

## 4ta. sesión computacional

Estudio computacional de acoplamiento molecular entre L-735,524 y la proteasa del VIH-1 usando Chem3D, PyRx y herramientas de visualización.

Dr. Yoarhy Amador



### Introducción

El diseño racional de fármacos se ha visto fortalecido por el uso de herramientas computacionales que permiten predecir, visualizar y analizar las interacciones entre pequeñas moléculas y blancos terapéuticos. Una de las técnicas más utilizadas con este fin es el acoplamiento molecular (*molecular docking*), que estima la orientación y afinidad de unión de un ligando hacia una proteína receptora. En esta práctica se analizará la interacción entre **L-735,524**, un inhibidor oralmente biodisponible desarrollado contra la proteasa del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1), y su blanco proteico, cuya estructura tridimensional se encuentra disponible en el Protein Data Bank bajo el código **1HSG**. La proteasa del VIH-1 es una enzima esencial para la maduración viral, y su inhibición representa una estrategia clave en el tratamiento del SIDA.

## Objetivos

1. Comprender los principios básicos del acoplamiento molecular (docking).
2. Utilizar Chem3D o Discovery Studio para optimizar la geometría del ligando.
3. Ejecutar un análisis de afinidad de unión entre una proteína y un ligando usando AutoDock Vina en PyRx.
4. Visualizar las posibles interacciones entre el ligando y el receptor.

## Materiales y software necesarios

Recurso	Descripción
Discovery Studio	Optimización de la estructura del ligando
Chem3D	Optimización de la estructura del ligando
PyRx (0.9.8+)	Docking molecular con AutoDock Vina
PDB ID: 1HSG	Estructura de la proteína
L-735524	Ligando (puede descargarse o dibujarse)
Chimera	Visualización avanzada de resultados

## 4. Procedimiento

### A. Preparación del ligando por Chem 3D

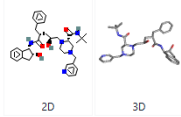
1. Abre ChemDraw y dibuja la estructura de L-735,524 (Indinavir), (puedes encontrar la fórmula en PubChem: CID 5362440), o bien descarga directo de PubChem (Utiliza el archivo 2D en extensión SDF).

PubChem About Docs Submit Contact Search PubChem

---

COMPOUND SUMMARY

# Indinavir

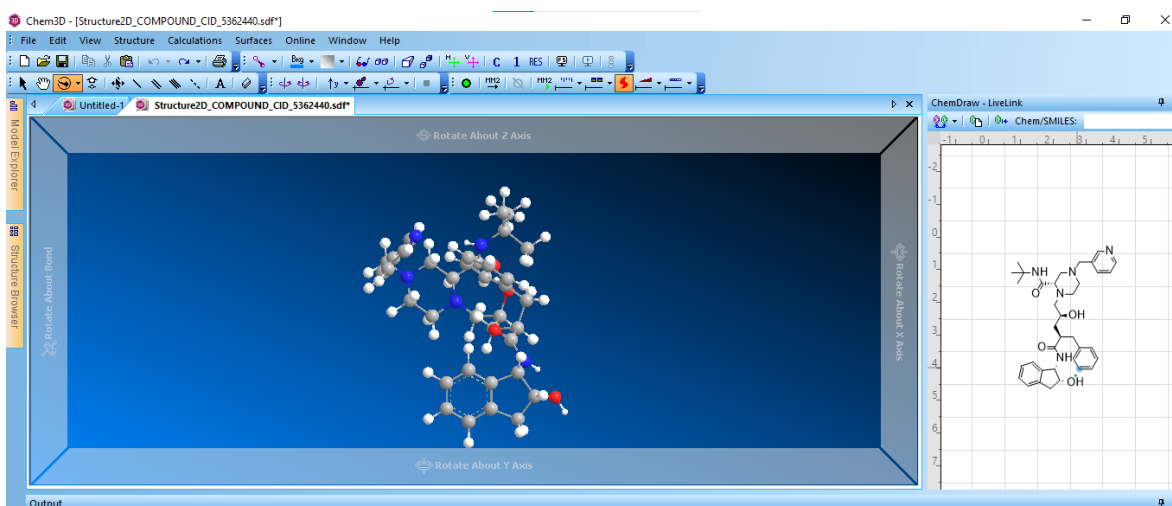
PubChem CID	5362440
Structure	 2D 3D
Molecular Formula	<chem>C36H47N5O4</chem>
Synonyms	indinavir 150378-17-9 Compound J MK-639 MK639

[Cite](#) [Download](#)

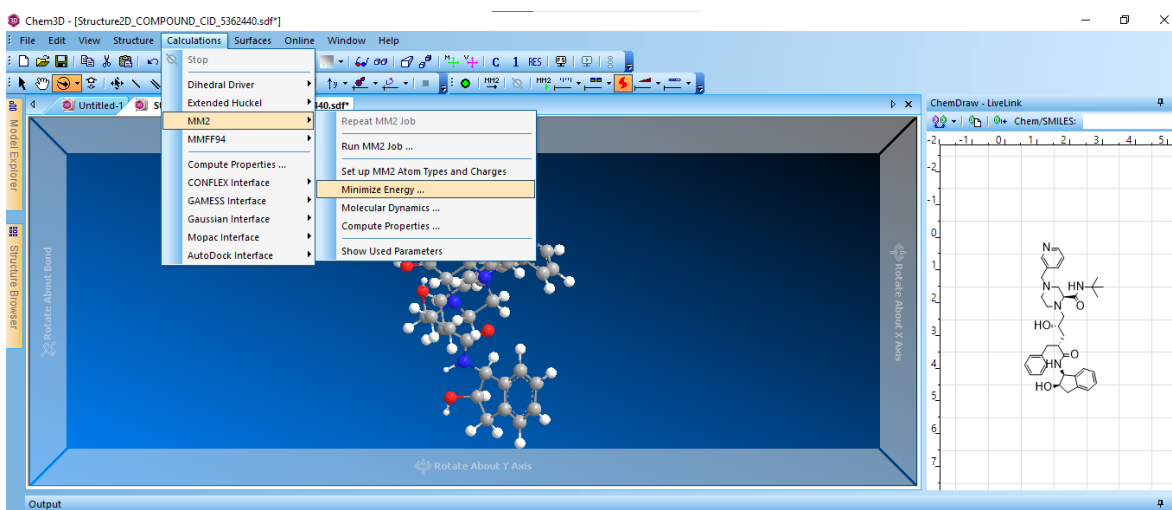
CONTENTS

- Title and Summary
- 1 Structures
- 2 Names and Identifiers
- 3 Chemical and Physical Properties
- 4 Spectral Information
- 5 Related Records
- 6 Chemical Vendors
- 7 Drug and Medication Information
- 8 Pharmacology and Biochemistry
- 9 Use and Manufacturing
- 10 Toxicity
- 11 Associated Disorders and Diseases
- 12 Literature
- 13 Patents

## 2. Copia y pega el dibujo en Chem3D.



3. Ve a Calculate > MM2> Energy Minimize para optimizar la estructura. Después seleccionamos por default Run y el Software empieza a realizar los cálculos para minimizar la estructura del ligante.



4. Guarda como archivo en formato Protein Data Bank (.pdb)

## B) Preparación del ligante por Discovery Studio

Para obtener tu ligante optimizado por este método, es necesario que utilices UCSF Chimera.

1. Abre Chimera y en Fetch by ID Escribe el código en PDB = **1HSG**

El software abrirá lo siguiente:

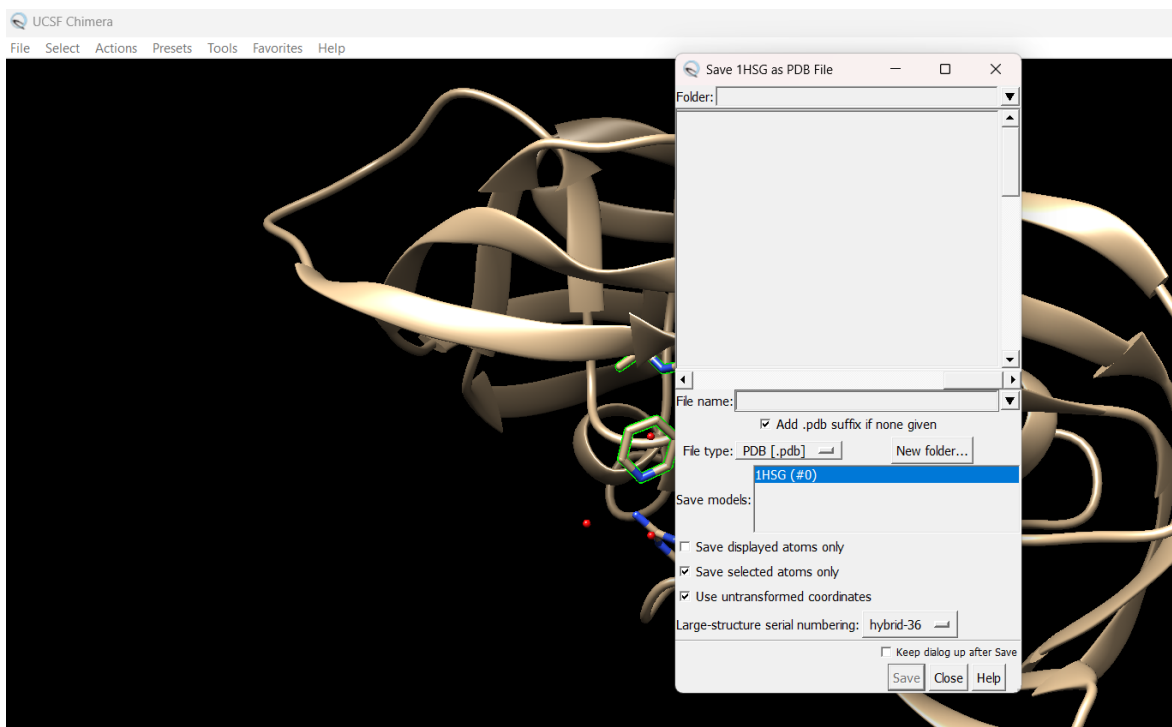


2. Posteriormente, Selecciona **Select > Residue > MK1**. Chimera únicamente mostrará seleccionado el ligante.

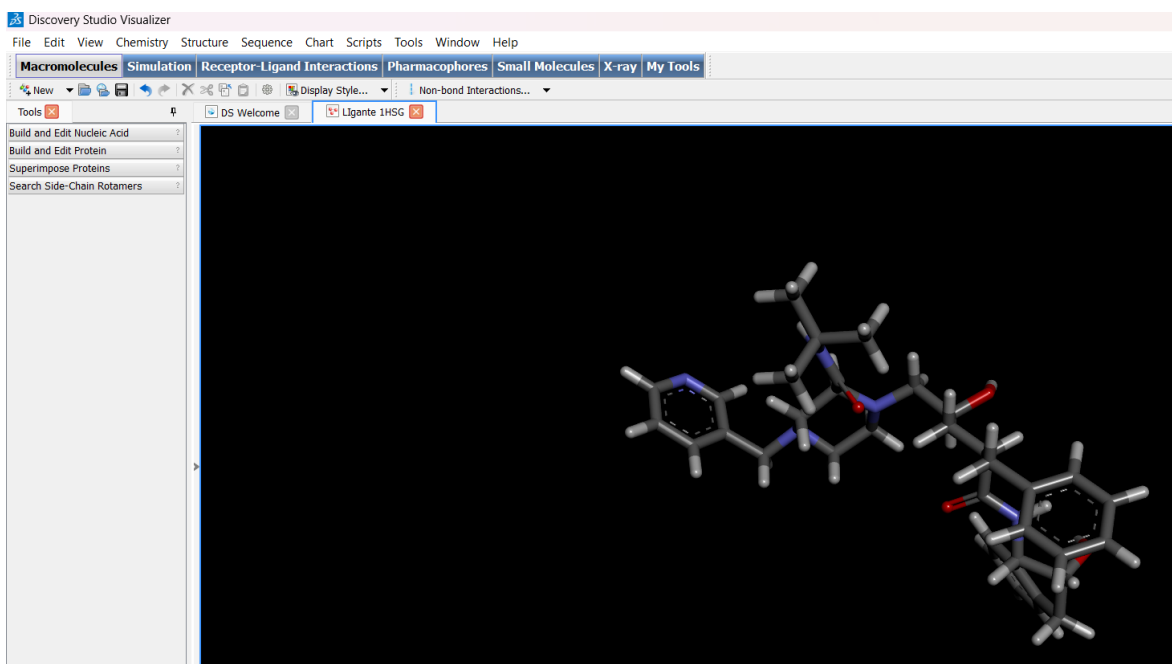


Por último, dirígete a **File > Save PDB** y aparecerá lo siguiente:

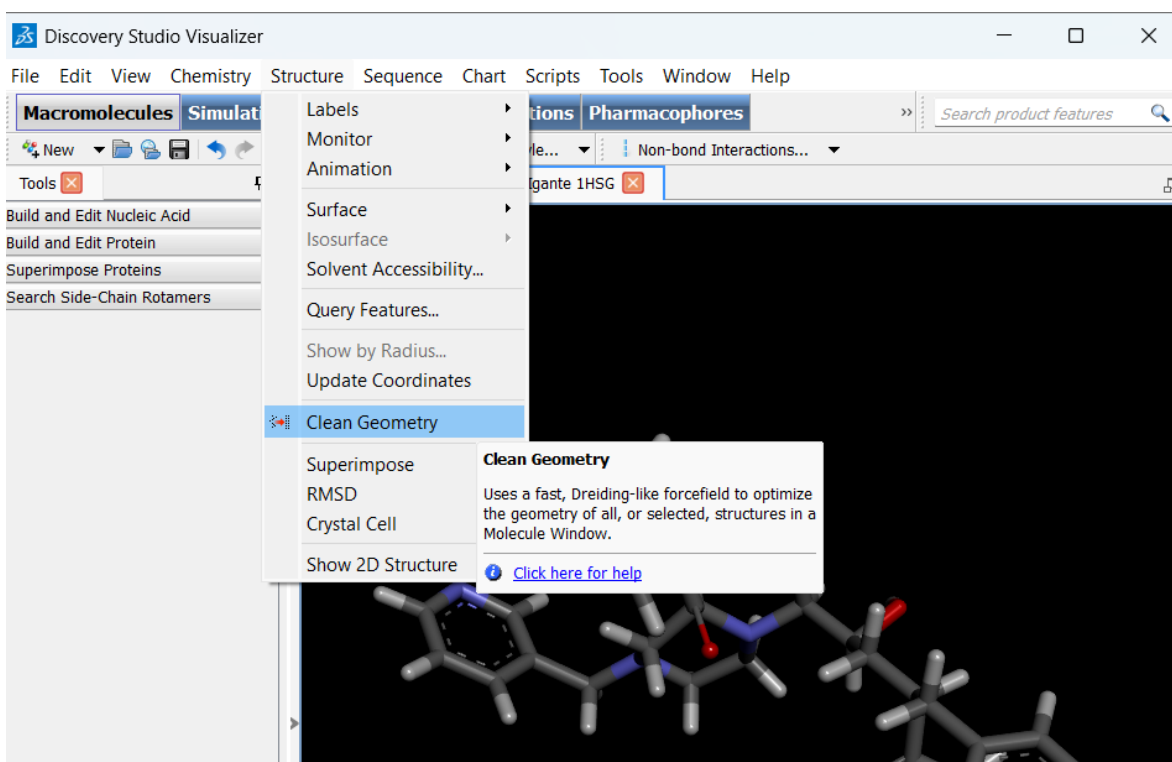
Asegúrate de marcar la opción **Save selected atoms only**. Posteriormente seleccionamos una carpeta para guardar, y seleccionar **Save** para tener únicamente tu ligante en formato PDB.



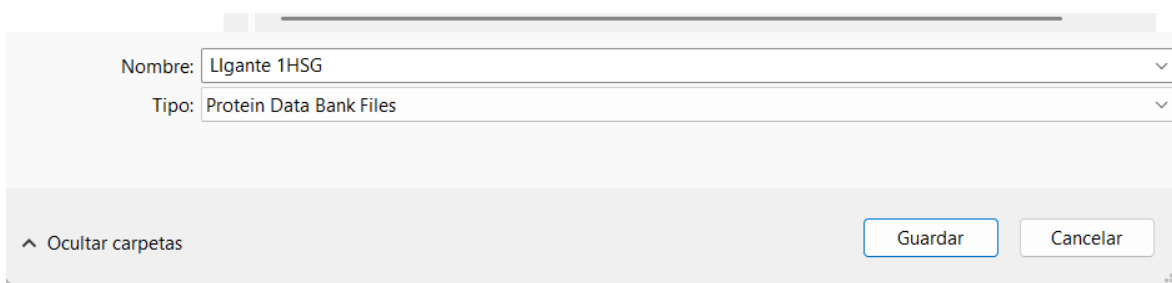
3. Abre Discovery Studio y carga tu ligante.
4. Es importante añadir los átomos de hidrógeno en un ligante debido a que son responsables de las interacciones por puente de hidrógeno en el complejo ligante-receptor. Dirígete a Chemistry > Hydrogens > Add. Observarás que el ligante ya cuenta con los hidrógenos en cada átomo.



5. Ahora optimiza la geometría, este paso es importante para definir de manera adecuada la conformación del ligante. Dirígete a Structure > Clean Geometry. Notarás que la geometría del ligante cambió a una conformación más estable.

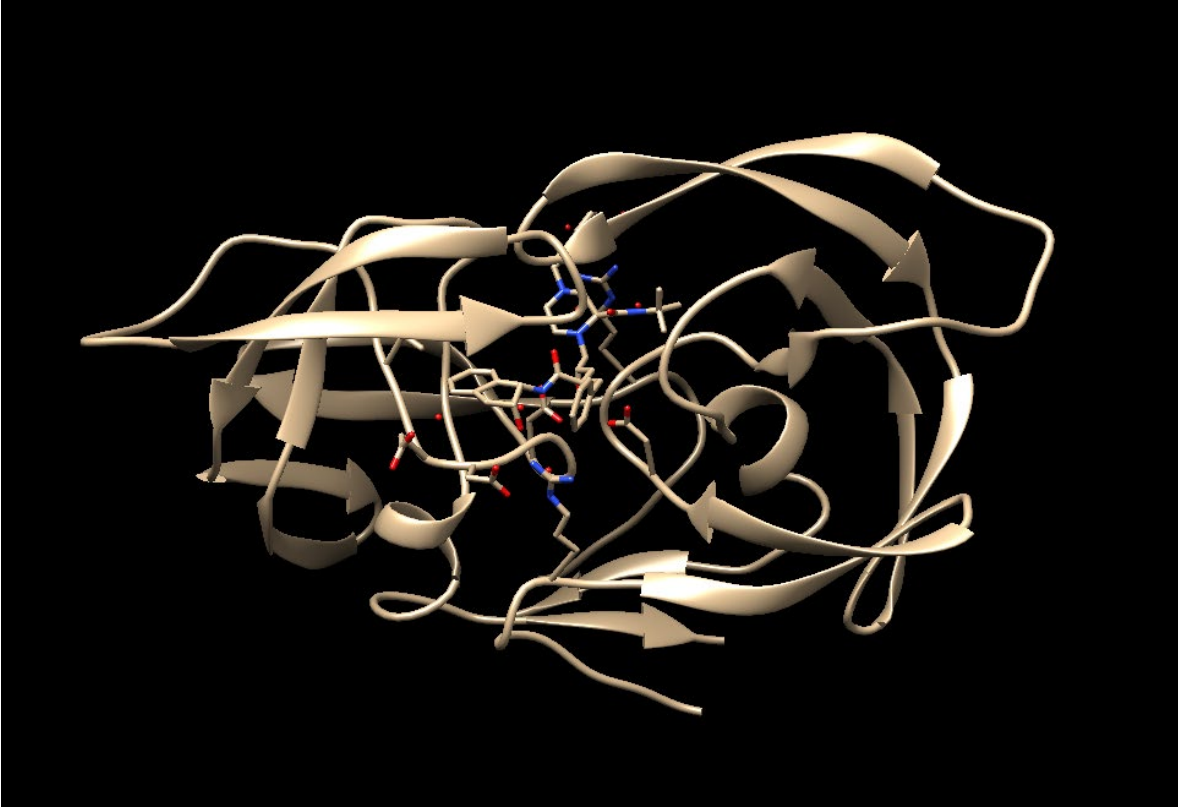


6. Dirígete a File > Save as> elegir formato .pdb y tendremos el ligante optimizado

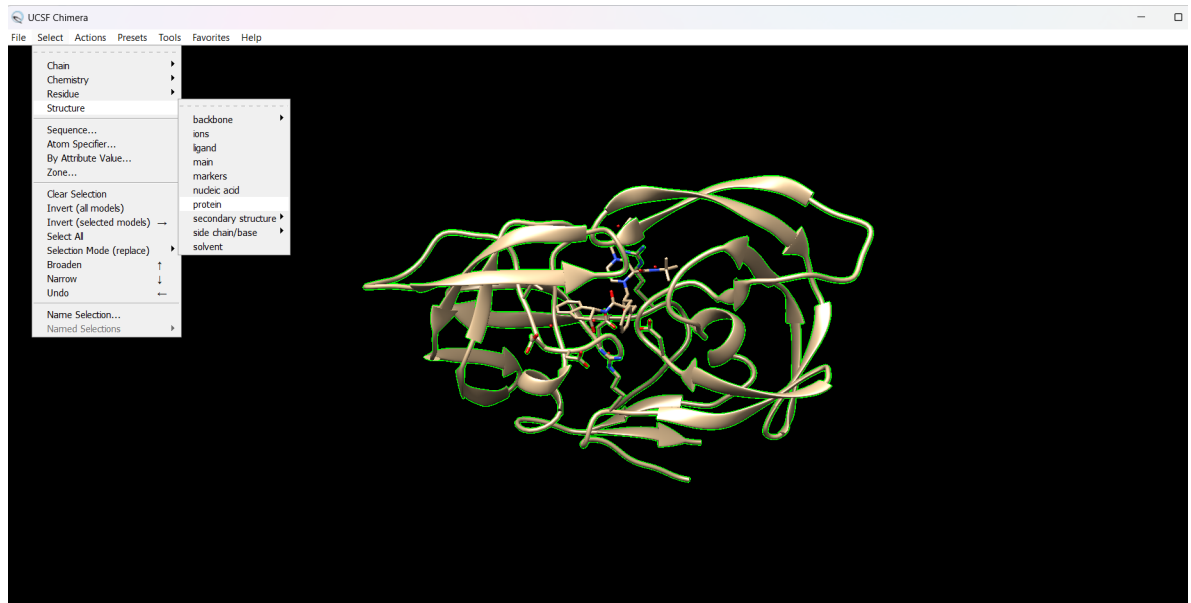


### C) Preparando la proteína por UCSF Chimera

1. Abre la proteína utilizando el código **1HSG** en Fetch by ID o bien descarga el PDB y posteriormente cárgalo en UCSF Chimera:



2. Para guardar la proteína sin el ligante o diferentes cofactores, es necesario que selecciones **Select > Structure > Protein**. Chimera seleccionará únicamente la cadena protéica.



### 3. Ve a **File** → **Save PDB**.

1. Marca la opción "**Save displayed atoms only**" (esto asegura que solo guardes lo que se ve, ya sin agua).
2. Guarda el archivo

## D. Docking molecular en PyRx

PyRx es una herramienta computacional ampliamente utilizada en el campo del diseño y descubrimiento de fármacos debido a su facilidad de uso, interfaz gráfica intuitiva y capacidad para integrar múltiples funciones en un solo entorno. Entre sus principales ventajas se destacan:

- **Interfaz amigable:** Permite realizar estudios de docking molecular sin necesidad de programar, lo cual la hace accesible para usuarios con poca experiencia en bioinformática.
- **Integración de AutoDock y AutoDock Vina:** PyRx facilita la selección del motor de docking adecuado según los requerimientos del estudio, combinando precisión y velocidad.
- **Visualización integrada:** Ofrece herramientas para visualizar las moléculas, preparar ligandos y proteínas, y analizar los resultados de manera sencilla.
- **Optimización del tiempo:** Su entorno automatizado permite realizar cribados virtuales (virtual screening) de múltiples compuestos de forma

eficiente.

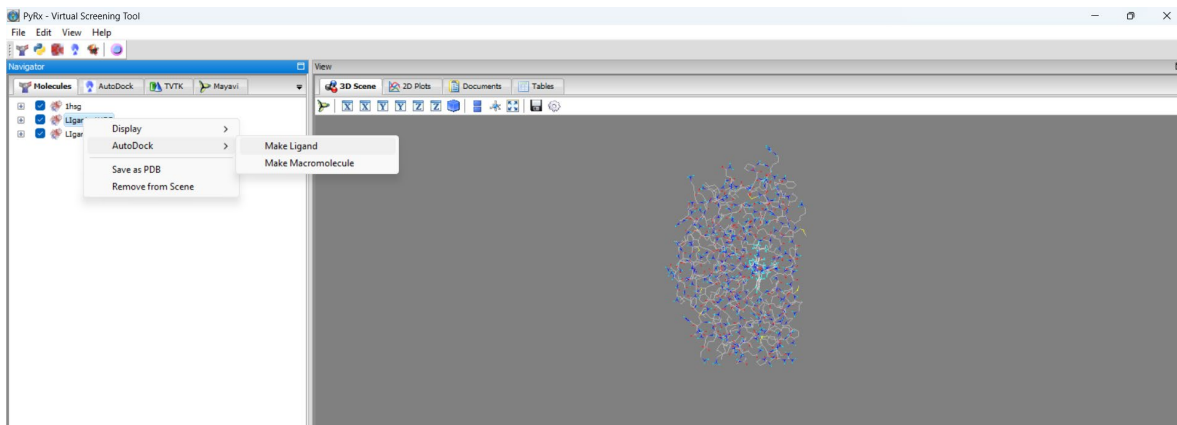
- **Compatible con múltiples formatos:** Puede importar estructuras en varios formatos como SDF, PDB, MOL2 y convertirlas automáticamente a los requeridos para el docking.

Gracias a estas ventajas, PyRx se ha convertido en una herramienta útil tanto para investigación como para la enseñanza, facilitando la comprensión de los principios del acoplamiento molecular.

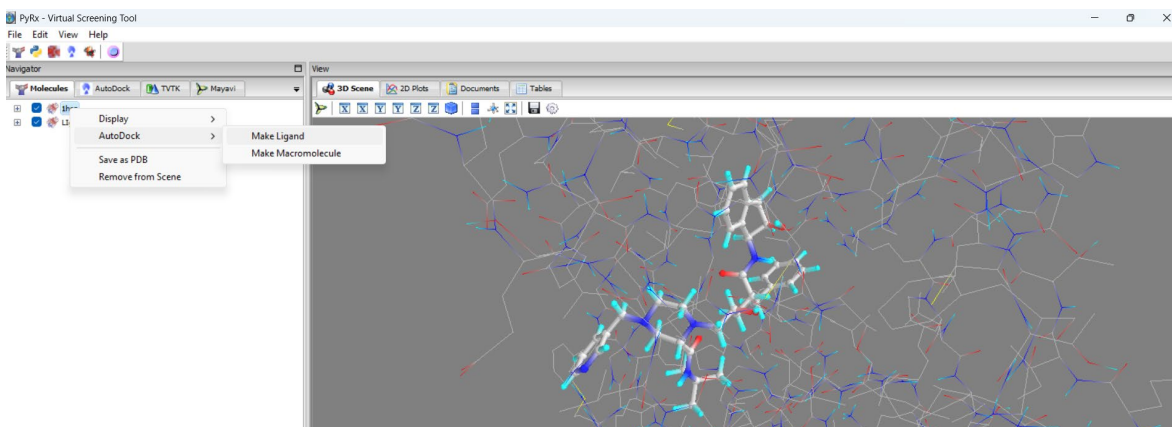
### 1. Importación tanto de la proteína como del ligante:

1. Para añadir la proteína, ve a File > Load Molecule y carga el archivo con extensión .pdb correspondiente. Una vez cargada, haz clic derecho sobre la proteína y selecciona AutoDock > Make Macromolecule.

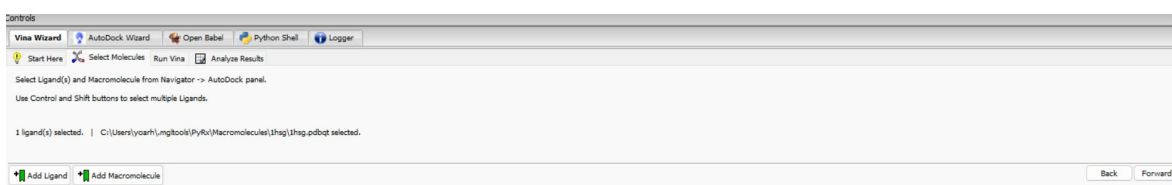
Una de las principales ventajas de usar PyRx con AutoDock es que, al seleccionar esta opción, el software realiza automáticamente varios pasos clave de preparación: **elimina las moléculas de agua, añade los hidrógenos necesarios, quita los hidrógenos polares, asigna cargas y convierte el archivo al formato .pdbqt**, requerido para el proceso de acoplamiento molecular. Esto simplifica y agiliza el análisis, haciendo más eficiente el estudio computacional.



2. Para preparar el ligando, primero cárgalo en el programa mediante File > Load Molecule. Una vez cargado, haz clic derecho sobre el ligando y selecciona AutoDock > Make Ligand. Esto lo preparará automáticamente para el estudio de docking.

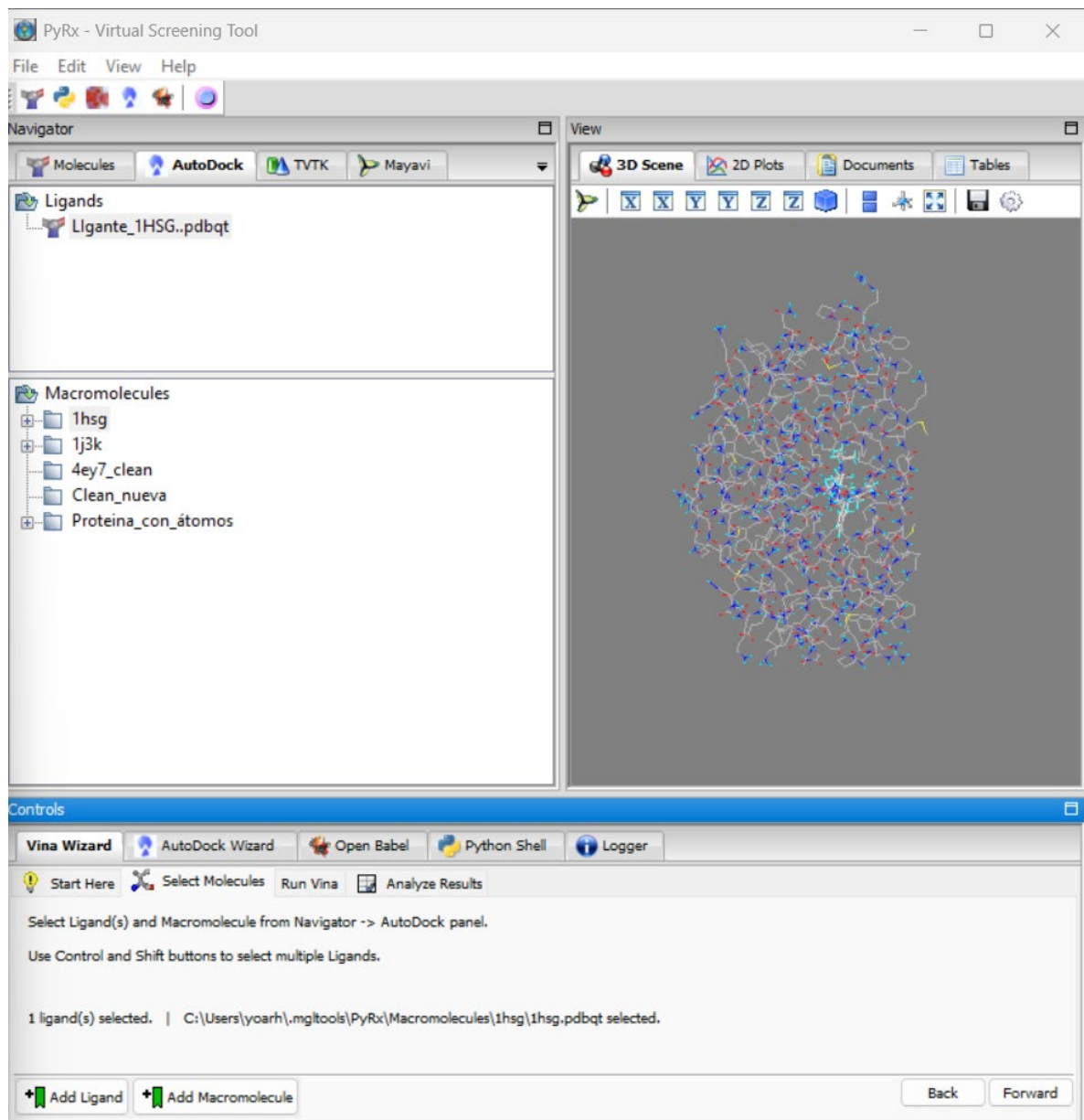


Otra opción es utilizar el botón Add Ligand, ubicado en la parte inferior del software. En ambos casos, PyRx convertirá automáticamente el archivo al formato .pdbqt, necesario para AutoDock Vina, y lo moverá a la pestaña AutoDock Ligands, donde quedará listo para su análisis.



## 2. Realizar el docking.

Dirígete a la pestaña **Vina Wizard**, selecciona el ligando y la proteína de la lista y haz clic en **Forward** para iniciar el proceso de acoplamiento molecular.



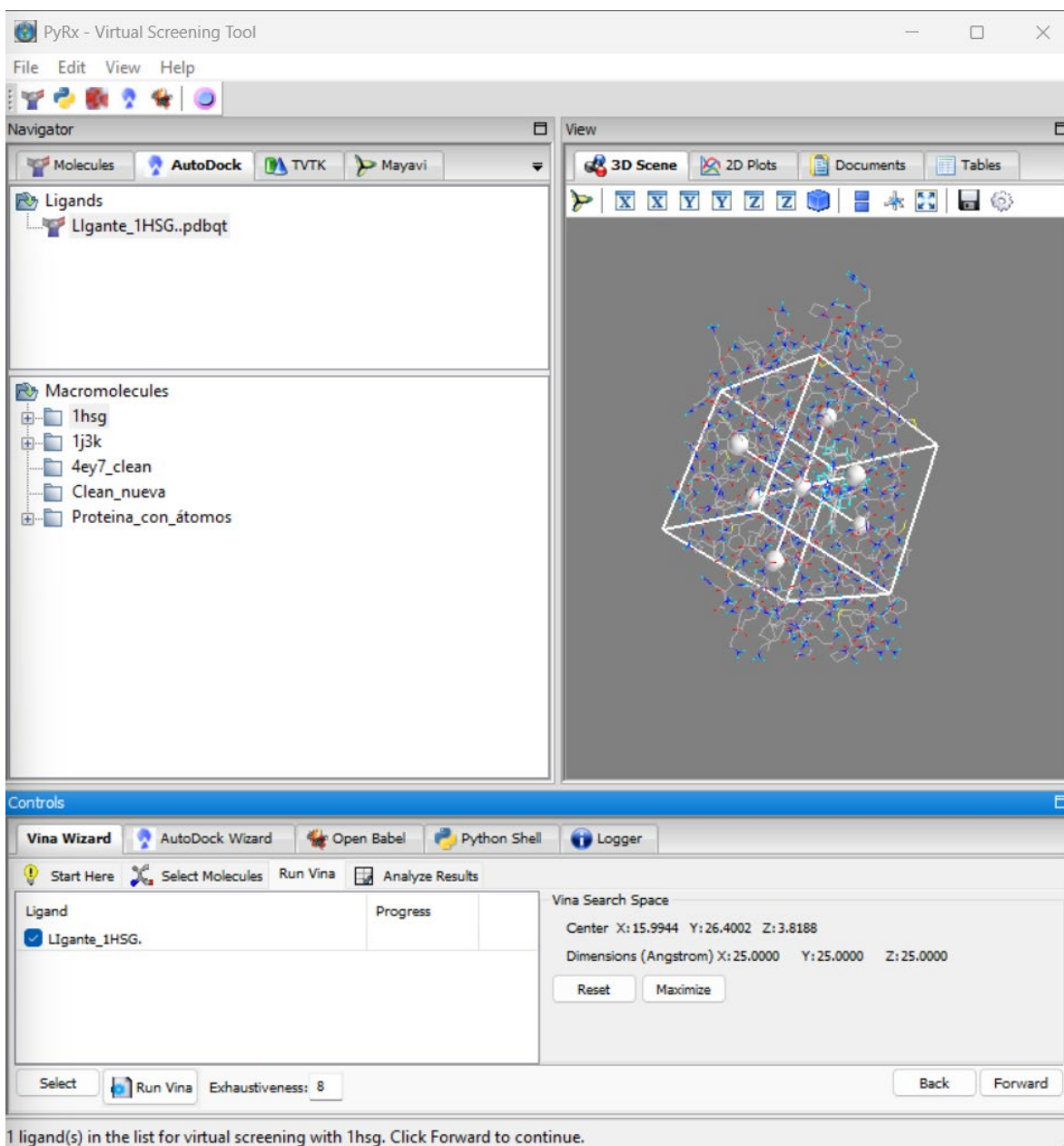
### 3. Definir la caja de búsqueda (Grid Box):

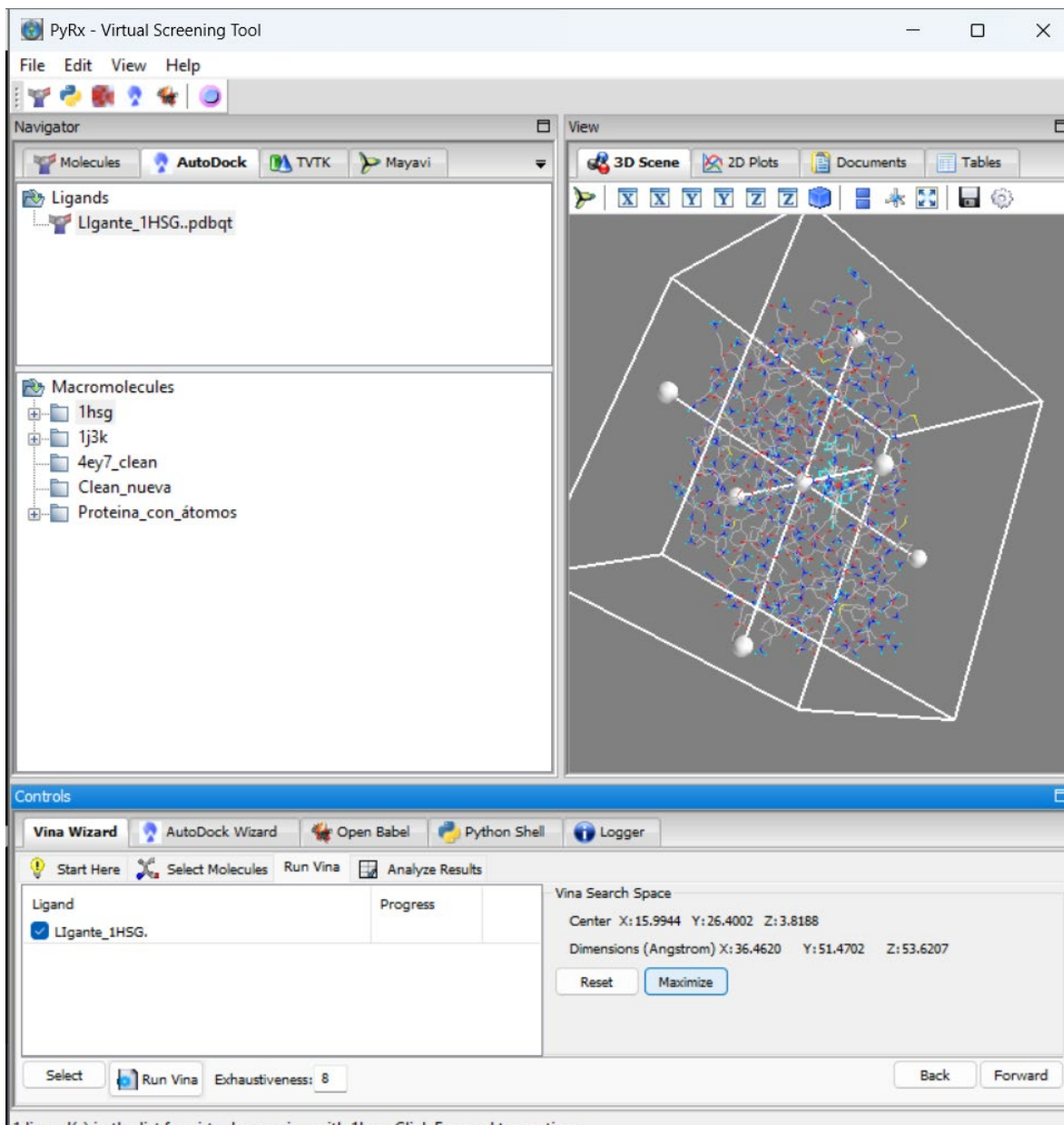
En el paso siguiente, selecciona la opción Grid para definir la caja de búsqueda, la cual delimita la región donde se llevará a cabo el análisis de interacción entre el ligando y la proteína.

- Centrado de la caja: Puedes centrar la caja en las coordenadas aproximadas del sitio activo, las cuales se pueden obtener del ligando co-cristalizado en el archivo original .pdb, o bien realizar un docking ciego (blind docking).
- Ajuste del tamaño: Para modificar las dimensiones de la caja, haz clic en las esferas blancas y arrástralas hasta alcanzar el tamaño deseado.

- Docking ciego: Si no conoces la ubicación exacta del sitio activo, puedes hacer clic en Maximize para cubrir toda la superficie de la proteína. En este modo, PyRx realizará un estudio conformacional sin una región predefinida, permitiendo identificar automáticamente el sitio de mayor afinidad de unión del ligando.

Una vez configurada la caja, haz clic en Next para continuar con la ejecución del docking.





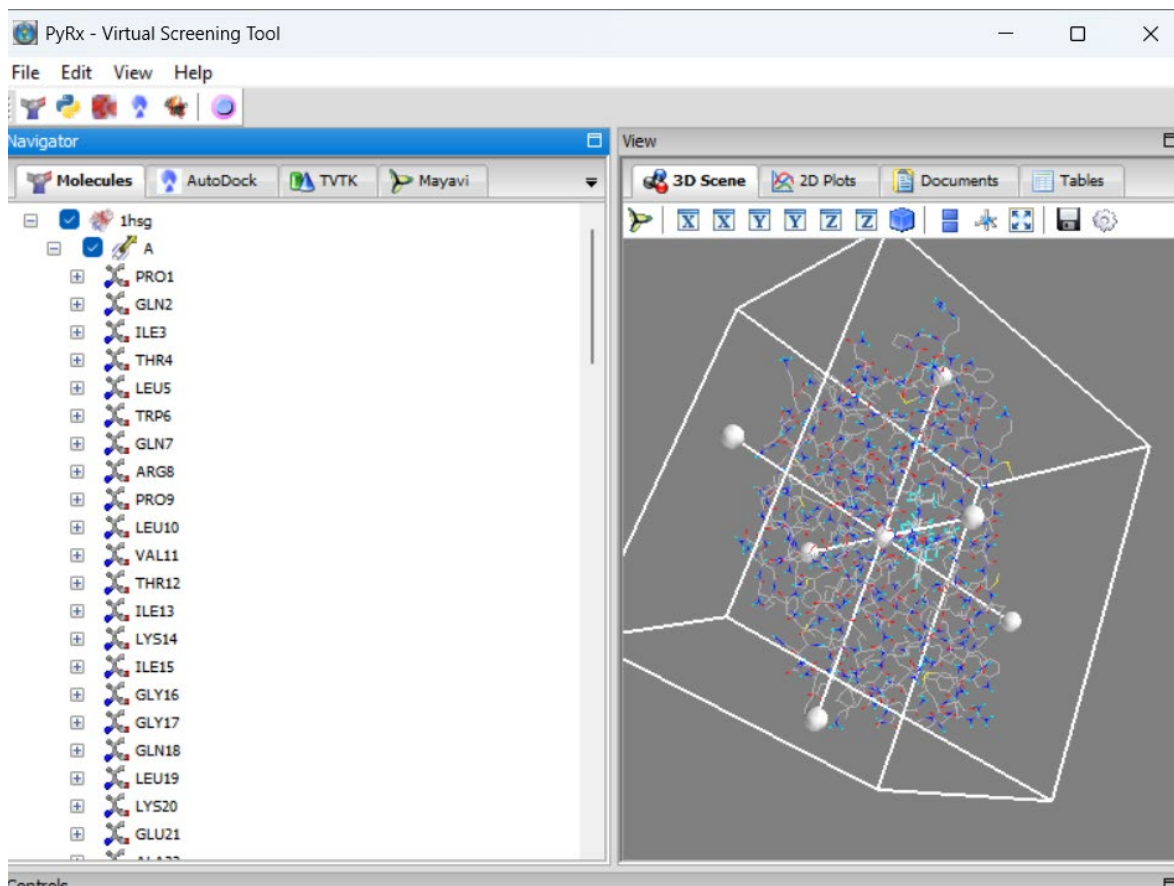
### Nota adicional: Definición precisa del sitio activo

Si conoces la ubicación del sitio activo de tu proteína, puedes definir manualmente la caja de búsqueda de manera más precisa:

- Seleccionando residuos activos: Ve a la pestaña Molecules, selecciona la proteína y marca los aminoácidos que forman parte del sitio activo. Esto te ayudará a visualizar la región exacta en la que debe centrarse la caja.
- Usando el ligando co-cristalizado: Otra opción es cargar el ligando original

que aparece en el archivo .pdb del complejo proteína-ligando. Al visualizar dónde se encuentra ubicado este ligando en la estructura, puedes usar esa región como guía para centrar la caja de búsqueda.

Definir correctamente el sitio activo mejora la precisión del docking, ya que concentra el análisis en la región funcional de la proteína.



Una vez definida la caja de búsqueda, haz clic en **Forward** para que PyRx inicie el proceso de acoplamiento molecular. Durante esta etapa, el software ejecuta múltiples simulaciones para predecir las conformaciones más estables del ligando dentro del sitio activo de la proteína.

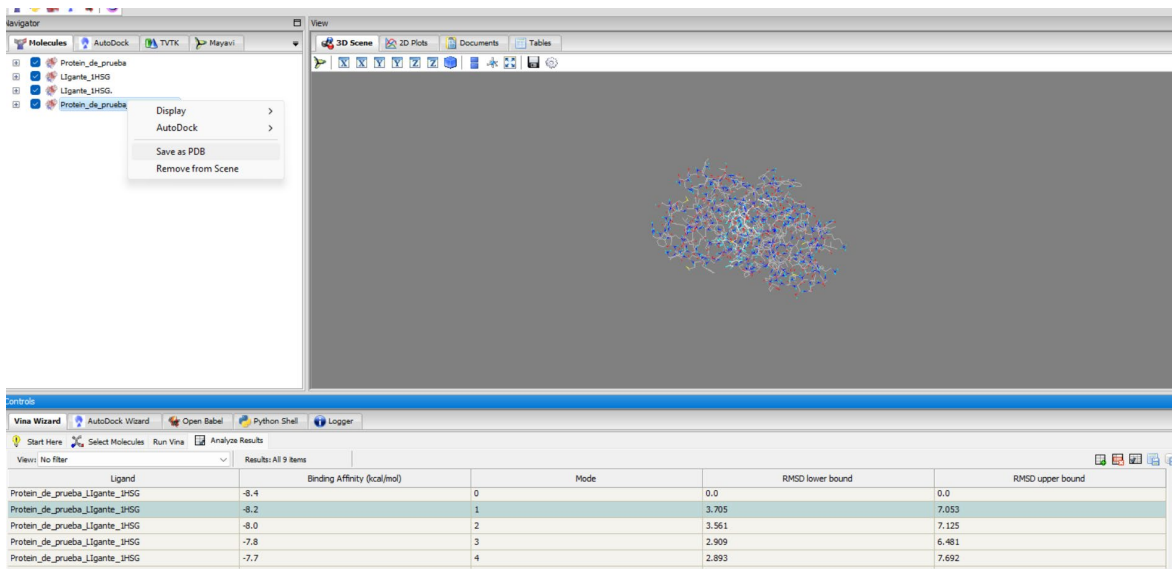
Cuando el docking haya finalizado, PyRx mostrará una lista de poses (conformaciones) ordenadas según su **energía de afinidad de unión (Binding Affinity)**, medida en kcal/mol. Cuanto más negativa sea esta energía, **mayor será la afinidad del ligando por la proteína.**

### Guardar el mejor modelo

- Revisa la lista y selecciona la pose con la **energía más baja** (la de mayor

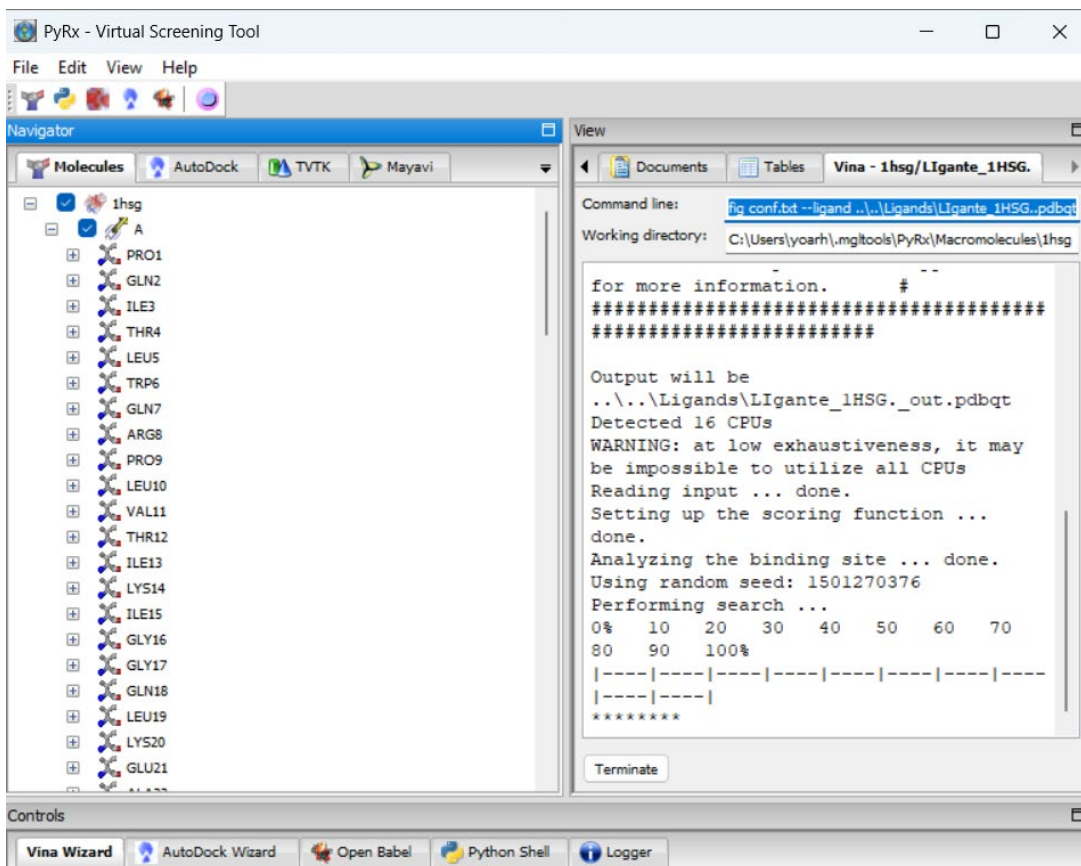
afinidad).

- Haz **clic derecho** sobre esa entrada y selecciona **Save as PDB** para guardar la conformación en un archivo que podrás analizar más adelante, por ejemplo, en Discovery Studio o PyMOL.



The screenshot displays the AutoDock Vina software interface. The top window, titled 'View', shows a 3D molecular model of a protein-ligand complex. The bottom window, titled 'Controls', contains a table of docking results. A context menu is open over the table, with 'Save as PDB' highlighted.

Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
Protein_de_prueba_Ligante_IHSG	-8.4	0	0.0	0.0
Protein_de_prueba_Ligante_IHSG	-8.2	1	3.705	7.053
Protein_de_prueba_Ligante_IHSG	-8.0	2	3.561	7.125
Protein_de_prueba_Ligante_IHSG	-7.8	3	2.909	6.481
Protein_de_prueba_Ligante_IHSG	-7.7	4	2.893	7.692



## Copiar y analizar los resultados

- Puedes copiar los valores de binding affinity y el número de poses para incluirlos en una tabla o gráfica de resultados.
- Es recomendable analizar las interacciones específicas (puentes de hidrógeno, enlaces hidrofóbicos, etc.) entre el ligando y los residuos clave del sitio activo utilizando otro software de visualización como **Discovery Studio**, **PyMOL** o **Chimera**.

## Sugerencias adicionales para el análisis:

- **Comparar diferentes ligandos:** Puedes repetir el docking con otros compuestos y comparar sus afinidades de unión.
- **Relacionar estructura-actividad:** Examina si pequeñas modificaciones en la estructura del ligando cambian su capacidad de unión.
- **Documentar las coordenadas:** Guarda las coordenadas del centro de la caja y su tamaño para reproducir futuros experimentos con las mismas condiciones.

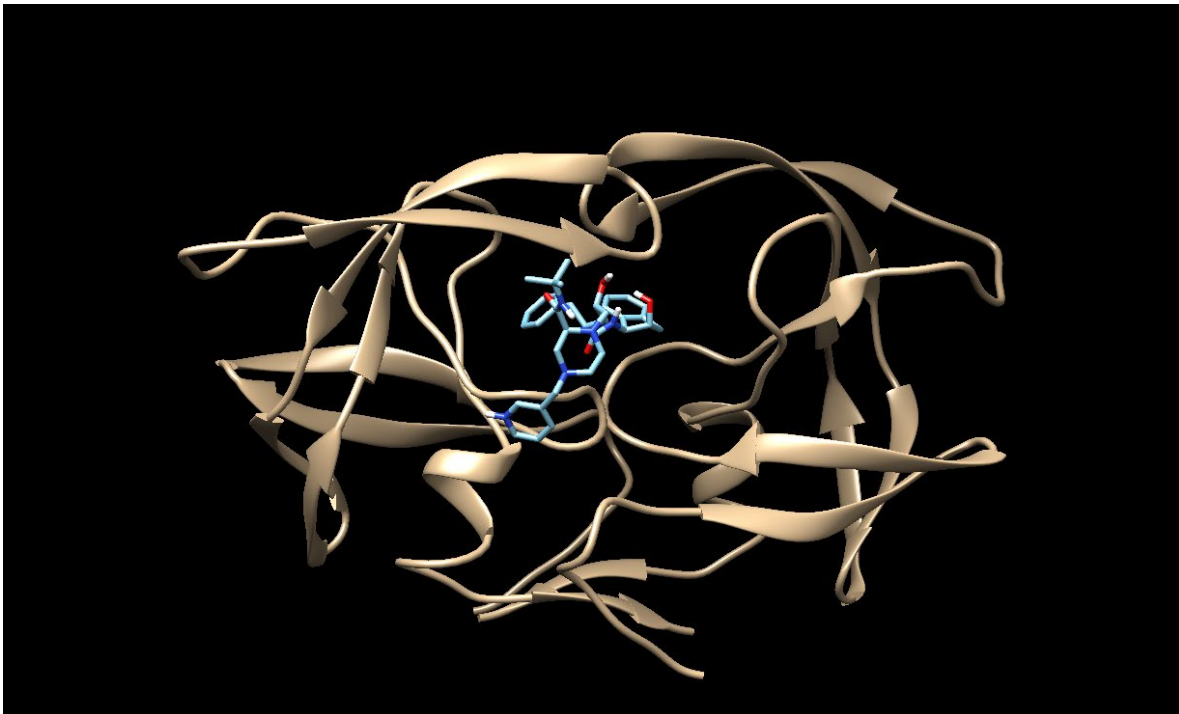
Ligand	Binding Affinity (kcal/mol)	Mode	RMSD lower bound	RMSD upper bound
Protein_de_prueba_Ligante_IHSG	-8.4	0	0.0	0.0
Protein_de_prueba_Ligante_IHSG	-8.2	1	3.705	7.053
Protein_de_prueba_Ligante_IHSG	-8.0	2	3.561	7.125
Protein_de_prueba_Ligante_IHSG	-7.8	3	2.909	6.481
Protein_de_prueba_Ligante_IHSG	-7.7	4	2.893	7.692

## Visualización y comparación estructural en UCSF Chimera

Una vez que hayas guardado la mejor pose del ligando en formato **.pdb**, puedes analizar con mayor detalle la interacción con la proteína utilizando el programa **Chimera**.

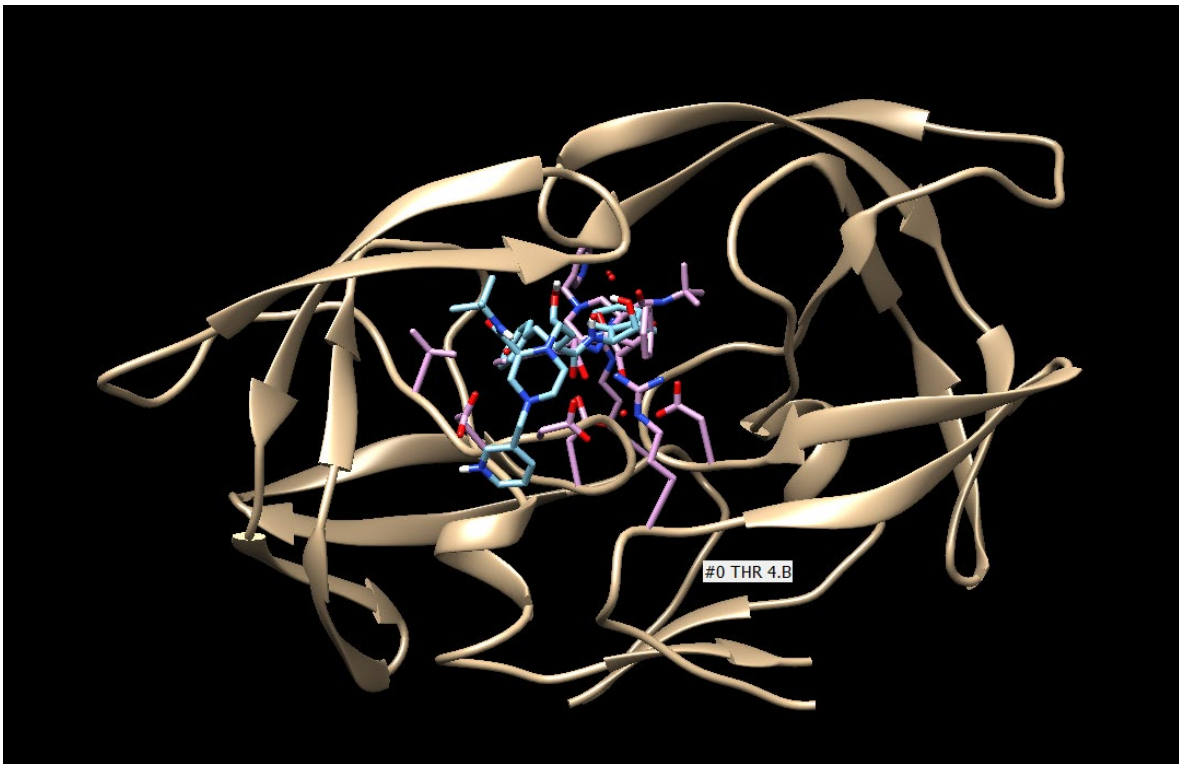
### Visualización en Chimera

1. Abre Chimera y carga el archivo **.pdb** generado tras el docking.
2. También puedes cargar el archivo original de la proteína obtenido del **Protein Data Bank (PDB)** para comparar ambas estructuras.
3. Observa la **ubicación del ligando** en el sitio activo y las posibles **interacciones con residuos clave** (puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, apilamientos aromáticos, etc.).
4. Usa herramientas como **FindHBond** o **Surface/Binding analysis** para destacar las interacciones.



## Comparación estructural

- Al superponer el modelo obtenido mediante docking con la estructura experimental de la proteína (con o sin su ligando original), puedes evaluar la **precisión del docking** y verificar si el ligando se acomoda en una región funcional.
- Esta comparación es útil para validar el modelo generado y para discutir **coincidencias o diferencias** con respecto a ligandos ya conocidos o co-cristalizados.



¿Qué energía de unión obtuviste para la mejor pose?

¿Cuáles son los aminoácidos cercanos al ligando en el sitio activo?

¿Qué tipo de interacciones moleculares observas?

¿Qué pasaría si modificas un grupo funcional del ligando?

**Prueba otro ligando (por ejemplo, galantamina) y compara afinidades.**