

ESTUDIOS A NIVEL MOLECULAR DE LAS INTERACCIONES DE LOS PRINCIPALES CO-SOLVENTES UTILIZADOS PARA ESTABILIZAR PROTEÍNAS DE INTERÉS BIOLÓGICO

Paulina Torres-Alcántara¹ y Martin González-Andrade¹

¹Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México 04510, México. martin@bq.unam.mx

Palabras clave: Biofármacos, formulaciones, Dinámica Molecular

Introducción. Actualmente, las formulaciones de los biofármacos están impulsado en gran medida por el conocimiento y la experiencia previos, asistidos por una extensa caracterización analítica. Las formulaciones modernas tienden a mantener la composición lo más simple posible [1]. Esto principalmente se debe al hecho de que realizar estudios de detección de un mayor número de combinaciones de excipientes puede no ser factible debido a la presión de tiempo inherente al desarrollo de biofármacos. En este trabajo teórico práctico el objetivo fue estudiar a nivel molecular las interacciones de los principales co-solventes utilizados para estabilizar proteínas de interés biológico

Metodología. Se utilizó la enzima tirosin-fosfatasa humana 1B(hPTP1B), por lo tanto, mediante ensayos enzimáticos se monitoreo su actividad enzimática en presencia y ausencia de distintos co-solventes. El efecto de los co-solventes se estudió mediante la construcción de matrices que consistieron en dos o tres co-solventes juntos y posteriormente de algunos co-solventes de forma individual con las enzimas. Adicionalmente, de las matrices realizadas se seleccionaron ciertas matrices para realizar simulaciones de dinámica molecular (SDM) [3].

Resultados. Las matrices se almacenaron a temperatura ambiente y se estudiaron durante 5 días, pues la hPTP1B es sensible a los cambios de temperatura. En la fig. 1 se observa que la presencia de co-solventes permite mantener la actividad enzimática a lo largo de 5 días aun cuando las condiciones físicas no son las más favorables

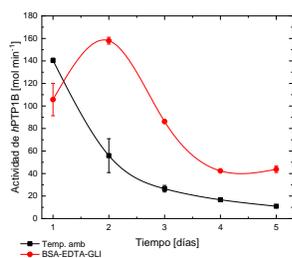


Fig. 1. Actividad enzimática en función del tiempo de las matrices 22 y 23 de hPTP1B.

Adicional al ensayo enzimático se realizó una SDM, fig. 2, en la cual se observa un reacomodo de las moléculas lo cual podría estar estabilizando a la proteína de interés al disminuir interacciones desfavorables así como también propiciar interacciones que permitan conservar la estructura nativa y funcional de la hPTP1B.

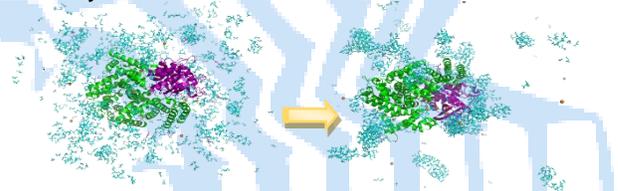


Fig. 2. Estructuras tridimensionales de la SDM de 50 ns de hPTP1B-BSA-EDTA-GU a 4°C. La hPTP1B es representada en color morado, la BSA en color verde, el EDTA en líneas lilas, la glicina en líneas azules y las esferas naranjas son los iones sodio. Para ver el video de la SDM visítarla siguiente liga: <http://biosensor.facmed.unam.mx/tesis-paulina/PTP-BSA-EDTA-GU.mp4>

Conclusiones. La enzima es sensible a cambios en la temperatura de almacenamiento, la presencia de los co-solventes adecuados permite conservar la actividad enzimática, pues el tipo de interacciones que podrían estar sucediendo entre los co-solventes, la proteína y el medio afectan tanto la estabilidad del sistema como la actividad de la enzima

Agradecimiento. DGAPA-UNAM (PAPIIT-IN203222), DGTIC-UNAM (LANCAD-UNAM-DGTIC-313) y AI CONACYT por la Beca Nacional para Estudios de Posgrado (CVU) a Paulina Torres-Alcántara.

Bibliografía. 1.Harini N, Condado I, Patel B, Heding K, Bjelke J, Egebjerg T, Butté A, Sokolov M, Lorenzen N, and Arosio P, 2021. *Molecular Pharmaceutics* 18: p. 3843-3853. 2. Arsiccio, A., et al., Designing the Optimal Formulation for Biopharmaceuticals: A New Approach Combining Molecular Dynamics and Experiments. *J Pharm Sci*, 2019. 108(1): p. 431-438.