

Quispe Patricia¹, Martínez Heredia Leandro², León Ignacio¹, Lavecchia Martín¹

1. CEQUINOR (CONICET-CCT La Plata, Fac. de Cs. Exactas - UNLP- CICBA), Boulevard 120, e/ 60 y 64, N°1465- La Plata

2. INIFTA (CONICET-CCT La Plata, Fac. de Cs. Exactas - UNLP), diag. 113 y 64 - La Plata

Introducción

FAK (Fig. 1) es una proteína clave en los procesos de invasión y metástasis tumoral, y está constituida por tres dominios (Fig. 2). Su inhibición ha sido ampliamente estudiada como estrategia terapéutica en cáncer y se han diseñado gran variedad de fármacos dirigidos al sitio de unión a ATP.

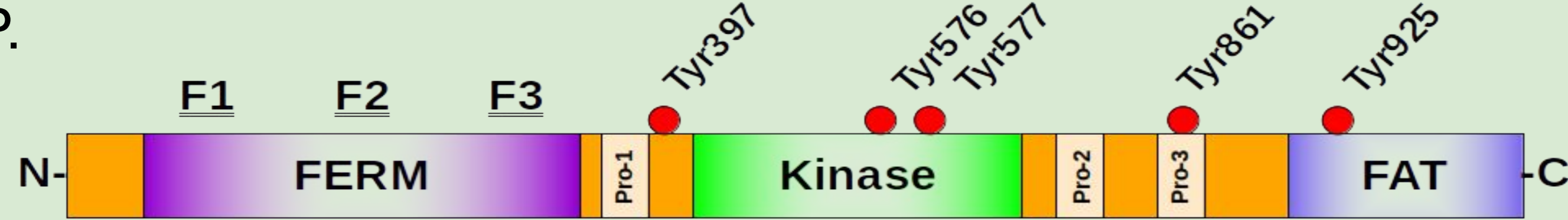


Fig. 2 Estructura de los dominios de FAK

Como antecedente, en el grupo ya hemos analizado la interacción del complejo [VO(cloquiinol)₂], que inhibe la actividad de FAK, y computacionalmente se propone un modo de unión al sitio donde une ATP.

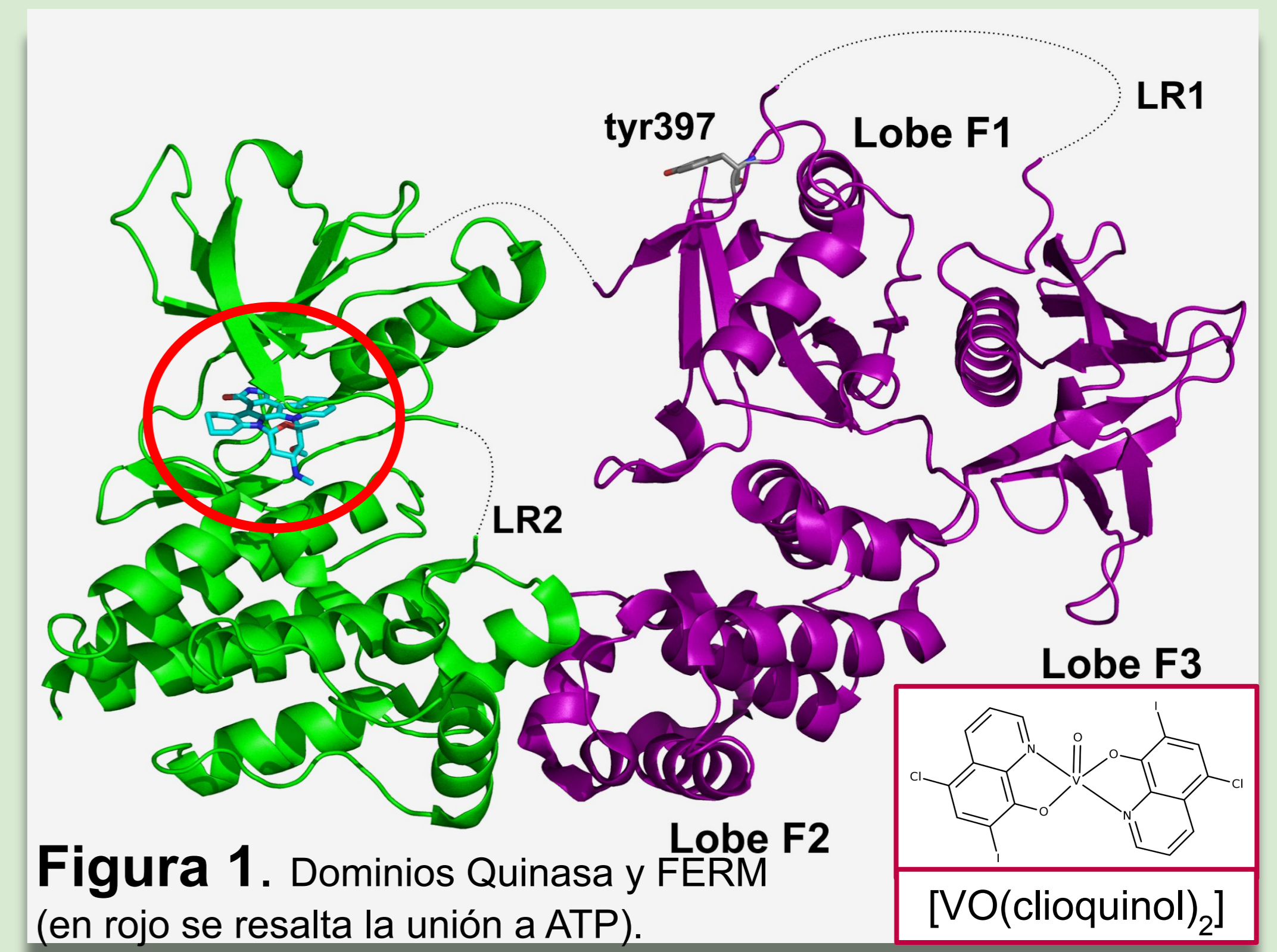


Figura 1. Dominios Quinasa y FERM (en rojo se resalta la unión a ATP).

Motivación

Con el fin de conocer las características que deben poseer los compuestos para unirse al sitio ATP, realizamos un estudio computacional de inhibidores conocidos.

- Se realizó un acoplamiento molecular y simulaciones de dinámica molecular.
- Se compararon los modos de unión en base a la propuesta de nuevas métricas derivadas del cálculo de las energías libres de unión.

Conjunto de inhibidores

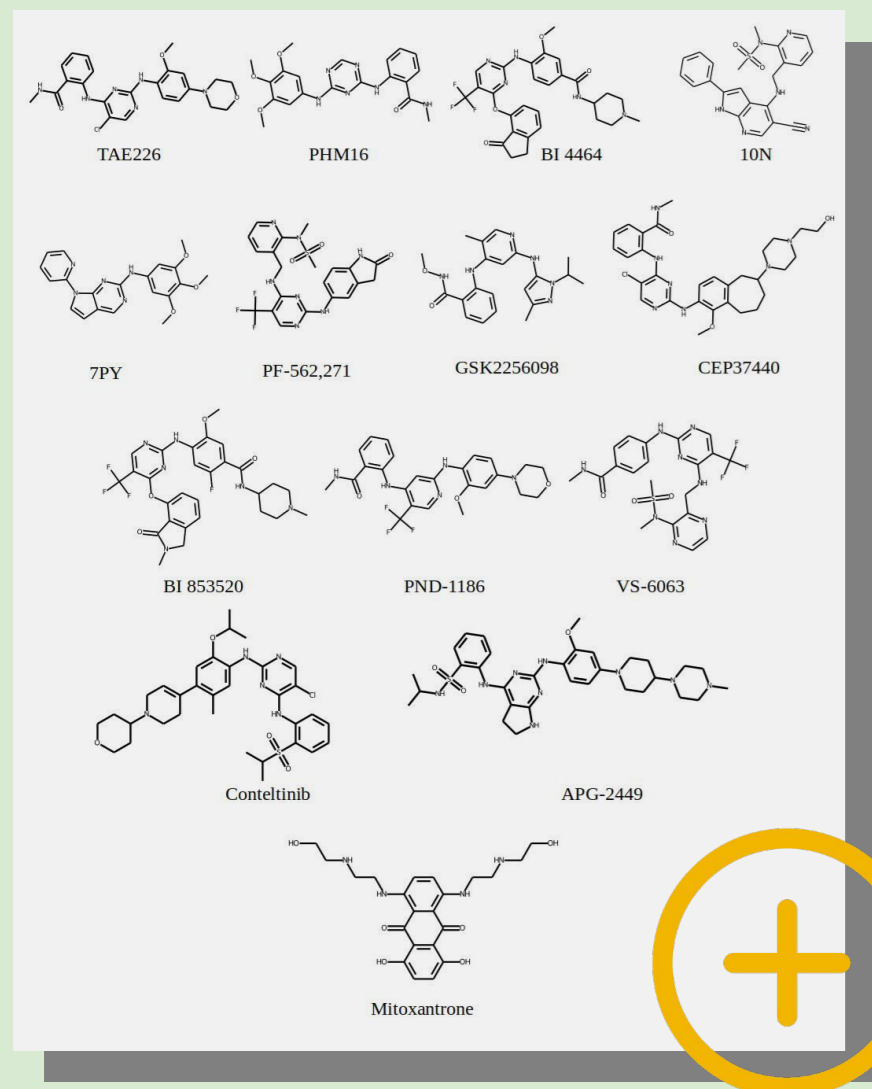


Fig. 3. Inhibidores seleccionados.

- Se seleccionaron inhibidores en fases preclínica y clínica dirigidos al sitio ATP (Fig. 3).
- Se incluyen:
 - Compuestos co-cristalizados con la proteína.
 - Compuestos sin modo de unión propuesto.
- Todos exhiben valores de IC₅₀ de inhibición en el rango 0.6-200 nM

| Molécula | PDB | Desarrollo | Energía MM/GBSA |
|--------------|------|------------|-----------------|
| 7PY | 2ETM | Preclínico | -38.3 (2.6) |
| 10N | 4GU6 | Preclínico | -47.2 (2.9) |
| TAE226 | 2JJK | Preclínico | -49.3 (3.0) |
| PHM16 | 4C7T | Preclínico | -45.2 (2.8) |
| BI-4464 | 6I8Z | Preclínico | -54.3 (3.3) |
| PF-562,271 | 3BZ3 | Fase I | -46.3 (3.0) |
| GSK2256098 | - | Fase I | -48.5 (2.6) |
| CEP 37440 | - | Fase I | -51.6 (3.0) |
| PND-1186 | - | Fase I | -52.9 (3.0) |
| Defactinib | - | Fase II | -45.3 (3.7) |
| Conteltinib | - | Fase I | -54.8 (5.3) |
| APG-2449 | - | Fase I | -49.1 (3.0) |
| BI 853520 | - | Fase I | -58.0 (3.8) |
| Mitoxantrona | - | Preclínico | -36.0 (3.7) |

Tabla 1. Energías de unión ligando-proteína (kcal mol⁻¹) de los inhibidores seleccionados estimadas con MM/GBSA.

Acoplamiento molecular Dinámica molecular

- Busca encontrar el modo de unión más probable de un ligando a un blanco molecular, generando conformeros que evalúa con una función de puntuación.
- Los programas utilizados fueron FRED, HYBRID y SMINA.
- Dinámica molecular (40ns) del complejo para obtener una trayectoria en equilibrio.
- Cálculo de energía de unión total (Tabla 1) y descompuesta (Fig. 4) entre residuos de FAK y el ligando en el marco del modelo MM/GBSA sobre "fotos" de la trayectoria.

Distancia en el espacio de las interacciones

- Para cada residuo se obtiene el valor de energía de interacción y un error que indica la dispersión energética de la interacción. Estos valores pueden constituir un vector en el "espacio de interacciones".
- Matriz de la distancia en el espacio de interacciones (Tabla 2).

| | zetm | APG-2449 | BI 4464 | CEP37440 | CD89860551 | Defactinib | GSK2256098 | PF562271 | PHM16 | PND1186 | TAE226 |
|------------|-------|----------|---------|----------|------------|------------|------------|----------|-------|---------|--------|
| zetm | 0.00 | 12.38 | 12.98 | 12.67 | 15.55 | 11.86 | 10.94 | 14.96 | 9.73 | 10.71 | 10.30 |
| APG-2449 | 12.38 | 0.00 | 7.86 | 9.42 | 9.79 | 8.28 | 7.68 | 8.56 | 7.20 | 8.36 | 7.31 |
| BI | 12.98 | 7.86 | 0.00 | 10.95 | 10.84 | 10.54 | 10.56 | 11.51 | 9.77 | 9.28 | 9.31 |
| CEP37440 | 12.67 | 9.42 | 10.95 | 0.00 | 13.20 | 11.61 | 10.69 | 12.95 | 11.34 | 10.46 | 9.61 |
| CD89860551 | 15.55 | 9.79 | 10.84 | 13.20 | 0.00 | 11.39 | 12.01 | 11.99 | 11.88 | 11.39 | 10.80 |
| Defactinib | 11.86 | 8.28 | 10.54 | 11.61 | 11.39 | 0.00 | 8.78 | 8.91 | 7.32 | 7.32 | 8.23 |
| GSK2256098 | 10.94 | 7.68 | 10.56 | 10.69 | 12.01 | 8.78 | 0.00 | 10.26 | 7.38 | 7.45 | 7.97 |
| PF562271 | 14.96 | 8.56 | 11.51 | 12.95 | 11.99 | 8.96 | 10.26 | 0.00 | 10.39 | 9.11 | 10.79 |
| PHM16 | 9.73 | 7.20 | 9.77 | 11.34 | 11.88 | 8.91 | 7.38 | 10.39 | 0.00 | 7.24 | 5.99 |
| PND1186 | 10.71 | 8.36 | 9.28 | 10.46 | 11.39 | 7.32 | 7.45 | 9.11 | 7.24 | 0.00 | 6.52 |
| TAE226 | 10.30 | 7.31 | 9.31 | 9.61 | 10.80 | 8.23 | 7.97 | 10.79 | 5.99 | 6.52 | 0.00 |

Tabla 2. Distancia entre inhibidores conocidos de FAK en el espacio de interacciones. Mitoxantrona fue excluido del gráfico ya que su distancia a todos los inhibidores es excesivamente alta, lo que coincide con lo observado en la descomposición y con un modo de unión muy diferente.

Índice de solapamiento

- Cada interacción genera una distribución gaussiana de energías centrada en el valor de energía calculado y con desviación igual al error estimado.
- Partiendo del área de intersección entre dos distribuciones, generamos una métrica de similitud entre las mismas.
- Un índice más cercano a 1 indica mayor similitud entre las interacciones.
- Se genera una matriz con el índice de solapamiento.

| | zetm | APG2449 | BI 4464 | CEP37440 | Conteltinib | Defactinib | GSK2256098 | Mitoxantrona | PF562271 | PHM16 | PND1186 | TAE226 |
|--------------|----------|----------|----------|----------|-------------|------------|------------|--------------|----------|----------|----------|----------|
| zetm | 1.00000 | 0.291841 | 0.343227 | 0.350522 | 0.367386 | 0.433528 | 0.429607 | 0.298406 | 0.354954 | 0.493610 | 0.425562 | 0.428306 |
| APG2449 | 0.291841 | 1.00000 | 0.371612 | 0.372889 | 0.413821 | 0.437715 | 0.417539 | 0.295574 | 0.367472 | 0.351565 | 0.367574 | 0.368177 |
| BI 4464 | 0.343227 | 0.371612 | 1.00000 | 0.490495 | 0.519928 | 0.525486 | 0.517666 | 0.292506 | 0.479418 | 0.498334 | 0.530710 | 0.505304 |
| CEP37440 | 0.350522 | 0.372889 | 0.490495 | 1.00000 | 0.435043 | 0.464046 | 0.495509 | 0.236260 | 0.432493 | 0.535436 | 0.497864 | 0.562592 |
| Conteltinib | 0.367386 | 0.413821 | 0.519928 | 0.435043 | 1.00000 | 0.506955 | 0.464436 | 0.316457 | 0.553041 | 0.465717 | 0.497272 | 0.494979 |
| Defactinib | 0.433528 | 0.437715 | 0.525486 | 0.464046 | 0.506955 | 1.00000 | 0.528252 | 0.319422 | 0.636666 | 0.543243 | 0.590163 | 0.546395 |
| GSK2256098 | 0.429607 | 0.417539 | 0.517666 | 0.495509 | 0.464436 | 0.528252 | 1.00000 | 0.273612 | 0.559075 | 0.599703 | 0.582948 | 0.589133 |
| Mitoxantrona | 0.298406 | 0.295574 | 0.292506 | 0.236260 | 0.316457 | 0.319422 | 0.273612 | 1.00000 | 0.323657 | 0.292063 | 0.246649 | 0.260247 |
| PF562271 | 0.354954 | 0.367472 | 0.479418 | 0.432493 | 0.553041 | 0.636666 | 0.509075 | 0.323657 | 1.00000 | 0.479411 | 0.521020 | 0.456034 |
| PHM16 | 0.493610 | 0.351565 | 0.498334 | 0.535436 | 0.465717 | 0.543243 | 0.599703 | 0.292063 | 0.479411 | 1.00000 | 0.634537 | 0.686138 |
| PND1186 | 0.425562 | 0.367574 | 0.530710 | 0.497864 | 0.497272 | 0.590163 | 0.582948 | 0.246649 | 0.521020 | 0.634537 | 1.00000 | 0.710173 |
| TAE226 | 0.428306 | 0.368177 | 0.505304 | 0.562592 | 0.494979 | 0.546395 | 0.589133 | 0.260247 | 0.456034 | 0.686138 | 0.710173 | 1.00000 |

Tabla 3. Coeficientes de solapamiento entre inhibidores de FAK. En este caso también se encontró que Mitoxantrona posee menor similitud con los demás inhibidores.

Conclusiones

Las métricas desarrolladas permiten realizar una descripción cuantitativa de los modos de unión de ligandos en el sitio activo de FAK. Las métricas permiten comparar numéricamente la unión de dos ligandos al mismo sitio, sin requerir de la experiencia del usuario. En el caso de FAK, observamos que mitoxantrona posee un modo de unión distinto de los demás inhibidores, y que pretendemos explorar a futuro en la búsqueda de inhibidores de FAK. En cuanto a desarrollo racional de fármacos, los descriptores permiten identificar compuestos que se unen de forma similar a alguno de los ligandos conocidos. Permite realizar un desarrollo no desde el ligando ni desde el receptor, sino desde las interacciones establecidas en el sitio más allá de la similitud estructural.