

Diseño *in silico* de un bio-receptor peptídico para el reconocimiento de serotonina como biomarcador

**Karen Tatiana Holguín Hurtado, Mayra Julieth Méndez Bohórquez,
Luna Rodríguez-Salazar, James Guevara-Pulido***

INQA, Facultad de Ciencias, Universidad El Bosque, Bogotá - Colombia

(*) joguevara@unbosque.edu.co

Recibido: 26/05/2022

Revisado: 23/06/2022

Aceptado: 21/07/2022

Resumen

La serotonina (5-HT) es un neurotransmisor, que actúa como biomarcador para patologías como la depresión y los tumores carcinoides del intestino delgado, por ello es de gran importancia y un desafío realizar su cuantificación *in situ*. Actualmente, existen biosensores enzimáticos para la cuantificación de serotonina, sin embargo, las enzimas presentan inestabilidad. Por esta razón, en este estudio, se diseñaron bio-receptores peptídicos *in silico*, de los cuales uno obtuvo una energía de interacción por la serotonina de -6,5 kcal/mol, distancias de interacción de los puentes de hidrógeno de 2,20 Å en promedio y alta selectividad del bio-receptor al comparar la energía de interacción obtenida con la serotonina frente a otras biomoléculas.

Palabras claves: afinidad química; biorreceptor; depresión; docking molecular; serotonina

Abstract

***In silico* design of a peptide bioreceptor for the recognition of serotonin as a biomarker.** Serotonin (5-HT) is a neurotransmitter that acts as a biomarker for pathologies such as depression and carcinoid tumors of the small intestine, which is why it is of great importance and a challenge to quantify it *in situ*. Currently, there are enzymatic biosensors for serotonin quantification, however, the enzymes present instability. For this reason, in this study, peptide bioreceptors were designed *in silico*, of which one obtained an interaction energy for serotonin of -6.5 kcal/mol, hydrogen bond interaction distances of 2.20 Å on average and high bioreceptor selectivity when comparing the interaction energy obtained with serotonin versus other biomolecules.

Keywords: Chemical affinity; Bioreceptor; Depression; Molecular docking; Serotonin

Introducción

La serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) es una amina biogénica reconocida por su función como neurotransmisor y modulador de la motilidad gastrointestinal, el tono vascular periférico, el tono vascular cerebral y la función plaquetaria¹. También se conoce como un posible biomarcador donde se considera que en bajas concentraciones se asocia con depresión mayor², mientras que en concentraciones anormalmente altas se relaciona con tumores carcinoides del intestino delgado y otras patologías³. De acuerdo con lo anterior, se considera relevante contar con métodos bio-analíticos para la cuantificación de serotonina en relación con las patologías mencionadas.

Actualmente, la cuantificación de serotonina en el sector salud se hace mediante técnicas confiables como la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), el método espectrofluorimétrico y la electroforesis capilar, estos métodos a pesar de ser sensibles no ofrecen una cuantificación de la concentración de serotonina en tiempo real y presentan dificultades debido a que requieren de un pretratamiento minucioso y costoso de las muestras⁴, a causa de que la serotonina presenta oxidación espontánea en

condiciones ambientales normales donde es tomada la muestra⁵. Por consiguiente, los métodos mencionados no brindan un análisis *in situ*, impidiendo un monitoreo constante e influyendo en el tratamiento personalizado sobre la medicación adecuada para el paciente depresivo. Teniendo en cuenta la situación descrita surgen los biosensores como un posible método para la detección y cuantificación de serotonina en tiempo real.

Los biosensores que se presentan como potenciales para el reconocimiento y cuantificación de serotonina hacen uso de bio-receptores enzimáticos como la tirosinasa⁴ y la monoamino oxidasa-A⁶, a pesar de ser una solución sensible, presentan limitantes como la inestabilidad de las enzimas cuando se someten a altas temperaturas y cambios de pH en el medio, lo que causa la desnaturalización de estas⁷.

Por lo tanto, se evidencia una falencia en la estabilidad y sensibilidad de este tipo de bio-receptores, no obstante, se ha desarrollado una nueva alternativa que son los bio-receptores peptídicos los cuales tienen una gran sensibilidad, un bajo peso molecular el cual les otorga mayor estabilidad en comparación con las enzimas, y además, pueden ser sintetizados químicamente,

lo que permite hacer modificaciones y diseños de acuerdo a la necesidad⁸.

En este estudio se diseñó un bio-receptor *in silico* capaz de reconocer serotonina, haciendo uso de herramientas bioinformáticas con el fin de modelar y evaluar la interacción bio-receptor-ligando. El diseño se fundamenta en la mimesis del reconocimiento enzimático, lo cual le otorga características de alta selectividad.

Diseño experimental

Identificación de proteínas y análisis del sitio activo

Se realizó la búsqueda de los receptores y enzimas característicos de las interacciones 5-HT en procesos fisiológicos del ser humano, luego, se llevó a cabo una revisión de dichas proteínas en el Protein Data Bank (PDB), seleccionando y descargando aquellas que cumplieran con criterios clave en cuanto a la calidad del cristal, como una alta resolución y su ubicación en el espectro.

Posteriormente se empleó el programa PyMOL para modificar cada una de estas proteínas eliminando cualquier molécula que no hiciera parte de la estructura del receptor y descargándolos en formato pdb. Por último, se analizó el sitio activo y los sitios de anclaje de cada una, reconociendo las secuencias de aminoácidos y la interacción de estas proteínas por medio del PDB.

Acoplamiento molecular

Para los receptores se llevó a cabo un acoplamiento molecular para calcular las interacciones de afinidad, cargándolos en el software AutoDockTools (versión 1.5.6), y guardando los archivos en formato pdbqt con su respectivo nombre. Para el modelamiento se buscó eliminar las moléculas de agua que se hubiesen podido haber incluido en el archivo protein.pdb, además se adicionaron hidrógenos polares a las proteínas, se eliminaron los hidrógenos no polares para reducir el número de átomos a simular⁹ y se añadieron las cargas de Gasteiger para el ligando y las de Kollman para las proteínas, esto con el fin de hacerle una preparación a la proteína para el *docking* molecular, posterior a esto, se guardaron como archivos pdbqt ya que los archivos en este formato almacenan las cargas parciales y tipos de átomos⁹.

Diseño de bio-receptores *in silico*

Se diseñaron en el software Avogadro, cuatro bio-receptores para cada proteína cristalizada en el PDB, siguiendo la metodología descrita por Rodríguez-Salazar (2020)¹⁰, y aplicando modificaciones estructurales a cada bio-receptor diseñado para lograr energías de interacción similares a las reportadas para las proteínas.

El primer bio-receptor consistió en una cadena peptídica secuencial constituida solamente por los aminoácidos identificados del sitio activo de cada proteína; el segundo se hizo a partir del bio-receptor anterior y se polimerizó en cada uno

de sus extremos con 30 unidades de estireno buscando aumentar el impedimento estérico; el tercer bio-receptor se diseñó adicionando puentes metilénicos, los cuales actuaron como espaciadores para reemplazar los aminoácidos de la secuencia que no tiene interacción con el sustrato, cabe aclarar que los puentes metilénicos no se añadieron a escala real sino en una proporción de un dígito que simulara los espacios. Finalmente, el cuarto bio-receptor se realizó polimerizando el bio-receptor anterior con unidades de estireno. Adicionalmente, se llevó a cabo un proceso de rediseño teniendo en cuenta que ningún receptor logró superar la afinidad objetivo que se determina como la calculada entre los receptores serotoninérgicos (tabla 3) 5-HT1A, SERT, 5-HT1D y el 5-HT1E frente a la serotonina, por lo que, en vez de polimerizar con 30 unidades de estireno, se aumentó el número a 50 unidades de estireno en cada extremo terminal buscando incrementar mucho más el impedimento estérico.

A cada estructura peptídica se le minimizó la energía usando la herramienta del software Avogadro Merck Molecular Force Field (MMFF94s) con cuatro pasos de actualización y la opción de algoritmo por gradiente descendente, esto fue fundamental ya que la minimización en Avogadro permite que la longitud de enlace, ángulo de enlace y de torsión entre los distintos átomos sea la adecuada garantizando la mecánica molecular, debido a que hay fuerzas fisicoquímicas de interacción y repulsión características de cada enlace¹¹.

Determinación del bio-receptor *in silico*

Debido a que varios bio-receptores lograron superar la energía de interacción objetivo (tabla 3) se evaluaron criterios adicionales con el fin de escoger el bio-receptor *in silico* más apropiado.

Entre los criterios adicionales evaluados se encuentra la selectividad de los bio-receptores por otros sustratos, esto se realizó calculando la energía de interacción mediante AutoDock Vina teniendo en cuenta interferentes comunes como la dopamina, adrenalina y noradrenalina, además de moléculas que se encuentran en fluidos biológicos como glucosa y lactato entre otras¹², cada uno de estos sustratos fue modelado en Avogadro.

Asimismo, se calcularon las distancias de interacción (Puentes de hidrógeno) por medio de Discovery Studio entre la serotonina y los bio-receptores seleccionados teniendo como línea de comparación las distancias de interacción analizadas previamente de la serotonina y las proteínas descargadas del PDB correspondientes a los bio-receptores.

Discusión de resultados

A partir de la búsqueda de los principales receptores involucrados en las interacciones 5-HT en procesos fisiológicos del ser humano, la búsqueda en el PDB y los criterios definidos en la metodología tenidos en cuenta para la selección de estos, se seleccionó el 5-HT1A, SER

T, 5-HT1D y el 5-HT1E debido a que son los receptores relacionados con el reconocimiento y recaptación de serotonina en el sistema nervioso¹³. Después de la selección y como se mencionó en la metodología los receptores estaban acompañados por un complejo proteico y en otros casos por fármacos, por ello se requirió de su adecuación en PyMOL con el fin de eliminar dichas moléculas que no hacían parte del receptor, los resultados de las estructuras 3D se pueden evidenciar en la tabla 1.

En cuanto al reconocimiento del sitio activo de cada receptor, se presentan los resultados en la tabla 2, donde se evi-

dencian cada una de las proteínas con los aminoácidos del sitio activo resaltados y la posición de cada uno de ellos arrojados por el PDB.

Al contar con los sitios activos de las proteínas se registraron los datos del Grid Box para realizar el *docking* molecular en el programa AutoDockTools, estos se pueden observar a continuación en la tabla 3. Luego con los datos ya registrados se procedió a evaluar las energías de interacción por triplicado entre la serotonina y los receptores serotoninérgicos mencionados anteriormente.

Tabla 1. Receptores serotoninérgicos seleccionados y estructura cristalizada modificada.


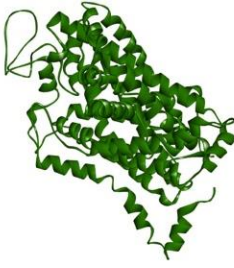
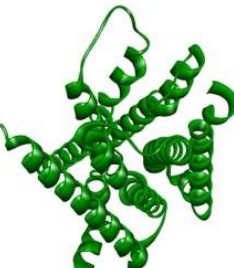


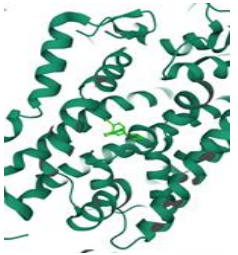


Nombre común del receptor	Nombre estructura en el PDB	Estructura cristalizada modificada en PyMOL
5-HT1A	7E2Y	
SERT	6VRK	
5-HT1D	7E32	
5-HT1E	7E33	

Tabla 2. Sitios activos de los receptores serotoninérgicos seleccionados en el PDB.

Nombre común del receptor	Sitio activo	Posición de los aminoácidos	Aminoácidos
5-HT1A		116	D (Asp)
		117	V (Val)
		120	C (Cys)
		121	T (Thr)
		189	I (Ile)
		199	S (Ser)
		200	T (Thr)
		203	A (Ala)
		358	W (Trp)
		361	F (Phe)
		362	F (Phe)
		365	A (Ala)
		390	Y (Tyr)
SERT		94	G (Gly)
		96	A (Ala)
		97	V (Val)
		101	N (Asn)
		336	S (Ser)
		368	N (Asn)
		434	L (Leu)
		437	D (Asp)
		438	S (Ser)
5-HT1D		118	D (Asp)
		119	I (Ile)
		122	C (Cys)
		123	T (Thr)
		169	I (Ile)
		190	V (Val)
		201	S (Ser)
		202	T (Thr)
		205	A (Ala)
		314	W (Trp)
		317	F (Phe)
		318	F (Phe)
		321	S (Ser)
346	Y (Tyr)		
5-HT1E		102	D (Asp)
		103	M (Met)
		106	C (Cys)
		107	T (Thr)
		153	I (Ile)
		177	H (His)
		183	T (Thr)
		186	S (Ser)
		187	T (Thr)
		190	A (Ala)
		304	W (Trp)
		307	F (Phe)
		308	F (Phe)
		311	E (Glu)
		330	T (Thr)
334	Y (Tyr)		

Al contar con los sitios activos de las proteínas se registraron los datos del Grid Box para realizar el *docking* molecular en el programa AutoDockTools, estos se pueden observar a continuación en la tabla 3. Luego, con los datos ya registrados, se procedió a evaluar las energías de interacción por triplicado entre la serotonina y los receptores serotoninérgicos mencionados anteriormente.

La desviación estándar reportada para los datos de energía de interacción está basada solamente en el primer conformero de las ocho opciones presentadas en cada uno de los resultados, teniendo en cuenta que se hizo por triplicado para cada receptor.

Tabla 3. Energías de interacción promedio entre los receptores serotoninérgicos seleccionados en el PDB y la serotonina.

Nombre común del receptor	Energía de interacción promedio (kcal/mol) / Desviación estándar
5-HT1A	-6,1
SERT	-6,6
5-HT1D	-6,3
5-HT1E	-6,1

Para finalizar, se observó que el receptor SERT presentó una mayor afinidad por la serotonina con un valor de -6,6 kcal/mol promedio de los resultados por triplicado, en cambio, los receptores 5-HT1A y 5-HT1E demostraron una menor afinidad de -6,1 kcal/mol. Tras haber obtenido las afinidades entre las proteínas descargadas del PDB y la serotonina. El siguiente paso fue diseñar en el software Avogadro los cuatro bio-receptores inicialmente propuestos junto con la etapa de rediseño para cada una de las 4 proteínas seleccionadas.

En la tabla 4, se encuentran los bio-receptores diseñados para la 5-HT1A junto con el promedio de los resultados de las afinidades por triplicado entre la serotonina y cada uno de estos por medio de AutoDock Vina, se pueden observar polimerizaciones de 30 y 50 unidades de estireno dado que con la primera no se logró superar la energía de interacción objetivo, por ende, se realizó un rediseño buscando aumentar el volumen estérico.¹⁰

Los bio-receptores anteriormente mostrados se diseñaron con el fin de lograr alcanzar o superar la afinidad-objetivo establecida entre la serotonina y la proteína 5-HT1A descargada del PDB, la cual tenía un valor de -6,1 kcal/mol. En la tabla 4 se evidencia que el bio-receptor que logró superar esta afinidad fue el número 2.1 rediseño 5-HT1A, que se encontraba constituido por los aminoácidos del sitio activo y una polimerización de 50 unidades de estireno en sus extremos terminales obteniendo así una afinidad de -6,7 kcal/mol. No obstante, los demás bio-receptores no consiguieron superar este objetivo aun teniendo en cuenta que algunos pasaron por etapas de rediseño. En la tabla 5, se pueden observar

los bio-receptores diseñados para SERT junto con el promedio de los resultados de las energías de interacción por triplicado entre la serotonina y cada uno de estos.

Los bio-receptores anteriormente mostrados se diseñaron con el fin de lograr alcanzar o superar la afinidad-objetivo establecida entre la serotonina y la proteína SERT descargada del PDB, la cual tenía un valor de -6,6 kcal/mol. En la tabla 5 se evidencia que el bio-receptor que logró superar esta afinidad fue el número 4.1 rediseño SERT, que se encontraba constituido por los aminoácidos del sitio activo, puentes metilénicos y una polimerización de 50 unidades de estirenos en sus extremos terminales obteniendo así una afinidad de -6,7 kcal/mol. Es evidente que tanto en estos resultados como los de la tabla 4, la afinidad aumenta en todos los casos donde el volumen estérico es mayor debido a las polimerizaciones. En la tabla 6, se pueden observar los bio-receptores diseñados para la 5-HT1D junto con el promedio de los resultados de las afinidades por triplicado entre la serotonina y cada uno de estos.

Los bio-receptores diseñados con el fin de lograr alcanzar o superar la afinidad-objetivo establecida entre la serotonina y la proteína 5-HT1D descargada del PDB, la cual tenía un valor de -6,3 kcal/mol. En la tabla 6 se evidencia que ningún bio-receptor logró superar esta afinidad, sin embargo, el bio-receptor que estuvo más cerca de hacerlo con una diferencia de -0,6 fue el número 2 con una afinidad promedio de -5,7 kcal/mol. No se procedió a hacer más rediseños teniendo en cuenta que otros bio-receptores diseñados para otras proteínas ya lograron superar la afinidad objetivo y con ellos se puede seguir la investigación.

En la tabla 7, se pueden observar los bio-receptores diseñados para la 5-HT1E junto con el promedio de los resultados de las afinidades por triplicado entre la serotonina y cada uno de estos.

Los bio-receptores anteriormente mostrados se diseñaron con el fin de lograr alcanzar o superar la afinidad-objetivo establecida entre la serotonina y la proteína 5-HT1E descargada del PDB, la cual tenía un valor de -6,1 kcal/mol. En la tabla 7 se evidencia que el bio-receptor que logró superar esta afinidad fue el número 2.1 rediseño 5-HT1E, que se encontraba constituido por los aminoácidos del sitio activo y una polimerización de 50 unidades de estireno en sus extremos terminales obteniendo así una afinidad de -6,5 kcal/mol.

Para esta proteína en específico (5-HT1E) se diseñaron solamente cinco bio-receptores y no seis como en los otros casos debido a que su tamaño era extenso y como se mencionó en el primer requerimiento de restricción el número de aminoácidos estaba limitado al software, en este caso AutoDock generaba error con el bio-receptor 4.1 rediseño, debido a que contaba con puentes metilénicos que aumentaban su tamaño y restringía que el Grid Box tomara todo el sitio activo, alternando los resultados y obteniendo una afinidad anormalmente baja.

Tabla 4. Energías de interacción promedio entre los bio-receptores diseñados en Avogadro de la proteína 5-HT1A y la serotonina.

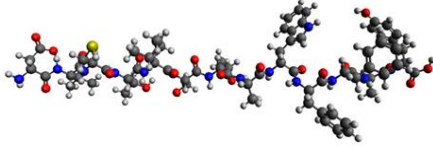
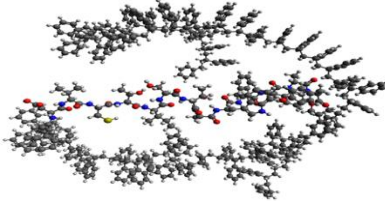
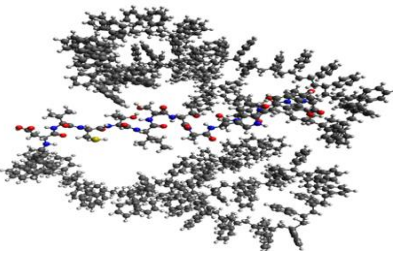
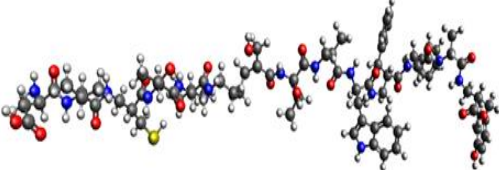
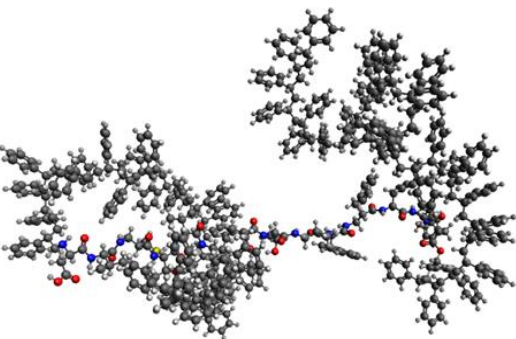
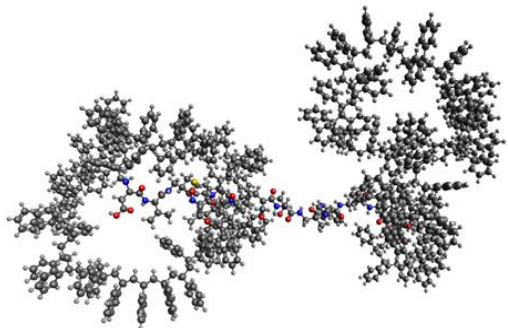
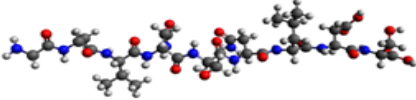
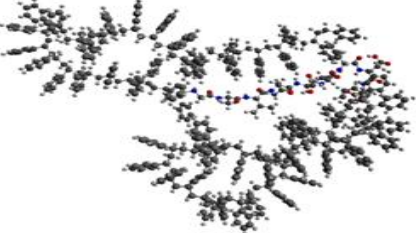
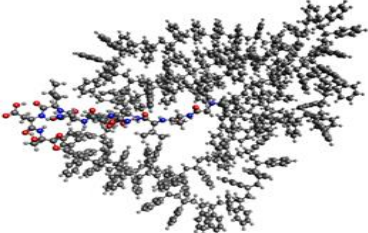
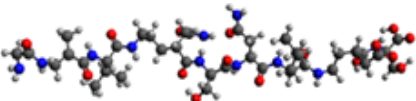
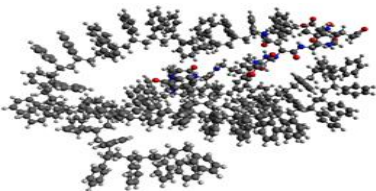
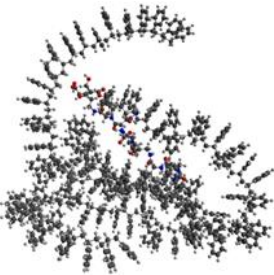
Bio-receptores para 5-HT1A	Diseño en Avogadro	Energía de interacción entre cada bio-receptor y la serotonina (kcal/mol) / Desviación estándar
Bio-receptor 1 5-HT1A (Sitio activo)		$-4,0 \pm 0,0$
Bio-receptor 2 5-HT1A (Sitio activo polimerizado con 30 unidades de estireno)		$-5,4 \pm 0,0$
Bio-receptor 2.1 rediseño 5-HT1A (Sitio activo polimerizado con 50 unidades de estireno)		$-6,7 \pm 0,1$
Bio-receptor 3 5-HT1A (Sitio activo y puentes metilénicos)		$-3,6 \pm 0,0$
Bio-receptor 4 5-HT1A (Sitio activo, puentes metilénicos y polimerización con 30 unidades de estireno)		$-5,6 \pm 0,0$
Bio-receptor 4.1 rediseño 5-HT1A (Sitio activo, puentes metilénicos y polimerización con 50 unidades de estireno)		$-5,5 \pm 0,0$

Tabla 5. Energías de interacción promedio entre los bio-receptores diseñados en Avogadro de la proteína SERT y la serotonina.

Bio-receptores para SERT	Diseño en Avogadro	Energía de interacción entre cada bio-receptor y la serotonina (kcal/mol) / Desviación estándar
Bio-receptor 1 SERT (Sitio activo)		$-3,1 \pm 0,0$
Bio-receptor 2 SERT (Sitio activo polimerizado con 30 unidades de estireno)		$-4,7 \pm 0,0$
Bio-receptor 2.1 rediseño SERT (Sitio activo polimerizado con 50 unidades de estireno)		$-6,1 \pm 0,0$
Bioreceptor 3 SERT (Sitio activo y puentes metilénicos)		$-3 \pm 0,0$
Bio-receptor 4 SERT (Sitio activo, puentes metilénicos y polimerización con 30 unidades de estireno)		$-6,2 \pm 0,0$
Bio-receptor 4.1 rediseño SERT (Sitio activo, puentes metilénicos y polimerización con 50 unidades de estireno)		$-6,7 \pm 0,0$

En los resultados presentados en las cuatro tablas anteriores, se observó que solamente tres bio-receptores superaron la energía objetivo (tabla 3) (2.1 rediseño 5-HT1A, 4.1 rediseño SERT y 2.1 rediseño 5-HT1E), por ende, fueron seleccionados para continuar en la siguiente etapa, todos estos contaban con polimerizaciones de un valor de 50 unidades de estireno las cuales ayudaron a aumentar el volumen estérico y a limitar

los lugares de interacción del bio-receptor, aumentando así su especificidad por la serotonina como está descrito en la literatura¹⁰, lo que conllevó a obtener las energías de interacciones más altas. Sin embargo, se presenta el bio-receptor 2.1 rediseño 5-HT1A como el de mayor afinidad por la serotonina teniendo en cuenta que superó la energía objetivo en 0,6 kcal/mol.

Tabla 6. Energías de interacción promedio entre los bio-receptores diseñados en Avogadro de la proteína 5-HT1D y la serotonina.

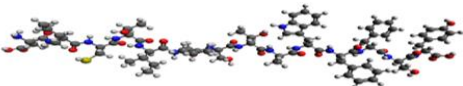
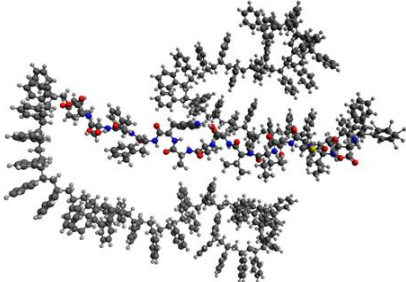
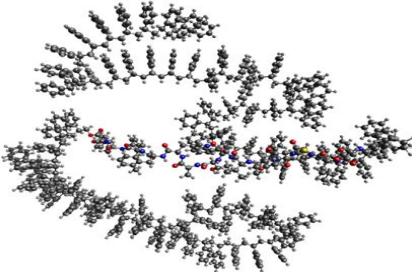
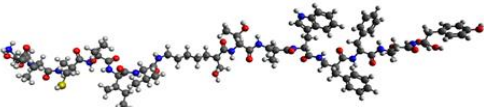
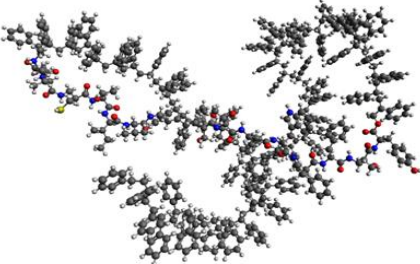
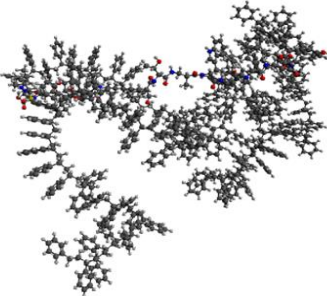
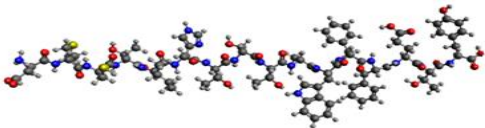
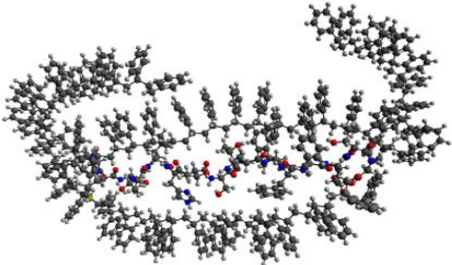
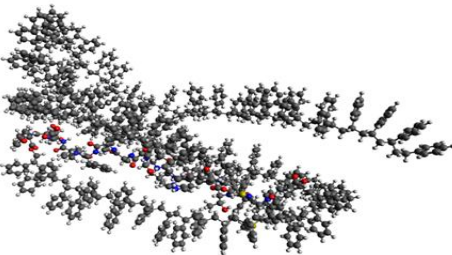
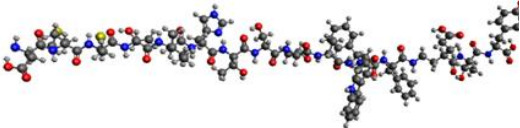
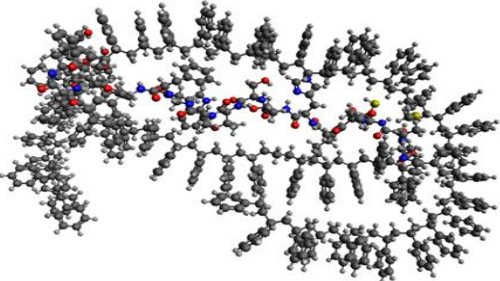
Bio-receptores para 5-HT1D	Diseño en Avogadro	Energía de interacción entre cada bio-receptor y la serotonina (kcal/mol) / Desviación estándar
Bio-receptor 1 5-HT1D (Sitio activo)		$-4,0 \pm 0,0$
Bio-receptor 2 5-HT1D (Sitio activo polimerizado con 30 unidades de estireno)		$-5,7 \pm 0,0$
Bio-receptor 2.1 rediseño 5-HT1D (Sitio activo polimerizado con 50 unidades de estireno)		$-5,4 \pm 0,3$
Bio-receptor 3 5-HT1D (Sitio activo y puentes metilénicos)		$-3,8 \pm 0,0$
Bio-receptor 4 5-HT1D (Sitio activo, puentes metilénicos y polimerización con 30 unidades de estireno)		$-5,2 \pm 0,0$
Bio-receptor 4.1 rediseño 5-HT1D (Sitio activo, puentes metilénicos y polimerización con 50 unidades de estireno)		$-4,9 \pm 0,0$

Tabla 7. Energías de interacción promedio entre los bio-receptores diseñados en Avogadro de la proteína 5-HT1E y la serotonina.

Bio-receptores para 5-HT1E	Diseño en Avogadro	Energía de interacción entre cada bio-receptor y la serotonina (kcal/mol) / Desviación estándar
Bio-receptor 1 5-HT1E (Sitio activo)		$-4,8 \pm 0,0$
Bio-receptor 2 5-HT1E (Sitio activo polimerizado con 30 unidades de estireno)		$-5,1 \pm 0,0$
Bio-receptor 2.1 rediseño 5-HT1E (Sitio activo polimerizado con 50 unidades de estireno)		$-6,5 \pm 0,0$
Bio-receptor 3 5-HT1E (Sitio activo y puentes metilénicos)		$-3,6 \pm 0,0$
Bio-receptor 4 5-HT1E (Sitio activo, puentes metilénicos y polimerización con 30 unidades de estireno)		$-5,1 \pm 0,0$

Para finalizar, los demás bio-receptores diseñados, especialmente los compuestos por puentes de metileno no presentaron un patrón asociado al aumento en la energía de interacción por la serotonina. Con el objetivo de corroborar la selectividad de los tres bio-receptores escogidos se decidió evaluar la afinidad entre cada uno de estos por sustratos diferentes a la serotonina. A continuación, se muestran los resultados organizados en la tabla 8.

Con base en la afinidad de unión obtenida, es evidente que los

bio-receptores presentan mayor afinidad por la serotonina que por los demás sustratos, cumpliendo así con el requisito de selectividad propuesto para el bio-receptor. Además, se puede observar que con las demás aminas biógenas los bio-receptores presentan una mayor energía de interacción en comparación con la glucosa y lactato, esto debido a la similitud estructural que hay entre la serotonina y las aminas. Para dar continuación a la elección del mejor bio-receptor, se evaluaron las distancias de los puentes de hidrógeno formados a partir de la interacción

Tabla 8. Evaluación de la afinidad de los bio-receptores por distintos sustratos.

Bio-receptor	Energía de interacción (kcal/mol)					
	Serotonina	Dopamina	Adrenalina	Noradrenalina	Glucosa	Lactato
2.1 rediseño 5-HT1A	-6,7	-5,9	-5,8	-5,4	-3,9	-3,1
4.1 rediseño SERT	-6,7	-6,2	-5,8	-5,7	-4,4	-3,6
2.1 rediseño 5-HT1E	-6,5	-5,8	-5,9	-5,8	-4,5	-4,0

entre la serotonina y las respectivas proteínas descargadas del PDB, a través de una interfaz gráfica que muestra los modelos de interacción calculados, esto se realizó por medio del software Discovery Studio.

La primera proteína analizada fue la 5-HT1A (7E2Y), como se observa en la figura 1, en la interacción de la serotonina y la proteína, se determinaron las distancias de cuatro puentes

de hidrógeno (líneas punteadas amarillas). En cuanto a los aminoácidos involucrados en esta interacción, se encuentra el ácido aspártico en la posición 116 (2,11 Å), la valina en 117 (2,25 Å), la treonina en la 121 (2,12 Å) y la tirosina en la 390 (2,58 Å). Solo fueron analizadas las interacciones presentadas en la imagen dado que eran las más cercanas a la proteína.

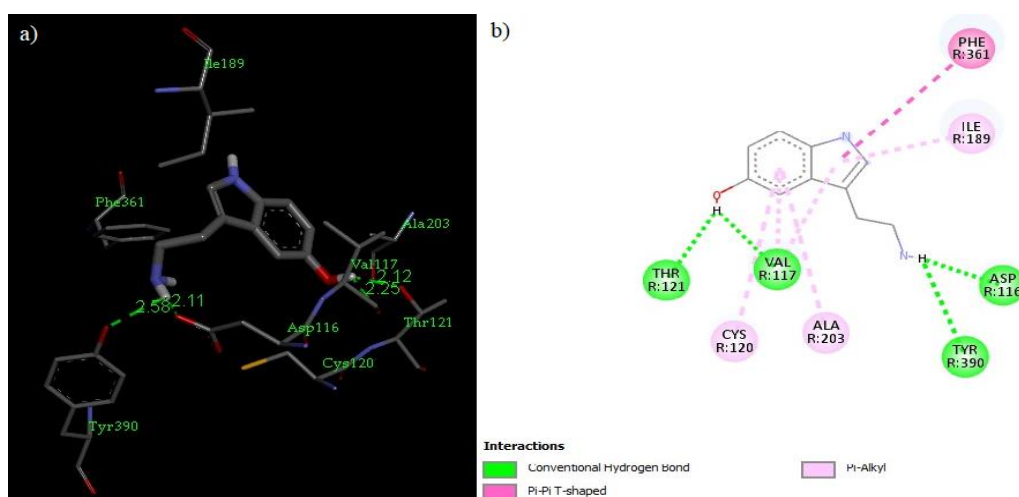


Fig. 1: a) Distancias de interacción 3D entre la serotonina y la proteína descargada PDB 5-HT1A. b) Distancias de interacción 2D entre la serotonina y la proteína descargada PDB 5-HT1A.

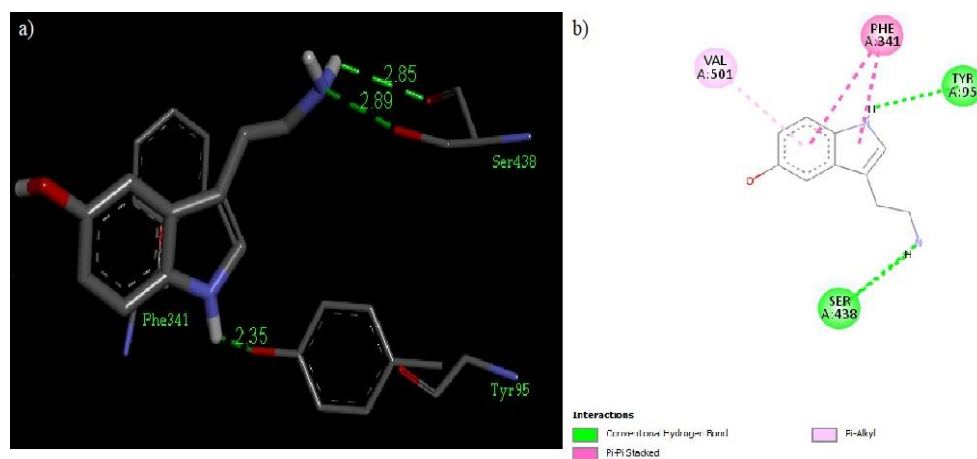


Fig. 2: a) Distancias de interacción 3D entre la serotonina y la proteína descargada por PDB SERT. B) Distancias de interacción 2D entre la serotonina y la proteína descargada por PDB SERT.

La segunda proteína analizada fue SERT (6VRK), como se muestra en la figura 2, se determinaron las distancias de tres puentes de hidrógeno en los cuales se vieron involucrados los

aminoácidos tirosina en la posición 95 (2,35 Å), y dos de serina en la posición 438 (2,89 Å y 2,85 Å respectivamente).

La última proteína analizada fue 5-HT1E (7E33), como se muestra en la figura 3, se determinaron las distancias de un puente de hidrógeno en el cual se vio involucrada la serina en la posición 186 (2,77 Å). Adicionalmente, se presentan otros tres aminoácidos los cuales generan otro tipo de interacciones de Van der Waals, estos son la metionina en la posición 103, la cisteína en la posición 105 y la alanina en la posición 190.

Teniendo en cuenta los aminoácidos presentes en las interacciones entre la serotonina y las proteínas anteriores, se observó su capacidad de aceptar y donar enlaces de hidrógeno. El ácido aspártico es un aminoácido polar que tiene la capacidad de donar tres y aceptar cinco enlaces de hidrógeno¹⁴. Por otro lado, se encuentra la valina como un aminoácido alifático de cadena ramificada y un grupo isopropilo, la cual dona dos y acepta tres

enlaces de hidrógeno¹⁵, la treonina es un aminoácido polar, que al igual que la anterior, dona dos y acepta tres enlaces de hidrógeno¹⁶.

Otros aminoácidos polares involucrados en las interacciones anteriores son la tirosina¹⁷ y la serina, caracterizadas por donar tres y aceptar cuatro enlaces de hidrógeno¹⁸.

Con respecto a los tres bio-receptores seleccionados, se analizó de la misma forma que como se describió para las proteínas anteriores, teniendo como línea de base los resultados obtenidos. Desde la figura 4 hasta la figura 6, se pueden observar las distancias de interacción entre la serotonina y los tres bio-receptores seleccionados.

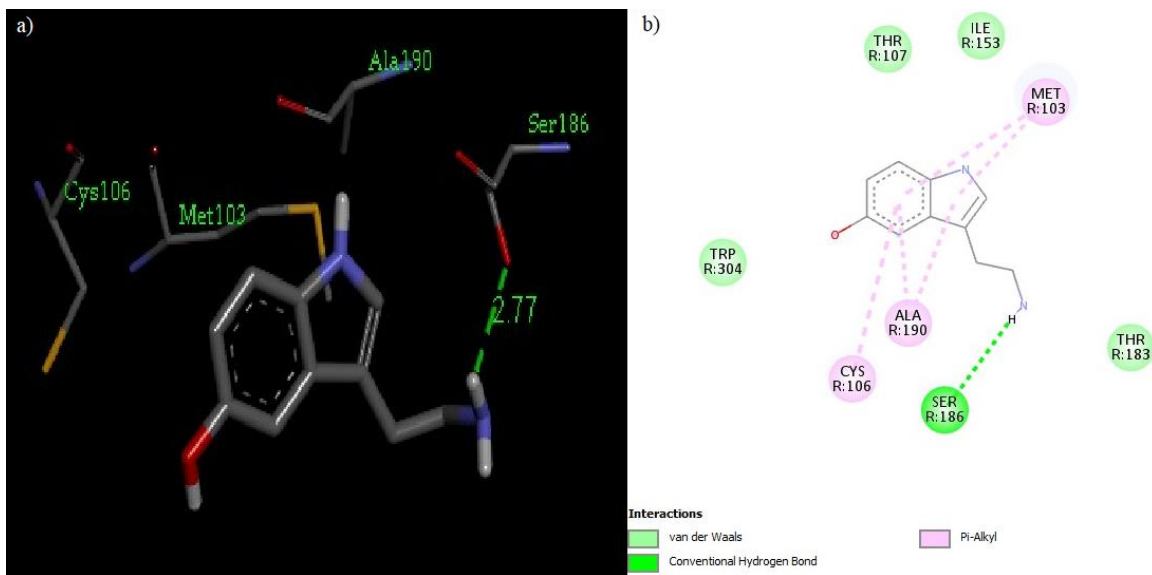


Fig. 3: a) Distancias de interacción 3D entre la serotonina y la proteína descargada PDB 5-HT1E. b) Distancias de interacción 2D entre la serotonina y la proteína descargada PDB 5-HT1E.

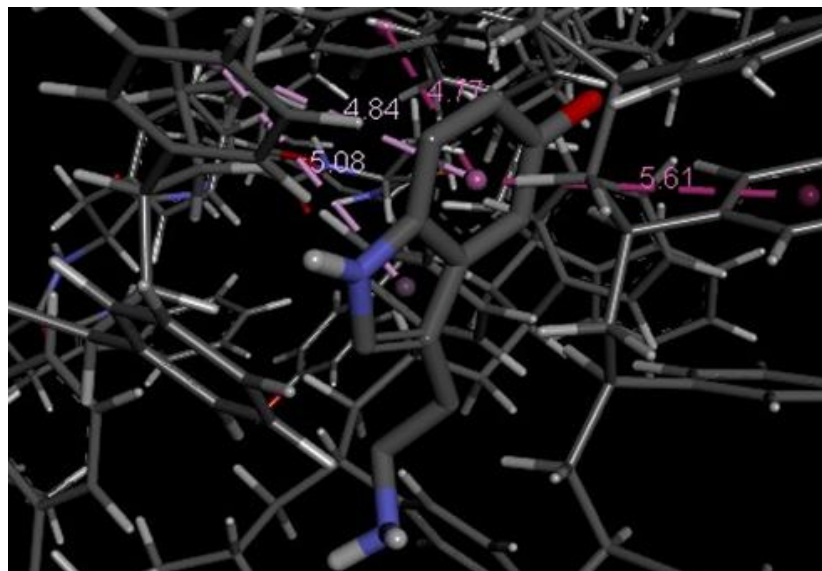


Fig. 4: Distancias de interacción entre la serotonina y el bio-receptor 2.1 rediseño 5-HT1A.

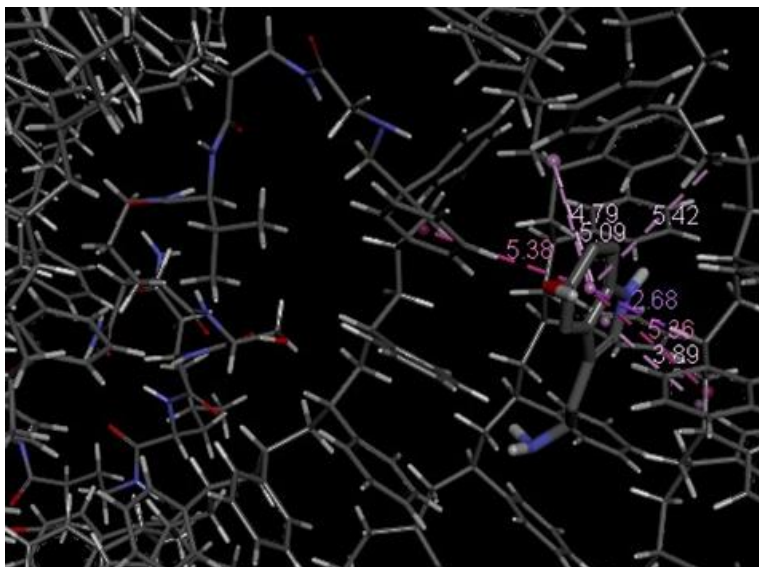


Fig. 5: Distancias de interacción entre la serotonina y el bio-receptor 4.1 rediseño SERT.

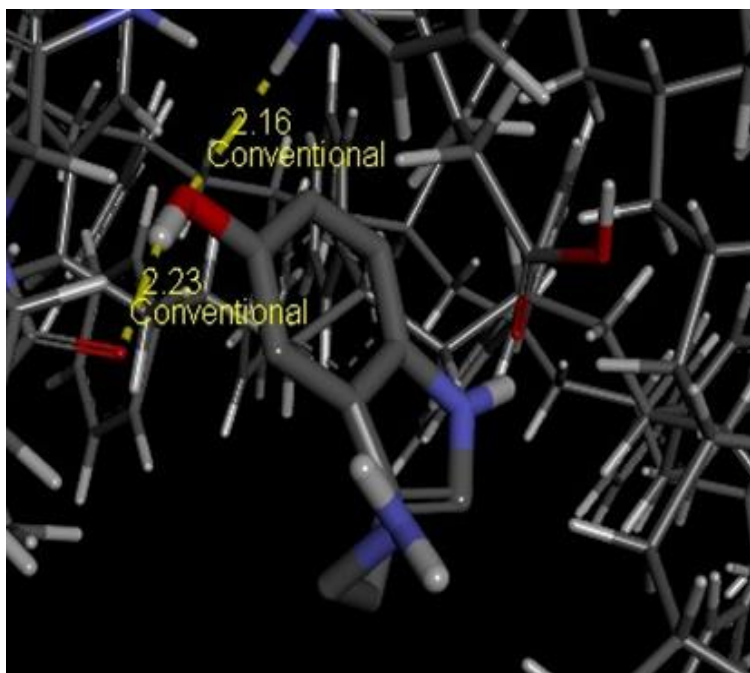


Fig. 6: Distancias de interacción entre la serotonina y el bio-receptor 2.1 rediseño 5-HT1E.

En las figuras 4 y 5, se evidencia que los bio-receptores 2.1 rediseño 5-HT1A y 4.1 rediseño SERT respectivamente, no presentan interacciones de puentes de hidrógeno entre la serotonina y el sitio activo, en comparación con los receptores descargados del PDB (editados en PyMOL), sin embargo, se generaron otro tipo de interacciones con las cadenas de polimerización.

En cuanto al bio-receptor 2.1 rediseño 5-HT1E, observado en la figura 6, se presentan dos puentes de hidrógeno entre la serotonina y dos aminoácidos del sitio activo, con una distancia de 2,23 y 2,16 Å clasificados como donador-receptor fuertes en

su mayoría covalentes¹⁹, indicando una menor distancia con respecto al receptor original teniendo en cuenta su valor de 2,77 Å.

El bio-receptor que se presenta como mejor opción es el 2.1 rediseño 5-HT1E conformado por los aminoácidos del sitio activo y polimerización con 50 unidades de estireno en sus terminales, debido a que cumplió con cada uno de los criterios mencionados anteriormente, obteniendo una energía de interacción por la serotonina de -6,5 kcal/mol, una alta selectividad por cada uno de los sustratos evaluados y distancias de interacción de los puentes de hidrógeno de 2,20 Å en promedio.

Conclusiones

El análisis del sitio activo de las proteínas involucradas en los procesos serotoninérgicos permitió el diseño de bio-receptores peptídicos logrando una energía de interacción que sugiere la mimetización de los receptores naturales 5-HT1A, SERT, 5-HT1D y el 5-HT1E.

En cuanto al diseño de los bio-receptores se observó que los modelos propuestos con polimerizaciones de 50 unidades de estireno presentaron una mayor energía de interacción por la serotonina debido al aumento de su volumen estérico y la limitación de los lugares de interacción. Asimismo, los bio-receptores diseñados, especialmente con puentes de metileno, no presentaron un patrón concluyente en su energía de interacción por la serotonina.

La selección del bio-receptor dejó como mejor bio-receptor *in silico* al 2.1 rediseño 5-HT1E constituido por los aminoácidos del sitio activo y 50 unidades de estireno en sus extremos terminales. En términos estructurales se logró una miniaturización del receptor 5-HT1E el cual cuenta con 365 residuos, mientras que el bio-receptor diseñado dispone de 16 aminoácidos. En cuanto a las interacciones simuladas, se observó un aumento en la energía de interacción por la serotonina, al pasar de -6,1 kcal/mol a -6,5 kcal/mol.

Así mismo, el bio-receptor seleccionado obtuvo distancias de interacción de los puentes de hidrógeno de 2,20 Å en promedio y demostró tener una alta selectividad por la serotonina discriminando los interferentes comunes presentados en el medio como los son la dopamina, adrenalina, noradrenalina, glucosa y lactato. Es importante aclarar que hasta no hacer los ensayos y hallar las constantes de asociación y disociación, continúa siendo una predicción desde la bioinformática.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por el Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación, Colombia, con el proyecto “Diseño de inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) por una metodología QSAR. Síntesis enantioselectiva y evaluación de su actividad citotóxica”, Contrato 400-2020.

Referencias

1. L Mohammad, L Moses, S Gwaltney. Serotonin: a review. **Journal Of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, **31**, 187-189 (2008).
2. E Jesulola, P Micalos, I Baguley. Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis model - are we there yet? **In Behavioural Brain Research**, **341**, 79-90 (2018).
3. A Athie, J Gómez, J Zárate, M Sanabria, A Diaz, J Correa, et al. Tumores carcinoides gastrointestinales, experiencia en Médica Sur. **Scielo Analytcs**, **34**, (2012).
4. I Apetrei, C Apetrei. Amperometric tyrosinase based biosensors for serotonin detection. **Romanian Biotechnological Letters**, **18**, 8253-8262 (2013).
5. J Oni, T Nyokong. Simultaneous voltammetric determination of dopamine and serotonin on carbon paste electrodes modified with iron (II) phthalocyanine complexes. **Analytica Chimica**, **434**, 9-21 (2001).
6. AB Hernández. Diseño y caracterización de un Bioelectrodo basado en la monoamino oxidasa-A, para la detección de serotonina en un fluido corporal simulado. Trabajo de grado de Maestría en Ciencias en Neurometabolismo. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México (2018).
7. A Macías, J Hurtado, D Cedeño, F Vite, M Scott, P Vallejo, M Macías, J Santana, M Espinoza, S Ubillús, S Arteaga, O Torres, J Pigüave, L Mera, D Chavarría, K Intriago. **INTRODUCCIÓN AL ESTUDIO DE LA BIOQUÍMICA**. Editorial Área de Innovación y Desarrollo, S.L. Alcoy (2018).
8. I Bazin, S Tria, A Hayat, J Marty. New biorecognition molecules in biosensors for the detection of toxins. **Biosensors And Bioelectronics**, **87**, 285-298 (2017).
9. G Morris, R Huey, A Olson. Using AutoDock for Ligand-Receptor Docking. **Current Protocols In Bioinformatics**, **24**, (2008).
10. L Rodriguez Salazar, J Guevara Pulido, A Cifuentes. In Silico Design of a Peptide Receptor for Dopamine Recognition. **Molecules**, **25**, (2020).
11. Y Ishigaki, T Shimajiri, T Takeda, R Katoono, T Suzuki. Longest C-C Single Bond among Neutral Hydrocarbons with a Bond Length beyond 1.8 Å. **Chem**, **4**, 795-806 (2018).
12. E Rand, A P
13. eriyakaruppan, Z Tanaka, D Zhang, M Marsh, R Andrews, *et al.* A carbon nanofiber-based biosensor for simultaneous detection of dopamine and serotonin in the presence of ascorbic acid. **Biosensors And Bioelectronics**, **42**, 434-438 (2013).
14. D David, A Gardier. Les bases de pharmacologie fondamentale du système sérotoninergique: application à la réponse antidépressive [The pharmacological basis of the serotonin system: Application to antidepressant response]. **L'Encephale**, **42**, 255-263 (2016).
15. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5960> Consultado: 27/03/2022
16. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1182> Consultado: 27/03/2022
17. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6288> Consultado: 27/03/2022
18. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6057> Consultado: 27/03/2022
19. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5951> Consultado: 27/03/2022
20. GA Jeffrey. An introduction to hydrogen bonding. En: *Topics in Physical Chemistry* - Oxford University Press, Vol. 12, New York (1997).