

## Docking molecular de inhibidores de actividad quinasa: inhibición de la piridoxal quinasa

### Molecular docking kinase inhibitors of activity: kinase inhibition pyridoxal

Rosa Baldiris, Didina Caicedo, Margarita Velásquez, Verónica Valdiris, Ricardo Vivas-Reyes<sup>1</sup>

#### RESUMEN

**Introducción:** Muchos fármacos de uso común se han asociado con casos de hipovitaminosis. La vitamina B6 (piridoxina), ha sido una de estas vitaminas. El mecanismo mayormente propuesto para hipovitaminosis B6 inducida por fármacos es la inhibición de la piridoxal quinasa, enzima fundamental para la conversión de la piridoxina a su forma activa, fosfato de piridoxal (PLP). **Objetivo:** Estudiar posible interacción entre fármacos de uso común y la enzima piridoxal quinasa. **Métodos:** En el presente trabajo se estudió mediante cálculos de acoplamiento molecular, la posible interacción entre un grupo de fármacos de uso común (cicloserina, dopamina, isoniazida, levodopa, penicilamina, teofilina, muzolimina y progabida) y la enzima PLK. De igual forma, mediante este mismo método, se estudió la interacción Piridoxina-PLK y finalmente se realizó el análisis comparativo entre todos los resultados obtenidos. **Resultados:** En términos generales, los valores obtenidos de AEgap, energía de unión y constante de inhibición para la piridoxina eran de esperarse teniendo en cuenta que esta es el sustrato natural de la enzima PLK. Sin embargo, se evidenciaron varios casos en los cuales los inhibidores en estudio indican formación de complejos más estables con el receptor PLK, que el complejo Piridoxina-PLK, indicando posible interferencia de estos fármacos en el metabolismo de la vitamina B6. **Conclusiones:** Se obtuvieron buenos indicadores de la interferencia de los fármacos analizados, sobre el metabolismo de la vitamina B6.

**Palabras Claves:** Piridoxina, Piridoxal Kinasa, DFT, Docking Molecular.

#### ABSTRACT

**Introduction:** Many commonly used drugs have been associated with cases of hypovitaminosis. Vitamin B6 (pyridoxine) has been one of these vitamins. The mostly B6 hypovitaminosis proposed mechanism is drug-induced inhibition of pyridoxal kinase, the key enzyme for the conversion to its active form pyridoxine, pyridoxal phosphate (PLP). **Objectives:** To study possible interactions between drugs commonly used and pyridoxal kinase enzyme. **Methods:** In the present work was

---

<sup>1</sup> Grupo de Química Cuántica y Teórica de la Universidad de Cartagena. Programa de Química. Facultad de ciencias Exactas y Naturales. Campus de San pablo. Cartagena-Colombia.

Correspondencia: [rosa\\_baldiris@yahoo.com](mailto:rosa_baldiris@yahoo.com)

studied using molecular docking calculations, the possible interaction between a group of commonly used drugs (cycloserine, dopamine, isoniazid, levodopa, penicillamine, theophylline, muzolimine and progabide) and PLK enzyme. Similarly, using the same method, pyridoxine-PLK interaction was studied and finally the comparative analysis of all the results was obtained. **Results:** In general, the values obtained from  $AE_{gap}$ , binding energy and inhibition constant for pyridoxine were expected given that this is the natural substrate of the PLK enzyme. However, several cases in which study indicate inhibitors in formation of more stable complexes with the receptor PLK, Pyridoxine-PLK the complex indicating possible that these drugs interfere with the metabolism of vitamin B6 were evidenced. **Conclusions:** Good indicators of interference analyzed drug on the metabolism of vitamin B6 were obtained.

**Keywords:** Pyridoxine, pyridoxal kinase, DFT, Molecular Docking.

## INTRODUCCIÓN

El uso de algunos fármacos se encuentra asociado con interferencias en el metabolismo de ciertas vitaminas, razón por la cual se han evidenciado casos de hipovitaminosis en presencia de tales fármacos (1, 2).

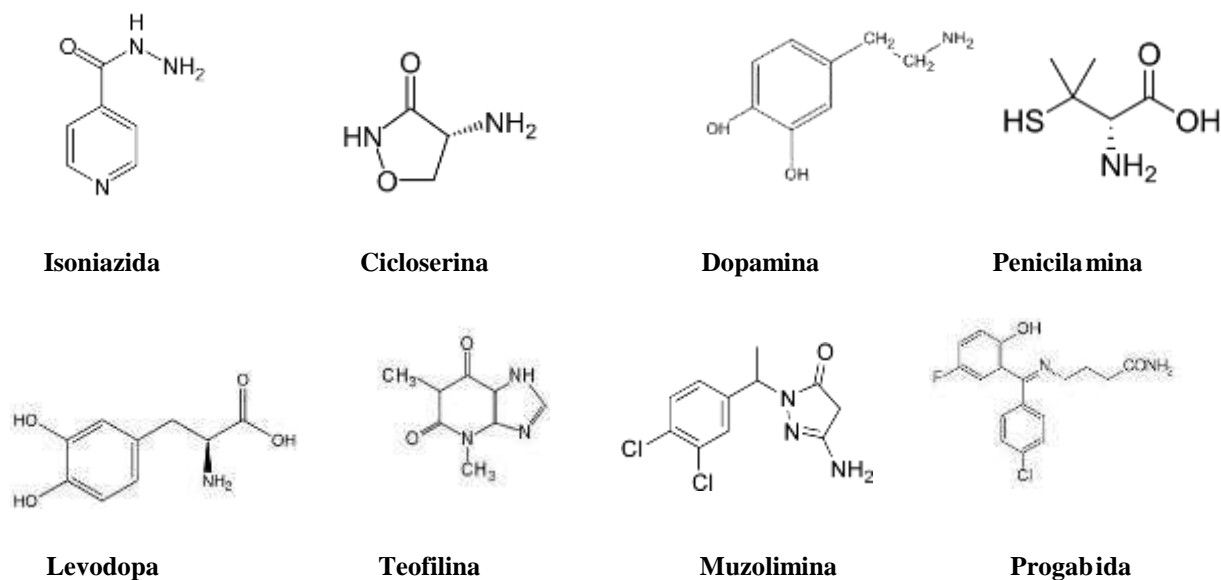
La vitamina B6, también conocida como piridoxina, es una de las vitaminas en cuestión (2, 3). Uno de los mecanismos propuestos para hipovitaminosis B6 inducida por fármacos es la inhibición de la Piridoxal quinasa (PLK) (4), una enzima fundamental para la conversión de la piridoxina a su forma activa, fosfato de piridoxal (PLP) (5), un cofactor orgánico muy importante e indudablemente el más versátil en la bioquímica celular, ya que es utilizado por una variedad de enzimas en el metabolismo intermediario de todos los organismos. Casi todas las enzimas dependientes de PLP, con la excepción de la glucógeno fosforilasa, se asocian con las vías bioquímicas que implican compuestos aminados, principalmente aminoácidos (5, 6).

En el presente trabajo se estudió mediante el uso de cálculos de acoplamiento (Docking) molecular la posible interacción entre un grupo de fármacos de uso frecuente, específicamente inhibidores de actividad quinasa (cicloserina, dopamina, isoniazida, levodopa, penicilamina, teofilina, muzolimina y progabida) (7) (ver figura 1) y la enzima PLK.

Se analizó la diferencia en afinidad en términos de energía de unión y constante de inhibición (KI), entre su sustrato natural (PLP) y los fármacos en mención, y a su vez, estos valores fueron relacionados con la diferencia de energía entre orbitales moleculares de frontera HOMO-LUMO ( $AE_{gap}$ ) (8) para cada uno.

Los valores obtenidos para la piridoxina, tanto en términos de energía de unión, como de constante de inhibición y de  $AE_{gap}$  estuvieron en concordancia con el hecho de que esta corresponde al sustrato natural de la enzima PLK. Sin embargo, se evidenciaron varios casos en los cuales los inhibidores en estudio indican formación de complejos más estables con el receptor PLK, que el complejo Piridoxina-PLK, indicando posible interferencia de estos fármacos en el metabolismo de la vitamina B6.

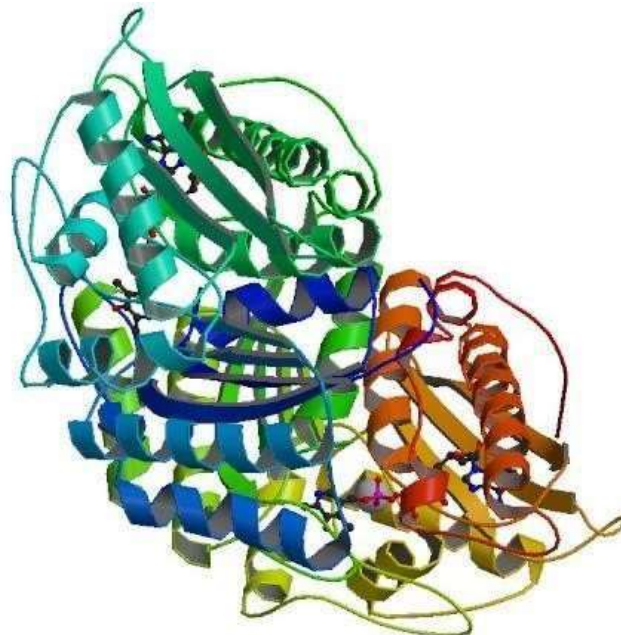
Figura 1. Estructura de inhibidores de actividad quinasa



## MÉTODOS

Inicialmente, las estructuras de los fármacos en estudio fueron optimizadas utilizando el método DFT (9) al nivel de teoría B3LYP/6-31G (10), en el programa Gaussian09 (11). Por su parte, la estructura cristalina de la enzima PLK fue descargada de Protein Data Bank (PDB) bajo el código PDB 1RFU y con una resolución de 2.8 Å (<http://www.rcsb.org/pdb/>) (12) (ver figura 2).

**Figura 2. Estructura cristalina de la piridoxal quinasa (PLK) formando complejo con un ADP y un PLP.**



Posteriormente, tanto las estructuras de los fármacos como la del receptor (enzima PLK) fueron preparadas para el proceso de acoplamiento, utilizando el programa SYBYL-X 2.0 (13).

Para el caso de las primeras, solo se comprobó que los enlaces y átomos estuvieran ubicados de forma correcta. Para el caso del receptor, se extrajeron ligandos y moléculas de agua con las cuales viene resuelta la estructura. Además, se agregaron átomos de hidrógeno.

Para el acoplamiento molecular se utilizó el programa Autodock 4.2 (14), con un grid de 120x120x120 centrado en el receptor.

Finalmente, se realizó un análisis de afinidades de unión entre los fármacos en estudio, el PLP y el receptor PLK.

## RESULTADOS

De la optimización inicial utilizando Teoría del Funcional de la Densidad se obtuvieron los valores de energía de los orbitales moleculares de frontera HOMO-LUMO para cada uno de los compuestos en estudio (ver Tabla 1).

**Tabla 1. Diferencias de energía HOMO-LUMO**

Molécula	Energía HOMO (eV)	Energía LUMO (eV)	AE <sub>gap</sub> (eV)
Piridoxina	-5.95	-2.57	3.37
Isoniazida	-6.17	-0.56	5.61
Cicloserina	-5.55	-0.36	5.18
Dopamina	-5.57	0.15	5.72
Muzolimina	4.21	2.97	7.19

<b>Penicilamina</b>	-9.21	0.98	<b>10.2</b>
<b>Progabida</b>	-8.83	3.01	<b>11.84</b>
<b>Teofelina</b>	-3.41	-0.46	<b>2.94</b>
<b>Levodopa</b>	-3.51	-0.84	<b>2.76</b>

De acuerdo con la teoría de orbitales moleculares de frontera, el HOMO y el LUMO son factores importantes que afectan la bioactividad de pequeñas moléculas con actividad inhibitoria. La energía del HOMO mide principalmente la tendencia a donar electrones, mientras que la energía del LUMO mide principalmente la tendencia a recibirlos. Generalmente, la estabilidad de un complejo aumenta al disminuir el valor de  $AE_{gap}$  (diferencia de energía entre orbitales moleculares de frontera).

Los resultados del Acoplamiento Molecular (Tabla 2), están dados en términos de energías de unión y constante de inhibición entre las moléculas objeto de estudio y la enzima PLK, la piridoxina arroja uno de los máximos valores de energía de unión.

**Tabla 2. Resultados del Acoplamiento Molecular en términos de Energías de unión y constantes de inhibición**

<b>Molécula</b>	<b>Energía de unión (Kcal)</b>	<b>Constante de inhibición (<math>\mu\text{M}</math>)</b>
<b>Piridoxina</b>	-6.23	27.04
<b>Isoniazida</b>	-5.76	60.3
<b>Cicloserina</b>	-4.41	923.53
<b>Dopamina</b>	-8.46	0.63
<b>Muzolimina</b>	-11.19	6.29
<b>Penicilamina</b>	-7.73	2.17
<b>Progabida</b>	-8.56	0.51
<b>Teofelina</b>	-6.15	25.9
<b>Levodopa</b>	-6.23	27.05

Se observa que para algunos casos se obtuvieron valores muy similares y para otros casos, se obtuvieron energías de unión por encima del valor de la piridoxina.

## DISCUSIÓN

De los resultados presentdos en la tabla 1, se observan diferencias en su mayoría marcadas, en los valores de  $AE_{gap}$  entre la piridoxina y el resto de moléculas estudiadas. La piridoxina presenta una de los menores valores de este parámetro, comparada con las moléculas inhibitoras de actividad quinasa, lo cual fue de esperarse dado que esta molécula es el sustrato natural de la enzima PLK. Esto también se refleja en los resultados del acoplamiento molecular ya que la piridoxina presentó uno de los valores más altos de energía de unión.

Por otra parte, entre los inhibidores de actividad quinasa, la levodopa, seguida de la teofilina, presentan los menores valores de  $AE_{gap}$ , valores muy cercanos al obtenido para la Piridoxina. Caso contrario ocurre con la penicilamina y la progabida, las cuales

arrojaron los más altos valores y bastante próximos entre sí a pesar de ser estructuralmente muy diferentes (8).

Teniendo en cuenta lo anterior, existe una elevada probabilidad de que la levodopa y la teofilina formen un complejo más estable que el complejo Piridoxina-PLK.

En la tabla 2, se observa que para algunos casos se obtuvieron valores muy similares y para otros casos, se obtuvieron energías de unión por encima del valor de la piridoxina. Tal es el caso de la cicloserina y la isoniazida, lo que indica una posible inhibición de esta enzima en presencia de este tipo de fármacos. En cuanto a constante de inhibición (KI), en general, a mayor valor de esta, más débil será la unión del inhibidor a la enzima. Así, la unión de la cicloserina a la PLK sería la unión molécula-enzima más débil, lo que no está completamente acorde con un valor elevado de energía de unión cicloserina-PLK obtenido de los mismos cálculos de docking, incluso por encima de la Piridoxina. Por otra parte, el valor de KI es mucho menor para algunos de los inhibidores en estudio (dopamina, muzolimina, penicilamina y progabida), lo que nuevamente indica probabilidad de unión más estable entre estos compuestos y el receptor PLK que el complejo piridoxina-PLK.

## CONCLUSIONES

De este estudio se han obtenido buenos indicadores de la interferencia de los fármacos mencionados, sobre el metabolismo de la vitamina B6. Los cálculos DFT muestran como los orbitales HOMO-LUMO tienen impacto en la bioactividad de los compuestos, empezando por el hecho de que el sustrato natural de la enzima PLK (la piridoxina) arrojó uno de los valores más bajos de AEGap.

Por otra parte, los resultados del Docking complementaron la información, arrojando resultados en gran medida acordes con los cálculos iniciales. En general, varios de los fármacos manifestaron tener mayor afinidad o mostrar mayor energía de unión con el receptor PLK. Sin embargo, también se presentaron ciertas contradicciones, como es el caso de la cicloserina, al arrojar valores elevados tanto de energía de unión como de constante de inhibición, lo que hace necesario seguir avanzando en este estudio, mediante la utilización de un método más estricto en lo que se refiere al estudio de las afinidades y de esta forma establecer si los inhibidores aquí estudiados podrían competir con el sustrato natural de PLK y así inhibir esta enzima, interfiriendo con el metabolismo normal de la Vitamina B6.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Mintzer S, Skidmore CT, Sperling MR. B-vitamin deficiency in patients treated with antiepileptic drugs. *Epilepsy & behavior* : E&B. 2012;24(3):341-4. Epub 2012/06/05.
2. Jaffe IA. Antivitamin B6 effect of D-penicillamine. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1969;166(1):57-60. Epub 1969/09/30.

3. Ubbink JB, Delport R, Bissbort S, Vermaak WJ, Becker PJ. Relationship between vitamin B6 status and elevated pyridoxal kinase levels induced by theophylline therapy in humans. *The Journal of nutrition*. 1990;120(11):1352-9. Epub 1990/11/01.
4. Ubbink JB, Delport R, Becker PJ, Bissbort S. Evidence of a theophylline-induced vitamin B6 deficiency caused by noncompetitive inhibition of pyridoxal kinase. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1989;113(1):15-22. Epub 1989/01/01.
5. Fowler B. Recent advances in the mechanism of pyridoxine-responsive disorders. *Journal of inherited metabolic disease*. 1985;8 Suppl 1:76-83. Epub 1985/01/01.
6. Percudani R, Peracchi A. A genomic overview of pyridoxal-phosphate-dependent enzymes. *EMBO reports*. 2003;4(9):850-4. Epub 2003/09/02.
7. Laine-Cessac P, Cailleux A, Allain P. Mechanisms of the inhibition of human erythrocyte pyridoxal kinase by drugs. *Biochemical pharmacology*. 1997;54(8):863-70. Epub 1997/11/14.
8. Ma Y, Wang JG, Wang B, Li ZM. Integrating molecular docking, DFT and CoMFA/CoMSIA approaches for a series of naphthoquinone fused cyclic alpha-aminophosphonates that act as novel topoisomerase II inhibitors. *Journal of molecular modeling*. 2011;17(8):1899-909. Epub 2010/11/26.
9. Becke A. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange *The Journal of Chemical Physics*. 1992;98(7):5648-52.
10. Lee C, Yang W, Parr RG. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Physical review B, Condensed matter*. 1988;37(2):785-9. Epub 1988/01/15.
11. M. J. Frisch GWT, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Gaussian09, Revision B.01. 2009.
12. Li MH, Kwok F, Chang WR, Liu SQ, Lo SC, Zhang JP, et al. Conformational changes in the reaction of pyridoxal kinase. *The Journal of biological chemistry*. 2004;279(17):17459-65. Epub 2004/01/15.
13. Tripos International. SYBYL-X 2.0. Epub South Hanley Rd., St. Louis, Missouri, 63144, USA.
14. Morris GM, Huey R, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, et al. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry*. 2009;30(16):2785-91. Epub 2009/04/29.