



UNIVERSIDAD  
**COMPLUTENSE**  
MADRID

Proyecto de Innovación

Convocatoria 2021/2022

Nº de proyecto: 337

Aula virtual para el aprendizaje práctico de la resolución enzimática de ácidos 2-arilpropiónicos usando estudios computacionales (Docking), hidrólisis enzimática y resonancia magnética nuclear (RMN)

Responsable del proyecto:  
Almudena Perona Requena

Facultad de Farmacia

Departamento: Química en Ciencias Farmacéuticas

## 1. Objetivos propuestos en la presentación del proyecto

La utilización de elementos multimedia en el entorno educativo permite una comunicación virtual entre el alumnado y el profesorado, siendo el aula virtual el entorno adecuado para construir esa vía de comunicación. En este Proyecto de Innovación Docente de la convocatoria 2021-2022 propusimos el diseño de un aula virtual con contenidos audio-visuales y tutoriales on-line, dentro de las asignaturas de Química Farmacéutica II y Biotecnología Farmacéutica II en el Grado de Farmacia. El contenido del aula virtual fue concebido para facilitar la comprensión de uno de los conceptos más difíciles de la Química Orgánica y Farmacéutica como es la estereoquímica, y en particular la quiralidad y la obtención de enantiómeros puros.

El objetivo general del proyecto consistió en diseñar, elaborar y evaluar un aula virtual con videos tutoriales on-line para la resolución enzimática de ésteres de ácidos 2-arilpropiónicos usando métodos computacionales (Docking), síntesis enzimática y espectroscopía RMN

De manera más específica, los objetivos propuestos fueron los siguientes:

- Preparación de un aula virtual en la plataforma Moodle 3.8 en el campus virtual UCM que albergue el contenido multimedia del proyecto.
- Desarrollo de material audiovisual (videos, tutoriales, imágenes, audio, etc.) centrado en la realización de las tres partes que componen la nueva práctica.
- Facilitar al alumnado información más detallada sobre el uso de herramientas computacionales como el Docking en la preparación de fármacos, incorporando nuevas competencias a su aprendizaje.
- Enseñar al discente cómo acceder y obtener la información necesaria de bases de datos específicas para la realización de Docking.
- Facilitar al estudiantado información mucho más extensa del desarrollo de procesos biocatalíticos de preparación de fármacos, permitiéndole relacionar e integrar los conocimientos adquiridos en la asignatura teórica y práctica.
- Elaboración de cuestionarios interactivos en el campus virtual que permitan una evaluación rápida de los conocimientos adquiridos durante las prácticas y resolución de dichos cuestionarios de igual manera que los anteriores.
- Promover un aprendizaje combinado y colaborativo entre el profesorado y el alumnado a través del aula virtual, de manera que se mejore la calidad al proceso de enseñanza/aprendizaje que posteriormente se traduzca en la mejora de los rendimientos académicos.
- Eliminar barreras espacio-temporales en la enseñanza, de manera que al disponer de esta herramienta audiovisual de forma on-line permitirá que el estudiantado pueda

disponer y realizar la práctica independientemente del horario en el que la realizan y del lugar donde se encuentren.

- Evaluar la actividad realizada mediante una encuesta dirigida al alumnado de los grupos de prácticas, con el fin de conocer su grado de satisfacción con las actividades realizadas.

- Aumentar la motivación del discente mediante la integración de las nuevas tecnologías en las clases prácticas de química en el Grado en Farmacia.

- Ampliar el acceso a todo tipo de estudiantes, al incluir en los videos subtítulos tanto en castellano para integrar personas con posibles discapacidades, como subtítulos en inglés para incluir al alumnado internacional.

## **2. Objetivos alcanzados**

El objetivo principal del proyecto ha sido alcanzado, se ha creado un aula virtual en la plataforma Moodle 3.8 en el campus virtual UCM que alberga el material online necesario para realizar la resolución enzimática de ésteres de ácidos 2-arilpropiónico. Hemos realizado un piloto del aula virtual en el que se han involucrado estudiantes de master de la UCM. La decisión de comenzar en estudios de máster para probar la efectividad del proyecto se debió a que en la etapa de máster el alumnado es más maduro, tiene una mayor capacidad de comprensión y una visión más crítica y objetiva con lo que la puesta a punto de los tutoriales on-line ha sido más sencilla.

De manera más concreta, los objetivos alcanzados han sido los siguientes:

- Durante el primer cuatrimestre del curso 2021/22 se elaboró un ejercicio sencillo de Docking, herramienta básica dentro de los estudios de interacciones por métodos computacionales.

- Se realizó también un tutorial y un cuaderno de prácticas acerca de cómo realizar un ejercicio sencillo de Docking, herramienta básica dentro de los estudios de interacciones por métodos computacionales.

- Dicho tutorial y cuaderno de prácticas se incorporaron al aula virtual creada en la plataforma Moodle 3.8 en el campus virtual UCM, así como los resultados del experimento de docking.

- Se elaboraron cuestionarios sobre los conocimientos básicos de la técnica y el contenido de la práctica, además de generar un foro de discusión para reflexionar conjuntamente sobre los resultados.

- Durante el segundo cuatrimestre del curso 2021/22 se realizó la práctica de Docking con los estudiantes de máster.

- Durante todo el curso se puso a punto la reacción enzimática en el laboratorio para la resolución de mezclas racémicas de ácidos 2-arilpropiónicos como el (*R,S*)-ibuprofeno
- Además, a lo largo de todo el curso se han ido analizando los espectros de Resonancia Magnética Nuclear de los productos obtenidos durante la reacción.
- Durante la prórroga de 3 meses se han analizado los resultados de los experimentos, y se ha realizado el video tutorial acerca de la práctica que engloba la realización del ejercicio de Docking, como realizar la reacción enzimática en el laboratorio y el análisis de los resultados por Resonancia Magnética Nuclear.
- Al no haber estudiantes extranjeros en el grupo que necesitasen el material en otro idioma no realizaron los mismos en inglés.
- Se ha preguntado a los estudiantes acerca de su valoración de este tipo de herramientas didácticas, con el fin de conocer realmente su utilidad en el entorno universitario.

### **3. Metodología empleada en el proyecto.**

Tal y como se planteó en la propuesta del proyecto, la metodología seguida para el desarrollo del mismo ha consistido en la siguiente:

En un primer estadio se diseñó el experimento de la parte computacional, para ello se realizó la práctica del docking y se puso a punto, para ello hubo que instalar los programas utilizados (Autodock) y hubo que hacer uso de las bases de datos, para posteriormente crear el material multimedia, el cuaderno de prácticas, así como se elaboró el fundamento teórico de dicho experimento computacional. Como se mencionó en el proyecto de innovación los programas utilizados fueron libres y gratuitos.

En un segundo estadio del proyecto se puso a punto el experimento en el laboratorio de la síntesis quimioenzimática enantioselectiva del (*S*)-ibuprofeno. En esta segunda etapa, al igual que hicimos en la primera se realizó una explicación teórica del experimento para ser incluida posteriormente en el aula virtual y en el tutorial on-line.

El proyecto continuó en un tercer estadio con el análisis por Resonancia Magnética Nuclear de los compuestos obtenidos en la reacción enzimática.

Por último, se elaboró el aula virtual que contenía los cuadernos de prácticas, así como las explicaciones teóricas de cada una de las etapas del proyecto, además de realizar en el campus virtual los cuestionarios para evaluar los conocimientos adquiridos y las encuestas de opinión.

Durante las prórroga del proyecto se han elaborado los contenidos multimedia que contienen la información relativa a los tres experimentos realizados durante el proyecto.

#### 4. Recursos humanos.

El equipo participante del proyecto está compuesto por los siguientes miembros:

Miembros PDI.

- D.<sup>a</sup> Almudena Perona Requena. Profesora Contratada Doctora Interina del Dpto. de Química en Ciencias Farmacéuticas (Unidad Docente de Química Orgánica y Farmacéutica)
- D.<sup>a</sup> María Pilar Hoyos Vidal. Profesora Contratada Doctora del Dpto. de Química en Ciencias Farmacéuticas (Unidad Docente de Química Orgánica y Farmacéutica)
- D. Pedro Ramírez López. Profesor Contratado Doctor del Dpto. de Química en Ciencias Farmacéuticas (Unidad Docente de Química Orgánica y Farmacéutica)
- D.<sup>a</sup> Aida Flores Aguilar-Amat. Profesora Ayudante Doctora del Dpto. de Química en Ciencias Farmacéuticas (Unidad Docente de Química Orgánica y Farmacéutica)
- D. Carlos Antonio Martínez Espinosa. Profesor Asociado del Dpto. de Química en Ciencias Farmacéuticas (Unidad Docente de Química Orgánica y Farmacéutica)

Todas las profesoras y profesores han participado como docentes en asignaturas de Química del Dpto. de Química en Ciencias Farmacéuticas sobre las que se planificó este Proyecto de Innovación Docente.

Miembros estudiantes:

- D.<sup>a</sup> Cecilia María García Oliva y D. Alejandro Merchán del Real estudiantes de doctorado de la Facultad de Farmacia de la UCM.
- D.<sup>a</sup> Nada Hadri, D.<sup>a</sup> Ana Jiménez Sánchez y D. Juan Iniesta Meco estudiantes del último curso del Grado en Farmacia de la UCM.

#### 5. Desarrollo de las actividades.

Durante los primeros meses de trabajo, al inicio del curso 2021-2022, el equipo instaló los programas necesarios para realizar los ejercicios computacionales, adquirió los materiales necesarios para realizar la síntesis enzimática de S-ibuprofeno y para realizar los espectros de Resonancia Magnética Nuclear. Una vez que el equipo de trabajo contó con todo el material necesario para realizar las tres partes de la práctica comenzamos a poner a punto los distintos experimentos.

Antes de realizar los videos tutoriales el equipo de trabajo comenzó a realizar por una parte los estudios computacionales para estudiar la forma de unión del éster etílico de (R,S)-ibuprofeno con la lipasa de *Candida rugosa* usando la técnica de Docking por medio del programa Autodock. Para poner a punto el método de trabajo, se tuvieron que optimizar las estructuras de los ligandos ((R,S)-ibuprofeno), la estructura de la enzima

(lipasa de *Candida rugosa*), parametrizar el sitio de unión, llevar a cabo el docking optimizando el número de soluciones a tener en cuenta y por último analizar los resultados.

De la misma manera se realizó en el laboratorio la síntesis enzimática del (S)-ibuprofeno a partir de la mezcla racémica del éster etílico de (R,S)-ibuprofeno. Para ello hubo que preparar los medios de reacción, así como poner a punto los tiempos de reacción y el aislamiento del producto obtenido.

Una vez que se obtuvo el producto deseado se realizaron los espectros de Resonancia Magnética Nuclear, que posteriormente fueron analizados para comprobar que efectivamente la reacción había sido un éxito.

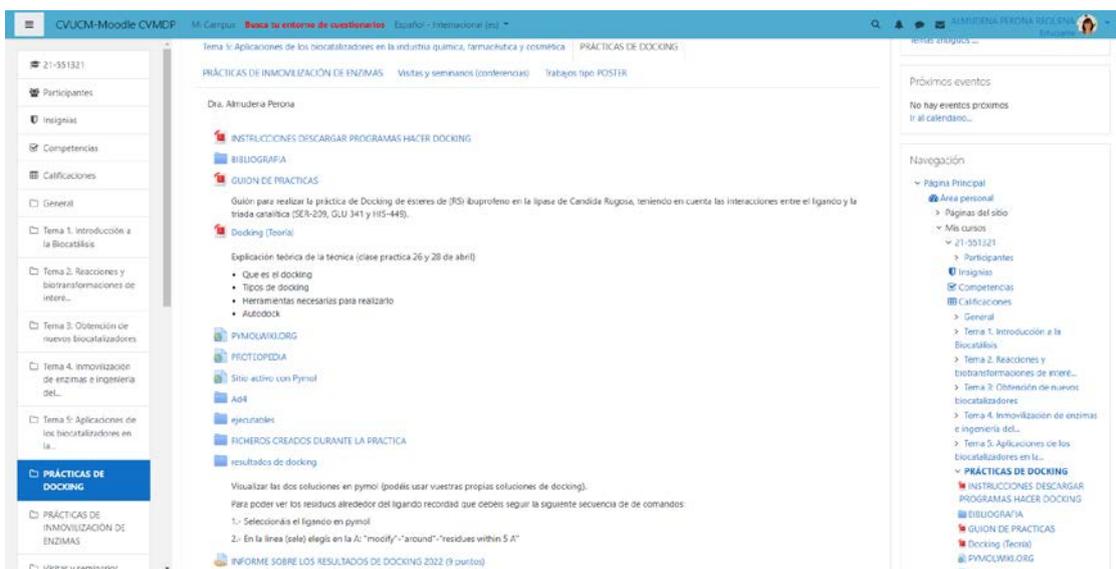
El siguiente paso después de poner a punto los experimentos fue elaborar el material didáctico necesario para que los estudiantes sean capaces de realizar los experimentos. Se crearon unos cuadernillos de prácticas y unas presentaciones para los participantes y por último se realizaron los videos tutoriales para ser subidos al campus virtual.

Además, se realizaron autoevaluaciones en el campus para evaluar los conocimientos adquiridos durante la práctica, y se llevó a cabo un test de satisfacción con el fin de evaluar la satisfacción del alumnado al realizar el ejercicio práctico y para poder detectar posibles mejoras en futuras convocatorias.

El material audiovisual creado para este proyecto de innovación docente además de estar incluido en el aula virtual creada para tal efecto se ha subido al canal de YouTube del departamento de Química en Ciencias Farmacéuticas de la facultad de Farmacia de la UCM de la universidad complutense de Madrid.

## 6. Anexos.

### 6.1.- Aula virtual



The screenshot shows a Moodle course page for 'PRÁCTICAS DE DOCKING'. The page is in Spanish and is titled 'tema 5: Aplicaciones de los biocatalizadores en la industria química, farmacéutica y cosmética'. The course is managed by 'Dña. Altrudera Perona'. The page content includes a list of resources and activities: 'INSTRUCCIONES DESCARGAR PROGRAMAS HACER DOCKING', 'BIBLIOGRAFIA', 'GUIÓN DE PRÁCTICAS', and 'Docking (Teoría)'. The 'Docking (Teoría)' activity is currently selected and shows a description of the practical work, including a list of topics: 'Que es el docking', 'Tipos de docking', and 'Herramientas necesarias para realizarlo'. Below the description, there are links to 'PYMOLWIKI.ORG', 'PRACTODPEDIA', 'Sitio externo con PyMol', 'Aq4', 'ejecutables', and 'FICHEROS CREADOS DURANTE LA PRACTICA'. The page also features a navigation menu on the right side with options like 'Página Principal', 'Área personal', 'Páginas del sitio', and 'Mis cursos'. The course is part of a larger program 'PRÁCTICAS DE INMOVILIZACIÓN DE ENZIMAS'.

## 6.2.- Test de autoevaluación. (El nombre de los estudiantes y su imagen se ha borrado para respetar su privacidad).

CVUCM-Moodle CVMDP Mi Campus **Busca tu entorno de cuestionarios** Español - Internacional (es) ALMUDENA PERONA REGUENSA

ENTRADAS TIPO de KORTMETS (10)

Grupos separados: Todos los participantes

Mostrando solo las 10 primeras preguntas, ver las respuestas de forma individual o descargar una tabla con la información para ver todas.

Descargar datos de tabla como: Valores separados por comas (csv) Descargar

Imagen del usuario	Nombre / Apellido(s)	Grupos	Fecha	En inglés, acoplamiento de ...	Cargas puntuales	Acronimo de la Base de ...	Si quisieras modificar el ...	¿Cuál es el modelo más ...	¿Cuál es la aproximación ...	¿De qué depende, en ...	¿En qué modelo se ...	De los tres tipos de ...	¿Qué evalúa una función de ...
			martes, 3 de mayo de 2022, 18:29	d) Docking	c) Gasteiger.	c) PDB.	c) Modelado por Homología.	b) El potencial de Lennard-Jones.	a) Modelo Coulómbico.	c) De la posición relativa de los átomos implicados en la interacción y su carga.	b) Modelo de solvente explícito.	a) Llave-cerradura.	c) La energía libre de Gibbs del complejo ligando-receptor.
			jueves, 5 de mayo de 2022, 10:57	d) Docking	c) Gasteiger.	c) PDB.	a) Docking.	b) El potencial de Lennard-Jones.	c) El potencial de Lennard-Jones.	c) De la posición relativa de los átomos implicados en la interacción y su carga.	b) Modelo de solvente explícito.	a) Llave-cerradura.	b) La constante de equilibrio del complejo ligando-receptor.
			martes, 3 de mayo de 2022, 11:55	d) Docking	c) Gasteiger.	c) PDB.	c) Modelado por Homología.	b) El potencial de Lennard-Jones.	a) Modelo Coulómbico.	c) De la posición relativa de los átomos implicados en la interacción y su carga.	b) Modelo de solvente explícito.	a) Llave-cerradura.	a) La unión ligando-receptor.
			miércoles, 4 de mayo de 2022, 17:58	a) Fitting.	c) Gasteiger.	c) PDB.	c) Modelado por Homología.	b) El potencial de Lennard-Jones.	a) Modelo Coulómbico.	c) De la posición relativa de los átomos implicados en la interacción y su carga.	b) Modelo de solvente explícito.	a) Llave-cerradura.	c) La energía libre de Gibbs del complejo ligando-receptor.

## 6.3.- Cuadernillo de prácticas. Imágenes del tutorial creado para que los estudiantes realicen la práctica.

### 6.3.1.- Fundamento teórico

**MÁSTER EN BIOCATALISIS APLICADA Y BIOTRANSFORMACIONES: PRACTICAS DE DOCKING**

**INTRODUCCION**

Las enzimas se utilizan ampliamente en reacciones de síntesis orgánica como biocatalizadores sostenibles<sup>[1,2]</sup> siendo las enzimas hidrolíticas especialmente útiles, ya que pueden ser utilizadas frente una amplia gama de sustratos con alta especificidad, son estereoselectivas, están disponibles comercialmente y no requieren costosos sistemas de regeneración del cofactor. Estos biocatalizadores se han utilizado en un gran número de aplicaciones industriales, como son la industria farmacéutica, química, alimentaria etc.<sup>[3,4]</sup>

Los métodos in silico han sido desarrollados para predecir afinidad, actividad y selectividad en las proteínas basadas en su información estructural.<sup>[5]</sup> En el desarrollo de fármacos, el docking se utiliza habitualmente para identificar nuevos compuestos mediante la detección virtual de bibliotecas de pequeñas moléculas,<sup>[6]</sup> además, los métodos de docking también se aplican con éxito para predecir los sustratos más probables de enzimas con estructura conocida<sup>[7,8]</sup>

El ácido (R,S)-2-(4-isobutifenil)propanoico (ibuprofeno) se usa como fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), cómo antihipertensivo, analgésico y antiinflamatorio. Esta molécula posee un centro estereogénico en la posición alfa con respecto al ácido carboxílico, lo que hace que coexista en forma de dos enantiómeros. En el caso del ibuprofeno, el enantiómero (S) es 160 veces más activo que el enantiómero (R). Por lo tanto, es importante el uso de sólo el enantiómero activo, siendo un gran desafío separar estos enantiómeros para obtener una sustancia pura biológicamente activa. Los métodos clásicos para obtener enantiómeros puros vía la química tradicional son caros por lo que el uso de enzimas altamente enantioselectivas se muestra como una de las mejores alternativas para la síntesis de este tipo de compuestos.

En el caso de los ácidos 2-arilpropiónicos los mejores candidatos para una resolución de los racematos (RS) son las lipasas ya que hidrolizan o esterifican solo uno de los enantiómeros. Particularmente la Lipasa de *Candida rugosa* es la enzima empleada para separar el racemato (RS) del ibuprofeno, ya que solamente hidroliza el enantiómero (S). En esta hidrólisis están implicados tres residuos del centro activos, llamados triada catalítica, (SER-209, GLU 341 y HIS-449).<sup>[9]</sup>

The reaction scheme shows the hydrolysis of (R,S)-ibuprofen. The reactant is (R,S)-ibuprofen, which is a racemic mixture of (S)-ibuprofen and (R)-ibuprofen. The reaction is catalyzed by Lipase from *Candida rugosa*. The products are (S)-ibuprofen and (R)-ibuprofen, along with the release of EtOH (ethanol).

**Referencias**

[1] Wong CH and Whitesides, G.M. 1994 Enzymes in Synthetic Organic Chemistry, Elsevier, Oxford.

[2] Schneider MP 1986 Enzymes as Catalysts in Organic Synthesis, Reidel, Dordrecht, The Netherlands.

[3] Faber K, "Biotransformations in Organic Chemistry. A textbook". 6th ed.; Springer-Verlag: Berlin Heidelberg, 2011.

[4] Jäse A, Seelbach K, Wandrey, C., "Industrial Biotransformations". 2nd ed.; John Wiley and sons, Inc. Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, 2006.

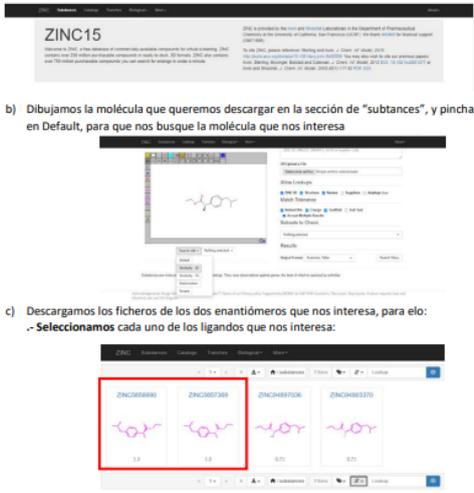
[5] Ortiz AR, Gomez-Puertas P, Leo-Macias A, Lopez-Romero P, Lopez-Viña E, Morrales A, Murcia M, & Wang K. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2006, 6: 41-55.

### 6.3.2.- Búsquedas en bases de datos.

**2.A) OBTENCION DE LAS COORDENADAS DE LOS LIGANDOS**

Necesitamos los archivos de coordenadas de las estructuras del éster etílico de (R) y (S)-ibuprofeno, usamos base de datos de estructuras de ligandos ZINC para obtenerlos.

a) ENTRAMOS EN LA PAGINA DE ZINC: <https://zinc.docking.org/>



b) Dibujamos la molécula que queremos descargar en la sección de "substances", y pinchamos en Default, para que nos busque la molécula que nos interesa

c) Descargamos los ficheros de los dos enantiómeros que nos interesa, para ello:  
.- Seleccionamos cada uno de los ligandos que nos interesa:

.- Descargamos las coordenadas de cada uno de los ligandos en formato mol2:

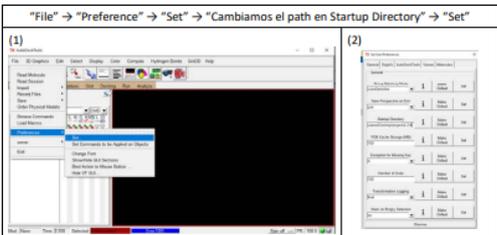
(S)-Etil-ibuprofeno	(R)-Etil-ibuprofeno
---------------------	---------------------

### 6.3.2.- Aprendizaje de Autodock.

**3. DOCKING CON AUTODOCK:**

**3.A) CONFIGURAR EL ENTORNO DE TRABAJO:**

Definimos en el programa de AutodockTools, donde está la carpeta con la que vamos a trabajar. Es necesario que todos los ficheros de coordenadas tanto de la proteína como del ligando, así como los programas de cálculo de las grids de interacción (autogrid.exe), de docking (autodock.exe) y de parámetros (AD4\_parameters.dat, AD4.1\_bound.dat) se encuentren en la misma carpeta de trabajo.



**3B) PASO 1. CREAMOS LOS FICHEROS PDBQT CON AUTODOCKTOOLS**

### 6.4.- Enlace al canal de YouTube que alberga el video-tutorial:

- Enlace al canal del Departamento de Química en Ciencias Farmacéuticas  
<https://www.youtube.com/channel/UCjy-I7UcbvxCzC-PQeoiew/featured>
- Enlace a la Sección de Química Orgánica  
<https://www.youtube.com/playlist?list=PLhKoiH0EXtx-oDzdsBiURGHCB0aXqW6i6>
- Enlace al Video del Proyecto de Innovación Docente PID:337  
<https://youtu.be/5d7NA6rGXUA>