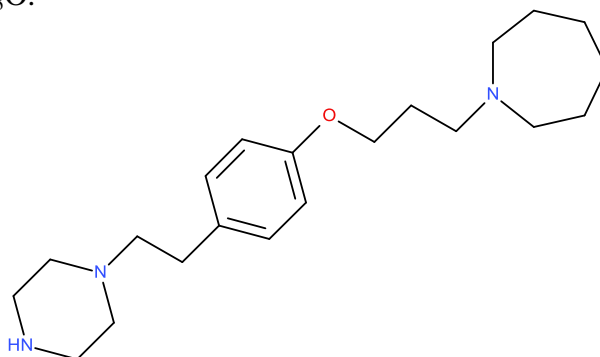
Taula : Afinitats del docking del lligand D7V  
amb el receptor d'Histamina H1

Aquest lligand té una afinitat mínima de -10.40, resultat que és una mica major que l'anterior, però no en quant a valor que li donem. Aquest resultat, és 0.70 Kcal/mol inferiors que l'anterior, que la seva millor i única conformació, era de -11.10.

Si volguéssim sintetitzar on medicament amb el lligand D7V com a principi actiu (recordem que aquest està de forma natural amb la proteïna), hauríem d'analitzar millor aquest, ja que en tenir una afinitat química bona, es podrien analitzar els dockings i intentar aconseguir millors resultats.

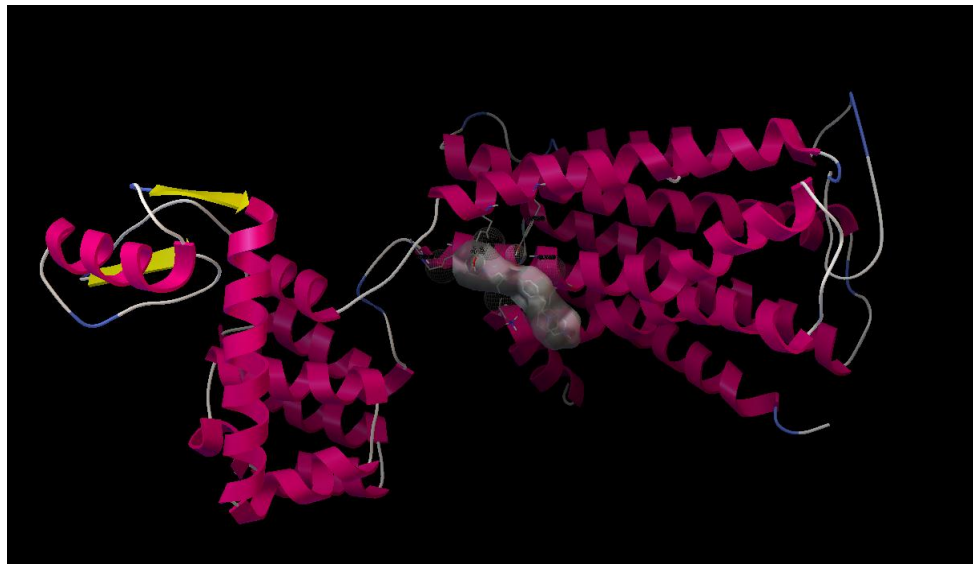
#### **4.6.3.3. Docking lligand Nou (MOD2)**

El segon lligand modificat que interpretarem (Recordem que els altres lligands estan interpretats en els apèndixs.) és una cadena de carbonis amb cicle hexens en les puntes, i un benzè en el mig de la cadena. Es compon de 60 àtoms, amb 1 donant d'hidrògens i 4 acceptors d'hidrògens. El seu pes molecular és de 345.52 g/mol, i la seva fórmula és  $C_{21}H_{35}N_3O$ .



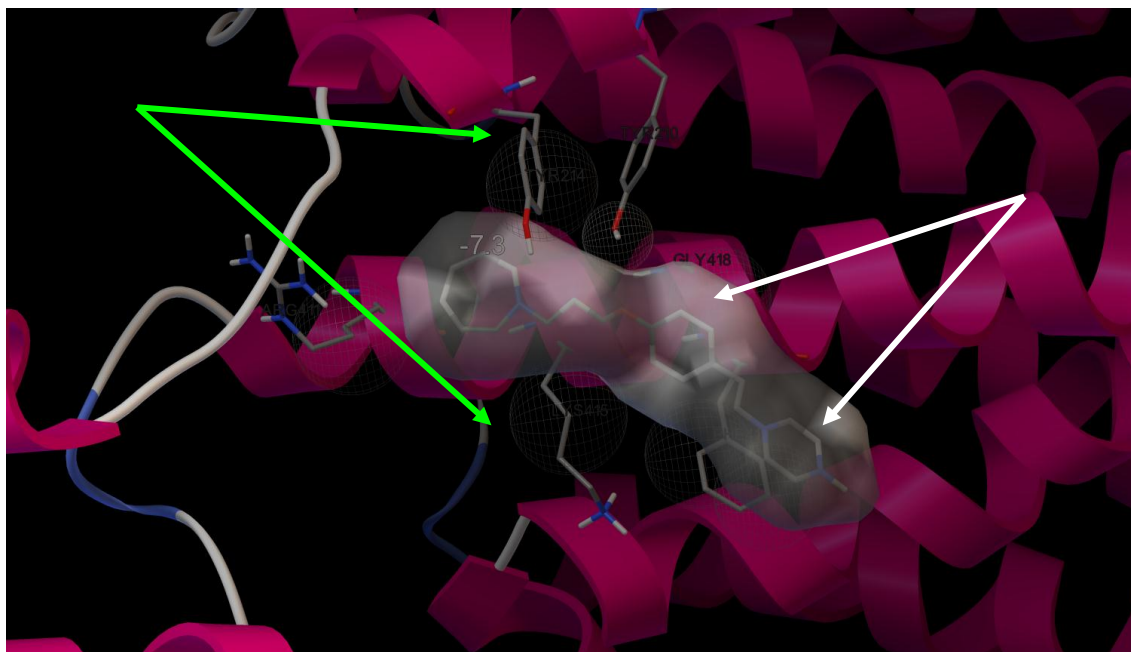
Il·lustració : Esquema del lligand MOD2

En executar el docking amb el receptor d'Histamina H1, s'enllaça dins de la cadena única, i forma interaccions amb els aminoàcids ARG411, TYR214, GLY418, LYS415, PHE419 i TYR210. Com veurem en les següents imatges:



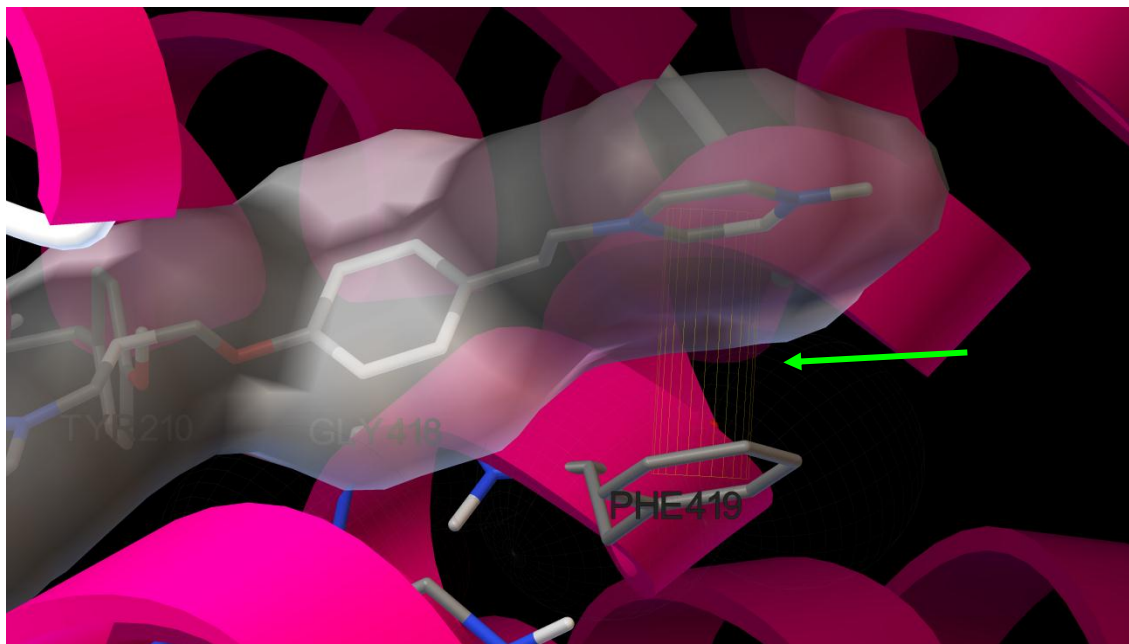
Il·lustració : Vista general del docking del lligand.

En la següent foto veiem el detall de les interaccions que es formen entre lligand i el receptor d'histamina H1.



Il·lustració : En aquesta foto generada pel programa AutoDock Tools, veiem les interaccions entre lligand i receptor. Les fletxes blanques assenyalen les interaccions que forma el lligand, i les verdes, les interaccions que forma el receptor. En gris, es poden arribar a distingir els noms dels aminoàcids que formen les interaccions.

També es formen enllaços  $\pi$ - $\pi$ . Aquests enllaços són els que es formen per superposició dels orbitals que formen part d'enllaços covalents. Aquest detall, ho podem veure a la foto següent.



**Il·lustració :** Detall dels enllaços  $\pi$ - $\pi$ . Es representen mitjançant un cilindre de línies discontinües grogues, i assenyalat a la foto amb una fletxa de color verd. Es formen mitjançant un benzè de l'aminoàcid PHE419 i el benzè de la punta del lligand MOD2.

Quan llancem el docking, i esperem que l'ordinador acabi de processar els seus càlculs (al voltant dels 4/5 minuts), ens dóna el resultat corresponent a les diferents conformacions que fa el programa.

Config.	Afinitat (Kcal/mol)
1	-7.3
2	-6.5
3	-6.4
4	-6.3
5	-6.3
6	-6.0
7	-5.8
8	-5.7
9	-5.6

Taula : Afinitats del docking del lligand MOD2 i el receptor d'Histamina H1

Com veiem la mínima afinitat assolida per aquest MOD2 és de -7.3, la tercera millor afinitat electrònica dels lligands.

Amb aquest, i futurs estudis, es podria arribar a aconseguir elaborar un medicament antihistamínic, que tingué els efectes correctes.

#### 4.6.4.3. Comparació gràfica entre els diferents dockings i lligands.

Taula de dades amb les comparacions entre els dockings.

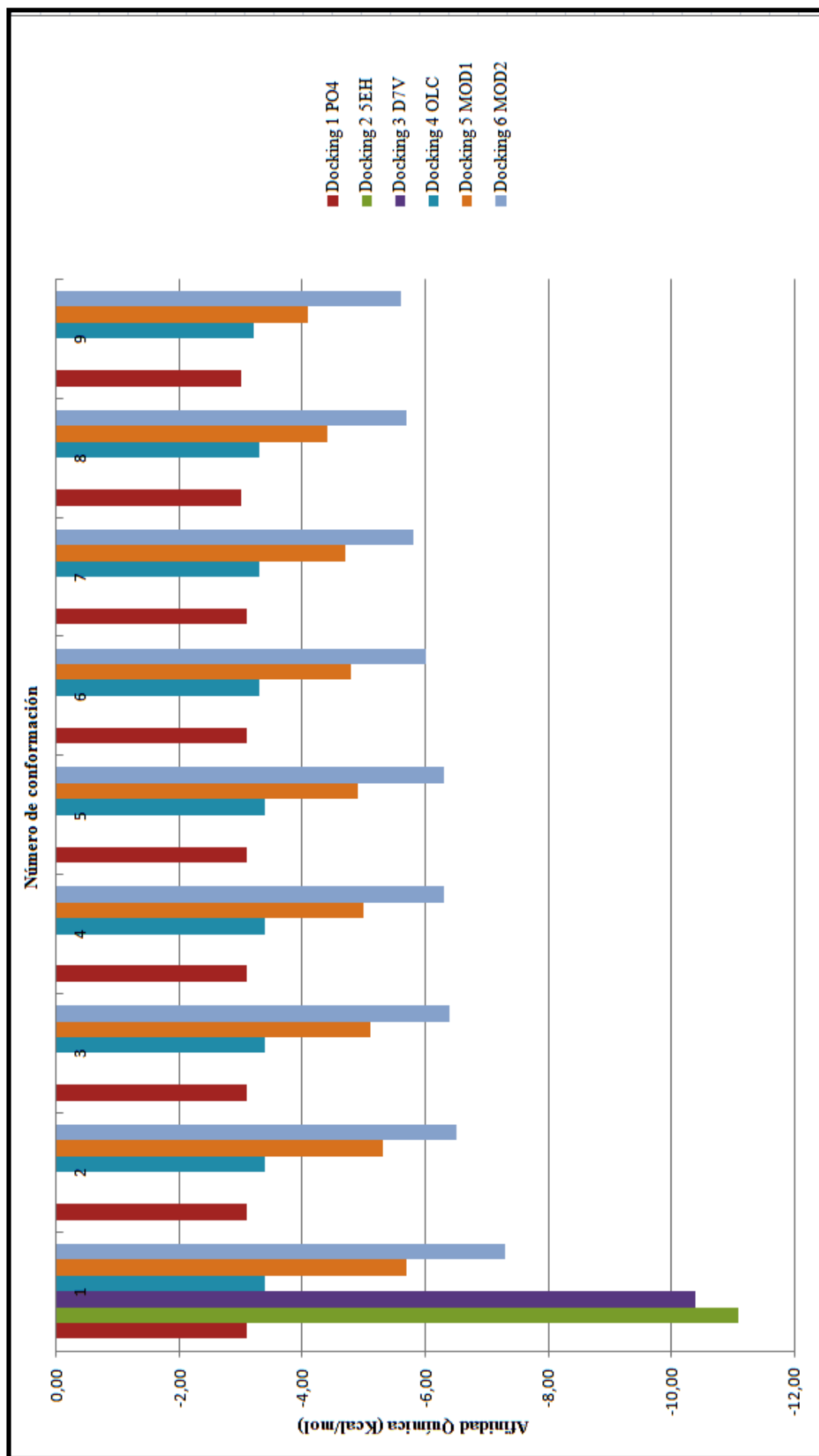
Tots els valors són **afinitats químiques**, les unitats de les quals són **Kcal/mol**.

Config	Docking 1 PO4	Docking 2 5EH	Docking 3 D7V	Docking 4 OLC	Docking 5 MOD1	Docking 6 MOD2
1	-3,10	-11,10	-10,40	-3,40	-5,70	-7,30
2	-3,10			-3,40	-5,30	-6,50
3	-3,10			-3,40	-5,10	-6,40
4	-3,10			-3,40	-5,00	-6,30
5	-3,10			-3,40	-4,90	-6,30
6	-3,10			-3,30	-4,80	-6,00
7	-3,10			-3,30	-4,70	-5,80
8	-3,00			-3,30	-4,40	-5,70
9	-3,00			-3,20	-4,10	-5,60

Taula : Comparació de totes les afinitats químiques dels dockings executats

Amb aquestes afinitats, elaborem un gràfic comparatiu de les diferents conformacions.

Com veiem, només 4 dels 6 dockings executats arriben a les 9 conformacions, i els 2 millors només tenen una conformació. Això, ens fa pensar en l'especificitat dels medicaments, que només tenen una proteïna amb la qual encaixar, i ens apropa a la idea de Paul Ehrlich, la bala màgica. (Explicat en la classificació dels antihistamínics H1, Apèndix 8.3.)





## **4.7.Conclusions**

### **4.7.1.Arguments per demostrar per què els medicaments són actius en la malaltia estudiada, les al·lèrgies**

Com hem pogut comprovar, mitjançant les tècniques de docking que ens ofereix la Química Computacional, i els lligands que hem dissenyat i analitzat, hem vist que depenent de les característiques del lligand s'obtenen més o menys afinitats químiques, per tant, el lligand té millor o pitjor característiques antihistamíniques.

Les conclusions que podem treure del nostre treball són que hem dissenyat una molècula amb hipotètiques propietats antihistamíniques, que té una afinitat semblant a les incorporades en la molècula, i per tant amb millors propietats com a fàrmac. La nostra molècula, anomenada MOD2 (segona modificació) forma enllaços de més forts que els anteriors, i enllaços pi-pi entre els anells benzènics que completen el nostre receptor d'Histamina H1.

També podem dir que si aïléssim químicament nostre lligand que està de forma natural en la proteïna, el lligand 5EH, el lligand que té la millor afinitat de totes, podríem arribar a generar un nou medicament de caràcter antihistamínic.

Les molècules estudiades en el punt 6.3. tenen hipotètiques propietats antihistamíniques perquè, si unim un dels millors lligands al receptor, si s'alliberés histamina en estar en contacte amb l'al·lèrgogen, el receptor, en estar bloquejat per un dels tres lligands, no causaria cap reacció al·lèrgica en l'individu, i per tant, ho considerariem antihistamínic.

Hem comprovat, que amb els nostres coneixements inicials sobre modelització molecular, hem dissenyat una molècula amb propietats antihistamíniques, per tant, si investigadors apostessin per la modelització molecular, és un avanç per a la farmacologia, ja que en comptes de dissenyar-los en l'ordinador, i provar les seves característiques químiques en el laboratori, i esperar setmanes i mesos al fet que receptor i molècula s'unissin sense cap interferència és molt complicat, i amb aquests programes, es pot avançar molt ràpid, ja que en qüestió de dies pots haver analitzat

milers de molècules diferents, i no com en el laboratori, on probablement, amb el mateix temps haguessis analitzat dues o tres molècules.

Cal donar molta importància a una ciència, la Química Computacional, que està en auge, i més ho va a estar de cares al futur.

# 5. EL VIH

## **5.1.Introducció**

Tot va començar el 5 de juny de 1981, quan la CDC<sup>42</sup> va descriure cinc casos de pneumònia a Los Angeles, al cap d'unes setmanes es van diagnosticar casos de Sarcoma de Kaposi<sup>43</sup>. Els metges de l'època coneixien els dos tipus de malalties, però no coneixien l'aparició de les dues malalties conjuntes (la majoria de malalts eren homes homosexuals). Els anàlisis de sang duts a terme amb aquests pacients van mostrar una falta de cèl·lules de la sang anomenades T CD4+. La majoria dels malalts van morir després de pocs mesos.

Al 1982 la malaltia va ser batejada amb el nom de *Acquired Immune Deficiency Syndrome* (AIDS), en espanyol es tradueix com a Síndrome de la Immunodeficiència Adquirida per l'home (SIDA). Fins 1984 es van sostenir diferents teories sobre les possibles causes d'aquelles malalties; la teoria més recolzada, era que es tractava d'una malaltia epidemiològica. Actualment la teoria sustenta que la SIDA és produïda pel virus VIH que prové dels simis i el nom dels quals és *virus d'immunodeficiència en simis* (SIV).

Finalment en 1984, dos científics francesos, Françoise Barré-Sinoussi i Luc Montaigner, van aïllar el virus de la SIDA i després de l'aïllament en el 1986 va ser batejat amb el nom de VIH<sup>44</sup>. Després del descobriment del virus, els científics van desenvolupar un anticòs per identificar els infectats i van començar les investigacions sobre possibles tractaments i vacunes.

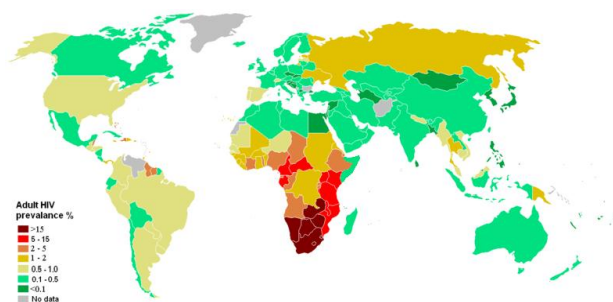
Actualment hi ha dos virus que causen la SIDA en els humans, perfectament diferenciats, el VIH-1 i el VIH-2. El primer deriva dels ximpanzés, el virus propi dels quals és el SIVcpz. El VIH-2 procedeix dels micos d'Àfrica Occidental, que prové del virus SIVsm. El més comú i amb més éssers humans infectats és el VIH-1.

---

<sup>42</sup>Centers of Disease Control and Prevention (Centres per al Control i Prevenció de malalties)

<sup>43</sup> Tipus de càncer de pell

<sup>44</sup> Virus d'immunodeficiència humana



**Figura 1.** Percentatge d'adults infectats per la SIDA (per països)<sup>45</sup>

Actualment, al món hi ha milions de persones infectades per aquest virus letal, per això la recerca de fàrmacs eficaços contra aquest virus és contínua i intensa i ha estat un dels motius que m'ha impulsat a intentar dissenyar un fàrmac virtual eficaç contra el HIV. El segon motiu ha estat seguir la tradició començada per una monografia que va realitzar un antic alumne de la nostra escola, Pau Machado<sup>46</sup>, avui metge, i que va consistir també en el disseny d'un fàrmac virtual, al que ell va denominar el 607 en honor de Paul Ehrlich i que va guanyar el Premi especial Santiago Ramón y Cajal<sup>47</sup>, atorgat en commemoració del centenari de la concessió del Premi Nobel a Don Santiago Ramón y Cajal, el Certamen de Joves Investigadors<sup>48</sup>.



**Figura 2.** Paul Ehrlich<sup>49</sup>

<sup>45</sup> Fotografia de [http://commons.wikimedia.org/wiki/file:HIV\\_Epidem.png?uselang=és](http://commons.wikimedia.org/wiki/file:HIV_Epidem.png?uselang=és).

<sup>46</sup> Pau Machado Granados alumne de 2<sup>o</sup> de batxillerat en 2006. Autor del treball EL 607: molècula antiretroviral. Estudi QSAR de molècules TIBO. Teràpia computacional.

<sup>47</sup> Històleg espanyol (1852-1934) i Premi Nobel de Medicina 1906.

<sup>48</sup> <http://www.injuve.es/formacion/noticia/jovenes-investigadores-premiados>

<sup>49</sup> Imatge d'[http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1908/ehrllich-bio.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1908/ehrllich-bio.html).

En els últims anys els inhibidors de proteasa estan experimentant un desenvolupament important en l'àmbit del tractament de malalties infeccioses, com la SIDA. El medicament contra el VIH-1 ha d'actuar en la proteasa perquè la inhibició d'aquest enzim és una diana important per solucionar la multiplicació vírica i la possible infecció de tots els T CD4+<sup>50</sup>.

Per trobar un medicament per a la inhibició de l'enzim ho realitzarem amb l'ajuda de les tècniques de la química computacional.

La finalitat d'aquesta monografia és dissenyar un fàrmac virtual per combatre la malaltia letal. Donar arguments per demostrar que els medicaments són actius en la malaltia i finalment la importància de les tècniques computacionals per al descobriment de nous medicaments més actius per la malaltia.

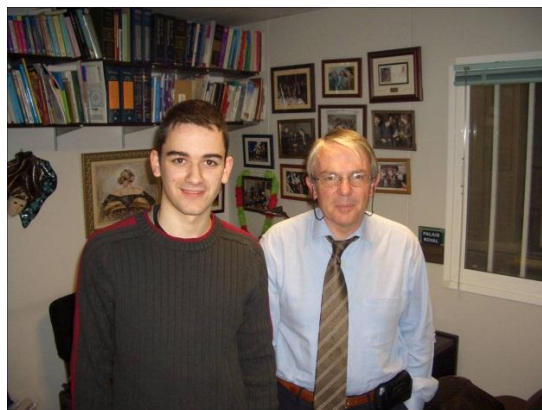


**Figura 3.** Els descobridors del VIH, Françoise Barré-Sinoussi i Luc Montagnier, de l'Institut Pasteur de París.<sup>51</sup>

---

<sup>50</sup>Són un subgrup de limfòcits que tenen gran importància per establir i maximitzar les capacitats de defensa de el sistema immunitari.

<sup>51</sup> Fotografia en <http://drhalimahali.wordpress.com/category/aids/>



**Figura 4.** Pau Machado i Josep Maria Gatell (màxim exponent de malalties infeccioses de l'Hospital Cínic de Barcelona).

## **5.2.Mecanisme d'estudi del VIH**

### **5.2.1 Objectius**

La monografia té com a primer objectiu l'estudi de la diana terapèutica, anomenada proteasa del VIH-1, que és inhibida per alguns medicaments actuals. Per realitzar l'estudi de la unió de la proteasa amb el medicament ho farem amb les eines de la química computacional.

Utilitzarem quatre programes de química computacional per a la preparació, realització i anàlisi de la tècnica Docking utilitzant com a receptor la proteasa del virus de la SIDA i com lligands el medicament Saquinavir i molècules derivades d'aquesta estructura que es dissenyaran en aquesta monografia. El programa Symyx Draw 4.0 s'utilitzarà per al dibuix bidimensional dels lligands, *Open Babel 1.3.2* transformarà l'estructura en un model tridimensional i afegirà els hidrògens. La suite de programes *AutoDockTools 1.5.6 rc3* s'utilitzarà per a la preparació dels arxius .PDBQT d'entrada del Docking i per a l'anàlisi de resultats. Finalment el programa *AutoDock Vina 1.1.2* serà l'encarregat de realitzar de manera ràpida i eficient l'acoblament molecular del lligand al receptor mitjançant els algorismes de Docking implementats.

Finalment, amb totes les afinitats de les noves molècules realitzarem un estudi dels canvis bioquímics que es troben en les seves interaccions.

Podríem definir que l'objectiu principal de la monografia és la modelització molecular del VIH amb l'ajuda de tècniques de química computacional.

### **5.2.2 Cicle del virus**

El VIH és un virus que no té la capacitat de replicar-se per si mateix, per això és necessari la intervenció d'una cèl·lula on parasitar, aquesta cèl·lula és la T CD4+. El virus en el seu cicle de replicació té 6 fases ben diferenciades:



- 1) Acoblament, unió al coreceptor i fusió: el virus s'uneix a la superfície de la cèl·lula infectada amb l'ajuda dels receptors, després hi ha la unió de les membranes i el virus injecta a l'interior de la cèl·lula el seu material genètic.
- 2) Transcripció inversa: amb l'ajuda de la proteïna transcriptasa inversa el virus converteix el seu ARN de cadena simple amb ADN de doble cadena.
- 3) Integració: mitjançant la proteïna integrasa s'incorpora l'ADN viral a l'ADN de la cèl·lula infectada.
- 4) Assemblatge: una vegada generades les cadenes de proteïnes virals, la proteïna anomenada proteasa divideix aquestes cadenes en petites proteïnes. Provocant la unió de l'ADN en la càpsida.
- 5) Gemmació: el nou virus ensamblat sorgeix (brolla) de la cèl·lula portant-se una part de la membrana cel·lular.

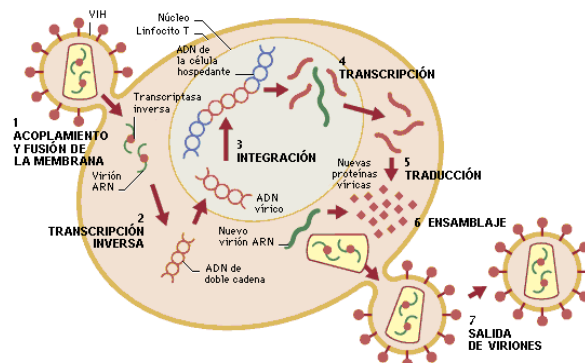


Figura 5. Cicle de replicació del VIH<sup>52</sup>

## 2.3 Els medicaments

Un medicament és una substància que, administrada interior o exteriorment a un organisme animal, serveix per prevenir, guarir o alleujar la malaltia i corregir o reparar les seqüeles d'aquesta<sup>53</sup>.

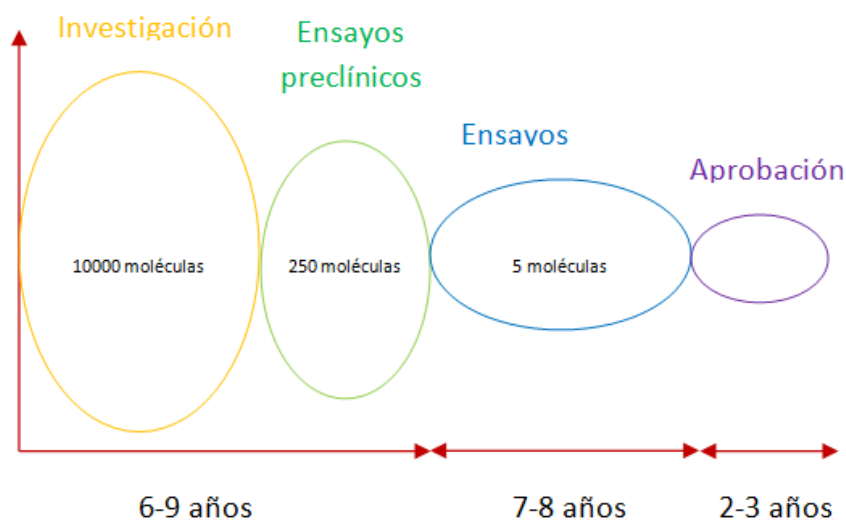
<sup>52</sup> Imatge de <http://lacienciaysusdemonios.com/2011/02/28/el-disenador-poco-inteligente-vi-pan-para-hoy-hambre-para-manana/>.

<sup>53</sup> Definició extreta de <http://lema.rae.es/drae/>.

Podem classificar els medicaments per les seves característiques:

- Segons la seva via d'administració (formulació):
  - Oral, parenteral, rectal, tòpica, etc.
- Segons la seva activitat biològica (farmacodinàmica):
  - Inhibidor d'un enzim
  - Inhibidor d'un receptor de membrana
  - Bloquejador d'un canal iònic
- Segons la seva “durada” en el cos (farmacocinètica):
  - Pro-Fàrmacs: el seu metabolisme té acció terapèutica.
  - D'acció ràpida: actuen directament sobre l'organisme.
  - D'acció lenta: la molècula està retinguda en una matriu polimèrica o nano partícula i s'allibera al cos a poc a poc.

A continuació observem una gràfica amb el temps necessari per a l'aprovació del medicament és a dir, el temps entre la investigació i la comercialització del medicament.



**Figura 6.** Gràfica que mostra el temps d'aprovació d'un medicament.

## 2.4 La lluita contra el VIH

Els medicaments contra el VIH els podem classificar segons la proteïna que és inhibida:

- Inhibidors de la transcriptasa inversa anàlegs de nucleòsid/nucleòtid (ITIN/ITINT)
- Inhibidors de la transcriptasa inversa no anàlegs de nucleòsid (ITINN)
- Inhibidors de la proteasa
- Inhibidors de fusió
- Inhibidors de la integrasa

El principal problema d'aquests medicament, és que el virus acaba acostumant-se als medicaments i provocant que el medicament no acabi actuant com a inhibidor. Aquest problema es deu a la rapidesa amb el qual el virus es reproduïx i amb l'immens nombre de descendents, apareixen mutants resistents.

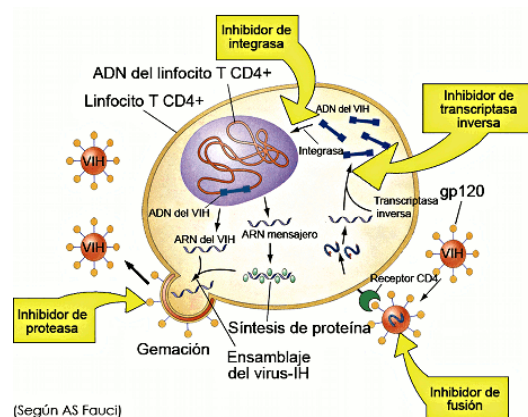


Figura 7. Tipus d'inhibidors del VIH, durant el cicle de la replicació del virus<sup>54</sup>

### 2.4.1 Inhibidors de la transcriptasa inversa anàlegs de nucleòtid

<sup>54</sup> Il·lustració en [http://www.aids-info.ch/espv1/hiv\\_aids/therapie.htm](http://www.aids-info.ch/espv1/hiv_aids/therapie.htm)

Són medicaments que inhibeixen la transcriptasa inversa del virus per un mecanisme competitiu amb els nucleòtids fisiològics, que afecten únicament amb petits canvis en la molècula (la ribosa). Els ITIAN s'incorporen a la cadena d'ADN viral, i provoquen la seva interrupció impedit el seu allargament i, com a conseqüència, la replicació viral.

### **2.4.2 Inhibidors de la transcriptasa inversa no anàlegs de nucleòsid**

Són medicaments que inhibeixen la transcriptasa inversa del VIH per un mecanisme no competitiu. Constitueixen un grup que s'uneixen directament i de manera reversible al centre catalític de la transcriptasa inversa o en un lloc proper, provocant un canvi conformacional en l'enzim i inhibint la seva activitat, tant la dependent del DNA com del RNA.

### **2.4.3 Inhibidors de fusió**

Són fàrmacs que inhibeix la fusió de la coberta viral del virus amb la membrana cel·lular, impedit la penetració del contingut viral en els limfòcits.

### **2.4.4 Inhibidors de la integrasa**

Fàrmacs que impedeixen l'acció de la integrasa, selectius únicament a el VIH. Són eficaços antiretrovirals i s'ha demostrat aquesta eficàcia en règims sense anàlegs de nucleòsids, però sempre en combinació. El tractament amb inhibidors de integrasa afavoreixen la recuperació de T CD4 més ràpida.

### **2.4.5 Proteasa del VIH**

Els inhibidors de la proteasa bloquegen la proteasa del virus, impedit la maduració de les proteïnes virals i inhibint de forma potent la replicació viral. La proteasa del VIH és un enzim codificat en el VIH. Es codifica una proteïna de 99 aminoàcids i per tenir funció han d'unir-se dues molècules iguals per obtenir la proteasa. Aquest enzim actua sobre dues proteïnes Gag i Gag – Pol. El trencament de la proteïna Gag produeix tres proteïnes majors que formen part del centre del virus, i tres proteïnes petites, amb activitat durant el procés d'exportació viral. L'activitat enzimàtica sobre la Gag – Pol produeix les proteïnes amb la següent activitat enzimàtica: transcriptasa revers, integrasa i la mateixa proteasa.

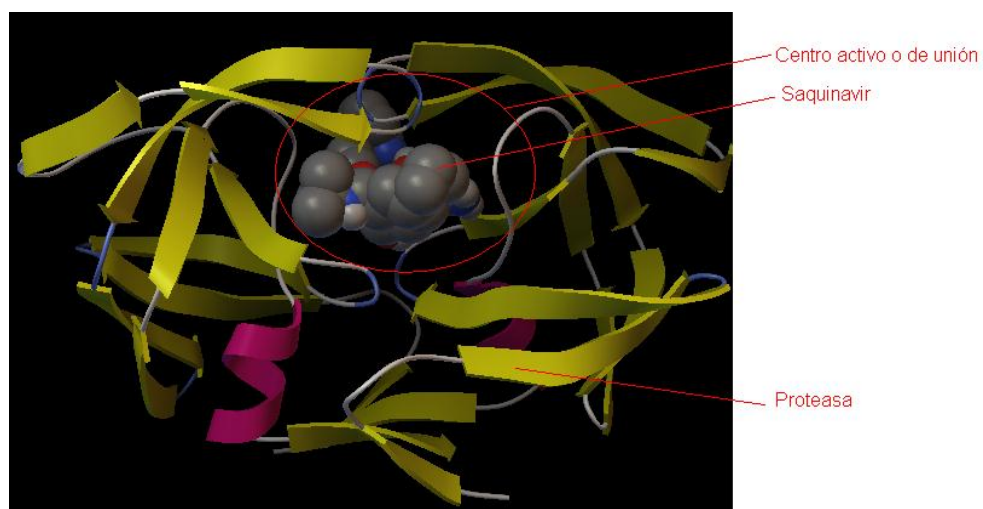
La proteasa actua durant les etapes avançades de la replicació viral, mentrestant la nova partícula viral està sortint de la cèl·lula.

#### **2.4.5.1 Centre actiu de la proteïna**

La superfície de qualsevol proteïna és irregular, amb diferents cavitats i ondulacions que creen un relleu propi i complex. Majoritàriament, en aquestes ondulacions i cavitats és on els medicaments s'uneixen a la proteïna. No obstant això, és molt difícil (degut el temps) trobar la cavitat d'unió. Per això nosaltres agafarem un medicament actual, així sabrem on actua el fàrmac.

Per esbrinar el centre actiu, hem escollit el medicament anomenat *Saquinavir* i s'ha observat on es troba situat el medicament en la proteasa.

Tots els medicaments realitzats, seran provats i analitzats en aquest centre actiu.



**Figura 8.** Il·lustració de la proteïna, el Saquinavir i el seu centre d'unió

## **5.3. Disseny i estudi d'estructures**

### **3.1 La química computacional**

La química computacional és la ciència que estudia les substàncies químiques des del punt de vista quimicofísic amb el suport de les eines informàtiques. Les principals aplicacions de la química computacional són:

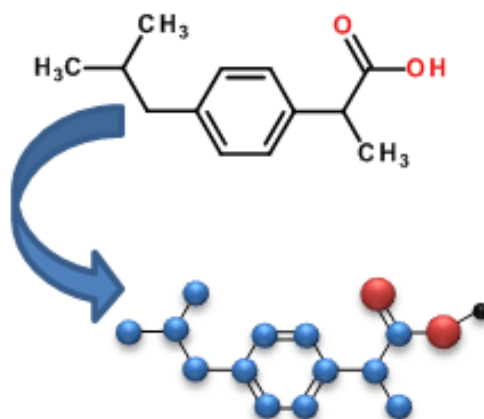
- Quantificar l'energia d'un sistema molecular.
- Estudiar les interaccions intramoleculares i intermoleculares.
- Estudiar mecanismes de reacció.
- Estudiar vibracions moleculars.
- Estudiar la retro síntesi i síntesis d'un compost

#### **3.1.1 Branques de la química computacional**

El tractament de les molècules des del punt de vista de la química computacional, podem determinar dos punts de vista:

- Tractament de les molècules des del punt de vista de les lleis quàntiques
- Tractament de les molècules des del punt de vista de les lleis Newtonianes

El més utilitzat en la teràpia computacional és el de les lleis Newtonianes; defineix els àtoms com cossos en massa, volum i càrrega; també tracta els enllaços com a molles segons la llei de Hooke.



**Figura 9.** Tractament d'àtoms i enllaços com a lleis Newtonianes

A partir del tractament de la molècula com a lleis Newtonianes podem calcular les interaccions des del punt de vista d'energia potencial puntual.

Les energies que es poden calcular són:

- Enllaços
- Angles
- Diedres
- Forces de Van der Waals
- Forces electrostàtiques
- Ponts d'hidrogen

La fórmula aplicada per determinar l'energia és la següent:

$$\begin{aligned}
 V = E_{total} &= \sum E_{enlaces} + E_{\text{\u00e0ngulos}} + E_{diedros} + E_{vdW} + E_{elect} \\
 &= \sum_{enlaces} \frac{1}{2} K_r (r - r_{eq})^2 + \sum_{diedros} \frac{1}{2} K_{\omega} [1 - \cos(n\omega - \delta)] \\
 &+ \sum_{\text{\u00e0ngulos}} \frac{1}{2} K_{\theta} (\theta - \theta_{eq})^2 + \sum_{i < j} \left[ \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}} \right]
 \end{aligned}$$



### 3.1.2 Camp de força (FF) i tipus d'àtom

El camp de força és la parametrització dels tipus d'àtoms i energies potencials d'un sistema dependent del tipus de molècules amb les quals es treballa.

El tipus d'àtom és el tractament d'un àtom en funció del seu entorn molecular; aquest tractament pot ser:

- “AMBER”: camp de forces que s'utilitza per treballar amb macromolècules (proteïnes, DNA,...).
- “MM+”: camp de forces que s'utilitza per treballar amb molècules orgàniques convencionals.

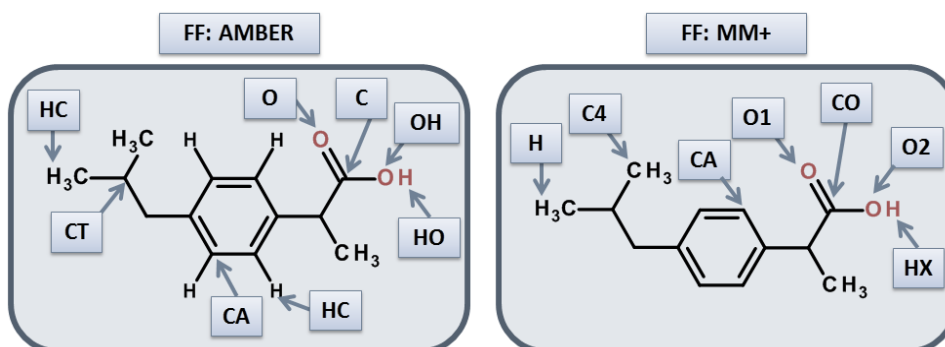


Figura 10. Diferents tractaments de l'àtom

### 3.1.3 AutoDockTools 1.5.6 rc3

És un programa de modelització molecular que el seu objectiu és ajudar a l'usuari a trobar la millor unió d'un compost a una proteïna (acoblament molecular o Docking) i quantificar les seves interaccions.

És un programa que treballa amb les lleis de la mecànica clàssica Newtoniana, utilitza un camp de forces propi, aquest camp és anomenat AD4.2 (AutoDock 4.2) és un sistema semblant a “AMBER”. Treballa amb un tipus d'arxiu especial: PDBQT

coordenades PDB + Q [cargas parciales] + T [tipo de átomo]  
↓ ↓ ↓  
Posiciones (x,y,z) Fuerza de la interacción Radio de VdW  
Dadores Hbond Aceptores Hbond

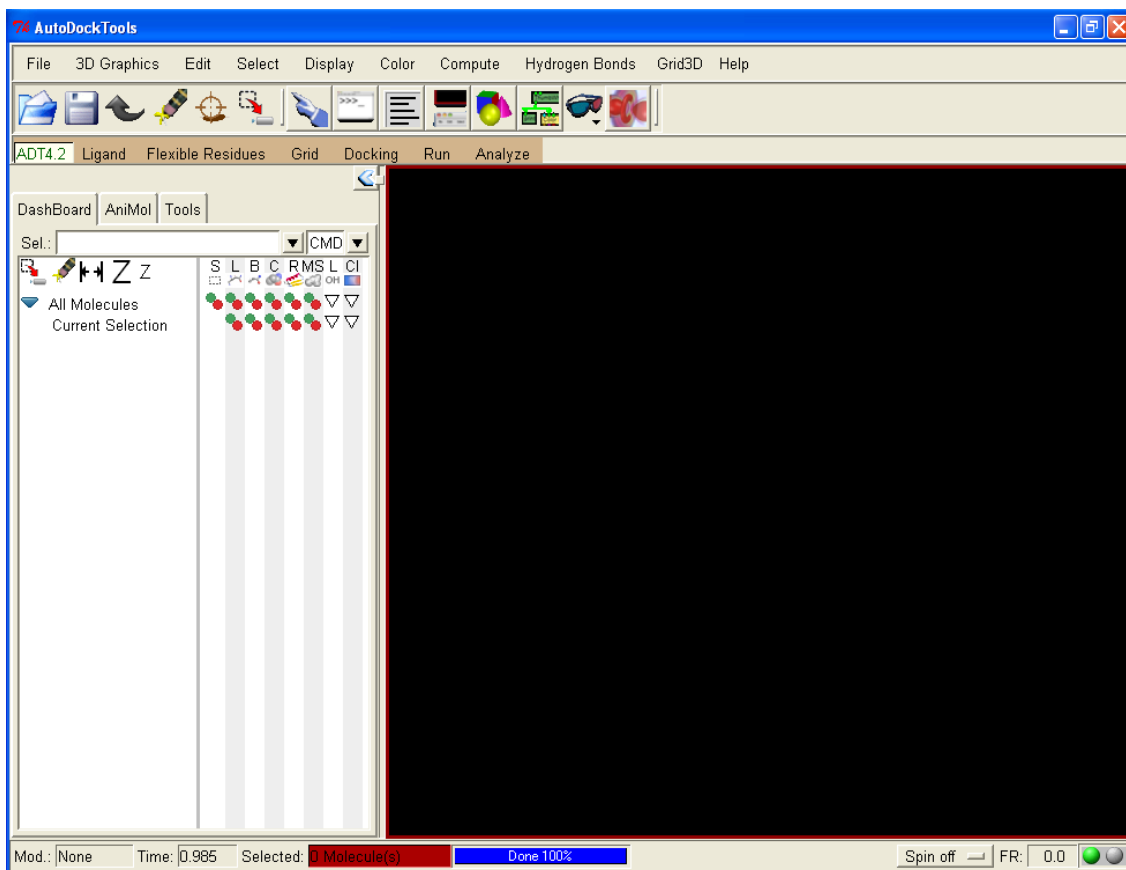


Figura 11. Pàgina principal del AutoDockTools 1.5.6

### 3.2 El Docking

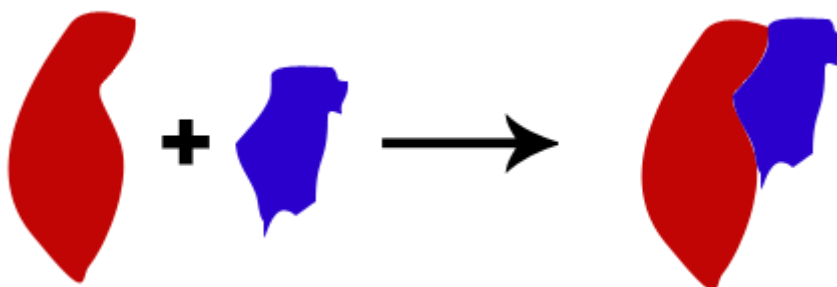
El Docking o acoblament molecular és un mètode que pronostica la millor conformació d'una molècula (liligand) que s'uneix a una altra (receptor) mes gran amb la finalitat de formar un complex més estable. Aquest procediment afavoreix la predicció de l'energia de unió o afinitat d'enllaç entre les dues molècules.

El Docking es duu a terme en el centre actiu de la proteïna, l'acoblament de la qual entre la proteïna i el lligand. Després de realitzar la unió el programa calcula l'afinitat,

aquesta energia d'unió prové dels diferents tipus d'interaccions que hi ha entre el lligand i els aminoàcid de la proteïna.

Les interaccions poden ser dels següents tipus:

- Ponts de hidrogen
- Interaccions hidrofòbiques
- Interaccions  $\pi$ - $\pi$
- Interaccions T-shaped



**Figura 12.** Il·lustració de l'acoblament molecular entre un lligand i un receptor<sup>55</sup>

### **3.2.1 Interaccions**

#### **3.2.1.1 Ponts d'hidrogen**

L'enllaç o pont d'hidrogen és un tipus específic d'interacció polar establerta entre dos àtoms electronegatius, generalment un oxigen, nitrogen o fluor i un hidrogen. En un pont d'hidrogen tenim de distingir entre el donador i l'acceptor. L'energia d'un enllaç d'hidrogen és entre 5 i 30 KJ/mol. Aquests enllaços es poden duu a terme entre molècules (intermolecular) o en diferents parts d'una mateixa molècula (intramolecular). L'enllaç d'hidrogen té una distància de 3,3 Å.

<sup>55</sup> Imatge de [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/ab/acoplamiento\\_molecular.png](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/ab/acoplamiento_molecular.png).

Un àtom electronegatiu (O, N o F) són acceptors d'hidrogen; mentre que l'hidrogen és un donador de ponts d'hidrogen.

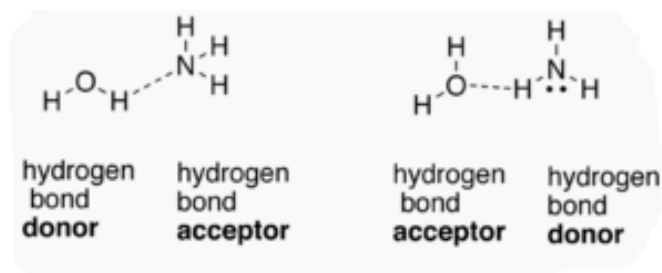


Figura 13. Imatge dels donadors i acceptors de ponts d'hidrogen<sup>56</sup>

### 3.2.1.2 Interaccions hidrofòbiques

Els grups d'àtoms que no poden formar enllaços d'hidrogen, tendeixen a agrupar-se entre si en medis aquosos, per minimitzar la seva exposició a l'aigua. La interacció de l'aigua amb substàncies no polars, enforteix les interaccions entre les molècules no polars, fet denominat interacció hidrofòbica.

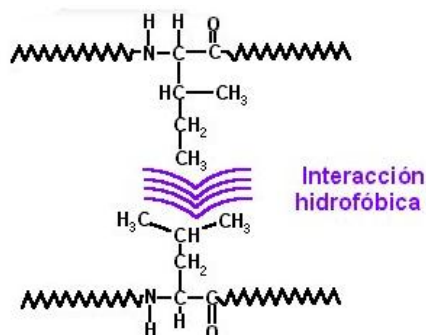


Figura 14. Imatge de les interaccions hidrofòbiques<sup>57</sup>

### 3.2.1.3 Interaccions $\pi$ - $\pi$

<sup>56</sup> Imatge de [http://es.wikipedia.org/wiki/enlace\\_por\\_puente\\_de\\_hidr%C3%B3geno](http://es.wikipedia.org/wiki/enlace_por_puente_de_hidr%C3%B3geno).

<sup>57</sup> Imatge de <http://laguna.fmedic.unam.mx/evazquez/0403/estructura%20terciària2b.html>.

Són les interaccions de dos orbitals  $\pi$  entre anells aromàtics, són d'origen electrostàtiques i de Van der Waals.



Figura 15. Interaccions  $\pi$ - $\pi$

### 3.2.1.4 Interaccions T-shaped

Són les interaccions de dos orbitals  $\pi$  entre anells aromàtics els anells dels quals tenen forma de T.



Figura 16. Interaccions T-shaped

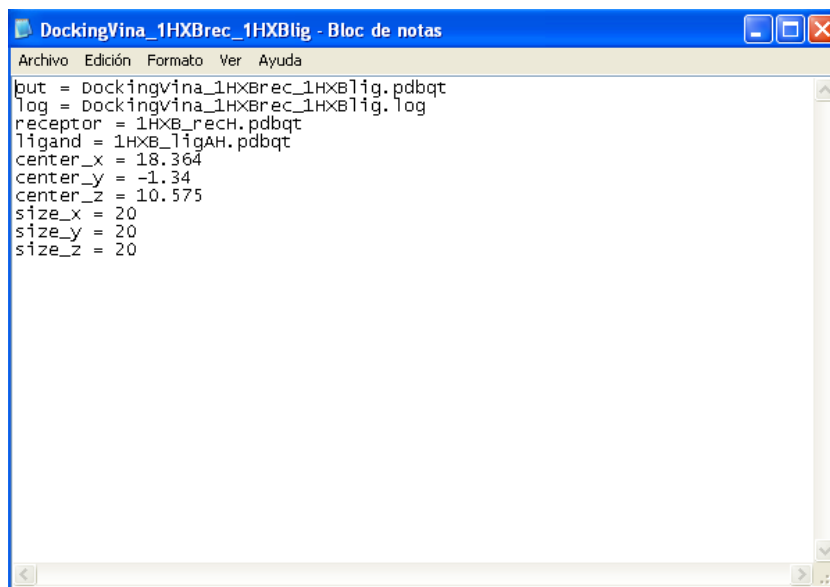
### 3.2.2 Disseny de fàrmacs mitjançant eines de química computacional

Els acoblaments moleculars es realitzen computacionalment, per aconseguir aquests Dockings haurem de seguir una sèrie de procediments:

1. Per començar el Docking hem d'anar [a http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do](http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do) i buscar la macromolècula que ens interessa per a la realització del nostre Docking. En el nostre cas hem triat la

macromolècula 1HXB (hidrolasa VIH-1 inhibidor); ens baixem la hidrolasa en format *.pdb*. A la macromolècula trobem el receptor i el lligand. Després de baixar-ho hem d'obrir la macromolècula en format *WordPad* i separar el lligand del receptor. El lligand ho guardem amb el nom de *1hxb\_lig.pdb*, i el receptor amb el nom de *1HXB\_rec.pdb*. obrim el programa *AutoDockTools 1.5.6*, després d'obrir el programa, en el lligand i en el receptor els afegim hidrògens, ho guardem en format *.pdb* i ho tornem a guardar en format *.pdbqt*; finalment després de realitzar això hauríem de tenir dos arxius amb els noms *1HXB\_ligH.pdbqt* i *1HXB\_rech.pdbqt*.

- Obrim l'arxiu *1HXB\_rech.pdbqt* i li afegim el lligand. Hem de crear un *grid box* centrat en el lligand i ho guardem amb el següent nom *1HXB\_gridbox.gpf*. Després de realitzar aquestes instruccions prepararem l'arxiu del Docking; per preparar-ho crearem un document *WordPad* amb el nom de *DockingVina\_1HXBrec\_1HXBlig.txt*.



**Figura 17.** Document *WordPad* amb el nom de *Docking Vina\_1HXBrec\_1HXBlig.txt*

- Ara llançarem el càlcul del Docking en *el Windows Scripting Language*, on hem de posar el directori dels arxius i després introduir el *Docking Vina\_1HXBrec\_1HXBlig.txt* de la següent manera: *C:\Vina\vina --config Docking*

Vina\_1HXBrec\_1HXBlig.txt. Quan l'hàgim llançat, sortiran els 9 millors confòrmers del lligand amb el receptor. Després d'aconseguir els 9 confòrmers hem de separar-los com si fossin lligands independents; per aconseguir això hem d'introduir en *Windows Scripting Language* el següent:  
 C:\Vina\vina\_split.exe --input Docking Vina\_1HXBrec\_1HXBlig.pdbqt.

```

#####
# If you used AutoDock Vina in your work, please cite:
#
# O. Trott, A. J. Olson,
# AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking
# with a new scoring function, efficient optimization and
# multithreading, Journal of Computational Chemistry 31 (2010)
# 455-461
#
# DOI 10.1002/jcc.21334
#
# Please see http://vina.scripps.edu for more information.
#####
Detected 2 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -366988192
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode | affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----|-----|-----|-----
1     | -11.7     | 0.000     | 0.000
2     | -10.8     | 2.783     | 11.257
3     | -10.8     | 1.755     | 3.717
4     | -10.4     | 3.027     | 10.576
5     | -10.2     | 3.090     | 10.757
6     | -10.0     | 2.239     | 5.105
7     | -9.9      | 2.650     | 4.591
8     | -9.8      | 1.690     | 2.293
9     | -9.8      | 3.380     | 9.886

writing output ... done.
  
```

**Figura 18.** Els 9 confòrmers entre el lligand i el receptor

4. Finalment hem d'analitzar els resultats amb *el AutoDockTools 1.5.6*. Hem d'obrir el document *Docking Vina\_1HXBrec\_1HXBlig.pdbqt* i mostrar les interaccions entre el lligand i el receptor (amb les fletxes del teclat podem estudiar les interaccions entre els 9 confòrmers i el receptor).
  
5. Utilitzem els processos anteriors quan es tracten de medicaments extrets de la web; però quan volem crear el nostre propi medicament, hem de dibuixar-ho amb el programa *Symyx Draw 4.0* amb 2D i amb el programa *Open Babel 1.3.2* ho convertim a estructura 3D. Afegim els hidrògens i ho convertim a *.pdbqt*. Finalment, realitzem l'arxiu de configuració del Docking, llancem el càlcul en

*Windows Scripting Language* i analitzem els resultats obtinguts del nou medicament.



## **3.3 Resultats**

### **3.3.1 Com analitzar els Dockings**

Aspectes principals per a l'anàlisi dels Dockings:

- 1) Abans d'analitzar les molècules, hem de determinar quins volem analitzar i quin confòrmer analitzem.
- 2) Abans de començar amb l'anàlisi de les molècules creades, hem d'analitzar el medicament que hem aconseguit a través de la web de *protein data bank*.
- 3) L'anàlisi de les molècules es realitza a través del *ligand explorer* i també amb l'ajuda del propi programa de modelització molecular.
- 4) Les interaccions que analitzarem són les següents:
  - I. Ponts de hidrogen
  - II. Interaccions hidrofòbiques
  - III. Interaccions  $\pi$ - $\pi$
  - IV. Interaccions T-shaped

### **3.3.2 Les millors molècules a analitzar**

Per analitzar el lligand, primer hem d'escollir les molècules que volem analitzar; per escollir aquestes molècules ens hem centrat en una sèrie d'aspectes concrets:

- 1) De totes les molècules observem els confòrmers i determinem l'energia d'unió (Kcal/mol) més negativa.

- 2) A partir de l'energia d'unió més negativa, escollim les molècules amb valors inferiors a -12,0. Aquest valor es deu al fet que l'afinitat del medicament original (*Saquinavir*) és de -11,7.
- 3) Finalment després d'escollir aquestes molècules, no analitzarem tots els confòrmers sinó el millor d'ells.

A continuació observem una taula amb totes les molècules i remarcat de color groc l'afinitat més negativa de cada lligand.

molècula 1	molècula 2	molècula 3	molècula 4	molècula 5
-7,7	-8,4	-10,1	-10,0	-9,1
-7,5	-8,2	-10,1	-10,0	-8,9
-7,5	-8,1	-10,1	-9,8	-8,9
-7,1	-8,0	-10,0	-9,7	-8,5
-7,0	-7,9	-9,9	-9,7	-8,3
-7,0	-7,8	-9,8	-9,5	-8,2
-7,0	-7,7	-9,7	-9,4	-8,0
-7,0	-7,6	-9,7	-9,3	-7,9
-6,9	-7,6	-9,5	-9,3	-7,9
molècula 6	molècula 7	molècula 8	molècula 9	molècula 10
-10,8	-10,3	-12,4	-11,9	-11,7
-10,6	-10,2	-12,0	-11,9	-11,3
-10,5	-10,1	-11,5	-11,8	-11,0
-9,8	-9,9	-11,5	-11,7	-10,9
-9,5	-9,9	-11,1	-11,4	-10,0
-9,4	-9,6	-10,9	-11,2	-10,0
-9,0	-9,2	-10,9	-11,0	-10,0
-8,8	-9,2	-10,7	-9,9	-10,0
-8,7	-9,1	-10,4	-9,9	-9,9
	molècula 11	molècula 12	molècula 13	

-12,2	-14,1	-11,9
-12,2	-12,8	-11,9
-11,8	-12,4	-10,4
-11,6		-10,2
-11,1		-10,2
-11,1		-9,9
-11,1		
-11,1		

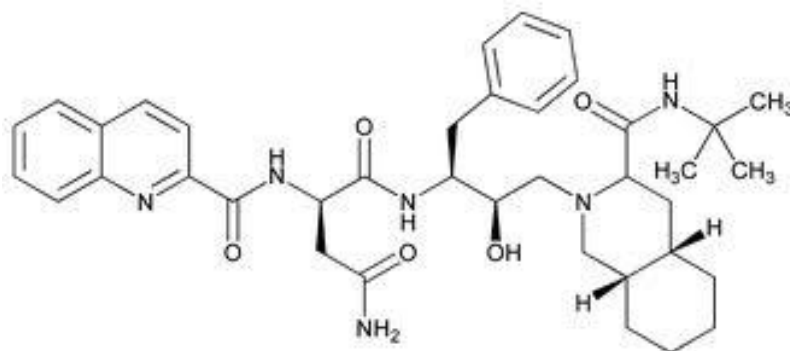
A partir de les molècules anteriors, analitzem les que tenen l'energia de unió de  $-12,0$  o inferior. Les molècules escollides són les següents:

molècula 8	molècula 11	molècula 12
-12,4	-12,2	-14,1
-12,0	-12,2	-12,8
-11,5	-11,8	-12,4
-11,5	-11,6	
-11,1	-11,1	
-10,9	-11,1	
-10,9	-11,1	
-10,7	-11,1	
-10,4	-11,0	

Finalment hem d'analitzar cadascuna de les següents molècules amb el conformer més negatiu de cadascuna d'elles.

### **3.3.3 Anàlisi del Saquinavir**

El *Saquinavir* es un medicament actual amb gran eficàcia d'inhibició respecte la proteasa del VIH. A continuació observem una representació en 2D de l'estructural del lligand:



**Figura 19.** Representació 2D del *Saquinavir*.

Es tracta d'una estructura química la fórmula molecular de la qual és  $C_{38}H_{50}N_6O_5$ .

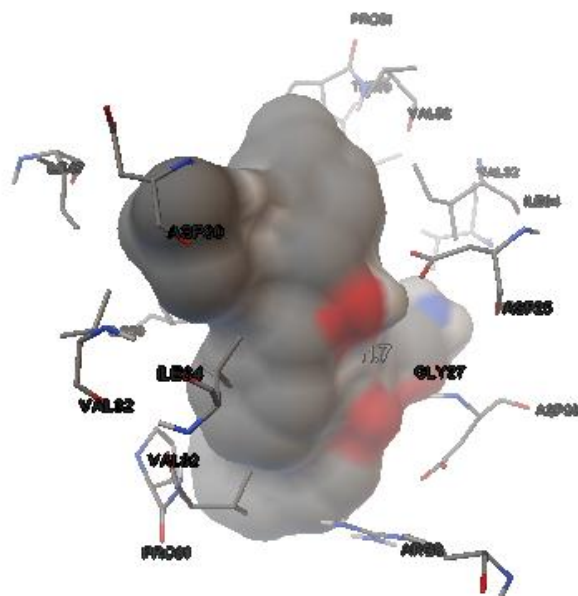
L'energia d'unió entre el medicament i la proteasa de VIH, observem les següents energies:

Confòrmer de <i>Saquinavir</i>	Afinitat (Kcal/mol)
1	-11,7
2	-10,8
3	-10,8
4	-10,4
5	-10,2
6	-10,0
7	-9,9
8	-9,8
9	-9,8

A continuació amb l'ajuda del programa de modelització molecular hem obtingut les interaccions (del confòrmer amb menor energia) entre els aminoàcids del receptor i de la molècula són les següents:

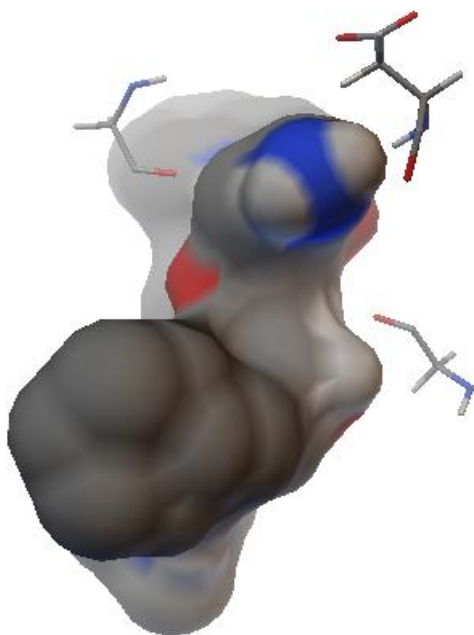
<b>Saquinavir</b>			
<b>Hidrofòbiques</b>	<b>Ponts de hidrogen</b>	<b><math>\pi</math>-<math>\pi</math></b>	<b>T-shaped</b>
ASP25	ASP30		
ASP29	GLY48		
VAL32	GLY27		
GLY49			
ILE50			
THR80			
PRO81			
VAL82			
ILE84			
ARG8			
ASP30			
ILE47			
GLY49			
PRO81			
VAL82			
ILE84			

Imatge de les interaccions:



**Figura 20.** Interaccions hidrofòbiques entre el *Saquinavir* i la proteasa del VIH.

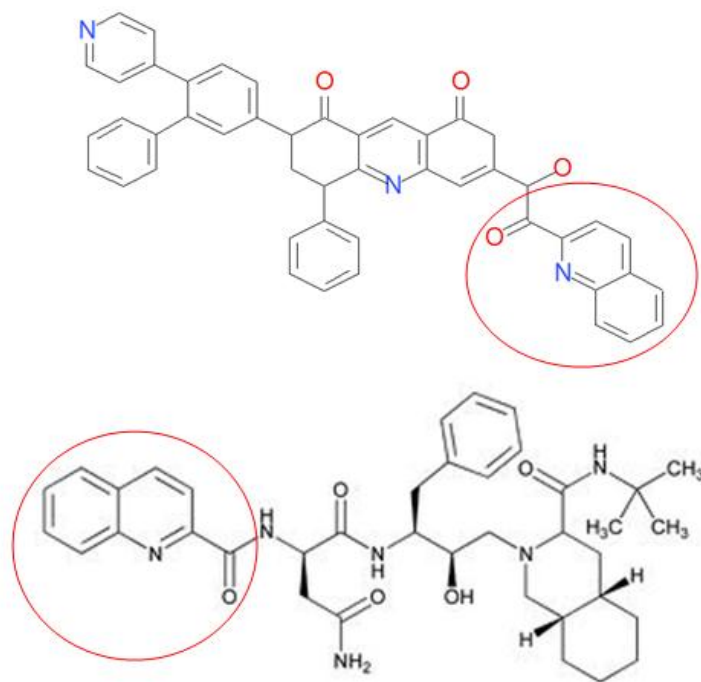




**Figura 21.** Ponts d'hidrogen entre el *Saquinavir* i la proteasa del VIH.

### **3.3.4 Anàlisi de la molècula 8**

La molècula 8 només té una semblança importantíssima amb *el Saquinavir* aquesta semblança proporciona que l'energia d'unió sigui inferior a la del propi medicament original. A continuació observem l'estructura bidimensional del lligand 8:



**Figura 22.** Comparació entre la molècula 8 i el Saquinavir.

Es tracta d'una estructura química la fórmula molecular de la qual és  $C_{47}H_{33}N_3O_4$ .

L'energia d'unió entre el medicament i la proteasa de VIH, observem les següents energies:

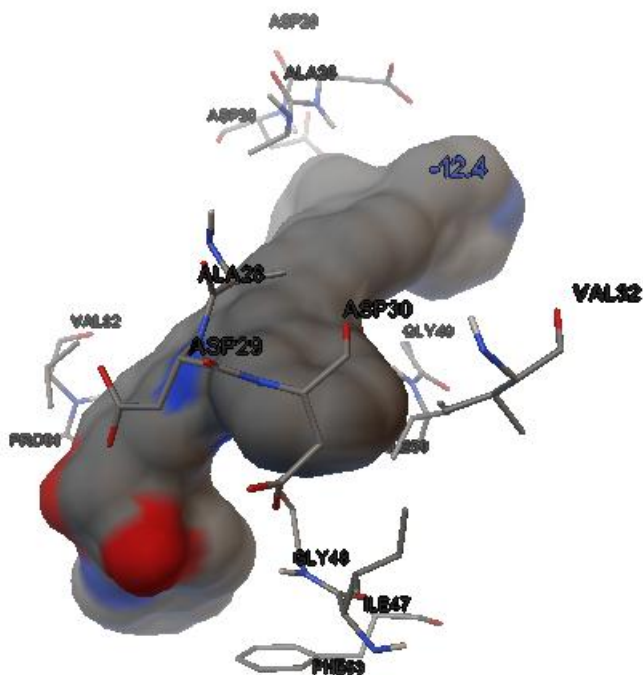
Confòrmer de molècula 8	Afinitat (Kcal/mol)
1	-12,4
2	-12,0
3	-11,5
4	-11,5
5	-11,1
6	-10,9
7	-10,9
8	-10,7
9	-10,4

A continuació amb l'ajuda del programa de modelització molecular hem obtingut les interaccions (del confòrmer amb menor energia) entre els aminoàcids del receptor i de la molècula són les següents:

<b>Molècula 8</b>			
<b>Hidrofòbiques</b>	<b>Ponts de hidrogen</b>	<b><math>\pi</math>-<math>\pi</math></b>	<b>T-shaped</b>
ALA28			
ASP29			
ASP30			
VAL32			
ILE47			
GLY48			
PHE53			
ALA28			
ASP29			
ASP30			
GLY49			
ILE50			
PRO81			

VAL82			
-------	--	--	--

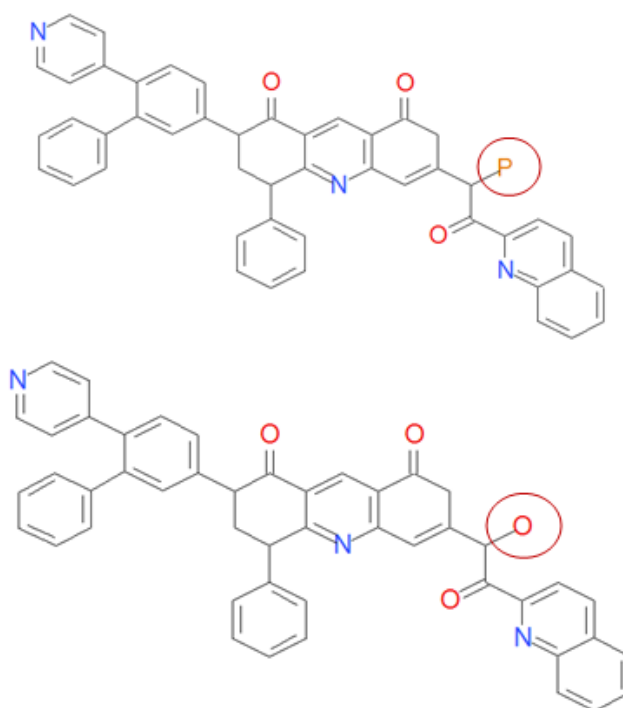
Imatge de les interaccions:



**Figura 23.** Interaccions hidrofòbiques entre la molècula 8 i la proteasa del VIH

### 3.3.5 Anàlisi de la molècula 11

La molècula 11 és gairebé idèntica al lligand 8, l'única diferència entre elles és la substitució d'un oxigen per un fòsfor. Aquest canvi no afavoreix la negativitat, sinó que proporciona una major energia d'activació. A continuació observem la molècula 11 amb la diferenciació del lligand 8:



**Figura 24.** Comparació entre la molècula 11 i la molècula 8.

Es tracta d'una estructura química la fórmula molecular de la qual és  $C_{47}H_{33}N_3O_3P$ .

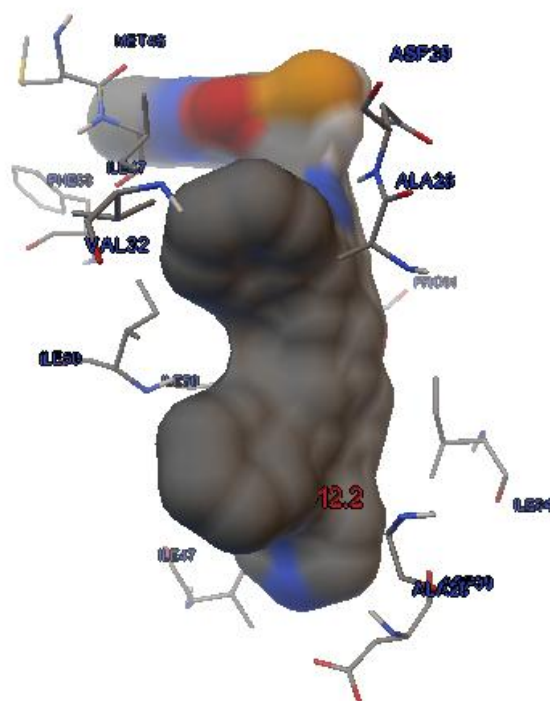
L'energia d'unió entre el medicament i la proteasa de VIH, observem que les següents energies són més altes que les del lligand 8, a causa de la substitució de l'oxigen pel fòsfor:

Confòrmer de molècula 11	Afinitat (Kcal/mol)
1	-12,2
2	-12,2
3	-11,8
4	-11,6
5	-11,1
6	-11,1
7	-11,1
8	-11,1
9	-11,0

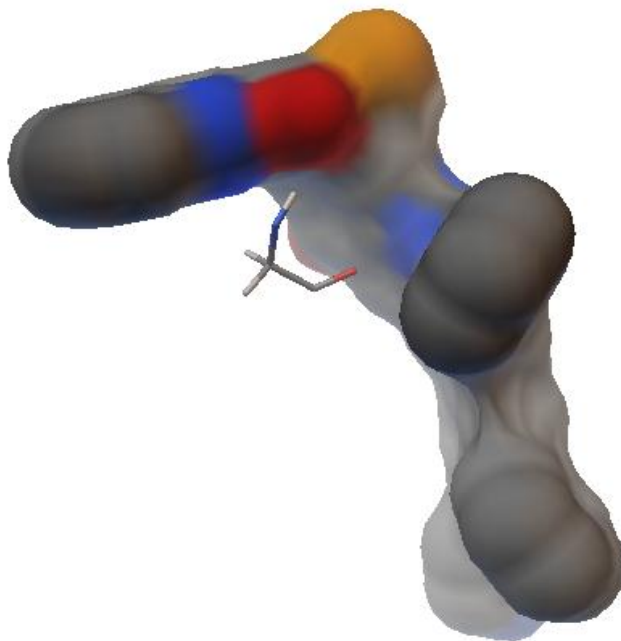
A continuació amb l'ajuda del programa de modelització molecular hem obtingut les interaccions (del confòrmer amb menor energia) entre els aminoàcids del receptor i de la molècula són les següents:

<u>Molècula 11</u>			
Hidrofòbiques	Ponts de hidrogen	$\pi$ - $\pi$	T-shaped
ALA28	GLY48		
ASP30			
ILE47			
ILE50			
PRO81			
ILE84			
ALA28			
ASP29			
VAL32			
MET46			
ILE47			
ILE50			
PHE53			

Imatge de les interaccions:



**Figura 25.** Interaccions hidrofòbiques entre la molècula 11 i la proteasa del VIH

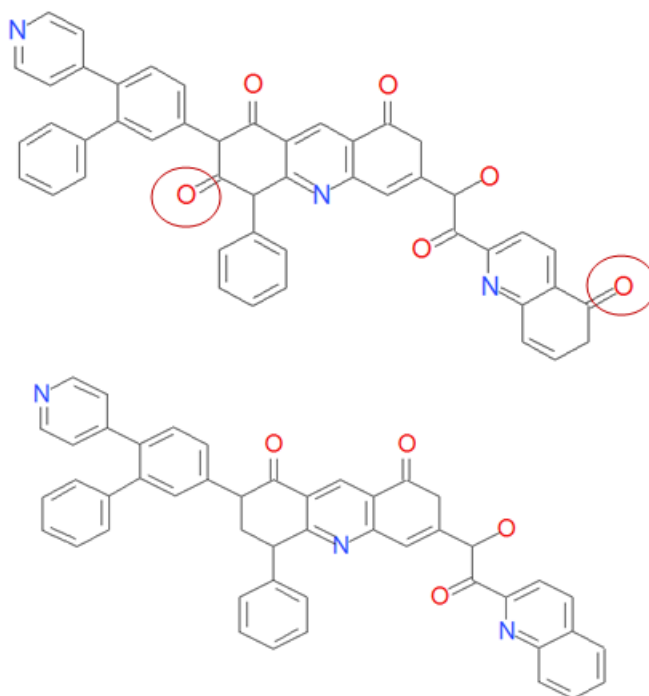


**Figura 26.** Ponts d'hidrogen entre la molècula 11 i la proteasa del VIH

### **3.3.6 Anàlisi de la molècula 12**

Aquesta molècula 12 ha estat creada amb l'ajuda del lligand 8, les molècules són molt semblants, però en la molècula 12 se li han afegit dos oxígens que han fet disminuir l'afinitat considerablement. A continuació observem remarcats amb un cercle els dos oxígens afegits.





**Figura 27.** Comparació entre la molècula 8 i la molècula 12.

Es tracta d'una estructura química la fórmula molecular de la qual és  $C_{47}H_{33}N_3O_6$ .

L'energia d'unió entre el medicament i la proteasa de VIH, observem les següents energies:

Confòrmer de molècula 12	Afinitat (Kcal/mol)
1	-14,1
2	-12,8
3	-12,4

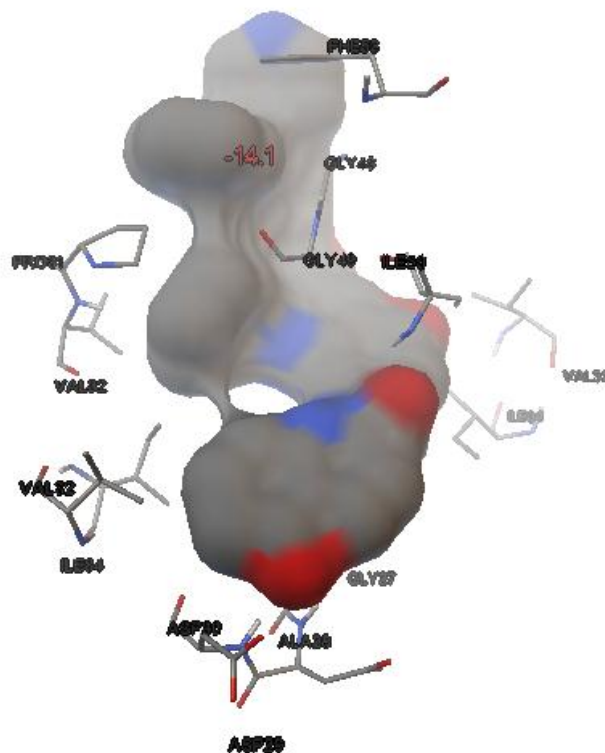
Com podem observar, només tenim 3 confòrmers això és a causa de l'espai que ocupa dins del centre actiu.

A continuació amb l'ajuda del programa de modelització molecular hem obtingut les interaccions (del confòrmer amb menor energia) entre els aminoàcids del receptor i de la molècula són les següents:

<u>Molècula 12</u>			
Hidrofòbiques	Ponts de hidrogeno	$\pi$ - $\pi$	T-shaped

ALA28			
ALA29			
VAL32			
GLY48			
GLY49			
PHE53			
ILE84			
GLY27			
ALA28			
ASP29			
ASP30			
VAL32			
ILE50			
PRO81			
VAL82			
ILE89			

Imatge de les interaccions:



**Figura 28.** Interaccions hidrofòbiques entre la molècula 12 i la proteasa del VIH

## **5.4. Conclusions**

La conclusió principal d'aquesta monografia és que s'han pogut crear noves molècules inhibidores de la proteasa del VIH. Per poder crear aquestes molècules noves s'han utilitzat diferents tipus de programes de teràpia computacional. Per a la creació de lligands, s'ha partit des d'un medicament ja existent el nom del qual és *Saquinavir*.

Podem dir, que aquestes molècules seran actives en la proteasa del virus a causa de la quantitat d'aminoàcids que interactuen amb les molècules comparant-los amb els que intervenen en el medicament *Saquinavir*. També hem de tenir en compte que s'ha millorat l'energia d'unió entre molècula i receptor. Els resultats obtinguts de l'acoblament molecular són teòrics i amb les condicions amb les quals hem treballat no es donen a la realitat.

Les tècniques de teràpia computacional són de gran importància per al descobriment de nous medicaments més actius per a diferents malalties, gràcies a aquestes tècniques podem determinar nous medicaments i a partir de la seva eficàcia sintetitzar-los en el laboratori de manera experimental. L'únic problema d'aquestes tècniques computacionals, és la necessitat d'una proteïna o enzim per determinar on ha d'actuar el medicament. El problema està sent solucionat gràcies al *Protein Data Bank* on podem consultar les diferents proteïnes o enzims i utilitzar-les.

# **6. La Diabetis**

## 6.1. INTRODUCCIÓ

L'home ha lluitat contra tot allò que ho perjudica des de l'inici dels temps. Davant el fred, l'escassetat de llum (entre altres) va aparèixer el foc, després la roda per escurçar distàncies, l'electricitat i tantes innovacions humanes, que ajuden a fer d'aquest món, una mica més habitable i còmode.

L'home lluita constantment contra la malaltia, buscant la salut i intentant prologar la vida. Milers i milers de persones han dedicat i lliurat la seva vida a la medicina<sup>58</sup> per a aquesta fi. Des de Imhotep<sup>59</sup>, passant per Aristòtil (384 a.C. – 322 a.C. filòsof i científic) i Galeno (130-200 metge): grecs; o el persa Abd Allah ibn Sina<sup>60</sup> fins a arribar al francès Louis Pasteur (1822-1895) o l'alemany Robert Koch<sup>61</sup> (1843-1910) més “recentment”.



Imatge 2. Louis Pasteur (1822-1895).

La Diabetis Mellitus<sup>62</sup>, com moltes altres malalties, ha existit al llarg de tota la humanitat. Ja en l'Era Egípcia, tenim mostres que la Diabetis Mellitus causava estralls. Un manuscrit oposat per Georg Ebers<sup>63</sup> el 1873, datat del segle XV abans de Crist i de 20 metres de llarg, és la primera font escrita que es conserva d'una mostra de Diabetis. El paper, conté tot el que els egipcis coneixien o creien conèixer sobre la medicina. En el manuscrit trobem la presència d'uns pacients que pateixen uns estranys símptomes, desconeguts per a ells, en la qual els malalts perden pes, la gana els turmenta, orinen contínuament i senten una set insaciabile. En el paper, sense lloc a dubte, es descriuen els símptomes més greus de la Diabetis Mellitus. Galeno, grec, també va esmentar aquesta malaltia.

<sup>58</sup> Segons la RAE: “Ciència i art de precaver i guarir les malalties del cos humà”.

<sup>59</sup> Sabio, metge, astrònom, és considerat el primer arquitecte (aprox. 2690 - 2610 a. C.). <http://es.wikipedia.org/wiki/imhotep>

<sup>60</sup> Més conegut com Avicena (traducció llatina). Metge, filòsof i científic persa del segle XI. La seva obra més important és *Cànon de medicina* (1020 aprox.). És una enciclopèdia de 14 volums en la qual hi ha recollida tota la informació mèdica coneguda de l'època.

<sup>61</sup> Premi Nobel (1905).

<sup>62</sup> Segons la RAE: “Malaltia metabòlica produïda per deficiències en la quantitat o en la utilització de la insulina, la qual cosa produeix un excés de glucosa en la sang”.

<sup>63</sup> Egipciòleg i novel·lista alemany, 1837-1898. Descobridor de el “Papir Ebers”, nomenat així en el seu honor, trobat a Tebas. Va estudiar jurisprudència i llengües orientals, posteriorment es va especialitzar en egiptologia. Llavors va popularitzar després del seu descobriment aquest paper mitjançant novel·les històriques (per exemple: *Eine ägyptische Königstochter* (Una princesa egípcia) o *Der Kaiser* (L'Emperador) entre altres).

No se sap de l'existència de cap altre treball fins al s. XI, amb el Cànon de medicina de Avicena.

Tomas Willis (1621-1675), metge anglès, científic famós que va estar involucrat en la seva fundació o ha participat en la història de la Royal Society<sup>64</sup>, va descriure la diabetis, i li va donar el nom de diabetis Mellitus que significa sabor a mel.

Nombrosos científics van fer aportacions sobre la malaltia, dels quals remarcaria a Claude Bernard; 1813-1878, francès; que va descobrir el glucogen hepàtic (glucogen en el teixit hepàtic, del fetge) o Bouchardat (segle XIX) que va relacionar l'obesitat i el sedentarisme amb la diabetis, marcant unes normes per al tractament de la malaltia: una dieta baixa en sucres.

Utilitzant gossos per als experiments com és el cas de Mering i Minkowski<sup>65</sup> les descobertes es van succeir i la recerca d'una hormona, produïda en el pàncrees es va iniciar immediatament, i en 1921 Banting i Best<sup>66</sup> van aconseguir aïllar la insulina i demostrar algun dels seus efectes, relacionats –evidentment– amb la diabetis Mellitus.



**Imatge 3.** Charles Best (esquerra) i Frederick Banting (dreta).

---

<sup>64</sup> \*The *Royal Society of London for Improving Natural Knowledge* és una societat científica, la més antiga de el Regne Unit.

<sup>65</sup> Joseph \*von Mering (1849-1908, físic alemany) i Oskar Minkowski (1858-1931, lituà) són coneguts per descobrir que una de les funcions del pàncrees és la producció d'una hormona: la Insulina (llavors ells desconeixien quin era).

<sup>66</sup> \*Frederick Banting (1891-1941) va treballar amb Charles \*Best (1899-1978) treballaven junts en un grup d'investigació i Macleod va ampliar el seu equip fins que van aconseguir identificar la insulina i provar les seves propietats mitjançant assajos amb gossos diabètics. Frederick Banting va rebre el Nobel de Medicina el 1923 i ho va compartir amb Best, en reconeixement a la seva participació.

## 6.2. LA DIABETIS MELLITUS

La Diabetis Mellitus és un conjunt malalties hereditàries (que impliquen alteracions en el cos humà; en les reaccions bioquímiques i successos fisicoquímics de l'organisme) incurables, si controlables, que es caracteritza per l'augment del nivell de glucosa en la sang. La causa majoritària d'aquesta malaltia és: o bé per un dèficit en la producció de la insulina, o perquè les cèl·lules no responen correctament als estímuls que els dona la insulina. Aquesta glucosa, que prové de la nutrició, té la funció de donar energia a les cèl·lules i la insulina ajuda a aquesta a entrar en elles.

Depenent de la causa, si és per un dèficit en la producció o per l'inadequat ús d'ella, podem classificar la Diabetis Mellitus en dos tipus: Tipus 1 i Tipus 2. Durant l'embaràs es pot produir un altre cas, aquest es denominaria Diabetis Mellitus gestacional.

### 2.1. Diabetis Mellitus Tipus 1

En la Diabetis Mellitus Tipus 1 el pàncrees no produeix insulina o no produeix suficient insulina. Sense aquesta insulina, la glucosa no pot entrar en les cèl·lules i llavors apareix un augment del nivell de glucosa en la sang.

El pàncrees no produeix la insulina a causa d'una destrucció del propi sistema immunològic humà de les Cèl·lules beta (cèl·lules del pàncrees que sintetitzen i segreguen insulina), ja que a causa d'un error el transportador específic de Zinc actua com a diana per a un tipus de leucòcits. Per això diem que es tracta d'una malaltia autoimmunitària, en la qual el propi sistema immunitari ataca cèl·lules del propi organisme. Aquesta malaltia és crònica, és a dir no se sap quan un pacient podrà guarir-se completament o si podrà guarir-se.

Aquest tipus de Diabetis pot ocórrer a qualsevol edat, però és més freqüent en edats joves i nens. La causa exacta d'aquesta malaltia es desconeix.

### 2.2. Diabetis Mellitus Tipus 2

En la Diabetis Mellitus Tipus 2 la causa principal és una resistència de les cèl·lules a la insulina. En aquest cas, la insulina no pot fer bé la seva funció i impedeix el correcte pas de la glucosa de la sang a la cèl·lula. Aquest impediment de funció està combinat amb una deficient secreció de l'hormona per l'òrgan que la produeix.

La majoria de casos de Diabetis són del tipus 2 i la diferència amb la Diabetis Mellitus Tipus 1 és que aquesta es caracteritza per una destrucció de les cèl·lules que segreguen la insulina, no les que la seqüencien (que són els Illots de Langerhans).

### 2.3. Diabetis Mellitus Gestacional

La Diabetis Mellitus Gestacional solament es produeix durant l'embaràs, generalment en el tercer trimestre. No es coneix molt sobre les causes que ho produeixen, però es creu que és produïda per un receptor de la insulina que no funciona correctament, a causa de la presència de Lactògen placentari, una hormona produïda per la placenta



funció de la qual és modificar el cos de la dona durant l'embaràs, que dificultaria el correcte ús de la insulina.

## 2.4. Síntomes de la Diabetis Mellitus

Els símptomes de la Diabetis Mellitus poden ser molt variats i tots els tipus de Diabetis comparteixen la majoria de símptomes.

Els principals òrgans que es danyen amb la Diabetis són els ronyons, el cor, els nervis, els peus i els ulls.

- **Els ronyons:** si la sang conté un nivell més elevat de glucosa, pot causar danys en els ronyons (òrgans responsables de la neteja de la sang), per aquest motiu es puguin **produir** diversos símptomes, com a insuficiència renal. Un examen d'orina podria detectar aquest problema. Aquestes lesions es denominen nefropatia diabètica.
- **El cor:** algunes de les malalties del cor que es relacionen amb la mateixa diabetis són: malaltia coronària, insuficiència cardíaca i cardiomiopatia diabètica.
- **Els nervis:** el nivell de sucre pot espatllar la capa que cobreix els nervis o els gots sanguinis que transporten l'oxigen als nervis. Aquests, una vegada danyats poden deixar d'enviar els senyals, o fer-ho menys ràpid. Podria provocar també que manessin aquests missatges a destemps. Les lesions en els nervis, poden incloure pèrdua de sensació a les mans, peus...; dolors punxants o cremor; nàusees, vòmits...; disfunció sexual; etc. Aquestes lesions es diuen neuropatia diabètica.
- **Els peus:** el dany en els nervis comentat anteriorment, pot causar una insensibilitat en els peus. Llavors no notes butllofes o nafres, que són causants d'úlceres i infeccions. En casos extrems han causat amputacions. El dany dels conductes transportadors de la sang comporta que aquestes parts no rebin suficient oxigen pel que és més difícil la seva curació.
- **Els ulls:** la causa principal de ceguesa en adults a EUA és la diabetis, denominada retinopatia diabètica. La Diabetis danya els gots sanguinis de la retina, imprescindible per poder veure amb claredat. Visió doble o borrosa, anells o llums titil·lants, taques, dolors en els ulls, dificultats visuals són possibles símptomes de tenir la retina danyada.

La diabetis augmenta el risc de patir moltes altres malalties, com a trastorns ossis o auriculars, problemes amb l'aparell digestiu, disfunció sexual, problemes en les dents i genives,...

Altres problemes o símptomes podrien incloure: fatiga o debilitat; gana o augment de la set.

La diabetis és també la principal causa de les dislipèmia<sup>67</sup>.

## 6.3. LA INSULINA

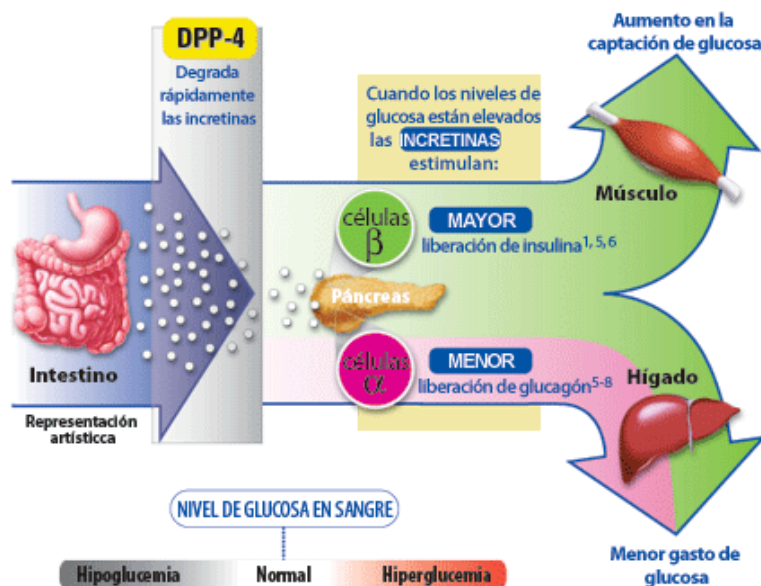
---

<sup>67</sup> Les **dislipèmia** són un conjunt de condicions patològiques que tenen com a element comú l'alteració del metabolisme de lípids, és a dir la concentració de lípids i lipoproteïnes en la sang.

La insulina és una hormona polipeptídica<sup>68</sup> de 51 aminoàcids<sup>69</sup> produïda en el pàncrees. Concretament en les cèl·lules beta ( $\beta$ ) de l'illot de Langerhans<sup>70</sup>. El seu dèficit, tal com hem comentat, provoca la diabetis Mellitus, i el seu excés provoca hipoglucèmia<sup>71</sup>. La diabetis intervé en la nutrició, sobretot amb l'anabolisme de carbohidrats.

### 3.1. Funcions de la Insulina

**Imatge 4.** Explicació esquemàtica del metabolisme de la insulina.



<sup>68</sup> Un polipèptid és un pèptid gran, aproximadament de més de 10 aminoàcids.

<sup>69</sup> Un aminoàcid és molècula orgànica amb un grup amino ( $-NH_2$ ) i un grup carboxil ( $-COOH$ ) units a un carboni central. Existeixen 20 tipus d'aminoàcids les diferències dels quals són la cadena "R" variable, que s'uneix al carboni central. Veure **Apèndix 1**.

<sup>70</sup> Els illots de Langerhans són un conjunt de cèl·lules de funció endocrina. Produeixen hormones com la insulina i el glucagó (hormona constituïda per 29 aminoàcids que actua en el metabolisme de el glucogen) o algunes immunoglobulines. Van ser descrits per l'alemany Paul Langerhans ((1847-1888) patòleg, fisiòleg i biòleg alemany). En el pàncreas hi ha un milió d'illots.

En aquests illots hi ha diferents tipus de cèl·lules amb diferents funcions:

- Cèl·lules alfa ( $\alpha$ ): produeixen l'hormona polipeptídica glucagó.
- Cèl·lules beta ( $\beta$ ): produeixen l'hormona polipeptídica insulina.
- Cèl·lules delta ( $\delta$ ): produeixen el pèptid somatostatina.

Aquestes tres, que tenen especial importància i relació amb **la insulina**.

- Cèl·lules F: produeixen un polipeptíd pancreàtic que inhibeix les secrecions exocrines del pàncrees.
- Cèl·lules G: produeixen l'hormona polipeptídica gastrina que estimula la producció de HCl per les cèl·lules parietals de l'estómac.

<sup>71</sup> La hipoglucèmia consisteix en una concentració baixa de glucosa en la sang. Es denomina també "Xoc insulínic", per la freqüència amb que es presenta en persones que es subministren insulina com a tractament; normalment diabètics.

La insulina és una biomolècula la funció de la qual és disposar a les cèl·lules de la quantitat necessària de glucosa per als processos sintètics que requereixen energia.

Quan el nivell de glucosa en la sang és alt, actua sent la insulina alliberada pels illots de Langerhans, mentre que el glucagó actua quan el nivell de glucosa disminueix. Per la seva banda, la Somatostatina<sup>72</sup> regula la producció i secreció d'ambdues.

La insulina té una important funció reguladora sobre el metabolisme, sobre el qual té els següents efectes:

- Estimula la gliconeogènesi.<sup>73</sup>
- Inhibeix la gluconeogènesi i la gliconeogènesi<sup>74</sup>
- Promou la glucòlisi.
- Ajuda a la síntesi de triglicèrids, estimulant la producció de acetil-CoA i també a la síntesi d'àcids grassos, a partir de la acetil-CoA.
- Estimula la síntesi de proteïnes.



Imatge 5. Injecció d'insulina.

<sup>72</sup> La **somatostatina** és una hormona peptídica de 14 aminoàcids produïda per les cèl·lules delta ( $\delta$ ) de el pàncrees. Inhibeix la segregació d'insulina i glucagó. La secreció d'aquesta, està regulada pels alts nivells de glucosa, aminoàcids, glucagó i àcids grassos d'hormones gastrointestinals. L'alteració de la concentració en sang, provoca trastorns en el metabolisme.

<sup>73</sup> La gliconeogènesi és el conjunt de reaccions anabòliques que constitueixen la síntesi de glucogen. Es duu a terme en el fetge i el múscul, i s'activa per la insulina quan el nivell de glucosa en sang és elevat.

<sup>74</sup> La glicogenòlisi és conjunt de reaccions catabòliques que es produeixen al cor i al cervell que consisteix en la remoció d'un monòmer de glucosa d'un glucogen mitjançant fosforòlisi, fase en què el enzim fosforilasa actua, catalitzant la reacció de l'àcid fosfòric que ataca les unions constitutives de la gran molècula i d'aquí resulta la formació de l'èster *glucosa-1-fosfòric*, que després es convertirà en *glucosa-VI-fosfat*, la glucòlisi.

És antagònica de la glicogènesi. Estimulada per el glucagó en el fetge i l'adrenalina en el múscul. És inhibida per la insulina.

## 6.4. LA PREVALENCIA

La prevalença és la proporció de persones que presenten una característica determinada en un moment determinat. En aquest cas, la proporció de persones que presenten la diabetis Mellitus tipus II. La prevalença a Espanya és d'un 12%<sup>75</sup>.

## 6.5. TRACTAMENT DE LA DIABETIS

### Què fan les medicines per combatre la diabetis?

Els medicaments utilitzats depenen del tipus de diabetis, del teu horari i d'altres condicions físiques i de salut. Les medicines de la diabetis ajuden a mantenir el nivell de glucosa en sang

### 5.1. Tractament mitjançant insulina

La insulina ajuda a la sang mantenir els nivells de glucosa movent-la de la sang a les cèl·lules. Les cèl·lules usen la glucosa com a font d'energia, la gent que no pateix diabetis el seu

cos produeix correctament la insulina per si solament. Però als diabètics, el doctor ha de decidir com injectar-te la insulina deficient en el cos.



**Imatge 7.** Injector d'insulina.



**Imatge 6.** Dibuix esquemàtic d'una bomba d'insulina.

Hi ha diferents tipus de manera d'entrada:

- Mitjançant injeccions tradicionals.
- Usant una bomba d'insulina.
- Usant un injector d'insulina.

<sup>75</sup> Veure **Apèndix 2**.

## 5.2. Tractament mitjançant fàrmacs

Sense tenir en compte el pla per a l'alimentació i la pràctica d'exercici físic, els fàrmacs per a la diabetis tipus II ajuden a aquestes persones a mantenir els nivells de sucre a ratlla.

Hi ha diversos tipus de pastilles, i cadascuna funciona i actua de manera diferent. Molta gent ha de prendre dues o més. Unes altres, prenen pastilles combinades mentre que els cal han de combinar la injecció d'insulina amb alguns fàrmacs.

El doctor pot demanar-li al pacient que utilitzi un tipus de fàrmac i si no funciona, el metge pot:

- Fer-li prendre una dosi superior del mateix medicament
- Afegir altres tipus de pastilles
- Canviar a una altra pastilla
- Fer el tractament amb insulina
- Prendre un altre medicament injectat



**Imatge 8.** Els fàrmacs diabètics ajuden a les persones amb diabetis Mellitus tipus II

Començar a injectar-se insulina o prendre's medicació injectada és signe que la diabetis no avança correctament i està empitjorant.

Atès que existeixen molts tipus diferents de fàrmacs que actuen contra la diabetis Mellitus tipus II, posaré alguns exemples, i els efectes que causen aquests fàrmacs. Existeixen també, possibles efectes secundaris.

### 5.2.1. Tipus de fàrmacs

- **Antidiabètics orals**

Un antidiabètic oral és un medicament administrat per via oral que disminueix el nivell de glucèmia (és la mesura de concentració de glucosa en sang)

Classificació<sup>76</sup>:

Tres grans famílies:

1. Secretagogs, l'acció del qual estimula la secreció d'insulina:

- I. Sulfonilurees: Estimulen la secreció endògena de insulina per part dels illots pancreàtics.
- II. Meglitinides: Actuen sobre les cèl·lules beta en un lloc diferent a les sulfonilurees.

2. Sensibilitzadors

- I. Biguanides: Redueixen la síntesi hepàtica de glucosa, inhibeixen la seva absorció intestinal i augmenten la sensibilitat perifèrica de la insulina.
- II. Tiazolidindiones: Milloren la sensibilitat cel·lular a la insulina.
- III. Inhibidors de l'alfa-glucosidasa intestinal: Redueixen l'absorció de glucosa en l'intestí prim.

3. Anàlegs tipus proteïnes

- I. Inhibidors de la Di-Peptidil-Peptidasa-IV: inhibeixen l'acció d'aquest enzim afavorint l'acció de les hormones anomenades incretines sobre els seus òrgans diana.
- II. Incretines, un pèptid similar al glucagó tipus 1.

Aquest tipus de fàrmacs són efectius, però existeixen nombrosos efectes secundaris. Els principals efectes secundaris o adversos dels fàrmacs segons la societat espanyola de diabètics són:

- Secretagogs d'insulina (sulfonilurees i meglitinides): l'efecte secundari més habitual és la hipoglucèmia. Saltar-se menjades o augmentar l'activitat física són factors que augmenten aquest risc. En el cas de les sulfonilurees, és més clar.
- Biguanides<sup>77</sup>: l'efecte secundari més habitual són diarrees, nàusees i dolors abdominals. Per evitar-ho, cal augmentar les dosis progressivament.

---

<sup>76</sup> Segons [www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com)

- Inhibidors de les alfa-glucosidases (acarbosa i miglitol). Poden ocasionar molèsties intestinals, com a digestions pesades, inflor abdominal, nàusees o diarrea. La seva aparició depèn de la dosi utilitzada.

Atès que apareixen aquests efectes secundaris, i que la seva acció podria ser millorable, ens trobem davant la necessitat de l'aparició de nous medicaments. Aquests medicaments han de ser més específics, és a dir, actuar solament en el lloc indicat. Es tracta de la teoria de la "Bala màgica" de Paul Ehrlich<sup>78</sup> (1854-1915), en la qual buscava un compost que solament actués aquí on ell ho necessitava. Així han de ser els medicaments.



**Imatge 9.** Paul Ehrlich.

---

<sup>77</sup> Està contraindicada en pacients amb malalties que afecten al funcionament del ronyó i del fetge, i també en els alcohòlics.

<sup>78</sup> Metge i bacteriòleg alemany. Va guanyar el Premi Nobel de medicina en 1908.

## 6.6. Dockings

### 6.1. Què és el Docking?

Fem servir el programa **AutoDockTools-1.5.6rc3**

El Docking és un algorisme<sup>79</sup> que busca la millor manera d'unir un compost amb una macromolècula.

1. Per aconseguir-ho necessita saber si les càrregues parcials i el tipus d'àtoms dels àtoms del lligand<sup>80</sup> i del receptor (en el nostre cas el 3EKK<sup>81</sup>).
2. Calcular l'energia potencial per a cada tipus d'àtom dins la gridbox<sup>82</sup>.
3. Generar conformacions del lligand de manera aleatòria.
4. Cada confòrmer nou explora la superfície de la proteïna del receptor per buscar les millors interaccions (formar el major nombre possible de ponts d'hidrogen, electrostàtiques i hidrofòbiques tant alifàtiques com a aromàtiques).
5. Una vegada explorat calcula l'energia d'unió del complex receptor-ligand.
6. Una vegada repetida amb milions de confòrmers fa un *cluster*<sup>83</sup>.
7. Es fa una classificació dels millors confòrmers representatius.
8. El programa et dona com resultat els 9 millors (per defecte, es pot canviar en funció de les necessitats de cadascun), dins d'un interval d'energia respecto el més negatiu.

#### Per fer-ho què es necessita?

Es necessita:

1. L'estructura tridimensional d'una diana biològica. El 3EKK en el nostre cas.

<sup>79</sup> Conjunt ordenat i finit d'operacions que permet trobar la solució d'un problema.

<sup>80</sup> El lligand inicial és el *2-[(2-[1-(N,N-dimethylglycyl)-5-methoxy-1H-indol-6-yl]amino}-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)amino]-6-fluoro-N-methylbenzamide*. Mentre que els que crearem modificaran parts d'aquesta molècula els cridarem \*Med.

<sup>81</sup> Expliquem la seva funció i que es tracta en **6.2. Anàlisi del receptor 3EKK**

<sup>82</sup> Lloc on es realitzarà el càlcul de la unió. Aquest espai dins del receptor, que és el centre actiu de la proteïna es denomina \*GRIDBOX.

<sup>83</sup> Un *cluster* és convergir les conformacions en una representativa de cada tipus.

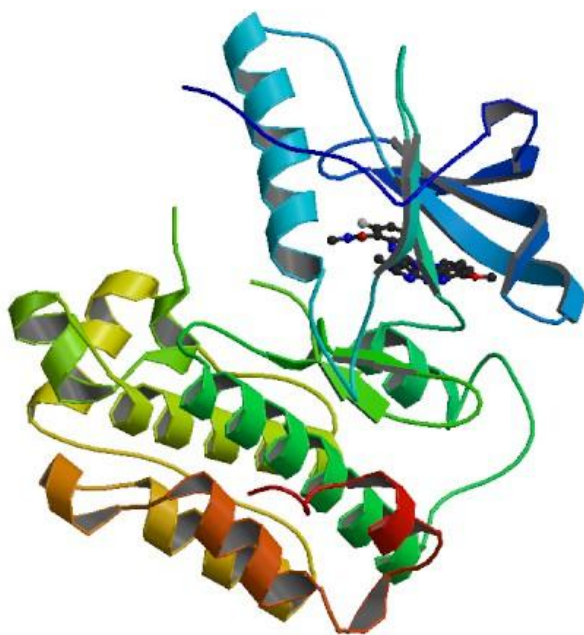


2. L'estructura tridimensional del compost que volem provar i unir a la diana biològica. Els possibles nous medicaments.
3. Una distribució de càrregues parcials i l'assignació dels tipus d'àtoms per al receptor i el lligand.

## 6.2. Anàlisi del receptor 3EKK

3EKK és un codi que utilitza la base de dades Brookhaven Protein Data Bank per nomenar a un cristall de la proteïna: "Insulin receptor kinase complexed with an inhibitor", és a dir: receptor quinasa d'insulina amb un inhibidor<sup>84</sup>. Hi ha diverses molècules en el Protein Data Bank d'aquest receptor, però creiem que aquest és el més fidel a la realitat i el que ens pot ajudar millor en el treball<sup>85</sup>.

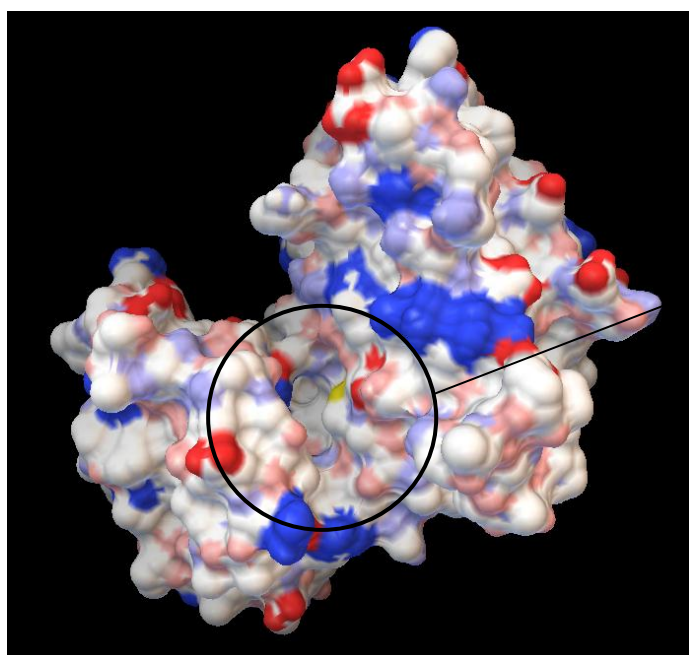
Aquesta proteïna fa que la insulina no realitzi la seva funció, per la qual cosa si la seva concentració és elevada inhibeix a la insulina; per aquest motiu, els pacients de diabetis Mellitus tipus II prenen, a més de la insulina, inhibidors d'aquesta proteïna.



**Imatge 10.** Estructura secundària del receptor 3EKK amb el lligand. Imatge del Protein Data Bank.

<sup>84</sup> L'inhibidor ho separem de la \*quinasa i ho analitzem aparti.

<sup>85</sup> Perquè conté ja un lligand i perquè és una mica més complex que uns altres dels quals apareixen, com el 3\*EKN o el 3\*ELJ.



Lloc actiu<sup>86</sup> de la proteïna.

**Imatge 11.** Contorn del receptor 3EKK. Els colors indiquen la polaritat. Imatge usant el programa AutoDockTools.

### 6.3. Anàlisi del Lligand inicial

En el RCSB Protein Data Bank, hem trobat est lligand.

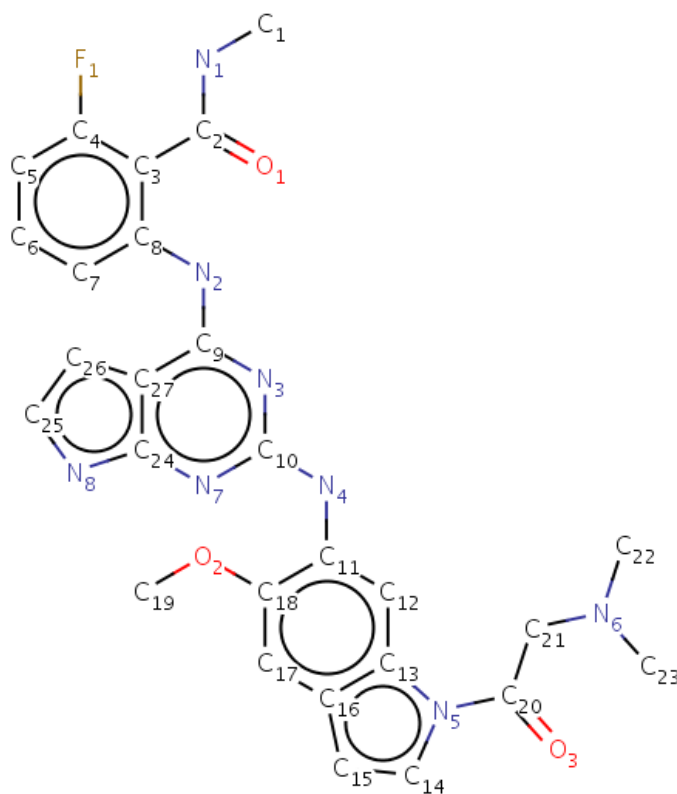
#### Característiques:

Podem veure com conté 3 grups benzènics, en els carbonis 3, 9 i 11 respectivament. A dos d'aquests grups, trobem un ciclopentadiè en un de tots dos costats, i en compartir dos dels cinc àtoms amb el benzè, també és cíclic i és aromàtic. Trobem nombrosos *Nitrògens*, i un grup *cetona* en el carboni 2 i en el carboni 20.

---

<sup>86</sup> El lloc actiu és la zona de la proteïna en la qual es realitza el substrat, en la qual el lligand s'uneix al receptor. Aquesta zona és la utilitzada bàsicament per realitzar el \*GRIDBOX.

Aquestes són les principals característiques:



**Imatge 12.** Estructura secundària del receptor 3\*EKK amb el lligand.

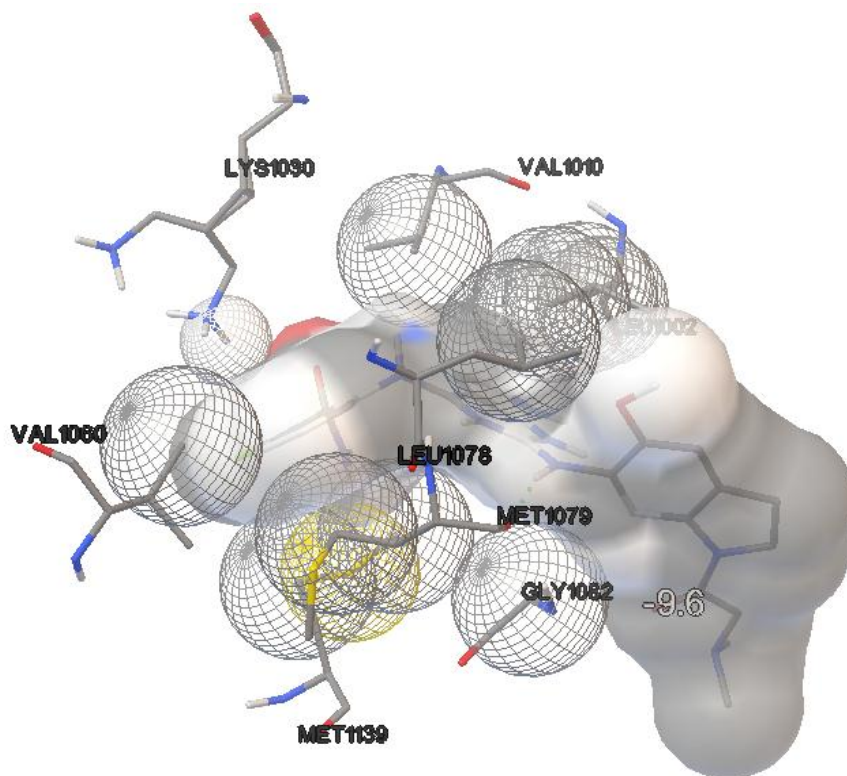
**Nom químic del lligand:**

2-[(2-[[1-(N,N-dimethylglycyl)-5-methoxy-1H-indol-6-yl]amino]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidin-4-yl)amino]-6-fluoro-N-methylbenzamide

Lavors, realitzem un Docking, usant el lligand inicial i el receptor 3EKK. La taula d'energies que obtenim és:

confòrmer	Afinitat (kcal/mol)
1	-9,6
2	-9,5
3	-9,5
4	-9,1
5	-9,1
6	-9,0
7	-8,9
8	-8,9
9	-8,9

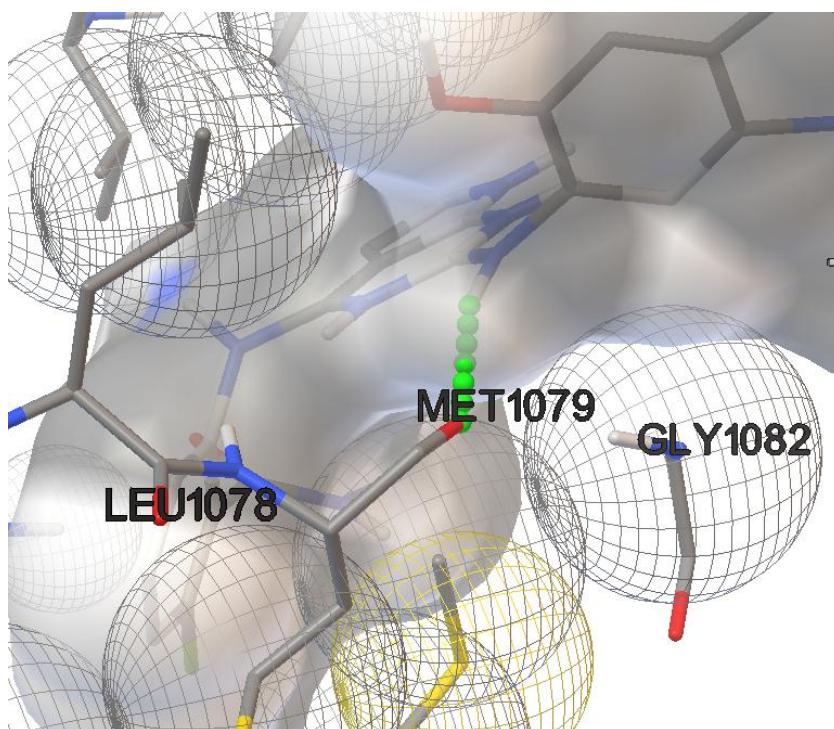
Podem veure que interactua amb una energia de -9.6 kcal/mol. Una energia baixa, per la qual cosa el complex és estable i hi ha probabilitats d'èxit posteriorment.



**Imatge 13.** Producida pel *AutoDockTools* que mostra les principals interaccions i zones d'interacció del lligand.

Aquí tenim el millor confòrmer, amb les interaccions amb el lligand. Les esferes són interaccions hidrofòbiques. Quantes més esferes, tenim major nombre d'interaccions hidrofòbiques i zones d'enllaç, zones on hi ha interacció entre el receptor i el lligand.

En aquesta interacció podem veure també un pont d'hidrogen: *color verd*



**Imatge 14.** Detall del pont d'hidrogen. Interacció amb l'aminoàcid Met1079.

Una vegada hem analitzat els ponts d'hidrogen, i hem vist les interaccions més significatives. Usem un altre programa que serveix per veure millor aquestes interaccions hidrofòbiques i especificar què aminoàcids actuen i quins aminoàcids són els que interactuen entre si.

Aquestes són les interaccions que hem vist usant el programa [RCSB PDB Ligand Explorer 4.0](#):

Àtom 1	Àtom 2	Distància entre àtoms (en Å)	Tipus d'interacció:
A:1:GS2:O1	A:LYS1030:NZ	3.28	Pont d'hidrogen
A:1:GS2:C3	A:VAL1010:CG2	3.89	Hidrofòbica
A:1:GS2:C5	A:GLY1003:CA	3.77	Hidrofòbica
A:1:GS2:C5	A:GLY1003:C	3.80	Hidrofòbica
A:1:GS2:C6	A:LEU1002:C	3.63	Hidrofòbica
A:1:GS2:C6	A:LEU1002:CB	3.80	Hidrofòbica
A:1:GS2:C7	A:LEU1002:CB	3.82	Hidrofòbica
A:1:GS2:C8	A:VAL1010:CG1	3.86	Hidrofòbica
A:1:GS2:C9	A:VAL1010:CG1	3.88	Hidrofòbica
A:1:GS2:C9	A:MET1139:CE	3.65	Hidrofòbica
A:1:GS2:C10	A:MET1139:CE	3.52	Hidrofòbica
A:1:GS2:N4	A:MET1079:O	2.67	Pont d'hidrogen
A:1:GS2:C11	A:LEU1002:CD1	3.71	Hidrofòbica
A:1:GS2:C12	A:GLY1082:CA	3.44	Hidrofòbica
A:1:GS2:C13	A:GLY1082:CA	3.81	Hidrofòbica
A:1:GS2:C17	A:LEU1002:CD2	3.45	Hidrofòbica
A:1:GS2:C18	A:LEU1002:CD1	3.68	Hidrofòbica

A:1:GS2:C18	A:LEU1002:CD2	3.71	Hidrofòbica
A:1:GS2:O3	A:ASP1083:N	3.29	Pont d'hidrogen
A:1:GS2:N6	A:ASP1083:OD1	2.74	Pont d'hidrogen
A:1:GS2:N7	A:MET1079:N	3.05	Pont d'hidrogen
A:1:GS2:C24	A:ALA1028:CB	3.45	Hidrofòbica
A:1:GS2:N8	A:GLU1077:O	2.87	Pont d'hidrogen
A:1:GS2:C25	A:ALA1028:CB	3.72	Hidrofòbica
A:1:GS2:C25	A:VAL1060:CG1	3.56	Hidrofòbica
A:1:GS2:C25	A:MET1076:CB	3.70	Hidrofòbica
A:1:GS2:C27	A:ALA1028:CB	3.85	Hidrofòbica

Els ponts d'hidrogen que ens marca el *Ligand Explorer* no són els reals, sinó que ens mostra els possibles. El programa detecta la presència de 2 àtoms que podrien formar un i llavors ho mostra com a real. Sabem però, que solament hi ha un sol pont d'hidrogen, entre el Met1079 i el Nitrogen 4, tal com podem veure en la fotografia de la pàgina anterior.

Podem observar, per exemple, un pont d'hidrogen entre el primer Oxigen del lligand i l'aminoàcid Lys (Lisina) 1030 del receptor que no existeix veritablement en aquesta conformació. Trobem 21 interaccions hidrofòbiques importants, com per exemple entre el tercer Carboni del lligand amb l'aminoàcid Val (Valina) 1010.

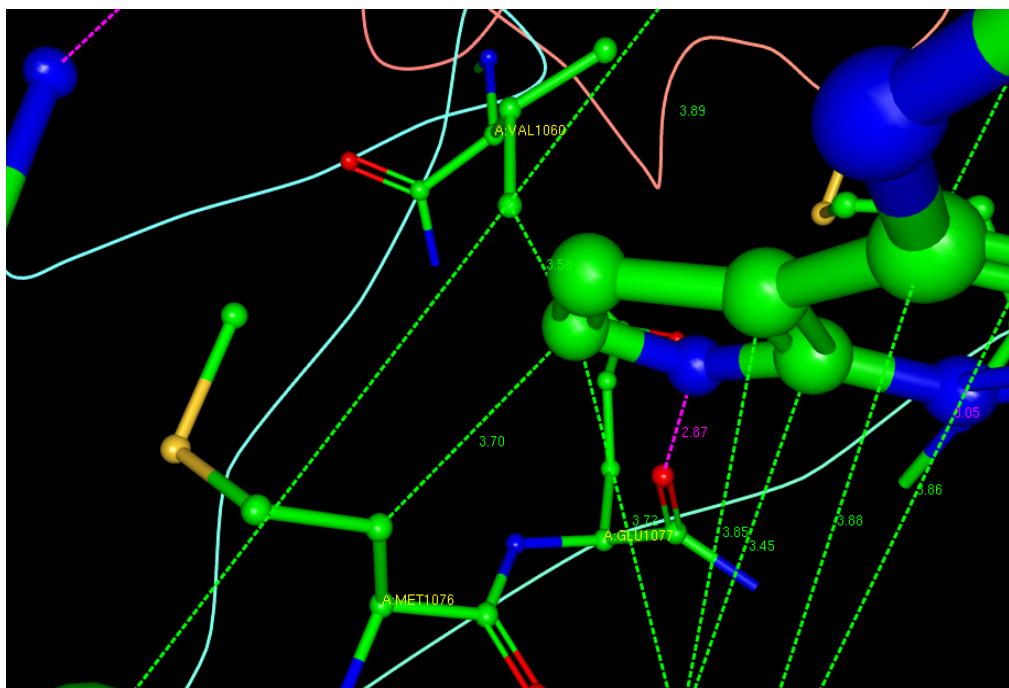
Cada interacció hidrofòbica té un tipus diferent d'energia, depenent de la distància d'enllaç. Els ponts d'hidrogen són enllaços més forts que les interaccions hidrofòbiques o forces de Van der Waals<sup>87</sup>.



**Imatge 15.** Imatge produïda pel programa Ligand Explorer, que ens permet observar les interaccions hidrofòbiques

<sup>87</sup> La **força de Van der Waals** (o **interacció de Van der Waals**), és una força atractiva o repulsiva entre molècules (o entre parts d'una mateixa molècula) degudes a el enllaç covalent o a la interacció electrostàtica de ions. Hi ha tres tipus:

- forces dipol permanent-dipol permanent
- forces dipol permanent-dipol induït
- forces dipol inducanat instantani-dipol induït



**Imatge 16.** En aquesta imatge podem apreciar el detall de les diferents distàncies entre mateixes interaccions de Van \*der Waals (o forces hidrofòbiques)

Una vegada hem analitzat el lligand, una de les millors formes de millorar a aquest (que té una energia de -9.6 kcal/mol, és a dir: molt bona) seria modificant parts a poc a poc.

Canvis possibles a realitzar:

- Canviar un grup Amida (-CONH-) per un grup èster (-COO-)
- Canviar un grup Amina (-NH-) per èter (-O-) o metilè (-CH<sub>2</sub>-)
- Canviar un grup Cetona (-C=O-) per alquè (-C=CH<sub>2</sub>-)
- Canviar Metoxi (-O-CH<sub>3</sub>) per hidroxil (-OH)
- Fluor (-F) per Clor (-Cl), Brom (-Br) o Iode (-I)

Altres tipus de canvis:

- Eliminar parts de la molècula
- Canviar de llocs fragments de la molècula.

El més importants després de fer un canvi és que després hem de mirar si millorem o empitjorem l'energia d'enllaç i intentem veure com es modifiquen les interaccions.

Una vegada hem analitzat el lligand que ens venia predeterminat, canviem algunes parts de la molècula usant el programa Symyx Draw 4.0.



Així doncs, l'objectiu d'aquest treball és buscar un medicament virtual que mostri major efectivitat en la inhibició la PROTEÏNA 3EKK que el lligand que ja tenim, mitjançant les tècniques de Docking que hem expressat.

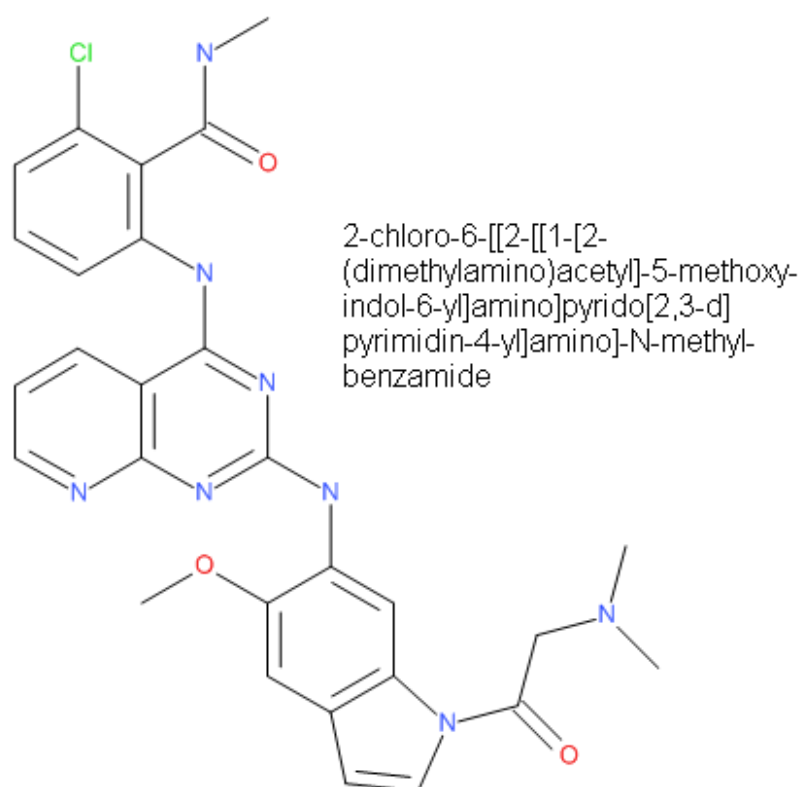
## 6.4. Docking 1

La molècula fet que nosaltres hem modificat. Fitxa tècnica:

Nom de la molècula<sup>88</sup>: Med1

Nomenclatura IUPAC<sup>89</sup>: 2-chloro-6-[[2-[[1-[2-(dimethylamino)acetyl]-5-methoxy-indol-6-yl]amino]pyrido[2,3-d]pyrimidin-4-yl]amino]-N-methyl-benzamide

Fórmula molecular:



**Imatge 17.** Realitzada pel programa \*SymyxDraw. Fórmula molecular.

Canvis realitzats en el lligand:

El Fluor 1 del lligand inicial, ho hem canviat per un Clor. El grup ciclopentadiè ho hem canviat per un benzè, això sí, mantenint el nitrogen que hi havia. En altres parts de la molècula hem llevat algun nitrogen deixant-ho per un Carboni.

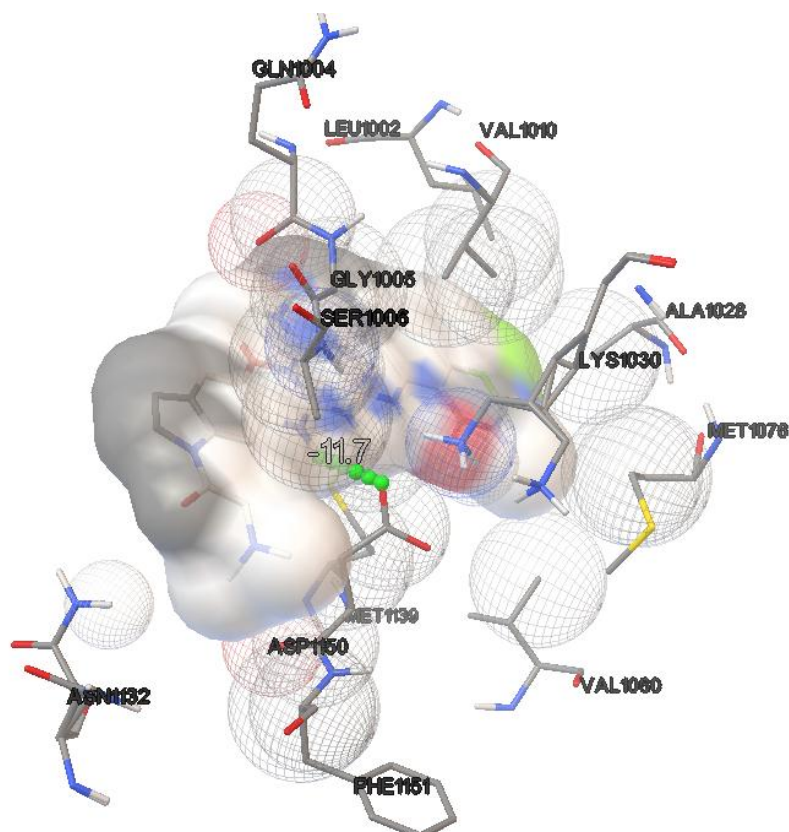
<sup>88</sup> Aquest nomeni m'ho he inventat. Per no haver de repetir durant el treball el nom \*IUPAC que és més llarg.

<sup>89</sup> El programa permet generar la nomenclatura \*IUPAC a partir de la fórmula molecular que nosaltres hàgim creat.

Lavors, preparem el Docking molecular i obtenim una taula d'energies:

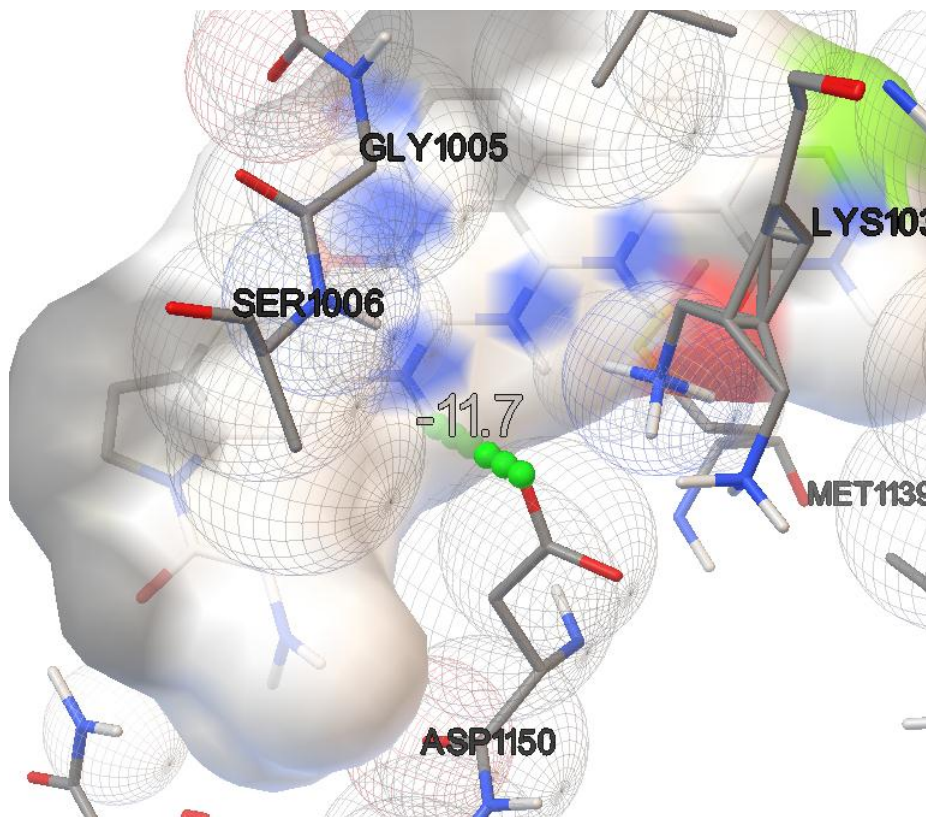
Confòrmer	Afinitat (kcal/mol)
1	-11,7
2	-11,1
3	-11,1
4	-10,8
5	-10,7
6	-10,6
7	-10,6
8	-10,4
9	-10,3

Podem veure que en fer aquests canvis, l'energia ha disminuït a -11,7 kcal/mol. Això significa que hem fet una millora. Podem afirmar que el Fluor és millor que el Clor que teníem, i que interactua millor. El grup benzè també enllaça millor així com llevat aquests nitrògens funciona millor.



Imatge 18.  
Interaccions  
entre Med1 i  
el receptor  
3EKK.

Trobem també un pont d'hidrogen:



Aquestes són les interaccions que hem vist usant el programa *RCSB PDB Ligand Explorer 4.0*:

Àtom 1	Àtom 2	Distància entre àtoms (en Å)	Tipus d'interacció
L:7001:LIG:C1	A:LEU1002:CD1	3.69	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C1	A:VAL1010:CG1	3.68	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C2	A:VAL1010:CG1	3.85	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C3	A:VAL1010:CG1	3.71	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C5	A:VAL1010:CG1	3.81	Hidrofòbica
L:7001:LIG:CI7	A:ALA1028:CB	3.28	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C11	A:ALA1028:CB	3.84	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C11	A:VAL1060:CG1	3.53	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C11	A:MET1076:CB	3.74	Hidrofòbica
L:7001:LIG:O12	A:LYS1030:NZ	3.17	Pont d'hidrogen
L:7001:LIG:C16	A:GLY1005:CA	3.88	Hidrofòbica
L:7001:LIG:N17	A:ASP1150:OD2	3.25	Pont d'hidrogen
L:7001:LIG:N22	A:ASP1150:OD2	2.89	Pont d'hidrogen
L:7001:LIG:C25	A:SER1006:CB	3.86	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C26	A:SER1006:CB	3.73	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C28	A:GLY1005:CA	3.81	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C31	A:GLN1004:C	3.80	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C31	A:GLY1005:CA	3.84	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C34	A:SER1006:CB	3.65	Hidrofòbica
L:7001:LIG:N37	A:GLN1004:O	3.27	Pont d'hidrogen
L:7001:LIG:C42	A:SER1006:CB	3.40	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C42	A:ASP1150:CB	3.84	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C44	A:ASP1150:C	3.65	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C44	A:ASP1150:CB	3.80	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C45	A:SER1006:CB	3.81	Hidrofòbica
L:7001:LIG:C45	A:ASP1150:CB	3.67	Hidrofòbica

Com a nota significativa, podem veure que apareixen també més d'un pont d'hidrogen, i 22 interaccions hidrofòbiques, una més que en el lligand inicial. En les imatges superiors

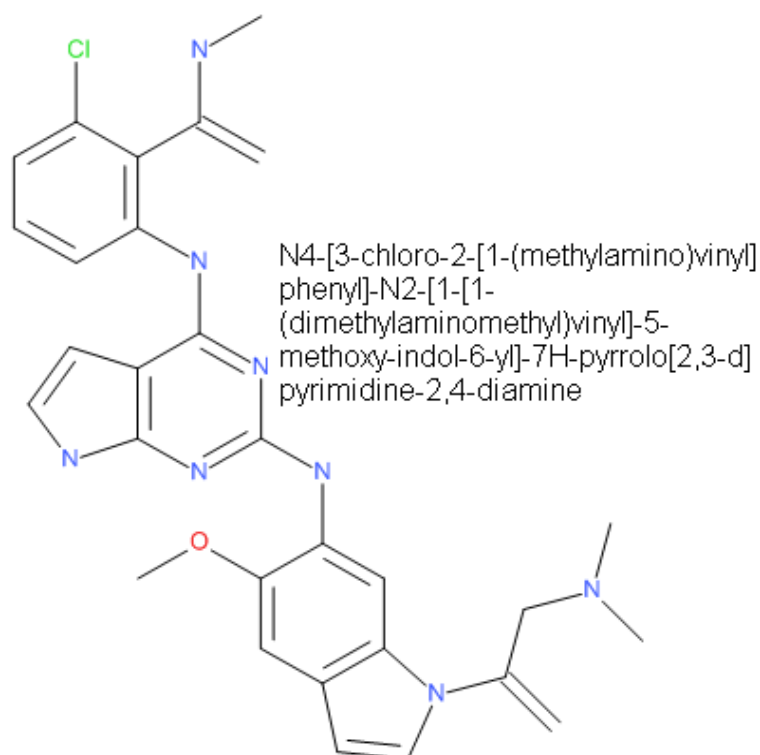
## 6.5. Docking 2

La molècula que nosaltres hem modificat:

Nom de la molècula: Med2

Nomenclatura IUPAC: N4-[3-chloro-2-[1-(methylamino)vinyl]phenyl]-N2-[1-[1-(dimethylaminomethyl)vinyl]-5-methoxy-indol-6-yl]-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidine-2,4-diamine

Fórmula molecular:



**Imatge 20.**  
Fórmula  
molecular del  
Med2.

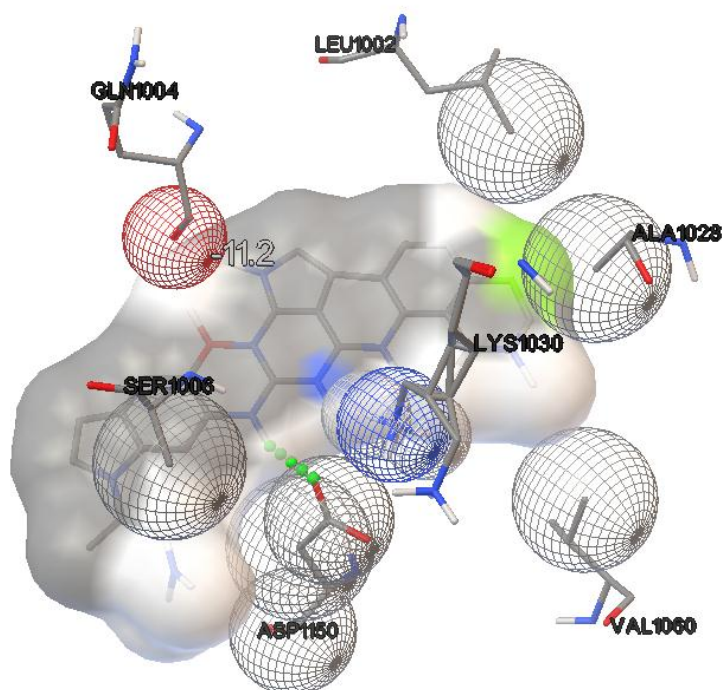
Canvis realitzats en el lligand:

El Fluor 1 del lligand inicial, ho hem canviat per un Clor. Hem mantingut el ciclopentadiè, i no hem posat un altre benzè i hem canviat un grup Cetona (-C=O-) per un alquè (-C=CH<sub>2</sub>-). Hem llevat altres Nitrògens de la molècula.

Realitzem el Docking molecular i obtenim les següents energies d'enllaç:

Confòrmer	Afinitat (kcal/mol)
1	-11,2
2	-10,7
3	-10,6
4	-10,5
5	-10,4
6	-10,4
7	-10,3
8	-10,2
9	-10,2

Aquest Docking baixa l'afinitat, per la qual cosa, comparant amb el Med1, no sabem a què es deu exactament aquesta disminució, si al canvi del grup funcional cetona per l'alquè o perquè no tenim el grup benzè. Això sí, respecte al lligand l'energia és més baixa, per la qual cosa els carbonis que hem posat per nitrògens veiem que interactuen millor.



**Imatge 21.** Imatge de les interaccions hidrofòbiques i pont d'hidrogen. Pel programa AutoDockTools.

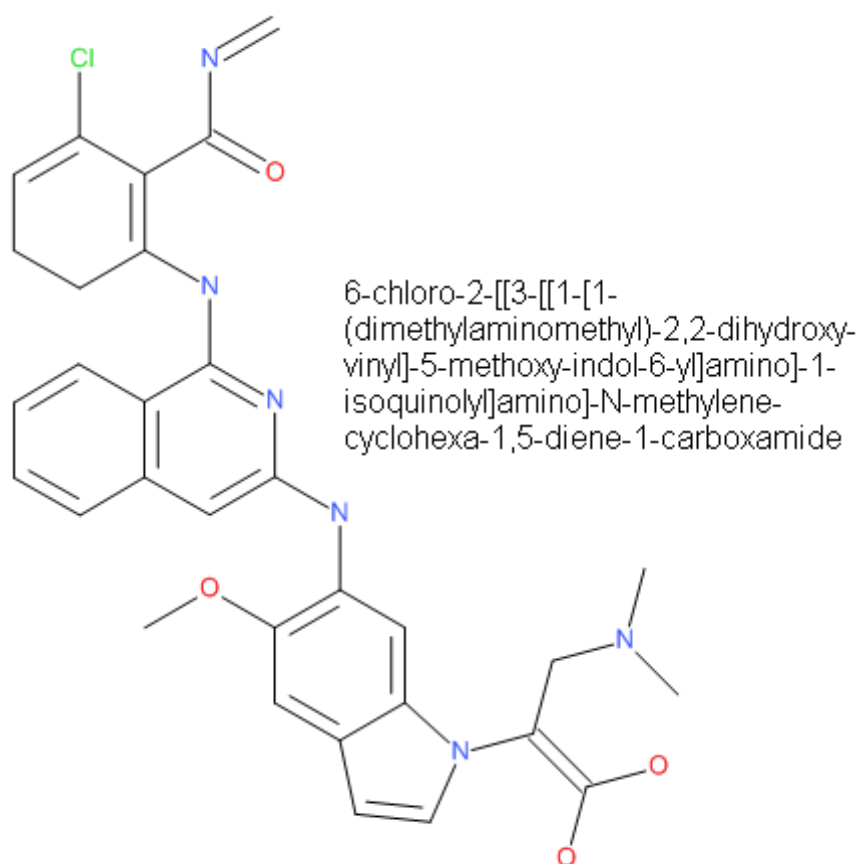
### 6.6. Docking 3

La molècula que nosaltres hem modificat:

Nom de la molècula: Med14

Nomenclatura IUPAC: 6-chloro-2-[[3-[[1-[1-(dimethylaminomethyl)-2,2-dihydroxy-vinyl]-5-methoxy-indol-6-yl]amino]-1-isoquinolyl]amino]-N-methylene-cyclohexa-1,5-diene-1-carboxamide

Fórmula molecular:



**Imatge 22.**  
Fórmula  
molecular del  
\*Med14.

Canvis realitzats en el lligand:

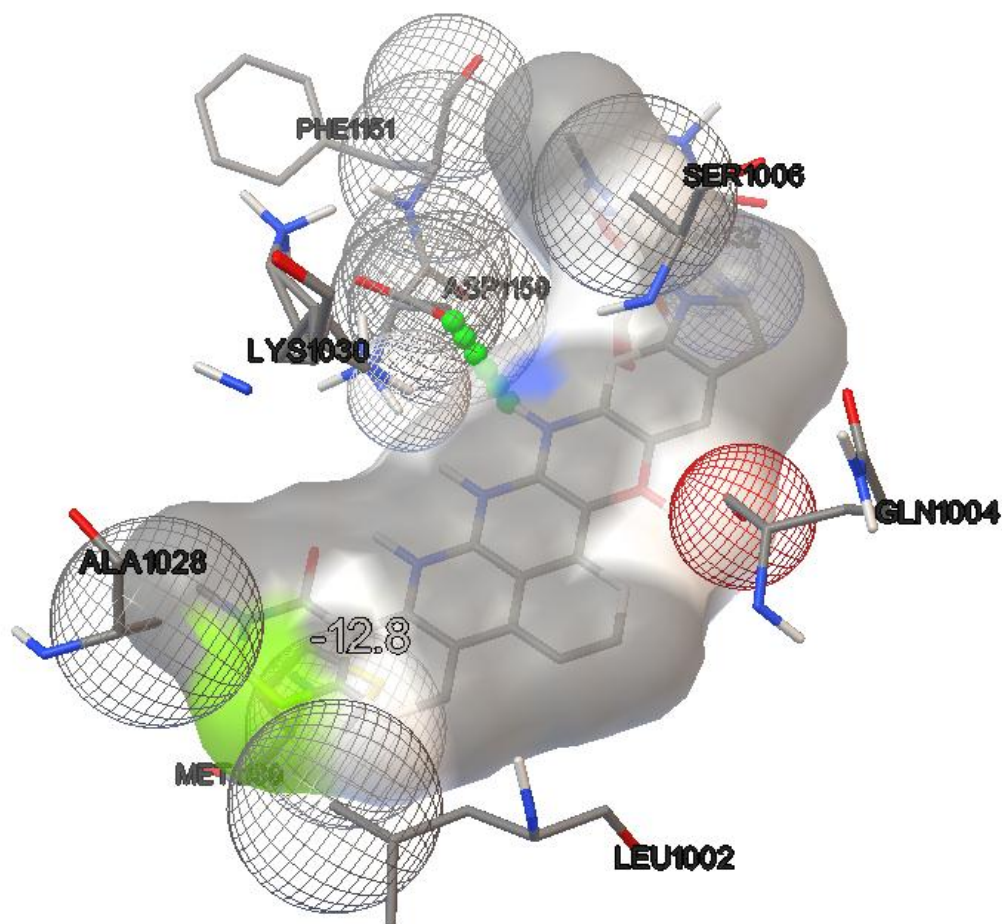
El Fluor 1 del lligand inicial, ho hem canviat per un Clor. Hem llevat el ciclopentadiè i hem posat un altre benzè. Mantenim també el grup Cetona de la part inferior de la imatge (-C=O-) per un alquè (-C=C-) però aquí li hem unit dos oxígens. A part, ja arrossegant-ho també d'abans, hem llevat alguns nitrògens.

Realitzem el Docking molecular i obtenim les següents energies d'enllaç:



Confòrmer	Afinitat (kcal/mol)
1	-12,8
2	-12,1
3	-11,9
4	-11,6
5	-11,5
6 ligand</td <td>-11,3</td>	-11,3
7	-11,3
8	-11,2
9	-11,2

El Docking que hem realitzat torna a baixar l'afinitat. Hem obtingut una energia d'enllaç de -12,8 kcal/mol.



Imatge 23. Interaccions Med14-receptor3\*EKK.

Tal com podem veure en la imatge, apareixen més esferes, per la qual cosa veiem que l'atracció és major, tal com indica l'energia d'enllaç.

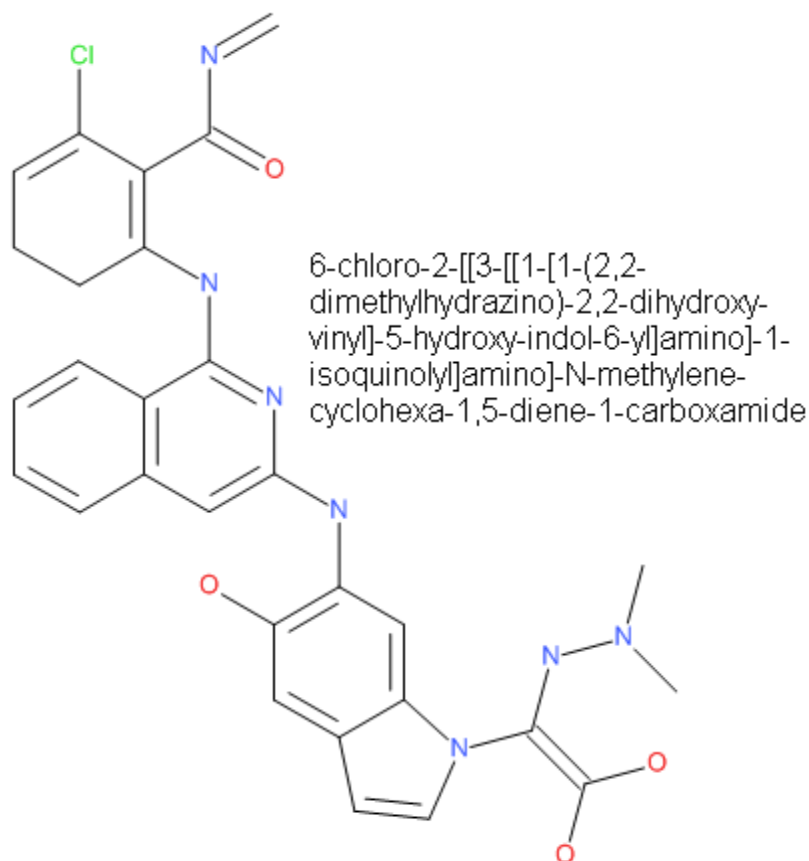
### 6.7. Docking 4

La molècula que nosaltres hem modificat:

Nom de la molècula: Med17

Nomenclatura IUPAC: 6-chloro-2-[[3-[[1-[1-(2,2-dimethylhydrazino)-2,2-dihydroxy-vinyl]-5-hydroxy-indol-6-yl]amino]-1-isoquinolyl]amino]-N-methylene-cyclohexa-1,5-diene-1-carboxamide.

Fórmula molecular:



**Imatge 24.**  
Fórmula molecular del Med17.

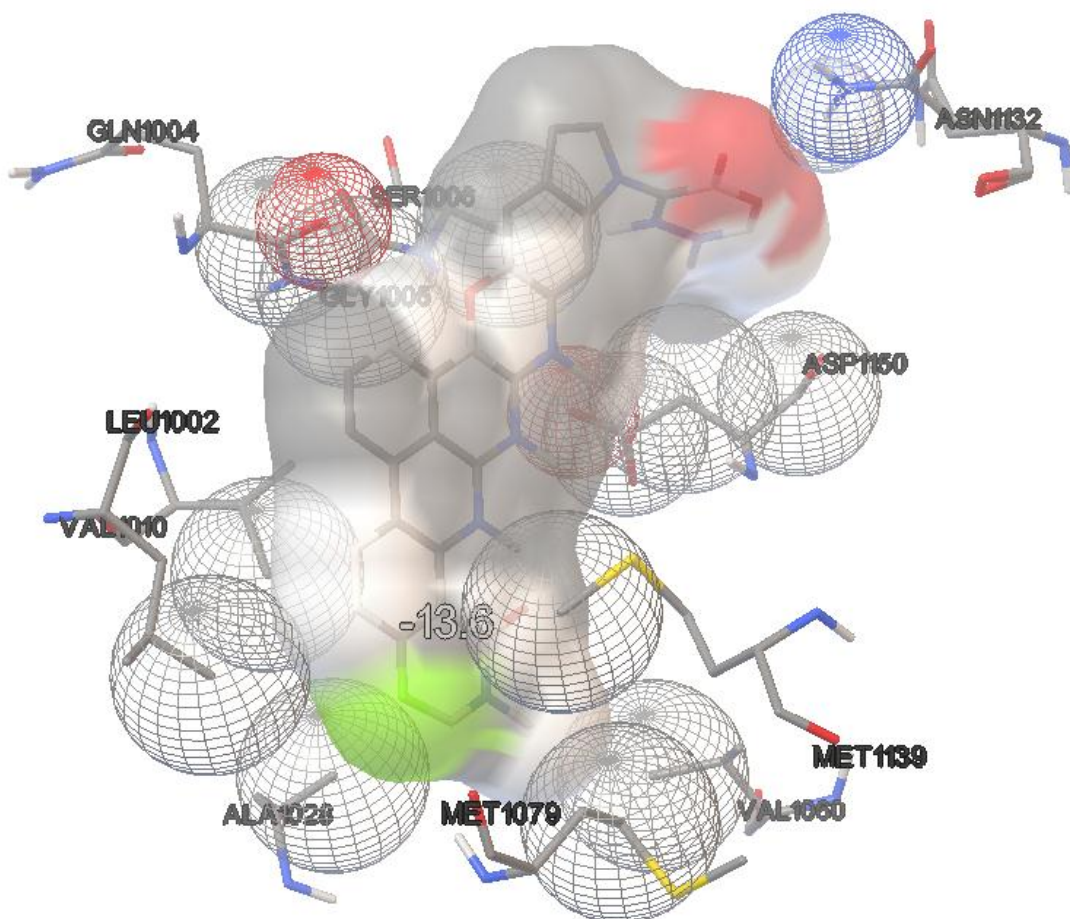
Canvis realitzats en el lligand:

Tenim la mateixa estructura que el Med14, però li llevem un carboni que estava enllaçat a un oxigen, per la qual cosa queda l'oxigen sol i hem afegit un nitrogen en la part inferior de la molècula.

Aquestes són les energies d'enllaç obtingudes mitjançant Docking:

confòrmer	Afinitat (kcal/mol)
1	-13,6
2	-12,3 ligand</td
3	-11,9
4	-11,6
5	-11,4
6	-11,4
7	-11,4
8	-11,3
9	-11,3

Tornem a baixar l'afinitat, hem obtingut una energia d'enllaç de -13,6 kcal/mol.



**Imatge 25.** Visió de les interaccions entre \*Med17-receptor 3\*EKK. Com a peculiaritat podem observar que no apareix cap pont d'hidrogen.

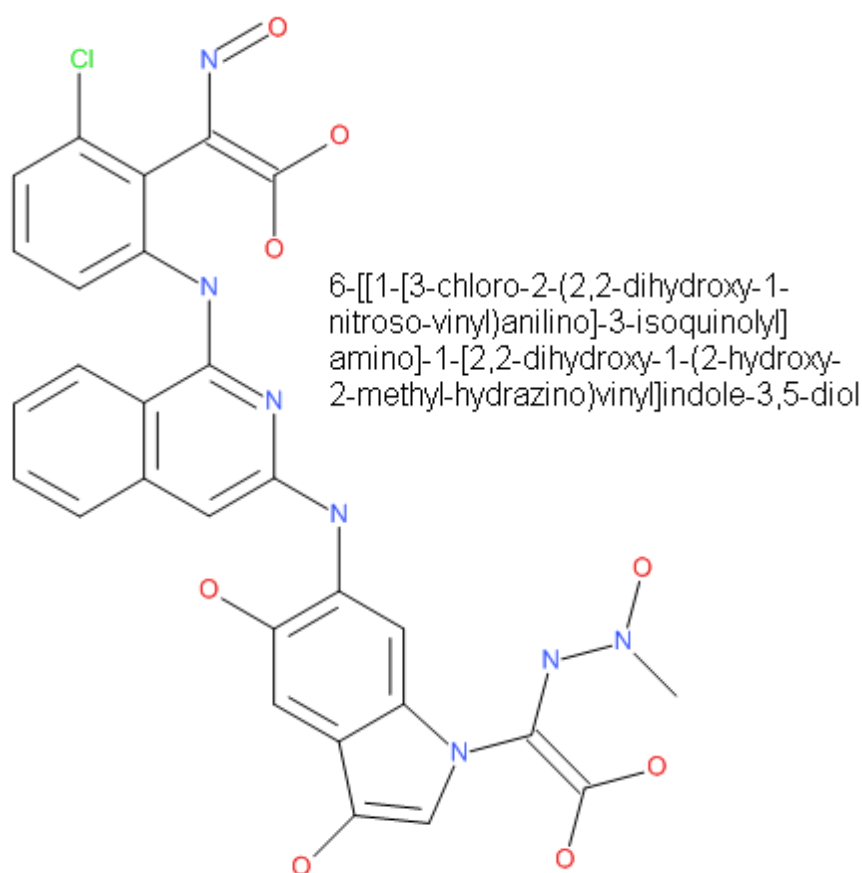
## 6.8. Docking 5

La molècula que nosaltres hem modificat:

Nom de la molècula: Med26

Nomenclatura IUPAC: 6-[[1-[3-chloro-2-(2,2-dihydroxy-1-nitroso-vinyl)anilino]-3-isoquinoly]amino]-1-[2,2-dihydroxy-1-(2-hydroxy-2-methyl-hydrazino)vinyl]indole-3,5-diol.

Fórmula molecular:



**Imatge 26.**  
Fórmula  
molecular del  
\*Med26.

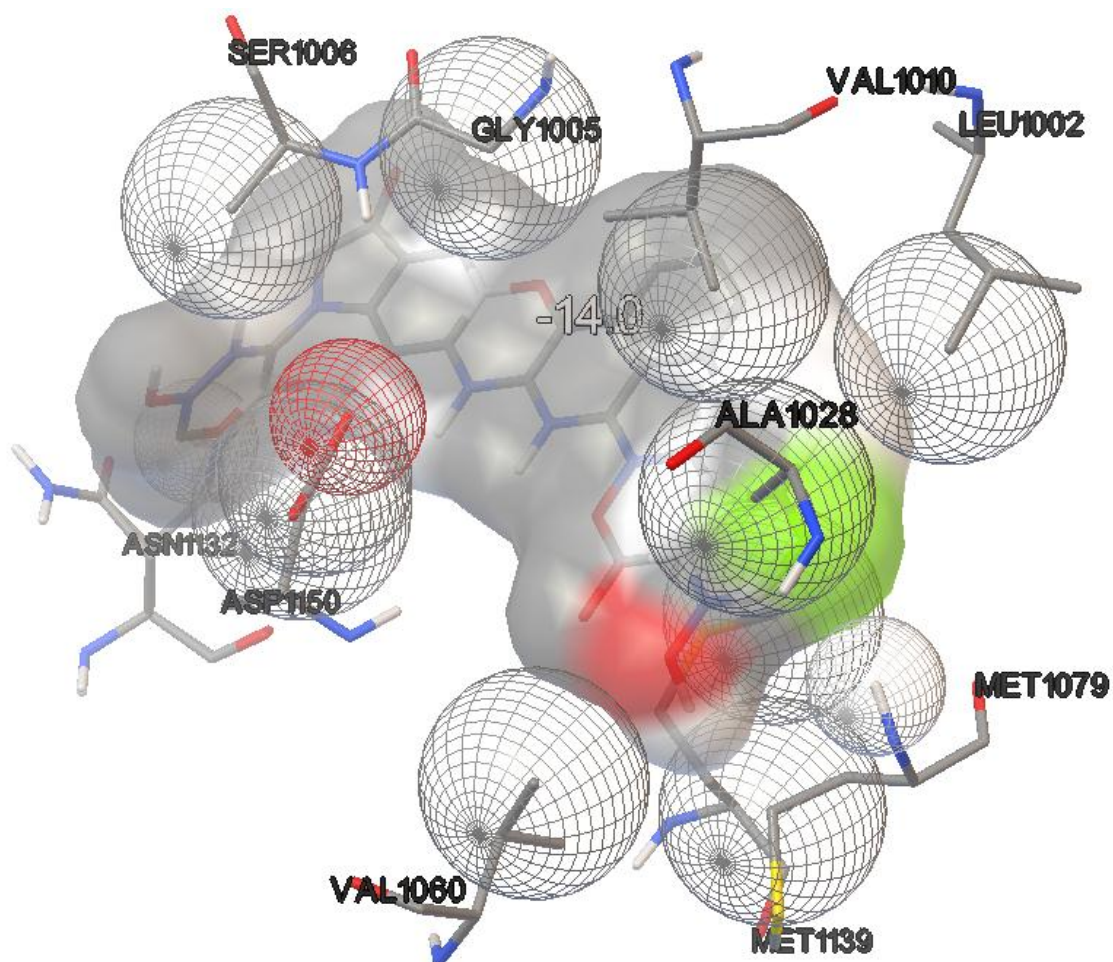
Canvis realitzats en el lligand:

Tenim la mateixa estructura que el Med17, però canviem un grup alquè per una cetona, afegim un oxigen en el ciclopentadiè i un altre oxigen per un carboni enllaçat a un nitrogen.

La taula energies obtingudes mitjançant Docking:

confòrmer	Afinitat (kcal/mol)
1	-14,0
2	-13,2
3	-12,7
4	-12,2
5	-12,2
6	-12,0
7	-11,9
8	-11,8
9	-11,6

Tornem a baixar l'afinitat, hem obtingut una energia d'enllaç de -14,0 kcal/mol.



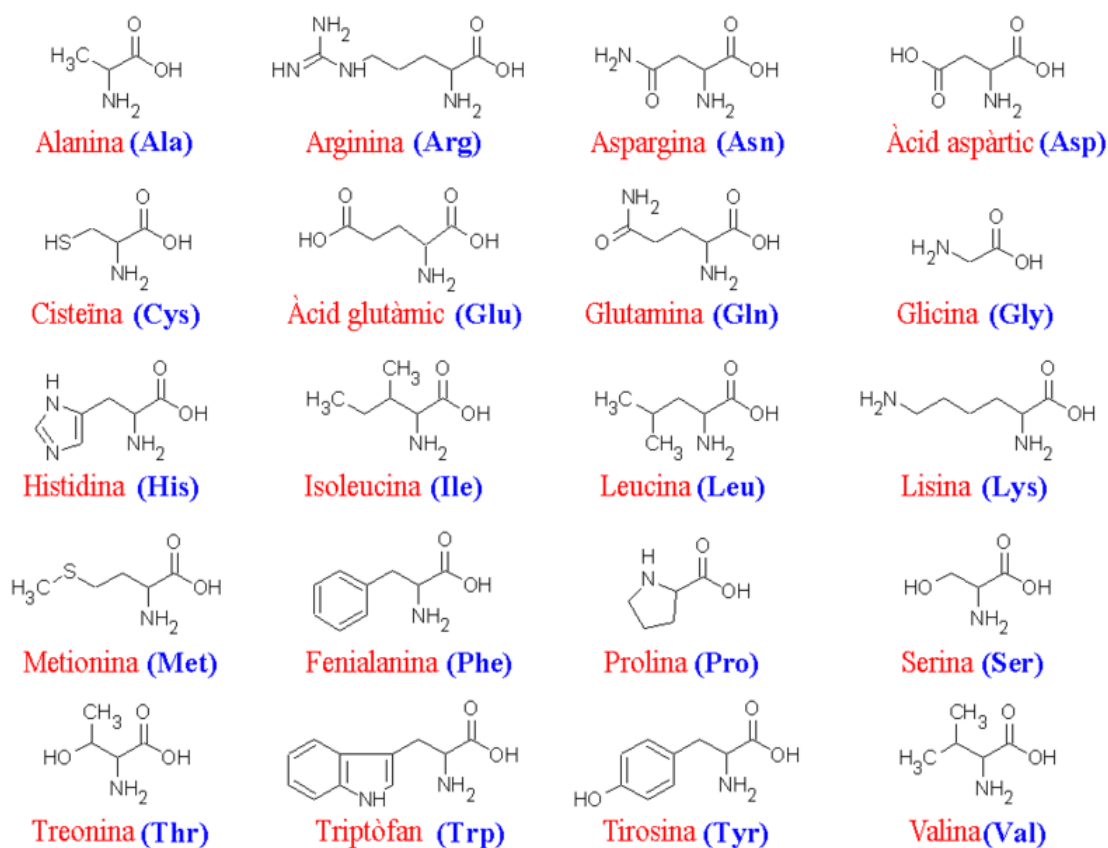
**Imatge 27.** Visió de les interaccions entre \*Med26-receptor 3\*EKK. Com a peculiaritat podem observar que no apareix cap pont d'hidrogen.



## APÈNDIXS

## Apèndix 1.

En les proteïnes presents en els éssers vius es troben vint models diferents d'aminoàcids:



Aquests són els noms i les abreviatures, i la fórmula desenvolupada de cadascun d'ells.

## Apèndix 2

### LA PREVALENÇA.

#### 1.1. Importància de la prevalença

La diabetis Mellitus tipus II és un problema sanitari greu en el nostre temps. Les proporcions són epidèmiques al món occidental<sup>90</sup>: es creu que existeixen 246 milions de persones afectades i que pot augmentar a 380 milions en 2015.

La diabetis és, per tant, la principal causa de ceguesa, amputacions i malaltia renal, atès que són els principals símptomes (i també els més perillosos).

És important conèixer la prevalença de la diabetis Mellitus tipus II perquè és una malaltia existent en la societat i la sanitat pública ha d'invertir aquí un capital (per a l'atenció i prevenció d'aquesta) i per determinar la salut de la població.

#### 1.2. Prevalença a Espanya

Per aconseguir la prevalença de la diabetis Mellitus tipus II a Espanya, han estat usades enquestes, informacions del consum de fàrmacs i registres mèdics. Però d'aquí solament obtenim solament els casos de diabetis coneguts. Les estimacions basades en estudis de camp<sup>91</sup> com també de IGT<sup>92</sup> (intolerància a la glucosa).

Aquestes investigacions, a Espanya, situaven la prevalença de diabetis Mellitus tipus II entre el 6 i el 10% de la població.

#### 1.3. Estudi di@bet.es

[Di@bet.es](http://Di@bet.es) és un estudi epidemiològic de la diabetis Mellitus tipus II a Espanya.

L'estudi ho ha realitzat el **Centre d'Investigació Biomèdica en Xarxa de Diabetis i Malalties Metabòliques Associades** (CIBERDEM) i l'Institut **de Salut Carlos III** (Ministeri de Ciència i Innovació) en col·laboració amb **La Societat Espanyola de Diabetis** (SIGUEU) i **La Federació Espanyola de Diabetis** (FED).

---

<sup>90</sup> Segons la Societat Espanyola de Diabetis.

<sup>91</sup> Utilitzant la prova de sobrecàrrega oral de glucosa (\*SOG) a una mostra de població significativa. Consisteix a quantificar la concentració de glucosa en dejú.

<sup>92</sup> La **Intolerància a la Glucosa** (\*IGT sigles en anglès) és un r\*oceso en el qual els nivells de glucosa en dejú són superiors als normals, però inferiors als diagnòstics de diabetis M\*ellitus tipus II.



### 1.3.1. Objectius de l'estudi

Els principals objectius de l'estudi són **(els objectius han estat trets del dossier de premsa de l'estudi [di@bet.es](mailto:di@bet.es) )**:

1. Conèixer amb major precisió la xifra actual de persones amb diabetis Mellitus tipus II, així com la prevalença de l'obesitat, la hipertensió arterial i altres factors de risc cardiovascular, inclosos hàbits de salut i hàbits nutricionals.
2. Determinar el grau d'associació entre els diferents factors de risc, especialment els relacionats amb la diabetis Mellitus tipus II.

### 1.3.2. Dades obtingudes

Els resultats que l'estudi [di@bet.es](mailto:di@bet.es) ha obtingut situen la prevalença total de diabetis Mellitus tipus II en **un 12%**.

Aquests són les dades obtingudes<sup>93</sup>:

---

<sup>93</sup> Dades aconseguides del dossier de premsa de l'estudi [di@bet.es](mailto:di@bet.es)

<b>DATOS GLOBALES DE PREVALENCIA (ESTUDIO <a href="http://di@bet.es">di@bet.es</a>)</b>		
	<b>Porcentaje de personas afectadas mayores de 18 años</b>	<b>Nº de personas afectadas mayores de 18 años</b>
<b>Diabetes Mellitus conocida</b>	8.1	3.111.641
<b>Diabetes Mellitus no conocida</b>	3.9	1.514.916
<b>Diabetes Mellitus total</b>	12.0	4.626.557
<b>Tolerancia Anormal de la Glucemia</b>	7.9	3.028.706
<b>Glucemia Basal alterada</b>	3.6	1.398.183
<b>Obesidad<sup>1</sup></b>	28.2	10.863.431
<b>Hipertensión arterial</b>	41.2	15.889.058
<b>Síndrome Metabólico</b>	20.8	8.022.026
<b>Tabaquismo</b>	27.8	10.724.238
<b>Ingesta de bebidas alcohólicas a diario</b>	22.6	8.733.905
<b>Ingesta de aceite de oliva para freir</b>	69.2	26.583.402
<b>Sedentarismo</b>	50.3	19.400.237

<sup>1</sup> IMC>30kg/m<sup>2</sup>. <sup>2</sup> PAS>140mmHg o PAD>90 mmHg.

# **7. L'Obesitat**

## **7.1 Introducció**

L'obesitat, es defineix com l'excés de grassa o teixit adipós necessari en les persones, aquest fenomen pot causar un problema de salut difícil de tractar, aquest pot ser causat pel motiu bàsic d' ingerir mes greixos del compte, es a dir un desequilibri entre l'energia que necessitem i la que ingerim., Això provoca que els lípids no es descomposin i es quedin col·lapsats en el teixit adipós de les cèl·lules, però aquest no es l'únic motiu que pot causar aquesta malaltia, hi interfereixen molts altres factors, l'ambiental, l'estat d'ànim...

Aquesta patologia està considerada com una epidèmia mundial, una malaltia seria i crònica que pot ser la causant de moltes altres malalties com ara les cardiovasculars i la diabetis entre moltes altres , que poden generar en un elevat risc de mortalitat en l' ésser humà.

Per la importància que te aquesta malaltia i les seves complicacions metabòliques respecte a la població, es necessari conèixer les característiques de la població obesa en el nostre país, fet que ens permetrà conèixer els riscos que incrementen la morbiditat d'aquest grup de població i conèixer els mitjans necessaris per prevenir-ho.

En aquest treball mirarem d'explicar per què es produeix l'obesitat, quines conseqüències poden tenir per la nostra salut i el perquè, així com s'ha de tractar, millorar el lligand per quan s'adhereixi al centre catalític de l'enzim puguem obtenir una reacció més estable i centrar-nos en aquesta gran diana biològica que presenta l'obesitat. Espero també , ser d'ajuda entre les persones obeses i a les seves famílies, que malgrat, que de moment no sabem curar l'obesitat, disposem de tractaments molt útils per reduir els seus efectes negatius sobre la salut.

## **7.2 Història de l'obesitat**

### **Obesitat en la Prehistòria**

Entenent la prehistòria com un període de la humanitat que abasta des dels orígens (2.500.000 AC) fins a l'inici de l'escriptura (3500-3000 AC) aproximadament.

L'ésser humà durant el 95-99% del temps de la seva existència a la terra ha viscut com caçador-recol·lector i ha tingut de resistir els freqüents períodes de carència d'aliments. Aquest fet va produir, a través d'un procés de selecció, el progressiu predomini en el genoma humà d'aquells que afavorien el dipòsit d'energia i permetien que aquests individus tinguessin una major supervivència i aconseguissin l'edat de la reproducció.



Imatge1 (Venus de Willendorf)

En gran part d'aquest període es dona la lluita per la supervivència de l'ésser humà amb el medi natural i els seus competidors d'altres espècies. Per tant, només les que havien acumulat més greix aconseguien sobreviure als períodes de fam.

L'única constatació que tenim de l'existència d'obesitat en temps prehistòrics prové d'estàtues de l'edat de pedra, representant la figura femenina amb excés de volum en les seves formes. La més coneguda és la Venus de Willendorf, una petita estàtua de l'edat de pedra que té una antiguitat aproximada de 25.000 anys i que està exposada al museu d'Història Natural de Viena.

### **Obesitat en l'Edat Antiga**

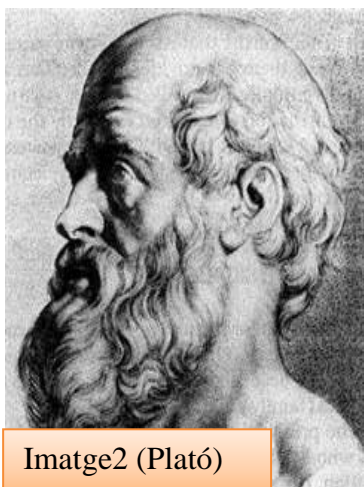
Aquesta etapa abasta des de l'aparició de l'escriptura (3500 aC a 3000 aC) fins a la caiguda de l'Imperi Romà (476 DC). S'han trobat restes cadavèriques que ens diuen que l'obesitat va estar present en la cultura egípcia, per exemple l'existència de arteriosclerosi<sup>94</sup> va ser descrita fa més de 4000 anys en la cultura egípcia. Les autòpsies de les mòmies egípcies van trobar que l'arteriosclerosi coronària i l'infart de miocardi es presentaven en persones riques.

La dieta d'aquesta època era abundant en qualitat i en varietat, donant-se l'obesitat en persones de rang social elevat. Tot hi que ja hi havia un coneixement del que era una dieta equilibrada.

---

<sup>94</sup>**Arteriosclerosis:** Es la condició en que s'engruixeix la paret de l'artèria, com a resultat d'una acumulació de materials grassos com el colesterol.

Grans obesos de la cultura egípcia varen ser Amenhotep III i Ramsés III, sense oblidar Ajenatón, un individu del qual s'han dit un munt coses, sobre diverses patologies estranyes.



Ja a l'antiga Grècia, Hipòcrates va reconèixer que les persones que tenen una tendència natural a engreixar, solen morir abans que les primes. Va ser Hipòcrates el primer que va associar l'obesitat amb la mort sobtada, fa més de 2000 anys.

El gran filòsof Plató (segle V-IV aC) proclama una precisa observació sobre l'alimentació i l'obesitat en assenyalar que la dieta equilibrada és la que conté tots els nutrients en quantitats moderades i que l'obesitat s'associa amb la disminució de l'esperança de vida.

### **Obesitat en l'Edat Mitjana**

Aquesta època comprèn des de la caiguda de l'Imperi Romà (476 DC), fins a la caiguda de l'Imperi Bizantí (1453D.C.). (5).

A l'edat mitjana, la golafreria era més aviat comú entre els nobles, que la consideraven un signe tangible de benestar. L'església, en canvi, desaprovava la golafreria.

L'Església Catòlica va adjudicar a la golafreria com a pecat venial. No obstant això els artistes no en varen fer cas i pintaven com a quelcom bonic un cos obès. Aquesta omisió va ser seguida durant molts anys, fins i tot per molts monjos. No obstant això va ser al segle XIII, quan el papa Inocenci III va insistir en el pecat de la gola i va recriminar a tots els sacerdots i monjos obesos.

Després de l'enfonsament de l'Imperi Romà, la influència de la docència mèdica va passar de Roma al món Àrab i al Bizantí, de manera que durant l'Edat Mitjana la medicina àrab va aconseguir un gran prestigi i difusió.

Tenint com a principal protagonista Avicenna (segles X-XI), que va ser el metge més prestigiós de l'època. La seva enciclopèdia mèdica, que va ser traduïda al llatí amb el títol de Cànon, va esdevenir el text bàsic que es va utilitzar per a l'ensenyament de la medicina durant cinc segles.

Avicenna dedica un capítol d'un dels seus llibres: el cànon de la medicina, a l'obesitat. I diu "l'obesitat severa restringeix els moviments i maniobres del cos ... els conductes de la respiració s'obstrueixen i no passa bé l'aire, aquests pacients tenen un risc de mort

sobrada, són vulnerables a patir un accident cerebral, hemiplegia, palpitations, diarrees, marejos.

En el Cànon, Avicenna descriu les recomanacions, algunes molt assenyades, per tractar l'obesitat:



Imatge3 (Aetius)

- 1) Procurar un ràpid descens d' aliments per l'estómac i l'intestí per tal d'evitar la seva completa absorció pel mesenteri .2)Prendre aliments voluminosos però poc nutritius.
- 3) Prendre un bany abans de menjar
- 4) Exercici intens.

En l'imperi bizantí les idees sobre la causa i tractament de l'obesitat dels metges bizantins de l'època són relativament correctes i no difereixen massa de les vigents en l'actualitat. El metge bizantí Aetius atribuïa l'obesitat a la dieta abundant, a la manca d'exercici. Aconsellaven, també, fisioteràpia, especialment banys termals amb aigua molt calenta que afavorís la sudació.

Se sap també que fa més de 1.000 anys, a Espanya, un rei va perdre la corona per perdre la línia. Explica la història que el Rei lleonès Sancho I, que va accedir al tron als 25 anys d'edat, l'any 958, era un obès mòrbid de tal magnitud que necessitava l'ajuda d'una persona per poder caminar i muntar a cavall. La seva obesitat era objecte de burles i per això va passar a la història amb el sobrenom "del Gras".

### **Obesitat en l'Edat Moderna**

Aquesta època compren des de la caiguda de l'imperi bizantí (1453 DC) fins l'any en què va esclatar la revolució francesa (1789) aproximadament.

En el segle XV: Estigmatització de la golafreria i de l'obesitat en la cultura cristiana (com ja s'ha comentat), era clarament condemnada a la cultura cristiana antiga, de manera que Sant Agustí al segle V i Gregori I al segle VII, van incorporar la gola entre els set pecats capitals. A Europa, al començament de l'edat moderna, a finals del segle XV, havia major disponibilitat de menjar i la golafreria ja es relacionava clarament amb l'obesitat.

En els segles XVI-XVII, durant el transcurs d'aquests segles, especialment del XVII, augmenten a Europa- com és lògic-, la publicació de textos i monografies mèdiques. Aquest fet permet conèixer molt millor la història de la medicina i, també, evidentment, la de l'obesitat.

Les primeres monografies amb el tema de l'obesitat es publiquen a la fi del segle XVI i durant el segle XVII. Tots aquests textos es van publicar en llatí i van tractar principalment d'aspectes clínics de l'obesitat. Tot i que aquests textos encara estaven influenciats pel pensament d'Hipòcrates i de Galè, introduïen ja noves idees sobre aspectes físics i químics que constituïen una base teòrica per a la comprensió de la funció de l'organisme. Un dels màxims difusors d'aquestes idees va ser el creador de l'escola Iatromecànica<sup>95</sup> (mecànica aplicada a la medicina), l'italià Giovanni Alfonso Borelli (1608-1679), i el metge flamenc Jan Baptiste Helmont (1577-1644), així com les representacions pictòriques de Peter Paulus Rubens (1577-1640).

### **7.3 Estudi de la Malaltia**

---

<sup>95</sup> **Iatromecànica:** corrent de la ciència mèdica sorgida en el segle XVII que buscava l'aplicació de la física per donar resposta als interrogants de la fisiologia i patologia humana.



### Quina classe de patologia es, com ens afecta?

L'obesitat o adiposi es una malaltia crònica que és caracteritzada per l'acumulació de greix (Lípids) o hipertròfia en el teixit adipós, es a dir quan la reserva energètica dels essers humans o altres mamífers, emmagatzemada en forma de grassa corporal, s'incrementa fins arribar al punt ,que pot produir un risc per la salut de les persones o l'individu inclús un increment de la mortalitat.

Lògicament, a diferència del sobre pes, l'obesitat no tracta com a únic punt la massa corporal i el teixit adipós, sinó que, si en parlem en general, en aquest influïrien molts altres factors com: els ossos la massa muscular i l'estatura, que incrementarien el pes de la persona.

L'OMS<sup>96</sup> defineix "obesitat" quan l'IMC<sup>97</sup> es igual o superior a 30 kg/m<sup>2</sup>. També considera signe d'obesitat, un perímetre abdominal augmentat en els homes major o igual a 102 cm i major a 88cm en les dones.

L'obesitat forma part del síndrome metabòlic, sent un factor de risc conegut, es a dir predisposa per varies malalties, particularment les cardiovasculars, diabetis, mellitus

tipus 2, apnea de la son, ictus, osteoartritis, així com algunes formes de càncer, estats dermatològics i gastrointestinals.

Però també podem observar moltes altres conseqüències d'aquesta patologia. Un gran nombre de actuacions mèdiques han estat associades amb l'obesitat. Les conseqüències sobre la salut estan categoritzades com a resultat d'un increment de la massa adiposa (artrosi, apnea del son, estigma social) o un increment en el nombre de cèl·lules grasses (diabetis, càncer, malalties cardiovasculars, fetge gras no alcohòlic).

### 7.4 Factors on influeix la malaltia:

---

<sup>96</sup>**OMS:** Organització mundial de la salut L'OMS és l'autoritat directiva i coordinadora de l'acció sanitària en el sistema de les Nacions Unides.

És la responsable d'exercir una funció de lideratge en els assumptes sanitaris mundials, configurar l'agenda de les investigacions en salut, establir normes, articular opcions de política basades en l'evidència, donar suport tècnic als països i vigilar les tendències sanitàries mundials.

<sup>97</sup>**IMC:** L'índex de massa corporal (IMC) és una mesura d'associació entre el pes i la talla d'un individu ideada per l'estadístic belga L. A. J. Quetelet, de manera que també es coneix com a índex de Quetelet.

Es calcula segons l'expressió matemàtica:

$$\text{IMC} = \frac{\text{masa}}{\text{estatura}^2}$$

- Cardiovascular: Insuficiència cardíaca congestiva, el cor augmenta de mida i les arítmies<sup>98</sup> i marejos associats, cor pulmonar, varius embolismes pulmonars.
- Endocrí: síndrome de l'ovari poliústic, desordres menstruals i infertilitat.
- Gastrointestinal: malaltia de reflux gastro-esofàgic, fetge gras, colelitiasi, hèrnia i càncer colorectal.
- Renal i genito-urinari: disfunció erèctil, incontinència urinària, insuficiència renal crònica, hipogonadisme<sup>99</sup> (homes), càncer mamari (dones), càncer uterí (dones), mort fetal intrauterina.
- Sistema integumentari (pell i apèndixs): estries, acantosi nigricans<sup>100</sup>, limfedema, cel·lulitis, furúncols, intertrigen.
- Múscul esquelètic: hiperuricèmia (que predisposa a la gota), pèrdua de la mobilitat, artrosi, mal d'esquena.
- Neurològic: accident vascular cerebral, meràlgia parestèsica, maldecaps, síndrome del túnel del carp, demència, hipertensió intracranial idiopàtica.
- Respiratori: dispnea, apnea obstructiva del son, síndrome d'hipoventilació, síndrome de Pickwickian<sup>101</sup>, asma.
- Psicològic: depressió, desordre de cos dismòrfic, estigmatització social. Solen tenir sentiments de culpa, una autocrítica mordaç i una autoestima minvada i autodestructiva. Menyspreen la seva imatge corporal i la d'elles mateixes com a persones, podent sentir odi i fàstic cap a elles mateixes.

---

<sup>98</sup>**Arítmia:** També utilitzat disrítmia cardíaca s un grup heterogeni de condicions en que hi ha una activitat elèctrica anormal en el cor.

<sup>99</sup>**L'hipogonadisme:** És un trastorn en que els testicles o ovaris no són funcionals o hi ha incapacitat genètica de l'hipotàlem per secretar quantitats normals de GnRH (Gonadotropina)

<sup>100</sup>**L'acantosis nigricans:** És una malaltia rara de la pell, caracteritzada per la presència de hiperqueratosis i hiperpigmentació en els plecs cutanis perianals i de les axil·les.

<sup>101</sup>**Síndrome de Pickwickian:** És un símptoma que es presenta en les persones obesas, en la qual dificulta la respiració i porta a nivells baixos d'oxigen i nivells més alts de diòxid de carboni en la sang.

## 7.5 Antecedents i justificació

### Prevalença de la malaltia:

#### Taula 1

Prevalença de l'obesitat en la població infantil i juvenil espanyola (2-24 anys)

	2-5 años	6-9 años	10-13 años	14-17 años	18-24 años	Total
<b>Total</b>						
Sobrepeso IMC $\geq$ P85 < P97	9,9 (6,8-13,0)	14,5 (11,1-17,9)	14,6 (11,7-17,5)	9,3 (7,1-11,5)	13,2 (11,5-14,9)	12,4 (11,3-13,5)
Obesidad IMC $\geq$ P97	11,1 (7,9-14,3)	15,9 (12,4-19,4)	16,6 (13,5-19,7)	12,5 (10,0-15,0)	13,7 (11,9-15,5)	13,9 (12,7-15,1)
Sobrecarga ponderal total	21,0 (16,8-25,2)	30,4 (26,0-34,8)	31,2 (27,3-35,1)	21,8 (18,7-24,9)	26,9 (24,6-29,2)	26,3 (24,8-27,8)
<b>Varones</b>						
Sobrepeso IMC $\geq$ P85 < P97	9,3 (5,2-13,4)	16,0 (11,0-21,0)	20,0 (15,3-24,7)	10,3 (7,1-13,7)	14,8 (12,0-17,8)	14,3 (12,6-16,0)
Obesidad IMC $\geq$ P97	10,8 (6,4-15,2)	21,7 (16,1-27,3)	21,9 (17,0-26,8)	15,8 (11,9-19,7)	12,6 (9,9-15,3)	15,6 (13,8-17,4)
Sobrecarga ponderal total	20,1 (14,4-25,8)	37,7 (31,1-44,3)	41,9 (36,1-47,7)	26,2 (21,5-30,9)	27,5 (23,9-31,1)	29,9 (27,7-32,1)
<b>Mujeres</b>						
Sobrepeso IMC $\geq$ P85 < P97	10,4 (5,9-14,9)	13,0 (8,5-17,7)	9,1 (5,7-12,5)	8,0 (5,1-10,9)	11,3 (9,2-13,4)	10,4 (9,1-11,9)
Obesidad IMC $\geq$ P97	11,5 (6,8-16,2)	9,8 (5,8-13,8)	10,9 (7,2-14,6)	9,1 (6,0-12,2)	14,9 (12,5-17,3)	12,0 (10,5-13,5)
Sobrecarga ponderal total	21,9 (15,8-28,0)	22,9 (17,2-28,6)	20,0 (15,3-24,7)	17,1 (13,1-21,1)	26,2 (23,3-29,1)	22,5 (20,6-24,4)
<b>Total</b>						
Sobrepeso Cole et al	16,6 (13,1-20,7)	24,7 (21,1-28,8)	22,4 (19,7-25,3)	15,4 (12,8-18,5)	15,8 (13,4-18,6)	18,1 (16,5-19,7)
Obesidad Cole et al	10,4 (7,8-13,8)	10,4 (7,3-14,7)	4,7 (3,5-6,2)	6,5 (4,9-9,0)	4,0 (2,3-5,5)	6,3 (5,4-7,5)
Sobrecarga ponderal total	27,0 (22,0-32,6)	35,2 (29,9-40,8)	27,1 (24,1-30,3)	21,9 (18,5-25,9)	19,9 (16,8-23,3)	24,4 (22,3-26,6)
<b>Hombres</b>						
Sobrepeso Cole et al	13,6 (9,7-18,7)	25,7 (20,4-31,8)	26,1 (22,3-30,3)	20,7 (17,5-24,4)	21,5 (18,3-25,0)	21,5 (19,6-23,5)
Obesidad Cole et al	8,3 (5,9-11,5)	12,1 (7,3-19,4)	6,6 (5,1-8,5)	10,0 (6,8-14,4)	5,9 (4,2-8,4)	7,9 (6,6-9,6)
Sobrecarga ponderal total	21,9 (16,0-29,2)	37,9 (31,2-45,0)	32,8 (29,1-36,7)	30,7 (26,2-35,6)	27,4 (23,7-31,4)	29,5 (27,1-31,9)
<b>Mujeres</b>						
Sobrepeso Cole et al	19,9 (14,5-26,6)	23,7 (19,1-29,0)	18,4 (15,4-21,9)	9,8 (6,8-14,1)	9,8 (8,0-12,0)	14,4 (12,4-16,6)
Obesidad Cole et al	12,7 (8,1-19,4)	8,6 (5,1-14,1)	2,6 (1,7-3,9)	2,8 (1,9-4,2)	2,0 (1,5-2,8)	4,6 (3,4-6,2)
Sobrecarga ponderal total	32,6 (24,9-41,3)	32,4 (24,7-41,1)	21,0 (18,1-24,3)	12,7 (9,3-17,2)	11,9 (9,9-14,2)	19,0 (16,2-22,2)

(Aranceta-Bartrina j, et al. prevalencia de obesidad en España)

Taula 1 Prevalença (2-24 anys)

Els resultats de l'estudi ens permeten estimar una prevalença d'obesitat en aquest grup d'edat del 13,9%, un 12,4% pel sobrepès, el que tipifica un 23,6% de la població espanyola entre 2 i 24 anys amb sobrepes corporal.

#### Taula 2

Prevalença de l'obesitat en la població adulta espanyola (25-60 anys)

	Grupos de edad (años)				Total
	25-34	35-44	45-54	55-60	
<b>Total</b>					
IMC 25-26	15,5 (15,0-15,8)	19,9 (19,5-20,3)	21,6 (21,3-21,7)	23,1 (22,8-23,7)	19,5 (19,3-19,7)
IMC 27-29	12,5 (12,2-13,1)	19,4 (19,0-20,0)	25,5 (24,8-26,1)	24,5 (23,5-25,1)	19,6 (19,3-19,9)
Sobrepeso	28,1 (27,2-28,9)	39,3 (38,6-40,3)	47,1 (46,2-47,8)	47,6 (46,4-48,8)	39,2 (38,7-39,7)
Obesidad	5,9 (5,6-6,2)	12,0 (11,8-12,3)	22,0 (21,3-22,8)	28,5 (27,7-29,2)	15,5 (15,2-15,9)
<b>Varones</b>					
IMC 25-26	20,2 (19,7-20,2)	24,9 (24,5-25,4)	24,3 (24,0-24,5)	29,1 (28,7-30,6)	24,0 (23,8-24,3)
IMC 27-29	16,6 (16,2-17,3)	23,5 (23,0-24,2)	27,3 (26,2-28,2)	24,2 (22,1-25,2)	22,3 (21,8-22,8)
Sobrepeso	36,8 (35,9-37,6)	48,5 (47,5-49,6)	51,6 (50,2-52,7)	53,3 (50,7-55,7)	46,4 (45,6-47,1)
Obesidad	7,1 (6,7-7,5)	11,7 (11,4-12,3)	16,9 (15,6-18,1)	21,5 (20,5-22,5)	13,2 (12,8-13,7)
<b>Mujeres</b>					
IMC 25-26	11,4 (10,8-1,7)	15,4 (14,9-16,2)	19,2 (18,9-19,3)	18,2 (17,8-18,4)	15,6 (15,3-15,8)
IMC 27-29	8,8 (8,5-9,3)	15,8 (15,7-16,1)	23,9 (23,6-24,1)	24,8 (24,1-25,6)	17,3 (17,1-17,6)
Sobrepeso	20,2 (19,4-21,1)	31,1 (30,7-32,3)	43,1 (42,6-43,5)	43,0 (41,9-44,0)	32,9 (32,4-33,4)
Obesidad	4,8 (4,3-5,3)	12,2 (12,1-12,4)	26,4 (25,8-27,6)	34,2 (33,3-35,1)	17,5 (17,1-18,1)

(Aranceta-Bartrina j, et al. prevalencia de obesidad en España)

Taula 2 Prevalença (25-60 anys)

La prevalença de obesitat en la població espanyola adulta entre 25 i 64 anys, per grups d'edat i sexe, d'acord amb els resultats del estudi DORICA<sup>102</sup>, es va estimar una prevalença en els homes d'un 15,5% entre els 25 i 60 anys, en les dones la prevalença es mes elevada i s'enfila al 17,5% . als 60 anys la prevalença en els homes es d'un 13,2% ,inferior que en les dones.

### Taula 3

Prevalença de l'obesitat en la població anciana (major de 65 anys).

	Sobrepeso (%)	Obesidad (%)
Ancianos no institucionalizados <sup>24</sup>	44	36
Varones	49	31,5
Mujeres	39,8	40,8
Ancianos institucionalizados <sup>23</sup>	32	21
Varones	26,6	20,5
Mujeres	37,2	21,7
Media estatal ponderada	43	35
Varones	47,8	30,9
Mujeres	39,7	39,8

(Aranceta-bartrina j, et al. prevalencia de obesidad en España)

Taula 3 Prevalença (major de 65 anys)

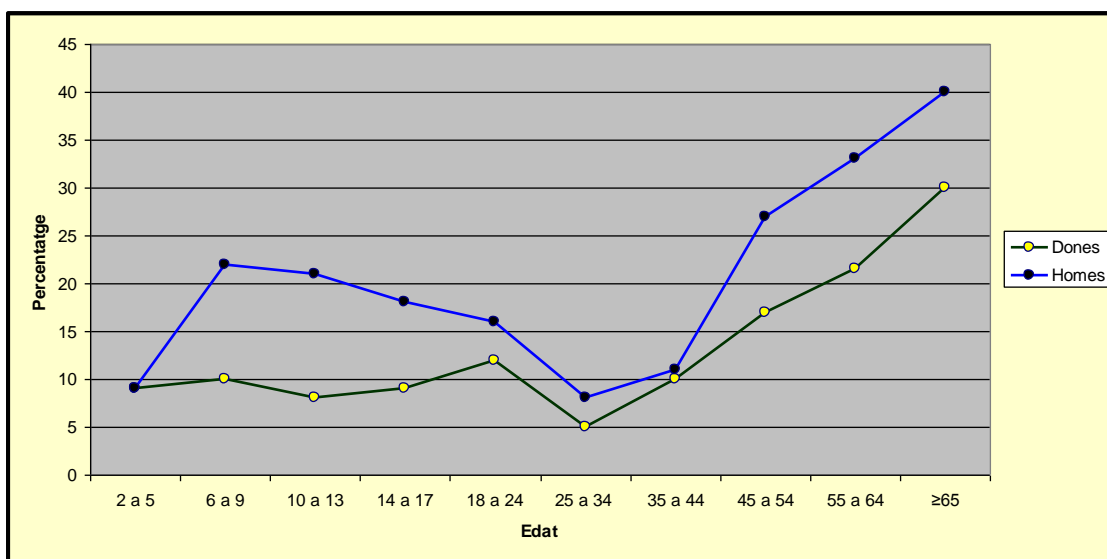
La Prevalença en la població anciana experimenta un increment significatiu, s'estima una mitja del 35% (30,9 en homes i un 39,8 en le dones) .

<sup>102</sup>DORICA: Dislipèmia, obesitat i risc cardiovascular.

**Gràfiques:**

Perfil de la prevalença de l'obesitat en Espanya per grups d'edat i sexe segons el valor del percentil (A) i segons els criteris de Cole al 10 (B) en la població infantil i juvenil. (índex de massa corporal de 30 kg/m<sup>2</sup>o superior en adults i ancians. Fonts: Serra-Majem al 26, Aranceta et al 27 Gutiérrez-Fisac al 24 y Aranceta al 23.

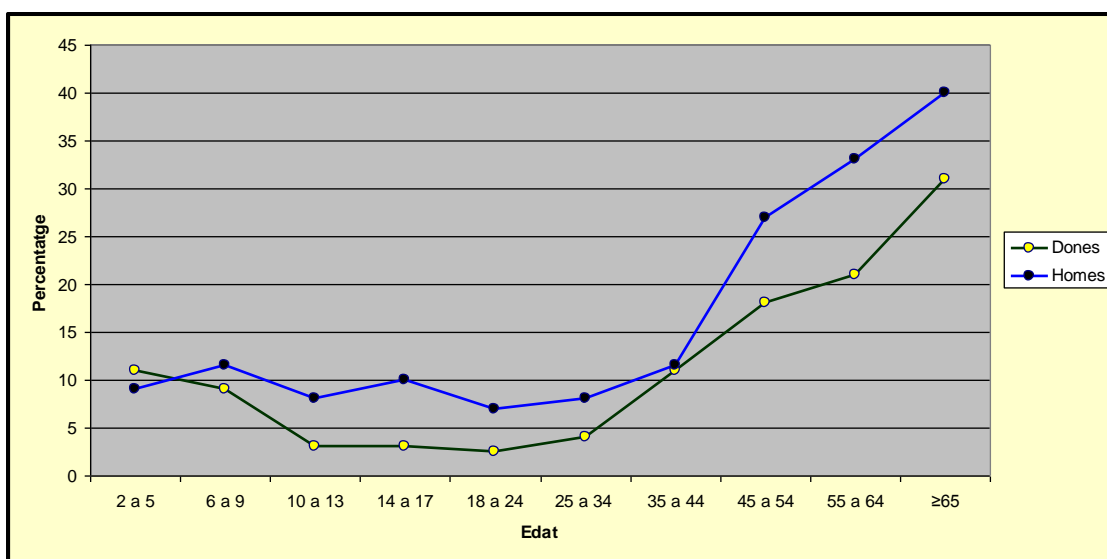
A)



Gràfica 1 segons el valor del percentil 97, i amb els criteris de la Cole et al.

Elaboració pròpia

B)



Gràfica 2 en la població infantil i juvenil (IMC30 kg/m<sup>2</sup> o superior en adults i ancians.

Elaboració pròpia

## **7.6 Causes de l'obesitat**

Les principals causes de l'obesitat són:

- Una nutrició desequilibrada, és a dir que les calories ingerides superen les consumides i hi ha una acumulació de greix.
- La manca d'exercici és un factor important en el consum de calories.
- La predisposició genètica, aquesta relació entre pares i fills.
- Determinades malalties com l'hipotiroïdisme<sup>103</sup>.
- L'ansietat, un factor que causa trastorns nutritius..

Si ingerim més quantitat d'energia de la necessària aquesta s'acumula en forma de greix i això fa que es consumeixi més energia de la necessària i s'utilitza el greix com a reserva. Pel que l'obesitat es produeix per excés d'energia, com a resultat de les alteracions en l'equilibri d'entrada / sortida d'energia. L'herència té un paper important, tant que de pares obesos el risc de patir obesitat per a un nen és 10 vegades superior al normal. En part és degut a tendències metabòliques d'acumulació de greix, però en part es deu al fet que els hàbits culturals alimentaris contribueixen a repetir els patrons d'obesitat de pares a fills.

Una altra part dels obesos ho són per malalties hormonals o endocrines, i poden ser solucionats mitjançant un correcte diagnòstic i tractament especialitzat.

## **7.7 Tractaments farmacològics d'avui dia**

Un tractament farmacològic, s'ha d'utilitzar com a recolzament del dietètic i l'exercici, però no s'ha d'utilitzar mai com un únic tractament. Requereix una estricta indicació i supervisió mèdica. La possibilitat de la seva preinscripció es pot considerar en obesos amb un IMC de 30 Kg/m<sup>2</sup> o més. Els que els hagi fallat la dieta, l'exercici i els canvis

de conducta, on en aquells amb un IMC de 27 o més si s'associen factors importants de morbiditat com la diabetis, hipertensió, dislipèmia<sup>104</sup>, etc.

---

<sup>103</sup> **Hipotiroïdisme:** és l'estat de la malaltia en humans i animals causada per la producció insuficient d'hormones tiroïdals per la glàndula tiroide. El cretinisme és una forma d'hipotiroïdisme en els nens.

Podem classificar els fàrmacs contra aquesta patologia amb tres grups depenent del mecanisme i funció que realitzin:

**Fàrmacs anorexígens**, Són els que disminueixen l'apetit o augmenten la sacietat, dins d'aquest grup tenim tres tipus:

- **Els Adrenèrgics**: La seva comercialització ha estat suspesa, no només a causa dels seus efectes secundaris, sinó també probablement a la seva utilització indiscriminada i poc ètica per part d'alguns "professionals de la salut i experts en obesitat. Inclou aquells que tenen en comú el fet de ser derivats de les amfetamines<sup>105</sup>, i com a tals, la possibilitat d'aparició d'efectes secundaris derivats d'una hiperestimulació del sistema nerviós simpàtic molt manifestos: D-amfetamina, metamfetamina, fenmetrazina, fentermina, dietilpropiona, mazindol, fenilpropanolamina, fenproporex (com a exemple d'efectes secundaris no desitjats podríem citar nerviosisme, ansietat, tremolor, insomni-somnolència, episodis de sudació, i una mica més greus com accidents vasculars cerebrals hemorràgics, insuficiència cardíaca congestiva, etc.)
- **Els Serotoninèrgics**: Com és ben conegut la serotonina és un potent inhibidor de la gana i per tant l'estimulació del seu alliberament a la terminació sinàptica, com la inhibició de la seva recaptació a la mateixa fa que sigui eficaç en el control de la ingesta calòrica; segons el mecanisme d'acció, els fàrmacs serotoninèrgics es divideixen en dos grans grups: Els que estimulen l'alliberació i els que inhibeixen la recaptació.

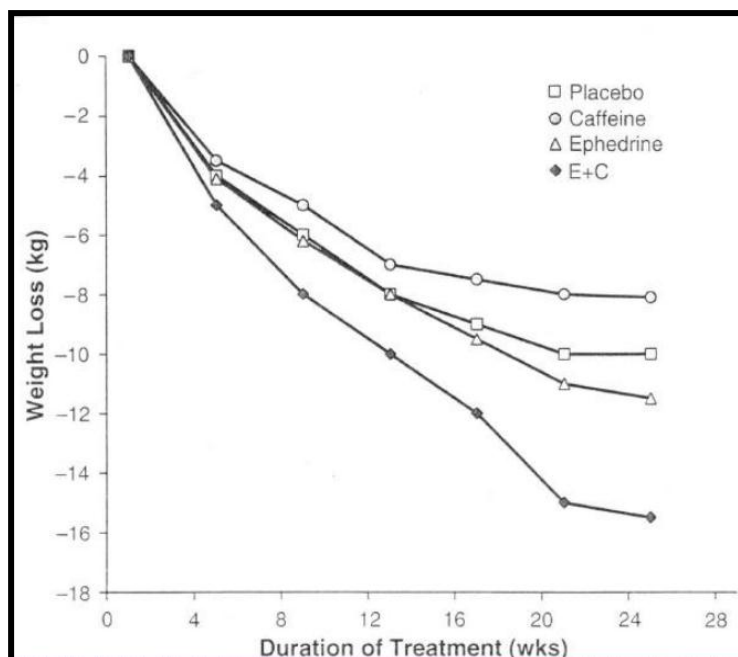
**Fàrmacs Termogènics (calorígens)**, La modificació dels fàrmacs Termogènics representen una petita part de la despesa energètica en un 4%. La perda de pes obtinguda per aquests fàrmacs es degut a l'acció simultània amb altres mecanismes d'acció.

- Exemples de fàrmacs com: l'Amilofilina, Cafeína, Fenilpropanolamina, Efedrina...

---

<sup>104</sup>**Dislipèmies**: Són alteracions en la quantitat de (lípid, triglicèrids, àcid grassos, colesterol, fosfolípid) en la sang. En les societats occidentals, la majoria de dislipèmia són hiperlipèmies, és a dir, una elevació dels lípid en la sang, sovint a causa de la dieta i l'estil de vida.

<sup>105</sup>**Amfetamines**: És un agent adrenèrgic sintètic, potent estimulador del sistema nerviós central.

**Efectes de la combinació d'efedrina amb la cafeïna a llarg temps.**

Gràfica 3 combinació d'efedrina amb la cafeïna a llarg temps.

Astrup et al. Int J Obes 1992; 16: 269-277

**Farmacs amb Acció Gastro-Intestinal:** Formen part d'un grup d'agents (alguns ja coneguts i altres de recent aparició) que tenen com a particularitat l'absència d'efectes a nivell sistemàtic, exercint la seva acció a nivell local, en concret intestinal dificultant l'absorció dels nutrients amb més poder energètic com són els greixos.

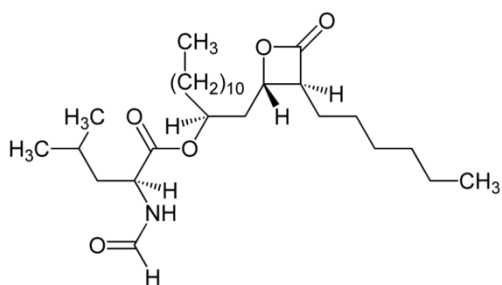
- Tenim Fàrmacs com l'Acarbosa, el Carboximetil cel·lulosa i l'Orlistat.

(En el meu Treball de Recerca, com hem dit anteriorment ens centrarem principalment amb L'Orlistat, aquest Fàrmac amb Acció Gastro-Intestinal)



## 7.8 Efectes de l'orlistat

L'Orlistat és un medicament que actua inhibint les lipases pancreàtiques<sup>106</sup> que són enzims<sup>107</sup> com el Triaglicerol Hidrolasa, el colesterol èster hidrolasai la fosfolipasa A2, d'aquesta manera l'Orlistat afecta en la descomposició dels triglicèrids<sup>108</sup> en el intestí, sense aquest enzim, els triglicèrids de la dieta no són hidrolitzables en àcids grassos<sup>109</sup> absorbibles i s'excreten sense digerir-se a la paret intestinal ja que són massa grans i necessitarien fer servir el mecanisme d'entrada cel·lular "Transport actiu" i no la difusió passiva que és comú en aquest tipus de compostos.



Imatge 4 (Estructura de l'Orlistat)

Només una petita quantitat de l'Orlistat es absorbida sistemàticament; el seu efecte principal es la inhibició local de la lipasa dins del tracte gastrointestinal després del consum d'una dosi oral.

Amb la prescripció estàndard de 120 mg tres vegades al dia, després de els àpats, l'Orlistat evita l'absorció d'aproximadament el 30% de les grasses provinents de la dieta.

<sup>106</sup> **Lipasa pancreàtica:** Es una enzim que es produeix en el pàncreas i es secreta en l'intestí prim on s'ajuden a des compositar les grasses/Lípids que ingerim per convertir-los en Àcids Grassos o Glicerol

<sup>107</sup> **Enzim:** Biocatalitzador, Proteïna que té com a funció incrementar la velocitat de reacció d'un organisme.

<sup>108</sup> **Triglicèrids:** Els triglicèrids són el principal tipus de greix transportat per l'organisme. Rep el nom de la seva estructura química. Després de menjar, l'organisme digereix els greixos dels aliments i allibera triglicèrids a la sang. Aquests són transportats a tot l'organisme per donar energia o per ser emmagatzemats com a greix.

<sup>109</sup> **Àcids grassos:** són components més importants de les grasses, són substàncies químicament lineals saturades i insaturades, amb la funció carboxil. Químicament, són àcids orgànics de més de sis carbonis.

## Xenical (Orlistat)

Xenical és un medicament de venda amb recepta que poden ajudar a les persones amb sobrepès a perdre'l considerablement i no recuperar-lo. Sabem que la gestió del seu pes pot ser frustrant, i de vegades es necessita una mica més de suport. Aquesta ajuda no dona resultats prenent un sol comprimit. Per que sigui eficaç apart s'ha de canviar en hàbits alimentaris.



Imatge 5 (Xenical Medicament )(Google)

Per determinar si una persona pot ser un candidat vàlid per prendre Xenical , el seu metge ha a revisar l' índex de massa corporal (IMC) una mesura del pes que té en compte l'altura.

L'Orlistat inhibeix la lipasa pancreàtica, que és l'enzim responsable de descompondre els triglicèrids en l'intestí. D'aquesta manera, Xenical impedeix, que els triglicèrids es converteixin en àcids

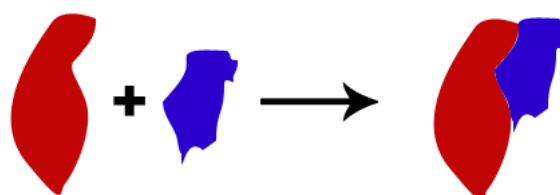
grassos lliures, que el seu cos pot absorbir. Els seus creadors diuen que pot reduir dràsticament la pèrdua de fins a un 30% la quantitat de greix absorbida al torrent sanguini, sempre que un pacient prengui la dosi de prescripció estàndard vinculat a 120 mg, abans de els àpats, tres vegades cada dia.

## 7.9 Introducció al Docking

### Què és un Docking?

En el camp de la modelització molecular, un Docking molecular acostuma a mostrar si una molècula es compatible amb un altre, es a dir un receptor: un enzim, s'uneix a un medicament al que anomenem lligant aquesta estructura pot ser més o menys compatible respectant dels enllaços que puguin formar (hidrofòbics, ponts d'hidrogen...). Si la geometria de les molècules es complementaria, involucrarà interaccions bioquímiques favorables.

Si considerem que aquesta unió entre el lligand-receptor es compatible, l'equació d'unió es caracteritzaria per:



Imatge 6 (Unió lligand-receptor)

L'energia lliure d'unió es pot calcular per la formula:

$$\Delta G_b = -RT \ln k_b$$

On R es la constant dels gasos ideals (8,31 J/K·mol) i T es la temperatura absoluta en K (constant d'unió). Quant el valor de l'energia lliure d'unió es menor, augmenta la força de la unió R-L, es a dir:

$\Delta G_b > 0$  = El procés no serà espontani i  $K_b$  serà petita

$\Delta G_b < 0$  = El procés serà espontani i  $K_b$  serà gran.

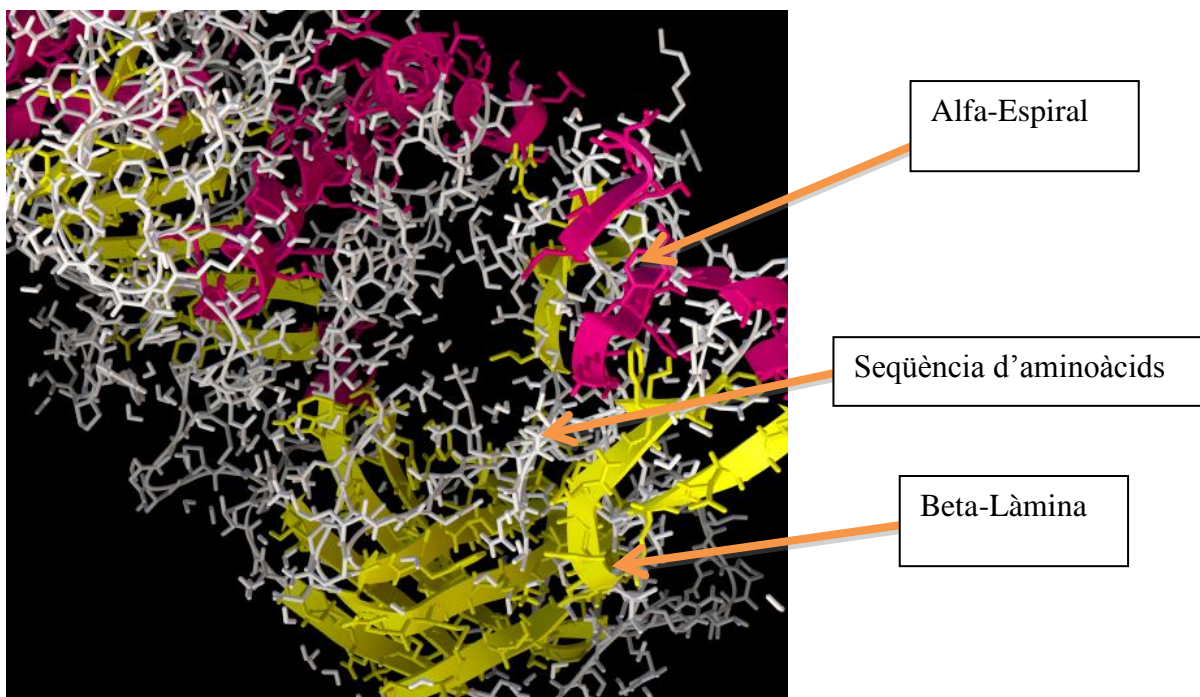
En resum un Docking és un mètode que prediu l'orientació preferida d'una molècula a un lligand quan s'uneixen entre si, per formar un complex estable i tenir un coneixement de l'orientació preferida al seu receptor per predir la força d'associació, unió o afinitat entre dues molècules.

Per tant aquest mitjà d'acoblament juga un paper important en el disseny racional de fàrmacs. En vista de la importància biològica i farmacèutica de l'acoblament molecular, podem afirmar que són considerables esforços per la millora de medicaments.

## 7.10 Interpretació de dockings

### Lipasa pancreàtica

L'estructura del complex lipasa pancreàtica, que es secreta en el pàncreas ens ajuda a descomposar les grasses per transformar-les en Àcids Grassos o Glicerol. Aquesta estructura, és l'enzim que he utilitzat per millorar les estructures de l'Orlistat o bé d'altres molècules.<sup>110</sup>



Imatge 7 (Representació gràfica de l'enzim Lipasa pancreàtica per mitjà del programa Autodock vina.(Elaboració Pròpia)

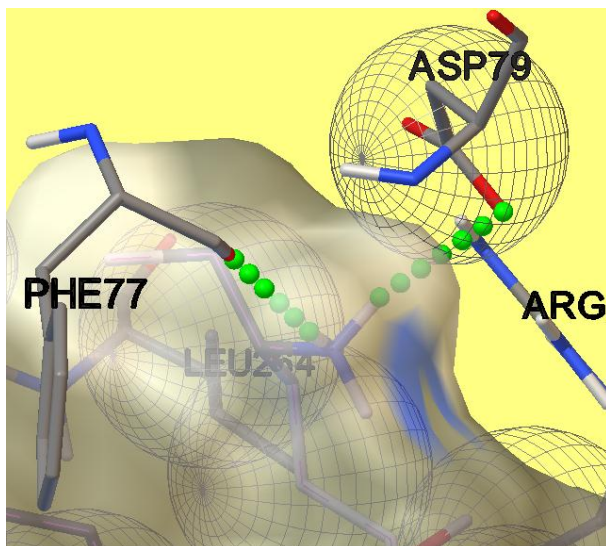
La Lipasa pancreàtica es troba en general en la llet materna, i es suposa que té un origen pancreàtic, es a dir, que la secreta el pàncreas i arriba a les glàndules mamàries a través de la circulació sanguínia, que estarà inhibida fins arribar a l'estomac. Aquesta proteïna és la responsable d'un major o menor grau de necrosi. Entre les principals lipases pancreàtiques destaquen la triglicèrid hidrolasa, el colesterol èster hidrolasa i fosfolipasa A2. La lipasa són enzims molt làbils a la calor i el pH àcid, i la seva acció es porta a terme mitjançant la hidròlisi dels enllaços ester, juntament amb els àcids grassos. Aquests enzims actuen millor en pH entre 7 i 9 i temperatures entre 37 i 39 °C.

<sup>110</sup>**Centre catalític:** Lloc on s'uneix el substrat per transformar-se en producte al llarg d'una sèrie de passos denominats mecanisme enzimàtic

Extret el lligand de la Lipasa pancreàtica per realitzar el Docking

**Tipus d'enllaços**

**Ponts d'Hidrogen**

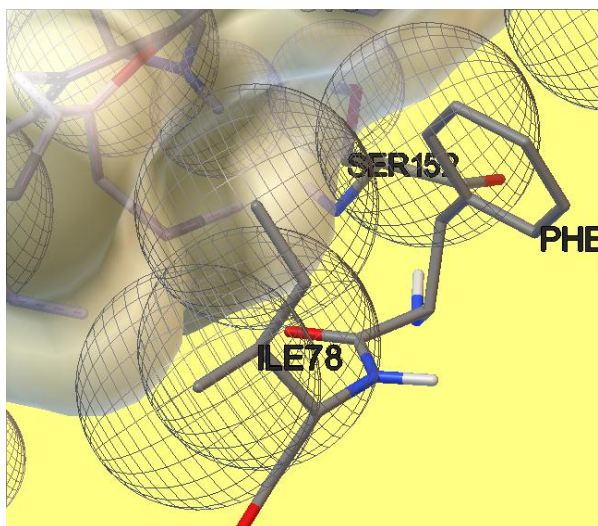


Imatge 8,9 (Interpretacions gràfiques dels Ponts d'Hidrogen) (Elaboració Pròpia)

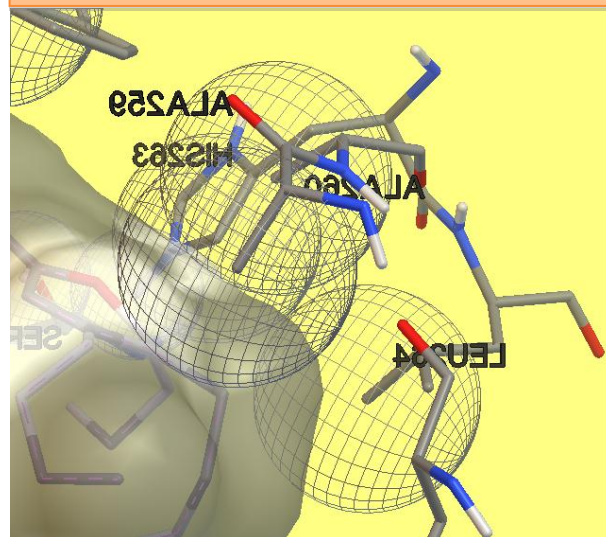


Consisteixen en una interacció atractiva entre molècules. Tot i que és el tipus d'interacció molecular més important, és un tipus d'enllaç feble en comparació amb els enllaços covalent i iònic.

**Hidrofòbics**



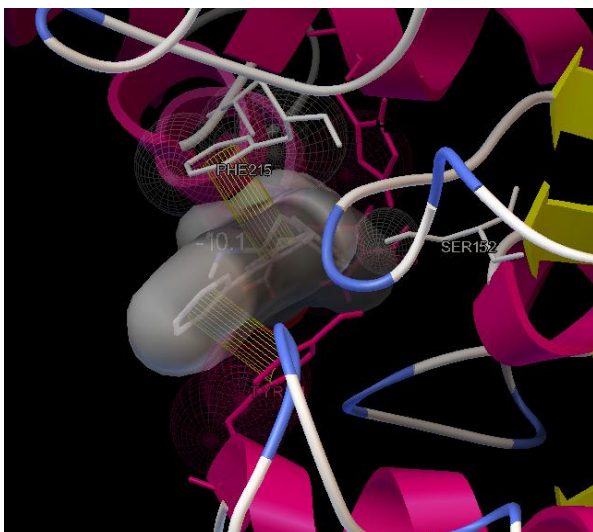
Imatge 10,11 (Interpretacions gràfiques dels Enllaços Hidrofòbics) (Elaboració Pròpia)



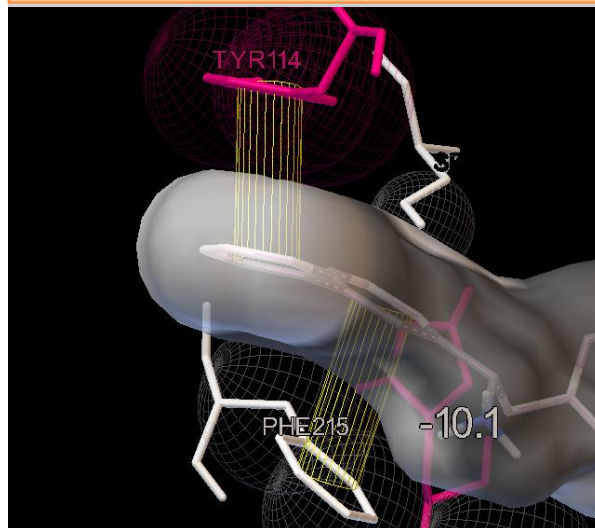
Per definició, una substància és hidrofòbica si no tolera l'aigua. Bàsicament la hidrofobicitat succeeix quan la molècula en qüestió, no és capaç d'interaccionar amb

les molècules d'aigua ni per interaccions ió-dipol ni mitjançant ponts d'hidrogen. Aquest és el cas dels hidrocarburs saturats.

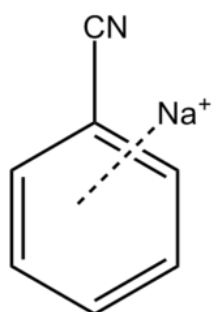
### Interaccions $\pi$ -stack



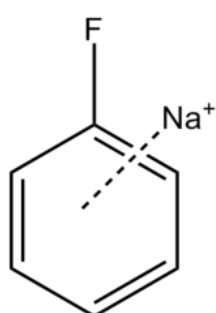
Imatge 12,13 (Interpretacions gràfiques interaccions Pi-Stack) (Elaboració Pròpia)



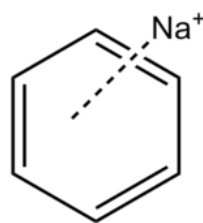
Els enllaços pi (enllaços  $\pi$ ) són enllaços químics covalents on dos lòbuls<sup>111</sup> d'un orbital atòmic es solapen amb els dos lòbuls de l'altre. Aquests orbitals comparteixen un pla que passa a través dels nuclis involucrats.



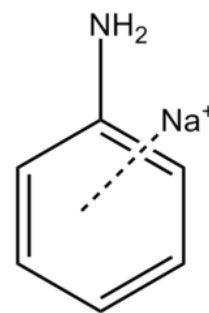
15.7



22.0



27.1



31.8

electron withdrawing

electron donating

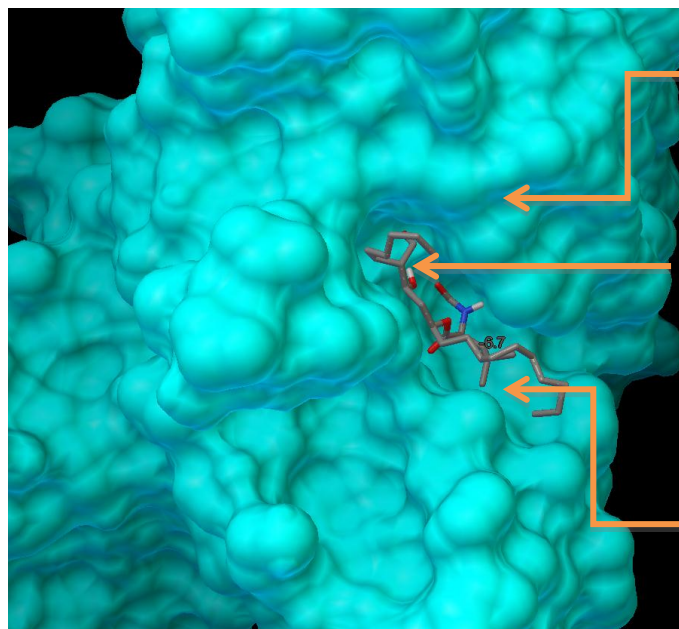
Imatge 14,15 (Interpretacions pas electrons en el grups fenils Pi-Stack)

### Interacció catió- $\pi$

L'interacció del catió- $\pi$  és una interacció molecular no covalent entre la cara d'un sistema pi ric en electrons (benzè, etilè) amb un catió ( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ). L'energia de la interacció catió- $\pi$  és la magnitud de l'enllaç d'hidrogen i hi juga un paper molt important en el reconeixement molecular.

<sup>111</sup>**Lòbuls:** divisió anatómica, per exemple tres de l'orbital  $p = 2p_x, 2p_y$  &  $2p_z$

**Dockig 1: Representació en 3D de l'acoblament del lligand Orlistat amb l'enzim Lipasa Pancreàtica.**



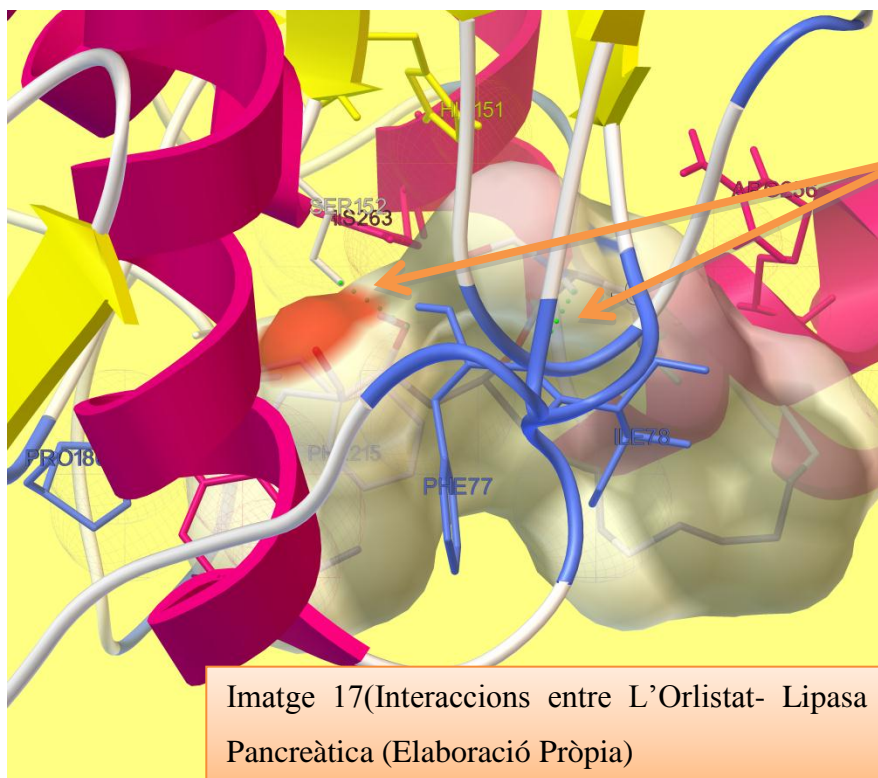
Lipasa Pancreàtica (Receptor)

Orlistat (Lligand)

Centre catalític

Imatge 16  
(Representació gràfica de l'associació entre l'Orlistat i la Lipasa Pancreàtica (AV)(Elaboració Pròpia)

**Interaccions**



Ponts d'hidrogen

Imatge 17(Interaccions entre L'Orlistat- Lipasa Pancreàtica (Elaboració Pròpia)

- Té Ponts d'Hidrogen
- Interaccions Hidrofòbiques
- No té interaccions pi

**Afinitat Orlistat**

Orientació	Afinitat (kcal/mol)	dist from rmsd l.b.	Millor mode rmsd u.b.
1	-6,7	0,000	0,000
2	-6,7	1,835	3,737
3	-6,7	2,224	7,394
4	-6,6	1,980	3,796
5	-6,6	2,802	8,369
6	-6,4	2,507	8,753
7	-6,4	2,221	3,717
8	-6,4	2,791	4,448
9	-6,3	2,485	8,102

Taula 4  
(Elaboració Pròpia)

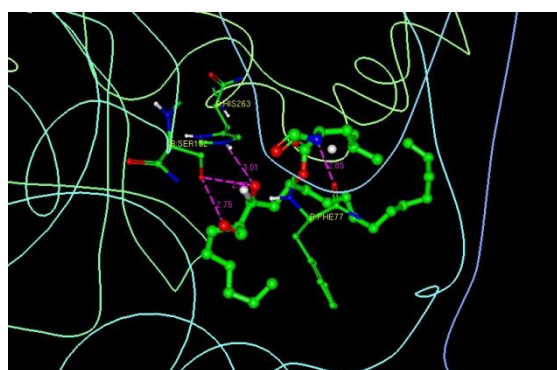
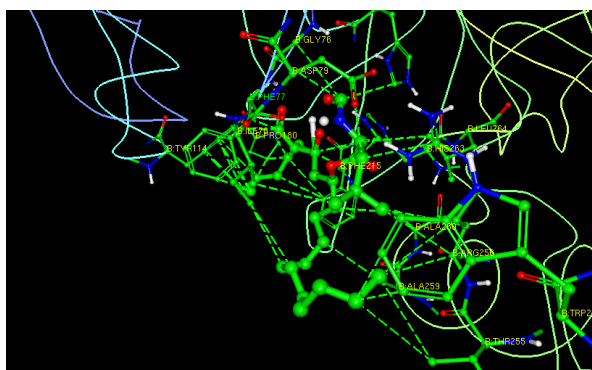
La taula següent ens mostra l'afinitat del lligand Orlistat respecte el seu receptor i ens mostra el canvi d'energia per formar un producte, es mesura en (Kcal/mol). Com més negatiu es, significa que és més estable i per això el medicament tindrà més efectivitat.

Lligand	N <sup>a</sup> Aa Rec	Aa Rec	Interacció	Tipus
DH9 O1	152	SER OG	2.75	Hydrogen Bond
DH9 O3	152	SER OG	2.98	Hydrogen Bond
DH9 O3	263	HIS NE2	3.01	Hydrogen Bond
DH9 N1	77	PHE O	2.85	Hydrogen Bond

Taula 5 Ponts  
d'Hydrogen Orlistat



**Enllaços Hidrofòbics Ponts d'hidrogen**



Imatge 18,19 (Estructura i interaccions de l'Orlistat mitjançant el programa Ligand Explorer) (Elaboració Pròpia)

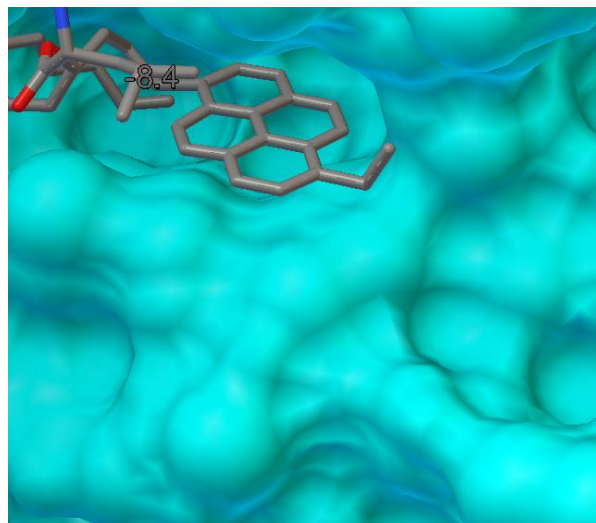
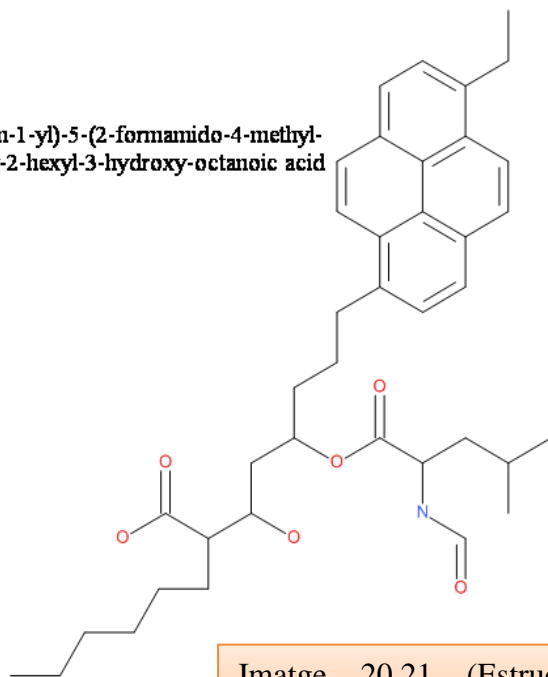
Lligand	N <sup>a</sup> Aa Rec	Aa Rec	Interacció	Tipus
DH9 C3	263	HIS CD2	3.87	Hydrophobic
DH9 C17	215	PHE CB	3.60	Hydrophobic
DH9 C18	180	PRO CG	3.63	Hydrophobic
DH9 C18	180	PRO CD	3.51	Hydrophobic
DH9 C18	215	PHE CD1	3.78	Hydrophobic
DH9 C19	215	PHE CD1	3.54	Hydrophobic
DH9 C20	114	TYR CE1	3.84	Hydrophobic
DH9 C21	114	TYR CE2	3.86	Hydrophobic
DH9 C22	114	TYR CZ	3.80	Hydrophobic
DH9 C23	180	PRO CG	3.66	Hydrophobic
DH9 C21	114	TYR CG	3.54	Hydrophobic
DH9 C22	114	TYR CD1	3.69	Hydrophobic
DH9 C23	114	TYR CD2	3.86	Hydrophobic
DH9 C22	77	PHE CD2	3.86	Hydrophobic

Taula 6  
Enllaços Hidrofòbics

DH9 C23	77	PHE CE2	3.76	Hydrophobic
DH9 C24	114	TYR CD1	3.76	Hydrophobic
DH9 C1	77	PHE CB	3.34	Hydrophobic
DH9 C1'	114	TYR CE1	3.40	Hydrophobic
DH9 C23	263	HIS CD2	3.89	Hydrophobic
DH9 C24	264	LEU CD2	3.80	Hydrophobic
DH9 C26	79	ASP CG	3.88	Hydrophobic
DH9 C27	256	ARG CZ	3.85	Hydrophobic
DH9 C28	78	ILE CG2	3.89	Hydrophobic
DH9 C29	256	ARG CA	3.76	Hydrophobic
DH9 C29	256	ARG CB	3.84	Hydrophobic
DH9 C25	76	GLY CA	3.82	Hydrophobic
DH9 C25	76	GLY C	3.89	Hydrophobic
DH9 C25	151	HIS CE1	3.65	Hydrophobic
DH9 C6	215	PHE CE2	3.70	Hydrophobic
DH9 C6	260	ALA CB	3.70	Hydrophobic
DH9 C8	259	ALA CB	3.72	Hydrophobic
DH9 C10	78	ILE CD1	3.64	Hydrophobic
DH9 C11	78	ILE CD1	3.74	Hydrophobic
DH9 C15	252	TRP CZ3	3.57	Hydrophobic
DH9 C16	252	TRP CH2	3.80	Hydrophobic
DH9 C17	255	THR CG2	3.73	Hydrophobic
DH9 C16	255	THR CG2	3.82	Hydrophobic
DH9 C16	256	ARG CA	3.66	Hydrophobic

### Docking 2(C<sub>39</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>6</sub>)

8-(6-ethylpyren-1-yl)-5-(2-formamido-4-methyl-pentanoyl)oxy-2-hexyl-3-hydroxy-octanoic acid

Imatge 20,21 (Estructura en 2D i 3DDocking 2 (C<sub>39</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>6</sub>)(Elaboració Pròpia)

Orientació	Afinitat (kcal/mol)	dist from rmsd l.b.	Millor mode rmsd u.b.
1	-8,5	0,000	0,000
2	-8,1	3,128	5,737
3	-8,0	2,195	5,971
4	-8,0	2,605	6,422
5	-8,0	3,197	6,772
6	-7,8	2,795	5,617
7	-7,8	2,349	6,443
8	-7,8	2,450	5,710
9	-7,7	1,371	3,095

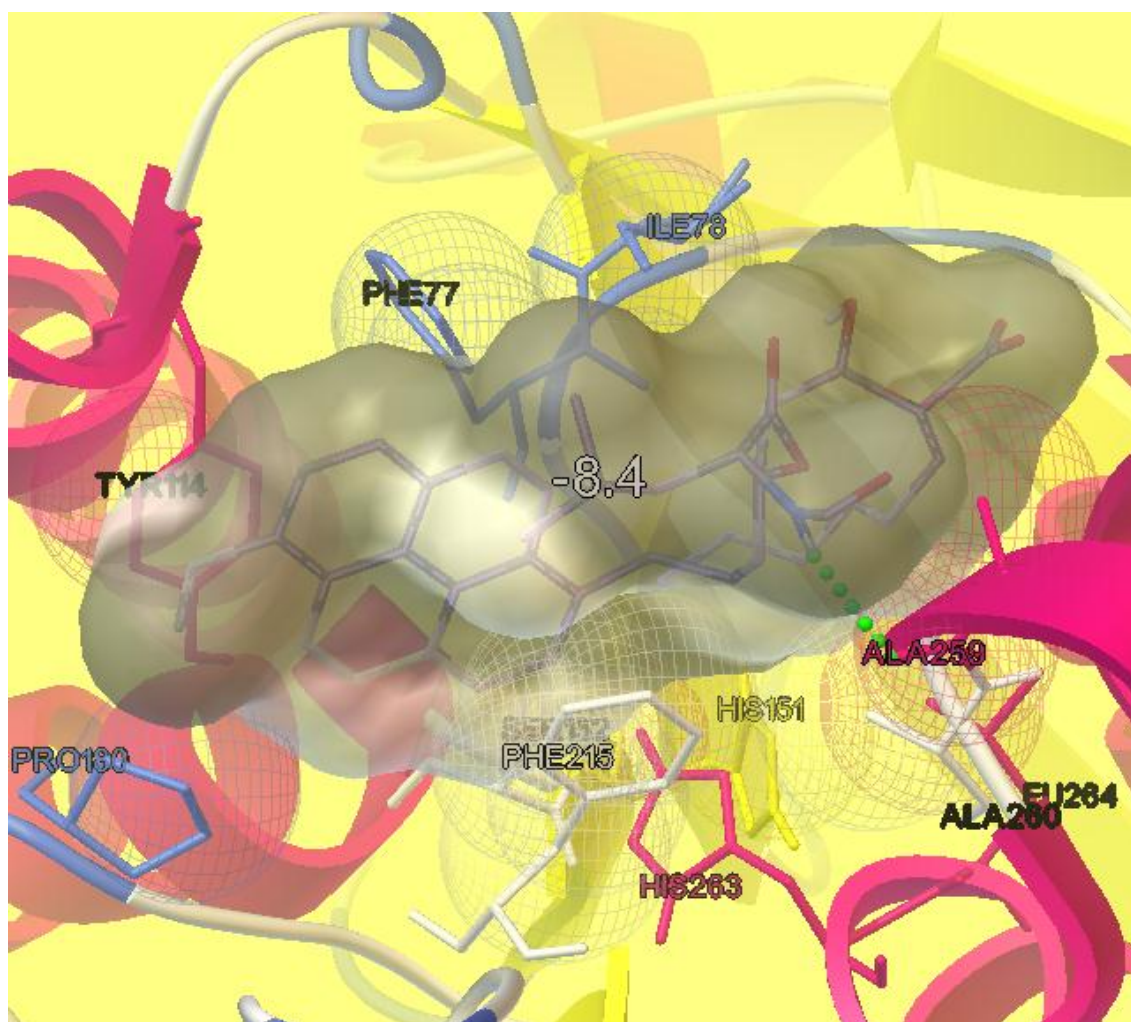
Taula 7 (Elaboració Pròpia)

Hem afegit únicament una unió de quatre benzens i veiem que l'afinitat millora considerablement.

Errors: Una unió d'anells es presenta com una substància tòxica, el que anomenem els hidrocarburs aromàtics policíclics (HAPs), això provoca una clara eliminació del producte, També es tracta d'una molècula molt grossa a causa de la unió de mes de 30 àtoms la que la fa no absorbible per la membrana plasmàtica.

Lligand	N <sup>a</sup> Aa Rec	Aa Rec	Interacció	Tipus
LIG O6	256	ARG NH1	3.21	Hydrogen Bond
LIG N19	259	ALA O	3.10	Hydrogen Bond

Taula 8 Ponts d'Hidrogen (C<sub>39</sub>H<sub>51</sub>NO<sub>6</sub>) (Elaboració Pròpia)



Aquesta estructura, presenta un pes molecular exacte de : 629,37Da. Una substància formada per 39 àtoms de Carboni, 2 d'Oxigen, 51 d'Hidrogen i 1 de Nitrogen amb uns tants per cents respectivament de 74'4% C, 8'2% H, 2'2 N%, 15'2% O.

Lligand	N <sup>a</sup> Aa Rec	Aa Rec	Interacció	Tipus
LIG C2	78	ILE CD1	3.32	Hydrophobic
LIG C3	78	ILE CD1	3.86	Hydrophobic
LIG C5	256	ARG CA	3.83	Hydrophobic
LIG C5	256	ARG CG	3.79	Hydrophobic
LIG C9	264	LEU CD1	3.75	Hydrophobic
LIG C9	264	LEU CD2	3.64	Hydrophobic
LIG C10	79	ASP CG	3.78	Hydrophobic
LIG C10	264	LEU CD2	3.84	Hydrophobic
LIG C11	151	HIS CE1	3.57	Hydrophobic
LIG C11	264	LEU CD2	3.45	Hydrophobic
LIG C12	79	ASP CG	3.88	Hydrophobic
LIG C12	151	HIS CE1	3.84	Hydrophobic
LIG C13	76	GLY CA	3.73	Hydrophobic
LIG C13	151	HIS CE1	3.65	Hydrophobic
LIG C13	152	SER CB	3.70	Hydrophobic
LIG C22	215	PHE CZ	3.60	Hydrophobic
LIG C24	213	LEU CD1	3.89	Hydrophobic
LIG C24	215	PHE CE1	3.58	Hydrophobic
LIG C24	215	PHE CZ	3.88	Hydrophobic
LIG C26	215	PHE CE2	3.73	Hydrophobic
LIG C26	260	ALA CB	3.35	Hydrophobic
LIG C27	260	ALA CB	3.85	Hydrophobic
LIG C30	215	PHE CB	3.75	Hydrophobic
LIG C30	215	PHE CG	3.75	Hydrophobic

Taula 9 Enllaços Hidrofòbics (Elaboració Pròpia)

LIG C31	215	PHE CB	3.44	Hydrophobic
LIG C31	215	PHE CG	3.69	Hydrophobic
LIG C31	215	PHE CD1	3.81	Hydrophobic
LIG C32	215	PHE CD1	3.63	Hydrophobic
LIG C33	215	PHE CD1	3.74	Hydrophobic
LIG C34	114	TYR CE1	3.71	Hydrophobic
LIG C34	114	TYR CZ	3.77	Hydrophobic
LIG C34	180	PRO CG	3.67	Hydrophobic
LIG C34	180	PRO CD	3.73	Hydrophobic
LIG C37	77	PHE CD2	3.54	Hydrophobic
LIG C37	77	PHE CE2	3.87	Hydrophobic
LIG C38	77	PHE CD2	3.78	Hydrophobic
LIG C38	77	PHE CE2	3.61	Hydrophobic
LIG C42	114	TYR CG	3.83	Hydrophobic
LIG C42	114	TYR CD2	3.86	Hydrophobic
LIG C44	114	TYR CE1	3.65	Hydrophobic
LIG C44	114	TYR CE2	3.77	Hydrophobic
LIG C44	114	TYR CZ	3.52	Hydrophobic
LIG C44	180	PRO CG	3.26	Hydrophobic
LIG C44	180	PRO CD	3.85	Hydrophobic
LIG C45	114	TYR CD2	3.52	Hydrophobic
LIG C45	114	TYR CE2	3.89	Hydrophobic
LIG C46	180	PRO CG	3.88	Hydrophobic

### Els Hidrocarburs aromàtics policíclics

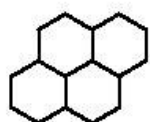
Els Hidrocarburs aromàtics policíclics (HAPs), són potents contaminants atmosfèrics que consten d'anells aromàtics fusionats i no contenen heteroàtoms per exemple el naftalè n'és el més simple. Els HAPs es troben de forma natural en el medi ambient, però també poden ser fetes per l'home. Els HAPs són presents en el petroli, el carbó i dipòsits de quitrà, i es produeixen com subproductes de la crema de combustibles (ja sigui combustibles fòssils o biomassa), però en la seva forma més pura, els HAPs són sòlids i es poden presentar en més de 100 combinacions diferents.

Com a contaminant, són motiu de preocupació pel fet que alguns compostos han estat identificats com cancerígens, mutagènics, i teratogènics. Els HAPs també es troben en els aliments cuinats. Els estudis han demostrat que els nivells alts d'HAP es troben, per exemple, en la carn cuinada a altes temperatures, com ara rostir a la graella o una barbacoa, i en el peix fumat. També es troben en el medi interestel·lar, en cometes, i en meteorits i són una molècula candidata per actuar com una base per les primeres formes de vida.

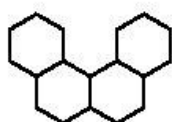
### Per què els HAP són dolents?

Els HAP són una preocupació pel fet que són persistents. Com que no es cremen molt fàcilment, poden romandre en l'ambient per llargs períodes de temps i són molt complicats de dissoldre's en l'aire.

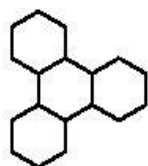
### Estructures HAPs



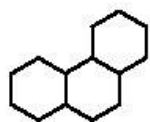
Pyrene



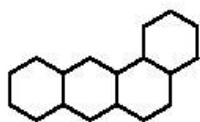
Benzo[c]phenanthrene



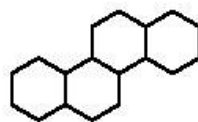
Triphenylene



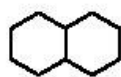
Phenanthrene



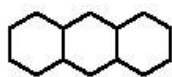
Benz[a]anthracene



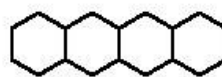
Chrysene



Naphthalene

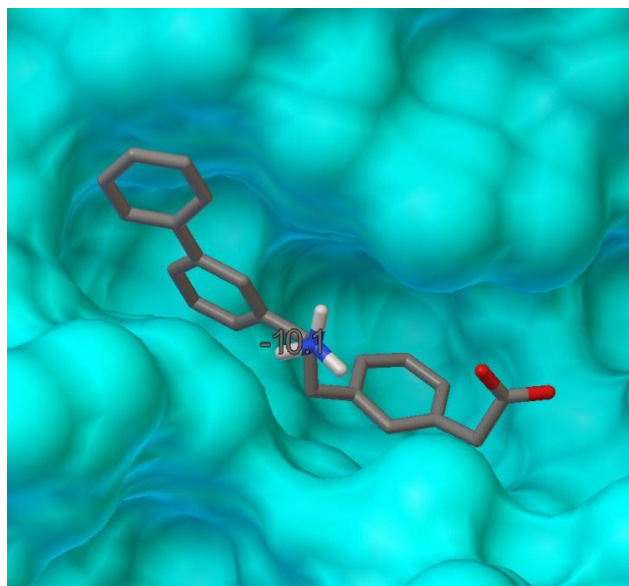
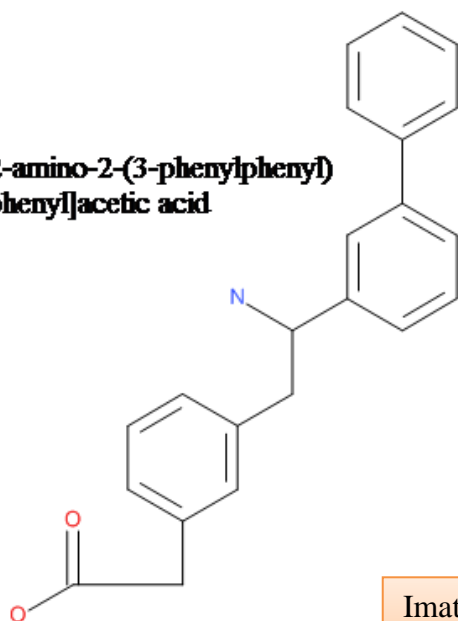


Anthracene



Tetracene

Imatge 23  
(Wikipèdia)

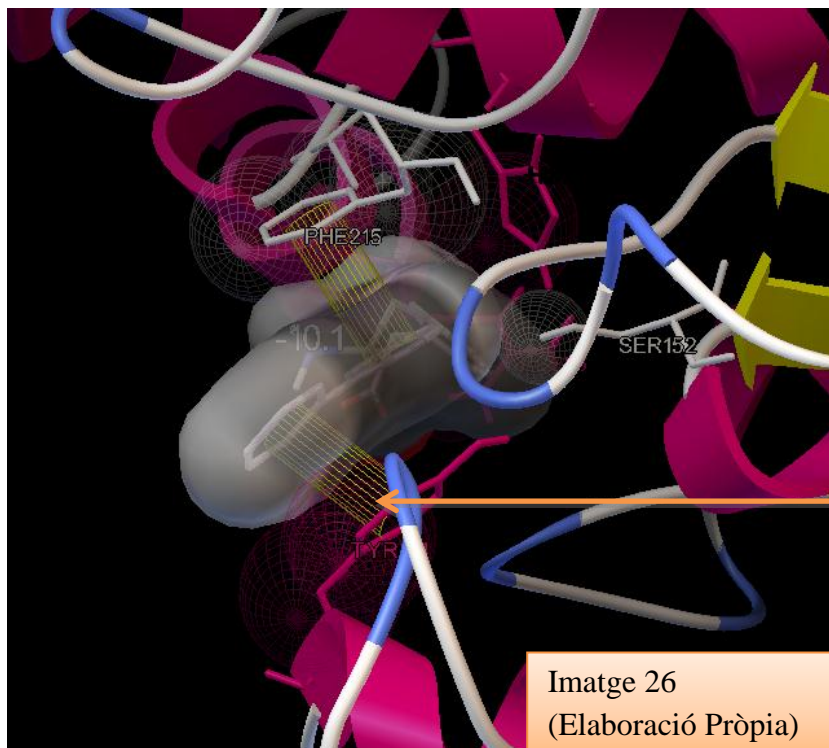
**Docking 3(C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>)****2-[3-[2-amino-2-(3-phenylphenyl)ethyl]phenyl]acetic acid**Imatge 24,25 (Estructura en 2D i 3DDocking 3(C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>))(Elaboració Pròpia)**Afinitat**

Orientació	Afinitat (kcal/mol)	dist from rmsd l.b.	Millor mode rmsd u.b.
1	-10,1	0,000	0,000
2	-10,0	1,683	2,536
3	-9,5	2,643	4,034
4	-9,3	2,378	3,072
5	-9,3	1,337	2,122
6	-9,2	1,904	2,672
7	-9,1	3,537	8,507
8	-9,1	3,218	7,814
9	-8,8	1,562	2,91

Taula 10  
(Elaboració Pròpia)



Al veure que els 4 anells formaven un HAPs hem eliminat aquest grup i hem units 3 fenils separats ja que quan els anells aromàtics estan units per enllaços senzills no solen presentar problemes de toxicitat. L'estructura té bones interaccions (un pont d'hidrogen, 2 interaccions entre anells aromàtics del tipus pi-stack amb PHE215 i TYR114), provocant això una força intermolecular.<sup>112</sup>



- Té Ponts d'Hidrogen
- Interaccions Hidrofòbiques
- Té interaccions pi-stack

Donant d'Hidrògens:2  
 Acceptor d'Hidrògens :3  
 Formula del pes:331,41  
 Massa Exacta:331,157228923  
 Formula: C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub>

Aquesta estructura, presenta un pes molecular exacte de 331,157Da, una substància formada per 22 àtoms de Carboni, 2 d'Oxigen, 21 d'Hidrogen i 1 de Nitrogen amb uns tants per cents respectivament de 79'7% C, 6'4% H, 4'2 N%, 9'7% O. Per lo tant aquesta substància tindrà capacitat de donar 2 Hidrògens i d'acceptar-ne 3.

Ligand	N <sup>a</sup> Aa Rec	Aa Rec	Interacció	Tipus
LIG O11	256	ARG NH1	2.94	Hydrogen Bond

Taula 11 Ponts d'Hidrogen ( C<sub>22</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>2</sub> )

<sup>112</sup>**Les forces d'atracció:** entre molècules reben el nom d'enllaços intermoleculars i són considerablement més febles que els enllaços iònics, covalents i metàl·lics. Les principals forces intermoleculars són: enllaç per pont d'hidrogen i les forces de Van der Waals.

Taula 12 Enllaços Hidrofòbics (Elaboració Pròpia)

Lligand	Nº Aa Rec	Aa Rec	Interacció	Tipus
DH9 C3	263	HIS CD2	3.87	Hydrophobic
DH9 C17	215	PHE CB	3.60	Hydrophobic
DH9 C18	180	PRO CG	3.63	Hydrophobic
DH9 C18	180	PRO CD	3.51	Hydrophobic
DH9 C18	215	PHE CD1	3.78	Hydrophobic
DH9 C19	215	PHE CD1	3.54	Hydrophobic
DH9 C20	114	TYR CE1	3.84	Hydrophobic
DH9 C21	114	TYR CE2	3.86	Hydrophobic
DH9 C22	114	TYR CZ	3.80	Hydrophobic
DH9 C23	180	PRO CG	3.66	Hydrophobic
DH9 C21	114	TYR CG	3.54	Hydrophobic
DH9 C22	114	TYR CD1	3.69	Hydrophobic
DH9 C23	114	TYR CD2	3.86	Hydrophobic
DH9 C22	77	PHE CD2	3.86	Hydrophobic
DH9 C23	77	PHE CE2	3.76	Hydrophobic
DH9 C24	114	TYR CD1	3.76	Hydrophobic

DH9 C1	77	PHE CB	3.34	Hydrophobic
DH9 C1'	114	TYR CE1	3.40	Hydrophobic
DH9 C23	263	HIS CD2	3.89	Hydrophobic
DH9 C24	264	LEU CD2	3.80	Hydrophobic
DH9 C26	79	ASP CG	3.88	Hydrophobic
DH9 C27	256	ARG CZ	3.85	Hydrophobic
DH9 C28	78	ILE CG2	3.89	Hydrophobic
DH9 C29	256	ARG CA	3.76	Hydrophobic
DH9 C29	256	ARG CB	3.84	Hydrophobic
DH9 C25	76	GLY CA	3.82	Hydrophobic
DH9 C25	76	GLY C	3.89	Hydrophobic
DH9 C25	151	HIS CE1	3.65	Hydrophobic
DH9 C6	215	PHE CE2	3.70	Hydrophobic
DH9 C6	260	ALA CB	3.70	Hydrophobic
DH9 C8	259	ALA CB	3.72	Hydrophobic
DH9 C10	78	ILE CD1	3.64	Hydrophobic

DH9 C11	78	ILE CD1	3.74	Hydrophobic
DH9 C15	252	TRP CZ3	3.57	Hydrophobic
DH9 C16	252	TRP CH2	3.80	Hydrophobic
DH9 C17	255	THR CG2	3.73	Hydrophobic
DH9 C16	255	THR CG2	3.82	Hydrophobic
DH9 C16	256	ARG CA	3.66	Hydrophobic

### **7.11 Conclusions**

En aquest treball, hem estudiat l'Obesitat des de tots els punts de vista, tant històric com científic, i hem vist els resultats de les diferents modificacions al lligand, mostrant-nos l'afinitat que donava al respecte interaccionant amb l'enzim corresponent: la lipasa pancreàtica.

En conclusió puc afirmar des del punt de vista històric que l'obesitat - en la prehistòria, ja es donava a conèixer com a tal patologia- i, al transcórrer dels segles, s'han donat a conèixer una gran diversitat de símptomes que provocava la malaltia i en conseqüència un munt de cures i possibles mètodes de prevenció (tal i com en Plató ja descrivia) que eren eficaces per aquella època.

Passant al punt de vista Farmacològic, l'obesitat, essent una patologia d'àmbit molt extens arrel del món, trobo que hi ha molt pocs fàrmacs que puguin aturar aquest procés i que l'estudi de la malaltia ha estat poc evolucionada en conseqüència, l'esperança de trobar una cura, es veu molt allunyada. També cal tenir present els grans interessos econòmics que mou aquesta patologia, amb gran varietat de fàrmacs i d'altres remeis a la venda, totalment ineficaços.

Alhora de millorar el lligand inhibidor, m'he adonat que com més interaccions formés (Ponts d'Hidrogen, Forces de Van der Waals) més afinitat hem donava aquest medicament, es a dir, que serà més estable i també, que com més grossa es la molècula més difícil es que sigui absorbible per la membrana fosfolipídica de les cèl·lules eucariotes animals.

## **8. Agraïments**

En primer lloc hem de donar les gràcies als nostres dos tutors. Ells dos han estat atents en tot moment a la nostra feina: ens han guiat el treball amb consells i ens han donat ajudes a l'hora de usar els programes de Química Computacional.

Agraïm també a la Fundació Jordi Casademont per les seves Beques Joves10, ja que l'ajuda econòmica que ens van brindar va ser clau per a la realització d'aquest treball conjunt dut a terme per set joves estudiants.

Tres d'aquests set van estar becats també per la Universitat de Girona; donem també les gràcies, doncs, als organitzadors del Jove Campus de Recerca 2012 a la UdG i en especial a la Dra. Silvia Simon i al Dr. Jordi Poater de l' Institut de Química Computacional de La Universitat de Girona.

En darrer lloc però no per aquest fet menys important, agrair a la nostra escola per tots els mitjans que ens ha facilitat durant gairebé un any per tal de poder escriure en negre sobre fons blanc aquest treball.

## **9. Bibliografia -Webgrafia**

### **Llibres**

- Farmacologia humana (Jesús Flórez)

### **Links i fonts d'informació**

<http://es.wikipedia.org/wiki/Orlistat>

[http://es.wikipedia.org/wiki/Lipasa\\_pancre%C3%A1tica](http://es.wikipedia.org/wiki/Lipasa_pancre%C3%A1tica)

<http://www.biosfera.cat:8888/biosfera/?p=4753>

<http://www.zonadiet.com/nutricion/acgraso.htm>

<http://es.wikipedia.org/wiki/Obesidad>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Hipertr%C3%B2fia>

<http://www.fitness.com.mx/medicina185.htm>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Obesita><http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/obesity.html#Character.C3.ADstiques>

<http://www.who.int/es/>

<http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2130354>

[http://www.seedo.es/portals/seedo/consenso/Prevalencia\\_obesidad\\_Espa%C3%B1a\(Med\\_Clin2005\).pdf](http://www.seedo.es/portals/seedo/consenso/Prevalencia_obesidad_Espa%C3%B1a(Med_Clin2005).pdf)

[http://www.msssi.gob.es/biblioPublic/publicaciones/docs/vol26\\_5\\_obesidad.pdf](http://www.msssi.gob.es/biblioPublic/publicaciones/docs/vol26_5_obesidad.pdf)

<http://apuntesmedicos.net/2008/06/24/tratamiento-farmacologico-de-la-obesidad/>

<http://www.ijcs.org/7/23/109/farmacos%20termogenicos%20Rubio.pdf>

<http://www.xenical.com/xenical/>

[http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/salud/Flores\\_V\\_N/Introduccion.pdf](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/tesis/salud/Flores_V_N/Introduccion.pdf)

<http://www.emagister.com/curso-obesidad-definicon-causas-consecuencias-prevencion/obesidad-introduccion>

<http://med.javeriana.edu.co/fisiologia/autoestudio/FISIOLOGIAPANCREAS.PDF>

<http://www.slideshare.net/badsamaritan/seminario-docking-molecular>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Hipotiro%C3%AFdisme>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Dislip%C3%A8mia>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/Amfetamines>

[http://ca.wikipedia.org/wiki/Enlla%C3%A7\\_d'hidrogen](http://ca.wikipedia.org/wiki/Enlla%C3%A7_d'hidrogen)

[http://en.wikipedia.org/wiki/Polycyclic\\_aromatic\\_hydrocarbon](http://en.wikipedia.org/wiki/Polycyclic_aromatic_hydrocarbon)

<http://www.epa.gov/osw/hazard/wastemin/minimize/factshts/pahs.pdf>

[http://www.astrochem.org/sci\\_img/pahs.jpg](http://www.astrochem.org/sci_img/pahs.jpg)

<http://www.monografias.com/trabajos65/historia-obesidad/historia-obesidad2.shtml>

<http://quimica.laquia2000.com/general/enlace-pi>

[http://es.wikipedia.org/wiki/Interacci%C3%B3n\\_cati%C3%B3n-%CF%80](http://es.wikipedia.org/wiki/Interacci%C3%B3n_cati%C3%B3n-%CF%80)

<http://www.elpuntavui.cat/noticia/article/2-societat/14-salut/541432-el-facebook-esta-creant-obesos.html>

<http://www.udgmedicina.org/web/pagina/11/patronat>

[http://es.wikipedia.org/wiki/james\\_parkinson](http://es.wikipedia.org/wiki/james_parkinson)

[http://es.wikipedia.org/wiki/enfermedad\\_de\\_parkinson](http://es.wikipedia.org/wiki/enfermedad_de_parkinson)

[http://es.wikipedia.org/wiki/acoplamiento\\_molecular](http://es.wikipedia.org/wiki/acoplamiento_molecular)

[www.vademecum.es](http://www.vademecum.es)

<http://www.rdnatural.es/wp-content/uploads/2010/05/Valina.png>

<http://www.iaveriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/neurobioquimica/serotoninsynthesis.gif>

<http://www.aula21.net/Nutriweb/listaaminoac.htm>

[http://www.rcsb.org/pdb/Viewers/RCSBViewers/viewer\\_launch.jsp?viewerType=LX&structureId=3NT1&hetId=BOG](http://www.rcsb.org/pdb/Viewers/RCSBViewers/viewer_launch.jsp?viewerType=LX&structureId=3NT1&hetId=BOG)

<http://www.telegraph.co.uk/health/3351540/Dr-Stewart-Adams-I-tested-ibuprofen-on-my-hangover.html>

<http://es.wikipedia.org/wiki/Ciclooxigenasa>

<http://www.monografias.com/trabajos11/eico/eico.shtml#aci>



<http://bioquibi.webs.ull.es/bioquimica%20estructural/Archivoszip/enlacesnocovalentes/Fuerzas%20de%20Van%20der%20Waals.pdf>

<http://pqmacline.es/revpatologia/volumen35/vol35-num1/pdf%20patologia%2035-1/35-1-04.pdf>

<http://www.hipocampo.org/alzheimer.asp>

[http://es.wikipedia.org/wiki/Alois\\_Alzheimer](http://es.wikipedia.org/wiki/Alois_Alzheimer)

<http://www.cell.com/neuron/retrieve/pii/S0896627389902109>

<http://pqmacline.es/revpatologia/volumen35/vol35-num1/pdf%20patologia%2035-1/35-1-04.pdf>

[http://www.neuromontseny.org/?page\\_id=30](http://www.neuromontseny.org/?page_id=30)

<http://www.iqb.es/neurologia/enfermedades/alzheimer/enfermedadpaciente/e009.htm>

<http://www.iqb.es/neurologia/enfermedades/alzheimer/enfermedadpaciente/e002.htm>

<http://www.iqb.es/neurologia/enfermedades/alzheimer/enfermedadpaciente/e008.htm>

<http://www.ahaf.org/espanol/tratamiento.html>

[http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1135-57272005000600006&script=sci\\_arttext&tlng=e](http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1135-57272005000600006&script=sci_arttext&tlng=e)

[http://es.wikipedia.org/wiki/Receptor\\_nicot%C3%ADnico](http://es.wikipedia.org/wiki/Receptor_nicot%C3%ADnico)

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-21252002000400007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252002000400007)

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75231999000200007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75231999000200007)

<http://mayores.pre.cti.csic.es/documentos/documentos/farmaindustria-fronteras-01.pdf#page=135>

<http://revistas.uis.edu.co/index.php/revistasaluduis/article/view/34>

<http://digital.csic.es/handle/10261/6303>

[http://es.wikipedia.org/wiki/Hipocampo\\_\(anatom%C3%ADa\)](http://es.wikipedia.org/wiki/Hipocampo_(anatom%C3%ADa))

<http://www.csic.es/web/quest/home;jsessionid=3FC90D737924EC6C338F914820A4AE2E>

[http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2220/10\\_-\\_Acetilcolinesterasa\\_caracterizaci%C3%B3n\\_del\\_sitio\\_activo.pdf?sequence=15](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2220/10_-_Acetilcolinesterasa_caracterizaci%C3%B3n_del_sitio_activo.pdf?sequence=15)

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000594.htm>

[http://es.wikipedia.org/wiki/virus\\_de\\_la\\_inmunodeficiencia\\_humana](http://es.wikipedia.org/wiki/virus_de_la_inmunodeficiencia_humana)

<http://www.analesranf.com/index.php/ie/article/viewfile/851/821>

[http://www.aidsmap.com/v634746753490000000/file/1004266/anti\\_hiv\\_drugs\\_spanish.pdf](http://www.aidsmap.com/v634746753490000000/file/1004266/anti_hiv_drugs_spanish.pdf)

[http://bq.unam.mx/wikidep/uploads/mensajebioquimico/mensaje\\_bioq02v26p129\\_rojo.pdf](http://bq.unam.mx/wikidep/uploads/mensajebioquimico/mensaje_bioq02v26p129_rojo.pdf)

<http://www.upch.edu.pe/tropicales/telemedicinatarqa/revision%20DE%20TEMIS/IP%20FINAL.pdf>

<http://epidemiologiamolecular.com/proteasa-vih-terapia-antiviral/>

<http://www.elsevier.es/es/revistas/enfermedades-infeciosas-microbiologia-clinica-28/caracteristicas-los-farmacos-antirretrovirales-90010444-formacion-medica-continuada-infeccion-vih-adulto-2011>

[http://es.wikipedia.org/wiki/enlace\\_por\\_puente\\_de\\_hidr%C3%B3geno](http://es.wikipedia.org/wiki/enlace_por_puente_de_hidr%C3%B3geno)

<http://www.agro.unlpam.edu.ar/catedras-pdf/sem.2-%20Enllaços%20quimicos.pdf>

[http://laquna.fmedic.unam.mx/\\*evazquez/0403/estructura%20terciària2b.html](http://laquna.fmedic.unam.mx/*evazquez/0403/estructura%20terciària2b.html)

[http://diabetes.niddk.nih.gov/dm/pubs/medicines\\_ez/index.aspx](http://diabetes.niddk.nih.gov/dm/pubs/medicines_ez/index.aspx)

<http://www.usermeds.com/diseases/insulin-pump>

[http://es.wikipedia.org/wiki/inhibidor\\_de\\_la\\_alfa-glucosidasa](http://es.wikipedia.org/wiki/inhibidor_de_la_alfa-glucosidasa)

<http://www.typefreediabetes.com/gestational-diabetes-during-pregnancy-typefree-diabetes/11806.htm>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/tirosina-cinasa>

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/diabetes.html>

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/diabetestype2.html>

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/diabetesmedicines.html>

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/diabetescomplications.html>

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/diabetickidneyproblems.html>

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/diabeticnerveproblems.html>

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/diabeticfoot.html>

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/diabeticeyeproblems.html>

<http://familydoctor.org/familydoctor/es/diseases-conditions/diabetes/treatment/oral-medicines-for-diabetes.printerview.html>

<http://es.wikipedia.org/wiki/biguanida>

[http://es.wikipedia.org/wiki/c%C3%A9\\*lula\\_beta](http://es.wikipedia.org/wiki/c%C3%A9*lula_beta)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/pmh0002194/>

[http://es.wikipedia.org/wiki/enfermedad\\_cr%C3%B3\\*nica](http://es.wikipedia.org/wiki/enfermedad_cr%C3%B3*nica)

[http://es.wikipedia.org/wiki/diabetes\\_mellitus\\_tipo\\_2](http://es.wikipedia.org/wiki/diabetes_mellitus_tipo_2)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/pmh0001356/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/pmh0002772/>

[http://es.wikipedia.org/wiki/diabetes\\_gestacional](http://es.wikipedia.org/wiki/diabetes_gestacional)

[http://en.wikipedia.org/wiki/gestational\\_diabetes](http://en.wikipedia.org/wiki/gestational_diabetes)

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/diabeticnerveproblems.html>

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/diabeticheartdisease.html>

<http://www.dmedicina.com/enfermedades/digestivas/diabetes>

<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000320.htm>

[http://es.wikipedia.org/wiki/georg\\_ebers](http://es.wikipedia.org/wiki/georg_ebers)

[http://es.wikipedia.org/wiki/factor\\_de\\_crecimiento](http://es.wikipedia.org/wiki/factor_de_crecimiento)

<http://es.wikipedia.org/wiki/glucopept%C3%ADn>

[http://es.wikipedia.org/wiki/receptor\\_de\\_insulina](http://es.wikipedia.org/wiki/receptor_de_insulina)

<http://es.wikipedia.org/wiki/insulina>

[http://es.wikipedia.org/wiki/islotos\\_de\\_langerhans](http://es.wikipedia.org/wiki/islotos_de_langerhans)

[http://www.portalesmedicos.com/diccionario\\_medico/index.php/fosforolisis](http://www.portalesmedicos.com/diccionario_medico/index.php/fosforolisis)

<http://es.wikipedia.org/wiki/insulina#Funcions>

<http://es.wikipedia.org/wiki/somatostatina>

<http://es.wikipedia.org/wiki/glucofenol%C3%A9n>

[http://www.iqb.es/d\\_mellitus/historia/historia05.htm](http://www.iqb.es/d_mellitus/historia/historia05.htm)

<http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureid=3ekk>

<http://ca.wikipedia.org/wiki/tirosina-cinasa>