



ESTUDIO COMPUTACIONAL DE LA INHIBICIÓN SELECTIVA DE ANHIDRASAS CARBÓNICAS HUMANAS POR UNA CUMARINA-HIDRAZONA

Ignacio Aznar¹, Macarena Le Pors¹, Pedro A. Colinas¹, Martin J. Lavecchia²

¹ GICAR, CEDECOR, Departamento de Química Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Argentina.

² CEQUINOR (CONICET CCT-La Plata, UNLP, asociado CICBA), Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina

Correo electrónico de contacto: ignacioaznar@quimica.unlp.edu.ar

Las anhidrasas carbónicas son metaloenzimas que contienen un ion Zn^{2+} en su sitio activo, coordinado por tres residuos de histidina que cataliza la hidratación reversible del CO_2 . En humanos se expresan al menos quince isoformas: las citosólicas *hCA I* y *hCA II* son ubicuas, mientras que las asociadas a membrana *hCA IX* y *hCA XII* se sobreexpresan en tumores sólidos, lo que las convierte en blancos terapéuticos de interés; el reto es lograr inhibidores selectivos que las discriminen de las isoformas fisiológicas [1].

En este trabajo se estudió una cumarina-hidrazona (derivado cumarínico con un fragmento 3-metoxibenzoilo), la cual fue evaluada por el grupo del Dr. C. Supuran (Universidad de Florencia, Italia) frente a cuatro isoformas mediante el ensayo de hidratación de CO_2 por *stopped-flow*, con acetazolamida (AAZ) como referencia. Esta resultó inactiva sobre las isoformas citosólicas *hCA I* y *hCA II* ($K_i > 10 \mu\text{M}$) pero inhibió las isoformas asociadas a membrana *hCA IX* y *hCA XII* en el rango nanomolar, evidenciando una marcada selectividad por los blancos tumorales.

Para racionalizar este perfil se realizaron estudios de la interacción mediante docking molecular (FRED, OpenEye) y simulaciones de dinámica molecular (Amber, campos de fuerza ff14SB/GAFF2, con el centro de Zn^{2+} parametrizado mediante ZAFF) y cálculos de energía libre de unión por MM-GBSA sobre las cuatro isoformas. En el caso de la *hCA I* y *hCAII*, además de estudiar el sitio catalítico, se planteó la interacción con un canal aledaño.

La energía de unión obtenida con solvatación implícita no se correlacionó con las actividades reportadas. No obstante, al incorporar aguas explícitas en el cálculo, 30 y 60 moléculas, la correlación para reproducir el orden de actividad entre las isozimas fue notable. Asimismo, en el caso de *hCAI*, la energía de unión con el canal aledaño mostró mayor afinidad que el sitio catalítico, con lo cual podría actuar de manera competitiva. Sin embargo, esto no fue así para el caso de *hCAII*.

Los resultados resaltan el papel central del ion metálico y de la red de aguas del sitio activo en el origen de la selectividad, aportando bases estructurales para el diseño racional de inhibidores dirigidos a las anhidrasas carbónicas tumorales.

REFERENCIAS

[1] Supuran, C. T. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2008**, 7, 168–181.