

## Estudio Comparativo de Métodos de Cálculo empleados en el Análisis Conformacional de Moléculas de Interés Farmacológico

Fernando D. SUVIRE \*, Ricardo D. ENRIZ y Esteban A. JAUREGUI

Universidad Nacional de San Luis, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia,  
Departamento de Química, Chacabuco y Pedernera,  
5700 San Luis Argentina.

---

**RESUMEN.** En este trabajo presentamos un estudio conformacional comparativo empleando diferentes métodos de cálculo en algunas moléculas de interés farmacológico: histamina,  $\alpha(R)$ ,  $\beta(S)$  dimetilhistamina y anfetamina. En este estudio se incluye también una discusión sobre la conveniencia de la utilización de los diferentes métodos de cálculo en estudio de modelado molecular para el diseño de fármacos. Este análisis se realizó en base al tiempo de cálculo requerido en relación con la cantidad y calidad de información que es posible obtener. Nuestros resultados muestran que cálculos de Mecánica Molecular, muy simples, pueden resultar sumamente útiles en el estudio conformacional general de moléculas biológicas como las aquí presentadas, dando resultados muy similares a los obtenidos con métodos más sofisticados (AM1 y *ab initio* 3-21G y 4-31G). Sin embargo, en aquellos casos en que se requiere una información precisa sobre barreras rotacionales y posibilidades de interconversión entre los conformeros, resulta necesario la utilización de cálculos más exactos.

**SUMMARY.** "Comparative Study of Calculation Methods used in the Conformational Analysis of Molecules with Pharmacological Interest". A comparative conformational study of biologically active molecules (histamine,  $\alpha(R)$ ,  $\beta(S)$  dimethylhistamine and amphetamine) was carried out using different calculation methods. Also, a discussion about the utility of different calculation techniques used in molecular modeling was included in the present report. The above analysis was carried out taken into account the calculation time required with respect to the quality of information obtained. Our results indicate that very simple molecular mechanic calculations may be useful in the general conformational study of biological molecules, giving results close related with those obtained from AM1 or *ab initio* 3-21G, 4-31G calculations. However, *ab initio* calculations appears to be essential in those cases in which a precise description about rotational barriers and interconversion among the different conformers are necessary.

---

### INTRODUCCION

La hipótesis de que las drogas desarrollan su actividad biológica uniéndose a receptores específicos fue desarrollada antes de que fuese posible la identificación y aislamiento de los receptores, permitiendo el desarrollo de lo que hoy conoce-

**PALABRAS CLAVE:** Análisis conformacional, Métodos de cálculo, Modelado molecular.

**KEY WORDS:** Conformational analysis, Calculation methods, Molecular modeling.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia.

mos como farmacología molecular. Si bien en algunos casos se ha logrado aislar e identificar el receptor, en muchas otras situaciones esto no ha sido posible. En estos casos una forma de atacar el problema es analizar la interacción droga-receptor a través del estudio del ligando.

Una condición indispensable para realizar una interpretación correcta de la correlación estructura-actividad es una descripción de la estructura molecular de la droga, tan exacta y completa como sea posible. De esta manera, la conformación de las pequeñas moléculas farmacológicamente activas es un punto clave para considerar la interacción droga-receptor, ya que muchas de estas moléculas son potencialmente flexibles y por lo tanto en solución pueden existir como diferentes conformaciones en equilibrio.

Si consideramos (como es altamente probable) que las pequeñas moléculas se unen al receptor en una sola conformación, entonces la formación del complejo droga-receptor requiere de un proceso de "selección conformacional", el cual influenciará la estabilidad termodinámica y la cinética de la formación de dicho complejo. Los estudios experimentales del equilibrio estructural tales como los estudios cristalográficos o de espectroscopía de R.M.N. pueden no ser capaces de brindarnos la información necesaria para entender las interacciones droga-receptor. Esto se debe a que las conformaciones biológicamente activas, no son en general, las formas preferidas del estado sólido o las que se encuentran en solución e incluso las formas activas pueden no ser conformaciones estables, sino estados intermedios entre una y otra conformación.

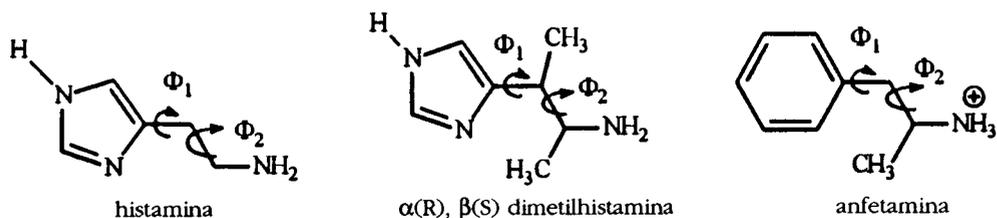
Los cálculos teóricos a través de los cálculos de la energía potencial conformacional pueden completar los datos experimentales en los estudios conformacionales, ya que estos cálculos -sean derivados de la mecánica molecular (MM) o de orbitales moleculares (OM)- permiten la confección de mapas completos de la superficie de energía conformacional de la molécula, pudiéndose además estudiar las barreras rotacionales que permiten determinar la factibilidad de interconversión entre los diferentes conformeros.

Es importante tener en cuenta la gran diversidad de métodos de cálculo y programas disponibles que hay en la actualidad, lo que en ocasiones dificulta la correcta elección del método de cálculo a utilizar, sobre todo en aquellas personas que no están familiarizadas con la química teórica.

En este reporte presentamos un estudio conformacional comparativo empleando diferentes métodos de cálculo para algunas moléculas de interés farmacológico cuyas fórmulas se indican en la Figura 1. Se incluye además una discusión sobre la conveniencia de la utilización de los diferentes métodos de cálculo en estudio de modelado molecular para el diseño de fármacos. Este análisis se realizó sobre la base del tiempo de cálculo requerido en función de la cantidad y calidad de la información que pueda obtenerse.

## **METODOS DE CALCULOS**

Los cálculos que se presentan fueron realizados empleando métodos de orbitales moleculares (OM) y de mecánica molecular (MM). Los cálculos mecanocuánticos se realizaron empleando técnicas semiempíricas y ab initio. Los cálculos semiempíricos se realizaron utilizando el método AM1 <sup>1</sup> tal como está implementado



**Figura 1.** Estructura de las moléculas estudiadas, señalándose ángulos de torsión.

en el programa MOPAC en su versión 6.0<sup>2</sup>, mientras que los cálculos *ab initio* se realizaron empleando el programa MONSTERGAUS<sup>3</sup> utilizando el grupo de base 3-21G y 4-31G.

Con el objeto de obtener estructuras moleculares "confiables", se realizó una optimización completa de los parámetros geométricos tanto a nivel semiempírico como *ab initio*.

Los cálculos de MM se realizaron empleando un método diseñado por nuestro grupo<sup>4-6</sup> el cual ha sido empleado previamente con excelentes resultados en varios sistemas biológicos<sup>6-11</sup>.

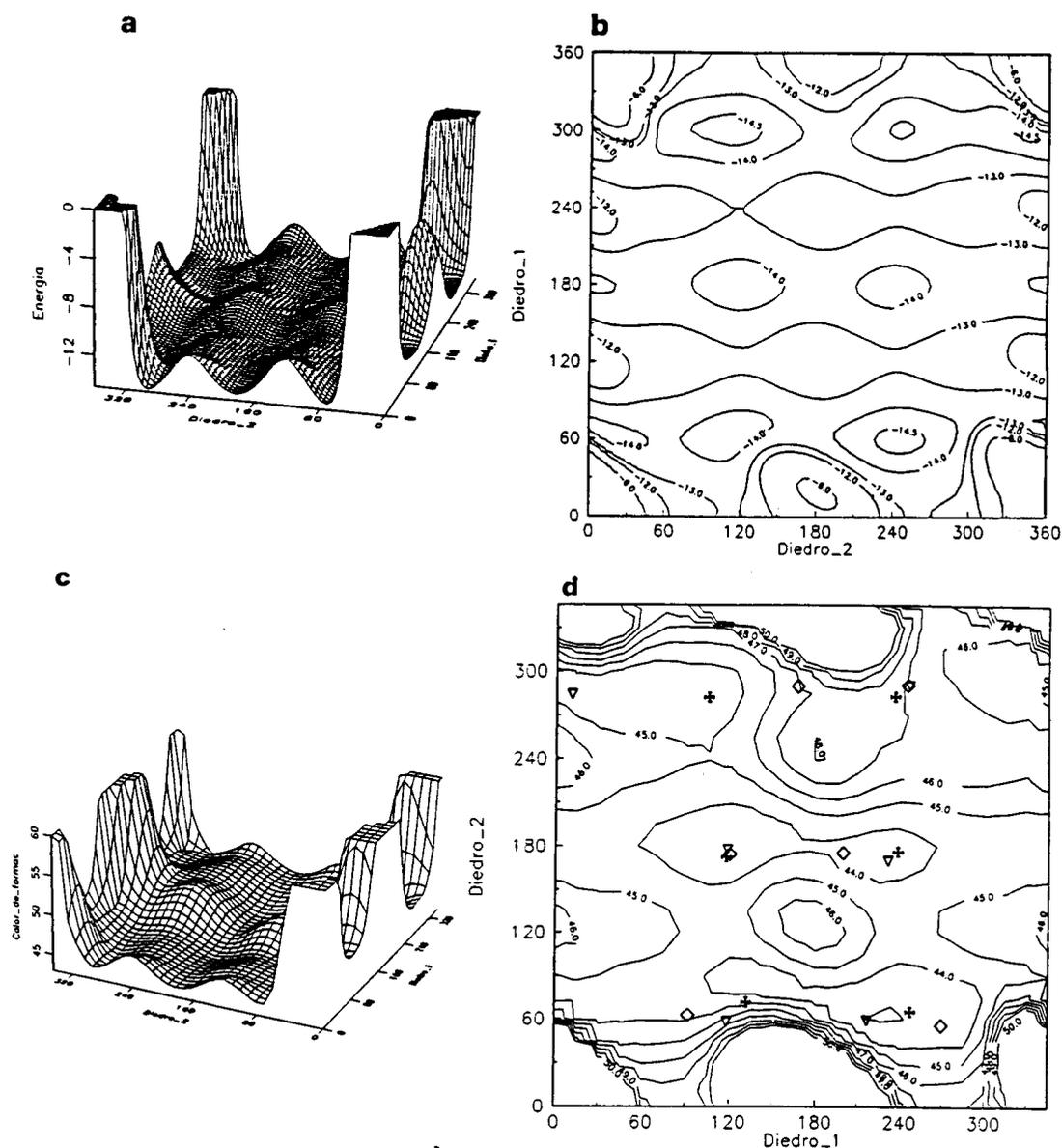
## RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos para la molécula de histamina en su forma neutra empleando los tres tipos de aproximaciones (MM, AM1 y *ab initio*) están resumidos en la Tabla 1.

Mecánica Molecular ( $\diamond$ , fig. 2d)			Met. Semiempírico AM1 ( $\nabla$ , fig. 2d)			Met. <i>ab initio</i> base 3-21G ( $\oplus$ , fig. 2d)		
$\Delta E$ $\frac{Kcal}{Mol}$	Diedro 1	Diedro 2	$\Delta E$ $\frac{Kcal}{Mol}$	Diedro 1	Diedro 2	$\Delta E$ $\frac{Kcal}{Mol}$	Diedro 1	Diedro 2
0,21	89,0	65,0	0,00	115,4	60,2	5,32	129,0	74,3
0,18	117,0	180,0	2,29	115,4	183,2	0,31	114,5	177,9
0,47	164,0	299,0	3,58	7,4	292,8	1,19	101,7	291,1
0,44	268,0	58,0	2,31	214,6	61,3	0,00	245,6	67,6
0,65	197,0	181,0	3,32	229,2	175,5	0,54	236,1	181,9
0,00	243,0	300,0	0,00	244,3	299,7	8,22	234,0	291,8

$\Delta E$ : Rango de energía con respecto al mínimo global

**Tabla 1.** Comparación de mínimos obtenidos por distintos métodos de cálculo para histamina.



**Figura 2.** Mapa de energía conformacional de histamina, con separaciones entre los contornos de 1 Kcal/mol. a) Hipersuperficie a partir de mecánica molecular. b) Mapa 2D a partir de mecánica molecular c) Hipersuperficie a partir de AM1. d) Mapa 2D a partir de AM1. están señalizadas las posiciones de los mínimos de energía, obtenidos a partir de diferentes métodos de calculo utilizados.

Las Figuras 2a y 2b muestran los mapas de energía conformacional obtenidos para histamina a partir de cálculos de MM, mientras que la Figuras 2c y 2d muestran los mismos mapas obtenidos a partir de cálculos AM1. Estos mapas de energía conformacional fueron obtenidos calculando  $\Phi_1$  vs.  $\Phi_2$ , lo que permite obtener un grafico tipo Ramachandran, el cual puede resultar muy útil para "visualizar" el comportamiento conformacional de una molécula cuando sus ordenamientos espaciales son gobernados principalmente por dos rotaciones. Estos gráficos sólo

fueron calculados a nivel semiempírico y MM y no a nivel *ab initio*, debido al prohibitivo tiempo de cálculo requerido para realizar este tipo de estudio.

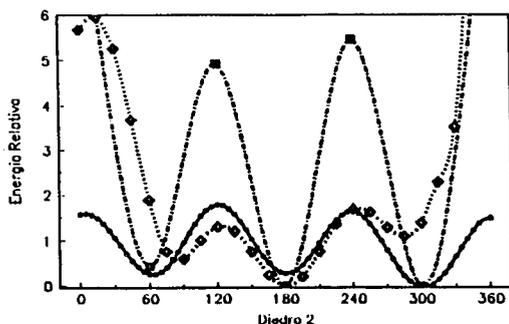
Es importante destacar que a pesar de haber utilizado diferentes métodos de cálculo los resultados son totalmente similares. Ambos mapas presentan prácticamente la misma ubicación para las seis conformaciones preferidas, como así también para la ubicación de los máximos. Como se puede observar, la ubicación de los diferentes conformeros de la molécula -tal como lo predicen los distintos métodos- son muy próximas, indicando que las diferentes técnicas de cálculo son capaces de dar una correcta información sobre el comportamiento conformacional general de la molécula. Hay que notar, sin embargo, que se aprecian diferencias entre los "gaps" de energía de los conformeros según la técnica de cálculo utilizada. Esto es más fácil de apreciar observando las curvas monodimensionales graficadas en la Figura 3. Según estos resultados los cálculos de AM1 aparentemente subestiman la barrera rotacional indicando una mayor flexibilidad molecular, mientras que los cálculos *ab initio*, por el contrario, parecerían sobreestimar dicha barrera prediciendo una menor flexibilidad para estas moléculas.

La Figura 4 muestra los mapas de energías conformacionales obtenidos para  $\alpha(R),\beta(S)$ -dimetilhistamina a partir de cálculos de MM y AM1. Los resultados obtenidos a partir de los diferentes métodos de cálculo son muy similares, aunque también en este caso se mantiene la tendencia en los "gaps" de energía observada en histamina.

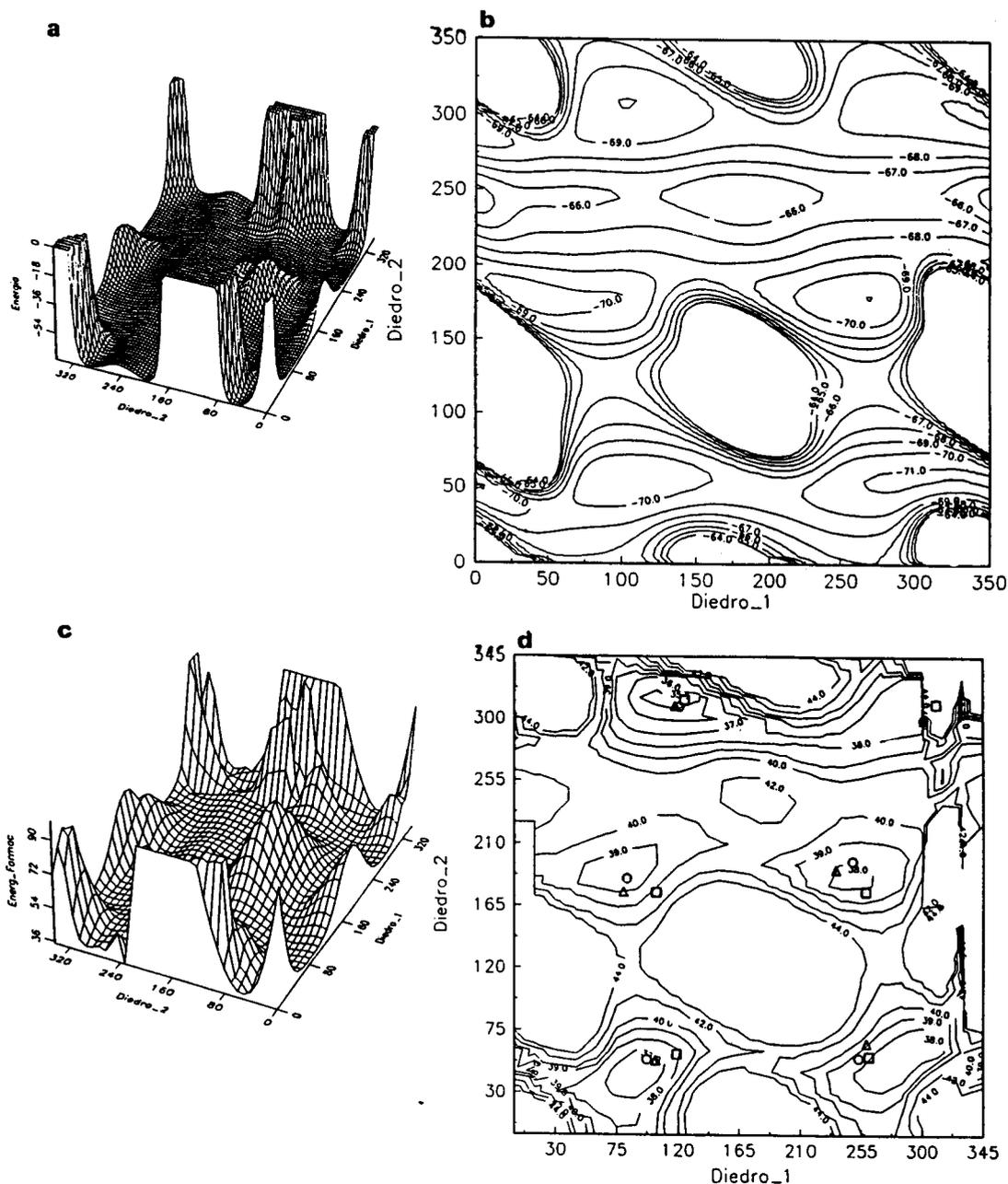
Debería notarse el mayor impedimento estérico que produce el grupo metilo en posición  $\alpha$  con el anillo imidazol. Esto es fácil de apreciar comparando las Figuras 2 y 4. En la Figura 4d, para una mejor observación de los resultados, se han marcado las posiciones obtenidas a partir de los cálculos de MM, AM1 y *ab initio*. En la Tabla 2 se han resumido los resultados obtenidos para dimetilhistamina a partir de los distintos métodos de cálculo.

La Figura 5 muestra los mapas de energía conformacional obtenido para la molécula de anfetamina en base a cálculos de MM y AM1.

Algunas veces se cuestiona la importancia que tiene, desde el punto de vista de la química medicinal, el estudio conformacional de una molécula aislada en fase gaseosa. Sin embargo no debe perderse de vista que una gran cantidad de moléculas de agua son removidas del sitio activo ya sea de una enzima o de un receptor cuando entra su respectivo sustrato ligando. De este modo son muy pocas las moléculas de agua que permanecen en el sitio de unión <sup>12</sup>, haciendo que el entorno se vuelva similar al de la fase gaseosa <sup>13</sup>. Estas presunciones indican que la forma más correcta y completa de efectuar un estudio conformacional es realizarlo en el vacío y en solución, dándole más importancia a aquella situación que

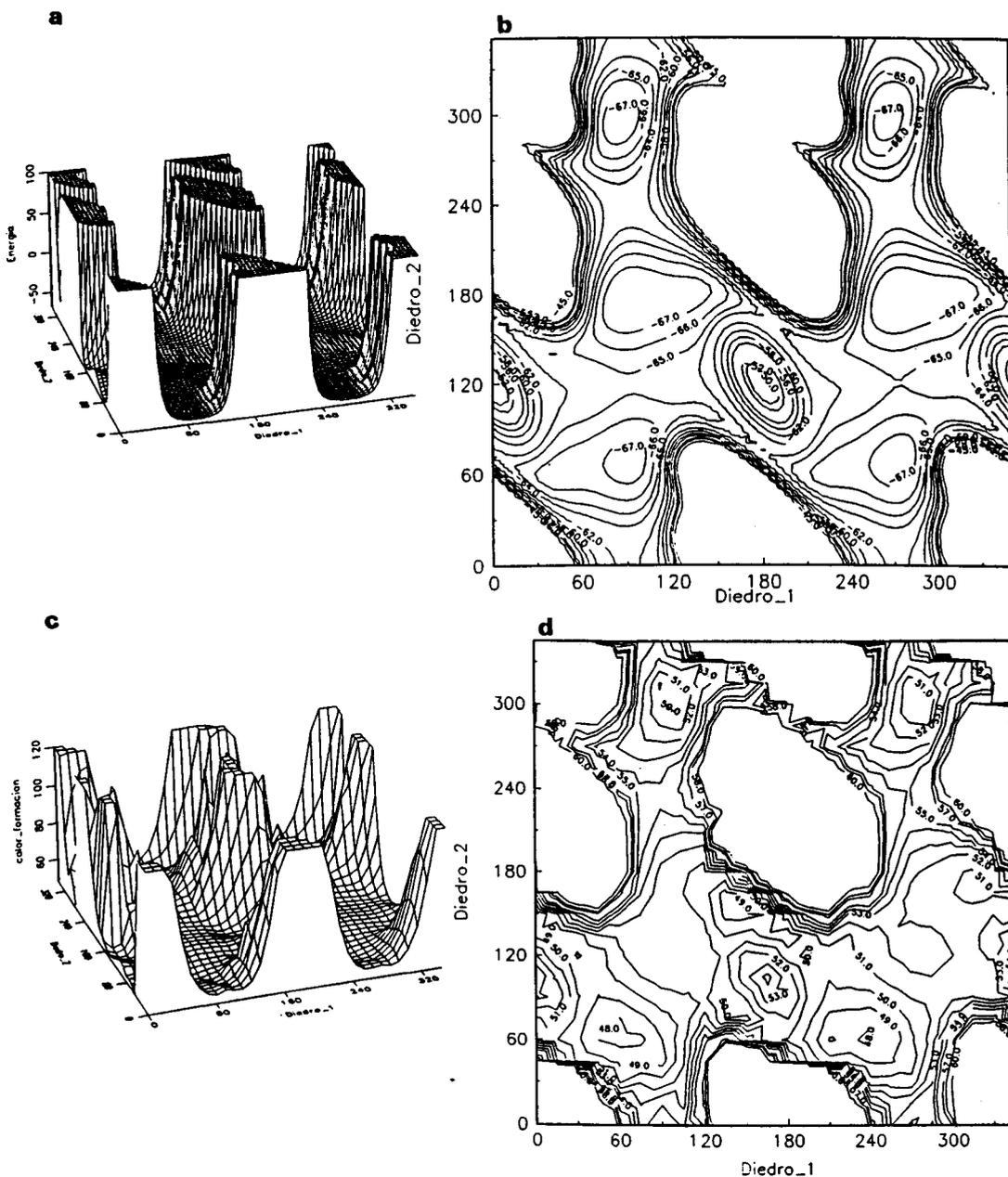


**Figura 3.** Energías relativas de histamina a partir de cálculos de MM(•), AM1 (◊) y *ab initio* (◻), mostrando la influencia de la rotación del grupo amino.



**Figura 4.** Mapa de energía conformacional de  $\alpha(S),\beta(R)$  dimetilhistamina, con separaciones entre los contornos de 1 Kcal/mol. a) Hipersuperficie a partir de mecánica molecular. b) Mapa 2D a partir de mecánica molecular. c) Hipersuperficie a partir de AM1. d) mapa 2D a partir de AM1. están señalizadas las posiciones de los mínimos de energía, obtenidos a partir de diferentes métodos de cálculo utilizados.

se aproxime más al problema de nuestro interés. De todos modos, la situación ideal de simular el entorno del receptor evaluando el efecto solvente y la influencia de los iones presentes a un nivel de cálculo *ab initio* con una base extendida resulta aún hoy en día un estudio muy caro y complejo que muchas veces no se justifica.



**Figura 5.** Mapa de energía conformacional de anfetamina, con separaciones entre los contornos de 1 Kcal/mol. a) Hipersuperficie a partir de mecánica molecular. b) Mapa 2D a partir de mecánica molecular c) Hipersuperficie a partir de AM1. d) Mapa 2D a partir de AM1. Están señalizadas las posiciones de los mínimos de energía, obtenidos a partir de diferentes métodos de cálculo utilizados.

Teniendo en cuenta estos conceptos, resulta evidente que una información de particular interés es conocer cómo se modifica el comportamiento conformacional de una molécula por el efecto del solvente. Así nosotros extendimos nuestro estudio analizando el comportamiento conformacional de histamina en condi-

Mecánica Molecular (□, fig. 4d)			Met. Semiempírico AM1 (○, fig. 4d)			Met. <i>ab initio</i> base 3-21G (Δ, fig. 4d)		
$\Delta E$ $\frac{Kcal}{Mol}$	Diedro 1	Diedro 2	$\Delta E$ $\frac{Kcal}{Mol}$	Diedro 1	Diedro 2	$\Delta E$ $\frac{Kcal}{Mol}$	Diedro 1	Diedro 2
0,98	99,0	169,7	2,03	76,4	180,1	3,63	73,7	170,1
0,18	114,2	47,7	1,38	91,6	43,7	1,00	98,2	43,0
0,88	120,2	314,7	0,00	116,2	309,6	0,00	113,1	310,1
0,93	260,2	170,7	1,82	249,7	193,7	1,66	237,0	187,3
0,00	263,0	46,0	2,86	254,8	44,7	2,59	261,0	55,9
1,30	315,2	311,7	1,58	305,0	299,5	2,53	326,0	295,1

$\Delta E$ : Rango de energía con respecto al mínimo global

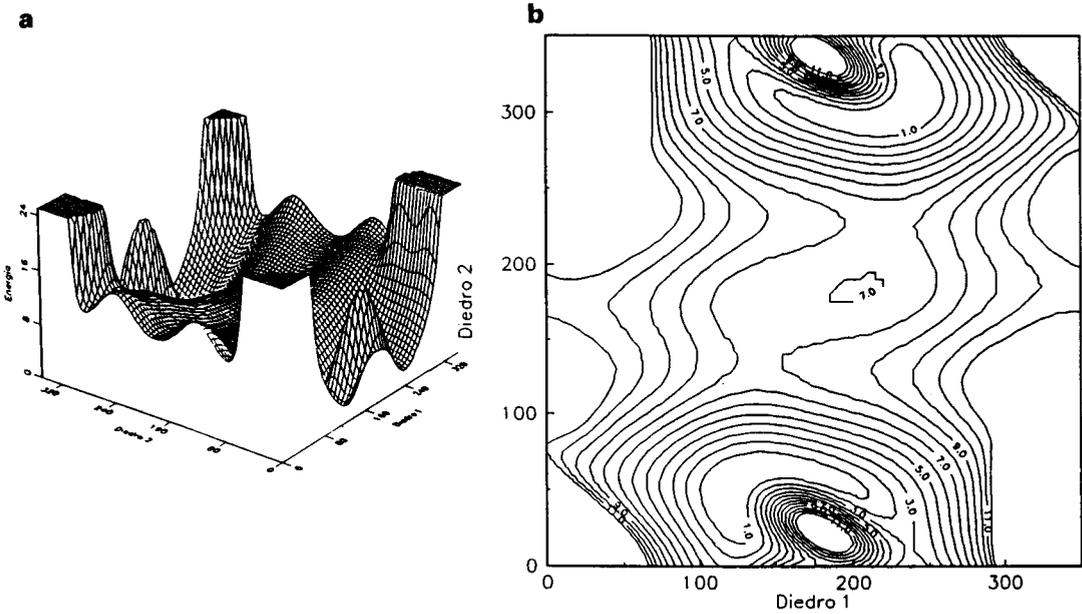
**Tabla 2.** Comparación de mínimos por distintos métodos para dimetilhistamina.

ciones fisiológicas, en donde resultados experimentales <sup>14</sup> han demostrado que prevalece la forma protonada (monocatión) y en particular la especie tautomérica N3 H. En función de estos resultados nuestro estudio se realizó sobre esta especie de la molécula de histamina.

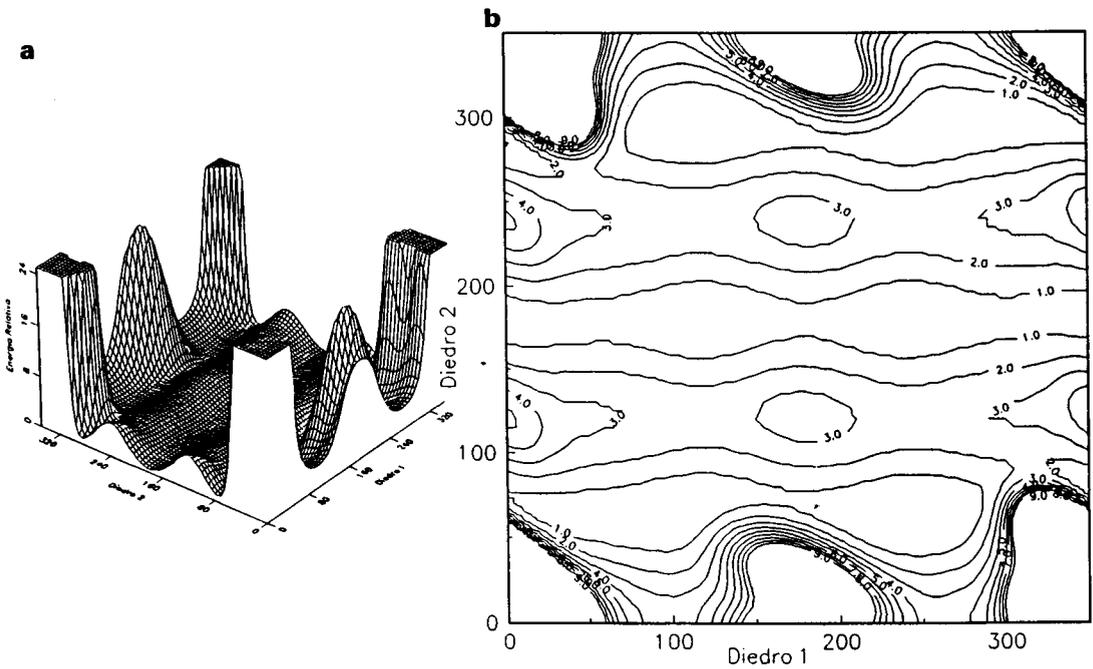
Las Figuras 6 y 7 muestran los mapas de energía conformacional obtenidos para el monocatión N3 H de histamina en el vacío y en solución acuosa, respectivamente. Tal como puede observarse en estas figuras en fase gaseosa hay una marcada preferencia por las formas plegadas de la molécula, mientras que en medio acuoso, en cambio, las formas extendidas tienen un significativo porcentaje en el equilibrio poblacional. Este cambio conformacional puede ser atribuido a la mayor cantidad de sitios polares disponibles en solución acuosa.

Nuestros resultados, obtenidos con un método de cálculo muy simple y económico, están completamente de acuerdo con datos experimentales de RMN <sup>14</sup> y con cálculos *ab initio* realizados a un alto grado de sofisticación <sup>15,16</sup>.

Observando los cálculos aquí presentados, es notoria la concordancia que presentan los resultados de MM con los de AM1 y *ab initio*. Esto confirma resultados reportados previamente <sup>8,9</sup> y resulta muy interesante, sobre todo teniendo en cuenta el diferente costo, en lo referido a tiempo de cálculo requeridos para las distintas metodologías. Los mapas AM1 fueron calculados en un equipo VAX 3100 con un tiempo de cálculo de 17 a 21Hs., mientras que los cálculos de MM se realizaron en una PC 486 en un tiempo inferior a los 10 min. En lo que respecta a los



**Figura 6.** Mapa de energía conformacional de histamina protonada al vacío, con separaciones entre los contornos de 1 Kcal/mol. a) Hipersuperficie a partir de mecánica molecular. b) Mapa 2D a partir de mecánica molecular.



**Figura 7.** Mapa de energía conformacional de histamina en solución acuosa, con separaciones entre los contornos de 1 Kcal/mol. a) Hipersuperficie a partir de mecánica molecular. b) Mapa 2D a partir de mecánica molecular.

cálculos puntuales de cada conformación; los cálculos *ab initio* requieren un promedio de 20Hs. en un equipo IBM-Risc 6000, los cálculos AM1 demoran aproximadamente 5 min, mientras que los cálculos de MM pueden considerarse insignificantes.

Algunas de las ventajas que presentan los cálculos de MM son las siguientes:

Son extraordinariamente económicos en lo que a tiempo de cálculos se refiere.

Los cálculos pueden realizarse en equipos simples y económicos como una PC 486 de fácil acceso en cualquier laboratorio.

La economía en el cálculo permite la obtención de una mayor cantidad de puntos para definir la superficie de energía conformacional, permitiendo a ésta una mayor resolución.

La simpleza del método hace que sea muy sencilla la incorporación de datos como así también la obtención e interpretación de los resultados, facilitando de este modo la tarea para aquellas personas no familiarizadas con los cálculos teóricos. Este punto es importante, ya que se puede evitar la utilización de programas sofisticados como si fuesen verdaderas "cajas negras".

Por otro lado, este método de MM tiene la ventaja adicional de tener en cuenta el efecto solvente en sus cálculos.

Es importante aclarar que este método de cálculo de naturaleza empírica es extraordinariamente simple y está basado en una cruda aproximación del problema, por lo tanto es imposible pensar que el mismo pueda reemplazar las técnicas cuánticas, que nos brindan mayor información y en algunos casos con mayor exactitud. Sin embargo, en aquellos casos en que los términos electrostáticos y de polarización son de importancia secundaria, o en los cuales los tamaños moleculares son muy grandes, cálculos de MM simples como los aquí presentados pueden volverse el método de elección para obtener información del comportamiento conformacional general de una molécula en forma sencilla y a muy bajo costo. Por el contrario, si se necesitan datos precisos sobre barreras rotacionales o información física exacta del problema, se hace estrictamente necesaria la utilización de métodos de cálculos mas exactos (preferentemente *ab initio* y con base grande) tal como queda evidenciado con los resultados mostrados en el presente trabajo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Dewar, M.S., E.G. Zoebisch, E.F. Healy & J.P. Stewart (1985) *J. Am. Chem. Soc.* **107**: 3902-9
2. Stewart, J.P. (1990) "*MOPAC 6.0 manual: A Semiempirical Molecular Orbital Program*", 6th. ed.; Frank J. Seiler Reseach Laboratory, United State Air Force Academy: Boulder, Co.
3. Peterson, M.R. & R.A. Porier (1981) "*MONSTERGAUSS Program*", University of Toronto, Ontario
4. Jauregui, E.A., M.R. Estrada, L.S. Mayorga & G.M. Ciuffo (1997) *J. Mol. Struct.* **54**: 257-69
5. Enriz, R.D. & E.A. Jauregui (1991) *An. Asoc. Quím. Argent.* **79**: 41-52

6. Giordano, O.S., M.J. Pestchanker, E. Guerreiro, J.R. Saad, R.D. Enriz, A.M. Rodríguez, E.A. Jauregui, J. Guzmán, A.O. Maria & G.H. Wendel (1992) *J. Med. Chem.* **35**: 2452-8
7. Enriz, R.D., M.R. Estrada, E.A. Jauregui, C.A. Ponce & F. Tomas Vert (1993) *J. Mol. Struct. (THEOCHEM)*, **280**: 5-15
8. Enriz, R.D., A.M. Rodríguez, E.A. Jauregui, M.J. Pestchanker, O.S. Giordano & J. Guzman (1994) *Drug. Des. Discovery* **11**: 23-38
9. Enriz, R.D. & E.A. Jauregui (1990) *An. Asoc. Quím. Argent.* **78**: 135-46
10. Enriz, R.D. & E.A. Jauregui (1991) *Acta Cient. Venez.* **42**: 70-6
11. Enriz, R.D., H.A. Baldoni, E.A. Jauregui, M.E. Sosa, C.E. Tonn & O.S. Giordano (1994) *J. Agric. Food Chem.* **42**: 2958-63
12. Wolfenden, R. (1983) *Science* **222**: 1087-93
13. Richards, W.G. (1983) "Quantum Pharmacology" 2nd. ed., Butterworths, London
14. Nagy, P.J. (1994) *Am. Chem. Soc.* **116**: 4898-909
15. Ganellin, C.R. & E. Pepper (1973) *J. Med. Chem.* **16**: 610
16. Ganellin, C.R. (1973) *J. Pharm. Pharmacol.* **25**: 787