



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO**



Instituto de Investigaciones Químico Biológicas

Maestría en Ciencias Químicas

“Estudio de Acoplamiento y Dinámica Molecular de una
Serie de Ligandos tipo aza-heterociclos contra Dianas de
Agentes Bacteriológicos”

Tesis que presenta:

I.Q. Karen Astrid Ortiz Vargas

Para obtener el Grado de Maestra en Ciencias Químicas

Directores de Tesis:

D.C. Pedro Navarro Santos

D.C. Rafael Herrera Bucio

Morelia, Michoacán

Febrero de 2025

Créditos Institucionales

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Cómputo de Alto Desempeño del Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, con la dirección del D.C. Pedro Navarro Santos y co-dirección del D.C. Rafael Herrera Bucio y con la beca de Maestría con número de 1267478 otorgada por el Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT).

Dedicatorias

Para mi mamá por su guía y apoyo incondicional durante toda mi vida especialmente durante este camino recorrido, por siempre ayudarme y darme ánimos cuando más lo necesito y por respetar y apoyar cada una de las decisiones académicas y profesionales que he elegido.

A mi papá por su apoyo y aliento que me ha dado durante este trayecto académico y su guía a lo largo de la vida.

Agradecimientos

Agradezco a Dios por darme la guía, la fortaleza, el valor y la persistencia necesarias para concluir esta meta académica.

Agradezco a mis asesores de este proyecto, el Dr. Pedro Navarro Santos y el Dr. Rafael Herrera Bucio por su apoyo, paciencia, enseñanzas y guía a lo largo de esta maestría, para la conclusión de este trabajo y el gran conocimiento nuevo al que me permitieron acceder.

Agradezco a mi comité tutorial la Dra. Judit Araceli Aviña Verduzco, el Dr. Hugo Alejandro García Gutiérrez y el Dr. Julio César Ontiveros Rodríguez por su apoyo y observaciones a lo largo del proyecto que permitieron concluir dicho trabajo y ampliar mi visión y conocimiento sobre los temas analizados.

Índice

<i>Índice de Tablas</i>	<i>VIII</i>
<i>Índice de Figuras</i>	<i>XI</i>
<i>Abreviaturas, símbolos y acrónimos</i>	<i>XIII</i>
<i>Resumen</i>	<i>XVI</i>
<i>Abstract</i>	<i>XVII</i>
1. Introducción	1
1.1 Historia de los antibióticos.....	1
1.2 Uso de la penicilina y generación de su resistencia	3
1.3 Diferencias entre bacterias grampositivas y gramnegativas	4
1.4 Modos de acción de los antibióticos	5
1.5 Resistencia bacteriana.....	5
1.6 <i>Escherichia coli</i>	6
1.7 <i>Streptococcus pneumoniae</i>	7
1.8 <i>Staphylococcus aureus</i>	7
1.9 Mecanismos de resistencia bacteriana.....	8
1.10 Bombas de eflujo.....	9
1.11 Desarrollo de fármacos asistido por computadora.....	10
1.12 Modelado molecular con cálculos de Teoría de los Funcionales de la Densidad.....	11
2. Antecedentes	13
2.1 Receptor de proteína efectora NleL (PDB ID: 3NAW).....	13
2.2 Receptor de proteína de unión a la penicilina 1b (PDB ID: 2UWX)	15
2.3 Receptor de proteína de unión a la penicilina 2a (PDB ID: 5M19)	17
2.4 Receptor de bomba de eflujo NorA (PDB ID: 7LO8)	19
3. Justificación	22
4. Hipótesis	24
5. Objetivos	26
5.1 Objetivo general.....	26
5.2 Objetivos específicos.....	26
6. Metodología	27

6.1	Marco teórico	27
6.1.1	Acoplamiento Molecular (Molecular Docking).....	27
6.1.2	Dinámica Molecular (Molecular Dynamics)	29
6.1.3	Cálculos de energías libres de unión.....	30
6.1.4	Análisis QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationships).....	31
6.1.5	Análisis de propiedades fisicoquímicas y análisis ADME.....	31
6.1.6	Determinación de la reactividad global y local intrínseca de los ligandos aza-heterociclos estudiados.....	34
6.2	Preparación computacional de Sistemas Bioquímicos.....	35
6.2.1	Acoplamiento molecular.....	35
6.2.1.1	Preparación de ligandos	35
6.2.1.2	Preparación de receptores y de los acoplamientos moleculares.....	35
6.2.1.2.1	<i>Receptor 3NAW</i>	35
6.2.1.2.2	<i>Receptor 2UWX</i>	36
6.2.1.2.3	<i>Receptor 5M19</i>	37
6.2.1.2.4	<i>Receptor 7LO8</i>	38
6.2.2	Dinámica molecular	39
6.2.2.1	Dinámica molecular con el software NAMD 3.0.....	40
6.2.2.2	Dinámica molecular con el software Amber20.....	41
6.2.3	Análisis ADME y Farmacocinético	43
6.2.4	Análisis de la reactividad global y local intrínseca de los ligandos aza-heterociclos estudiados	44
7.	Resultados	46
7.1	Acoplamientos moleculares de los ligandos aza-heterociclos Lig1 al Lig8	46
7.1.1	Acoplamientos moleculares frente al receptor 3NAW	46
7.1.1.1	Acoplamientos moleculares en AutoDock4 y AutoDock Vina para 3NAW	46
7.1.1.2	Acoplamiento molecular dirigido flexible en AutoDock FR para 3NAW.....	47
7.1.2	Acoplamientos moleculares frente al receptor 2UWX	50
7.1.2.1	Acoplamientos moleculares en AutoDock Vina y AutoDock FR para 2UWX	50
7.1.3	Acoplamientos moleculares frente al receptor 5M19	52
7.1.3.1	Acoplamientos moleculares en AutoDock Vina y AutoDock FR para 5M19	52
7.1.4	Acoplamientos moleculares frente al receptor 7LO8.....	55
7.1.4.1	Acoplamiento molecular rígido global frente a 7LO8 en AutoDock4.....	55
7.2	Dinámicas moleculares de los ligandos aza-heterociclos Lig1 al Lig8.....	59
7.2.1	Dinámicas moleculares de ligandos Lig1 al Lig8 frente al receptor 3NAW	59
7.2.1.1	Dinámica molecular realizada en NAMD.....	59
7.2.2	Dinámicas moleculares de ligandos Lig1 al Lig8 frente al receptor 2UWX	63
7.2.2.1	Dinámica molecular realizada en NAMD.....	63
7.2.2.2	Dinámica molecular realizada en Amber	69
7.2.3	Dinámicas moleculares de ligandos Lig1 al Lig8 frente al receptor 5M19	71
7.2.3.1	Dinámica molecular realizada en NAMD.....	71
7.2.3.2	Dinámica molecular realizada en Amber	76
7.2.4	Dinámicas moleculares de ligandos Lig1 al Lig8 frente al receptor 7LO8	78
7.2.4.1	Dinámica molecular realizada en NAMD.....	78
7.2.4.2	Dinámica molecular realizada en Amber	82

7.3	Análisis ADME y Farmacocinético	85
7.3.1	Análisis ADME en SwissADME.....	85
7.3.2	Análisis Farmacocinético mediante cálculos de QSAR.....	86
7.3.2.1	IC ₅₀ y pIC ₅₀ de compuestos conocidos.....	87
7.3.2.2	LogP de compuestos conocidos	88
7.4	Análisis de la reactividad global y local intrínseca de los ligandos Lig1 al Lig8	90
7.4.1	Reactividad global de los ligandos Lig1 al Lig8	90
7.4.2	Reactividad local de los ligandos aza-heterociclos estudiados	91
7.4.2.1	Análisis de la principal o principales interacciones por puentes de hidrógeno entre el ligando con la mejor afinidad y posible inhibición y cada uno de los receptores	91
7.4.2.1.1	<i>Lig6 analizado para el receptor 3NAW</i>	91
7.4.2.1.2	<i>Lig6 analizado para el receptor 2UWX</i>	92
7.4.2.1.3	<i>Lig5 analizado para el receptor 5M19</i>	93
7.4.2.1.4	<i>Lig7 analizado para el receptor 7LO8</i>	94
8.	Conclusiones	96
9.	Bibliografías.....	97
10.	Anexos.....	110
10.1	Anexo I. Interacciones por puentes de hidrógeno durante 100 ns de las simulaciones de Dinámica Molecular de Amber	110
10.1.1	Receptor 2UWX	110
10.1.2	Receptor 5M19	111
10.1.3	Receptor 7LO8.....	112
10.2	Anexo II. Mapas de potencial electrostático de los ligandos Lig1 al Lig8.....	114
10.3	Anexo III. Funciones de Parr de los ligandos Lig1 al Lig8.....	115
10.4	Anexo IV. Resultados del reporte generado por la plataforma anti-plagio.....	124
10.5	Anexo V. Formato de declaración de originalidad y uso de Inteligencia Artificial	126

Índice de Tablas

Tabla 1. Energías de afinidad (kcal/mol) de los fármacos frente a la macromolécula 3NAW en los acoplamientos moleculares de AutoDock4 y AutoDock Vina.	46
Tabla 2. Energías de afinidad (kcal/mol) de cada uno de los ligandos aza-heterociclos estudiados frente a 3NAW en el acoplamiento molecular flexible con AutoDock FR.	47
Tabla 3. Energías de afinidad (kcal/mol) de los ligandos aza-heterociclos frente al receptor 2UWX en los acoplamientos moleculares en AutoDock Vina y AutoDock FR.	50
Tabla 4. Energías de afinidad (kcal/mol) de cada uno de los ligandos aza-heterociclos frente al receptor 5M19 en los acoplamientos moleculares con AutoDock Vina y AutoDock FR.	52
Tabla 5. Mejores energías de afinidad (kcal/mol) de cada uno de los ligandos aza-heterociclos estudiados frente al receptor 7LO8 en el acoplamiento molecular con AutoDock4.	55
Tabla 6. Energías de van der Waals, de van der Waals más electrostática y de afinidad (kcal/mol) de cada uno de los ligandos aza-heterociclos Lig1 al Lig8 frente al receptor 7LO8 en el acoplamiento molecular con AutoDock4.	56
Tabla 7. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 50 <i>ns</i> con 3NAW en NAMD.	60
Tabla 8. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 50 <i>ns</i> con 3NAW en NAMD.	60
Tabla 9. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 <i>ns</i> con 3NAW en NAMD.	62
Tabla 10. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 100 <i>ns</i> con 3NAW en NAMD.	63
Tabla 11. Energías libres de unión (kcal/mol) con MMGBSA de ligandos frente al receptor durante los últimos 50 <i>ns</i> de la trayectoria de 100 <i>ns</i> con 3NAW en NAMD.	63
Tabla 12. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 50 <i>ns</i> con 2UWX en NAMD.	64
Tabla 13. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 50 <i>ns</i> con 2UWX en NAMD.	65
Tabla 14. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 <i>ns</i> con 2UWX en NAMD.	67
Tabla 15. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 100 <i>ns</i> con 2UWX en NAMD.	68
Tabla 16. Energías libres de unión (kcal/mol) con MMGBSA de ligandos frente al receptor durante los últimos 50 <i>ns</i> de la trayectoria de 100 <i>ns</i> con 2UWX en NAMD.	69
Tabla 17. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 <i>ns</i> con 2UWX en Amber.	70
Tabla 18. Energías libres de unión (kcal/mol) con MMGBSA y MMPBSA de los ligandos frente al receptor 2UWX durante la trayectoria de 100 <i>ns</i> en los programas de Amber y LAMMPS.	70
Tabla 19. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 50 <i>ns</i> con 5M19 en NAMD.	72
Tabla 20. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 50 <i>ns</i> con 5M19 en NAMD.	72

Tabla 21. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 ns con 5M19 en NAMD.	74
Tabla 22. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 100 ns con 5M19 en NAMD.	75
Tabla 23. Energías libres de unión (kcal/mol) con MMGBSA de ligandos frente al receptor durante los últimos 50 ns de la trayectoria de 100 ns con 5M19 en NAMD.	75
Tabla 24. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 ns con 5M19 en Amber.	77
Tabla 25. Energías libres de unión (kcal/mol) con MMGBSA y MMPBSA de los ligandos frente al receptor 5M19 durante la trayectoria de 100 ns en los programas de Amber y LAMMPS.	77
Tabla 26. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 50 ns con 7LO8 en NAMD.	79
Tabla 27. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 50 ns con 7LO8 en NAMD.	79
Tabla 28. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 ns con 7LO8 en NAMD.	81
Tabla 29. Energías libres de unión (kcal/mol) con MMGBSA de ligandos frente al receptor durante los últimos 50 ns de la trayectoria de 100 ns con 7LO8 en NAMD.	81
Tabla 30. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 ns con 7LO8 RA en Amber.	83
Tabla 31. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 ns con 7LO8 RM en Amber.	84
Tabla 32. Energías libres de unión (kcal/mol) con MMGBSA y MMPBSA de los ligandos frente al receptor 7LO8 durante la trayectoria de 100 ns en los programas de Amber y LAMMPS.	85
Tabla 33. Propiedades físicoquímicas, lipofilicidad, solubilidad en agua, farmacocinética, semejanza con otros fármacos y química medicinal de los ligandos aza-heterociclos (Lig1-Lig8).	85
Tabla 34. Pa y Pi considerando la propiedad antiinfeccioso y antibacterial de los ligandos aza-heterociclos estudiados (Figura 1).	87
Tabla 35. IC ₅₀ (nM) y pIC ₅₀ de compuestos conocidos.	87
Tabla 36. LogP de compuestos conocidos.	88
Tabla 37. Actividad pIC ₅₀ y Descriptores (LogP, Energía de HOMO (eV) y Energía de LUMO (eV)) de compuestos conocidos.	88
Tabla 38. Actividad antiinfecciosa (Pa), descriptores (LogP, Energía de HOMO (eV) y Energía de LUMO (eV)) y pIC ₅₀ calculado con la ecuación 11 y reportado en la literatura de compuestos conocidos, ligandos Lig3 al Lig8 y otros compuestos de interés.	89
Tabla 39. Propiedades de reactividad intrínseca global (en eV) de cada uno de los ligandos Lig1 al Lig8	90

Tabla A1. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 100 ns de 2UWX en Amber.	110
Tabla A2. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 100 ns de 5M19 en Amber.	111
Tabla A3. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 100 ns de 7LO8 de RA en Amber.	112

Tabla A4. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 100 <i>ns</i> de 7LO8 de RM en Amber.	113
Tabla A5. Funciones de Parr del Lig1	115
Tabla A6. Funciones de Parr del Lig2	116
Tabla A7. Funciones de Parr del Lig3	116
Tabla A8. Funciones de Parr del Lig4	117
Tabla A9. Funciones de Parr del Lig5	118
Tabla A10. Funciones de Parr del Lig6	119
Tabla A11. Funciones de Parr del Lig7	120
Tabla A12. Funciones de Parr del Lig8	122

Índice de Figuras

Figura 1. Ligandos propuestos que son compuestos aza-heterociclos análogos al inhibidor 2-fenil-5-nitroindol (INF55).....	25
Figura 2. Estructura del ligando co-cristalizado con receptor PBP1b (Lig9).....	37
Figura 3. Estructura del ligando co-cristalizado con receptor PBP2a (Lig10).....	38
Figura 4. Interacciones y distancias (Å) presentes en los ligandos con los aminoácidos de la macromolécula 3NAW. a) Lig1 , b) oxacilina y c) mupirocina.	47
Figura 5. Interacciones y distancias (Å) presentes entre los ligandos con los aminoácidos de la macromolécula 3NAW. a) Lig1 , b) Lig2 , c) Lig3 , d) Lig4 , e) Lig5 , f) Lig6 , g) Lig7 y h) Lig8	49
Figura 6. Interacciones y distancias (Å) presentes entre los ligandos con los aminoácidos de la macromolécula 2UWX. a) Lig1 , b) Lig2 , c) Lig3 , d) Lig4 , e) Lig5 , f) Lig6 , g) Lig7 , h) Lig8 y i) Lig9 en pose nativa.	51
Figura 7. Interacciones y distancias (Å) presentes entre los ligandos con los aminoácidos de la macromolécula 5M19. a) Lig1 , b) Lig2 , c) Lig3 , d) Lig4 , e) Lig5 , f) Lig6 , g) Lig7 , h) Lig8 y i) Lig10	54
Figura 8. Interacciones y distancias (Å) presentes entre los ligandos con los aminoácidos de la macromolécula 7LO8. a) Lig1 , b) Lig2 , c) Lig3 d) Lig4 , e) Lig5 , f) Lig6 , g) Lig7 y h) Lig8 en la región de los aminoácidos claves (RA).....	57
Figura 9. Interacciones y distancias (Å) presentes entre los ligandos con los aminoácidos de la macromolécula 7LO8. a) Lig1 , b) Lig2 , c) Lig3 , d) Lig4 , e) Lig5 , f) Lig6 , g) Lig7 y h) Lig8 en la región media del canal (RM).	58
Figura 10. RMSD (Å), a) del receptor, b) del ligando respecto al receptor, c) del ligando respecto al receptor (acercamiento) y d) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 3NAW analizado durante 50 ns en NAMD.	59
Figura 11. RMSD (Å), a) del receptor, b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 3NAW analizado durante 100 ns en NAMD.....	62
Figura 12. RMSD (Å), a) del receptor, b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 2UWX analizado durante 50 ns en NAMD.....	64
Figura 13. RMSD (Å), a) del receptor, b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 2UWX analizado durante 100 ns en NAMD.....	66
Figura 14. RMSD (Å), a) del receptor, b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 2UWX analizado durante 100 ns en Amber.	69
Figura 15. RMSD (Å), a) del receptor, b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 5M19 analizado durante 50 ns en NAMD.....	71
Figura 16. RMSD (Å), a) del receptor, b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 5M19 analizado durante 100 ns en NAMD.....	74
Figura 17. RMSD (Å), a) del receptor, b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 5M19 analizado durante 100 ns en Amber.	76
Figura 18. RMSD (Å), a) del receptor, b) del ligando respecto al receptor, c) del ligando respecto al receptor (acercamiento) y d) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 7LO8 analizado durante 50 ns en NAMD.	78
Figura 19. RMSD (Å), a) del receptor, b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 7LO8 analizado durante 100 ns en NAMD.	80

Figura 20. RMSD (Å), a) del receptor, b) del ligando respecto al receptor, c) del ligando respecto al receptor (acercamiento) y d) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 7LO8 RA analizado durante 100 <i>ns</i> en Amber.	82
Figura 21. RMSD (Å), a) del receptor, b) del ligando respecto al receptor, c) del ligando respecto al receptor (acercamiento) y d) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 7LO8 RM analizado durante 100 <i>ns</i> en Amber.	83
Figura 22. Captura de las interacciones entre el H unido al N del Lig6 y el receptor 3NAW durante la simulación de Dinámica Molecular, actuando el H como donador (azul).	91
Figura 23. Estructura molecular del Lig6 numerada para identificar los átomos y valor de la función de Parr ⁺ para el H que interactúa en las simulaciones de Dinámica Molecular.	92
Figura 24. Captura de las interacciones entre el O de la oxima del Lig6 y el receptor 2UWX durante la simulación de Dinámica Molecular, actuando el O como aceptor (rojo).	92
Figura 25. Estructura molecular del Lig6 numerada para identificar los átomos y valor de la función de Parr ⁻ para el O que interactúa en las simulaciones de Dinámica Molecular.	93
Figura 26. Captura de las interacciones entre el O del Lig5 y el receptor 5M19 y el H del Lig5 y el receptor 5M19 durante la simulación de Dinámica Molecular, actuando el O como aceptor (rojo) y el H como donador (azul).	93
Figura 27. Estructura molecular del Lig5 numerada para identificar los átomos y valor de la función de Parr ⁺ para el H y Parr ⁻ para el O que interactúa en las simulaciones de Dinámica Molecular. ..	94
Figura 28. Captura de las interacciones entre el H unido al N del Lig7 y el receptor 7LO8 durante la simulación de Dinámica Molecular, actuando el H como donador (azul).	94
Figura 29. Estructura molecular del Lig7 numerada para identificar los átomos y valor de la función de Parr ⁺ para el H que interactúa en las simulaciones de Dinámica Molecular.	95
 Figura A1 Mapas de potencial electrostático de a) Lig1 , b) Lig2 , c) Lig3 , d) Lig4 , e) Lig5 , f) Lig6 , g) Lig7 y h) Lig8	114

Abreviaturas, símbolos y acrónimos

ΔG	Energía libre de unión
2UWX	Número de identificación de la proteína de unión a la penicilina 1b de Protein Data Bank
3NAW	Número de identificación de la proteína efectora NleL de Protein Data Bank
5M19	Número de identificación de la proteína de unión a la penicilina 2a de Protein Data Bank
7LO8	Número de identificación de la bomba de eflujo NorA de Protein Data Bank
A	Afinidad electrónica
Å	Ångström
aa	Aminoácidos
ABC	Familia de bombas de eflujo de casete de unión al ATP
ADME	Absorción, Distribución, Metabolismo y Eliminación
ADMET	Absorción, Distribución, Metabolismo, Eliminación y Toxicidad
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Ala	Alanina
Arg	Arginina
Asn	Asparagina
Asp	Ácido aspártico
ATP	Adenosín trifosfato
BBB	Barrera hematoencefálica
CDC	Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
CID	Número de identificación del compuesto en PubChem
CYP	Isoenzimas del citocromo p450
Cys	Cisteína
DFT	Teoría de los Funcionales de la Densidad
e^-	Electrón
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
E3 HECT	Ligasas E3 del homólogo del extremo carboxilo E6-AP
E3 RING	Ligasas E3 de un nuevo gen realmente interesante
E_{HOMO}	Energía de HOMO
E_{LUMO}	Energía de LUMO
ESP	Potencial electrostático
eV	Electronvoltio
Fab	Fragmento de unión a antígeno
fs	Femtosegundos
g	Gramos
GI	Gastrointestinal

Gln	Glutamina
Glu	Ácido glutámico
Gly	Glicina
HF	Hartree Fock
His	Histidina
HOMO	Orbital molecular de más alta energía ocupado
<i>I</i>	Potencial de ionización
IC₅₀	Concentración inhibitoria media máxima
Ile	Isoleucina
INF55	2-fenil-5-nitroindol, inhibidor de la bomba de eflujo NorA
K	Kelvin
kcal	Kilocaloría
Kp	Coefficiente de permeabilidad de la piel
l	Litro
Leu	Leucina
Lig	Ligando
Lig1	Ligando 1, corresponde a la norfloxacin
Lig2	Ligando 2, corresponde al inhibidor INF55
Log S	Logaritmo decimal de la solubilidad molar en agua
LogP	Coefficiente de reparto <i>n</i> -octanol/agua
LUMO	Orbital molecular desocupado de más baja energía
Lys	Lisina
M	Molar
MATE	Familia de bombas de eflujo de extrusión de multifármacos y tóxicos
Met	Metionina
MFS	Familia de bombas de eflujo de superfamilia del facilitador mayor
mg	Miligramos
MIC	Concentración inhibitoria mínima
ml	Mililitro
MLogP	Coefficiente de reparto <i>n</i> -octanol/agua determinado por método Moriguchi
mM	Milimolar
MMFF	Campo de fuerza molecular de Merck
MMGBSA	Mecánica Molecular y Área de Superficie Generalizada de Born
MMPBSA	Mecánica Molecular y Área de Superficie Poisson Boltzmann
nM	Nanomolar
<i>ns</i>	Nanosegundos
OMS	Organización Mundial de la Salud
P⁻(r)	Función de Parr menos
P⁺(r)	Función de Parr más

Pa	Porcentaje de actividad
PAINS	Compuestos de interferencia de Pan-ensayo
PBPs	Proteínas de unión a la penicilina
PDB	Protein Data Bank
PDB ID	Número de identificación en el Protein Data Bank
P-gp	Glicoproteína P
pH	Índice del potencial de hidrógeno
Phe	Fenilalanina
Pi	Porcentaje de inactividad
pIC₅₀	Índice del potencial del IC ₅₀
Pro	Prolina
ps	Picosegundos
QSAR	Metodología de Relación Cuantitativa de Estructura-Actividad
RA	Región de los aminoácidos claves en la bomba de eflujo
RESP	Potencial electrostático restringido
RM	Región media del canal en la bomba de eflujo
RMSD	Desviación cuadrática media
RND	Familia de bombas de eflujo de resistencia a división por nodulación
S	Blandura
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina
Ser	Serina
SMR	Familia de bombas de eflujo de resistencia pequeña a multifármacos
SopA	Proteína efectora de <i>Salmonella</i>
Thr	Treonina
TPSA	Área de superficie polar topológica
Trp	Triptofano
Tyr	Tirosina
Val	Valina
vdw	Interacciones de van der Waals
vdw + es	Interacciones de van der Waals más interacciones electrostáticas
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
η	Dureza
μ	Potencial químico
μm	Micrómetro
χ	Electronegatividad
ω	Índice de electrofilicidad

Resumen

A lo largo de la historia, el ser humano se ha enfrentado a múltiples enfermedades bacterianas y, a pesar del gran avance que se ha tenido en el desarrollo de compuestos antibacterianos desde el descubrimiento de la penicilina, las bacterias han logrado desarrollar diversos mecanismos de resistencia, por lo cual el diseño y desarrollo de nuevos fármacos es una necesidad mundial actual.

El desarrollo de un nuevo fármaco es un proceso muy costoso que puede tardar hasta quince años desde el diseño hasta las pruebas en seres humanos. No obstante, gracias al avance que se ha tenido en el área tecnológica, es posible realizar varios estudios *in silico*, que permiten determinar la afinidad de ciertos compuestos, los cuales se espera actúen como fármacos frente a determinados receptores importantes para la supervivencia de las bacterias. Dichos estudios computacionales permiten acelerar el proceso de diseño y desarrollo de fármacos en las primeras etapas.

En este trabajo, se analizaron ligandos tipo aza-heterociclos (compuestos que se espera actúen como fármacos) frente a las dianas de tres bacterias, siendo la proteína efectora NleL de *Escherichia coli*, la proteína de unión a la penicilina 1b de *Streptococcus pneumoniae* y la proteína de unión a la penicilina 2a y la bomba de eflujo NorA de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. Las dianas estudiadas pueden causar múltiples enfermedades desde infecciones simples hasta potencialmente mortales.

Asimismo, el análisis se realizó por medio de técnicas computacionales de acoplamiento y dinámica molecular para determinar la afinidad, las interacciones y la estabilidad que presenta el ligando frente al receptor en el sitio de unión, así como la determinación de las energías libres de unión que complementó los estudios anteriores. Adicionalmente, se realizó el análisis farmacocinético y ADME con el fin de evaluar la disposición del compuesto analizado en el ser humano. Finalmente, se analizó la reactividad intrínseca que presenta cada una de los ligandos tipo aza-heterociclos, independientemente del receptor.

Palabras clave: acoplamiento molecular, dinámica molecular, análisis farmacocinético ligandos aza-heterociclos, receptores bacterianos

Abstract

Throughout history, humans have faced multiple bacterial diseases and despite the great progress that has been made in the development of antibacterial compounds since the discovery of penicillin, bacteria have managed to develop diverse resistance mechanisms, making the design and development of new drugs a global necessity.

The development of a new drug is a very costly process that can take up to fifteen years from design to human testing. However, thanks to the progress that has been made in the technological area, it is possible to perform several *in silico* studies to determine the affinity of certain compounds, which are expected to act as drugs against certain important receptors for the survival of bacteria. Such computational studies can accelerate the drug design and development process in the early stages.

In this work, aza-heterocyclic ligands (compounds expected to act as drugs) were analyzed against the targets of three bacteria, namely the effector protein NleL of *Escherichia coli*, the penicillin-binding protein 1b of *Streptococcus pneumoniae* and the penicillin-binding protein 2a and the efflux pump NorA of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. The targets studied can cause multiple diseases ranging from simple to life-threatening infections.

The analysis was also carried out using computational docking and molecular dynamics techniques to determine the affinity, interactions and stability of the ligand towards the receptor at the binding site, as well as the determination of the binding free energies, which complemented the previous studies. In addition, pharmacokinetic and ADME analyses were performed in order to evaluate the disposition of the compound analyzed in humans. Finally, the intrinsic reactivity of each of the aza-heterocyclic ligands was analyzed, independently of the receptor.

1. Introducción

Los antibióticos son sustancias utilizadas para matar o inhibir el crecimiento de las bacterias; pueden ser naturales, semisintéticos y sintéticos, donde los primeros se obtienen a partir de microorganismos que los producen, los segundos se extraen de microorganismos y se modifican en el laboratorio y los terceros son fabricados totalmente en el laboratorio [1]. En general, los antibióticos se consideran un amplio y heterogéneo grupo de fármacos que han sido eficaces para el tratamiento de las enfermedades infecciosas, lo cual ha permitido que dichas enfermedades no sean la principal causa de mortalidad en los países desarrollados [2].

1.1 Historia de los antibióticos

Es de conocimiento que, desde las civilizaciones antiguas, se utilizaron diversos extractos de plantas para tratar infecciones. Sin embargo, se considera que la historia de los antibióticos comenzó a principios del siglo XX cuando el médico alemán Paul Ehrlich sintetizó la arsfenamina (primer antibiótico) para tratar la enfermedad venérea bacteriana conocida como sífilis; específicamente, el compuesto químico se comercializó en 1910 bajo el nombre de salvarsán. No obstante, debido a que este compuesto químico era un derivado del arsénico, su toxicidad fue una gran desventaja para considerarlo un candidato ideal [3]. Poco después de la Primera Guerra Mundial, en 1920, surgieron nuevos compuestos protozoodicidas, la atebina y la triparasamida, para el tratamiento del paludismo y para combatir la enfermedad del sueño, respectivamente [4].

En 1928, el médico y científico británico Alexander Fleming encontró que la sustancia producida por los hongos *Penicillium notatum* destruía cultivos microbianos, es decir, lisaba la bacteria, surgiendo así el primer antibiótico de origen natural conocido como penicilina. Años previos al descubrimiento, Fleming trabajaba en el Hospital St. Mary de Londres estudiando variantes cromógenas del *Staphylococcus aureus*, cuando en una ocasión, al volver al laboratorio después de un fin de semana de descanso, se percató que una de las placas de agar que había descartado, no estaba totalmente sumergida en la solución detergente y por lo tanto se le había formado la lisis del germen en el costado, esto se supuso estaba relacionado con el crecimiento de un hongo en la adyacencia [5].

Años después, en 1930, Gerhard Domagk trabajaba con colorantes químicos en la industria I.G. Farbenindustrie de Alemania, cuando se percató que el prontosil tenía efectos antibacterianos en los estreptococos en animales enfermos; en realidad, la sustancia que tenía las propiedades antibióticas era el residuo de sulfonamida asociado al colorante [5].

Posteriormente, alrededor de 1940, el microbiólogo Selman Waksman y su discípulo René Dubos de la Universidad de Rutgers en Nueva Jersey, estudiaron los suelos para

analizar las sustancias antagonistas a las bacterias patógenas; específicamente Dubos descubrió la tirotricina, aislando el microorganismo *Bacillus brevis*, la cual era capaz de inhibir el crecimiento de las bacterias grampositivas; no obstante, al ser demasiado tóxica para administrarla vía sistémica, se usaba como agente de uso tópico. Por su parte, Waksman aisló diez microorganismos potenciales para efectos antibióticos, siendo uno de ellos el *Streptomyces griseus*, de la familia de los actinomycetales, que producía la sustancia antibiótica llamada estreptomicina, la cual fue eficaz contra enfermedades que la penicilina no combatía, como la tularemia, la tuberculosis y las infecciones urinarias [5-7]. A partir de lo anterior, surge una nueva familia de antibióticos conocida como los aminoglucósidos.

De manera paralela a los antibióticos naturales, se desarrollaron diversos antibióticos por síntesis química a través del camino que habían desarrollado las sulfonamidas y sus derivados. En específico, posterior al descubrimiento de la penicilina, se trabajó en la obtención de productos semisintéticos con nuevas propiedades a partir de la modificación química de la cadena lateral de la penicilina G original; en otras palabras, se requirió aislar el núcleo químico ácido 6-aminopenicilánico (6-APA) de la penicilina incorporando diversas cadenas laterales [5]. Las primeras penicilinas semisintéticas fueron la meticilina en 1960 [8] y la ampicilina comercializada en 1961 [9]. Durante esa época, las infecciones bacterianas causadas por microorganismos gramnegativos como *Pseudomonas aeruginosa* no existían, únicamente las infecciones se debían a *Escherichia coli*. Por lo que, la introducción de penicilinas semisintéticas con actividad frente a microorganismos gramnegativos fue gradual a lo largo de los años como con la ampicilina, la carbenicilina en 1970 y con la primera cefalosporina en 1964 [10]. Por otra parte, las cefalosporinas semisintéticas se desarrollaron de manera similar a las penicilinas, aislando el núcleo químico ácido 7-aminocefalosporánico (7-ACA) [11, 12]. Por lo que, aparecieron otros antibióticos de cefalosporinas y penicilinas de amplio espectro, que se usaron por más de una década como fármacos de primera línea hasta el surgimiento de bacilos gramnegativos resistentes, debido a la producción de enzimas β -lactamasas [10]. Actualmente, gracias a la gran amplitud que han tenido las familias de antibióticos betalactámicos (penicilinas y cefalosporinas), los compuestos se han subdividido incluso en generaciones [2].

El desarrollo de los antibióticos continuó su curso y en 1970, salió al mercado el antibiótico sintético conocido como trimetoprima, la cual en combinación con el sulfametoxazol u otras sulfonamidas lograba una inhibición secuencial de la vía metabólica vital para las bacterias y gracias a su estructura penetraba en los tejidos para tratar infecciones profundas [5, 13].

Más tarde, en 1978 surgieron nuevos antibióticos betalactámicos como las penicilinas anti-pseudomonas, en 1980 la norfloxacin y otras fluoroquinolonas por el agente sintético ácido nalidíxico, en 1981 las cefalosporinas de segunda y tercera generación, en 1984 los inhibidores de β -lactamasa y en 1985 los monobactámicos y los carbapenémicos [5, 10, 14].

Debido a la necesidad de fármacos que combatieran bacilos gramnegativos productores de β -lactamasas que inactivaban cefalosporinas de segunda generación y penicilinas activas frente a microorganismos gramnegativos, fue que se desarrollaron las cefalosporinas de tercera generación y los carbapenémicos [10]. Con el paso del tiempo, las β -lactamasas fueron apareciendo gradualmente; no obstante, en la década de 1980 comenzó su identificación y para el año 2000 se describieron aproximadamente doscientas β -lactamasas, una vasta cantidad de ellas de espectro expandido y capaces de inactivar los nuevos grupos de betalactámicos [10]. Por tal motivo, desde su conocimiento, se han desarrollado inhibidores de β -lactamasas, cuya función principal sea bloquear su actividad y evadir la resistencia hacia los antibióticos betalactámicos, pese a su desarrollo la eficacia de estos inhibidores se encuentra limitada a solo algunas β -lactamasas [10].

En la actualidad, se siguen utilizando múltiples derivados de las fluoroquinolonas [15], las cuales tienen buenas cualidades farmacocinéticas, una acción bactericida sobre un gran número de agentes patógenos y una baja toxicidad [5, 14] e incluso se siguen usando los antibióticos betalactámicos como las penicilinas y las cefalosporinas, debido a que se consideran agentes quimioterapéuticos exitosos contra diferentes tipos de infecciones bacterianas por su alta especificidad objetivo, bajo costo, mínimos efectos secundarios y su baja toxicidad para los seres humanos [16].

1.2 Uso de la penicilina y generación de su resistencia

La producción masiva de penicilina tomó relevancia en 1942 para el tratamiento de las severas infecciones cutáneas por *S. aureus*, después de un incendio que ocurrió en Cocoanut Grove en Estados Unidos, donde más de 450 personas murieron [5]. El uso de la penicilina se expandió y se utilizó apropiada e inapropiadamente; siendo este último uso lo que traería problemas en años posteriores. En efecto, Alexander Fleming comentó de manera preocupada desde los inicios de su trabajo, que las dosis insuficientes o los tratamientos interrumpidos favorecerían el desarrollo de variantes de gérmenes sobre las cuales la penicilina no tendría efecto [5], es decir, el uso inapropiado de los antibióticos promovería el desarrollo de la resistencia a los mismos.

Lo anterior se cumplió y debido al uso descontrolado de la penicilina, los microorganismos mejoraron su capacidad para sobrevivir en presencia de sustancias nocivas para su desarrollo. De hecho, poco después del surgimiento de la penicilina, se presentaron las primeras cepas de *S. aureus* resistentes a la misma debido a la producción de enzimas β -lactamasas, dichas cepas se esparcieron principalmente en los hospitales [10]. No obstante, en un inicio se creyó que, conociendo los mecanismos de resistencia de la bacteria, siempre sería posible sobrepasar su efecto por medio de la síntesis de nuevos compuestos. Por lo que, los laboratorios farmacéuticos, se dedicaron a trabajar en el desarrollo de fármacos que no fueran susceptibles a enzimas bacterianas que degradaran la penicilina. De esta manera surgió

la meticilina; sin embargo, su resistencia se presentó en 1961 en Gran Bretaña cuando anunciaron las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (SARM) [17]; dichas cepas se esparcieron al resto de Europa y EE.UU. y surgieron debido a que las bacterias sufrieron cambios estructurales en las proteínas de unión a la penicilina 2a (PBP2a). De hecho, hasta mediados de la década de 1960, el SARM fue el patógeno resistente más importante [10]. De esta manera, se determinó que la resistencia a las bacterias frente a los fármacos es más rápida que los tiempos que requieren la síntesis, el desarrollo, la experimentación y la aprobación de nuevos fármacos. Es un hecho, que cada vez que se utiliza un nuevo antibiótico, las bacterias tardan por lo general de dos a cuatro años para desarrollar mecanismos de defensa [18]. Por tal motivo, el desarrollo de nuevos fármacos es una necesidad actual de gran importancia a nivel mundial.

1.3 Diferencias entre bacterias grampositivas y gramnegativas

Cada compuesto antimicrobiano desarrollado a lo largo de la historia cuenta con un modo de acción único dependiente principalmente de la estructura de la bacteria y del funcionamiento de las dianas de las células bacterianas [19]. En general, las células bacterianas se clasifican en bacterias grampositivas y gramnegativas (dependiendo del color que adquieren cuando se realiza la prueba de tinción de Gram). Asimismo, dependiendo del tipo de bacteria se usará el antimicrobiano específico que inhibirá el crecimiento de la misma.

La principal diferencia en la estructura de las bacterias grampositivas y gramnegativas radica en la pared celular ya que la membrana citoplasmática, el citoplasma y otros componentes internos son muy similares [19]. La pared celular de las bacterias gramnegativas consta de una membrana externa que contiene porinas, lipopolisacáridos y lipoproteínas y un espacio periplásmico que contiene una capa de peptidoglicano; mientras que, la pared celular de las bacterias grampositivas, consiste en una capa de peptidoglicano que contiene ácidos teicoicos [19]. La membrana externa de las células bacterianas gramnegativas se encarga de ser una barrera de permeabilidad de la célula, donde las porinas son canales llenos de agua que facilitan el transporte de nutrientes, los lipopolisacáridos son el componente esencial de las endotoxinas que auxilian a la célula bacteriana a causar la infección en el huésped, las lipoproteínas se encargan de unir la membrana externa a la capa de peptidoglicano y el espacio periplásmico se encuentra entre las membranas externa y citoplasmática y contiene proteínas de enlace para determinados sustratos además de la capa de peptidoglicano, la cual es responsable de mantener la forma del organismo [19]. Con respecto a la pared celular de las bacterias grampositivas, la capa de peptidoglicano se encarga de mantener la forma del organismo, pero suele ser más ancha que en las bacterias gramnegativas; asimismo, dicha capa contiene ácidos teicoicos, los cuales son polímeros entrelazados a la capa que se extienden más allá de la superficie y son importantes antígenos de superficie [19].

1.4 Modos de acción de los antibióticos

Existen diversos modos de acción en los agentes antimicrobianos que son muy similares independientemente si la bacteria es grampositiva y gramnegativa, los cuales son: interferencia con la síntesis de la pared celular, actividad de los antibióticos betalactámicos en bacterias grampositivas y gramnegativas que se unen a las proteínas de unión a la penicilina (PBPs), interferencia con la membrana citoplásmica, interferencia con la síntesis de proteínas a través del enlace a la subunidad ribosómica 30S, inhibición de la síntesis de proteínas mediante la unión a la subunidad ribosómica 50S, inhibición de la síntesis de proteínas por mecanismos que aún están en investigación, interferencia en la síntesis de ácido nucleico e inhibición de la ruta metabólica de la síntesis de ácido fólico [19].

Es de interés para este trabajo la actividad de los betalactámicos tanto en bacterias grampositivas como gramnegativas. Dentro de las bacterias gramnegativas, los antibióticos betalactámicos se encargan de entrar a la célula por medio de las porinas y se unen a las PBPs, las cuales son enzimas encargadas de sintetizar la pared celular, por lo tanto, dichos antibióticos bloquean la función de las PBPs, ocasionando que las paredes celulares se debiliten o sean defectuosas y provoquen lisis celular y muerte [19]. Por otra parte, para las bacterias grampositivas, los antibióticos betalactámicos se difunden a través de su pared celular y se unen a las PBPs causando los mismos efectos que en las bacterias gramnegativas [19].

Por lo tanto, el mecanismo de los antibióticos betalactámicos como las penicilinas o cefalosporinas consiste en dirigirse a las PBPs e inhibir la síntesis de la pared celular bacteriana. Estas proteínas son fijadoras de betalactámicos y se encuentran en la membrana citoplasmática de las bacterias [10]. Sin embargo, en las poblaciones bacterianas algunas de sus células continúan desarrollándose incluso en presencia del antibiótico, por lo cual se menciona una resistencia de la bacteria hacia el fármaco [2, 10, 19].

1.5 Resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana se define como la capacidad que tiene la bacteria para poder sobrevivir a las concentraciones terapéuticas que se usan de un fármaco en particular [20]. La resistencia bacteriana a los antibióticos puede ser natural, puede provenir de mutaciones, o bien, puede generarse por transferencia de genes [18]. Esta última forma en que se puede generar resistencia bacteriana, también conocida como transferencia génica horizontal o transferencia lateral de genes, es un proceso por medio del cual un organismo transfiere material genético a otro organismo que no sea su descendencia [21].

Existen diversos procesos a nivel genético que permiten que exista un intercambio de información entre bacterias lo cual se ha asociado a la resistencia bacteriana [20]. Dicha

resistencia puede ser por: conjugación, es decir, existe un intercambio de material genético de una bacteria donante a una bacteria receptora por medio de contacto físico; transformación, donde la bacteria incorpora o capta ácido desoxirribonucleico (ADN) libre en el medio; y transducción, donde se requiere de un vehículo como un bacteriófago para que exista una transferencia de ADN cromosómico o plasmídico de una bacteria a otra [18, 20]. De los anteriores, la conjugación es el proceso de intercambio más común en las bacterias [21].

1.6 *Escherichia coli*

E. coli es una bacteria gramnegativa presente en el intestino del ser humano y de los animales de sangre caliente y se considera un bacilo gramnegativo anaerobio facultativo que poco tiempo después del nacimiento se encarga de colonizar la microbiota intestinal humana [22-24]. Este patógeno pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y a la tribu *Escherichia* [24].

La mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas, pero el resto pueden causar graves enfermedades, siendo la más frecuente el *E. coli* productora de la toxina Shiga, la cual se transmite principalmente a través del consumo de alimentos contaminados como productos de carne picada cruda o poco cocida, leche cruda o mal pasteurizada, hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas y frutas y verduras contaminadas con heces de algún animal portador [22, 23]. Dentro de las cepas de *E. coli* productoras de la toxina Shiga, el serotipo O157: H7 es el más importante por su impacto en la salud pública [23].

Dentro de los síntomas que provoca esta bacteria se encuentran fiebre, vómito calambres abdominales y diarrea, que puede progresar a diarrea sanguinolenta (colitis hemorrágica). La enfermedad dura alrededor de diez días; sin embargo, la infección puede llegar a provocar una enfermedad potencialmente mortal, especialmente en niños pequeños y ancianos, conocida como el síndrome hemolítico urémico, el cual se caracteriza por presentar insuficiencia renal aguda, anemia hemolítica y trombocitopenia (deficiencia de plaquetas) y presenta una tasa de letalidad del 3 al 5% [23].

En general, el *E. coli* se suele tratar con medicamentos como loperamida, fluoroquinolonas, trimetoprima-sulfametoxazol o nitrofurantoína; no obstante, para combatir el serotipo O157:H7 se suele únicamente administrar líquidos por vía intravenosa debido a que se considera que el uso de antibióticos como las fluoroquinolonas podría aumentar la liberación de enterotoxinas, incrementando la diarrea y la posibilidad de desarrollar el síndrome hemolítico urémico [22].

1.7 *Streptococcus pneumoniae*

La bacteria grampositiva encapsulada de *S. pneumoniae* pertenece a la familia *Streptococcaceae* y se considera una bacteria anaerobia facultativa en forma ovalada que se agrupa en forma de cadenas; este patógeno es catalasa negativa y no tiene movilidad [25].

El *S. pneumoniae* puede causar múltiples infecciones que van desde otitis media y sinusitis hasta neumonía, sepsis, meningitis, endocarditis, artritis séptica, peritonitis, bacteriemia o incluso la muerte [25, 26]. Las personas más vulnerables para contraer este patógeno son los niños menores a 2 años, los adultos mayores de 60 años o personas vulnerables con factores de riesgo como enfermedades crónicas renales, cardíacas o pulmonares, por mencionar algunas [26].

Los primeros síntomas que se presentan ante las infecciones por esta bacteria suelen ser escalofríos, fiebre y tos con esputo que, si no se atienden, pueden ocasionar dolor pleurítico, sinusitis y el resto de infecciones mencionadas anteriormente. La transmisión de este patógeno sucede a través de gotas que se transmiten por el aire por contacto con personas infectadas que tosen, hablan o estornudan [25].

El tratamiento para las enfermedades ocasionadas por el *S. pneumoniae* depende de la enfermedad y la resistencia que presente la cepa; en general, consiste en antibióticos betalactámicos, macrólidos, fluoroquinolonas, pleuromutilinas o puede ser un glicopéptido como la vancomicina [26].

1.8 *Staphylococcus aureus*

El patógeno *S. aureus* fue descubierto por el médico Alexander Ogston en 1880 y tiene un gran potencial para causar múltiples infecciones en el ser humano y los animales desde infecciones simples como foliculitis o forunculosis hasta infecciones severas como endocarditis, septicemias, meningitis, neumonías o bacteriemias por mencionar algunas [27]. Las cepas de este patógeno tienen un gran impacto en la salud sobre todo por su resistencia a la meticilina. El género *Staphylococcus* se encuentra constituido por cocos grampositivos con un diámetro de 0.5 a 1.5 μm , se agrupa en células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas; de hecho, Ogston les dio el nombre de *Staphylococcus*, por el griego *staphyle* que significa racimo de uvas, para describir a los cocos responsables de inflamación y supuración [27]. En general, se han reportado de 32 a 35 especies conocidas del *Staphylococcus*, donde alrededor de 16 a 17 son subespecies que se localizan en los seres humanos, ya que forma parte de la microbiota normal del humano y se encuentran presentes en las fosas nasales, en heridas infectadas, quemaduras, tracto urogenital, tracto

gastrointestinal y casi cualquier secreción corporal; asimismo, entre un 25-50% de la población sana se encuentra colonizada por esta bacteria [27, 28].

Los *Staphylococcus* son bacterias no móviles, no esporuladas, comúnmente no poseen cápsula, aunque existen algunas cepas que desarrollan una cápsula de limo y son anaerobias facultativas; dicho género produce en su mayoría catalasa (enzima capaz de desdoblar el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre), lo que los ayuda a diferenciarse de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* que son catalasa negativos [27]. Asimismo, la mayoría de las cepas de *S. aureus* son coagulasa positiva y para lograr colonizar al ser humano requieren de determinadas características físicoquímicas (pH, humedad, presión atmosférica, etc.) [28].

El SARM se encuentra mediado por el gen *mecA*, el cual se adquiere por medio de transferencia horizontal del elemento genético móvil conocido como cromosoma cassette estafilocócico *mec* (SCC*mec*), que se considera haber sido adquirido de una especie de *Staphylococcus* coagulasa negativa [29, 30]. El gen *mecA* se encuentra inserto en la isla genómica SCC*mec* y se encarga de codificar la proteína PBP2a, la cual es una enzima responsable de entrecruzar las cadenas de peptidoglicano en la formación de la pared celular bacteriana [30]. Debido a que la PBP2a tiene una baja afinidad hacia los antibióticos betalactámicos, esta enzima presenta resistencia hacia los mismos [31]; la poca afinidad se debe a la configuración poco accesible del sitio activo puesto que tiene una hendidura más estrecha que otras PBPs [30].

El SARM continúa siendo un patógeno prominente con una mortalidad persistentemente alta; la llegada de los antibióticos ayudó a reducir la mortalidad por bacteriemia por *S. aureus* del 80% al 15-50%, que se considera todavía un porcentaje considerable [32].

1.9 Mecanismos de resistencia bacteriana

En general, los mecanismos de resistencia bacteriana consisten en: 1) Dificultar el acceso del antibiótico a su diana ya que la pared celular se vuelve impermeable al antibiótico, 2) Que la bacteria posea una bomba de eflujo que facilite el transporte del antibiótico al exterior de la bacteria antes de alcanzar el sitio activo de la diana, 3) Que la bacteria produzca enzimas que destruyan al antibiótico antes de alcanzar la diana o se modifique la estructura molecular del antibiótico de manera que pierda su actividad antimicrobiana y no sea reconocido por la diana, 4) Modificar la diana por mutación para dificultar la unión del antibiótico o incrementar su producción de forma que las cantidades de antibiótico sean insuficientes para unirse a todas ellas, o bien 5) Desarrollar vías alternativas de rutas metabólicas específicas que se alteren genéticamente para inhibir el antimicrobiano [2, 19].

Dentro de los antibióticos betalactámicos, los mecanismos de resistencia que se suelen presentar son:

- Alteración de las dianas PBPs, dicha alteración ocurre tanto en bacterias grampositivas como gramnegativas ya que las dianas mutan para que los antibióticos betalactámicos no puedan unirse a ellas, haciéndose resistentes [10, 19].
- Producción de enzimas β -lactamasas inactivantes, donde dichas enzimas hidrolizan a los antibióticos betalactámicos causando la resistencia. En las bacterias gramnegativas los medicamentos entran a la célula a través de las porinas de la membrana externa y al llegar al espacio periplásmico entran en contacto con las enzimas β -lactamasas impidiendo que los antibióticos alcancen las dianas; por su parte, en la bacterias grampositivas las enzimas se secretan en el medio extracelular y destruyen a los antibióticos betalactámicos antes de que entren a la célula [10, 19].
- Disminución de la concentración del antimicrobiano en el interior de la bacteria, debido a que la membrana externa de las bacterias gramnegativas se vuelve impermeable por medio de la alteración de las porinas, impidiendo que entren a las células bacterianas y ocasionando la resistencia [10, 19].

1.10 Bombas de eflujo

Algunas cepas del *S. aureus* tienen un mecanismo de resistencia a determinados agentes antimicrobianos que se explica por un sistema de transporte de membrana integral encargado de eliminar de manera activa dichos agentes de las bacterias, es decir, donde residen los objetos citoplasmáticos del fármaco hacia el medio extracelular, ocasionando que la bacteria sobreviva y además crezca [33]. Estos sistemas de transporte de membrana se conocen como bombas de eflujo, se presentan tanto en células eucariotas como procariotas y pueden tener diversas funciones como ingresar nutrientes, excretar sustancias tóxicas y mantener la homeostasis [34].

Las bombas de eflujo pueden ser específicas para un sustrato o bien, pueden transportar una amplia variedad de compuestos químicos estructuralmente diferentes, siendo en este último caso cuando existe una multirresistencia. Lo anterior se debe, a que reconocen un gran número de compuestos farmacológicos que no se encuentran relacionados entre sí, puesto que la identificación del sustrato se basa en las propiedades físico-químicas como son la hidrofobicidad, la aromaticidad, la capacidad de ligar hidrógeno y el carácter ionizable y no en propiedades químicas definidas, como sucede en el caso de enzima-sustrato o reconocimiento de ligando-receptor [34].

Las bombas de eflujo se pueden agrupar en familias de proteínas transportadoras a partir de la homología de las secuencias de aminoácidos, de las similitudes en el tamaño y de las estructuras secundarias. Filogenéticamente, las bombas de eflujo pertenecen a cinco superfamilias denominadas: familia de casete de unión al ATP (ABC); superfamilia del

facilitador mayor (MFS); familia de extrusión de multifármacos y tóxicos (MATE); familia de resistencia pequeña a multifármacos (SMR) y familia de resistencia a división por nodulación (RND). Las familias ABC y MFS son las más grandes y se piensa que pueden tener un origen común [34]. La primera está conformada por transportadores activos primarios cuya actividad depende de la captación e hidrólisis de ATP; mientras que, las superfamilias SMR, MATE, MFS y RND son transportadores secundarios, donde su actividad se lleva a cabo por gradiente de protones usando como fuerza impulsora el catión sodio o un protón y utilizan la energía que se deriva de la hidrólisis de ATP para transportar las moléculas por medio de un gradiente de concentración electroquímica al acoplarse con otro compuesto [33, 34].

La MFS es una familia muy antigua de transporte activo secundario de bacterias a humanos con más de 10,000 miembros secuenciados, que pueden transportar proteínas y bastantes sustratos como iones, carbohidratos, aminoácidos y péptidos, nucleósidos, antibióticos y otras moléculas [33]. En general, para que las bombas de flujo puedan llevar a cabo su actividad es necesario que contengan al menos 12 segmentos transmembrana en su estructura [34]. La primera bomba de eflujo descubierta en el *S. aureus* que expulsa las fluoroquinolonas fue la bomba NorA, que tiene 388 aminoácidos que se pliegan en 12 hélices transmembrana y sus genes codificados se localizan en los cromosomas [33].

A partir de la comprensión sobre el modo de acción y la estructura de las bombas de eflujo, se pueden desarrollar, estudiar, analizar y proponer nuevos compuestos con capacidad inhibitoria de las mismas, con el fin de encontrar posibles compuestos químicos que impidan que los fármacos comerciales puedan ser excretados por dichas bombas de eflujo.

1.11 Desarrollo de fármacos asistido por computadora

A causa del aumento de la resistencia bacteriana, la búsqueda y el desarrollo de nuevos fármacos debe continuar. El desarrollo de fármacos es un proceso complejo y costoso, donde se buscan medicamentos que presenten efectos clínicos benéficos y efectos secundarios mínimos para el ser humano [35]. En principio, el desarrollo de nuevos compuestos comenzaba con la identificación de sustancias químicas de origen natural, su extracción y posteriormente su modificación en el laboratorio con el objeto de mejorar sus propiedades químicas [36]. Sin embargo, el uso de esta metodología involucra un conjunto de fases que duran alrededor de quince años en desarrollarse y requieren de un gasto aproximado de 500 a 1000 millones de dólares, donde el mayor costo y tiempo es para las pruebas clínicas en humanos [35].

No obstante, con los avances actuales en la tecnología, se ha desarrollado la técnica de diseño de fármacos asistido por computadora que requiere de un conjunto de disciplinas basadas en el modelado molecular, la quimioinformática, la química teórica, la

bioinformática y la química computacional, cuya función en conjunto es optimizar y seleccionar compuestos con posible actividad biológica, comprendiendo las relaciones que guarda la estructura química con la actividad biológica [35, 36]. Lo anterior, tiene la gran ventaja de permitir que se reduzca el tiempo de obtención de nuevos compuestos debido a que es más dirigido y preciso en comparación con el método tradicional experimental y permitir procesar una gran cantidad de datos y entender los mecanismos de acción de los principios activos [35, 36]. Sin embargo, no sólo es importante conocer sus propiedades farmacológicas sino también su afinidad hacia las dianas.

La afinidad y selectividad de los compuestos hacia las dianas terapéuticas se evalúa por medio de acoplamiento molecular y dinámica molecular, donde en la primera técnica se busca la conformación y posición óptima de un compuesto dentro de una diana prediciendo las interacciones que se presentan y en la segunda se reevalúan las interacciones presentadas en condiciones fisiológicas parecidas a las células, determinando si se conservan, se mejoran o se pierden [35, 36]. Después de los estudios computacionales, se seleccionan los mejores compuestos para ser evaluados por medio de estudios experimentales, se hacen ensayos *in vitro* con blancos moleculares aislados de las células y finalmente, otras evaluaciones *in vivo* en animales y pruebas clínicas en seres humanos [35].

1.12 Modelado molecular con cálculos de Teoría de los Funcionales de la Densidad

El modelado molecular es una herramienta que engloba modelos teóricos y cálculos químico computacionales que permiten explicar la estructura molecular y la reactividad química [37, 38]. La Teoría de los Funcionales de la Densidad (DFT, por sus siglas en inglés) es una aproximación útil para realizar cálculos computacionales de la estructura electrónica de la materia [39]. El teorema básico de dicha teoría es el teorema de Hohenberg-Kohn, en el cual la energía de una molécula en su estado fundamental es una función de la densidad electrónica [39, 40]. Asimismo, los cálculos teóricos, basados en la DFT, permiten explicar la reactividad de los compuestos químicos frente al ataque de distintos tipos de reactivos y describir la razón por la cual algunos sitios de la molécula son más reactivos que otros [37, 40].

Existen diversos descriptores de reactividad que se pueden calcular usando la DFT, dichos descriptores pueden ser de reactividad global o de reactividad local, dependiendo si describen a la molécula en conjunto o describen algún átomo de dicha molécula, respectivamente. Algunos descriptores de reactividad global son el potencial de ionización, la afinidad electrónica, el potencial electrostático, la dureza, la blandura global, la electronegatividad, el índice de electrofilicidad y el potencial químico; en cambio, algunos descriptores de reactividad local son las funciones de Fukui, la blandura local y las funciones de Parr.

El descriptor de reactividad local conocido como las funciones de Parr, indica y caracteriza los centros electrofílicos y nucleofílicos más favorables para poder llevar a cabo determinados enlaces entre dos especies en reacciones polares [41]. Es importante mencionar, que entre mayor sea la función de Parr, mayor será la reactividad del sitio. Las funciones de Parr, a diferencia de las funciones de Fukui, se basan en la distribución de la densidad atómica del spin y cuando la función $P^+(r)$ es grande en cierto átomo de la molécula, indica que es susceptible a ataques nucleofílicos; mientras que, cuando $P^-(r)$ es grande, se indica que es susceptible a ataques electrofílicos [42, 43].

En general, las nuevas técnicas de modelado molecular y las aproximaciones desarrolladas en el campo de la teoría de estructura electrónica molecular, se están volviendo más relevantes en el diseño de nuevos fármacos para el tratamiento de numerosas patologías; especialmente, ha cobrado importancia la teoría DFT, puesto que, a partir de ella se han obtenido resultados satisfactorios en cuanto a precisión y confiabilidad para comprender la reactividad química de compuestos y entender la toxicidad y la actividad biológica de moléculas orgánicas [44].

2. Antecedentes

Debido al gran desafío que representan las bacterias grampositivas como el SARM y el *S. pneumoniae* y las bacterias gramnegativas como *E. coli*, se han realizado diversos estudios experimentales, *in silico* e *in vitro* para poder predecir como primera instancia el comportamiento de determinados compuestos con el fin de obtener posibles fármacos que presenten mejor afinidad y mejor inhibición de los receptores que los actuales fármacos conocidos y usados para el tratamiento de infecciones causadas por dichas bacterias. Se presentan los estudios previos que se han realizado para estas bacterias causantes de múltiples enfermedades, centrándose en estudios *in silico*, similares a los que se llevaron a cabo en dicho proyecto.

2.1 Receptor de proteína efectora NleL (PDB ID: 3NAW)

Las proteínas de repetición pentapeptídica se encuentran presentes principalmente en las cianobacterias, las cuales existen desde hace más de dos mil millones de años, por lo que se considera importante conocer las funciones bioquímicas de las proteínas para comprender la manera en que las cianobacterias lograron funciones críticas en el desarrollo temprano de la vida [45]. Se tiene poco conocimiento acerca de las funciones bioquímicas de una gran cantidad de proteínas de repetición pentapeptídica, solamente se sabe que algunas cuentan con funciones bioquímicas asociadas putativas y otras se encuentran involucradas: en la síntesis de glicolípidos de heterocistos, en la captación de manganeso, en la inhibición de girasa, con ligasas de ubiquitina E3, con receptores de isoforma C de glicoproteína 2 de vesícula sináptica y con proteínas de plantas y cianobacterias con estructuras tridimensionales pero sin caracterización funcional [45].

En las células eucariotas, la ubiquitinación es un proceso postraducciona fundamental para el ciclo celular, la respuesta inmunitaria y la tolerancia al daño del ADN; dicho proceso requiere de una cascada de enzimas donde la molécula de ubiquitina se une a las enzimas activadoras de la ubiquitina (E1) por un enlace tioéster tras la hidrólisis de ATP, luego se transfiere al residuo de cisteína del sitio activo en las enzimas conjugadoras (E2) y finalmente ligasas (E3) transfieren la ubiquitina desde E2 a un sustrato proteico [45, 46]. Dentro de las ligasas E3 se encuentran dos tipos: las E3 RING, que tienen una función de andamiaje para acercar a E2 con el sustrato y las E3 HECT que forman un intermediario tioéster con la ubiquitina antes de transferirla al sustrato [45, 46].

Una gran variedad de bacterias patógenas gramnegativas utilizan el sistema de secreción de tipo III o tipo IV para poder insertar una gran cantidad de factores de virulencia en el citosol de la célula hospedadora, dichos factores pueden ser las proteínas efectoras, las cuales actúan como ligasas E3 y se encargan de desempeñar papeles vitales en la adhesión, la entrada y la supervivencia bacteriana y de modular funciones celulares del hospedador como la dinámica del citoesqueleto, la expresión génica y la modificación postraducciona

[46]. Es a partir de la elucidación de la función de las proteínas efectoras, que se comprende la patogénesis [47].

La bacteria gramnegativa llamada *Salmonella enterica serovar typhimurium*, es un patógeno que puede infectar las células huésped y estimular una respuesta inflamatoria intestinal, administrando proteínas efectoras con un sistema de secreción de tipo III o tipo IV; una de las proteínas efectoras es SopA, la cual es una ligasa E3 [45]. Justamente, la ligasa efectora no codificada por Lee (NleL) de *E. coli* enterohemorrágica 0157:H7 es un homólogo de la proteína efectora SopA [45].

Lin, D. Y. W. y colaboradores [47], resolvieron y caracterizaron la proteína efectora NleL (con PDB ID: 3NAW), un patógeno que causa enfermedades graves transmitidas por los alimentos. Dicha proteína efectora NleL imita la función y estructura de las ligasas HECT E3 eucariotas y cataliza la formación de cadenas de poliubiquitina no ancladas por medio del uso de ciertos enlaces con los residuos Lys6 y Lys48 de la enzima conjugadora de ubiquitina E2 y con el residuo de Cys753 catalítico que forma un intermediario tioéster con ubiquitina, siendo este último aminoácido, el responsable de la actividad de la ligasa E3 [47]. Dentro de las interacciones entre NleL y la enzima E2, la Asn578 de la proteína NleL y la Phe63 de E2 son importantes puesto que son responsables de la mayoría de los contactos entre los mismos [45].

En las células eucariotas, el proceso de ubiquitinación es importante para muchas funciones celulares como la degradación de proteínas, la reparación del ADN, la progresión del ciclo celular, el tráfico y la endocitosis [47]. Por tal motivo, se deduce que probablemente, la proteína efectora NleL sea sintetizada por bacterias patógenas para funcionar únicamente en células huésped eucariotas.

A pesar de que el conocimiento acerca de las funciones de las proteínas de repetición pentapeptídica es poco, se sabe que las ligasas de ubiquitina E3 pueden actuar simplemente como un andamio para poder proporcionar la superficie requerida para soportar las interacciones de unión con otra proteína [45]. No obstante, se considera que se requieren más estudios para tener una mejor comprensión de las estructuras y las funciones de la superfamilia de proteínas de repetición pentapeptídica [45].

Asimismo, Lin y colaboradores [46], obtuvieron información sobre las interacciones presentadas entre las estructuras cristalinas de dos ligasas E3 similares a HECT bacterianas (*Salmonella* SopA y *E. coli* NleL) en complejo con una E2 humana (UbcH7). Las ligasas HECT E3 tienen estados conformacionales distintos de las E3 bacterianas, por lo que se requieren reordenamientos estructurales en la transferencia de ubiquitina y la superficie de interacción con E2 es poco similar entre las ligasas HECT E3 y SopA y NleL; sin embargo, las ligasas E3 bacterianas se unen a la superficie canónica de E2 que interactúa con las E3 eucariotas [46].

SopA y NleL difieren en la orientación de su lóbulo C con relación a sus otros dos dominios, por lo cual se consideran flexibles conformacionalmente y contienen un residuo de cisteína cerca del extremo C que forma un enlace tioéster transitorio con ubiquitina, donde para NleL es la Cys753 [46]. Adicionalmente, para NleL se observaron interacciones de tipo van der Waals con la Phe569 y otras interacciones con aminoácidos como Tyr532, Phe568, Met566, Ser567, His552 y aminoácidos cercanos como Glu705, Tyr706, Asp707, siendo el Glu705 uno de los aminoácidos involucrados en la actividad de la ligasa. A partir de lo anterior, se obtuvo información mecanicista sobre la vía de la ubiquitina y un marco para lograr comprender el mimetismo molecular en la patogénesis bacteriana [46].

2.2 Receptor de proteína de unión a la penicilina 1b (PDB ID: 2UWX)

Las PBPs, son enzimas que cumplen la función en la polimerización de entrecruzar, es decir, unir cadenas de glicano por medio de un enlace covalente para formar peptidoglicanos (transpeptidación) en la formación de la pared celular bacteriana [48]. Las PBPs se encargan de catalizar las actividades transglicosilasa, transpeptidasa y carboxipeptidasa que en conjunto crean la estructura de peptidoglicano de la pared celular bacteriana que mantiene la morfología bacteriana [49]. No obstante, las PBPs son importantes en el proceso multimolecular de división celular, donde se requiere la biosíntesis de nuevos peptidoglicanos en los procesos de elongación de la pared celular y formación del tabique [50].

Las PBPs se clasifican en tres clases: A, B y C, las cuales se subdividen a su vez en clases de acuerdo a las diferencias de secuencia; las clases A y B se consideran PBPs de alto peso molecular y la clase C como PBPs de bajo peso molecular [48]. Las PBPs de alto peso molecular son responsables de formar el peptidoglicano y llevar a cabo la inserción en la pared celular preexistente [48]. No obstante, la resistencia de los antibióticos betalactámicos hacia las PBPs se presenta principalmente por la producción de enzimas β -lactamasas que se encargan de escindir los anillos betalactámicos, volviéndolos ineficaces, o por medio de la modificación de las PBPs, lo que imposibilita la unión a los antibióticos betalactámicos por la baja afinidad o la baja tasa de acilación [48].

Kian-Sim Goo y Tiow-Suan Sim [48], realizaron un análisis *in silico* de tres enzimas relacionadas con las cefalosporinas como la enzima sintetizadora conocida como la desacetoxicefalosporina-C sintasa, las PBPs y las enzimas degradantes, las β -lactamasas, y mostraron estructuras terciarias y clases de PBPs de diferentes especies bacterianas como *E. coli*, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *S. pneumoniae*, *S. aureus* y *Bacillus subtilis*, donde los antibióticos betalactámicos inhiben la actividad de las PBPs gracias a su similitud estructural con el péptido terminal D-Ala-D-Ala del precursor del peptidoglicano y se unen al dominio de unión a penicilina de las PBPs.

Un mecanismo común de resistencia, es poseer una o varias PBPs con baja afinidad por los antibióticos betalactámicos, como sucede con *S. aureus*; pero, el *S. pneumoniae* supera la acción de dichos antibióticos modificando sus PBPs por recombinación genética de genes [48]. Existen seis PBPs en *S. pneumoniae*: PBP1a, PBP1b, PBP2a, PBP2b, PBP2x y PBP3, donde PBP1a, PBP2b y PBP2x se modifican en cepas resistentes [10, 16, 48]. También se ha considerado la flexibilidad del sitio activo como el mecanismo clave de resistencia adoptado por las PBPs de *S. pneumoniae* para contrarrestar los efectos inhibidores de los antibióticos betalactámicos [48]. Debido a lo anterior, Goo y Sim plantearon aplicar nuevas técnicas *in vitro* e *in silico* para el desarrollo de nuevas cefalosporinas efectivas frente a PBPs de baja afinidad del *S. pneumoniae* y *S. aureus*, teniendo en mente que la resistencia puede surgir de nuevo [48].

Por otra parte, Fisher y colaboradores [49] realizaron un estudio computacional con la PBP1b de *S. pneumoniae*, causante de neumonía y meningitis, la cual es una estructura representativa de los miembros de las PBPs de clase A. Existe poca información acerca de los mecanismos catalíticos que llevan a cabo las PBPs y de su modo de unión para la reacción de entrecruzamiento catalizada por transpeptidasa, lo cual es preocupante debido a que se considera que la alteración mutacional que presenta el sitio activo de la transpeptidasa es un mecanismo primario para el desarrollo de resistencia a los antibióticos betalactámicos [49]. Las estructuras de PBP1b (PDB ID: 2UWX y 2UWY) que se encuentran inactivadas por cefalosporinas betalactámicas mostraron un sitio activo más abierto y permitieron identificar la Ser460 como el nucleófilo que media las reacciones de transferencia de acilo, a través de un intermediario acil-enzima; lo anterior se comprobó con las simulaciones de dinámica molecular con disolventes explícitos y cálculos de mecánica cuántica/mecánica molecular de ONIOM [49]. Es decir, para la formación de la acil-enzima PBP1b inicial es necesaria la activación directa de la Ser460 por la Lys463 [49]. Asimismo, se evaluaron las interacciones por puentes de hidrógeno entre el tallo peptídico y la PBP1b, específicamente con los residuos Lys463, Tyr498, Tyr515, Ser626, Arg627, Thr654 y Gly689 [49].

En el trabajo realizado por Macheboeuf y colaboradores [50], se reportó la estructura cristalina de PBP1b de *S. pneumoniae*, observando que la enzima existe en conformaciones inactivas durante las fases del ciclo de división celular en las que no participan, activándose sólo cuando es necesario; para ello, se formaron complejos con las cefalosporinas, nitrocefina y cefotaxima, donde ambos ingresaron al sitio activo de serina, sugiriendo que dicho sitio cuando está cerrado, es sólo una forma transitoria de la enzima. El sitio activo transpeptidasa de PBP1b alberga tres motivos estructurales conservados: SXXK que contiene los aminoácidos Ser460, Thr461, Thr462 y Lys463; SXN que contiene Ser516, Trp517 y Asn518 y KTG que contiene Lys651, Thr652 y Gly653 [50]. Con base en las observaciones de dicho estudio, se propone que a medida que la participación de las PBPs se vuelve esencial dentro del ciclo de división celular, éstas se activan, dependiendo de la disponibilidad o localización

del sustrato y es así que las dos formas de PBPs se considera podrían proporcionar a la célula un control distinto sobre la regulación de la biosíntesis de la pared celular [50].

La resistencia bacteriana a los antibióticos betalactámicos representa una grave amenaza para la salud humana y los patógenos *S. aureus* y *S. pneumoniae* son de los principales patógenos causantes de infecciones bacterianas en los hospitales. Por tal motivo, se analizó la PBP2a del *S. aureus* que presenta resistencia a la meticilina.

2.3 Receptor de proteína de unión a la penicilina 2a (PDB ID: 5M19)

El mecanismo general de acilación irreversible que realizan los antibióticos betalactámicos frente a las PBPs, ocurre formando primeramente de manera reversible el complejo Michaelis no covalente, seguido del ataque nucleofílico del aminoácido serina del sitio activo al anillo betalactámico para formar un intermediario covalente acil-PBP, el cual es relativamente estable [51, 52]. Sin embargo, la resistencia surge debido a una formación ineficiente del intermediario acil-enzima y la PBP continúa con la transpeptidación [30, 51]. El SARM justamente adquirió por transferencia genética un PBP adicional (PBP2a). Algunos estudios recientes sugieren que las enfermedades resistentes a los medicamentos provocarán aproximadamente 10 millones de muertes al año en 2050, lo más preocupante es que se prevé que aumentará a lo largo de los años [53].

Poco tiempo después de los primeros reportes de SARM en Reino Unido, la resistencia se extendió en varios países como Estados Unidos de América, Australia, Japón, Turquía y varios países de Europa con el paso del tiempo [17]. No obstante, en 1996 en Japón se aisló una cepa SARM resistente también a la vancomicina, lo cual se extendió a cepas similares aisladas en Estados Unidos, Francia, Corea, Sudáfrica y Escocia [51].

Cortés y colaboradores [54], demostraron por medio de acoplamiento molecular que algunos cannabinoides tienen una alta actividad biológica contra el SARM, específicamente, estudiaron las proteínas fundamentales en el ciclo de vida de la bacteria junto con sus inhibidores comercialmente conocidos: oxacilina (inhibidor de PBP2a), mupirocina (inhibidor de la isoleucil-ARNt sintetasa) y norfloxacin (inhibidor de ADN girasa). A partir del análisis QSAR y sus orbitales frontera HOMO (orbital molecular de más alta energía ocupado) y LUMO (orbital molecular desocupado de más baja energía) predijeron la actividad biológica partiendo de propiedades físicoquímicas, comprobaron los resultados del acoplamiento molecular y demostraron que la lipofilia y la baja polaridad parecen aumentar la probabilidad de unión de los compuestos en el sitio activo de la proteína [54].

La PBP2a presenta un sitio activo y un sitio alostérico, donde el sitio activo cuando se encuentra en la conformación cerrada no permite que los antibióticos betalactámicos puedan unirse a él, a excepción de algunos ligandos que evitan el crecimiento de la bacteria;

no obstante, cuando algún ligando se une favorablemente al sitio alostérico, el sitio activo se abre debido a los cambios conformacionales, especialmente en el residuo Tyr466 y permite que el antibiótico betalactámico tenga un efecto sinérgico en el sitio activo, logrando la inhibición de la bacteria [55].

En 2020, Alhadrami y colaboradores [55] analizaron una serie de compuestos fenólicos de origen vegetal contra el sitio activo y alostérico del SARM, donde para el sitio activo se buscaron nuevos compuestos que se unieran satisfactoriamente a él y para el sitio alostérico se buscaron que tuvieran el efecto sinérgico junto con los antibióticos betalactámicos. En dicho estudio realizaron un cribado virtual de compuestos fenólicos y aplicaron técnicas de acoplamiento y dinámica molecular, comprobando el modo de unión de los ligandos al receptor y los aminoácidos participantes en las interacciones, siendo los mejores el ceftobiprol con Ser403, Tyr446, Ser462, Asn464, Gln521, Ser598, Thr600, Ala601 y Glu602 y la crisina con Ser403, Tyr446, Asn464, Tyr519, Gln521 y Thr600 [55]. A partir de los estudios *in silico* y con estudios *in vitro* se concluyó que solo los compuestos pequeños, que son relativamente no polares pueden llegar a acceder a los estrechos surcos hidrofóbicos del sitio activo como sucede con el ceftobiprol o la crisina y que ciertos flavonoides pueden combatir cepas resistentes, como inhibidores en el sitio activo o en combinación con antibióticos betalactámicos buscando el efecto sinérgico [55]. Asimismo, los resultados del ceftobiprol habían sido comprobados por Kumar y colaboradores [16] que determinaron una buena afinidad con la PBP2a gracias a la cantidad de interacciones hidrofóbicas e interacciones por puentes de hidrógeno que se forman.

Por otro lado, Mahasenani y colaboradores [52] estudiaron la dinámica conformacional de los ligandos oxacilina, cefepima y ceftazidima frente a la PBP2a. Dichos compuestos se unieron al sitio alostérico para formar los complejos y se observó el estado “abierto” o “parcialmente abierto” de la PBP2a, lo cual se puede respaldar por medio de la comunicación existente entre el sitio alostérico y el sitio activo por mutagénesis dirigida [52]. Aunado a, se determinó que cuando la PBP2a se encuentra frente a un antibiótico betalactámico como la ceftarolina que guarda un mimetismo efectivo respecto al tallo de peptidoglicano, ésta se une al sitio alostérico y la PBP2a se mantiene en un estado abierto continuamente vulnerable que impide que se cierre; buscando por tanto, desarrollar antibióticos betalactámicos que imiten efectivamente al tallo de peptidoglicano [52].

Por otra parte, en 2023 Prabha y colaboradores [53] exploraron el potencial inhibidor de compuestos bioactivos de origen vegetal contra la PBP2a y otras proteínas diana asociadas con el *S. aureus* resistente a los medicamentos, por medio de acoplamiento y dinámica molecular para comprender los cambios conformacionales y las interacciones que presentan el ligando y la proteína, en el sitio alostérico para la PBP2a y se determinaron sus energías libres de unión así como propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas con el fin de obtener los mejores candidatos, siendo el ácido oleanólico, la β -amirina, la Friedelina, la

proantocianidina, la quercetina, la rutina y el kaempferol, donde los primeros tres pertenecen a clases de triterpenoides y los últimos cuatro son flavonoides.

Es importante destacar, que el sitio activo de la proteína PBP2a se encuentra en un surco extendido que presenta flexibilidad y donde el aminoácido Ser403 actúa como nucleófilo [51]. Se realizó el estudio computacional de la nitrocefina, la penicilina G y la meticilina frente al sitio activo de la PBP2a, observando interacciones con varios aminoácidos de dicho sitio y concluyendo que el aumento de interacciones no covalentes mejora la afinidad de unión [51]. Gracias a la capacidad que presenta la PBP2a para actuar como única transpeptidasa durante la síntesis de la pared celular frente a betalactámicos, se ha evitado el desarrollo de nuevas resistencias en las PBPs que normalmente son producidas por la bacteria de *S. aureus* [51].

Masumi y colaboradores [56] estudiaron 46 flavonoides frente a la PBP2a llevando a cabo cálculos de acoplamiento molecular, estudios de validación cruzada, determinación de MMGBSA y analizando la estabilidad de las mejores conformaciones encontradas por simulaciones de dinámica molecular; los mejores resultados se encontraron para el kaempferol 3-rutinósido-7-soforósido y la rutina, los cuales también exhibieron una afinidad de unión destacada al sitio alostérico de la enzima. Es importante mencionar que a partir del acoplamiento molecular se identificaron un total de 14 residuos principales dentro del sitio activo de PBP2a, incluidos Ser337, Lys340, Ser403, Lys406, Tyr446, Ser462, Asn464, Thr500, Ser548, Gly549, Ser598, Gly599, Thr600 y Met641, donde algunos de ellos se conservaron durante las simulaciones de dinámica molecular [56].

2.4 Receptor de bomba de eflujo NorA (PDB ID: 7LO8)

En los últimos tiempos, la secuencia completa del genoma de *S. aureus* ha permitido explorar 30 genes de bombas de eflujo que pertenecen a la MFS [57]. El análisis mediante técnicas estructurales, computacionales y bioquímicas revela que la MFS posee un único sitio de unión, un mecanismo de acceso alterno que implica un movimiento de tipo interruptor basculante de la proteína; dicho sitio, comprende residuos hidrofóbicos que le permite exportar un amplio espectro de fármacos lipofílicos [57, 58].

La bomba de eflujo NorA, miembro de la MFS, es una de las principales bombas de eflujo sobreexpresadas en los aislados clínicos del torrente sanguíneo de *S. aureus*, aunque también se encuentra presente en cepas de *E. coli* y está involucrada en el eflujo de múltiples compuestos farmacológicos como quinolonas, fluoroquinolonas, tetraciclinas, compuestos de amonio cuaternario y antisépticos, fenotiazinas y tioxantenos, verapamilo y omeprazol, totarol, reserpina, ferruginol, ácido carnósico y colorantes (como bromuro de etidio, rodamina, acridina y biocidas) [33, 57, 59, 60]. La resistencia a la norfloxacin, y en general,

a las quinolonas, se debe al mecanismo de acción intracelular que se obstaculiza con la actividad de las bombas de eflujo [59].

Las fluoroquinolonas solían ser agentes prometedores para el tratamiento del SARM [60]. Actualmente, no existen fármacos aprobados clínicamente para inhibir la bomba de eflujo, se esperaría que algún fármaco pudiera inhibir la bomba y potenciara la eficacia o restaurara la actividad de los antibióticos ya existentes que se vuelven ineficaces por dichas bombas; por tal razón, se considera necesario la búsqueda de inhibidores de la bomba de eflujo NorA [58, 61].

Zárate y colaboradores [58], estudiaron una gran variedad de compuestos similares a la capsaicina frente a NorA, debido a que esta sustancia fue identificada como buen inhibidor de dicha bomba al reducir la concentración inhibitoria mínima (MIC) de ciprofloxacina para *S. aureus*. Para ello, construyeron la bomba de eflujo, determinaron las cavidades de lado citoplasmático, región del núcleo de unión y lado periplásmico y por acoplamiento molecular y estudios farmacocinéticos y de toxicidad obtuvieron candidatos con mejores resultados que la capsaicina [58]. Asimismo, en el acoplamiento observaron interacciones hidrofóbicas con Phe16, Ile19, Ile23, Ile244 e interacciones π - π apilado con Phe47 y Trp293 [58].

En 2016, Bhaskar y colaboradores [57], construyeron el modelo de la bomba de eflujo NorA basándose en la estructura cristalina del transportador de glicerol-3-fosfato y con acoplamiento molecular analizaron los compuestos de reserpina, totarol, ferruginol, salvina, tioxanteno, fenotiazina, omeprazol, verapamilo, ácido nalidíxico, ciprofloxacina, levofloxacina y acridina frente a la bomba de eflujo NorA, así como otras 14 moléculas obtenidas por cribado virtual, donde se encontró que todas se unen a la gran hendidura hidrofóbica y presentan interacciones significativas con Phe13, Phe14, Phe16, Leu17, Gly20, Phe47, Ala48, Gln51, Ala105, Gly106, Val108, Met109, Ile135, Ile136, Phe140, Thr211, Leu212, Phe216, Ala312 y Phe341, residuos presentes en el bolsillo de unión [57]. A los mejores compuestos anteriores se les realizaron estudios farmacológicos considerándolos útiles para diseñar inhibidores selectivos contra la bomba de eflujo NorA [57].

Los compuestos con imidazolidinas son muy atractivos en la química medicinal debido a sus actividades antimicobacterianas, anticonvulsivas, anti-VIH, antidiabéticas y anticancerígenas y también la incorporación de sustituyentes de flúor a pequeñas moléculas orgánicas ha dado como resultado valiosas propiedades farmacéuticas, incluidas lipofilicidad, electrofilicidad, estabilidad metabólica, estabilidad química y unión al receptor [60]. Faillace y colaboradores [60], evaluaron por ensayos fluorimétricos y acoplamiento molecular la actividad antimicrobiana de imidazolidinas de fluorobencilideno sintéticas y su efecto modulador para potenciar la actividad de antibióticos convencionales sobre la resistencia a fluoroquinolonas en la cepa de *S. aureus* (SA-1199B), que sobreexpresa el gen *norA* que codifica la bomba de eflujo NorA. Los resultados mostraron una actividad

antimicrobiana débil para los derivados de fluorobencilideno por sí solos, pero fueron capaces de potenciar la actividad de norfloxacin y ciprofloxacina contra SA-1199B hasta 6.4 y 3.2 veces, respectivamente [60]. Se han propuesto diferentes mecanismos para explicar la acción de los inhibidores de la bomba de eflujo, en este trabajo se reforzó uno de ellos, que se basa en la unión competitiva en la bomba de eflujo, donde el inhibidor, bloquea la interacción entre el antibiótico y la bomba de eflujo y evita su extrusión o eliminación [60].

En el estudio realizado por de Araújo y colaboradores [59], se analizó la efectividad de monoterpenos, específicamente el α -pineno y limoneno, como inhibidores de la bomba de eflujo contra una cepa de *S. aureus* que expresa proteínas NorA, realizando estudios *in vitro* e *in silico*. A partir del análisis, se encontró que ambos terpenos presentan una interacción similar en el sitio de unión y se dedujo que las interacciones entre el receptor y los terpenos se dan principalmente de forma no polar y parcialmente hidrofóbica en “regiones trampa hidrofóbicas” que involucran interacciones de van der Waals, π -alilo y alilo, con la posibilidad de alguna interacción por puente de hidrógeno [59]. Asimismo, se sugiere que la hidrofobicidad podría contribuir a la estabilización de diferentes compuestos en las bombas de eflujo y que el α -pineno y el limoneno podrían actuar como inhibidores de la bomba de eflujo NorA y potenciar la actividad de la norfloxacin [59].

Posteriormente, Brawley y colaboradores [61], identificaron fragmentos sintéticos de unión a antígenos (Fab) que inhiben la bomba de eflujo NorA del SARM junto con la bomba por medio de la técnica de criomicroscopía electrónica, que reveló que el bucle Fab está profundamente insertado en el bolsillo de unión y que un residuo de arginina en dicho bucle interactúa con dos residuos vecinos de aspartato y glutamato (Asp307 y Glu222), esenciales para la resistencia a los antibióticos. Asimismo, en el estudio se cristalizaron dos estructuras de la bomba de flujo NorA con los fragmentos Fab, con los PDB ID: 7LO7 y 7LO8 de la base de datos RCSB PDB [61].

Finalmente, Alves y colaboradores [62] analizaron el potencial antibacteriano de cuatro chalconas sintéticas y su efecto modulador de la resistencia a la norfloxacin que presenta la bomba de eflujo NorA. Posterior a la síntesis de las chalconas, se realizaron estudios para determinar la MIC, observando que éstas tienen potencial como inhibidores al reducir la concentración necesaria de norfloxacin y de bromuro de etidio [62]. Asimismo, se realizaron cálculos de acoplamiento molecular para determinar las interacciones entre las chalconas y el receptor, siendo sobre todo de tipo van der Waals, π -sulfuro y π - π apilado y pocas o ninguna interacción por puente de hidrógeno con los aminoácidos Phe16, Met109, Phe140, Glu222, Phe303, Phe306, Arg310, Thr336 y Asn340. Adicionalmente, se realizaron estudios para evaluar las propiedades farmacocinéticas y la toxicidad, reforzando que las chalconas junto con la norfloxacin podrían ser útiles para el tratamiento de infecciones por el *S. aureus* [62].

3. Justificación

Una gran cantidad de especies bacterianas se consideran problemas de salud pública, tales como *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, debido a que son patógenos oportunistas. Adicionalmente, la bacteria de *S. pneumoniae* es aquella que usualmente causa neumonía, enfermedad que es un gran desafío puesto que es la principal causa de muerte en niños menores de cinco años, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) [63].

Por otra parte, la OMS indica que cada año se enferman alrededor de 600 millones de personas por comer alimentos no salubres, siendo la bacteria *E. coli* uno de los patógenos principales que se contrae por comer alimentos en mal estado o que fueron contaminados con dicho patógeno [64].

Asimismo, las subespecies del *Staphylococcus*, como el *S. aureus*, presentan una gran capacidad de adaptación y se propagan fácilmente de una especie a otra. Desde hace varios años, el *S. aureus* ha incrementado su aparición y ha sido la principal causa de infecciones en el torrente circulatorio e intoxicaciones ocasionadas por los alimentos y una de las principales causas de las infecciones adquiridas en los hospitales. Lo alarmante del *S. aureus* es su fácil diseminación gracias a la gravedad de su patogenicidad; la patogenia que provoca dicha bacteria surge cuando se combinan sus características de virulencia con el decremento de las defensas del huésped. Adicional a lo anterior, la gravedad aumenta puesto que el patógeno ha desarrollado una resistencia a los antibióticos, haciendo más complicado el tratamiento de las enfermedades que causa esta bacteria.

No obstante, la resistencia microbiana es un desafío mundial actual presente no solo en el *S. aureus* sino también en una gran cantidad de bacterias grampositivas como el *S. pneumoniae* y gramnegativas como el *E. coli*; como ocurre con el incremento del *S. aureus* resistente a la metilicina, ocasionado posiblemente por el uso excesivo de los antibióticos o los malos pronósticos, provocando un aumento en la morbilidad y mortalidad.

Actualmente, el desarrollo y la innovación de fármacos se encuentra estancado ya que de acuerdo con la OMS, el número de antibióticos que se desarrollaron y aprobaron desde el 2017 al 2022 fue de doce, donde diez de ellos ya han presentado resistencia [65]. Adicionalmente, cada cuatro horas en los laboratorios del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) se detecta un germen resistente y cada día mueren alrededor de 2000 personas por dicha resistencia. La preocupación se agrava puesto que las proyecciones para el año 2050 indican una tendencia de que habrá más muertes a causa de la resistencia bacteriana que las que se presentan por causa de cáncer actualmente [20]. No obstante, los impactos negativos no son únicamente en el área de la salud, sino también en el área económica porque de acuerdo con un estudio reciente, para

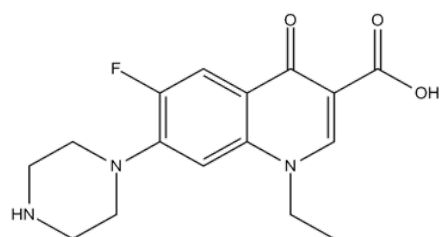
2050 los costos anuales mundiales ocasionados por la resistencia bacteriana serán de alrededor de 100 billones de dólares, lo cual provocará grandes crisis financieras [20].

Con base en las inquietantes proyecciones que se prevén por la resistencia bacteriana y las grandes limitantes en el desarrollo de los fármacos como lo son los tiempos de aprobación, los costos y las bajas tasas de éxito, es necesario el estudio y diseño de nuevos compuestos antibacterianos, comenzando con un enfoque teórico-computacional en las primeras etapas del desarrollo para facilitar y acelerar la selección de posibles sustancias que puedan llegar a tener un efecto farmacológico activo que sea antagonista a determinadas dianas de las células bacterianas. Uno de los métodos importantes usado como primera instancia es el acoplamiento molecular (docking molecular) que permite predecir y calcular computacionalmente la posición más favorable para la interacción entre un ligando (molécula que se espera actúe como fármaco) y una diana. Posterior a los cálculos de acoplamiento molecular, otra técnica computacional de utilidad es la Dinámica Molecular, que evalúa la evolución y el comportamiento de los átomos a lo largo del tiempo en condiciones fisiológicas y permite determinar si puede existir una actividad biológica de inhibición hacia la diana molecular, por lo cual se infiere la necesidad del uso de los métodos químico-computacionales para la búsqueda de compuestos que se espera puedan combatir las infecciones bacterianas causadas por los patógenos estudiados.

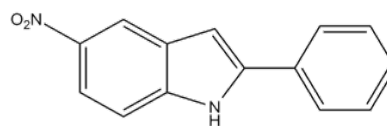
4. Hipótesis

Los compuestos del tipo aza-heterociclos, **Lig1** (norfloxacin) y **Lig3** al **Lig8**, mostrados en la Figura 1, análogos estructurales del inhibidor **Lig2** (2-fenil-5-nitroindol, INF55) y estudiados por el grupo de trabajo [66, 67], podrían ser efectivos inhibidores de la bomba de eflujo NorA y de los receptores de agentes infecciosos como *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, *Streptococcus pneumoniae* o *Escherichia coli*, causantes de infecciones bacteriológicas importantes. Estos compuestos, comparados con otras sustancias activas conocidas, tienen grupos funcionales que pueden presentar interacciones intermoleculares fuertes y/o una gran afinidad a residuos de las dianas moleculares estudiadas para inhibir la acción biológica de dichos receptores.

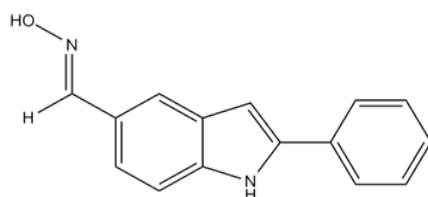
Mediante el uso de técnicas basadas en cálculos químico-computacionales es posible estudiar y evaluar los mejores sitios de unión de los compuestos aza-heterociclos hacia los receptores por medio de energías de afinidad y realizar un estudio farmacocinético para proponer estructuras análogas a medicamentos comerciales o con propiedades promisorias para el desarrollo de compuestos, que en etapas posteriores sean candidatos a sustancias activas que ayuden a combatir las enfermedades causadas por los patógenos analizados.



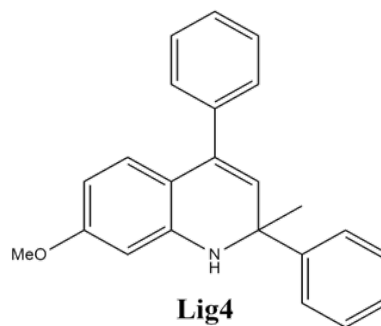
Lig1
(norfloxacina)



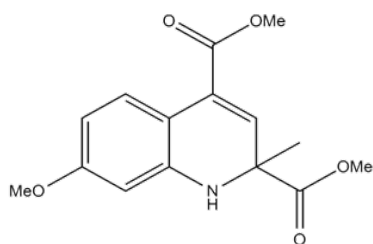
Lig2
(2-fenil-5-nitroindol)



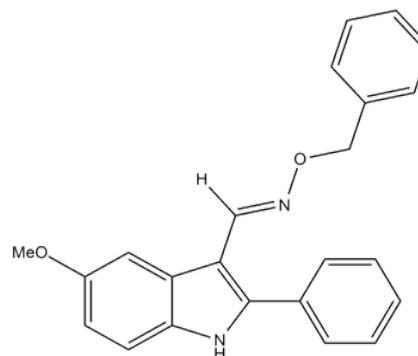
Lig3



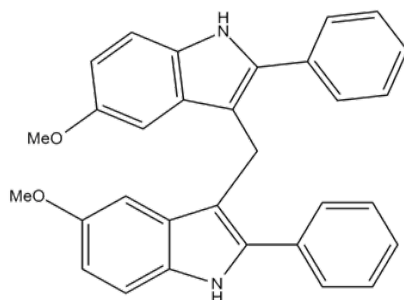
Lig4



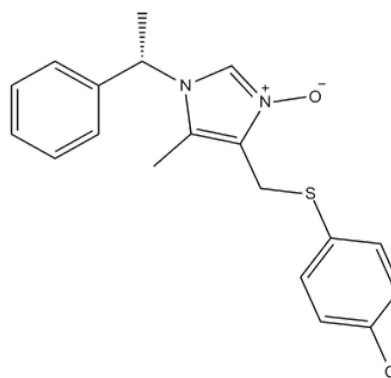
Lig5



Lig6



Lig7



Lig8

Figura 1. Ligandos propuestos que son compuestos aza-heterociclos análogos al inhibidor 2-fenil-5-nitroindol (INF55).

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Evaluar la capacidad inhibitoria de los compuestos tipo aza-heterociclos **Lig1** y **Lig3** al **Lig8** análogos al inhibidor **Lig2** (Figura 1) contra receptores de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, de *Escherichia coli* y de *Streptococcus pneumoniae* mediante técnicas de mecánica molecular como el acoplamiento molecular y la dinámica molecular para determinar el compuesto con mejor inhibición hacia estos patógenos.

5.2 Objetivos específicos

- Determinar por medio de técnicas computacionales de acoplamiento molecular, el modo de unión y la especificidad del ligando co-cristalizado (donde corresponda) y de los ligandos **Lig3** al **Lig8** análogos al **Lig2** contra las macromoléculas 2UWX, 3NAW, 5M19 y 7LO8.
- Ejecutar el acoplamiento molecular de los fármacos conocidos como norfloxacin (Lig1), oxacilina y mupirocina contra la macromolécula 3NAW y del **Lig1** contra la macromolécula 2UWX, 5M19 y 7LO8, como controles de referencia.
- Obtener propiedades fisicoquímicas y el análisis ADME (Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción) de los ligandos **Lig1** al **Lig8**.
- Realizar el estudio farmacocinético basado en metodologías QSAR de los ligandos **Lig1** al **Lig8**, el ligando co-cristalizado de 2UWX y la meticilina para la obtención del parámetro pIC₅₀, usando fármacos conocidos como referencia.
- Llevar a cabo un estudio evolutivo respecto al tiempo basado en la técnica de Dinámica Molecular de los complejos formados por los mejores modos de unión de los ligandos **Lig1** al **Lig8** contra las macromoléculas 3NAW, 2UWX, 5M19 y 7LO8.
- Realizar el cálculo de propiedades electrónicas y de reactividad intrínseca de los ligandos **Lig1** al **Lig8**.

6. Metodología

6.1 Marco teórico

6.1.1 Acoplamiento Molecular (Molecular Docking)

El acoplamiento molecular es un método bioinformático, a partir del cual se predice y calcula de manera computacional y tridimensional la posición más favorable para la interacción entre un ligando y una diana molecular, donde a partir de dicha interacción se busca la actividad biológica de inhibición o activación [68]. Fue inicialmente descrito en el año de 1982 por Kuntz y colaboradores como herramienta para la búsqueda estructural de ligandos con actividad biológica frente a dianas terapéuticas, donde los ligandos pueden ser diversas moléculas pequeñas como hormonas, neurotransmisores, principios activos de fármacos o incluso compuestos aislados de fuentes naturales; mientras que, los blancos o dianas terapéuticas son moléculas que pueden ser ácidos nucleicos o proteínas [68].

En esta técnica computacional se emplean dos algoritmos a lo largo del cálculo, primero se lleva a cabo un algoritmo de búsqueda para muestrear y predecir diferentes conformaciones estructurales que puede presentar el ligando dentro del dominio o sitio activo en la diana y después, un segundo algoritmo con una función de puntuación, donde se predice la energía de afinidad que presenta el ligando con la diana para cada una de las conformaciones determinadas en el primer algoritmo [68].

En general, los diversos programas de acoplamiento molecular se comparan por su capacidad para reproducir la pose de unión nativa de un ligando (de preferencia con ligandos co-cristalizados usados como referencia) a partir de una proteína. Esta capacidad se mide evaluando la distancia entre la pose predicha y la pose nativa, haciendo una superposición de sus estructuras, dicha medición se conoce como desviación cuadrática media (RMSD, por sus siglas en inglés) entre sus respectivos átomos [69].

El acoplamiento molecular se puede clasificar en acoplamiento global/ciego o dirigido, dependiendo de si la caja de búsqueda se realiza en todo el receptor o si solamente se realiza en una región determinada, respectivamente. A su vez, el acoplamiento molecular puede ser de tipo rígido o flexible, donde en el primero, el receptor se considera una estructura rígida, sin movimiento y en el segundo caso, se considera que algunos aminoácidos del receptor cuentan con cierta movilidad o rotación de sus enlaces.

El acoplamiento molecular se realizó utilizando los programas de AutoDock4, AutoDock Vina y AutoDock FR, cuyas principales diferencias se describen a continuación.

AutoDock4 es un programa desarrollado por Morris y colaboradores en el Laboratorio de Gráficos Moleculares del Instituto de Investigación Scripps y está presente

desde el año 1991 [70]. AutoDock4 tiene una variedad de algoritmos de búsqueda y su función de puntuación se basa en un análisis de regresión lineal, un campo de fuerza de construcción de modelos asistidos con refinamiento de energía (AMBER) y varios complejos proteína-ligando con constantes de inhibición conocidas [70].

Asimismo, AutoDock4 consiste en dos programas principales: autodock y autogrid. El primero lleva a cabo el acoplamiento molecular del ligando en un conjunto de mapas de cuadrícula que describen la proteína objetivo. Mientras que, el segundo pre-calcula las cuadrículas anteriores.

El campo de fuerza utilizado por AutoDock4 es de energía libre semiempírico para evaluar las conformaciones durante las simulaciones de acoplamiento y se parametriza usando un gran número de complejos proteína-inhibidor, de los cuales se conoce su estructura y sus constantes de inhibición [70]. El campo de fuerza evalúa la unión comenzando con el ligando y la proteína no unidos; es decir, primero se estima la energía intramolecular de la transición de no estar unidos a la conformación del ligando y la proteína en el estado unido y segundo, se evalúa la energía intermolecular de combinar el ligando y la proteína en su conformación unida [70].

Por otro lado, AutoDock Vina es un programa desarrollado por Trott y Olson en el Laboratorio de Gráficos Moleculares del Instituto de Investigación Scripps en La Jolla, California en 2009. Se considera que AutoDock Vina es una nueva generación de AutoDock4 y presenta mejoras significativas en la precisión promedio de las predicciones del modo vinculante, es dos órdenes de magnitud más rápida y cuenta con capacidad multinúcleo [71]. Tiene un nuevo algoritmo de búsqueda y una función de puntuación híbrida, inspirada en X-score, que combina una función de puntuación empírica y una función basada en el conocimiento [72]. Adicionalmente, AutoDock Vina realiza los cálculos de los mapas de cuadrícula de manera interna para los tipos de átomos que se requieran, sin la necesidad de seleccionar los tipos de átomos presentes [73].

El enfoque de optimización global que usa AutoDock Vina es el optimizador Iterated Local Search, que realiza una sucesión de pasos consistentes en una mutación y una optimización local [72]. En esta implementación, se utiliza el método Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno (BFGS) para la optimización local, método cuasi-Newton eficiente, el cual usa el valor de la función de puntuación y su gradiente, es decir, las derivadas de la función de puntuación con respecto a sus argumentos; siendo los argumentos: la posición y orientación del ligando, los valores de las torsiones para los enlaces giratorios activos en el ligando y los residuos flexibles [72].

Por su parte, AutoDock FR es otro programa que permite realizar acoplamientos moleculares de ligandos frente a receptores. Fue desarrollado en el Laboratorio de Sanner en

el Instituto de Investigación Scripps y utiliza la misma función de puntuación que AutoDock4; sin embargo, cuenta con su propio algoritmo genético que puede evolucionar y optimizar múltiples soluciones juntamente [74]. Este programa ofrece la posibilidad de manejar una gran cantidad de enlaces giratorios y finalizar las búsquedas en las convergencias [74]. El programa de AutoDock FR es compatible con los modos de acoplamiento efectuados por AutoDock4 y AutoDock Vina; no obstante, AutoDock FR se diseñó especialmente para ejecutar acoplamientos moleculares que incluyan flexibilidad en receptores selectivos.

Una de las principales áreas de oportunidad del acoplamiento molecular, independientemente del programa, son las funciones de puntuación, debido a que varios factores como son las interacciones electrostáticas de largo alcance, la desolvatación tras la unión y las contribuciones entrópicas no se encuentran bien definidas en dichas funciones de puntuación [68]. Por este motivo, en este proyecto se considera analizar el comportamiento o evolución a través del tiempo de los sistemas que presenten mejores acoplamientos mediante la técnica de Dinámica Molecular.

6.1.2 Dinámica Molecular (Molecular Dynamics)

La dinámica molecular se puede definir como la técnica de simulación por computadora que permite predecir cómo se moverá cada átomo de una proteína u otro sistema molecular con el tiempo basándose en un modelo general de la física que rige las interacciones interatómicas [75]. La dinámica molecular se basa en la Mecánica Molecular que se rige por las Leyes de la Física Clásica [76]. Para la realización de la simulación de dinámica molecular se deben conocer las posiciones de todos los átomos en un sistema biomolecular y se calcula la fuerza ejercida sobre cada átomo por todos los demás átomos utilizando las leyes del movimiento de Newton para predecir la posición espacial de cada átomo en función del tiempo [77]; conforme se avanza en el tiempo, se calcula repetidamente las fuerzas sobre cada átomo y luego se usan dichas fuerzas para actualizar la posición y velocidad de cada átomo, lo cual se realiza de manera consecutiva hasta llegar al tiempo establecido y obtener la trayectoria resultante, donde dicha trayectoria es una película tridimensional que describe la configuración en cada punto del sistema a nivel atómico durante el intervalo de tiempo simulado [76, 77].

Para llevar a cabo las simulaciones se requieren calcular las fuerzas que se determinan por modelos matemáticos conocidos como campos de fuerza, los cuales consideran las interacciones intramoleculares (enlace, ángulo de enlace y ángulo de torsión) e intermoleculares (fuerzas de van der Waals y electrostáticas) [76]. Por ejemplo, un campo de fuerza típico incorpora términos que capturan interacciones electrostáticas (coulómbicas) entre átomos, términos tipo resorte que modelan la longitud preferida de cada enlace covalente y términos que capturan otros tipos de interacciones interatómicas [76]. Existen

diversos campos de fuerza desarrollados para diferentes usos; sin embargo, todos ellos se consideran inherentemente aproximados. Asimismo, existen una gran cantidad de programas computacionales de uso académico y comercial que permiten realizar simulaciones de dinámica molecular; para este trabajo, se realizaron las simulaciones con el programa NAMD y se corroboraron mediante el uso del programa Amber.

6.1.3 Cálculos de energías libres de unión

Existen diferentes métodos para determinar la energía libre de unión que expresa en términos cuantitativos la fuerza de unión entre un ligando y receptor. Los métodos más utilizados y eficientes, pero poco precisos son las funciones de puntuación del acoplamiento molecular [78]. También existen otros métodos con mayor precisión conocidos como métodos de perturbación química que se derivan de la mecánica estadística, requieren de muestreos y necesitan una gran capacidad de cómputo [78]. Adicionalmente, existe otro tipo de métodos llamados métodos de punto final, que requieren de muestreos y se basan en los estados finales, por lo que resultan menos costosos computacionalmente que los métodos de perturbación química pero más precisos que las funciones de puntuación [78].

Los métodos de punto final más utilizados son MMPBSA (Mecánica Molecular y Área de Superficie Poisson Boltzmann) desarrollado por Kollman y colaboradores a finales de los años 90 y MMGBSA (Mecánica Molecular y Área de Superficie Generalizada de Born), en ambos métodos la energía libre se estima como la resta de la energía libre del complejo menos la energía libre del receptor y del ligando por separado [78]. Asimismo, la energía libre de un estado se determina por medio de la ecuación 1:

$$G = E_{intramolecular} + E_{electrostática} + E_{van\ der\ Waals} + G_{polar} + G_{no\ polar} - TS \quad (Ec. 1)$$

Donde la energía intramolecular se calcula con la suma de las energías de la mecánica molecular estándar que considera las interacciones enlazadas formadas por enlace, ángulo de enlace y ángulo diedro; para la energía debida a las interacciones electrostáticas (calculada con la Ley de Coulomb) y las fuerzas de van der Waals se utiliza la mecánica molecular; la G_{polar} y $G_{no\ polar}$, son las contribuciones polares y no polares a la energía libre de solvatación, respectivamente y la temperatura absoluta (T) multiplicada por la entropía (S) se estima por análisis de las frecuencias vibratorias en modo normal [78]. Precisamente, el término de contribución polar a la energía libre de solvatación es aquel que indica las interacciones electrostáticas entre el soluto y el solvente y se determina con el método de Poisson Boltzmann, o bien, con el método Generalizado de Born. Por otro lado, el término no polar se estima a partir de la relación lineal con el área de superficie accesible al solvente (SASA) [78]. En la literatura, se sugiere que el último término de la ecuación (temperatura multiplicada por entropía) puede omitirse debido a que en varias pruebas no mejoran los resultados. En diversos estudios, se han comparado los métodos MMGBSA y MMPBSA y se han encontrado que se obtienen resultados mejores, peores o de calidad similar

dependiendo del sistema analizado [78]. Por tal motivo, el cálculo de la energía libre de unión se realizó por medio de los métodos MMPBSA y/o MMGBSA.

6.1.4 Análisis QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationships)

El índice de potencialidad, pIC_{50} , se define como el logaritmo negativo del IC_{50} (concentración inhibitoria media máxima), que a su vez representa la cantidad necesaria de una sustancia inhibidora para poder interferir en un 50% con un proceso biológico o un componente biológico *in vitro* [79]. El pIC_{50} es un valor importante debido a que permite determinar la potencia de un fármaco en particular, frente a una variedad de dianas biológicas asociadas a la patogénesis de múltiples enfermedades y permite comparar diversos valores con un mejor enfoque y de una forma más entendible que el IC_{50} , eliminando la posibilidad de errores en la representación y reproducibilidad de los datos [80].

Con el fin de predecir los valores de pIC_{50} de las estructuras de los ligandos aza-heterociclos **Lig1** a **Lig8**, se utilizó la metodología de Relación Cuantitativa de Estructura-Actividad (QSAR, por sus siglas en inglés), la cual relaciona de manera numérica estructuras químicas con sus actividades biológicas. La metodología QSAR se encarga de reunir un conjunto de técnicas computacionales relacionadas con diseño y visualización espacial virtual de moléculas, cálculos de propiedades fisicoquímicas moleculares conocidos como descriptores, bioinformática y estadística, para realizar una predicción teórica de la actividad biológica que permita diseñar teóricamente posibles futuros fármacos, evitando pasar por el proceso de prueba y error de síntesis orgánica [81].

Para poder hacer el análisis QSAR se requiere tener información acerca de la estructura molecular de los compuestos (ligandos) a estudiar, datos de actividad biológica de cada uno de los ligandos y propiedades fisicoquímicas de los ligandos calculadas por medios computacionales a partir de la estructura molecular, lo cual se conoce como descriptores numéricos [81]. Existen diversos programas para realizar el análisis QSAR, siendo uno de ellos el programa EasyQSAR, que se utilizó en este trabajo.

6.1.5 Análisis de propiedades fisicoquímicas y análisis ADME

En el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos es importante determinar la actividad y el trayecto de los mismos dentro el cuerpo humano para asegurar su alta seguridad y baja toxicidad. En el análisis de Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción (ADME) o ADMET, dependiendo si se considera la Toxicidad, se evalúan diversas propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas de las estructuras químicas de las sustancias. Existen diversos programas para realizar un análisis ADME como pkCSM o SwissADME, por mencionar algunos. En este trabajo se utilizó la segunda base de datos que contiene la siguiente información.

Dentro del análisis ADME se tiene la absorción, la cual se refiere a la forma en la que el compuesto químico entra al cuerpo, es decir, el movimiento desde la vía de administración del mismo hasta su llegada al torrente sanguíneo; la distribución que indica cómo se va moviendo el fármaco a través de los tejidos por medio del torrente sanguíneo o de célula a célula; el metabolismo, el cual se refiere a la biotransformación del compuesto químico por determinados órganos o tejidos del sistema para que pueda ser excretado posteriormente y la excreción que consiste en eliminar el compuesto ya metabolizado del cuerpo [82, 83]. Es importante cuidar los compuestos bioquímicos que se forman en el metabolismo químico debido a que pueden resultar tóxicos para el ser humano [83].

Como primer punto, las propiedades fisicoquímicas de la molécula que se evalúan son: la fórmula química, el peso molecular, el número de enlaces rotables, el número de aceptores de puentes de H, el número de donantes de puentes de H, la refractividad molar (medida del volumen ocupado por un átomo o grupo de átomos que depende de la temperatura, el índice de refracción y la presión), cuyos valores ideales varían entre 40 y 130 y la superficie polar topológica (suma de las superficies de todos los átomos o moléculas polares), siendo éste último importante para la absorción y el acceso cerebral y teniendo un valor ideal de igual o menos de $140 \text{ \AA}^2$ [84-87].

Enseguida, se presenta la lipofilidad, la cual es una propiedad que indica la capacidad que tiene un soluto para disolverse en un solvente orgánico (apolar) [84]. Es importante en los procesos de transporte, incluida la absorción intestinal, la permeabilidad de la membrana, la unión de proteínas y la distribución a diferentes tejidos y órganos, incluido el cerebro [88]. En específico, se muestra el coeficiente de partición o LogP, el cual representa el equilibrio de partición de un soluto no ionizado en medio de agua y un disolvente orgánico inmiscible (*n*-octanol) y cuanto mayores sean los valores de LogP, mayor será la lipofilidad [84]. El LogP se puede calcular por 5 métodos distintos desarrollados por diversos autores, siendo uno de ellos el MLOGP, el cual es un arquetipo de método topológico que se basa en la relación lineal de trece descriptores moleculares [87]. De acuerdo con la literatura, un fármaco oral debe tener un valor de LogP menor de cinco, siendo el valor ideal entre 1.35 a 1.8 para lograr tener una buena absorción oral o intestinal; existen otros casos donde el valor ideal es alrededor de dos para cuando el fármaco se dirige al Sistema Nervioso Central y se desea atravesar la barrera hematoencefálica o mayor a cinco en el caso de los fármacos sublinguales [89].

Luego, se indica la solubilidad en agua, que es una medida de la cantidad de la sustancia química que se puede disolver en agua a una temperatura y presión específica, siendo una propiedad importante que influye en la absorción del compuesto químico; especialmente, se considera que los fármacos por administración oral y vía intravenosa deben ser solubles en agua [84, 90]. En general, se muestran los valores del logaritmo decimal de la solubilidad molar en agua (Log S), la solubilidad en mol/l y mg/ml junto con clases de

solubilidad cualitativas, para diferentes métodos empleados. La clase de solubilidad es de acuerdo con el valor de Log S, donde insoluble < -10 < pobremente soluble < -6 < moderadamente soluble < -4 < soluble < -2 < muy soluble < 0 < altamente soluble [84, 87].

Después, se presenta la sección de farmacocinética, que se encarga de estudiar cómo el cuerpo interactúa con las sustancias administradas durante toda la exposición [91]. Para esta sección se muestran el grado de absorción por el tracto gastrointestinal, siendo el intestino el sitio principal para la absorción de un fármaco; la permeabilidad de la barrera hematoencefálica, que dependiendo de las necesidades del compuesto químico, es un parámetro importante para reducir efectos secundarios y toxicidad; y si la molécula es sustrato de la glicoproteína P, la cual es clave para evaluar el flujo activo a través de las membranas biológicas y se encuentra en el epitelio intestinal que bombea el xenobiótico de nuevo a la luz intestinal y de las células endoteliales capilares del cerebro de nuevo a los capilares, con el fin de proteger el Sistema Nervioso Central de los xenobióticos [82, 84, 87]. Cuando la molécula es sustrato de la glicoproteína P, es por tanto una sustancia utilizada en varias actividades de absorción de fármacos, excreción de fármacos y demás que conduzcan a cambios importantes en el cuerpo o cambios en los efectos de otros fármacos en el cuerpo [92]. También se presenta si la molécula es inhibidor o no de las isoenzimas del citocromo p450 (CYP), que biotransforman más del 50-90% de las moléculas terapéuticas de sus cinco isoformas principales (CYP1A2, CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6), en caso de que la molécula sea inhibidora, se interpreta como bloqueadores de la actividad metabólica de uno o más enzimas, lo cual podría tener efectos positivos o negativos dependiendo de los metabolitos producidos [93] y el logaritmo del coeficiente de permeabilidad de la piel (K_p), que cuánto más negativo, la molécula será menos permeable a la piel; se considera que los valores menores a -2.5 son de baja permeabilidad [82, 84]. La permeabilidad en la piel es importante, especialmente en el desarrollo de sustancias activas transdermales [84].

En la semejanza a fármacos, se indica la probabilidad de que la molécula pueda convertirse en un fármaco dependiendo de su biodisponibilidad [94]. Se presentan diversas reglas como: Lipinski, Ghose, Veber, Egan y Muegge, así como la biodisponibilidad de Abbott; se coloca la regla de Lipinski debido a que es una de las más utilizadas y se basa en perfiles de propiedades fisicoquímicas que son: Peso molecular (MW) inferior a 500, $MLOGP \leq 4.15$, N u $O \leq 10$, NH u $OH \leq 5$, para aprobarlo, se deben cumplir mínimo con 3 [84, 87]. Con relación a la puntuación de biodisponibilidad de Abbott, ésta predice la biodisponibilidad oral en ratas que se busca sea al menos mayor al 10%; dicha biodisponibilidad mide el grado y la velocidad con la que la molécula accederá a la circulación y podrá llegar al lugar donde actuará [87, 94].

Finalmente, en la sección de química medicinal, se presentan herramientas que auxilian a los químicos medicinales para el desarrollo de los fármacos; siendo una de ellas PAINS (Compuestos de interferencia de Ensayo Pan o bateadores frecuentes o compuestos

promiscuos) que son moléculas que muestran una respuesta potente y que suelen presentar falsos positivos, por lo cual se manda una advertencia si se tienen restos en la molécula estudiada [84, 87].

6.1.6 Determinación de la reactividad global y local intrínseca de los ligandos aza-heterociclos estudiados

El estudio de la reactividad química de una molécula implica determinar el modo de acción de una molécula frente al ataque de diversos reactivos. Se considera a la molécula en un estado aislado para observar su reactividad independientemente de los compuestos que se encuentren cerca de ella [40].

La Teoría de los Funcionales de la Densidad permite determinar la reactividad química de una molécula y calcular algunas propiedades o descriptores de reactividad global como el potencial de ionización, el cual es la cantidad de energía mínima requerida para poder arrancarle un electrón a un átomo neutro en su estado fundamental y en fase gaseosa; la afinidad electrónica, la cual es la cantidad de energía liberada por un átomo aislado en fase gaseosa con el objeto de adicionarle un electrón, es decir, formar un anión; el potencial químico, que es una medida de la tendencia de escape que tienen los electrones dentro de un sistema, conociendo que los electrones fluyen desde las regiones con mayor potencial químico hacia las regiones con menor potencial hasta que éste sea constante; la electronegatividad, que es el equivalente al negativo del potencial químico y se considera una medida de la fuerza de atracción que ejerce cada átomo sobre los electrones compartidos; la dureza, es la propiedad que mide la resistencia impuesta por el sistema molecular al cambio en su distribución electrónica; la blandura, es el opuesto a la dureza, siendo una propiedad que determina que la molécula cuenta con una mayor reactividad química y por tanto reaccionará más fácilmente que una molécula dura; el índice de electrofilicidad que es una medida de la estabilización energética que tiene una molécula cuando gana una determinada cantidad de densidad electrónica, siendo una medida de lo electrofílica que es una especie; y el potencial electrostático que se define para una molécula como la energía de interacción entre la distribución de carga dentro de ella y una carga unitaria positiva, como puede ser un protón [40, 43, 44, 95-99].

Por otro lado, dentro de los descriptores de reactividad local, se encuentran las funciones de Parr, las cuales son descriptores que permiten caracterizar los centros electrofílicos y nucleofílicos más importantes que impulsan los pasos de formación de enlaces entre especies en las reacciones químicas [41]. La función de $P^+(r)$ se asocia a la propensión local de un electrófilo frente a un ataque nucleofílico y la función $P^-(r)$ se asocia o identifica la respuesta local de un nucleófilo frente a un electrófilo [41].

6.2 Preparación computacional de Sistemas Bioquímicos

6.2.1 Acoplamiento molecular

6.2.1.1 Preparación de ligandos

Para la preparación y obtención de los ligandos aza-heterociclos estudiados (Figura 1), los ligandos **Lig1**, **Lig2**, **Lig4** y **Lig5** se obtuvieron de la base de datos PubChem [100] en formato sdf, se adicionaron los hidrógenos en el programa Discovery Studio [101] y se procesaron las estructuras en AutoDockTools [102]. Por su parte, los ligandos restantes, **Lig3**, **Lig6**, **Lig7** y **Lig8** se construyeron en el programa Spartan20 [103], debido a que no se encuentran en la base de datos PubChem y se realizó el mismo procedimiento auxiliándose de Discovery Studio y AutoDockTools.

La preparación del receptor y el tipo de acoplamiento molecular realizado para cada proteína fue diferente dependiendo de las necesidades.

6.2.1.2 Preparación de receptores y de los acoplamientos moleculares

6.2.1.2.1 Receptor 3NAW

La estructura cristalina de la proteína efectora NleL del *E. coli* O157:H7 (con PDB ID: 3NAW y resolución de 2.5 Å) se obtuvo de la base de datos RCSB PDB [104] (Protein Data Bank). A partir del programa Chimera [105], se preparó la estructura del receptor, aislando la estructura de la cadena A y eliminando la cadena B y los residuos GOL (glicerol), MES (ácido 2-(N-morfolino)-etanosulfónico), HOH (agua) y SO₄ (iones sulfato) y con AutoDockTools se añadieron los hidrógenos polares, se calcularon las cargas de Kollman y se determinaron las hibridaciones de los átomos de carbono para el receptor. Asimismo, las estructuras de los ligandos norfloxacin, oxacilina y mupirocina se obtuvieron de la base de datos PubChem y se optimizaron con un pH de 7.4 y un campo de fuerza MMFF94 en el programa Avogadro [106]. Posterior a ello se realizó el acoplamiento molecular ciego rígido en AutoDock4 [102] considerando 500 poses, un tamaño de población de 1500 y un tamaño de cubo de $126 \times 126 \times 126 \text{ Å}^3$ y con un tamaño de espaciado del grid de 0.497 Å. El algoritmo genético que se utilizó fue el algoritmo genético Lamarckiano.

Después, considerando los resultados anteriores, se realizó un acoplamiento rígido dirigido y flexible dirigido empleando el software AutoDock Vina [72, 107], únicamente para los fármacos de referencia (norfloxacin, oxacilina y mupirocina) estimando 5 poses con exhaustividad de 100 y un rango de energía de 3, con un espaciado de 0.375 Å y un tamaño de cubo de $70 \times 70 \times 70 \text{ Å}^3$. Los aminoácidos seleccionados para el acoplamiento flexible fueron Lys601, Gln605, Leu775, Tyr776, Val779 y Arg782 para la norfloxacin; Lys601, Val608, Leu629, Leu775, Tyr776 y Val779 para la oxacilina; y Lys601, Ser604, Phe607, Ser609, Leu629, Tyr776 y Arg782 para la mupirocina.

Adicionalmente, se efectuó un cálculo de acoplamiento molecular usando AutoDock FR [108]. Para preparar la cadena A del receptor, en AutoDockTools, se eliminaron los residuos mencionados anteriormente y la cadena B, se agregaron todos los hidrógenos, se fusionaron los no polares y se añadieron las cargas de Kollman. Con el programa de AGFRGUI (versión gráfica del AGFR) se observaron todos los sitios de inhibición detectados a lo largo de la macromolécula, siendo un total de 18, donde para cada sitio de inhibición se seleccionaron en promedio 5 aminoácidos representativos con un *padding* de 4.000 Å y se realizaron los cálculos de acoplamiento molecular para cada uno de los ligandos aza-heterociclos estudiados en cada uno de los sitios de unión, considerando un acoplamiento molecular flexible y un número de semilla de 1, para que al especificar la semilla usada por el generador de números aleatorios permita reproducir un cálculo de acoplamiento para una versión dada del código [74].

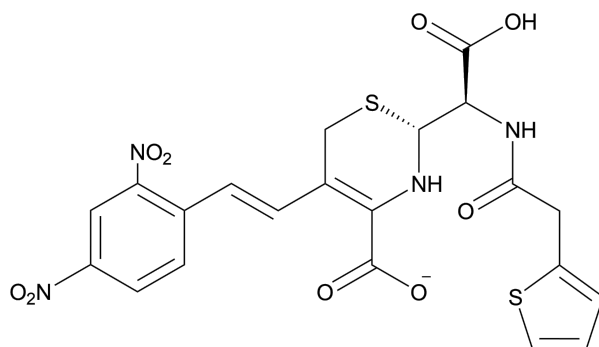
6.2.1.2.2 *Receptor 2UWX*

Para la PBP1b (PDB ID: 2UWX con resolución de 2.39 Å), puesto que el ligando co-cristalizado se encontraba covalentemente unido en el sitio de inhibición, se exploró la posibilidad de considerar la naturaleza del residuo 460 como alanina o serina. Posteriormente, se preparó el receptor en Chimera y en AutoDockTools eliminando los residuos de SO₄ (iones sulfato), Cl (iones cloro), HOH (agua) y EDO (1,2-etanodiol), agregando los hidrógenos polares, añadiendo las cargas de Kollman e indicando las hibridaciones de los átomos de carbono. El ligando co-cristalizado, con nombre químico (2*R*)-2-[(1*R*)-2-carboxi-1-(2-tiofen-2-iletanoilamino)etil]-5-[(*E*)-2-(2,4-dinitrofenil)etenil]-3,6-dihidro-2*H*-1,3-tiazina-4-carboxilato, se utilizó como referencia (**Lig9**, presentado en Figura 2) y se preparó en Chimera, para adicionarle los hidrógenos y en AutoDockTools para almacenar la información de sus enlaces rotables. A continuación, considerando los aminoácidos del receptor 2UWX que interactúan con la macromolécula de acuerdo a lo que se observó con el programa Discovery Studio y lo revisado en la bibliografía, se realizó un acoplamiento rígido dirigido y flexible dirigido en AutoDock Vina, estimando 5 poses con exhaustividad de 100 y un rango de energía de 3, con un espaciado de 0.375 Å y un tamaño de cubo de 70 × 70 × 70 Å³. Los aminoácidos seleccionados para el acoplamiento flexible fueron Tyr498, Asn518, Lys651, Thr652 y Thr654.

Para realizar el cálculo del acoplamiento molecular flexible con cada uno de los ocho ligandos usando el programa AutoDock FR, para el receptor se eliminaron los residuos, se agregaron todos los hidrógenos, se fusionaron los no polares y se añadieron las cargas de Kollman. Para el **Lig9** se añadieron los hidrógenos con ayuda del programa Discovery Studio. El receptor y el **Lig9** se post-procesaron en AutoDockTools. Primero se utilizó AutoDock GR para guardar el **Lig9** como referencia junto con el receptor seleccionando los aminoácidos correspondientes (Thr461, Thr462, Lys463, Asn518, Lys651, Thr652 y Thr654) dentro del grid con un *padding* de 8.000 Å. Posteriormente, se realizó el acoplamiento molecular flexible dirigido, para calcular las conformaciones y sus energías de unión de cada

uno de los ligandos en el sitio activo de acuerdo con el **Lig9**, considerando un número de semilla de 1.

Posteriormente, se realizó el cálculo de la RMSD para comparar la pose nativa con la mejor pose predicha en los resultados de cada acoplamiento y verificar la confiabilidad de los datos auxiliándose del programa Discovery Studio.



Lig9

Figura 2. Estructura del ligando co-cristalizado con receptor PBP1b (Lig9).

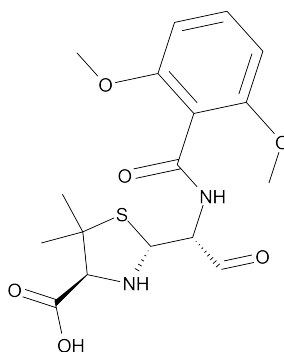
6.2.1.2.3 Receptor 5M19

Para la PBP2a (PDB ID: 5M19 con resolución de 2.0 Å), debido a que no presentaba un ligando co-cristalizado, se decidió usar de referencia a la PBP2a con PDB ID: 1MWU y resolución de 2.60 Å, que tiene como ligando co-cristalizado, el ácido (2*R*,4*S*)-2-[(1*R*)-{[(2,6-dimetoxifenil)carbonil]amino}-2-oxoetil]-5,5-dimetil-1,3-tiazolidina-4-carboxílico (compuesto con la estructura de la metilicina con el anillo betalactámico abierto, **Lig10**). Enseguida, para determinar los aminoácidos faltantes, se utilizó el sitio web FASTA [109] para encontrar un análogo a la proteína original 5M19, obteniendo la proteína P07944 con un 96% de coincidencia. Debido a que la proteína 1MWU se tomó de referencia, se eliminaron sus residuos de CD (iones cadmio), CI (iones cloro), HOH (agua) y la cadena B, dejando el **Lig10** y la cadena A en el archivo con ayuda del programa Chimera. Asimismo, se preparó el **Lig10** por separado auxiliándose de Chimera para adicionarle los hidrógenos polares y en Pymol [110] se alinearon la proteína P07944 y la proteína guardada en Chimera con el **Lig10**, para tener la nueva cadena con los aminoácidos faltantes junto con el **Lig10**.

Para realizar los acoplamientos dirigido rígido y dirigido flexible en AutoDock Vina, se preparó el receptor en AutoDockTools, agregando los hidrógenos polares, añadiendo las cargas de Kollman e indicando las hibridaciones de los átomos de carbono. Después, auxiliándose también de AutoDockTools se almacenó la información de los enlaces rotantes del **Lig10**. A continuación, considerando los aminoácidos del **Lig10** que interactúan con el receptor de acuerdo a lo que se observó con el programa Discovery Studio y lo revisado en la bibliografía, se realizaron los acoplamientos estimando 5 poses con exhaustividad de 100

y un rango de energía de 3, con un espaciado de 0.375 Å y un tamaño de cubo de $70 \times 70 \times 70$ Å³. Los aminoácidos seleccionados fueron Tyr446, Ser462, Asn464, Gln521, Ser598 y Thr600.

También se realizó el acoplamiento molecular flexible con cada uno de los ocho ligandos usando el programa AutoDock FR; por lo que primero se preparó el receptor agregando todos los hidrógenos, fusionando los no polares y añadiendo las cargas de Kollman usando AutoDockTools. Para el **Lig10**, se añadieron los hidrógenos con ayuda de los programas Discovery Studio y AutoDockTools. Después, se utilizó AutoDock GR para guardar el **Lig10** como referencia junto con el receptor seleccionando los aminoácidos correspondientes (Ser403, Lys406, Ser462, Asn464 y Ser598) dentro del grid con un *padding* de 4.000 Å. Posterior a la preparación de los ligandos, el receptor y el **Lig10**, se utilizó AutoDock FR para calcular las conformaciones y sus energías de unión de cada uno de los ligandos en el sitio activo, considerando un número de semilla de 1.



Lig10

Figura 3. Estructura del ligando co-cristalizado con receptor PBP2a (**Lig10**).

6.2.1.2.4 Receptor 7LO8

Para la proteína de resistencia a quinolonas NorA o también conocida como bomba de eflujo NorA (con PDB ID: 7LO8 y una resolución de 3.16 Å); en Chimera, se preparó la estructura del receptor aislando la proteína de resistencia a las quinolonas NorA y eliminando las cadenas ligera y pesada de Fab36. El receptor se preparó añadiendo los hidrógenos polares, calculando las cargas de Kollman y determinando las hibridaciones de los átomos de carbono con el programa de AutoDockTools. Posterior a ello, se realizó el acoplamiento molecular ciego rígido en AutoDock4 considerando 500 poses, un tamaño de población de 1500, un tamaño de cubo de $126 \times 126 \times 126$ Å³ y un tamaño de espaciado del grid de 0.481 Å. El algoritmo genético que se utilizó fue el algoritmo genético Lamarckiano.

A partir de todas las conformaciones calculadas en el acoplamiento molecular ciego, se observó una gran cantidad de las mismas dentro del canal que compone a la proteína, por lo cual se aplicó el método de Molecular Footprint de Dock 6 [111] sólo a aquellos conformeros dentro del canal con el fin de determinar el mejor. Para ello, se guardaron dichas

conformaciones y el receptor por separado en AutoDockTools en formato pdb y con Chimera se guardaron en formato mol2 adicionando las cargas atómicas con AM1-BCC y el campo de fuerza Amber ff14SB.

Enseguida se preparó el archivo de entrada de footprint leyendo el archivo donde están guardadas las conformaciones seleccionadas del ligando, es decir, aquellas dentro del canal y se consideraron las conformaciones rígidas para que puedan compararse entre ellas y con el fin de que no se muevan. Asimismo, se indicó que se puntúen todos los ligandos estudiados y que no cambien su orientación y se activó la primera función de puntuación de footprint, usando como referencia al archivo mol2 que contiene las conformaciones analizadas, la distancia euclidiana como métrica para comparar las diferentes conformaciones de footprint y todos los residuos para calcular la función con footprint. Dentro del archivo de entrada, también se leyeron las coordenadas del receptor guardadas en el archivo mol2 y se describieron los exponentes atractivo y repulsivo vdw del potencial de Lennard-Jones de 6 y 12, respectivamente, que el interruptor dieléctrico dependiera de la distancia y que la constante dieléctrica para el término electrostático fuera de 4.0, con el fin de generar el archivo de salida out que contiene el cálculo de la función de puntuación footprint para todos los conformeros estudiados.

Finalmente, se revisaron los conformeros en Chimera acomodándolos en orden de las contribuciones a la energía electrostática más las fuerzas de van der Waals y seleccionando la conformación con mayor fuerza de interacción, es decir, la más negativa que estuviera dentro del canal y que se presente exactamente en medio de la proteína y aquella que estuviera con una cierta cercanía a la región donde se encontraba interactuando el Fab36.

Una vez obtenidos los resultados de los acoplamientos moleculares llevados a cabo en AutoDock4, AutoDock Vina y AutoDock FR para los 4 receptores (2UWX, 3NAW, 5M19 y 7LO8) se seleccionaron aquellas conformaciones que tuvieran una orientación similar a la orientación del ligando de referencia (en aquellos receptores que se tenía un ligando co-cristalizado para usar como referencia) y presentaran una buena energía de afinidad de acuerdo con los resultados analizados, con el fin de determinar sus mapas de interacciones con ayuda de Discovery Studio.

6.2.2 Dinámica molecular

Se utilizó la técnica de dinámica molecular con el fin de determinar la estabilidad y el comportamiento de los complejos formados por los mejores modos de unión de los ligandos contra las macromoléculas estudiadas con respecto al tiempo en condiciones fisiológicas. Las simulaciones de dinámica molecular se realizaron en el programa NAMD 3.0 [112] y se corroboraron con Amber20 [113].

6.2.2.1 Dinámica molecular con el software NAMD 3.0

La conformación inicial del ligando en las simulaciones de dinámica molecular se seleccionó a partir de la mejor pose predicha para cada ligando en el acoplamiento molecular realizado en AutoDock FR para el sitio de inhibición 1 en la proteína 3NAW, para los sitios activos en los receptores 2UWX y 5M19 y para la región cercana a los aminoácidos de interés en la proteína 7LO8. El procedimiento que se siguió consistió en parametrizar el ligando, después parametrizar la proteína, formar el complejo (proteína-ligando), solvatar y ionizar el complejo, siendo el mismo procedimiento para todos los receptores.

Para la parametrización del ligando, se le adicionaron los hidrógenos para un pH de 7.4 usando el programa Avogadro. Después, se utilizó el módulo de “Ligand Reader & Modeler” del servidor de CHARMM-GUI [114, 115] con el objetivo de generar los archivos de topología y parámetros para el ligando. Con el programa Chimera, se preparó el complejo formado por el ligando parametrizado junto con el receptor para continuar con la parametrización. En el módulo de “Solution Builder” de CHARMM-GUI, se mantuvo el complejo con pH de 7.4, se construyó una celda rectangular de tamaño $138 \times 138 \times 138 \text{ \AA}^3$ para 3NAW, $108 \times 108 \times 108 \text{ \AA}^3$ para 2UWX, $126 \times 126 \times 126 \text{ \AA}^3$ para 5M19 y $82 \times 82 \times 82 \text{ \AA}^3$ para 7LO8, se solató con un modelo de agua TIP3P [116] y se neutralizó adicionando iones de NaCl en una concentración de 0.15 M usando el método de Monte Carlo para colocar dichos iones. El campo de fuerza empleado para las simulaciones fue CHARMM36m [117] y las interacciones electrostáticas de largo alcance se modelaron con el método de Particle Mesh Ewald (PME) [118] y un corte de 12 Å para interacciones no vinculadas.

Las simulaciones de dinámica molecular se llevaron a cabo en cuatro etapas: primero se realizó la minimización de la energía con un algoritmo de gradiente conjugado [119] para 100,000 pasos de iteración con un tiempo de paso de 1.0 fs. Después, se llevó a cabo un ensamble NVT realizando un calentamiento de 0 a 310 K en intervalos de 1 K por un periodo de 500 ps y luego manteniendo la temperatura de 310 K por otro periodo de 500 ps con ayuda del termostato de Langevin. Enseguida, se realizó el equilibrio por medio de un ensamble NPT con las condiciones de 1 atm y 310 K durante un periodo de 2.5 ns con un tiempo de paso de 1 fs usando los modelos de termostato de Langevin y de baróstato el pistón de Nosé-Hoover Langevin [120, 121]. Finalmente, se llevó a cabo la producción con ensamble NPT por un periodo de tiempo de 50 ns con un tiempo de paso de 2 fs.

A partir de las simulaciones de dinámica molecular se determinaron los valores de la desviación cuadrática media (RMSD) de la proteína backbone y del ligando alineado respecto a la proteína y respecto a sí mismo y las interacciones por puentes de hidrógeno presentadas entre determinados aminoácidos del receptor y el ligando considerando la distancia máxima donador-aceptor de 3.2 Å (distancia que engloba puentes de hidrógeno de fuerza media y

alta) y un ángulo de corte de 50°, lo anterior con la interfaz gráfica del programa VMD [122] en el tiempo de 50 ns.

A posteriori, se calcularon 100 ns de producción para los ligandos que se observaron presentaban buena estabilidad y buena evolución de su comportamiento durante la trayectoria; lo anterior, con el fin de determinar las energías libres de unión presentadas en los complejos, empleando el método MMGBSA con la herramienta gmx_MMPBSA [123] para los últimos 50 ns de la etapa de producción de la simulación de dinámica molecular, explorando un promedio de 500 instantáneas.

6.2.2.2 Dinámica molecular con el software Amber20

Con el objetivo de corroborar los resultados anteriores, se llevó a cabo la dinámica molecular con ayuda del programa Amber20, partiendo de los mismos sitios para los receptores 2UWX y 5M19; mientras que, para el receptor 7LO8 se realizaron las simulaciones de dinámica molecular partiendo del sitio cercano a los aminoácidos de interés y partiendo de la región media del canal.

Primero se preparó el receptor con la herramienta PDB2PQR [124] que forma parte de la suite de APBS (Adaptive Poisson–Boltzmann Solver), reconstruyendo los átomos faltantes, adicionando los hidrógenos necesarios, asignando las cargas atómicas y sus radios con campos de fuerza específicos y generando el archivo PQR correspondiente considerando un pH de 7.0 con el método empírico propka [125] (programa de FORTRAN). Después se utilizó la herramienta de Antechamber [126] en Amber20 para parametrizar el ligando haciendo uso del modelo de cargas semiempírico con corrección de carga de enlaces (AM1-BCC) para calcular las cargas parciales del ligando y luego se optimizaron los ligandos en el nivel B3LYP SCF/6-311++G** con Gaussian 16 con el fin de derivar el potencial electrostático y asignar las cargas parciales ESP (Potencial electrostático) y RESP (Potencial electrostático restringido por sus siglas en inglés) [127] a los ligandos anteriores. Enseguida, se utilizó la herramienta parmchk para adicionar los parámetros faltantes para el ligando.

A continuación, se utilizó la herramienta LEaP de AmberTools para realizar la solvatación y la ionización y escribir los archivos de topología y coordenadas necesarios para comenzar la simulación; lo anterior se logró definiendo la fuente de los archivos de campo de fuerza ff14SB [128] para la proteína, el archivo del modelo de agua TIP3P y el archivo del campo de fuerza gaff [129] para los ligandos; se cargaron los parámetros para los iones con el modelo de agua TIP3P, eligiendo los radios atómicos para una tercera modificación del radio de Bondi; se cargaron los parámetros del ligando y se formó el complejo para luego escribir los archivos de topología y coordenadas para el complejo gas, el receptor y el ligando; se solató el complejo, el ligando y el receptor en una caja cúbica que se extendía al menos a 0.1 Å desde el complejo y se neutralizó el complejo adicionando átomos de sodio

y/o cloro en donde se tenían potenciales electrostáticos más bajos o más altos con el fin de neutralizar las cargas desequilibradas; para obtener las topologías y coordenadas del ligando, del receptor y del complejo solvatados y neutralizados.

Posteriormente, se realizó la minimización de la energía usando el módulo sander de Amber20 con un número máximo de ciclos de minimización de 5000, el método de descenso más pronunciado que cambió a gradiente conjugado después de 500 ciclos y el rango de corte para las interacciones no enlazadas de largo alcance de 12 Å. Luego, se realizó un calentamiento gradual desde la temperatura de 0 K hasta 300 K, donde se tomaron sólo las coordenadas del archivo correspondiente de la minimización anterior, se aplicó periodicidad empleando la malla de partículas Ewald (PME) haciendo el cálculo a volumen constante, se omitieron las interacciones de enlace y los enlaces que involucraron hidrógeno, se utilizó el termostato de Langevin y se indicó el rango de corte para las interacciones no enlazadas de largo alcance de 10 Å, con un tiempo de paso de 0.002 ps para un tiempo total de 200 ps (0.2 ns). Finalmente, para la producción, se continuó el cálculo a partir de los archivos del calentamiento manteniendo constante la temperatura a 300 K, asimismo, las variables anteriores definidas en el calentamiento se mantuvieron, solamente se realizaron un total de 500,000 pasos y un tiempo de paso de 0.002 ps, es decir, siendo un total de 1 ns de producción. La producción se repitió para 5 ns, 10 ns, 20 ns, 30 ns, 40 ns, 50 ns, 60 ns, 70 ns, 80 ns, 90 ns y 100 ns, únicamente modificando las variables de número de pasos y manteniendo el tiempo de paso. Después, con las trayectorias anteriores se determinaron los valores de las RMSD de la proteína, del ligando respecto a la proteína y del ligando alineado a sí mismo, procesando los datos con el código cpptraj [130] para obtener una sola gráfica de los 100 ns de producción con VMD.

Posterior a ello, se hicieron los cálculos de la energía libre de unión para los complejos, de acuerdo con MMGBSA y MMPBSA, haciendo uso de los resultados de trayectorias de Amber y la herramienta MMPBSA.py [131] de Amber20; para lo cual se eliminaron los átomos de sodio, cloro y las moléculas de agua de los parámetros del complejo. Para el modelo Generalizado de Born, se utilizó el modelo modificado por A. Onufriev, D. Bashford and D.A. Case [132] con una concentración de iones de 0.100 M, utilizando la teoría de Born generalizada modificada basada en la ley limitante de Debye-Hückel para la detección de interacciones iónicas. Mientras que, para el modelo de Poisson-Boltzmann se estableció la fuerza iónica de 0.100 mM, donde el término de solvatación no polar está en función de los términos de cavidad y dispersión, con la constante dieléctrica externa de 80 y la interna de 1, con resolución del grid de 2.0 y un número máximo de iteraciones de la ecuación lineal de Poisson Boltzmann de 1000.

A partir de las trayectorias de Amber, se determinaron los resultados de las energías libres de unión con LAMMPS [133] llevando a cabo la minimización con el campo de fuerza reactivo Weak Field de Monti *et al.* [134] del 2013, con el fin de observar si se presentaba

una mejora en las energías libres de unión. Para ello, primero con la herramienta de ambpdb de AmberTools se preparó la estructura a partir de la topología del agua y las coordenadas anteriores. Enseguida, con Open Babel [135] se obtuvo el archivo de escritura de LAMMPS y las coordenadas en los formatos necesarios para numerar los átomos y asignar a cada tipo de átomo un número. Posteriormente, se realizó el cálculo de minimización con el campo de fuerza reactivo débil, que consideró sistemas atómicos con carga y el rango de corte para las interacciones no enlazadas de largo alcance de 12 Å. Se realizó el equilibrio de carga para el potencial del campo de fuerza reactivo, se controló la temperatura a 300 K con el termostato de Berendsen, se relajó el tamaño de caja y se utilizó un criterio de convergencia de la minimización de 1.0×10^{-10} . Después, con el código cpptraj se procesaron los datos de la trayectoria para poder calcular las energías libres de unión con MMPBSA y MMGBSA manteniendo las mismas características usadas en las trayectorias de Amber.

6.2.3 Análisis ADME y Farmacocinético

En la base de datos PassOnline [136], se realizó la búsqueda con el fin de precisar las propiedades de antiinfeccioso y antibacterial de actividad e inactividad de cada uno de los ocho ligandos aza-heterociclos estudiados y de antibióticos conocidos. Mientras que, en SwissADME se obtuvo el promedio del coeficiente de reparto *n*-octanol/agua, así como otras propiedades fisicoquímicas y parámetros del análisis ADME con el fin de tener una buena predicción del comportamiento de los ligandos en el ser humano. Posteriormente, en ChEMBL [137, 138] se recabaron valores del IC₅₀, para los ligandos estudiados y para los antibióticos conocidos frente a la bacteria de SARM. A partir de los valores de IC₅₀ de los ligandos, se obtuvieron los valores de pIC₅₀ en la plataforma Sanjeev's Lab [139].

Enseguida, se realizó el cálculo de los orbitales frontera HOMO y LUMO. Primero, se obtuvieron las estructuras de PubChem para fármacos conocidos y los **Lig1** y **Lig2**; mientras que, para los **Lig3** al **Lig8** se realizó una búsqueda conformacional en Spartan20 para determinar las mejores conformaciones, considerando hasta 1,000,000 de conformaciones usando Mecánica Molecular y campo de fuerza MMFF. Después, se determinó la geometría con un método semi-empírico (PM6) y se hizo una selección de los mejores conformeros dentro de un intervalo no mayor a 30 kcal mol⁻¹ respecto al más estable. Luego, se obtuvieron las energías al nivel de teoría HF/3-21G considerando las 10 conformaciones energéticamente más estables de cada **Lig3** al **Lig8** propuestos. Previo a la realización del cálculo se comprobó la estructura y la carga y multiplicidad de cada molécula.

Para las 10 mejores conformaciones anteriores, los fármacos conocidos, **Lig1** y **Lig2** se les realizaron la optimización de su geometría empleando la Teoría de los Funcionales de la Densidad mediante el nivel de teoría B3LYP/6-31G**, mediante el programa Gaussian 16 [140]. Para ello, primero se guardaron cada una de las conformaciones obtenidas para cada ligando en un archivo en formato pdb y con ayuda del programa Discovery Studio se

prepararon añadiendo los hidrógenos y guardando los archivos en formato de coordenadas xyz. Se preparó un nuevo archivo en formato com donde se indicó la optimización, el método utilizado y la función de base y se hizo el cálculo con ayuda del programa Gaussian 16.

Posteriormente, una vez obtenidos los resultados de energía de todos los compuestos, se seleccionó la geometría de menor energía, para realizarle un cálculo posterior de “single point” (sin mover la estructura ni los ángulos) para obtener la energía de sus orbitales frontera empleando la teoría de perturbaciones de Møller Plesset de segundo orden con el conjunto base 6-31G**. Al finalizar el cálculo se observaron los orbitales frontera HOMO y LUMO, así como HOMO-1, HOMO-2, LUMO+1 y LUMO+2 y se post-procesaron los resultados mediante el programa GaussView 6.0. De los orbitales mencionados, se seleccionó el HOMO y el LUMO que estuvieran en la región de los anillos que contienen el nitrógeno o un grupo funcional de interés auxiliándose del programa VESTA [141] para obtener la energía de cada orbital. Es importante destacar que de cada ligando, se seleccionó el conformero que fuera el mínimo global, es decir, aquel que presentara una menor energía, para considerar su geometría y proseguir con los cálculos de energía y obtención de HOMO y LUMO, observándose por lo general que el conformero seleccionado fue aquel que contribuyó estadísticamente en mayor cantidad.

Finalmente, se realizó un análisis QSAR con EasyQSAR [142], en donde se indicó como Actividad los pIC₅₀ obtenidos para cada uno de los compuestos conocidos mencionados, se indicó como Descriptor a los datos de LogP, energía de HOMO y energía de LUMO para cada uno de los compuestos conocidos mencionados y se evaluó a partir de dicho análisis una ecuación que permitió determinar el pIC₅₀ para los ligandos **Lig1** al **Lig8**, a partir de sus datos de LogP, energía de HOMO y energía de LUMO, considerando un porcentaje mínimo de concordancia para la ecuación del 50% como criterio de validez.

Con base en la ecuación generada para determinar el pIC₅₀, se adicionó el compuesto de metilicina con el fin de determinar su valor calculado y posteriormente compararlo con el descrito en la bibliografía.

6.2.4 Análisis de la reactividad global y local intrínseca de los ligandos aza-heterociclos estudiados

A partir de la estructura optimizada obtenida para cada ligando, después de llevar a cabo la búsqueda conformacional anteriormente descrita, se realizó el cálculo de la reactividad intrínseca global y local para cada uno de los ligandos aza-heterociclos analizados (Figura 1). Primeramente, con las coordenadas se calculó la energía empleando la Teoría de los Funcionales de la Densidad al nivel de teoría B3LYP/6-311++G**, mediante el programa Gaussian 16, considerando el análisis de cargas poblacionales de Hirshfeld. Con base en las energías para el compuesto neutro, catiónico y aniónico, se determinaron el potencial de

ionización (I), la afinidad electrónica (A), el potencial químico (μ), la electronegatividad (χ), la dureza (η), la blandura (S) y el índice de electrofilicidad (ω); por esta razón, las energías se convirtieron de unidades atómicas de energía a electronvoltios y se emplearon las ecuaciones 2 a 8 [40]:

$$I = -(E_N - E_{N-1}) \quad (Ec. 2)$$

$$A = -(E_{N+1} - E_N) \quad (Ec. 3)$$

$$\mu = \frac{E_{N+1} - E_{N-1}}{2} \quad (Ec. 4)$$

$$\chi = -\mu \quad (Ec. 5)$$

$$\eta = \frac{E_{N-1} + E_{N+1} - 2E_N}{2} \quad (Ec. 6)$$

$$S = \frac{1}{2\eta} \quad (Ec. 7)$$

$$\omega = \frac{(\mu)^2}{2\eta} \quad (Ec. 8)$$

El potencial electrostático (ESP) se calculó en Gaussian 16. Con relación al análisis de la reactividad local, se calcularon las cargas y la población para los compuestos neutro, aniónico y catiónico para cada uno de los ligandos y se obtuvieron las funciones de Parr ($P^+(r)$ y $P^-(r)$), por medio de las ecuaciones 9 y 10 [42]:

$$P^+(r) = \rho_s^{radical\ anión}(r) \quad (Ec. 9)$$

$$P^-(r) = \rho_s^{radical\ catión}(r) \quad (Ec. 10)$$

Donde ρ_s es la distribución de la densidad atómica del spin.

7. Resultados

7.1 Acoplamientos moleculares de los ligandos aza-heterociclos Lig1 al Lig8

7.1.1 Acoplamientos moleculares frente al receptor 3NAW

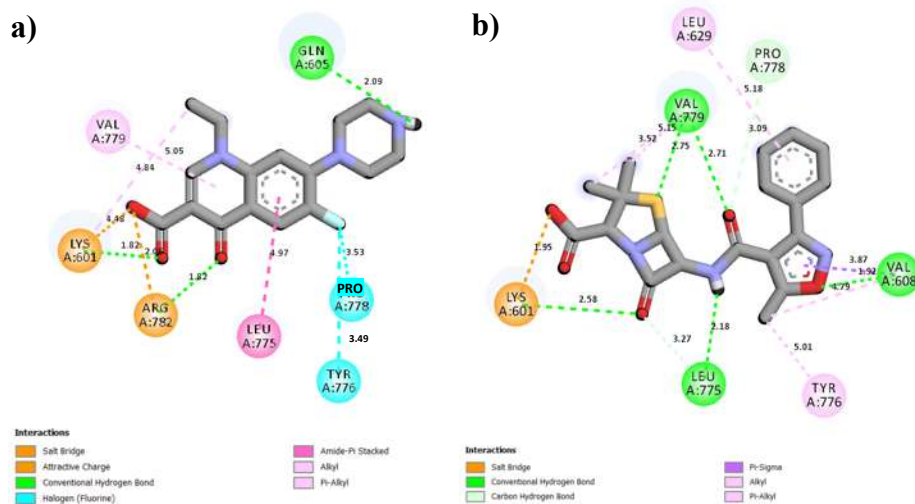
7.1.1.1 Acoplamientos moleculares en AutoDock4 y AutoDock Vina para 3NAW

Las mejores energías de afinidad observadas para los ligandos norfloxacina (**Lig1**), oxacilina y mupirocina frente al receptor 3NAW en los acoplamientos moleculares ciego/global rígido realizado con AutoDock4 y dirigido rígido y dirigido flexible realizados en AutoDock Vina se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Energías de afinidad (kcal/mol) de los fármacos frente a la macromolécula 3NAW en los acoplamientos moleculares de AutoDock4 y AutoDock Vina.

Ligando	Acoplamiento molecular ciego rígido en AutoDock4	Acoplamiento molecular dirigido rígido en AutoDock Vina	Acoplamiento molecular dirigido flexible en AutoDock Vina
	Energía de afinidad	Energía de afinidad	Energía de afinidad
Lig1	-7.52	-7.1	-7.1
Oxacilina	-8.19	-8.2	-8.5
Mupirocina	-4.46	-7.4	-7.4

De acuerdo con los cálculos realizados en AutoDock4, se guardaron las mejores conformaciones de los ligandos y se determinaron los mapas de interacciones de los ligandos con los aminoácidos del receptor, los cuales se describen en la Figura 4.



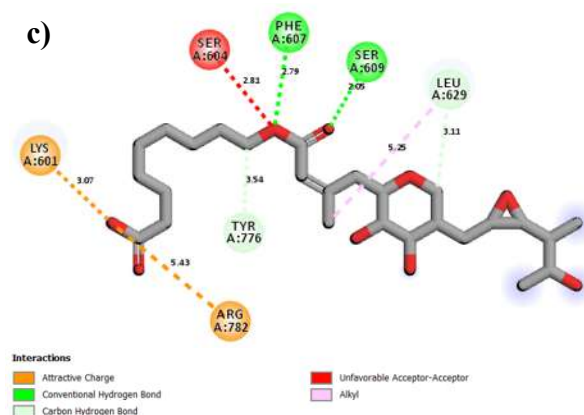


Figura 4. Interacciones y distancias (Å) presentes en los ligandos con los aminoácidos de la macromolécula 3NAW. a) **Lig1**, b) oxacilina y c) mupirocina.

De acuerdo con la Tabla 1, se observa que la oxacilina es aquel fármaco que presenta la mejor energía de afinidad en todos los acoplamientos moleculares y en general se observan buenos resultados excepto para la mupirocina en el acoplamiento ciego, probablemente debido a la gran cantidad de enlaces rotables que presenta dicha molécula. Asimismo, con la Figura 4, se observa que, en los cálculos del acoplamiento molecular global rígido, la mupirocina es la única que presenta una interacción desfavorable.

7.1.1.2 Acoplamiento molecular dirigido flexible en AutoDock FR para 3NAW

Los resultados de las mejores energías de afinidad de los acoplamientos moleculares realizados para cada uno de los ligandos frente al receptor 3NAW en cada uno de los dieciocho posibles sitios de unión en AutoDock FR se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Energías de afinidad (kcal/mol) de cada uno de los ligandos aza-heterociclos estudiados frente a 3NAW en el acoplamiento molecular flexible con AutoDock FR.

Ligando	Energías de afinidad en sitios de unión								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Lig1	-7.2	-7.1	-6.6	-7.5	-5.7	-7.0	-8.3	-6.1	-7.6
Lig2	-7.4	-7.5	-7.8	-7.0	-5.8	-6.7	-6.9	-5.1	-6.9
Lig3	-8.2	-7.8	-9.0	-6.7	-7.1	-7.7	-8.0	-5.9	-8.0
Lig4	-9.3	-8.5	-9.3	-7.0	-7.2	-8.9	-8.2	-5.6	-8.6
Lig5	-7.7	-7.3	-6.8	-5.4	-6.0	-6.6	-7.4	-5.0	-7.2
Lig6	-9.0	-9.0	-8.8	-6.2	-7.2	-7.6	-8.8	-5.9	-8.0
Lig7	-9.1	-9.9	-9.2	-7.3	-7.9	-9.0	-8.7	-5.1	-9.3
Lig8	-8.3	-9.4	-9.6	-6.7	-6.9	-7.5	-8.5	-5.5	-7.7

Ligando	Energías de afinidad en sitios de unión								
	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Lig1	-6.5	-8.6	-8.6	-6.7	-7.1	-5.5	-6.7	-5.8	-9.1
Lig2	-6.0	-7.8	-7.8	-5.8	-8.0	-6.5	-7.2	-6.1	-7.6
Lig3	-7.6	-8.9	-9.2	-6.8	-6.4	-7.2	-7.9	-7.2	-8.2
Lig4	-7.4	-8.2	-8.1	-6.9	-7.7	-7.3	-9.2	-7.6	-7.3
Lig5	-7.3	-10.0	-8.4	-6.5	-6.6	-6.0	-8.1	-6.1	-6.9
Lig6	-7.9	-9.2	-9.2	-7.6	-7.1	-6.9	-9.7	-8.5	-8.4
Lig7	-8.2	-10.1	-10.2	-7.3	-7.8	-8.2	-8.9	-8.9	-8.3
Lig8	-7.8	-9.5	-7.1	-6.3	-6.8	-6.6	-7.9	-7.9	-8.3

Se observa en la Tabla 2, que para el sitio de unión 1, el ligando que tuvo una mejor energía de afinidad fue el **Lig4**, seguido del **Lig7** y el **Lig6**, donde todos presentan valores superiores o iguales a 9 kcal/mol.

Para el **Lig1**, si se comparan los aminoácidos con los cuales interactúa el sitio de unión 1 de AutoDock FR para el mejor conformero observado se tiene que interacciona con los aminoácidos Lys601, Ser604, Ser774, Leu775 y Arg782. Si en el cálculo realizado con AutoDock Vina, un acoplamiento molecular rígido dirigido, se extrae la conformación que se aproxime más a la mejor conformación analizada en AutoDock FR, se observa que interacciona con los aminoácidos: Ile597, His600, Lys601, Ser604, Lys681, Ser774, Leu775 y Arg782 (Nota: la conformación de **Lig1** que se asemeja más a la calculada con AutoDock FR tiene una energía de unión de -6.9 kcal/mol). Por su parte, si en el cálculo realizado con AutoDock Vina, un acoplamiento molecular flexible dirigido, se extrae la conformación que se aproxime más a la mejor conformación analizada en AutoDock FR, se observa que interacciona con los aminoácidos: Lys601, Gln605, Val608, Ser609, Leu629, Tyr777, Pro778, Val779 y Arg782 (Nota: la conformación de **Lig1** que se asemeja más a la calculada con AutoDock FR tiene una energía de unión de -7.0 kcal/mol). De esta manera, se deduce que el sitio de unión 1 calculado con AutoDock FR coincide con el mejor sitio de unión calculado con AutoDock4 y AutoDock Vina. Asimismo, el aminoácido que se observa en las interacciones del **Lig1** calculadas con cada uno de los programas es la Arg782.

Respecto a los resultados publicados por Lin, D. Y. W. y colaboradores [47], se encontró que el aminoácido Cys753 de la macromolécula 3NAW es el sitio activo catalítico responsable de la actividad de la ligasa E3. Dicho aminoácido Cys753 se encuentra muy cercano a los sitios de unión estudiados para cada una de los ligandos (**Lig1**, oxacilina y mupirocina), específicamente, cercano al sitio de unión 1 calculado con AutoDock FR. De esta manera, se seleccionó dicho sitio para cálculos posteriores de simulación de dinámica molecular, mostrando en la Figura 5, las interacciones presentadas por cada ligando propuesto frente al receptor 3NAW.

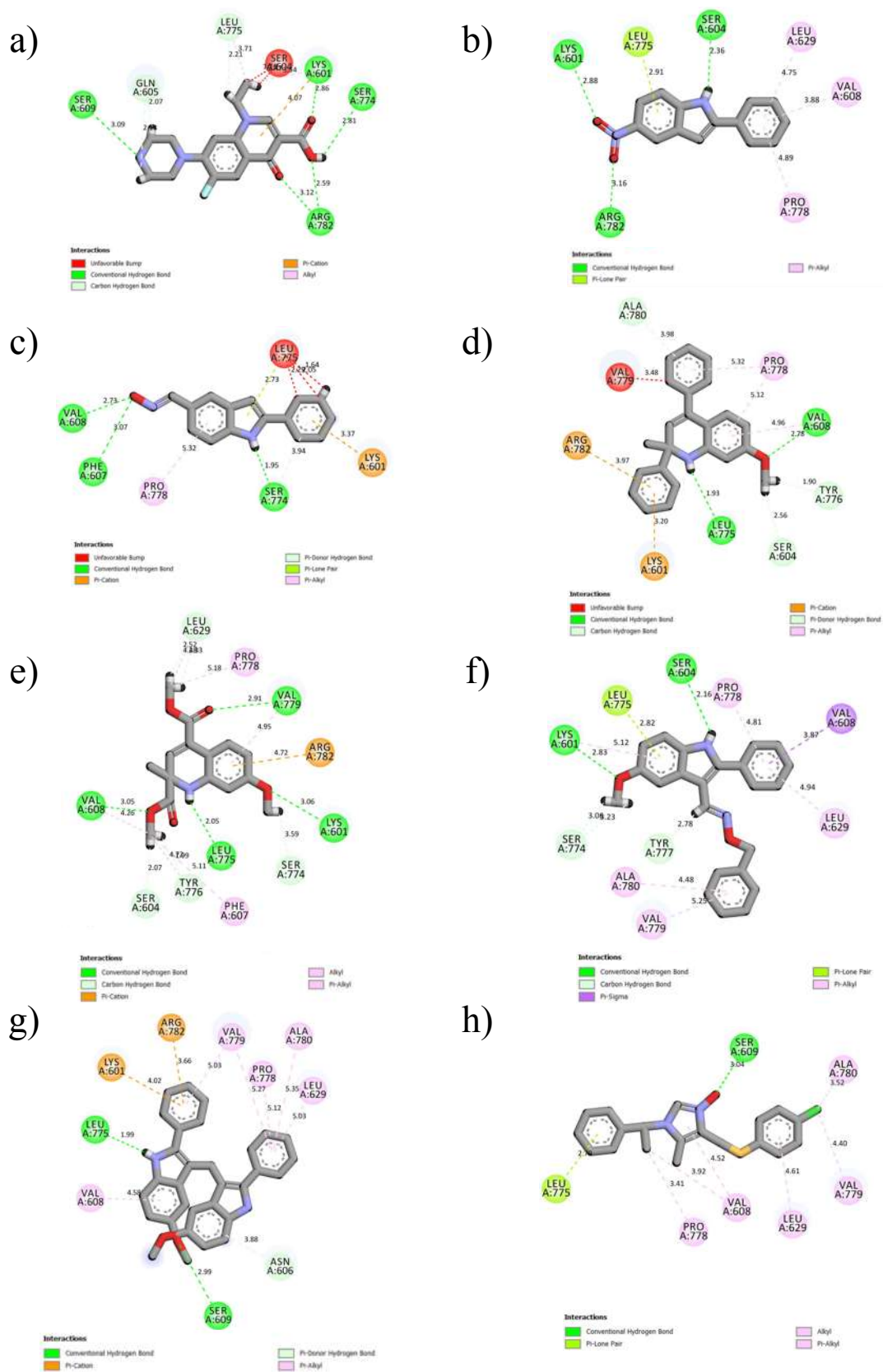


Figura 5. Interacciones y distancias (Å) presentes entre los ligandos con los aminoácidos de la macromolécula 3NAW. a) Lig1, b) Lig2, c) Lig3, d) Lig4, e) Lig5, f) Lig6, g) Lig7 y h) Lig8.

De acuerdo con la Figura 5, se observa que todos los ligandos presentan una gran cantidad de interacciones, siendo el de mayor cantidad de interacciones el **Lig5**, seguido del **Lig6** y el **Lig7**, donde todos ellos presentan interacciones favorables; no obstante, el **Lig1** y el **Lig4** presentan la misma cantidad de interacciones favorables que el **Lig7**, pero adicionalmente tienen interacciones desfavorables. Todos los ligandos presentan al menos una interacción favorable con la Leu775, siete de los ligandos presentan interacciones favorables con Lys601, Val608 y Pro778 y cinco de los ligandos presentan interacciones con Ser604, Leu629, Ala780 y Arg782.

7.1.2 Acoplamiento molecular frente al receptor 2UWX

7.1.2.1 Acoplamiento molecular en AutoDock Vina y AutoDock FR para 2UWX

Los resultados de las mejores energías de afinidad de los ligandos frente a la proteína 2UWX en los acoplamiento molecular dirigido rígido y dirigido flexible llevados a cabo en AutoDock Vina y dirigido flexible en AutoDock FR, se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Energías de afinidad (kcal/mol) de los ligandos aza-heterociclos frente al receptor 2UWX en los acoplamiento molecular en AutoDock Vina y AutoDock FR.

Ligando	Acoplamiento molecular dirigido rígido en AutoDock Vina	Acoplamiento molecular dirigido flexible en AutoDock Vina	Acoplamiento molecular dirigido flexible en AutoDock FR
	Energía de afinidad	Energía de afinidad	Energía de afinidad
Lig1	-6.8	-8.0	-9.0
Lig2	-6.9	-7.7	-7.9
Lig3	-7.0	-7.5	-8.2
Lig4	-7.6	-7.9	-8.7
Lig5	-6.0	-6.8	-7.2
Lig6	-7.1	-7.8	-8.2
Lig7	-8.2	-9.2	-8.9
Lig8	-7.0	-7.6	-9.4
Lig9	-7.7	-9.0	-10.0

En los cálculos llevados a cabo en AutoDock Vina, se observa que todos los resultados de las energías de afinidad para cada uno de los ligandos mejoraron cuando se permitió la flexibilidad de ciertos aminoácidos. Asimismo, se observan buenos resultados especialmente para el **Lig7** que contiene una energía de afinidad superior al **Lig9**. Por otro lado, en los cálculos realizados en AutoDock FR, se observan buenos resultados de energías de afinidad e incluso mejores que las obtenidas con AutoDock Vina, siendo los mejores **Lig8** y **Lig1**, respectivamente. Además de que los **Lig1**, **Lig7** y **Lig8** presentan energías cercanas al **Lig9**. Para seleccionar las mejores energías de afinidad se consideraron aquellas que fueran similares en la orientación al **Lig9** y que presentaran las interacciones con los aminoácidos de interés. Por tal razón, se presenta en la Figura 6, los mapas de interacción de dichas conformaciones y del **Lig9** co-cristalizado.

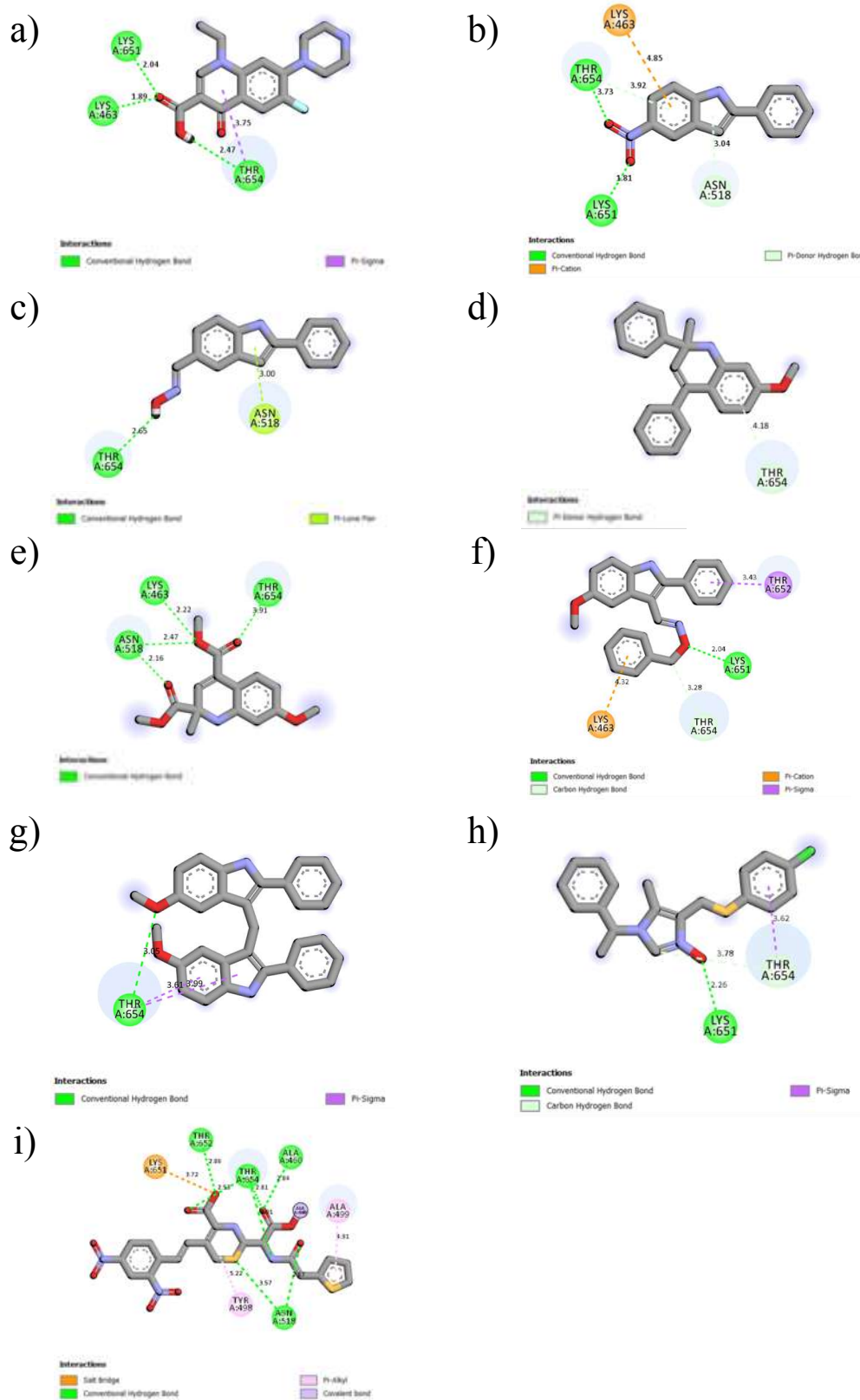


Figura 6. Interacciones y distancias (Å) presentes entre los ligandos con los aminoácidos de la macromolécula 2UWX. a) Lig1, b) Lig2, c) Lig3, d) Lig4, e) Lig5, f) Lig6, g) Lig7, h) Lig8 y i) Lig9 en pose nativa.

Se observa que todas las interacciones presentes son buenas y en general hay al menos una interacción por puentes de hidrógeno y otro tipo de interacciones π . El ligando que más interacciones presenta es el **Lig2**, seguido de los ligandos **Lig1**, **Lig5** y **Lig6**.

Se realizaron los cálculos de las RMSD para el **Lig9** en cada acoplamiento molecular obteniendo valores de 4.3 Å para cuando el acoplamiento se consideró rígido y de 2.4 Å cuando el acoplamiento se consideró flexible. Los valores ideales de RMSD son menores a 2 Å, por tal motivo se considera que los acoplamientos flexibles fueron más precisos para determinar la afinidad de los ligandos.

7.1.3 Acoplamientos moleculares frente al receptor 5M19

7.1.3.1 Acoplamientos moleculares en AutoDock Vina y AutoDock FR para 5M19

Los resultados de las mejores energías de afinidad de los ligandos frente a la proteína 5M19 en los acoplamientos moleculares dirigido rígido y dirigido flexible llevados a cabo en AutoDock Vina y dirigido flexible en AutoDock FR, se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Energías de afinidad (kcal/mol) de cada uno de los ligandos aza-heterociclos frente al receptor 5M19 en los acoplamientos moleculares con AutoDock Vina y AutoDock FR.

Ligando	Acoplamiento molecular dirigido rígido en AutoDock Vina	Acoplamiento molecular dirigido flexible en AutoDock Vina	Acoplamiento molecular dirigido flexible en AutoDock FR
	Energía de afinidad	Energía de afinidad	Energía de afinidad
Lig1	-7.4	-6.3	-7.5
Lig2	-6.8	-6.7	-8.5
Lig3	-7.0	-6.7	-8.4
Lig4	-7.5	-7.4	-7.4
Lig5	-6.7	-6.2	-8.4
Lig6	-7.5	-6.5	-9.5
Lig7	-7.6	-7.9	-7.3
Lig8	-7.2	-6.8	-8.9
Lig10	-6.8	-6.0	-7.6

Se observa en los acoplamientos moleculares realizados en AutoDock Vina que, en general los resultados de las energías de afinidad para cada uno de los ligandos fueron mejores cuando no se permitió la flexibilidad de ciertos aminoácidos. Sin embargo, se observa que para el **Lig7** mejoró un poco la energía al permitir la flexibilidad de determinados

aminoácidos. Además, de que los ligandos que presentaron mejor energía fueron los **Lig7** y **Lig4**. Asimismo, se observa que las energías obtenidas para todos los ligandos son comparables con las del **Lig10** y en el acoplamiento flexible dirigido todos los ligandos presentan una energía superior al mismo. Por su parte, se observa que con AutoDock FR los resultados de las energías de afinidad fueron generalmente superiores en comparación con las energías calculadas con AutoDock Vina. Sin embargo, se observa que para el **Lig7** y el **Lig4** las energías fueron mejores con AutoDock Vina. Además, en este caso se observa que el **Lig6** es el que presentó una mejor energía de afinidad seguido del **Lig8** y el **Lig2**. Es importante destacar que la selección de las mejores poses se realizó en base a aquellas conformaciones que fueran similares al **Lig10** y sobre todo que presentaran interacciones con los aminoácidos de interés de acuerdo con lo que indica la literatura.

Con respecto a las interacciones que presentan las mejores poses seleccionadas de los cálculos realizados en AutoDock FR para cada uno de los ligandos aza-heterociclos, se presentan los mapas de interacciones en la Figura 7, obtenidos a partir del programa Discovery Studio.

Se observa en la Figura 7 que el ligando que presenta más interacciones favorables es el **Lig4**, seguido del **Lig10** y el **Lig5**; sin embargo, el **Lig10** tiene únicamente interacciones favorables y los **Lig4** y **Lig5** presentan dos y una interacciones desfavorables, respectivamente. Asimismo, los **Lig10**, **Lig1**, **Lig6** y **Lig7** son aquellos compuestos que presentan solamente interacciones favorables siendo el de mayor número de interacciones el **Lig10**, seguido del **Lig7** y los **Lig1** y **Lig6**, que se encuentran con la misma cantidad de interacciones.

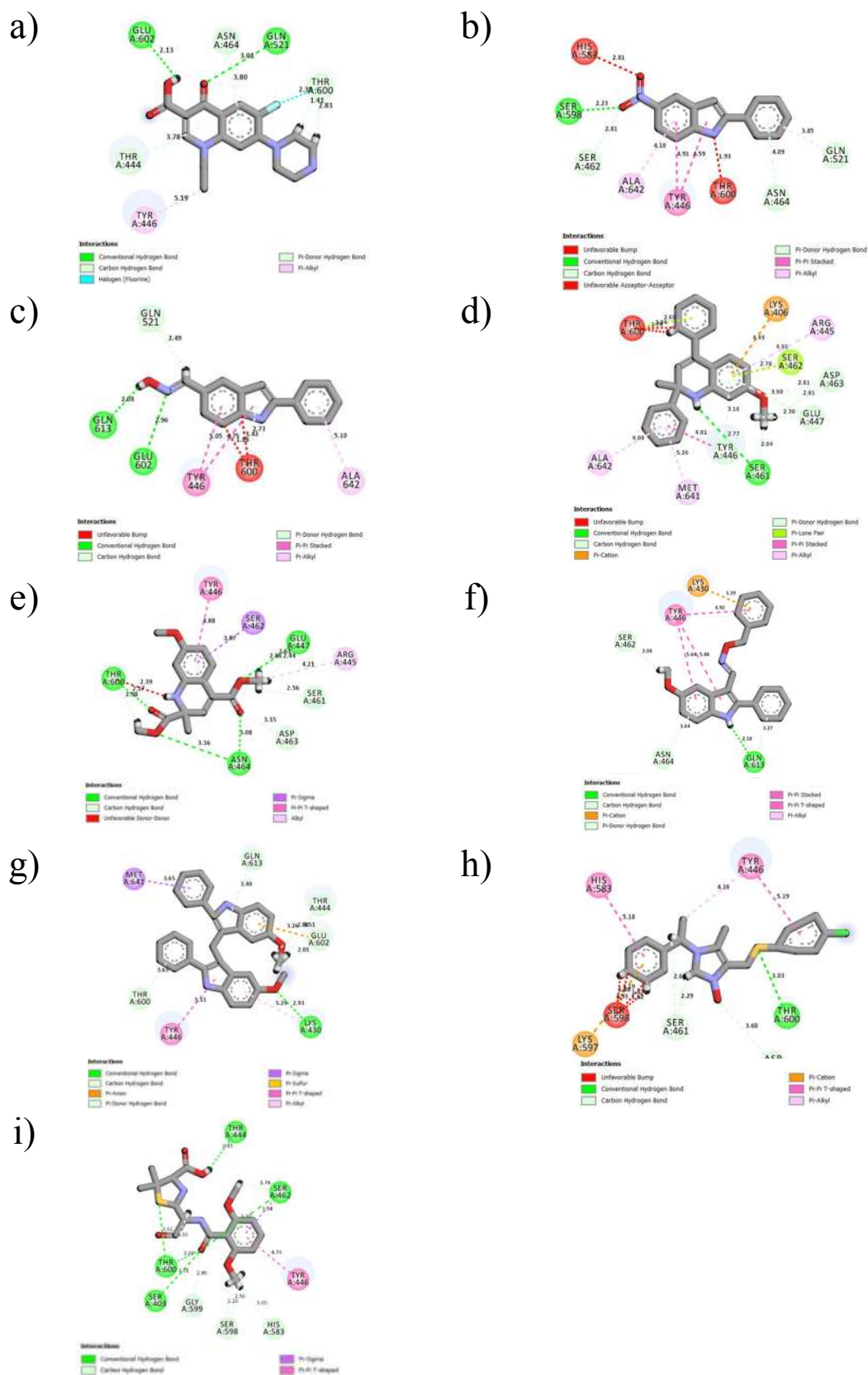


Figura 7. Interacciones y distancias (Å) presentes entre los ligandos con los aminoácidos de la macromolécula 5M19. a) Lig1, b) Lig2, c) Lig3, d) Lig4, e) Lig5, f) Lig6, g) Lig7, h) Lig8 y i) Lig10.

7.1.4 Acoplamiento molecular frente al receptor 7LO8

7.1.4.1 Acoplamiento molecular rígido global frente a 7LO8 en AutoDock4

Los resultados de las mejores energías de afinidad de los ligandos **Lig1** al **Lig8** frente a la proteína 7LO8 en el acoplamiento molecular realizado en AutoDock4, se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Mejores energías de afinidad (kcal/mol) de cada uno de los ligandos aza-heterociclos estudiados frente al receptor 7LO8 en el acoplamiento molecular con AutoDock4.

Ligando	Energía de afinidad ciego rígido
Lig1	-7.37
Lig2	-6.63
Lig3	-6.72
Lig4	-8.43
Lig5	-6.54
Lig6	-7.73
Lig7	-9.24
Lig8	-7.64

En la Tabla 5, se presentan los mejores resultados de las energías de afinidad para cada uno de los ligandos en los acoplamiento molecular ciego. Se observa que el **Lig7** presenta la mejor energía seguido del **Lig4**. Sin embargo, a partir de la función de puntuación de Molecular footprint, se determinaron los ligandos que dentro del canal presentarían buena energía debido a las Fuerzas de van der Waals y electrostáticas. A partir de dicha función de puntuación, se seleccionaron las mejores poses considerando dos de ellas: una dentro del canal en la región media y otra dentro del canal cercana a los aminoácidos que Brawley y colaboradores [61] identificaron como claves para la resistencia bacteriana, como se presenta en la Tabla 6.

En la Tabla 6, se observa que ambas regiones presentan energía de van der Waals y energía de van der Waals más electrostática con valores similares dentro de ellas mismas. No obstante, el **Lig1** en la región de los aminoácidos claves presenta la mejor energía de van der Waals más electrostática. Por su parte, si sólo se considera la energía de van der Waals el **Lig7** en la región de los aminoácidos clave es la que presenta la mejor energía. Finalmente, en las energías de afinidad se observa que el **Lig7** es el que presenta una mejor energía de afinidad tanto en la región media como la mejor energía de afinidad en la región de los aminoácidos claves.

Tabla 6. Energías de van der Waals, de van der Waals más electrostática y de afinidad (kcal/mol) de cada uno de los ligandos aza-heterociclos **Lig1** al **Lig8** frente al receptor 7LO8 en el acoplamiento molecular con AutoDock4.

Ligando	Región	Energía de vdw	Energía de vdw+es	Energía de afinidad
Lig1	Región de aa claves	-26.338552	-43.376804	-6.28
	Región media	-32.160183	-41.929012	-5.65
Lig2	Región media	-13.471354	-16.938635	-6.40
	Región de aa claves	--	--	-6.50
Lig3	Región media	-31.04924	-32.281239	-5.54
	Región de aa claves	-14.991273	-18.231369	-5.77
Lig4	Región media	-30.351793	-30.725447	-7.01
	Región de aa claves	-29.032721	-29.772676	-6.64
Lig5	Región media	-10.779717	-11.771522	-6.26
	Región de aa claves	-12.172215	-10.198103	-4.34
Lig6	Región de aa claves	-37.857574	-39.093273	-6.11
	Región media	-17.78059	-20.455225	-6.79
Lig7	Región de aa claves	-38.198292	-41.544800	-7.46
	Región media	-24.576952	-26.413967	-7.21
Lig8	Región de aa claves	-33.631481	-34.140854	-5.73
	Región media	-30.522564	-31.212967	-6.63

Las mejores conformaciones determinadas a partir de la función de puntuación con Molecular footprint en cada una de las regiones se analizaron en Discovery Studio, obteniendo las interacciones que se presentan en las Figuras 8 y 9.

En la Figura 8, se observa que todos los ligandos excepto el **Lig5** presentan alguna interacción con el Glu222 y todos los ligandos excepto el **Lig1** presentan una interacción con Phe303. Mientras que los aminoácidos Phe140, Thr223 y Ash307 interactúan con cuatro de los ligandos. Asimismo, se observa que los **Lig7** y **Lig8** son los que presentan una mayor cantidad de interacciones todas favorables, seguidos del **Lig6**. Cabe resaltar que el **Lig7** fue el que presentó una menor y por tanto, mejor energía de afinidad en esa región.

Por otro lado, en la Figura 9, se observa que también el **Lig7** presentó más interacciones seguido del **Lig1** y **Lig5**. Mientras que cuatro de los ligandos presentaron interacción con Ile136 y tres de los ligandos presentaron interacciones con Phe16, Ala48 y Met109.

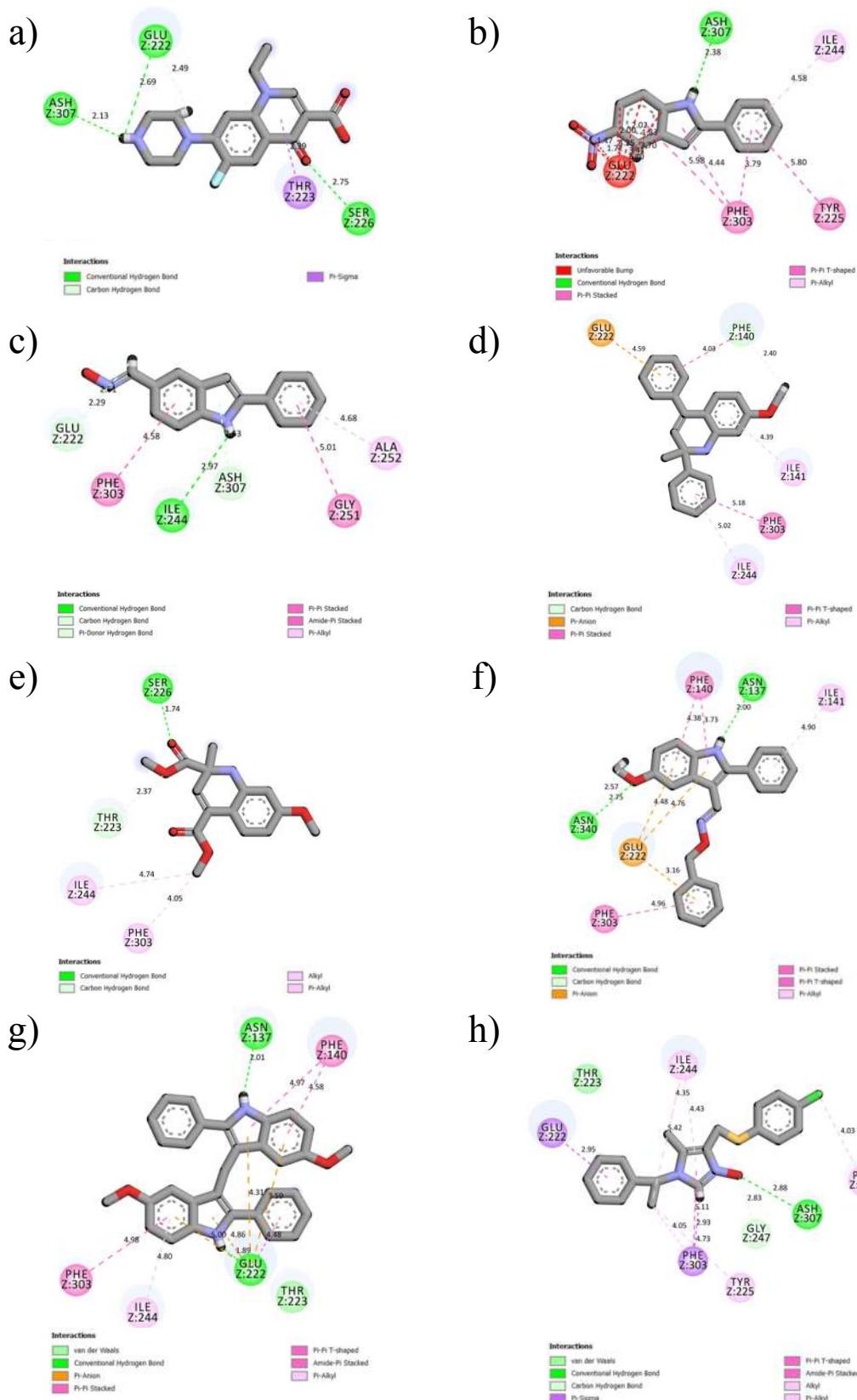


Figura 8. Interacciones y distancias ($\text{\AA}$) presentes entre los ligandos con los aminoácidos de la macromolécula 7LO8. a) Lig1, b) Lig2, c) Lig3 d) Lig4, e) Lig5, f) Lig6, g) Lig7 y h) Lig8 en la región de los aminoácidos claves (RA).

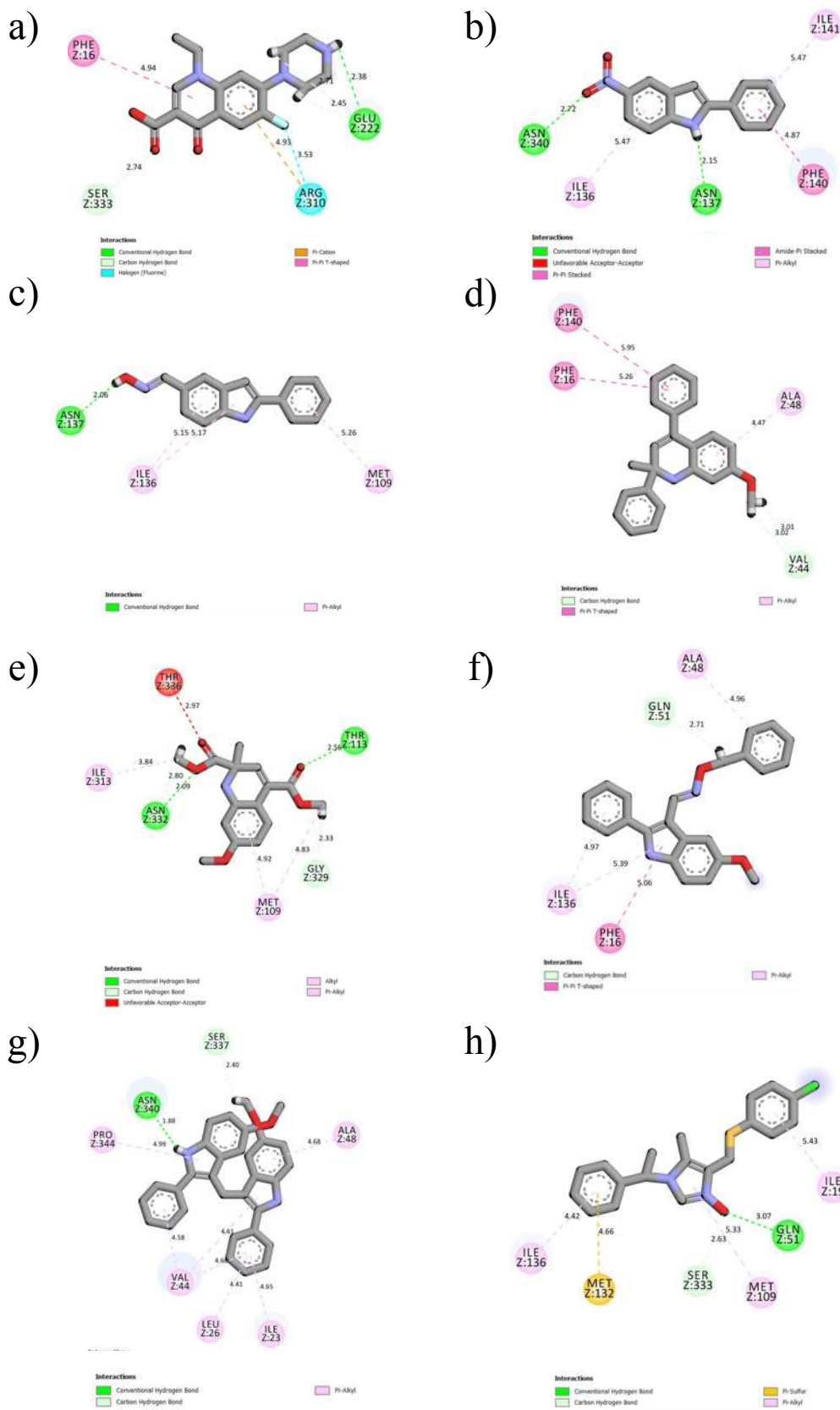


Figura 9. Interacciones y distancias ($\text{\AA}$) presentes entre los ligandos con los aminoácidos de la macromolécula 7LO8. a) *Lig1*, b) *Lig2*, c) *Lig3*, d) *Lig4*, e) *Lig5*, f) *Lig6*, g) *Lig7* y h) *Lig8* en la región media del canal (RM).

7.2 Dinámicas moleculares de los ligandos aza-heterociclos Lig1 al Lig8

7.2.1 Dinámicas moleculares de ligandos **Lig1** al **Lig8** frente al receptor 3NAW

7.2.1.1 Dinámica molecular realizada en NAMD

Para evaluar las simulaciones de dinámica molecular, se obtuvieron los valores de las RMSD de la proteína, del ligando respecto a la proteína y del ligando respecto a sí mismo. De esta manera, para la producción de 50 ns de la trayectoria de NAMD se obtuvieron las gráficas de las RMSD que se presentan en la Figura 10.

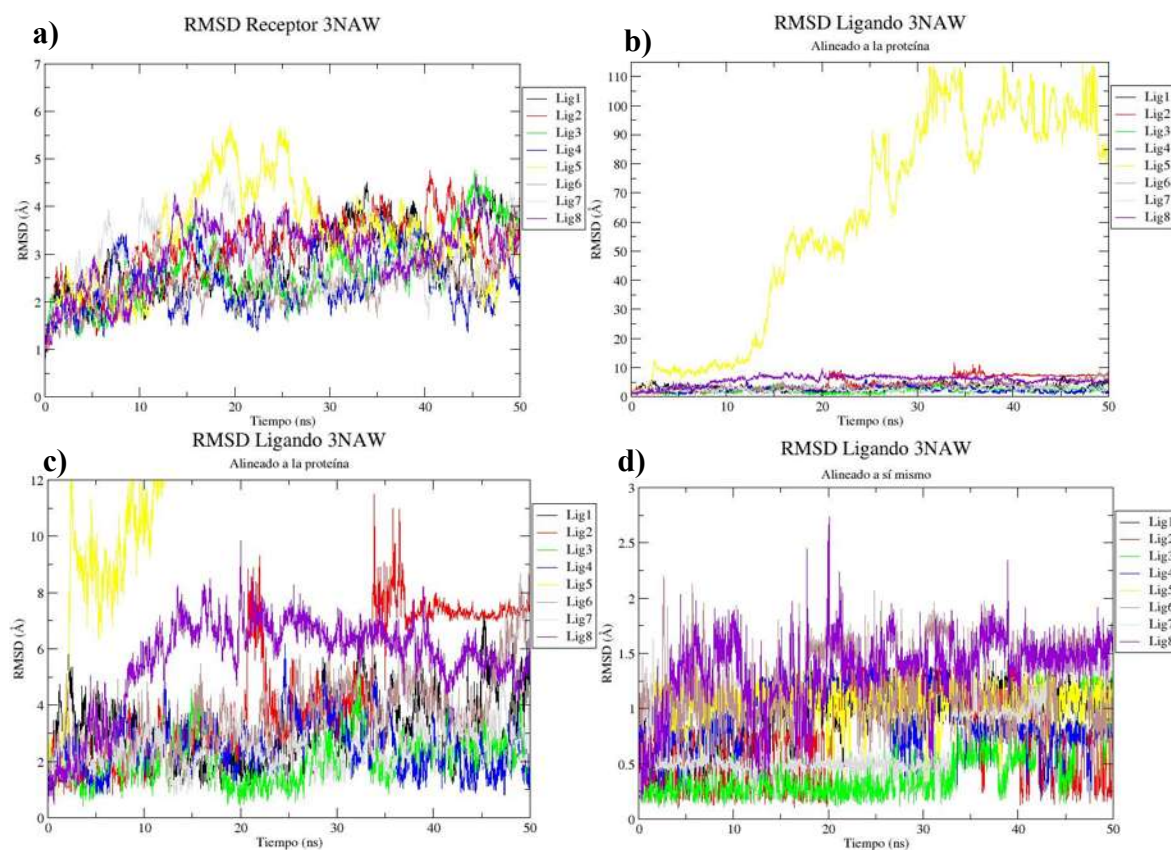


Figura 10. RMSD (Å), a) del receptor; b) del ligando respecto al receptor; c) del ligando respecto al receptor (acercamiento) y d) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 3NAW analizado durante 50 ns en NAMD.

Asimismo, se obtuvo la Tabla 7 basada en las desviaciones cuadráticas medias de las gráficas anteriores de la Figura 10, en términos cuantitativos.

A partir de la Figura 10a y la Tabla 7, se puede observar que la RMSD para el receptor es similar en presencia de los distintos ligandos, presentando una mayor desviación en el **Lig5** con un valor de RMSD promedio de 3.4 Å. Con respecto a la Figura 10b y 10c, se observa que la RMSD del ligando alineado al receptor es más estable para los ligandos **Lig1**, **Lig3**, **Lig4**, **Lig6** y **Lig7**, los cuales presentan valores de RMSD promedio dentro del rango de 2.1 a 3.6 Å. El **Lig5** presenta un valor de RMSD promedio muy grande debido a que se

difunde durante la trayectoria de simulación. Por su parte, para la RMSD del ligando alineado a sí mismo, en la Figura 10d, se observa que todos tienen estabilidad similar excepto el **Lig8** y tienen valores promedio por debajo de 1.3 Å.

Tabla 7. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 50 ns con 3NAW en NAMD.

Ligando	RMSD Receptor	RMSD Receptor	RMSD Ligando	RMSD Ligando	RMSD Ligando alineado	RMSD Ligando alineado
	promedio	máximo	promedio	máximo	promedio	máximo
Lig1	2.855	4.517	3.100	7.305	0.938	1.438
Lig2	3.086	4.757	4.522	11.500	0.766	1.391
Lig3	2.644	4.776	2.051	5.234	0.459	1.369
Lig4	2.349	3.993	2.505	6.177	0.912	1.437
Lig5	3.351	5.764	60.544	114.177	1.054	1.439
Lig6	2.361	4.302	3.642	9.274	1.157	2.200
Lig7	2.872	4.59	2.403	5.746	0.720	1.774
Lig8	2.984	4.684	5.615	9.842	1.338	2.734

Con relación a las interacciones por puentes de hidrógeno que presentan los ligandos con el receptor durante los 50 ns, se muestran en la Tabla 8 aquellas con un porcentaje superior al 5%.

Tabla 8. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 50 ns con 3NAW en NAMD.

Ligando	Donador*	Aceptor*	% de ocupación
Lig1	ARG782-S	LIG-S	7.24
	GLN605-S	LIG-S	12.60
	LIG-S	LEU775-M	6.28
	LYS601-S	LIG-S	7.00
Lig2	LIG-S	LEU775-M	52.00
Lig3	SER609-M	LIG-M	32.04
	VAL608-M	LIG-S	21.84
	LIG-S	LEU775-M	46.08
	LIG-M	GLN605-M	9.08
	VAL608-M	LIG-M	5.08
	LIG-S	SER774-M	33.32
	LIG-M	ASN630-S	6.84
Lig4	LIG-M	SER604-S	55.76
Lig5	--		
Lig6	LIG-S	LEU775-M	33.52
	LYS601-S	LIG-S	6.72
	LIG-S	SER604-S	52.16
	VAL779-M	LIG-S	6.32

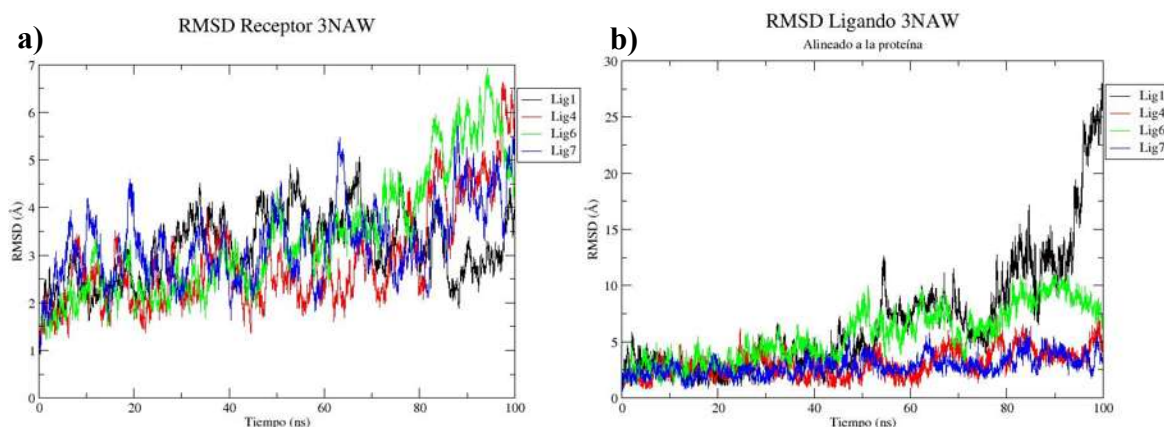
Lig7	VAL608-M	LIG-S	59.20
	SER604-S	LIG-S	5.56
	LIG-S	LEU775-M	75.36
	LIG-S	ASN630-S	13.12
Lig8	SER609-S	LIG-M	31.12
	SER609-M	LIG-M	25.64
	PHE607-M	LIG-M	21.20
	VAL608-M	LIG-M	11.40
	LIG-S	GLN605-M	14.68
	SER609-S	LIG-S	10.24
	ASN606-S	LIG-M	6.72
	LYS601-S	LIG-M	18.28

*M es principal (por main en inglés) y S es lado (por side en inglés).

Se puede observar de acuerdo con la Tabla 8, que el **Lig8** es el que presenta una mayor cantidad de interacciones por puentes de hidrógeno seguido del **Lig3** y posteriormente el **Lig1**, **Lig6** y **Lig7**. Sin embargo, los ligandos que presentan interacciones con porcentajes superiores al 50% son el **Lig7** con dos interacciones con Val608 y Leu775, seguido de los ligandos con una interacción: **Lig2** con Leu775, **Lig4** con Ser604 y **Lig6** con Ser604.

Gracias a las interacciones por puentes de hidrógeno observadas durante las simulaciones de 50 *ns* y los valores de RMSD se decidió realizar la simulación hasta 100 *ns* para aquellos ligandos que presentaran interacciones con porcentajes superiores al 50% y una mayor estabilidad, siendo los ligandos seleccionados **Lig4**, **Lig6** y **Lig7**. Asimismo, debido a que el **Lig1** es fármaco de referencia para esta bacteria, se decidió también llevar a cabo su simulación a 100 *ns* de producción.

Los valores de las RMSD de la proteína, del ligando respecto a la proteína y del ligando alineado a sí mismo, de las trayectorias de simulación de 100 *ns* realizadas para los aminoácidos seleccionados se presentan en la Figura 11.



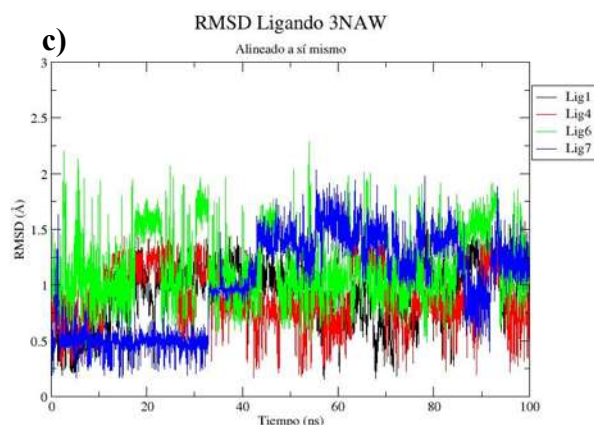


Figura 11. RMSD (Å), a) del receptor; b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 3NAW analizado durante 100 ns en NAMD.

Asimismo, se obtuvo la Tabla 9 basada en las desviaciones cuadráticas medias de las gráficas anteriores de la Figura 11, en términos cuantitativos.

Tabla 9. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor; del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 ns con 3NAW en NAMD.

Ligando	RMSD Receptor promedio	RMSD Receptor máximo	RMSD Ligando promedio	RMSD Ligando máximo	RMSD Ligando alineado promedio	RMSD Ligando alineado máximo
Lig1	3.149	5.073	6.732	27.938	0.948	1.573
Lig4	2.883	6.625	3.052	7.463	0.886	1.467
Lig6	3.339	6.931	5.564	11.134	1.151	2.287
Lig7	3.246	5.716	2.830	6.187	1.011	2.031

De acuerdo con la Figura 11a y la Tabla 9, el RMSD del receptor en presencia de los diferentes ligandos, con el **Lig1** presenta una pequeña mejor estabilidad que para el resto de los ligandos. En general, el receptor en presencia del ligando presenta valores dentro del rango de 2.9 a 3.3 Å. Para la Figura 11b, se observa que los ligandos **Lig4**, **Lig6** y **Lig7**, se mantienen en la región analizada; mientras que, el **Lig1**, se difunde a otra región de la proteína. Con base en la Tabla 9, se observa que el **Lig7** seguido del **Lig4** son los que presentan un menor valor de RMSD promedio con un valor de 2.8 y 3.1 Å, respectivamente. Por otro lado, para la Figura 11c, se observa que todos los ligandos presentan una estabilidad similar, lo que se comprueba con los valores de RMSD del ligando alineado a sí mismo que varían entre 0.9 a 1.2 Å.

En relación a las interacciones por puentes de hidrógeno que presentan los ligandos con el receptor durante los 100 ns, se muestran en la Tabla 10 aquellas con un porcentaje superior al 5%.

Tabla 10. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 100 ns con 3NAW en NAMD.

Ligando	Donador*	Aceptor*	% de ocupación
Lig1	GLN605-S	LIG-S	8.60
Lig4	LIG-M	SER604-S	54.46
Lig6	LIG-S	LEU775-M	43.08
	LIG-S	SER604-S	43.14
	VAL779-M	LIG-S	6.06
Lig7	VAL608-M	LIG-S	29.60
	LIG-S	LEU775-M	38.58
	LIG-S	ASN630-S	37.40

*M es principal (por main en inglés) y S es lado (por side en inglés).

A partir de la Tabla 10, se observa que los **Lig6** y **Lig7** son los que presentan una mayor cantidad de interacciones superiores al 5%; sin embargo, sólo el **Lig4** presenta una interacción superior al 50% con la Ser604. Se observa que el **Lig6** presenta también una interacción con la Ser604 con un porcentaje de ocupación ligeramente inferior al 50%.

Posteriormente, se determinó la energía libre de unión con MMGBSA para los ligandos simulados durante 100 ns realizando únicamente el cálculo de la energía durante los últimos 50 ns, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Energías libres de unión (kcal/mol) con MMGBSA de ligandos frente al receptor durante los últimos 50 ns de la trayectoria de 100 ns con 3NAW en NAMD.

Ligando	ΔG_{MMGBSA}
Lig1	-8.20
Lig4	-20.58
Lig6	-32.57
Lig7	-23.80

En la Tabla 11 se observa que el **Lig6**, es el que presenta la mejor energía libre de unión y por tanto una mayor afinidad hacia la diana 3NAW. Por su parte los **Lig4** y **Lig7** presentan una energía libre similar, pero por arriba del **Lig6**. Mientras que, el **Lig1** presenta una energía libre de unión mucho mayor, probablemente debido a que se difundió a otra región del receptor y no alcanzó a estabilizarse.

7.2.2 Dinámicas moleculares de ligandos **Lig1** al **Lig8** frente al receptor 2UWX

7.2.2.1 Dinámica molecular realizada en NAMD

Para evaluar las simulaciones de dinámica molecular, se obtuvieron los valores de las RMSD de la proteína, del ligando respecto a la proteína y del ligando respecto a sí mismo. De esta manera, para la producción de 50 ns de la trayectoria de NAMD se obtuvieron las gráficas de las RMSD que se presentan en la Figura 12.

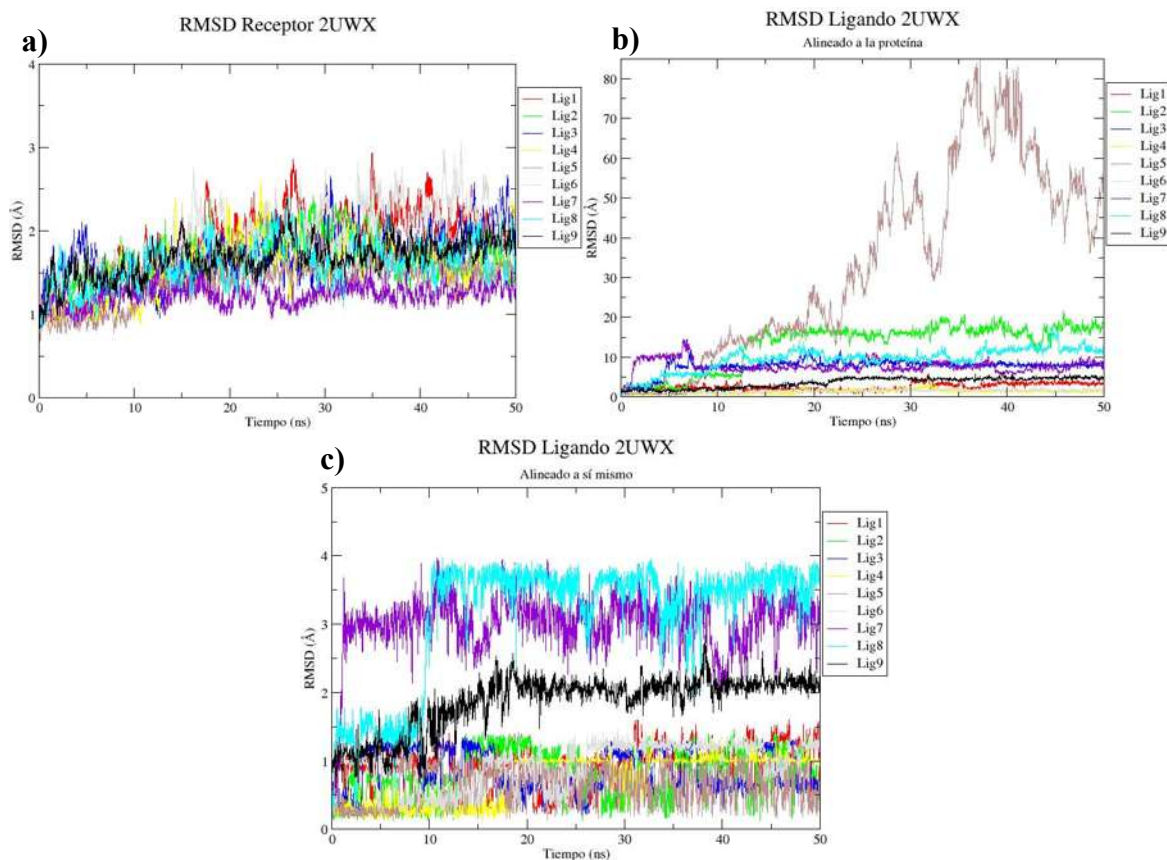


Figura 12. RMSD (Å), a) del receptor; b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 2UWX analizado durante 50 ns en NAMD.

Asimismo, se obtuvo la Tabla 12 basada en las desviaciones cuadráticas medias de las gráficas anteriores de la Figura 12, en términos cuantitativos.

Tabla 12. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor; del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 50 ns con 2UWX en NAMD.

Ligando	RMSD Receptor	RMSD Receptor	RMSD Ligando	RMSD Ligando	RMSD Ligando alineado	RMSD Ligando alineado
	promedio	máximo	promedio	máximo	promedio	máximo
Lig1	1.842	2.930	2.528	5.813	0.936	1.601
Lig2	1.683	2.409	13.085	21.456	0.805	1.462
Lig3	1.711	2.662	7.673	12.394	0.838	1.373
Lig4	1.543	2.597	1.327	3.335	0.731	1.434
Lig5	1.386	1.973	33.407	84.782	0.629	1.177
Lig6	1.923	3.073	1.469	2.721	0.951	1.447
Lig7	1.235	1.670	7.671	14.483	3.005	3.972
Lig8	1.613	2.434	9.465	17.894	3.101	3.973
Lig9	1.665	2.389	3.611	6.462	1.857	2.838

En la Figura 12a se observa que la RMSD del receptor en presencia de cada uno los ligandos es similar, teniendo valores promedio, de acuerdo con la Tabla 12, dentro del rango de 1.2 a 1.9 Å. Por su parte, en la Figura 12b, la RMSD del ligando respecto al receptor se observa más estable para los ligandos **Lig4** y **Lig6** seguido del **Lig1** y el **Lig9**; lo anterior, se comprueba con la Tabla 12, donde los ligandos **Lig4** y **Lig6** presentan un valor de RMSD promedio de 1.3 y 1.5 Å, respectivamente. Por otro lado, en la Figura 12c, se observa que la RMSD del ligando respecto a sí mismo presenta una mayor desviación para los ligandos **Lig7** y **Lig8**; mientras que el resto se presenta más estable. En la Tabla 12, se observa que los ligandos **Lig1** a **Lig6** presentaron valores promedio entre 0.6 a 1.0 Å.

Con relación a las interacciones por puentes de hidrógeno que presentan los ligandos con el receptor durante los 50 ns, se muestran en la Tabla 13 aquellas con un porcentaje superior al 5%.

Tabla 13. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 50 ns con 2UWX en NAMD.

Ligando	Donador*	Aceptor*	% de ocupación
Lig1	LYS651-S	LIG-S	35.40
	LIG-S	TYR498-S	19.92
	THR652-S	LIG-S	15.28
	GLN687-S	LIG-S	5.60
	LIG-S	GLN687-S	5.12
	THR654-M	LIG-S	5.56
Lig2	LIG-S	ASN656-S	5.88
	ASN492-M	LIG-S	15.72
Lig3	LIG-M	THR654-S	33.28
Lig4	LIG-M	TYR498-S	6.88
	SER516-S	LIG-M	29.76
	LIG-S	THR629-M	11.72
Lig5	ALA499-M	LIG-S	12.60
Lig6	SER460-S	LIG-S	28.96
	THR654-S	LIG-S	10.44
Lig7	TRP517-S	LIG-S	8.96
	TYR498-S	LIG-S	6.48
	ASN500-S	LIG-S	5.32
Lig8	LEU663-S	LIG-S	5.64
	THR652-S	LIG-M	6.16
	TYR515-M	LIG-S	8.00
	TYR498-S	LIG-S	5.20
Lig9	THR654-M	LIG-S	32.16
	SER460-M	LIG-S	13.44
	LIG-S	THR652-M	23.40
	LIG-S	SER460-S	8.60

	LIG-S	THR654-S	11.16
	ASN518-S	LIG-S	14.24
	SER516-S	LIG-S	5.28
	GLN687-S	LIG-S	5.24
	LIG-S	TYR515-M	13.96
	SER460-S	LIG-S	68.24
	LIG-S	ASN514-M	9.96
	LIG-S	TYR498-S	25.32

*M es principal (por main en inglés) y S es lado (por side en inglés).

En la Tabla 13, se observa que el **Lig9** es el que presenta una mayor cantidad de interacciones por puentes de hidrógeno con porcentajes superiores al 5%, seguido del **Lig1**, **Lig8**, **Lig4** y **Lig7**, **Lig2** y **Lig6** y **Lig3** y **Lig5**. Asimismo, dicho **Lig9** es el único ligando que presenta una interacción superior al 50%, con la Ser460 actuando como donador.

Se decidió ampliar el tiempo de producción para todos los ligandos obteniendo las RMSD de la proteína, del ligando respecto a la proteína y del ligando alineado a sí mismo que se presentan en la Figura 13.

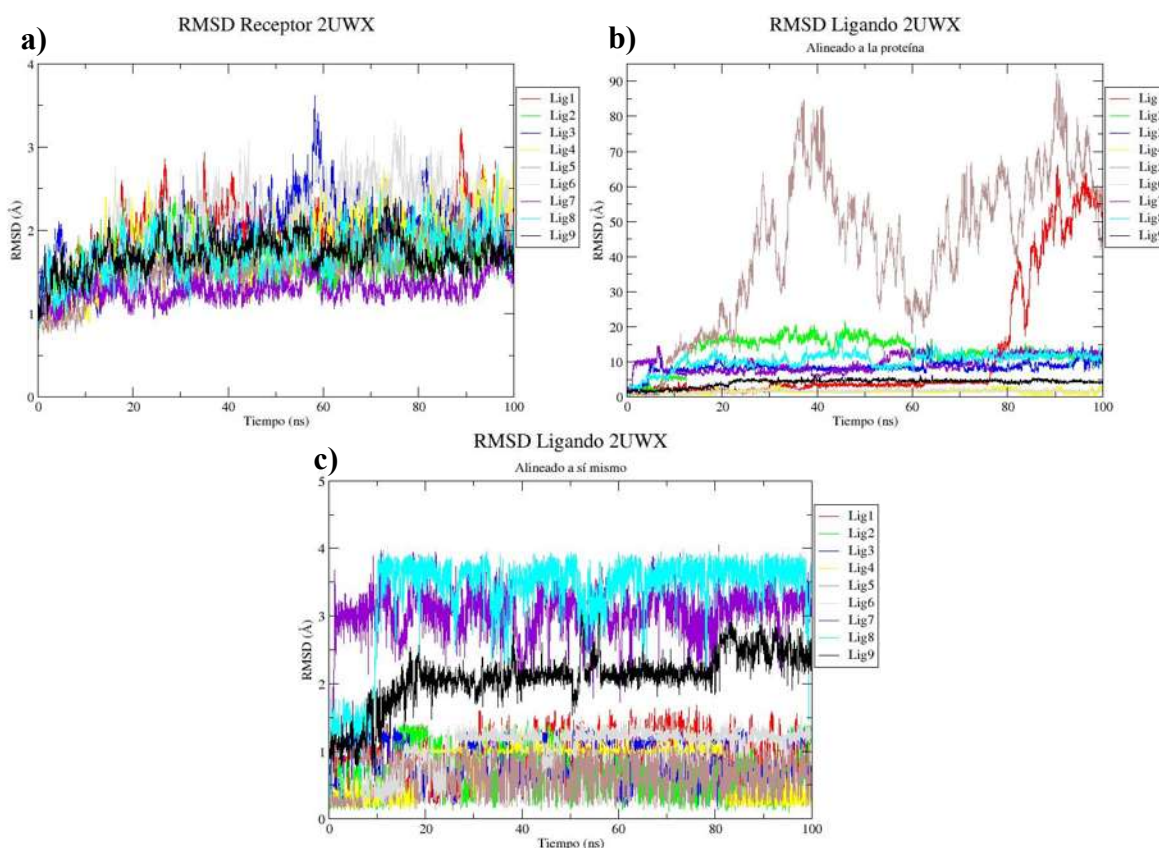


Figura 13. RMSD (Å), a) del receptor; b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 2UWX analizado durante 100 ns en NAMD.

Asimismo, se obtuvo la Tabla 14 basada en las desviaciones cuadráticas medias de las gráficas anteriores de la Figura 13, en términos cuantitativos.

Tabla 14. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 ns con 2UWX en NAMD.

Ligando	RMSD Receptor promedio	RMSD Receptor máximo	RMSD Ligando promedio	RMSD Ligando máximo	RMSD Ligando alineado promedio	RMSD Ligando alineado máximo
Lig1	1.936	3.221	11.860	66.113	0.998	1.679
Lig2	1.676	2.453	12.951	21.456	0.727	1.462
Lig3	1.939	3.617	8.335	15.505	0.869	1.373
Lig4	1.813	2.799	1.465	3.410	0.747	1.434
Lig5	1.567	2.391	42.348	92.294	0.649	1.181
Lig6	2.166	3.307	1.614	2.877	1.086	1.548
Lig7	1.301	1.913	9.406	14.568	3.035	4.053
Lig8	1.737	2.798	10.263	17.894	3.322	3.973
Lig9	1.710	2.417	4.064	6.462	2.084	3.053

De acuerdo con la Figura 13a, las RMSD del receptor en presencia de cada uno de los ligandos, se observa con una estabilidad similar, teniendo valores desde 1.3 hasta 2.2 Å, según la Tabla 14. Con relación a la RMSD del ligando respecto al receptor que se presenta en la Figura 13b, se observa que los ligandos más estables y con menor desviación son **Lig9**, **Lig4** y **Lig6**, comprobando con la Tabla 14 sus valores de RMSD promedio de 4.1, 1.5 y 1.6 Å, respectivamente. Por otro lado, para la RMSD del ligando alineado a sí mismo, se observa en la Figura 13c, que todos los ligandos se estabilizaron durante la mayor parte de la trayectoria y los ligandos **Lig7** y **Lig8** presentan la mayor desviación al inicio de la producción, lo cual se comprueba con los valores promedio de 3.0 y 3.3 Å respectivamente, mostrados en la Tabla 14.

Con relación a las interacciones por puentes de hidrógeno que presentan los ligandos con el receptor durante los 100 ns, se muestran en la Tabla 15 aquellas con un porcentaje superior al 5%.

En la Tabla 15, se observa que el **Lig9** volvió a ser el ligando con la mayor cantidad de interacciones por puentes de hidrógeno con porcentajes superiores al 5%, seguido del **Lig1**. Adicionalmente, se conserva la única interacción con porcentaje superior al 50% con Ser460 actuando como donador y el **Lig9** como aceptor. No obstante, el **Lig6** presenta una interacción por puente de hidrógeno con la Ser460 actuando como donador con un porcentaje de 45.3%.

Tabla 15. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 100 ns con 2UWX en NAMD.

Ligando	Donador*	Aceptor*	% de ocupación
Lig1	LYS651-S	LIG-S	17.70
	LIG-S	TYR498-S	14.80
	THR652-S	LIG-S	15.12
	THR654-M	LIG-S	9.70
	THR654-S	LIG-S	5.68
Lig2	ASN492-S	LIG-S	5.42
	ASN492-M	LIG-S	11.04
Lig3	LIG-M	THR654-S	29.38
Lig4	LIG-M	TYR498-S	6.72
	SER516-S	LIG-M	21.98
	LIG-S	THR629-M	10.18
Lig5	ALA499-M	LIG-S	6.30
Lig6	SER460-S	LIG-S	45.30
	THR654-S	LIG-S	5.30
Lig7	--		
Lig8	TYR515-M	LIG-S	5.48
	TYR498-S	LIG-S	5.28
Lig9	THR654-M	LIG-S	16.10
	SER460-M	LIG-S	6.72
	LIG-S	THR652-M	11.70
	LIG-S	THR654-S	5.68
	ASN518-S	LIG-S	8.28
	GLN687-S	LIG-S	5.06
	LIG-S	SER516-M	5.38
	LIG-S	TYR515-M	13.58
	SER460-S	LIG-S	68.12
	LIG-S	ASN514-M	7.68
	LIG-S	TYR498-S	27.80

*M es principal (por main en inglés) y S es lado (por side en inglés).

Enseguida, se determinó la energía libre de unión con MMGBSA para los ligandos simulados durante 100 ns realizando únicamente el cálculo de la energía durante los últimos 50 ns, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 16.

En la Tabla 16, se observa que la energía libre de unión obtenida para el **Lig9** fue mejor a la mayoría de los ligandos excepto los **Lig4** y **Lig6**. Asimismo, se observa que el **Lig4** tiene un valor similar al **Lig9**; mientras que el **Lig6** presenta una energía libre de unión mucho menor al **Lig9** y por tanto mejor interacción y estabilidad con el receptor.

Tabla 16. Energías libres de unión (kcal/mol) con MMGBSA de ligandos frente al receptor durante los últimos 50 ns de la trayectoria de 100 ns con 2UWX en NAMD.

Ligando	ΔG_{MMGBSA}
Lig1	−9.91
Lig2	−17.42
Lig3	−14.94
Lig4	−29.07
Lig5	−0.05
Lig6	−35.73
Lig7	−14.60
Lig9	−28.27

7.2.2.2 Dinámica molecular realizada en Amber

Para evaluar las simulaciones de dinámica molecular, se obtuvieron los valores de la RMSD de la proteína, del ligando respecto a la proteína y del ligando respecto a sí mismo, para la producción de 100 ns, obteniendo las gráficas que se presentan en la Figura 14.

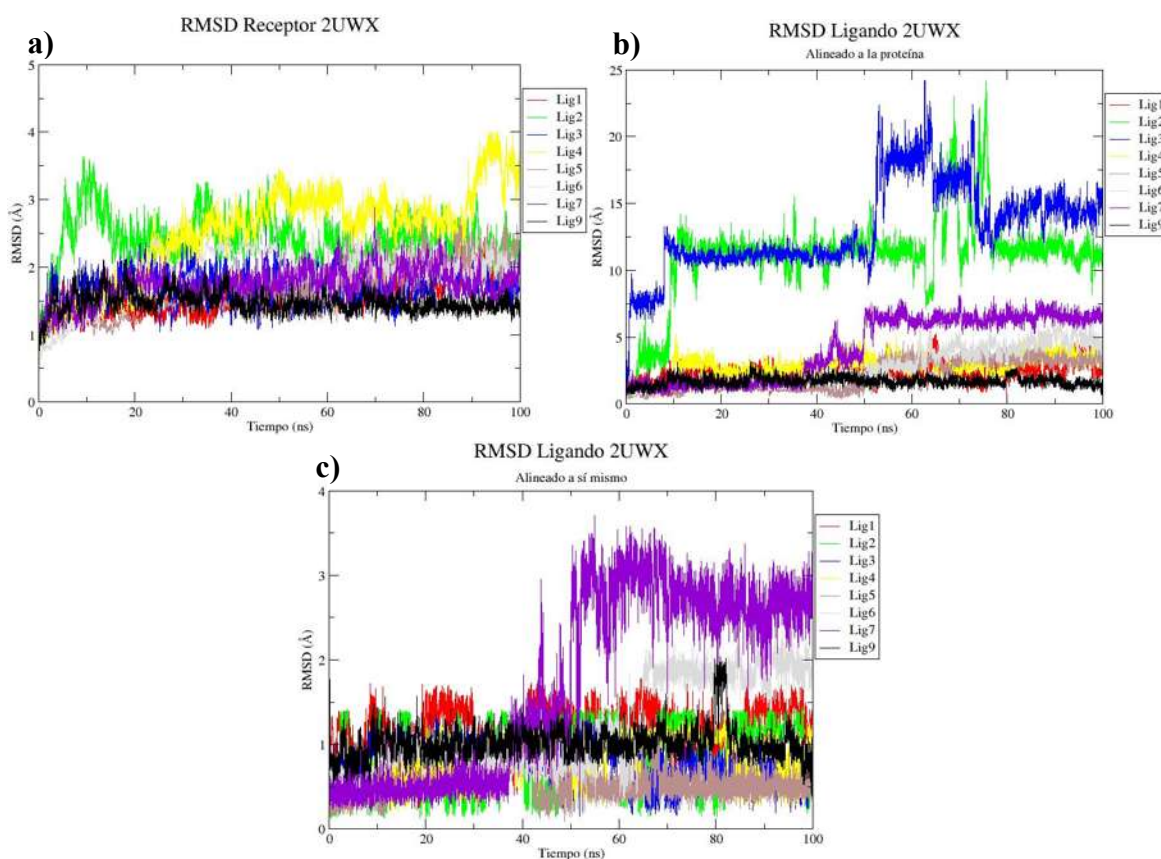


Figura 14. RMSD (Å), a) del receptor; b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 2UWX analizado durante 100 ns en Amber.

Adicionalmente, se construyó la Tabla 17, con el fin de observar las desviaciones cuadráticas medias de las gráficas anteriores de la Figura 14, en términos cuantitativos.

Tabla 17. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 ns con 2UWX en Amber.

Ligando	RMSD Receptor promedio	RMSD Receptor máximo	RMSD Ligando promedio	RMSD Ligando máximo	RMSD Ligando alineado promedio	RMSD Ligando alineado máximo
Lig1	1.563	2.444	2.351	5.268	1.172	1.794
Lig2	2.404	3.642	11.027	24.152	0.897	1.444
Lig3	1.698	2.650	13.105	24.226	0.782	1.367
Lig4	2.509	4.024	2.795	5.279	0.807	1.389
Lig5	1.662	2.761	2.105	5.466	0.619	1.299
Lig6	1.888	2.546	2.779	6.814	1.202	2.503
Lig7	1.735	2.885	4.181	8.134	1.719	3.712
Lig9	1.475	2.164	1.678	3.156	1.012	2.038

En la Figura 14a y la Tabla 17, se puede observar que las RMSD del receptor son similares en estabilidad, siendo los valores promedio entre 1.5 a 2.5 Å. Para la RMSD del ligando respecto al receptor, como se observa en la Figura 14b, los ligandos **Lig9**, **Lig1**, **Lig4**, **Lig5** y **Lig6** presentan una mejor estabilidad que el resto, lo cual se comprueba con la Tabla 17, donde dichos ligandos presentan valores promedio entre 1.7 a 2.8 Å. Por otro lado, para la Figura 14c, del RMSD del ligando alineado a sí mismo, se observa que la estabilidad de todos los ligandos es similar excepto el **Lig7**, el cual tiene un valor promedio de 1.7 Å.

Con relación a los resultados de las energías de unión con MMPBSA y MMGBSA determinadas para la trayectoria en Amber y la trayectoria minimizada en LAMMPS se obtuvo la Tabla 18.

Tabla 18. Energías libres de unión (kcal/mol) con MMGBSA y MMPBSA de los ligandos frente al receptor 2UWX durante la trayectoria de 100 ns en los programas de Amber y LAMMPS.

Ligandos	En Amber		En LAMMPS	
	ΔG_{MMGBSA}	ΔG_{MMPBSA}	ΔG_{MMGBSA}	ΔG_{MMPBSA}
Lig1	-21.17	-2.70	-27.67	-9.03
Lig2	-33.23	-5.97	-35.82	-8.44
Lig3	-20.84	-3.52	-23.97	-9.05
Lig4	-38.39	-4.30	-42.91	-7.70
Lig5	-30.77	-1.89	-30.02	-1.08
Lig6	-42.85	-5.68	-43.51	-11.19
Lig7	-41.40	-2.76	-42.91	-6.62
Lig9	-49.44	-6.65	-55.09	-17.19

De acuerdo con la Tabla 18 se observa que el **Lig9** es el que presenta la mejor energía libre de unión tanto para las trayectorias de Amber como de Lammps, así como, con los dos

métodos empleados, es decir, MMPBSA y MMGBSA. No obstante, el **Lig6** es el siguiente que presenta la mejor energía libre de unión calculada con MMGBSA en Amber y MMGBSA y MMPBSA en Lammmps, y el **Lig2** es el que presenta la segunda mejor energía libre de unión con MMPBSA en la trayectoria de Amber. Gracias a lo anterior, se considera que el **Lig6** es una buena propuesta para la posible inhibición de este receptor.

7.2.3 Dinámicas moleculares de ligandos **Lig1** al **Lig8** frente al receptor 5M19

7.2.3.1 Dinámica molecular realizada en NAMD

Para evaluar las simulaciones de dinámica molecular, se obtuvieron los valores de las RMSD de la proteína, del ligando respecto a la proteína y del ligando respecto a sí mismo. De esta manera, para la producción de 50 ns de la trayectoria de NAMD se obtuvieron las gráficas de las RMSD que se presentan en la Figura 15.

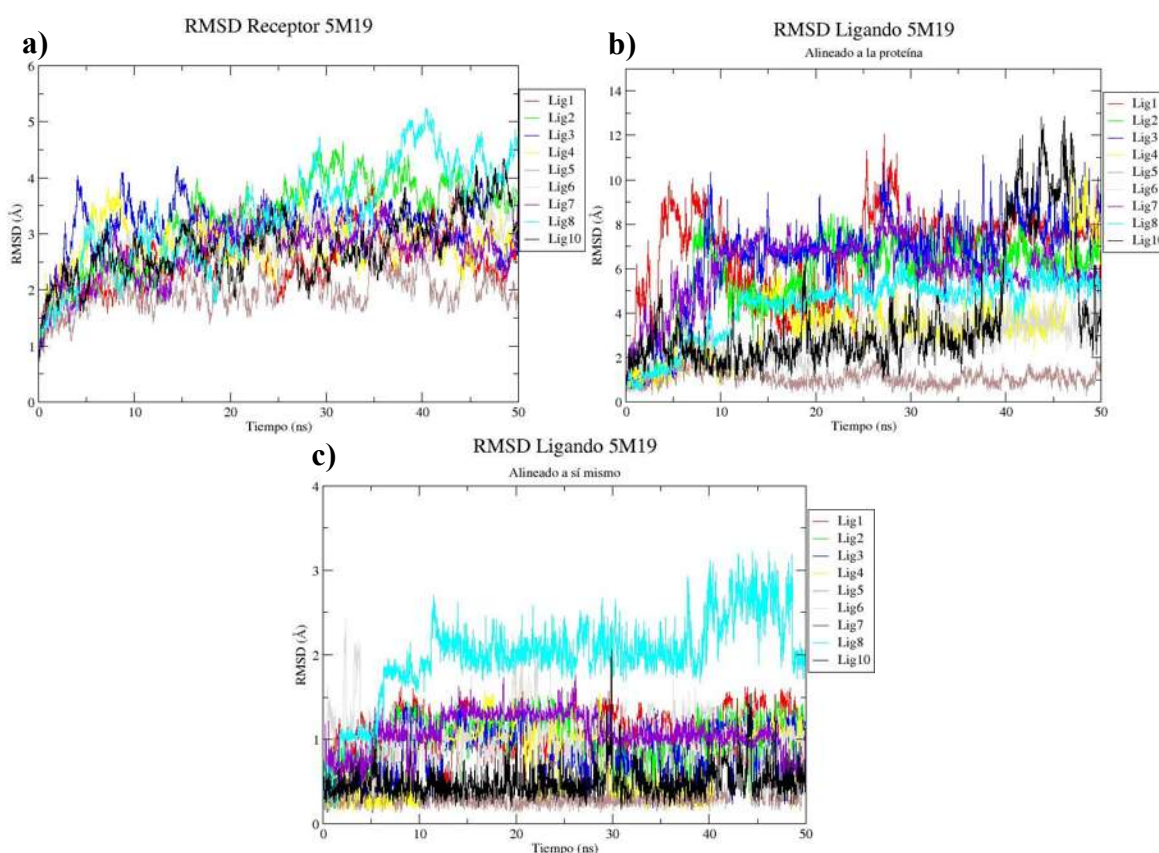


Figura 15. RMSD (Å), a) del receptor; b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 5M19 analizado durante 50 ns en NAMD.

Asimismo, se obtuvo la Tabla 19 basada en las desviaciones cuadráticas medias de las gráficas anteriores de la Figura 15, en términos cuantitativos.

Tabla 19. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 50 ns con 5M19 en NAMD.

Ligando	RMSD Receptor promedio	RMSD Receptor máximo	RMSD Ligando promedio	RMSD Ligando máximo	RMSD Ligando alineado promedio	RMSD Ligando alineado máximo
Lig1	2.567	3.896	6.71	12.06	1.074	1.618
Lig2	3.243	4.641	5.65	8.491	1.009	1.531
Lig3	3.101	4.203	6.463	11.1	0.834	1.437
Lig4	2.781	3.907	3.335	10.792	0.715	1.601
Lig5	2.006	3.281	1.083	2.306	0.388	1.335
Lig6	2.806	4.257	2.845	6.402	1.059	2.411
Lig7	2.678	3.713	5.993	9.473	1.062	1.755
Lig8	3.326	5.247	4.319	6.771	1.983	3.223
Lig10	2.758	4.342	3.753	12.873	0.491	2.061

A partir de la Figura 15a y la Tabla 19 se puede determinar que la RMSD que presenta el receptor en todos los complejos formados es similar ya que el valor promedio de la misma varía entre 2.0 y 3.3 Å. Con respecto a la RMSD del ligando respecto a la proteína, en la Figura 15b, se observa que el ligando que presenta una mayor estabilidad es el **Lig5** (línea color café), después los **Lig2**, **Lig6** y **Lig8**, debido a que presentan menos fluctuaciones como se puede corroborar con la Tabla 19. Por otro lado, en la Figura 15c, la RMSD del ligando alineado a sí mismo, representa el movimiento que tiene el ligando respecto a su conformación inicial, donde se observa que el promedio de todos los ligandos es menor de 2.0 Å; sin embargo, el **Lig8** presenta la mayor desviación respecto a su conformación inicial.

Con relación a las interacciones por puentes de hidrógeno que presentan los ligandos con el receptor durante los 50 ns, se muestran en la Tabla 20 aquellas con un porcentaje superior al 5%.

Tabla 20. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 50 ns con 5M19 en NAMD.

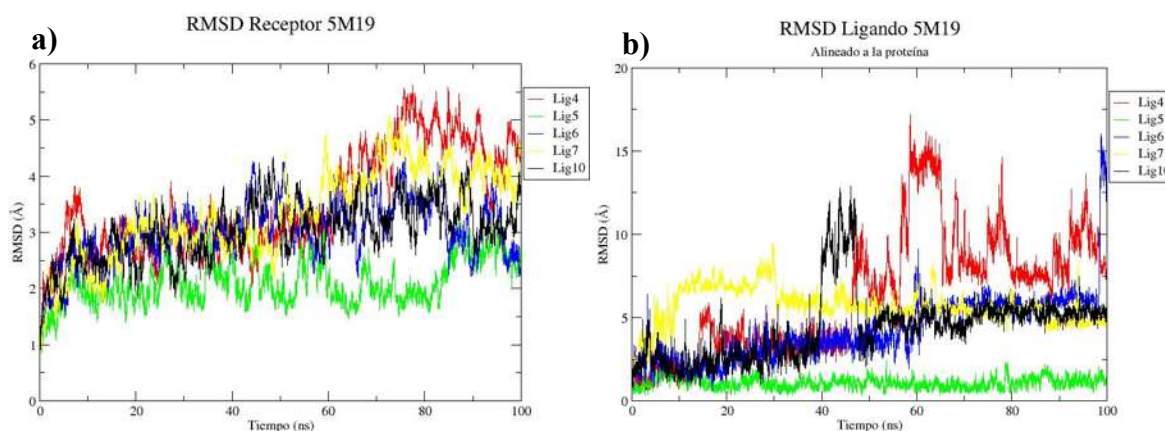
Ligando	Puentes de hidrógeno con aminoácidos de interés			Otros puentes de hidrógeno		
	Donador*	Aceptor*	% de ocupación	Donador*	Aceptor*	% de ocupación
Lig1	THR600-M	LIG-S	17.84	--		
Lig2	LIG-S	THR600-S	8.80	--		
	GLN521-S	LIG-S	5.56			
	LIG-S	GLU602-S	9.56			
Lig3	LIG-M	TYR519-M	7.52	LIG-S	HSD583-S	5.56
	LYS406-S	LIG-M	5.80	--		
	LIG-M	SER462-M	13.28			

Lig4	TYR446-M	LIG-M	55.16	GLU447-M	LIG-M	11.52
	ASN464-S	LIG-S	6.64	LIG-M	GLU447-S	7.28
Lig5	ASN464-S	LIG-S	66.28	ALA642-M	LIG-S	27.68
	LIG-M	THR600-S	76.68	--		
	TYR446-M	LIG-S	26.16			
	ASN464-M	LIG-S	8.60			
Lig6	TYR446-M	LIG-S	83.96	ARG445-M	LIG-S	18.84
	ASN464-S	LIG-S	15.12	THR444-S	LIG-S	7.12
Lig7	--			LYS430-S	LIG-S	8.76
				GLN613-S	LIG-S	10.80
Lig8	LYS406-S	LIG-M	98.60	LYS604-S	LIG-S	6.52
	LYS406-S	LIG-S	35.16	LYS430-S	LIG-S	15.36
	SER403-S	LIG-S	31.88	--		
	SER403-S	LIG-M	88.96			
	LIG-S	SER403-S	7.00			
Lig10	LIG-S	GLU602-S	5.76	--		

*M es principal (por main en inglés) y S es lado (por side en inglés).

En correspondencia con la Tabla 20, se observa que el ligando que presenta más interacciones por puentes de hidrógeno es el **Lig8** con siete interacciones, seguido del **Lig5** con cinco interacciones y con cuatro interacciones se encuentran los **Lig3**, **Lig4** y **Lig6**. A pesar de lo anterior, los **Lig8** y **Lig5** cuentan con dos interacciones superiores al 50% y los **Lig4** y **Lig6** con una interacción superior al 50%.

A partir de las simulaciones observadas, se consideró que los **Lig5** y **Lig6** presentaban una mayor estabilidad dentro del sitio catalítico; el **Lig4** tenía una buena estabilidad con excepción de los últimos 5 ns de la trayectoria y los **Lig7** y **Lig10** tienen varias fluctuaciones al inicio; sin embargo, se espera que se estabilicen al aumentar el tiempo de simulación. Por esa razón, se realizaron las simulaciones de dinámica molecular con NAMD durante 100 ns para los ligandos: **Lig4**, **Lig5**, **Lig6**, **Lig7** y **Lig10**, observando las RMSD de la proteína, del ligando respecto a la proteína y del ligando alineado a sí mismo que se presentan en la Figura 16.



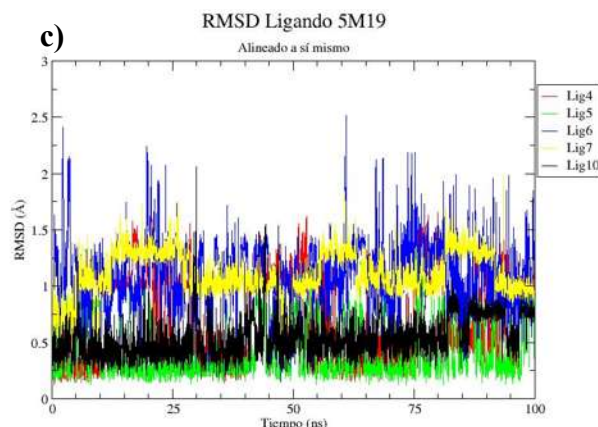


Figura 16. RMSD (Å), a) del receptor; b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 5M19 analizado durante 100 ns en NAMD.

Asimismo, se obtuvo la Tabla 21 basada en las desviaciones cuadráticas medias de las gráficas anteriores de la Figura 16, en términos cuantitativos.

Tabla 21. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor; del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 ns con 5M19 en NAMD.

Ligando	RMSD Receptor promedio	RMSD Receptor máximo	RMSD Ligando promedio	RMSD Ligando máximo	RMSD Ligando alineado promedio	RMSD Ligando alineado máximo
Lig4	3.476	5.613	6.303	17.198	0.697	1.654
Lig5	2.106	3.364	1.085	2.418	0.421	1.415
Lig6	3.011	4.328	4.269	16.003	1.081	2.516
Lig7	3.327	5.079	5.673	9.473	1.099	1.992
Lig10	3.014	4.342	4.388	12.873	0.543	2.061

De acuerdo con la Figura 16 y la Tabla 21, respecto a la RMSD de la proteína se observa que el receptor del **Lig5** presenta menos fluctuaciones seguido de los receptores de los **Lig10**, **Lig6** y **Lig7**; sin embargo, el **Lig4** es el que presenta mayores variaciones. En relación a la RMSD del ligando alineado a la proteína se observa que el **Lig5** (línea color verde) se encuentra mucho más estable durante los 100 ns, el **Lig10** y el **Lig7** se aprecian más estables después de los 50 ns, el **Lig6** se observa que se encuentra estable durante casi toda la trayectoria y el **Lig4** se desestabiliza después de los 45 ns. Por otro lado, la RMSD del ligando alineado a sí mismo muestra que el **Lig5** presentó menos variaciones respecto a su pose inicial.

En relación a las interacciones por puentes de hidrógeno que presentan los ligandos con el receptor durante los 100 ns, se muestran en la Tabla 22 aquellas con un porcentaje superior al 5%.

Tabla 22. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 100 ns con 5M19 en NAMD.

Ligando	Puentes de hidrógeno con aminoácidos de interés			Otros puentes de hidrógeno		
	Donador*	Aceptor*	% de ocupación	Donador*	Aceptor*	% de ocupación
Lig4	TYR446-M	LIG-M	27.58	GLU447-M	LIG-M	5.76
Lig5	ASN464-S	LIG-S	65.86	ALA642-M	LIG-S	24.24
	LIG-M	THR600-S	78.04	--		
	TYR446-M	LIG-S	37.36			
	ASN464-M	LIG-S	5.16			
Lig6	TYR446-M	LIG-S	50.78	ARG445-M	LIG-S	10.70
	ASN464-S	LIG-S	14.44	THR444-S	LIG-S	5.72
Lig7	--			GLN613-S	LIG-S	5.58
Lig10	LIG-S	GLU602-S	42.88	GLN613-S	LIG-S	17.56
	THR600-S	LIG-S	9.48	--		
	THR600-M	LIG-S	5.58			
	GLU602-M	LIG-S	6.18			

*M es principal (por main en inglés) y S es lado (por side en inglés).

A partir de la Tabla 22, se observa que los **Lig5** y **Lig10** son los que presentan una mayor cantidad de interacciones por puentes de hidrógeno con un total de cinco, donde el **Lig5** tiene dos interacciones mayores al 50% con Thr600 y Asn464; por su parte, el otro ligando que presenta una interacción superior es el **Lig6** con la Tyr446; mientras que, el resto de los ligandos presentan pocas interacciones o menores al 50%.

Posteriormente, se determinó la energía libre de unión con MMGBSA para los ligandos simulados durante 100 ns, realizando únicamente el cálculo de la energía durante los últimos 50 ns, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 23.

Tabla 23. Energías libres de unión (kcal/mol) con MMGBSA de ligandos frente al receptor durante los últimos 50 ns de la trayectoria de 100 ns con 5M19 en NAMD.

Ligando	ΔG_{MMGBSA}
Lig4	-10.92
Lig5	-30.05
Lig6	-17.13
Lig7	-18.83
Lig10	-26.07

En la Tabla 23 se presentan las energías libres de unión calculadas con el método MMGBSA, donde se observa que el **Lig5** tiene una energía más negativa y por tanto mejor que la energía del **Lig10**; en cambio, los **Lig6** y **Lig7** presentan una energía similar pero

mayor al **Lig10**, mientras que el **Lig4** presenta la energía menos negativa probablemente debido a que tuvo varias fluctuaciones y no se estabilizó durante la trayectoria.

7.2.3.2 Dinámica molecular realizada en Amber

Para evaluar las simulaciones de dinámica molecular, se obtuvieron los valores de la RMSD de la proteína, del ligando respecto a la proteína y del ligando respecto a sí mismo, para la producción de 100 ns, obteniendo las gráficas que se presentan en la Figura 17.

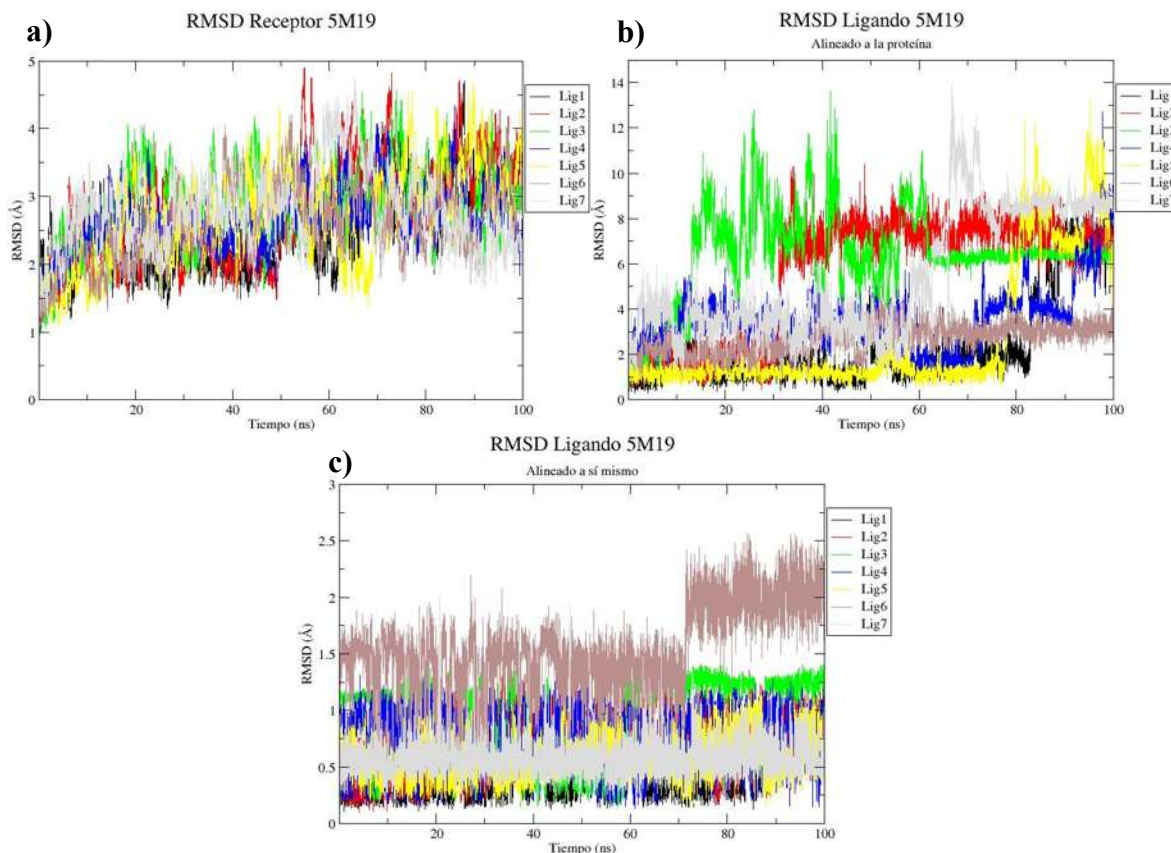


Figura 17. RMSD (Å), a) del receptor; b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 5M19 analizado durante 100 ns en Amber.

Adicionalmente, se construyó la Tabla 24, con el fin de observar las desviaciones cuadráticas medias de las gráficas anteriores de la Figura 17, en términos cuantitativos.

En la Figura 17a y la Tabla 24, se puede observar que por lo general el receptor se estabiliza de manera similar y el promedio de la RMSD de los receptores en todos los complejos está entre 2.5 a 2.8 Å. Con respecto a la Figura 17b, se observa que en los primeros 10 ns se encuentran más estables los ligandos frente a la proteína; sin embargo, conforme transcurre la trayectoria se percibe que se desestabilizan teniendo grandes fluctuaciones, por lo cual, el ligando que se observa más estable es el **Lig6** (línea color café), donde durante los 100 ns se encuentra con menos variaciones; por su parte los ligandos **Lig1** y **Lig5** presentan

también poca variación; sin embargo, después de los 75 ns se observa que tienen una gran fluctuación, donde para el **Lig5** se debe a una rotación del mismo en el sitio. Asimismo, en la Tabla 24 se observa que el valor más pequeño de RMSD máximo para el ligando respecto a la proteína lo tiene el **Lig6**. En la Figura 17c y Tabla 24, se presenta la RMSD del ligando alineado a sí mismo, donde se observa que todos los ligandos tienen pequeñas variaciones e incluso su valor promedio es menor a 1.5 Å.

Tabla 24. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 ns con 5M19 en Amber.

Ligando	RMSD Receptor	RMSD Receptor	RMSD Ligando	RMSD Ligando	RMSD Ligando alineado	RMSD Ligando alineado
	promedio	máximo	promedio	máximo	promedio	máximo
Lig1	2.492	4.710	2.410	8.966	0.438	0.956
Lig2	2.760	4.903	5.601	10.419	0.788	1.372
Lig3	2.847	4.565	6.346	13.636	0.948	1.426
Lig4	2.671	4.344	3.544	12.729	0.793	1.314
Lig5	2.721	4.679	2.682	13.228	0.603	1.168
Lig6	2.598	4.205	2.698	4.974	1.540	2.561
Lig7	2.778	4.734	5.445	13.981	0.583	1.999

Con relación a los resultados de las energías de unión con MMPBSA y MMGBSA determinadas para la trayectoria en Amber y la trayectoria minimizada en LAMMPS se obtuvo la Tabla 25.

Tabla 25. Energías libres de unión (kcal/mol) con MMGBSA y MMPBSA de los ligandos frente al receptor 5M19 durante la trayectoria de 100 ns en los programas de Amber y LAMMPS.

Ligandos	En Amber		En LAMMPS	
	ΔG_{MMGBSA}	ΔG_{MMPBSA}	ΔG_{MMGBSA}	ΔG_{MMPBSA}
Lig1	-34.32	-1.80	-32.61	-5.47
Lig2	-31.30	-2.91	-32.53	-5.71
Lig3	-27.18	-6.54	-28.60	-10.92
Lig4	-31.18	0.19	-32.02	-2.03
Lig5	-34.43	-4.71	-37.34	-6.77
Lig6	-35.78	-3.76	-37.31	-5.76
Lig7	-35.80	-2.71	-23.12	-0.73

De acuerdo con la Tabla 25 se observa que en la trayectoria de 100 ns llevada a cabo en Amber, los ligandos que presentaron una mejor energía libre de unión fueron los **Lig7**, **Lig6** y **Lig5** con el método MMGBSA; en cambio, los **Lig3**, **Lig5** y **Lig6** presentaron una mejor energía con el método MMPBSA. Por otro lado, de acuerdo con la minimización llevada a cabo en LAMMPS se observa que los mejores ligandos fueron **Lig5**, **Lig6** y **Lig1**

para el método MMGBSA, en tanto que los mejores con el método MMPBSA fueron los ligandos **Lig3**, **Lig5** y **Lig6**. A partir de lo anterior, se deduce que los **Lig5** y **Lig6** son los que presentaron mejores energías libres de unión.

7.2.4 Dinámicas moleculares de ligandos **Lig1** al **Lig8** frente al receptor 7LO8

7.2.4.1 Dinámica molecular realizada en NAMD

Con el programa NAMD se realizaron las simulaciones de dinámica molecular, únicamente para las conformaciones de los ligandos que se encontraban interactuando en el acoplamiento molecular con los aminoácidos de interés. Para ello, se obtuvieron los valores de las RMSD de la proteína, del ligando respecto a la proteína y del ligando respecto a sí mismo, que se presentan en la Figura 18.

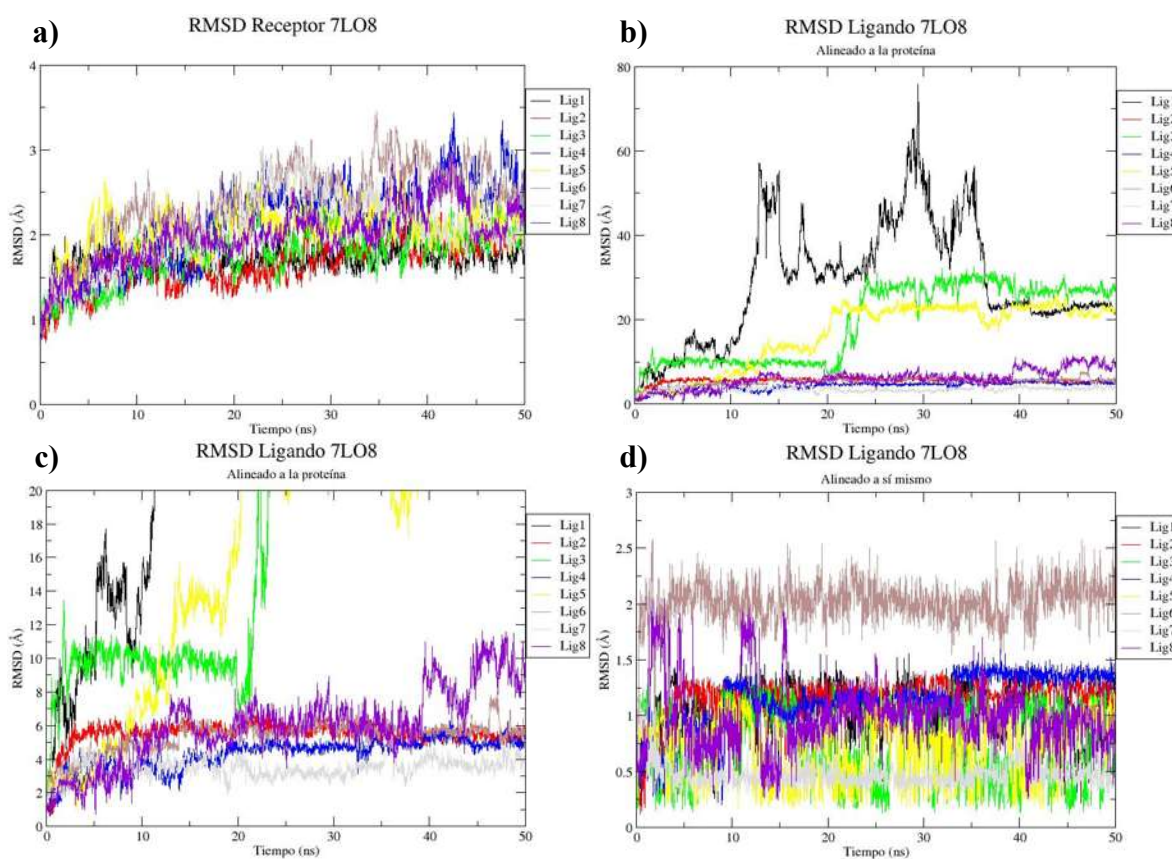


Figura 18. RMSD (Å), a) del receptor; b) del ligando respecto al receptor; c) del ligando respecto al receptor (acercamiento) y d) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 7LO8 analizado durante 50 ns en NAMD.

Asimismo, se obtuvo la Tabla 26 basada en las desviaciones cuadráticas medias de las gráficas anteriores de la Figura 18, en términos cuantitativos.

Tabla 26. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 50 ns con 7LO8 en NAMD.

Ligando	RMSD Receptor promedio	RMSD Receptor máximo	RMSD Ligando promedio	RMSD Ligando máximo	RMSD Ligando alineado promedio	RMSD Ligando alineado máximo
Lig1	1.716	2.502	28.736	75.799	1.038	1.558
Lig2	1.682	2.623	5.525	6.875	1.140	1.422
Lig3	1.779	2.630	19.337	32.477	0.745	1.475
Lig4	2.136	3.439	4.303	6.298	1.141	1.599
Lig5	2.047	2.764	16.486	26.345	0.733	1.268
Lig6	2.372	3.452	5.332	8.023	2.015	2.575
Lig7	2.029	3.055	3.475	5.867	0.483	1.338
Lig8	1.988	3.005	5.984	11.638	0.984	2.052

Con respecto a la Figura 18a y la Tabla 26 se puede observar que la RMSD del receptor en todos los complejos formados es similar, con valores promedio entre 1.7 a 2.4 Å. Por su parte, para la RMSD del ligando respecto a la proteína en la Figura 18b y 18c, se observa que los **Lig1**, **Lig3** y **Lig5** se desestabilizan debido a que no presentan suficientes interacciones para mantenerse en el receptor y se difunden. No obstante, el **Lig7** es el que presenta una mayor estabilidad con un valor promedio de 3.5 Å, seguido de los **Lig4**, **Lig6** y **Lig2** como se corrobora con la Tabla 26. Por otro lado, en la Figura 18d del RMSD del ligando alineado a sí mismo, se observa que el **Lig6** tiene el mayor valor debido a que cambia su conformación al inicio de la trayectoria, pero luego se estabiliza a lo largo de la simulación y el **Lig7** es el que presenta la menor desviación con un valor promedio de 0.483 Å.

En la Tabla 27, se muestran sólo aquellas interacciones por puentes de hidrógeno que presentan los ligandos con el receptor durante los 50 ns, con un porcentaje superior al 5%.

Tabla 27. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 50 ns con 7LO8 en NAMD.

Ligando	Donador*	Aceptor*	% de ocupación
Lig1	--		
Lig2	ARG310-S	LIG-S	6.24
	LIG-S	GLU222-S	38.68
Lig3	ASN137-S	LIG-S	6.68
	LIG-M	ASP307-S	9.64
	ASN137-S	LIG-M	8.64
Lig4	--		
Lig5	--		
Lig6	LIG-S	ASN137-S	8.64
Lig7	LIG-S	TYR235-S	6.96
Lig8	--		

*M es principal (por main en inglés) y S es lado (por side en inglés).

En la Tabla 27, se observa que en **Lig3** es el que presenta una mayor cantidad de interacciones; sin embargo, el **Lig2** es el que presenta un mayor porcentaje de ocupación en la interacción con Glu222. Es importante destacar que todos los ligandos tienen pocas o ninguna interacción con porcentajes mayores al 5% y solamente una interacción es mayor al 10%. Lo anterior se puede explicar debido a que las interacciones que presentan los ligandos probablemente sean en su mayoría de tipo hidrofóbicas, como se menciona en la literatura.

A partir de las RMSD, las interacciones por puentes de hidrógeno y las simulaciones observadas, se consideró que los **Lig2**, **Lig4**, **Lig6** y **Lig7** fueron los que presentaron una mayor estabilidad durante los primeros 50 ns, por lo cual se consideró ampliar su tiempo de producción hasta 100 ns y se obtuvieron las RMSD de la proteína, del ligando respecto a la proteína y del ligando respecto a sí mismo como se muestran en la Figura 19.

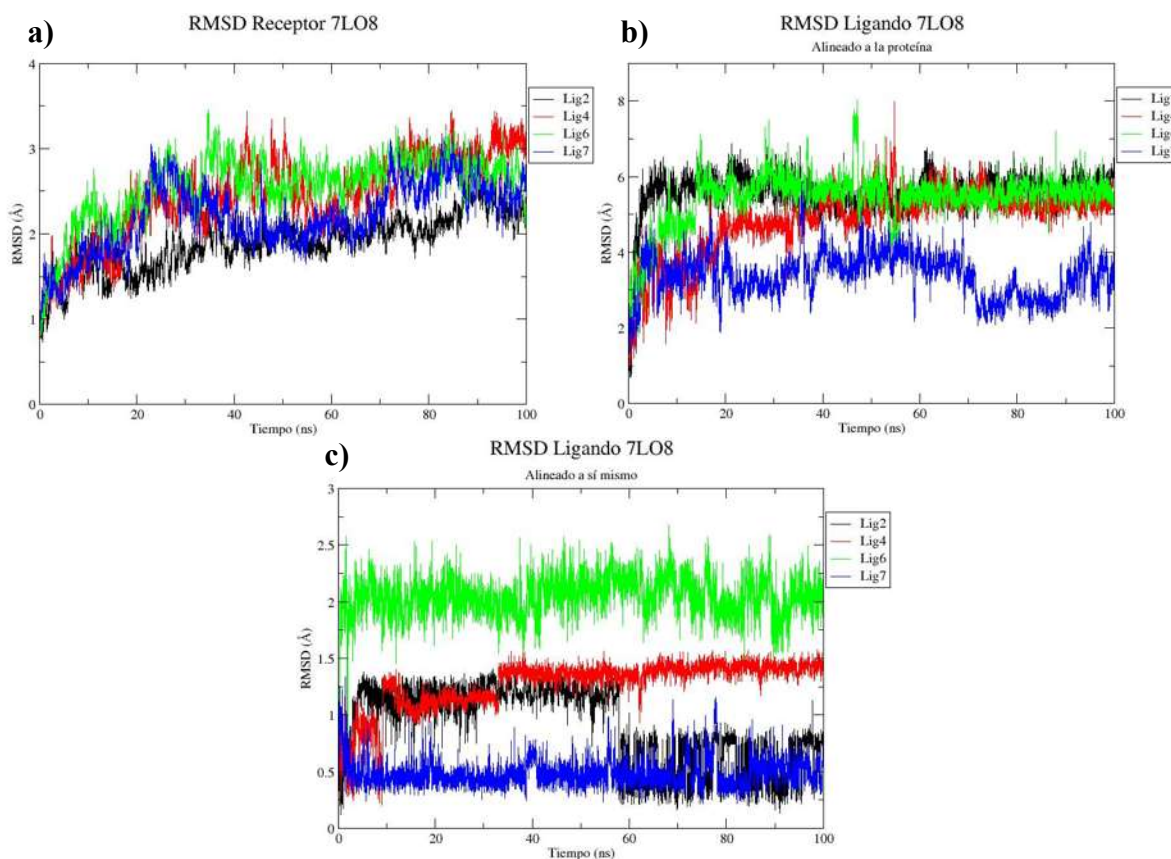


Figura 19. RMSD (Å), a) del receptor, b) del ligando respecto al receptor y c) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 7LO8 analizado durante 100 ns en NAMD.

Asimismo, se obtuvo la Tabla 28 basada en las desviaciones cuadráticas medias de las gráficas anteriores de la Figura 19, en términos cuantitativos.

Tabla 28. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 ns con 7LO8 en NAMD.

Ligando	RMSD Receptor promedio	RMSD Receptor máximo	RMSD Ligando promedio	RMSD Ligando máximo	RMSD Ligando alineado promedio	RMSD Ligando alineado máximo
Lig2	1.899	2.823	5.582	6.875	0.906	1.422
Lig4	2.430	3.447	4.848	7.997	1.269	1.599
Lig6	2.547	3.452	5.423	8.023	2.044	2.677
Lig7	2.202	3.172	3.390	5.867	0.489	1.338

En la Figura 19a se observa que las RMSD de los receptores en presencia de los diferentes ligandos son muy similares, comprobando con la Tabla 28 que los valores promedio de RMSD varían entre 1.9 a 2.5 Å. Con relación a la Figura 19b y la Tabla 28, para la RMSD del ligando respecto al receptor, se observa que el **Lig7** es el que presenta un menor valor de RMSD promedio, seguido del **Lig4**, el **Lig6** y el **Lig2**; sin embargo, se observa que todos se encuentran estables después de los 50 ns. Para la RMSD del ligando alineado a sí mismo, se observa en la Figura 19c, que el **Lig7** continúa siendo el más estable y en la Tabla 28 es el que presenta un menor valor y se mantiene más estable con respecto a su conformación inicial.

Adicionalmente, se determinaron las interacciones por puentes de hidrógeno para los 100 ns de simulación, obteniendo que solamente el **Lig2** obtuvo una interacción por puente de hidrógeno mayor al 5%, actuando el Lig-S como donador y el Glu222-S como aceptor con un 36.84% de ocupación. Lo anterior se deduce que es debido a que las interacciones hidrofóbicas son las que le dan la mayor estabilidad a los ligandos en la proteína. Posteriormente, se calculó la energía libre de unión con MMGBSA para los ligandos simulados durante 100 ns realizando únicamente el cálculo de la energía durante los últimos 50 ns y obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 29.

Tabla 29. Energías libres de unión (kcal/mol) con MMGBSA de ligandos frente a receptor durante los últimos 50 ns de la trayectoria de 100 ns con 7LO8 en NAMD.

Ligando	ΔG_{MMGBSA}
Lig2	-28.19
Lig4	-25.66
Lig6	-18.87
Lig7	-28.88

En la Tabla 29, se observa que la mejor energía la presenta el **Lig7**, seguido del **Lig2**, luego **Lig4** y finalmente el **Lig6**. Asimismo, el **Lig7** es el que se comprueba presenta buena estabilidad a lo largo de la trayectoria de simulación.

7.2.4.2 Dinámica molecular realizada en Amber

Asimismo, se realizaron las simulaciones de dinámica molecular con el programa Amber considerando la mejor conformación que interactúa con los aminoácidos de interés y la conformación que se encuentra más cercana a la parte media del canal. Para la conformación analizada, que interactúa con los aminoácidos de interés, se obtuvieron los valores de la RMSD de la proteína, del ligando respecto a la proteína y del ligando respecto a sí mismo mostrados en las gráficas de la Figura 20.

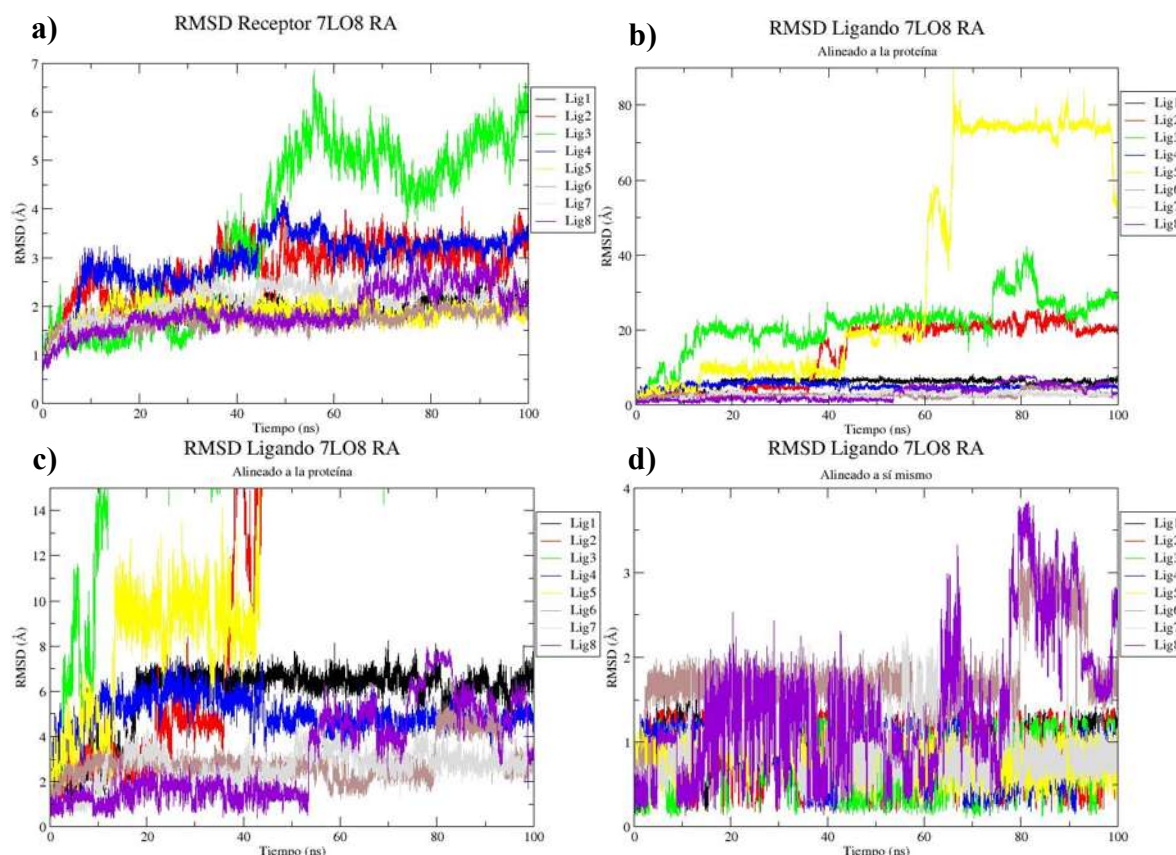


Figura 20. RMSD (Å), a) del receptor; b) del ligando respecto al receptor; c) del ligando respecto al receptor (acercamiento) y d) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 7LO8 RA analizado durante 100 ns en Amber.

Adicionalmente, se obtuvo la Tabla 30 basada en las desviaciones cuadráticas medias de las gráficas anteriores de la Figura 20, en términos cuantitativos.

De acuerdo con la Figura 20a y la Tabla 30, se observa que la RMSD del receptor es similar en la presencia de todos los ligandos excepto en la presencia de **Lig3**, donde presenta una RMSD máximo de 6.9 Å. Con relación al RMSD del ligando alineado al receptor en la Figura 20b y 20c, se observa que los **Lig1**, **Lig4**, **Lig6**, **Lig7** y **Lig8**, no se difunden y tienen una mayor estabilidad a lo largo de la mayor parte de la trayectoria, como se comprueba con la Tabla 30. Asimismo, se verifica en la Tabla 30, que **Lig6** y **Lig7** son los que tienen menor valor promedio de 2.8 y 2.6 Å, respectivamente. Mientras que, la RMSD del ligando alineado

a sí mismo, en la Tabla 30, se observa con valores promedio menores a 1.8 Å, siendo los ligandos con mayor desviación el **Lig6**, **Lig7** y **Lig8**, como se presenta en la Figura 20d.

Tabla 30. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor; del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 ns con 7LO8 RA en Amber.

Ligando	RMSD Receptor promedio	RMSD Receptor máximo	RMSD Ligando promedio	RMSD Ligando máximo	RMSD Ligando alineado promedio	RMSD Ligando alineado máximo
Lig1	1.894	2.661	5.733	8.244	1.093	1.547
Lig2	2.753	4.183	13.985	25.959	0.899	1.419
Lig3	3.620	6.856	21.569	42.358	0.784	1.376
Lig4	2.941	4.265	4.959	7.582	0.864	1.372
Lig5	1.862	2.694	34.640	89.814	0.834	1.284
Lig6	1.726	2.265	2.807	6.088	1.781	3.237
Lig7	2.120	2.708	2.596	5.425	0.904	2.558
Lig8	1.906	3.195	3.150	7.939	1.400	3.840

Por otro lado, se determinó las RMSD de la proteína, del ligando respecto a la proteína y del ligando respecto a sí mismo, para las conformaciones que se presentaron en la región central del canal, obteniendo los resultados que se presentan en la Figura 21.

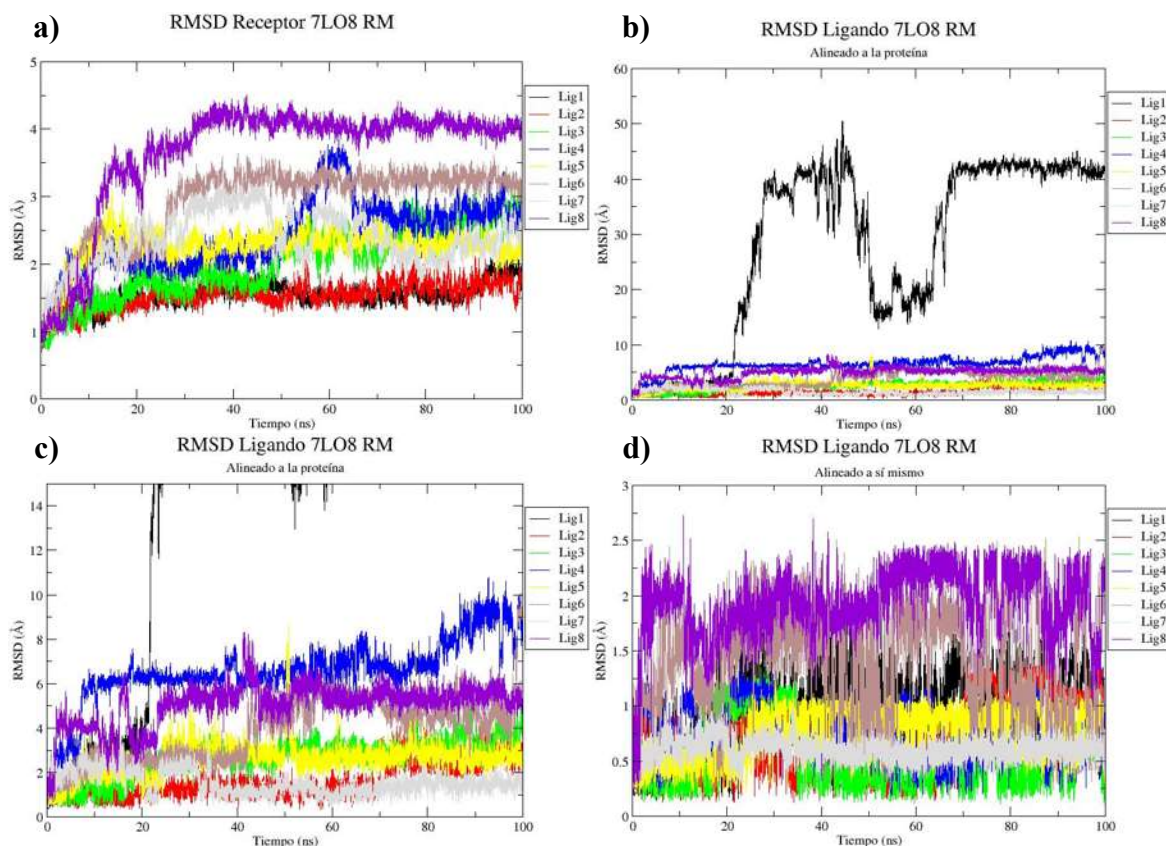


Figura 21. RMSD (Å), a) del receptor; b) del ligando respecto al receptor; c) del ligando respecto al receptor (acercamiento) y d) del ligando respecto a sí mismo en cada complejo con 7LO8 RM analizado durante 100 ns en Amber.

Asimismo, se obtuvo la Tabla 31 basada en las desviaciones cuadráticas medias de las gráficas anteriores de la Figura 21, en términos cuantitativos.

Tabla 31. RMSD promedio y máximo (Å) del receptor, del ligando respecto al receptor y del ligando alineado a sí mismo para los complejos formados durante los 100 ns con 7LO8 RM en Amber.

Ligando	RMSD Receptor promedio	RMSD Receptor máximo	RMSD Ligando promedio	RMSD Ligando máximo	RMSD Ligando alineado promedio	RMSD Ligando alineado máximo
Lig1	1.538	2.229	27.806	50.471	0.994	1.915
Lig2	1.533	2.180	1.609	5.748	0.776	1.383
Lig3	2.015	3.186	2.657	5.205	0.522	1.344
Lig4	2.410	3.847	6.553	10.786	0.771	1.344
Lig5	2.251	3.118	2.593	8.603	0.779	1.344
Lig6	2.910	3.645	3.903	9.693	1.401	2.533
Lig7	2.374	3.366	1.550	3.754	0.607	1.290
Lig8	3.646	4.512	5.035	8.313	1.938	2.725

Con respecto a la Figura 21a y la Tabla 31, se observa que el RMSD del receptor presenta un comportamiento similar en la presencia de los diferentes ligandos, teniendo valores promedio entre 1.5 a 2.9 Å, excepto para el **Lig8** donde tiene un valor de RMSD promedio de 3.6 Å. Para el RMSD del ligando alineando al receptor, en la Figura 21b y 21c, se observa que el **Lig1** es el que presenta la mayor desviación; mientras que, la mayor estabilidad la presentan el **Lig7**, **Lig2**, **Lig5** y **Lig3**, con valores de RMSD promedio presentados en la Tabla 31 de 1.6, 1.6, 2.6 y 2.7 Å, respectivamente. Por su parte, para la RMSD del ligando alineado a sí mismo, se observa en la Figura 21d, que todos los ligandos se encuentran estables al final de la trayectoria; sin embargo, exceptuando el **Lig6** y **Lig8**, los ligandos presentan un valor entre 0.5 y 1.0 Å.

Posteriormente, se determinaron las energías libres de unión con el método MMGBSA y MMPBSA para las simulaciones realizadas en Amber y para la minimización de energía llevada a cabo en Lammmps, obteniendo la Tabla 32.

De acuerdo con la Tabla 32, se observa que para las simulaciones en Amber, el ligando que presentó la mejor energía libre de unión con el modelo MMGBSA en la región de los aminoácidos clave fue el **Lig7**; mientras que, en la región media, fue el **Lig8**. Sin embargo, con el modelo MMPBSA se observa que el **Lig8** obtuvo la mejor energía libre de unión en la región de los aminoácidos de interés y el **Lig4** obtuvo la mejor energía libre de unión en la región media. Por otro lado, en las minimizaciones realizadas en Lammmps, con el fin de observar si la energía libre de unión mejoraba, con el modelo MMGBSA el **Lig6** obtuvo la mejor energía libre en la región de los aminoácidos de interés y el **Lig7** en la región

media. Mientras que, con el modelo MMPBSA el **Lig6** volvió a ser el mejor en la región de los aminoácidos clave y el **Lig4** en la región media.

Tabla 32. Energías libres de unión (kcal/mol) con MMGBSA y MMPBSA de los ligandos frente al receptor 7LO8 durante la trayectoria de 100 ns en los programas de Amber y LAMMPS.

Ligandos	Región	En Amber		En LAMMPS	
		ΔG_{MMGBSA}	ΔG_{MMPBSA}	ΔG_{MMGBSA}	ΔG_{MMPBSA}
Lig1	Región de aa claves	-22.20	1.82	-33.26	-0.97
	Región media	-27.19	0.31	-20.12	0.19
Lig2	Región de aa claves	-28.34	-5.60	-25.72	-4.48
	Región media	-28.63	-2.87	-26.09	-5.39
Lig3	Región de aa claves	-24.95	-4.18	-30.37	-11.01
	Región media	-25.40	1.13	-27.21	-6.42
Lig4	Región de aa claves	-26.75	0.20	-38.75	-10.47
	Región media	-37.41	-11.48	-37.39	-11.85
Lig5	Región de aa claves	-32.06	-3.43	-23.77	-9.13
	Región media	-33.85	-5.39	-34.99	-7.39
Lig6	Región de aa claves	-37.53	-1.79	-40.89	-12.94
	Región media	-34.52	-4.79	-37.09	-10.13
Lig7	Región de aa claves	-41.78	-3.36	-39.96	-3.07
	Región media	-37.78	-5.18	-40.55	-1.65
Lig8	Región de aa claves	-36.16	-7.93	-36.82	-9.31
	Región media	-38.75	-6.87	-39.90	-11.11

7.3 Análisis ADME y Farmacocinético

7.3.1 Análisis ADME en SwissADME

Los valores obtenidos en el análisis ADME realizado para todos los ligandos aza-heterociclos **Lig1** al **Lig8**, se presentan en la Tabla 33.

Tabla 33. Propiedades fisicoquímicas, lipofilicidad, solubilidad en agua, farmacocinética, semejanza con otros fármacos y química medicinal de los ligandos aza-heterociclos (**Lig1-Lig8**).

Ligando	Fórmula	Propiedades fisicoquímicas						Lipofilicidad	Solubilidad en agua		
		Peso molecular (g/mol)	Núm. enlaces rotables	Núm. aceptores de puentes de H	Núm. donadores de puentes de H	Refractividad molar	TPSA (Å²)		Log S (SILICOS-IT)	Solubilidad (mg/ml; mol/l)	Clase
Lig1	C16H18FN3O3	319.33	3	5	2	92.55	74.57	1.04	-3.7	6.31e-02 ; 1.98e-04	Soluble
Lig2	C14H10N2O2	238.24	2	2	1	72.56	61.61	1.88	-5.19	1.55e-03 ; 6.49e-06	Moderadamente soluble
Lig3	C15H12N2O	236.27	2	2	2	73.12	48.38	2.24	-5.33	1.12e-03 ; 4.73e-06	Moderadamente soluble
Lig4	C23H21NO	327.42	3	1	1	106.82	21.26	4.35	-8.54	9.40e-07 ; 2.87e-09	Poco soluble
Lig5	C15H17NO5	291.3	5	5	1	79.79	73.86	1.06	-3.68	6.09e-02 ; 2.09e-04	Soluble
Lig6	C23H20N2O2	356.42	6	3	1	109.26	46.61	3.29	-8.64	8.18e-07 ; 2.30e-09	Poco soluble
Lig7	C31H26N2O2	458.55	6	2	2	143.46	50.04	4.34	-12.25	2.60e-10 ; 5.66e-13	Insoluble
Lig8	C19H19CIN2OS	358.88	5	1	0	102.33	55.69	4.41	-5.96	3.98e-04 ; 1.11e-06	Moderadamente soluble

Ligando	Farmacocinética									Semejanza con otros fármacos		Química medicinal
	Absorción GI	Permeabilidad BBB	Sustrato P-gp	Inhibidor CYP1A2	Inhibidor CYP2C19	Inhibidor CYP2C9	Inhibidor CYP2D6	Inhibidor CYP3A4	Log Kp (cm/s)	Lipinski	Puntuación de biodisponibilidad	PAINS
Lig1	Alta	No	Sí	No	No	No	No	No	-8.98	Sí; 0 violaciones	0.55	0 alertas
Lig2	Alta	Sí	No	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	-5.24	Sí; 0 violaciones	0.55	0 alertas
Lig3	Alta	Sí	No	Sí	Sí	No	No	No	-5.31	Sí; 0 violaciones	0.55	0 alertas
Lig4	Alta	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	-4.53	Sí; 1 violación: MLOGP>4.15	0.55	0 alertas
Lig5	Alta	No	No	No	Sí	No	No	No	-6.57	Sí; 0 violaciones	0.55	0 alertas
Lig6	Alta	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	-4.77	Sí; 0 violaciones	0.55	0 alertas
Lig7	Baja	No	No	Sí	No	No	No	Sí	-3.87	Sí; 1 violación: MLOGP>4.15	0.55	0 alertas
Lig8	Alta	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	No	Sí	-5.12	Sí; 1 violación: MLOGP>4.15	0.55	0 alertas

Abreviaturas: TPSA=Área de superficie polar topológica, LogP_{o/w}=logaritmo del coeficiente de partición *n*-octanol/agua, Absorción GI=Absorción gastrointestinal, Permeabilidad BBB= permeabilidad de la barrera hematoencefálica, Sustrato P-gp=Sustrato de la glicoproteína P, CYP=Isoenzimas del citocromo p450 y Log Kp=Permeabilidad de la piel.

Se observa en la Tabla 33, que el **Lig7** tiene un mayor peso molecular, los **Lig6** y **Lig7** son los que presentan una mayor cantidad de enlaces rotables, los **Lig1** y **Lig5** son los que tienen una mayor cantidad de aceptores de puentes de H y los **Lig1**, **Lig3** y **Lig7** la mayor cantidad de donadores de puentes de H. Todos los ligandos exceptuando el **Lig7**, presentan un valor de refractividad molar dentro del rango ideal (40-130) y todos los ligandos cumplen con tener un valor de TPSA menor a 140 Å² y un valor de LogP menor a 5.

En relación a la solubilidad, los **Lig1** y **Lig5** son los más solubles y en la farmacocinética, se observa que todos los compuestos, excepto el **Lig7**, presentan una alta absorción gastrointestinal; en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica los **Lig1**, **Lig5** y **Lig7** no son permeables, mientras que el resto sí lo son; para sustratos de la glicoproteína P y para inhibidores del citocromo p450 se presentan una mayor variación, siendo inhibidores y/o sustratos; y en la permeabilidad de la piel se observa que todos tiene valores muy negativos siendo todos los compuestos poco permeables, dentro de ellos el más permeable es el **Lig7**.

Finalmente, para las reglas de Lipinski se observa que todos los compuestos cumplen con ella, a pesar de que los **Lig4**, **Lig7** y **Lig8** presentan una violación, lo cual es permitido; la puntuación de biodisponibilidad oral fue igual para todos los compuestos, cumpliendo para todos con ser mayor al 10% y ninguno de ellos presentó una alerta de PAINS de falsos positivos.

7.3.2 Análisis Farmacocinético mediante cálculos de QSAR

Para el análisis farmacocinético, se muestran en la Tabla 34, los resultados obtenidos sobre las propiedades antiinfeccioso y antibacterial (con valores posibles entre 0 a 1), de la base de datos PassOnline para los ligandos propuestos (Figura 1).

Tabla 34. Pa y Pi considerando la propiedad antiinfeccioso y antibacterial de los ligandos aza-heterociclos estudiados (Figura 1).

No.	Ligando	Compuesto CID en PubChem	Antiinfeccioso		Antibacterial	
			Pa	Pi	Pa	Pi
1	Lig1	4539	0.880	0.004	0.526	0.014
2	Lig2	280309	0.302	0.101	--	--
3	Lig3	--	0.353	0.067	0.229	0.095
4	Lig4	12752812	--	--	--	--
5	Lig5	72711082	--	--	--	--
6	Lig6	--	--	--	--	--
7	Lig7	--	--	--	--	--
8	Lig8	--	--	--	--	--

Nota: Los valores de antiinfeccioso y antibacterial se obtuvieron de la base de datos PassOnline.

Se observa que el **Lig1** presenta buenos valores de actividad tanto antiinfecciosa como antibacterial, el **Lig2** tiene un valor relativamente bueno para la propiedad antiinfecciosa y el **Lig3** presenta valores relativamente buenos para ambas propiedades, teniendo mejor actividad antiinfecciosa. Los demás valores no se lograron predecir con esta base de datos.

7.3.2.1 IC_{50} y pIC_{50} de compuestos conocidos

Para el análisis farmacocinético se enlistaron los valores IC_{50} y pIC_{50} de compuestos conocidos que se presentan en la Tabla 35.

Tabla 35. IC_{50} (nM) y pIC_{50} de compuestos conocidos.

No.	Nombre	Compuesto CID	IC_{50}	pIC_{50}	Valor obtenido del organismo
1	Lig1	4539	3500	5.46	<i>S. aureus</i> [143]
2	Lig2	280309	9000	5.05	<i>Homo sapiens</i> [144]
2	Oxacilina	6196	1245.52	5.90	<i>S. aureus</i> [145]
3	Penicilina G	5904	5980.86	5.22	<i>S. aureus</i> [146]
4	Mupirocina	446596	279.65	6.55	<i>S. aureus</i> [147]
5	Penicilina V	6869	1426.94	5.85	<i>S. pneumoniae</i> [148]

Nota: Los valores de IC_{50} fueron obtenidos de la base de datos ChEMBL y los valores de pIC_{50} fueron calculados en la plataforma Sanjeev's Lab.

Es importante resaltar que los valores obtenidos de la base de datos ChEMBL fueron rescatados de una lista de valores donde se tenían valores para diferentes organismos. Se deduce que la mupirocina es la que tiene un valor mayor de pIC_{50} que se traduce como tener una mayor potencia para inhibir a la bacteria. Asimismo, se aprecia en la tabla que, si se compara el **Lig1** y **Lig2**, los valores de la mitad de la concentración inhibitoria media máxima y de su logaritmo son mejores para el **Lig1** en comparación con el **Lig2**.

7.3.2.2 LogP de compuestos conocidos

Los valores del coeficiente de reparto *n*-octanol/agua (LogP) que representan la lipofilidad del ligando y su distribución en un sistema con los dos disolventes, se obtuvieron de la base de datos SwissADME para los compuestos conocidos y se utilizaron para el cálculo de QSAR, como se muestran en la Tabla 36.

Tabla 36. LogP de compuestos conocidos.

No.	Nombre	Compuesto CID	LogP
1	Lig1	4539	2.16
2	Lig2	280309	1.95
2	Oxacilina	6196	2.04
3	Penicilina G	5904	1.58
4	Mupirocina	446596	4.48
5	Penicilina V	6869	1.77

Nota: Los valores de LogP utilizados fueron los calculados con el método simple, robusto y eficiente conocido como iLogP [149].

Para realizar el análisis QSAR se utilizó como actividad biológica el pIC₅₀ y como descriptores, el valor de LogP y los valores de las energías de los orbitales frontera HOMO y LUMO, como se muestra en la Tabla 37.

Tabla 37. Actividad pIC₅₀ y Descriptores (LogP, Energía de HOMO (eV) y Energía de LUMO (eV)) de compuestos conocidos.

Nombre	Compuesto CID	Actividad	Descriptores		
		pIC ₅₀	LogP	E _{HOMO}	E _{LUMO}
Lig1	4539	5.46	2.16	-8.27	2.40
Lig2	280309	5.05	1.95	-7.78	1.72
Oxacilina	6196	5.9	2.04	-9.82	3.22
Penicilina G	5904	5.22	1.58	-10.00	3.66
Mupirocina	446596	6.55	4.48	-10.95	5.32
Penicilina V	6869	5.85	1.77	-10.10	3.56

A partir de los datos de las Tabla 37 y el programa de EasyQSAR se obtiene la ecuación para determinar los pIC₅₀ y los porcentajes de contribución de cada descriptor a la actividad, donde para que la ecuación sea buena descriptora se requiere que los porcentajes sean mayores al 50%, lo cual se observa que sí se cumple.

$$pIC_{50} = -1.779771286111 + 6.105874965750 \times 10^{-1} (LogP) + -9.455644056322 \times 10^{-1} (E_{HOMO}) + -8.881095608665 \times 10^{-1} (E_{LUMO}) \quad (Ec. 11)$$

$$(LogP) = 63.45\%$$

$$(E_{\text{HOMO}}) = 60.06\%$$

$$(E_{\text{LUMO}}) = 69.99\%$$

Posteriormente, se determinaron con la ecuación 11 los valores de pIC_{50} para las moléculas faltantes **Lig3** al **Lig8**, para el **Lig9** y para el fármaco de metilicina, obteniendo los valores que se muestran en la Tabla 38. Adicionalmente, se colocó en la Tabla 38 la propiedad de actividad antiinfecciosa que se predice para los compuestos analizados (con valores posibles entre 0 a 1); no obstante, no todos los valores se lograron predecir.

Tabla 38. Actividad antiinfecciosa (Pa), descriptores (LogP, Energía de HOMO (eV) y Energía de LUMO (eV)) y pIC_{50} calculado con la ecuación 11 y reportado en la literatura de compuestos conocidos, ligandos **Lig3** al **Lig8** y otros compuestos de interés.

No.	Compuesto	Anti-infecciosa	Test			pIC_{50} calculado	pIC_{50} reportado	% Error relativo
		(Pa)	LogP	E_{HOMO}	E_{LUMO}			
1	Lig1	0.880	2.16	-8.27	2.40	5.23	5.46	4.21
2	Lig2	0.302	1.95	-7.78	1.72	5.24	5.05	3.76
3	Oxacilina	0.925	2.04	-9.82	3.22	5.89	5.9	0.17
4	Penicilina G	0.618	1.58	-10.00	3.66	5.40	5.22	3.45
5	Mupirocina	--	4.48	-10.95	5.32	6.58	6.55	0.46
6	Penicilina V	0.658	1.77	-10.10	3.56	5.69	5.85	2.74
7	Lig3	0.353	3.43	-7.27	2.40	5.06		
8	Lig4	--	5.3	-7.13	3.08	5.46		
9	Lig5	--	2.12	-8.24	2.57	5.03		
10	Lig6	--	5.22	-7.24	2.27	6.24		
11	Lig7	--	7.36	-7.08	2.63	7.07		
12	Lig8	--	4.74	-8.36	3.26	6.12		
13	Lig9	--	2.63	-8.09	0.13	7.36		
14	Metilicina	0.611	1.72	-9.86	3.80	5.21	5.24	0.57

Es importante mencionar que los valores de LogP utilizados para los ligandos restantes fueron aquellos que se determinaron por el método de XlogP3 [150] debido a que los valores eran buenos y lógicos de acuerdo con los resultados. El valor de pIC_{50} obtenido para la metilicina con la ecuación es de 5.21, mientras que el valor procesado que se indica en las bases de datos ChEMBL y Sanjeev's Lab para el *S. aureus* es de 5.24 [151], lo cual demuestra que la ecuación predice buenos valores de pIC_{50} , muy cercanos a los reportados, teniendo un porcentaje de error relativo menor al 1%. En general, se obtuvieron buenos valores de pIC_{50} , siendo los mejores los del **Lig9** y el **Lig7**. También, se observa que la propiedad antiinfecciosa presenta una tendencia similar al pIC_{50} reportado por la literatura para la mayoría de los compuestos, puesto que la oxacilina es la que tiene un valor de actividad mayor y un valor de pIC_{50} más alto, después de la mupirocina, dentro de los

compuestos conocidos. Además, se determinó el porcentaje de error relativo con la ecuación 12 considerando los valores experimentales (valor real) como los valores de referencia reportados en las bases de datos, en donde se aprecia que todos los porcentajes de error son menores al 4.5%.

$$\%error_{relativo} = \frac{valor\ real - valor\ calculado}{valor\ real} \times 100 \quad (Ec. 12)$$

7.4 Análisis de la reactividad global y local intrínseca de los ligandos Lig1 al Lig8

7.4.1 Reactividad global de los ligandos Lig1 al Lig8

Los ligandos aza-heterociclos estudiados, presentan las siguientes propiedades de reactividad intrínseca global calculada con la Teoría de los Funcionales de la Densidad, que se presentan en la Tabla 39.

Tabla 39. Propiedades de reactividad intrínseca global (en eV) de cada uno de los ligandos **Lig1** al **Lig8**.

Ligando	<i>I</i>	<i>A</i>	μ	χ	η	<i>S</i>	ω
Lig1	7.552	0.459	-4.006	4.006	3.547	0.141	2.262
Lig2	7.768	1.009	-4.389	4.389	3.379	0.148	2.850
Lig3	7.222	0.331	-3.777	3.777	3.445	0.145	2.070
Lig4	6.729	0.015	-3.357	3.357	3.372	0.148	1.671
Lig5	8.027	1.714	-3.156	3.156	4.871	0.103	1.022
Lig6	6.946	0.397	-3.672	3.672	3.274	0.153	2.059
Lig7	6.654	0.323	-3.488	3.488	3.166	0.158	1.921
Lig8	7.148	0.052	-3.600	3.600	3.548	0.141	1.826

Se observa en la Tabla 39, para *I*, el **Lig7** es aquel que requiere suministrarle menos energía para arrancar el electrón, para μ , el **Lig5** es el que presenta una menor tendencia a que se escapen los electrones de él y una mayor *A* y para la χ , el **Lig2** es el que presenta un mayor valor debido a que atrae más fuertemente los electrones hacia su núcleo. Asimismo, el **Lig5** es el más duro y el **Lig7** el más blando. Para el ω , se observa que el **Lig5** es el menos electrofílico; mientras que el **Lig2**, tiene el mayor índice lo que se interpreta como ser más electrofílico.

Con relación a los mapas de potencial electrostático, se presentan en el Anexo II: Mapas de potencial electrostático de los ligandos **Lig1** al **Lig8**, observando que las regiones de color azul son aquellas deficientes de electrones y se consideran más propensas a donar un protón. Por otro lado, las regiones de color rojo son aquellas ricas en electrones que podrían actuar como aceptores de protones.

7.4.2 Reactividad local de los ligandos aza-heterociclos estudiados

7.4.2.1 Análisis de la principal o principales interacciones por puentes de hidrógeno entre el ligando con la mejor afinidad y posible inhibición y cada uno de los receptores

7.4.2.1.1 Lig6 analizado para el receptor 3NAW

A partir del análisis de los resultados de acoplamiento y dinámica molecular, se observa que el **Lig6** es aquel que presenta una mejor estabilidad y afinidad. Con el mapa de potencial electrostático de dicho ligando, se observa que las áreas de color rojo (regiones ricas en electrones) corresponden a los oxígenos de **Lig6**; por su parte, el área de color azul (deficiente de electrones) corresponde al hidrógeno unido al nitrógeno del indol que a su vez actúa como donador en las interacciones por puentes de hidrógeno de las simulaciones de dinámica molecular y los aminoácidos Ser604 y Leu775 actúan como aceptor. En la Figura 22, se observa las dos interacciones mayormente presentadas entre el hidrógeno unido al nitrógeno del indol del **Lig6** y los aminoácidos mencionados del receptor.

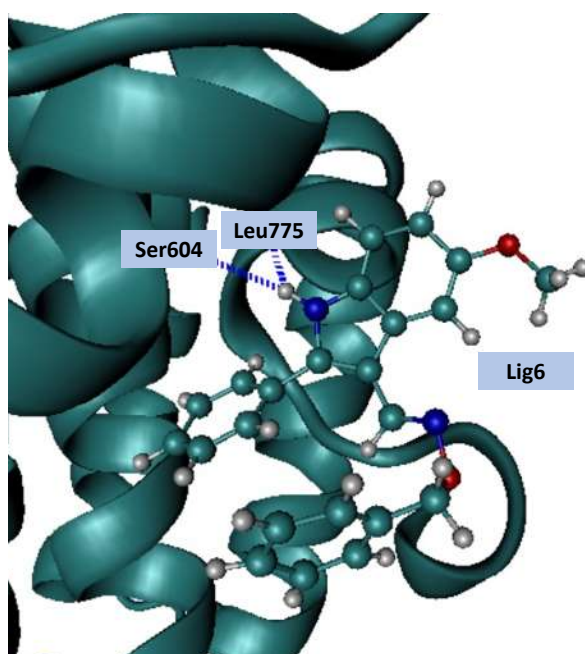


Figura 22. Captura de las interacciones entre el H unido al N del **Lig6** y el receptor 3NAW durante la simulación de Dinámica Molecular; actuando el H como donador (azul).

Asimismo, se presenta en la Figura 23, el valor de la función de Parr⁺ que tiene el hidrógeno participante en las interacciones por puentes de hidrógeno y como se comprueba en el Anexo III Funciones de Parr de los ligandos **Lig1** al **Lig8**, el **Lig6** tiene para ese hidrógeno un valor de Parr⁺ de 0.31, el cual es superior al resto de los hidrógenos que presentan valores entre 0.06 a 0.10 e^- .

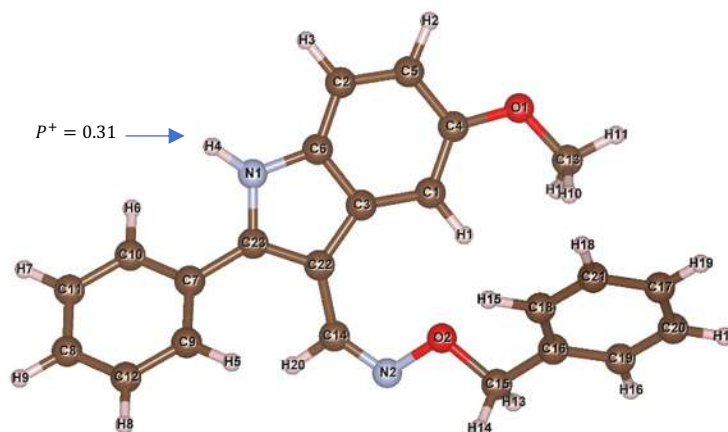


Figura 23. Estructura molecular del **Lig6** numerada para identificar los átomos y valor de la función de Parr⁺ para el H que interactúa en las simulaciones de Dinámica Molecular.

7.4.2.1.2 **Lig6** analizado para el receptor 2UWX

De acuerdo con los resultados de acoplamiento y dinámica molecular, se considera que el **Lig6** presenta una afinidad superior al resto de los ligandos. A partir del mapa de potencial electrostático del **Lig6**, se tienen las áreas de color rojo, es decir, las regiones ricas en electrones, las cuales corresponden a los átomos de oxígeno de **Lig6** y el área de color azul, es decir aquella deficiente de electrones, la cual corresponde el hidrógeno unido al nitrógeno del indol. En este caso, la Ser460 actúa como donador y el oxígeno de la oxima del **Lig6** actúa como aceptor. En la Figura 24, se observa la interacción por puente de hidrógeno entre el oxígeno del **Lig6** y el receptor.

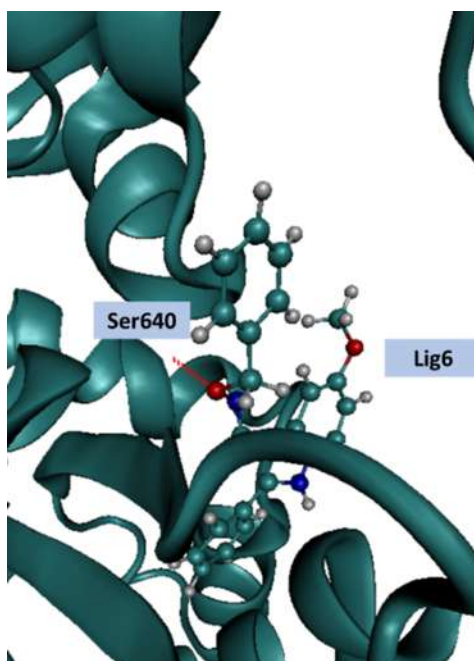


Figura 24. Captura de las interacciones entre el O de la oxima del **Lig6** y el receptor 2UWX durante la simulación de Dinámica Molecular, actuando el O como aceptor (rojo).

En la Figura 25, se presenta el valor de la función de Parr⁻ que tiene el oxígeno participante en las interacciones por puentes de hidrógeno y como se comprueba en el Anexo III, dicho oxígeno del **Lig6** presenta el valor de $0.09 e^-$. Este oxígeno participa mayormente que el otro en las interacciones debido a que es el que se encuentra más adentrado en la región del sitio activo.

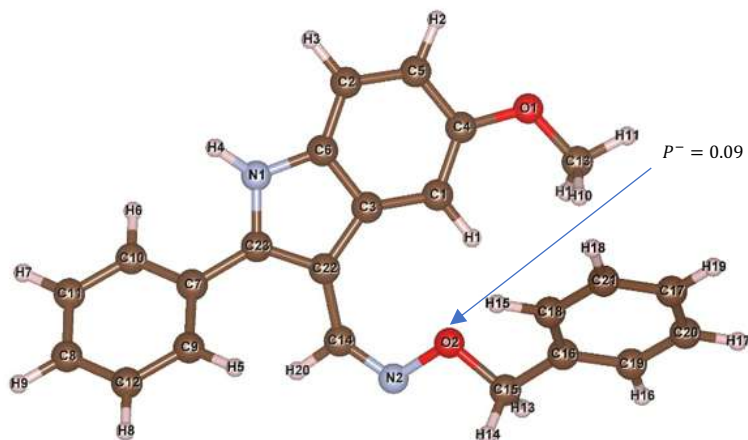


Figura 25. Estructura molecular del **Lig6** numerada para identificar los átomos y valor de la función de Parr⁻ para el O que interactúa en las simulaciones de Dinámica Molecular.

7.4.2.1.3 **Lig5** analizado para el receptor 5M19

Con base en el análisis de los resultados de acoplamiento y dinámica molecular, se considera que el **Lig5** presenta una buena afinidad y estabilidad. Por lo tanto, considerando el mapa de potencial electrostático del **Lig5**, se observan las áreas de color rojo (ricas en electrones), las cuales corresponden a los átomos de oxígeno de los grupos éster y éter y el área de color azul (deficiente de electrones), que corresponde al hidrógeno unido al nitrógeno de la quinolina y a los átomos de carbono de los carbonilos. Para este receptor, las interacciones principales se dan entre la Asn464 actuando como donador y el **Lig5** como aceptor y la Thr600 que actúa como aceptor y el **Lig5** como donador. En la Figura 26, se observa la interacción por puente de hidrógeno entre el oxígeno del carbonilo del éster y la Asn464 y el hidrógeno unido al nitrógeno del indol y la Thr600.

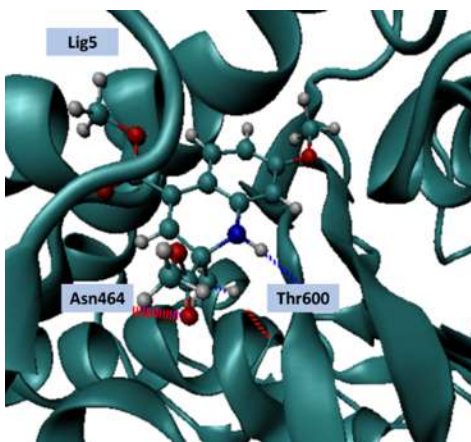


Figura 26. Captura de las interacciones entre el O del **Lig5** y el receptor 5M19 y el H del **Lig5** y el receptor 5M19 durante la simulación de Dinámica Molecular; actuando el O como aceptor (rojo) y el H como donador (azul).

Asimismo, se presenta en la Figura 27, el valor de la función de Parr⁺ y Parr⁻ que tiene el hidrógeno y el oxígeno del **Lig5** en las interacciones por puentes de hidrógeno y como se comprueba en el Anexo III, el **Lig5** tiene para ese hidrógeno un valor de Parr⁺ de 0.30, el cual es superior al resto de los hidrógenos que presentan valores entre 0.06 a 0.10 e^- ; mientras que, el oxígeno tiene un valor de Parr⁻ de 0.35, el cual es superior al resto de los oxígenos.

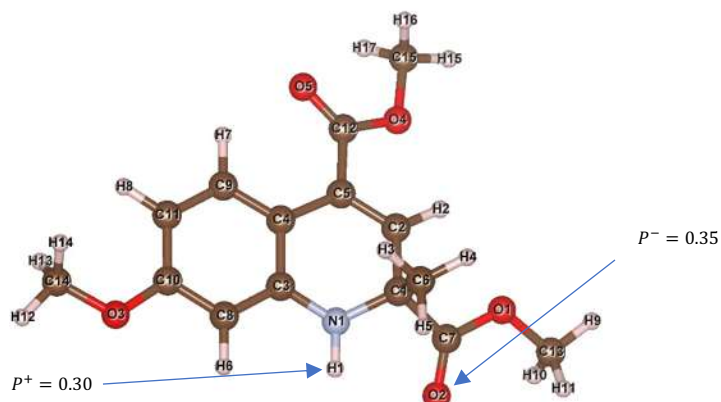


Figura 27. Estructura molecular del **Lig5** numerada para identificar los átomos y valor de la función de Parr⁺ para el H y Parr⁻ para el O que interactúa en las simulaciones de Dinámica Molecular.

7.4.2.1.4 **Lig7** analizado para el receptor 7LO8

De acuerdo con los resultados de acoplamiento y dinámica molecular, se considera que el ligando con la mejor afinidad es el **Lig7**, donde al revisar las simulaciones llevadas a cabo en los programas de NAMD y Amber, se observa que la región denotada con color azul en el mapa de potencial electrostático, corresponde a los hidrógenos que actuaron como donadores en las interacciones por puentes de hidrógeno durante la simulación y la región de color rojo corresponde a los átomos de oxígeno que actuaron como aceptores durante determinados momentos de las simulaciones de dinámica molecular. En la Figura 28, se muestra una captura de la simulación, donde se observa una línea azul punteada entre el hidrógeno del ligando que se encuentra unido al nitrógeno del indol y el Glu222 del receptor.

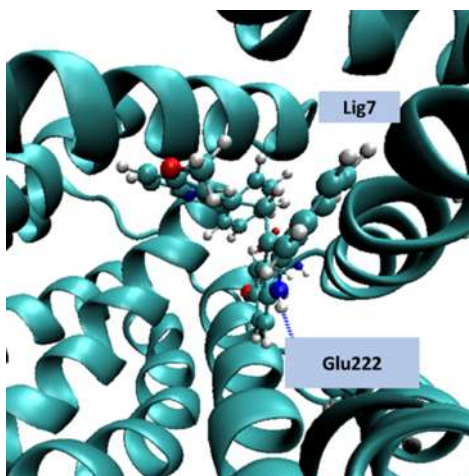


Figura 28. Captura de las interacciones entre el H unido al N del **Lig7** y el receptor 7LO8 durante la simulación de Dinámica Molecular, actuando el H como donador (azul).

Por otro lado, también se presenta en la Figura 29, el valor de la función de Parr⁺ que tiene el hidrógeno observado anteriormente y que interactúa con el receptor, en comparación con los hidrógenos unidos a los carbonos, se observa en el Anexo III para el **Lig7**, que todos los hidrógenos exceptuando el hidrógeno unido al otro nitrógeno del indol presentan valores mucho menores de aproximadamente 0.06 a 0.09 e^- .

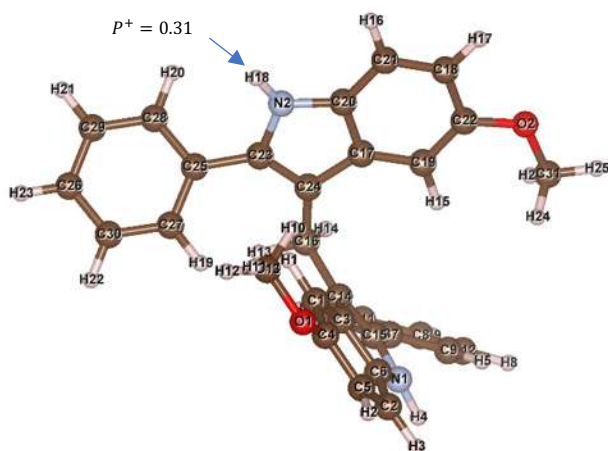


Figura 29. Estructura molecular del **Lig7** numerada para identificar los átomos y valor de la función de Parr⁺ para el H que interactúa en las simulaciones de Dinámica Molecular.

8. Conclusiones

Gracias al estudio *in silico* realizado, haciendo uso de la técnica de acoplamiento molecular con base en las interacciones presentadas y la energía de afinidad y la técnica de dinámica molecular determinando los valores de la desviación cuadrática media, la residencia de las interacciones por puentes de hidrógeno y las energías libres de unión calculadas con los métodos MMGBSA y MMPBSA, se logró evaluar la afinidad y estabilidad de los ligandos aza-heterociclos estudiados (Figura 1) frente a las distintas proteínas: proteína efectora NleL (3NAW), proteína de unión a la penicilina 1b (2UWX), proteína de unión a la penicilina 2a (5M19) y la bomba de eflujo NorA (7LO8).

Para la proteína efectora NleL del *E. coli*, se considera que el **Lig6** presentó buena afinidad e interacciones favorables en el sitio de inhibición 1, lo cual se comprobó con la simulación de dinámica molecular donde se observó una estabilidad buena en las RMSD y una muy buena energía libre de unión superior al resto de los ligandos analizados. Por otro lado, para el receptor PBP1b del *S. pneumoniae*, se observa que el **Lig9** presentó mejores resultados de afinidad en los cálculos de acoplamiento molecular que los ligandos analizados; sin embargo, en la simulación de dinámica molecular se observa que, tanto en estabilidad como en energía libre de unión, el **Lig6** es aquel que presentó los mejores resultados. Para la macromolécula PBP2a del SARM, se observa que, para los cálculos de acoplamiento molecular, se tuvieron buenos resultados similares para varios ligandos; por lo que, con las simulaciones de dinámica molecular se determinó que el **Lig5** y **Lig6** son aquellos que presentaron las mejores energías libres de unión y mejor estabilidad, siendo superior en estabilidad el **Lig5**. Por otra parte, para la bomba de eflujo NorA del SARM, se analizaron dos regiones posibles, donde en ambos casos, el **Lig7** presentó buenas interacciones y afinidad y una buena estabilidad a lo largo de la trayectoria.

A partir del análisis farmacocinético y ADME, se observa que todos los ligandos cumplen con las reglas de Lipinski y presentan una buena biodisponibilidad, así como buenas propiedades farmacocinéticas. Es importante destacar que el **Lig5** presenta una solubilidad muy similar al fármaco **Lig1** usado como referencia y que **Lig7** no presenta una absorción gastrointestinal alta a diferencia del resto de los ligandos. Adicionalmente, en relación al análisis QSAR realizado para la obtención del pIC₅₀, se observa que todos los ligandos presentan valores muy similares a los fármacos utilizados como referencia además de que el **Lig7** presenta un valor incluso superior a dichos fármacos, seguido por el **Lig6**.

Finalmente, en el análisis de la reactividad global y local intrínseca, se observa que el **Lig5** es el más duro y el **Lig7** el más blando, por lo que éste último se considera que reaccionará más fácil que una molécula dura. Asimismo, el **Lig2** tiene el mayor índice de electrofilicidad, por lo que se considera el ligando más electrofílico. Gracias al estudio realizado, se espera que los ligandos que presentaron la mejor afinidad por el receptor, sean candidatos a sustancias activas que puedan, después de diversas pruebas *in vitro* e *in vivo*, inhibir los receptores de dichos patógenos estudiados causantes de múltiples enfermedades.

9. Bibliografías

1. Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología. *Aplicaciones de la biotecnología*. Biotecnología y producción de antibióticos 2023; Disponible en: <https://www.argenbio.org/biotecnologia/aplicaciones-de-la-biotecnologia/174-biotecnologia-y-produccion-de-antibioticos>.
2. del Arco, J., Antibióticos: situación actual. *Farmacia Profesional*, 2014. **28**(5): p. 29-33.
3. Cámara de Argentina de Especialidades Medicinales. *Historias para recordar: los antibióticos*. 2022; Disponible en: <https://www.caeme.org.ar/historias-para-recordar-los-antibioticos/>.
4. Errecalde, J. O., Uso de antimicrobianos en animales de consumo, en *Incidencia del desarrollo de resistencias en la salud pública*. 2004, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación: Roma.
5. Belloso, W. H. Historia de los Antibióticos. *Revista del Hospital Italiano de Buenos Aires*, 2009. **29**, p. 102-111.
6. Ledermann, W., La tuberculosis después del descubrimiento de Koch, en *Revista chilena de infectología*. 2003: Chile. p. 48-50. DOI: 10.4067/S0716-10182003020200015
7. Mirador Salud. *La triste historia del descubrimiento de la estreptomicina*. Salud Pública 2012; Disponible en: <https://miradorsalud.com/la-triste-historia-del-descubrimiento-de-la-estreptomicina/>.
8. American Chemical Society. *Methicillin*. 2013; Disponible en: <https://www.acs.org/molecule-of-the-week/archive/m/methicillin.html>.
9. ELIXIR. *CHEBI:28971 - Ampicillin*. 2019; Disponible en: <https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?chebiId=28971>.
10. Martin N, G., Resistencia Bacteriana a β -lactámicos: Evolución y Mecanismos. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*. 2002. **21**: p. 107-116.
11. Rivas, K., Rivas, M., Dávila, E., y Rodríguez, M., Cefalosporinas. De la primera a la cuarta generación, en *Revista de la Facultad de Medicina* 2002: Caracas.
12. Oiseth, S., Jones, L., y Maza, E. *Cefalosporinas*. 2022; Disponible en: <https://www.lecturio.com/es/concepts/cefalosporinas/>.
13. Escuela Mexicana de Prescripción Médica S. de R. L. de C. V. *Trimetoprim sulfametoxazol*. 2018; Disponible en: <https://www.escueladeantibioticos.com/phone/trimetoprim.html>.
14. Universidad de Ankara. *Urinary anti-infectives and Fluoroquinolones*. Disponible en: https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/143110/mod_resource/content/0/UTI%20and%20fluoroquinolones.pdf.

15. Valencia, N. M. d. P. C. *Algo de historia: El desarrollo de las fluoroquinolonas en la medicina veterinaria*. 2023; Disponible en: <https://biotecno-v.com.co/algo-de-historia-el-desarrollo-de-las-fluoroquinolonas-en-la-medicina-veterinaria/>.
16. Kumar, K. M., Anbarasu, A., y Ramaiah, S., Molecular docking and molecular dynamics studies on β -lactamases and penicillin binding proteins. *Molecular BioSystems*, 2014. **10**(4): p. 891-900. DOI: 10.1039/C3MB70537D.
17. Boyce, J. M., Cookson, B., Christiansen, K., Hori, S., Vuopio-Varkila, J., y Kocagöz, S., *Meticillin-resistant Staphylococcus aureus*, en *The Lancet Infectious Disease*. 2005. p. 653-663. DOI: 10.1016/S1473-3099(05)70243-7.
18. Oromí Durich, J., Resistencia bacteriana a los antibióticos. *Medicina Integral*, 2000. **36**(10): p. 367-370.
19. Cavalieri, S. J., *Modos de Acción de los Antimicrobianos*, en *Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana*, M.B. Coyle, Editor. 2005. p. 2-13.
20. Camacho Silvas, L. A., [Bacterial resistance, a current crisis.]. *Revista Española de Salud Pública*, 2023. **97**: e202302013.
21. Kaiser, G., Transferencia Génica Horizontal en Bacterias. *Community College of Baltimore County (Cantonsville)*, 2023.
22. Bush, L. M. *Infecciones por Escherichia coli*. 2024; Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-bacterias-gramnegativas/infecciones-por-escherichia-coli>.
23. Organización Mundial de la Salud. *E. coli*. 2018; Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>.
24. Rodríguez-Angeles, G., Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública de México*, 2002. **44**(5): p. 464-475.
25. INSST. *Streptococcus pneumoniae*. 2022; Disponible en: <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/bacterias/streptococcus-pneumoniae>.
26. Bush, L. M. y Vazquez-Pertejo, M. T. *Infecciones por neumococos*. 2023; Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/cocos-grampositivos/infecciones-por-neumococos?ruleredirectid=757>.
27. Cervantes-García, E., García-González, R., y Salazar-Schettino, P. M., Características generales del *Staphylococcus aureus*, en *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*. 2014: México. p. 28-40.
28. Zendejas-Manzo, G. S., Avalos-Flores, H. C., y Soto-Padilla, M. Y., Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación, en *Revista Biomédica*. 2014, Universidad Autónoma de Yucatán: México. p. 129-143.
29. Maltezou, H. C. y Giamarellou, H., Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2006. **27**(2): p. 87-96. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2005.11.004.

30. Aguayo-Reyes, A., Quezada-Aguiluz, M., Mella, S., Riedel, G., Opazo-Capurro, A., Bello-Toledo, H., Domínguez, M., y González-Rocha, G., Bases moleculares de la resistencia a meticilina en *Staphylococcus aureus*. *Revista chilena de infectología*, 2018. **35**: p. 7-14. DOI: 10.4067/s0716-10182018000100007.
31. National Cancer Institute, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, en *National Cancer Institute*. 2024: National Institutes of Health.
32. Turner, N. A., Sharma-Kuinkel, B. K., Maskarinec, S. A., Eichenberger, E. M., Shah, P. P., Carugati, M., Holland, T. L., y Fowler, V. G., Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nature Reviews Microbiology*, 2019. **17**(4): p. 203-218. DOI: 10.1038/s41579-018-0147-4.
33. Lekshmi, M., Ammini, P., Adjei, J., Sanford, L. M., Shrestha, U., Kumar, S., y Varela, M. F., Modulation of antimicrobial efflux pumps of the major facilitator superfamily in *Staphylococcus aureus*, en *AIMS Microbiology*. 2018. p. 1-18. DOI: 10.3934/microbiol.2018.1.1.
34. Marchetti, M. L., Errecalde, J., y Mestorino, N., Resistencia bacteriana a los antimicrobianos ocasionada por bombas de eflujo. Impacto en la multiresistencia. *Analecta Veterinaria*, 2011. **31**(2): p. 40-53.
35. Saldivar-González, F., Prieto-Martínez, F. D., y Medina-Franco, J. L., Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. *Educación Química*, 2017. **28**(1): p. 51-58. DOI: 10.1016/j.eq.2016.06.002.
36. Bello, M., Desarrollo de nuevos fármacos por computadora, en *Revista Digital Universitaria UNAM*, 2021. **22**(6). DOI: 10.22201/cuaieed.16076079e.2021.22.6.5.
37. Morad, R., Akbari, M., y Maaza, M., Theoretical study of chemical reactivity descriptors of some repurposed drugs for COVID-19. *MRS Advances*, 2023. **8**(11): p. 656-660. DOI: 10.1557/s43580-023-00590-6.
38. Manzanilla, B. y Robles, J., Conceptual DFT Reactivity Descriptors Computational Study of Graphene and Derivatives Flakes: Doped Graphene, Graphane, Fluorographene, Graphene Oxide, Graphyne, and Graphdiyne. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 2020. **64**(3): p. 238-252.
39. Gómez-Herranz, A., *Simulaciones de Primeros Principios de la Adsorción/Disociación de Hidrógeno en Nanoaleaciones de Paladio*, en *Facultad de Ciencias*. 2020, Universidad de Valladolid.
40. Chattaraj, P. K., *Chemical Reactivity Theory: A Density Functional View*. 1st ed. 2009: CRC Press.
41. Chamorro, E., Pérez, P., y Domingo, L. R., On the nature of Parr functions to predict the most reactive sites along organic polar reactions. *Chemical Physics Letters*, 2013. **582**: p. 141-143. DOI: 10.1016/j.cplett.2013.07.020.
42. Morales-Palacios, F. G., Navarro-Santos, P., Beiza-Granados, L., Rivera, J. L., García-Gutiérrez, H. A., y Herrera-Bucio, R., Conjugate addition between syringol and a captodative olefin catalyzed by BF₃. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 2019. **32**(12): p. e4011. DOI: 10.1002/poc.4011.

-
43. Domingo, L. R., Pérez, P., y Sáez, J. A., Understanding the local reactivity in polar organic reactions through electrophilic and nucleophilic Parr functions. *RSC Advances*, 2013. **3**(5): p. 1486-1494. DOI: 10.1039/C2RA22886F.
 44. López, J. M., Ensuncho, A. E., y Robles, J. R., Descriptores globales y locales de la reactividad para el diseño de nuevos fármacos anticancerosos basados en cis-platino(II). *Química Nova*, 2013. **36**.
 45. Zhang, R. y Kennedy, M. A., Current Understanding of the Structure and Function of Pentapeptide Repeat Proteins. *Biomolecules*, 2021. **11**(5). DOI: 10.3390/biom11050638.
 46. Lin, D. Y. W., Diao, J., y Chen, J., Crystal structures of two bacterial HECT-like E3 ligases in complex with a human E2 reveal atomic details of pathogen-host interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012. **109**(6): p. 1925-1930. DOI: 10.1073/pnas.1115025109.
 47. Lin, D. Y. W., Diao, J., Zhou, D., y Chen, J., Biochemical and Structural Studies of a HECT-like Ubiquitin Ligase from *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Biological Chemistry*, 2011. **286**(1): p. 441-449. DOI: 10.1074/jbc.m110.167643.
 48. Goo, K. S. y Sim, T. S., Designing new β -lactams: implications from their targets, resistance factors and synthesizing enzymes. *Current Computer-Aided Drug Design*, 2011. **7**(1): p. 53-80. DOI: 10.2174/157340911793743538.
 49. Shi, Q., Meroueh, S. O., Fisher, J. F., y Mobashery, S., A computational evaluation of the mechanism of penicillin-binding protein-catalyzed cross-linking of the bacterial cell wall. *Journal of the American Chemical Society*, 2011. **133**(14): p. 5274-83. DOI: 10.1021/ja1074739.
 50. Macheboeuf, P., Di Guilmi, A. M., Job, V., Vernet, T., Dideberg, O., y Dessen, A., Active site restructuring regulates ligand recognition in class A penicillin-binding proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005. **102**(3): p. 577-82. DOI: 10.1073/pnas.0407186102.
 51. Lim, D. y Strynadka, N. C. J., Structural basis for the β lactam resistance of PBP2a from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Structural Biology*, 2002. **9**(11): p. 870-876. DOI: 10.1038/nsb858.
 52. Mahasenan, K. V., Molina, R., Bouley, R., Batuecas, M. T., Fisher, J. F., Hermoso, J. A., Chang, M., y Mobashery, S., Conformational Dynamics in Penicillin-Binding Protein 2a of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, Allosteric Communication Network and Enablement of Catalysis. *Journal of the American Chemical Society*, 2017. **139**(5): p. 2102-2110. DOI: 10.1021/jacs.6b12565.
 53. Prabha, S., Chauhan, P., Warkare, S., y Pandey, K. M., A computational investigation of potential plant-based bioactive compounds against drug-resistant *Staphylococcus aureus* of multiple target proteins. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*: p. 1-19. DOI: 10.1080/07391102.2023.2297009.

-
54. Cortes, E., Mora, J., y Márquez, E., Modelling the Anti-Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (MRSA) Activity of Cannabinoids: A QSAR and Docking Study, en *crystals*. 2020. p. 1-20. DOI: 10.3390/cryst10080692.
 55. Alhadrami, H. A., Hamed, A. A., Hassan, H. M., Belbahri, L., Rateb, M. E., y Sayed, A. M., Flavonoids as Potential anti-MRSA Agents through Modulation of PBP2a: A Computational and Experimental Study. *Antibiotics*, 2020. **9**(9): p. 562. DOI: 10.3390/antibiotics9090562.
 56. Masumi, M., Noormohammadi, F., Kianisaba, F., Nouri, F., Taheri, M., y Taherkhani, A., Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Docking-Based Virtual Screening and Molecular Dynamics Simulations to Identify Potential Penicillin-Binding Protein 2a Inhibitors from Natural Flavonoids. *International Journal of Microbiology*, 2022. **2022**(1): p. 1-14. DOI: 10.1155/2022/9130700.
 57. Bhaskar, B. V., Babu, T. M., Reddy, N. V., y Rajendra, W., Homology modeling, molecular dynamics, and virtual screening of NorA efflux pump inhibitors of *Staphylococcus aureus*. *Drug Design, Development and Therapy*, 2016. **10**: p. 3237-3252. DOI: 10.2147/dddt.S113556.
 58. Zárate, S. G., Morales, P., Świderek, K., Bolanos-Garcia, V. M., y Bastida, A., A Molecular Modeling Approach to Identify Novel Inhibitors of the Major Facilitator Superfamily of Efflux Pump Transporters. *Antibiotics (Basel)*, 2019. **8**(1). DOI: 10.3390/antibiotics8010025.
 59. de Araújo, A. C. J., Freitas, P. R., Dos Santos Barbosa, C. R., Muniz, D. F., de Almeida, R. S., Alencar de Menezes, I. R., Ribeiro-Filho, J., Tintino, S. R., y Coutinho, H. D. M., In Vitro and In Silico Inhibition of *Staphylococcus aureus* Efflux Pump NorA by α -Pinene and Limonene. *Current Microbiology*, 2021. **78**(9): p. 3388-3393. DOI: 10.1007/s00284-021-02611-9.
 60. Faillace, M. S., Alves Borges Leal, A. L., Araújo de Oliveira Alcântara, F., Ferreira, J. H. L., de Siqueira-Júnior, J. P., Sampaio Nogueira, C. E., Barreto, H. M., y Peláez, W. J., Inhibition of the NorA efflux pump of *S. aureus* by (Z)-5-(4-Fluorobenzylidene)-Imidazolidines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2021. **31**: p. 127670. DOI: 10.1016/j.bmcl.2020.127670.
 61. Brawley, D. N., Sauer, D. B., Li, J., Zheng, X., Koide, A., Jedhe, G. S., Suwatthee, T., Song, J., Liu, Z., Arora, P. S., Koide, S., Torres, V. J., Wang, D.-N., y Traaseth, N. J., Structural basis for inhibition of the drug efflux pump NorA from *Staphylococcus aureus*. *Nature Chemical Biology*, 2022. **18**(7): p. 706-712. DOI: 10.1038/s41589-022-00994-9.
 62. Alves Borges Leal, A. L., Teixeira da Silva, P., Nunes da Rocha, M., Marinho, E. M., Marinho, E. S., Marinho, M. M., Bandeira, P. N., Sampaio Nogueira, C. E., Barreto, H. M., Rodrigues Teixeira, A. M., y Silva Dos Santos, H., Potentiating activity of Norfloxacin by synthetic chalcones against NorA overproducing *Staphylococcus aureus*. *Microbial Pathogenesis*, 2021. **155**: p. 104894. DOI: 10.1016/j.micpath.2021.104894.

63. Li, L., Ma, J., Yu, Z., Li, M., Zhang, W., y Sun, H., Epidemiological characteristics and antibiotic resistance mechanisms of *Streptococcus pneumoniae*: An updated review. *Microbiological Research*, 2023. **266**: p. 127221. DOI: 10.1016/j.micres.2022.127221.
64. Houghton, P. *La OMS intensifica sus esfuerzos para mejorar la salubridad de los alimentos y proteger a la población de las enfermedades*. 2021; Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/07-06-2021-who-steps-up-action-to-improve-food-safety-and-protect-people-from-disease>.
65. Organización Mundial de la Salud. *La OMS alerta de que el desarrollo de nuevos antibióticos está “estancado”*. Salud 2022; Disponible en: <https://news.un.org/es/story/2022/06/1510742>.
66. Gutiérrez, R. U., Correa, H. C., Bautista, R., Vargas, J. L., Jerezano, A. V., Delgado, F., y Tamariz, J., Regioselective Synthesis of 1,2-Dihydroquinolines by a Solvent-Free MgBr₂-Catalyzed Multicomponent Reaction. *The Journal of Organic Chemistry*, 2013. **78**(19): p. 9614-9626. DOI: 10.1021/jo400973g.
67. Gutiérrez, R. U., Rebollar, A., Bautista, R., Pelayo, V., Vargas, J. L., Montenegro, M. M., Espinoza-Hicks, C., Ayala, F., Bernal, P. M., Carrasco, C., Zepeda, L. G., Delgado, F., y Tamariz, J., Functionalized α -oximinoketones as building blocks for the construction of imidazoline-based potential chiral auxiliaries. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2015. **26**(4): p. 230-246. DOI: 10.1016/j.tetasy.2015.01.011.
68. Ballón Paucara, W. G. y Grados Torrez, R. E., Acomplamiento molecular: criterios prácticos para la selección de ligandos biológicamente activos e identificación de nuevos blancos terapéuticos. *Revista Con-Ciencia*. 2019. **7**: p. 55-72.
69. Bell, E. W. y Zhang, Y., DockRMSD: an open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. *Journal of Cheminformatics*, 2019. **11**(1): p. 40. DOI: 10.1186/s13321-019-0362-7.
70. Morris, G. M., Goodsell, D. S., Pique, M. E., Lindstrom, W., Huey, R., Forli, S., Hart, W. E., Halliday, S., Belew, R., y Olson, A. J. *Updated for version 4.2.6 Automated Docking of Flexible Ligands to Flexible Receptors*. AutoDock Version 4.2 2014; Disponible en: https://autodock.scripps.edu/wp-content/uploads/sites/56/2022/04/AutoDock4.2.6_UserGuide.pdf.
71. Trott, O. y Olson, A. J. *AutoDock Vina Manual*. 2018; Disponible en: <https://vina.scripps.edu/manual/>.
72. Trott, O. y Olson, A. J., AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 2010. **31**(2): p. 455-61. DOI: 10.1002/jcc.21334.
73. Morris, G. M., Goodsell, D. S., Pique, M. E., Lindstrom, W., Huey, R., Forli, S., Hart, W. E., Halliday, S., Belew, R., y Olson, A. J. *Welcome to AutoDock*. AutoDock 2018; Disponible en: <https://autodock.scripps.edu>.

74. Sanner, M. F. *AutoDockFR home page*. 2019; Disponible en: <https://ccsb.scripps.edu/adfr/>.
75. *Molecular Dynamics in 5 Minutes*. 2018, MD Simulator: YouTube.
76. Hollingsworth, S. A. y Dror, R. O., Molecular Dynamics Simulation for All. *Neuron*, 2018. **99**(6): p. 1129-1143. DOI: 10.1016/j.neuron.2018.08.011.
77. Lozano-Aponte, J. y Scior, T., ¿Qué sabe Ud. Acerca de... Dinámica Molecular? *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 2014. **45**(1): p. 86-88.
78. Genheden, S. y Ryde, U., The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 2015. **10**(5): p. 449-61. DOI: 10.1517/17460441.2015.1032936.
79. Rahimifard, M. y Haghi-Aminjan, H., Levels of effect in toxicology assessment, en *Encyclopedia of Toxicology (Fourth Edition)*, P. Wexler, Editor. 2024, Academic Press: Oxford. p. 813-815. DOI: 10.1016/B978-0-12-824315-2.00103-2.
80. Thakur, A., Kumar, A., Sharma, V., y Mehta, V., PIC50: An open source tool for interconversion of PIC50; values and IC50; for efficient data representation and analysis. *bioRxiv*, 2022: p. 2022.10.15.512366. DOI: 10.1101/2022.10.15.512366.
81. Lozano-Aponte, J. y Scior, T., ¿Qué sabe Ud. acerca de...QSAR? *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 2012. **43**(2): p. 82-84.
82. Flores-Holguín, N., Frau, J., y Glossman-Mitnik, D., In Silico Pharmacokinetics, ADMET Study and Conceptual DFT Analysis of Two Plant Cyclopeptides Isolated From Rosaceae as a Computational Peptidology Approach. 2021. **9**. DOI: 10.3389/fchem.2021.708364.
83. Gleichmann, N. *What Is ADME?* 2024; Disponible en: <https://www.technologynetworks.com/drug-discovery/articles/what-is-adme-336683>.
84. Ranjith, D. y Ravikumar, C., SwissADME predictions of pharmacokinetics and drug-likeness properties of small molecules present in *Ipomoea mauritiana* Jacq. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2019. **8**(5): p. 2063-2073.
85. Prasanna, S. y Doerksen, R. J., Topological Polar Surface Area: A Useful Descriptor in 2D-QSAR. *Current Medicinal Chemistry*, 2009. **16**(1): p. 21-41. DOI: 10.2174/092986709787002817.
86. Iancu, I.-F., Búsqueda de Moléculas con Potencial Farmacológico contra la Enfermedad de Alzheimer, en *Bioinformática Farmacéutica*. 2017, Universitat Oberta de Catalunya.
87. Daina, A., Michielin, O., y Zoete, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. 2017. **7**, DOI: 10.1038/srep42717.
88. Van de Waterbeemd, H., 5.28 - In Silico Models to Predict Oral Absorption, en *Comprehensive Medicinal Chemistry II*, J.B. Taylor and D.J. Triggle, Editors. 2007, Elsevier: Oxford. p. 669-697. DOI: 10.1016/B0-08-045044-X/00145-0.

-
89. Velmourougane, G., Understanding Lipinski's Rule of 5 and the Role of LogP Value in Drug Design and Development, en *Sai*. 2024.
 90. Shah, A. K. y Agnihotri, S. A., Recent advances and novel strategies in pre-clinical formulation development: An overview. *Journal of Controlled Release*, 2011. **156**(3): p. 281-296. DOI: 10.1016/j.jconrel.2011.07.003.
 91. Grogan, S. y Preuss, C. V., Pharmacokinetics, en *StatPearls*. 2024, StatPearls Publishing: Treasure Island (FL).
 92. OMx Personal Health Analytics. *P-glycoprotein substrate ADMET Feature Prediction*. Drugbank 2024; Disponible en: <https://dev.drugbank.com/guides/terms/p-glycoprotein-substrate>.
 93. Saila, O., (Re)conociendo al Citocromo P450, en *UNFAC*. 2019. p. 41-46.
 94. Le, J. *Biodisponibilidad de los fármacos*. 2022; Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/farmacología-clínica/farmacocinética/biodisponibilidad-de-los-fármacos>.
 95. Escuela Nacional de Ciencias y Humanidades. *Electronegatividad*. 2017; Disponible en: <https://el.portalacademico.cch.unam.mx/alumno/quimica1/unidad2/tiposdeenlaces/electronegatividad>.
 96. Galano, A. *Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT)*. 2013; Disponible en: https://agalano.com/wp-content/uploads/2021/01/P6n_indicesDFT.pdf.
 97. Orozco, M. y Luque, F. J., Generalization of the Molecular Electrostatic Potential for the Study of Noncovalent interactions, en *Theoretical and Computational Chemistry*, J.S. Murray and K. Sen, Editors. 1996, Elsevier. p. 181-218. DOI: 10.1016/S1380-7323(96)80044-6.
 98. Química.es. *Energía de ionización*. 2024; Disponible en: https://www.quimica.es/enciclopedia/Energía_de_ionización.html.
 99. Química.es. *Afinidad electrónica*. 2024; Disponible en: https://www.quimica.es/enciclopedia/Afinidad_electrónica.html.
 100. Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B., Thiessen, P., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., y Bolton, E., *PubChem 2023 update*. 2023. p. D1373-D1380. DOI: 10.1093/nar/gkac956.
 101. BIOVIA, *Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio Modeling Environment*. 2019, Dassault Systèmes: San Diego, California, USA.
 102. Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., y Olson, A. J., Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *Journal Computational Chemistry*, 2009. **16**: p. 2785-2791. DOI: 10.1002/jcc.21256.
 103. Wavefunction Inc., *Spartan'20 (Version 20.1.3)*. 2020, Q-CHEM.
 104. Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N., y Bourne, P. E., *The Protein Data Bank*. 2000. p. 235-242. DOI: 10.1093/nar/28.1.235.

105. Pettersen, E., Goddard, T., Huang, C., Couch, G., Greenblatt, D., Meng, E., y Ferrin, T., UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal Computational Chemistry*, 2004. **25**(13): p. 1605-1612. DOI: 10.1002/jcc.20084.
106. Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., y Hutchison, G. R., Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*, 2012. **4**(17). DOI: 10.1186/1758-2946-4-17.
107. Eberhardt, J., Santos-Martins, D., Tillack, A. F., y Forli, S., AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2021. DOI: 10.1021/acs.jcim.1c00203.
108. Ravindranath, P. A., Forli, S., Goodsell, D. S., Olson, A. J., y Sanner, M. F., AutoDockFR: Advances in Protein-Ligand Docking with Explicitly Specified Binding Site Flexibility. *PLoS computational biology*, 2015. **11**(12). DOI: 10.1371/journal.pcbi.1004586.
109. Madeira, F., Madhusoodanan, N., Lee, J., Eusebi, A., Niewielska, A., Tivey, A. R. N., Lopez, R., y Butcher, S., The EMBL-EBI Job Dispatcher sequence analysis tools framework in 2024. *Nucleic acids research*, 2024: p. gkae241. DOI: 10.1093/nar/gkae241.
110. *The PyMOL Molecular Graphics System*. Schrödinger, LLC.; Version 2.5.4.
111. Allen, W. J., Balias, T. E., Mukherjee, S., Brozell, S. R., Moustakas, D. T., Lang, P. T., Case, D. A., Kuntz, I. D., y Rizzo, R. C., DOCK 6: Impact of new features and current docking performance. *Journal of Computational Chemistry*, 2015. **36**(15): p. 1132-56. DOI: 10.1002/jcc.23905.
112. Phillips, J. C., Hardy, D. J., Maia, J. D. C., Stone, J. E., Ribeiro, J. V., Bernardi, R. C., Buch, R., Fiorin, G., Hénin, J., Jiang, W., McGreevy, R., Melo, M. C. R., Radak, B. K., Skeel, R. D., Singharoy, A., Wang, Y., Roux, B., Aksimentiev, A., Luthey-Schulten, Z., Kalé, L. V., Schulten, K., Chipot, C., y Tajkhorshid, E., Scalable molecular dynamics on CPU and GPU architectures with NAMD. *The Journal of Chemical Physics*, 2020. **153**(4). DOI: 10.1063/5.0014475.
113. Case, D. A., K. Belfon, I.Y. Ben-Shalom, S.R. Brozell, D.S. Cerutti, T.E. Cheatham, I., V.W.D. Cruzeiro, T.A. Darden, R.E. Duke, G. Giambasu, M.K. Gilson, H. Gohlke, A.W. Goetz, R Harris, S. Izadi, S.A. Izmailov, K. Kasavajhala, A. Kovalenko, R. Krasny, T. Kurtzman, T.S. Lee, S. LeGrand, P. Li, C. Lin, J. Liu, T. Luchko, R. Luo, V. Man, K.M. Merz, Y. Miao, O. Mikhailovskii, G. Monard, H. Nguyen, A. Onufriev, F. Pan, S. Pantano, R. Qi, D.R. Roe, A. Roitberg, C. Sagui, S. Schott-Verdugo, J. Shen, C.L. Simmerling, N.R. Skrynnikov, J. Smith, J. Swails, R.C. Walker, J. Wang, L. Wilson, R.M. Wolf, X. Wu, Y. Xiong, Y. Xue, York, D. M., y Kollman, P. A., *AMBER 2020*. 2020: University of California, San Francisco.
114. Jo, S., Kim, T., Iyer, V. G., y Im, W., CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM. 2008. **29**(11): p. 1859-1865. DOI: 10.1002/jcc.20945.

115. Kim, S., Lee, J., Jo, S., Brooks III, C. L., Lee, H. S., y Im, W., CHARMM-GUI ligand reader and modeler for CHARMM force field generation of small molecules. 2017. **38**(21): p. 1879-1886. DOI: 10.1002/jcc.24829.
116. Jorgensen, W. L., Chandrasekhar, J., Madura, J. D., Impey, R. W., y Klein, M. L., Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *The Journal of Chemical Physics*, 1983. **79**(2): p. 926-935. DOI: 10.1063/1.445869.
117. Huang, J., Rauscher, S., Nawrocki, G., Ran, T., Feig, M., de Groot, B. L., Grubmüller, H., y MacKerell, A. D., CHARMM36m: an improved force field for folded and intrinsically disordered proteins. *Nature Methods*, 2017. **14**(1): p. 71-73. DOI: 10.1038/nmeth.4067.
118. Essmann, U., Perera, L., Berkowitz, M. L., Darden, T., Lee, H., y Pedersen, L. G., A smooth particle mesh Ewald method. *The Journal of Chemical Physics*, 1995. **103**(19): p. 8577-8593. DOI: 10.1063/1.470117.
119. Fletcher, R. y Reeves, C. M., Function minimization by conjugate gradients. *The Computer Journal*, 1964. **7**(2): p. 149-154. DOI: 10.1093/comjnl/7.2.149.
120. Martyna, G. J., Tobias, D. J., y Klein, M. L., Constant pressure molecular dynamics algorithms. *The Journal of Chemical Physics*, 1994. **101**(5): p. 4177-4189. DOI: 10.1063/1.467468.
121. Feller, S. E., Zhang, Y., Pastor, R. W., y Brooks, B. R., Constant pressure molecular dynamics simulation: The Langevin piston method. *The Journal of Chemical Physics*, 1995. **103**(11): p. 4613-4621. DOI: 10.1063/1.470648.
122. Humphrey, W., Dalke, A., y Schulten, K., VMD - Visual Molecular Dynamics. 1996. **14**: p. 33-38. DOI: 10.1016/0263-7855(96)00018-5.
123. Valdés-Tresanco, M. S., Valdés-Tresanco, M. E., Valiente, P. A., y Moreno, E., gmx_MMPBSA: A New Tool to Perform End-State Free Energy Calculations with GROMACS. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2021. **17**(10): p. 6281-6291. DOI: 10.1021/acs.jctc.1c00645.
124. Dolinsky, T. J., Nielsen, J. E., McCammon, J. A., y Baker, N. A., PDB2PQR: an automated pipeline for the setup of Poisson-Boltzmann electrostatics calculations. *Nucleic Acids Research*, 2004. **32**(suppl_2): p. W665-W667. DOI: 10.1093/nar/gkh381.
125. Rostkowski, M., Olsson, M. H., Søndergaard, C. R., y Jensen, J. H., Graphical analysis of pH-dependent properties of proteins predicted using PROPKA. *BMC Structural Biology*, 2011. **11**: p. 6. DOI: 10.1186/1472-6807-11-6.
126. Wang, J., Wang, W., Kollman, P. A., y Case, D. A., Automatic atom type and bond type perception in molecular mechanical calculations. *Journal of Molecular Graphics & Modelling*, 2006. **25**(2): p. 247-60. DOI: 10.1016/j.jmgm.2005.12.005.
127. Wang, J., Cieplak, P., y Kollman, P. A., How well does a restrained electrostatic potential (RESP) model perform in calculating conformational energies of organic and biological molecules? *Journal of Computational Chemistry*, 2000. **21**(12): p. 1049-1074. DOI:10.1002/1096-987X(200009)21:12<1049::AID-JCC3>3.0.CO;2-F.

128. Maier, J. A., Martinez, C., Kasavajhala, K., Wickstrom, L., Hauser, K. E., y Simmerling, C., ff14SB: Improving the Accuracy of Protein Side Chain and Backbone Parameters from ff99SB. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2015. **11**(8): p. 3696-713. DOI: 10.1021/acs.jctc.5b00255.
129. Wang, J., Wolf, R. M., Caldwell, J. W., Kollman, P. A., y Case, D. A., Development and testing of a general amber force field. *Journal of Computational Chemistry*, 2004. **25**(9): p. 1157-74. DOI: 10.1002/jcc.20035.
130. Roe, D. R. y Cheatham, T. E., III, PTRAJ and CPPTRAJ: Software for Processing and Analysis of Molecular Dynamics Trajectory Data. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2013. **9**(7): p. 3084-3095. DOI: 10.1021/ct400341p.
131. Miller, B. R., 3rd, McGee, T. D., Jr., Swails, J. M., Homeyer, N., Gohlke, H., y Roitberg, A. E., MMPBSA.py: An Efficient Program for End-State Free Energy Calculations. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2012. **8**(9): p. 3314-21. DOI: 10.1021/ct300418h.
132. Onufriev, A. V., Bashford, D., y Case, D. A., Modification of the Generalized Born Model Suitable for Macromolecules. *Journal of Physical Chemistry B*, 2000. **104**: p. 3712-3720. DOI: 10.1021/JP994072S.
133. Thompson, A. P., Aktulga, H. M., Berger, R., Bolintineanu, D. S., Brown, W. M., Crozier, P. S., in 't Veld, P. J., Kohlmeyer, A., Moore, S. G., Nguyen, T. D., Shan, R., Stevens, M. J., Tranchida, J., Trott, C., y Plimpton, S. J., LAMMPS - a flexible simulation tool for particle-based materials modeling at the atomic, meso, and continuum scales. *Computer Physics Communications*, 2022. **271**: p. 108171. DOI: 10.1016/j.cpc.2021.108171.
134. Monti, S., Corozzi, A., Fristrup, P., Joshi, K. L., Shin, Y. K., Oelschlaeger, P., van Duin, A. C. T., y Barone, V., Exploring the conformational and reactive dynamics of biomolecules in solution using an extended version of the glycine reactive force field. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2013. **15**(36): p. 15062-15077. DOI: 10.1039/C3CP51931G.
135. O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., y Hutchison, G. R., Open Babel: An open chemical toolbox. *Journal of Cheminformatics*, 2011. **3**(1): p. 33. DOI: 10.1186/1758-2946-3-33.
136. Filimonov, D. A., Lagunin, A. A., Gloriovova, T. A., Rudik, A. V., Druzhilovskii, D. S., Pogodin, P. V., y Poroikov, V. V., Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 2014. **50**(3): p. 444-457. DOI: 10.1007/s10593-014-1496-1.
137. Mendez, D., Gaulton, A., Bento, A., Chambers, J., De Veij, M., Félix, E., Magariños, M., Mosquera, J., Mutowo, P., Nowotka, M., Gordillo-Marañón, M., Hunter, F., Junco, L., Mugumbate, G., Rodriguez-Lopez, M., Atkinson, F., Bosc, N., Radoux, C., Segura-Cabrera, A., Hersey, A., y Leach, A., ChEMBL: towards direct deposition of bioassay data. *Nucleic Acids Research*, 2019. **47**(D1): p. D930-D940. DOI: 10.1093/nar/gky1075.

138. Davies, M., Nowotka, M., Papadatos, G., Dedman, N., Gaulton, A., Atkinson, F., Bellis, L., y Overington, J., ChEMBL web services: streamlining access to drug discovery data and utilities. *Nucleic Acids Research*, 2015. **43**(W1). DOI: 10.1093/nar/gkv352.
139. Selvaraj, C., Tripathi, S. K., Reddy, K. k., y Singh, S. K., Tool development for Prediction of pIC50 values from the IC50 values - A pIC50 value calculator. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 2011. **5**(2): p. 1104-1109.
140. Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., Scalmani, G., Barone, V., Petersson, G. A., Nakatsuji, H., Li, X., Caricato, M., Marenich, A. V., Bloino, J., Janesko, B. G., Gomperts, R., Mennucci, B., Hratchian, H. P., Ortiz, J. V., Izmaylov, A. F., Sonnenberg, J. L., Williams, Ding, F., Lipparini, F., Egidi, F., Goings, J., Peng, B., Petrone, A., Henderson, T., Ranasinghe, D., Zakrzewski, V. G., Gao, J., Rega, N., Zheng, G., Liang, W., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Vreven, T., Throssell, K., Montgomery Jr., J. A., Peralta, J. E., Ogliaro, F., Bearpark, M. J., Heyd, J. J., Brothers, E. N., Kudin, K. N., Staroverov, V. N., Keith, T. A., Kobayashi, R., Normand, J., Raghavachari, K., Rendell, A. P., Burant, J. C., Iyengar, S. S., Tomasi, J., Cossi, M., Millam, J. M., Klene, M., Adamo, C., Cammi, R., Ochterski, J. W., Martin, R. L., Morokuma, K., Farkas, O., Foresman, J. B., y Fox, D. J., *Gaussian 16 Rev. C.01*. 2016: Wallingford, CT.
141. Momma, K. y Izumi, F., VESTA: a three-dimensional visualization system for electronic and structural analysis. 2008. **41**(3): p. 653-658. DOI: 10.1107/S0021889808012016.
142. Bhusan, K. K., *EasyQSAR: A beginners tool for QSAR in Drug Designing (Free software for drug designing and QSAR)*, en *University of Hyderabad*. 2009.
143. Wiles, J. A., Hashimoto, A., Thanassi, J. A., Cheng, J., Incarvito, C. D., Deshpande, M., Pucci, M. J., y Bradbury, B. J., Isothiazolopyridones: Synthesis, Structure, and Biological Activity of a New Class of Antibacterial Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2006. **49**(1): p. 39-42. DOI: 10.1021/jm051066d.
144. Prior, A. M., Yu, X., Park, E.-J., Kondratyuk, T. P., Lin, Y., Pezzuto, J. M., y Sun, D., Structure-activity relationships and docking studies of synthetic 2-arylindole derivatives determined with aromatase and quinone reductase 1. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2017. **27**(24): p. 5393-5399. DOI: 10.1016/j.bmcl.2017.11.010.
145. Lauderdale, T.-L., Shiau, Y.-R., Lai, J.-F., Chen, H.-C., y King, C.-H. R., Comparative In Vitro Activities of Nemonoxacin (TG-873870), a Novel Nonfluorinated Quinolone, and Other Quinolones against Clinical Isolates. 2010. **54**(3): p. 1338-1342. DOI: 10.1128/aac.01197-09.
146. Kosowska-Shick, K., McGhee, P. L., y Appelbaum, P. C., Affinity of Ceftaroline and Other B-Lactams for Penicillin-Binding Proteins from *Staphylococcus aureus* and

- Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2010. **54**(5): p. 1670-1677. DOI: 10.1128/aac.00019-10.
147. Broom, N. J. P., Cassels, R., Cheng, H.-Y., Elder, J. S., Hannan, P. C. T., Masson, N., O'Hanlon, P. J., Pope, A., y Wilson, J. M., The Chemistry of Pseudomonic Acid. 17. Dual-Action C-1 Oxazole Derivatives of Pseudomonic Acid Having an Extended Spectrum of Antibacterial Activity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1996. **39**(18): p. 3596-3600. DOI: 10.1021/jm950882q.
148. Jacobs, M. R., Good, C. E., Windau, A. R., Bajaksouzian, S., Biek, D., Critchley, I. A., Sader, H. S., y Jones, R. N., Activity of Ceftaroline against Recent Emerging Serotypes of *Streptococcus pneumoniae* in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2010. **54**(6): p. 2716-2719. DOI: 10.1128/aac.01797-09.
149. Daina, A., Michielin, O., y Zoete, V., iLOGP: a simple, robust, and efficient description of *n*-octanol/water partition coefficient for drug design using the GB/SA approach. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2014. **54**(12): p. 3284-301. DOI: 10.1021/ci500467k.
150. Cheng, T., Zhao, Y., Li, X., Lin, F., Xu, Y., Zhang, X., Li, Y., Wang, R., y Lai, L., Computation of octanol-water partition coefficients by guiding an additive model with knowledge. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2007. **47**(6): p. 2140-8. DOI: 10.1021/ci700257y.
151. Sanabria-Ríos, D. J., Rivera-Torres, Y., Rosario, J., Gutierrez, R., Torres-García, Y., Montano, N., Ortiz-Soto, G., Ríos-Olivares, E., Rodríguez, J. W., y Carballeira, N. M., Chemical conjugation of 2-hexadecynoic acid to C5-curcumin enhances its antibacterial activity against multi-drug resistant bacteria. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2015. **25**(22): p. 5067-5071. DOI: 10.1016/j.bmcl.2015.10.022.

10. Anexos

10.1 Anexo I. Interacciones por puentes de hidrógeno durante 100 ns de las simulaciones de Dinámica Molecular de Amber

10.1.1 Receptor 2UWX

Para efectos de comparación, se determinaron las interacciones por puentes de hidrógeno presentes con un porcentaje de ocupación superior al 5%, durante los 100 ns de trayectoria en Amber, las cuales se muestran en la Tabla A1.

Tabla A1. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 100 ns de 2UWX en Amber.

Ligando	Puentes de hidrógeno con aminoácidos de interés		
	Donador*	Aceptor*	% de ocupación
Lig1	THR654-S	LIG-S	41.96
	THR654-M	LIG-S	39.14
	LIG-S	ASN500-S	5.15
	THR629-S	LIG-M	6.61
Lig2	LIG-M	ASN518-S	5.24
	ASN656-S	LIG-S	17.04
	ASN656-S	LIG-M	10.47
	MET497-M	LIG-S	6.68
	MET497-M	LIG-M	6.25
	GLY559-M	LIG-S	14.59
Lig3	ASN656-S	LIG-S	16.46
	GLY559-M	LIG-S	15.30
	SER553-S	LIG-S	15.66
	LIG-M	SER457-S	5.33
	MET497-M	LIG-M	16.85
	ASN492-S	LIG-S	5.55
Lig4	THR654-S	LIG-S	7.86
	ASN693-S	LIG-S	8.77
Lig5	THR654-M	LIG-S	44.08
	ALA460-M	LIG-S	25.33
	THR654-S	LIG-S	17.23
	THR652-S	LIG-S	15.33
	LIG-M	GLN686-S	5.21
Lig6	THR654-S	LIG-M	9.38
	LIG-S	THR629-M	6.21
	THR654-S	LIG-S	7.40
	LIG-M	GLN686-M	6.09
	GLN686-S	LIG-S	14.49
	LIG-M	THR629-M	34.96
	GLN686-S	LIG-M	18.13

Lig7	LIG-S	MET661-S	5.21
	ASN693-S	LIG-S	31.42
	GLN686-S	LIG-S	7.78
	THR652-S	LIG-M	12.42
	LIG-M	TYR498-S	16.61
	LIG-M	TYR515-M	5.83
Lig9	SER516-S	LIG-S	10.71
	THR654-M	LIG-S	73.16
	ASN518-S	LIG-M	60.08
	LIG-S	THR654-S	5.10
	LIG-S	ASN518-S	14.54
	THR652-S	LIG-S	61.93
	ASN500-S	LIG-S	19.20
	ALA460-M	LIG-S	36.38
	LIG-S	VAL628-M	6.73

*M es principal (por main en inglés) y S es lado (por side en inglés).

En la Tabla A1, se puede observar que el **Lig9** es el ligando que presenta una mayor cantidad de interacciones superiores al 5% con un total de nueve, seguido por el **Lig6** que presenta siete interacciones. No obstante, solamente el **Lig9** presenta interacciones con porcentajes superiores al 50% con Thr654, Asn518 y Thr652.

10.1.2 Receptor 5M19

Para efectos de comparación, se determinaron las interacciones por puentes de hidrógeno presentes con un porcentaje de ocupación superior al 5%, durante los 100 ns de trayectoria en Amber, las cuales se muestran en la Tabla A2.

Tabla A2. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 100 ns de 5M19 en Amber.

Ligando	Puentes de hidrógeno con aminoácidos de interés			Otros puentes de hidrógeno		
	Donador*	Aceptor*	% de ocupación	Donador*	Aceptor*	% de ocupación
Lig1	ASN464-S	LIG-S	29.34	LYS604-S	LIG-S	26.44
	THR600-M	LIG-S	31.10	--		
	THR600-M	LIG-M	6.45	--		
Lig2	ASN464-S	LIG-S	28.93	--		
	LIG-M	THR600-S	9.89			
	LIG-M	GLN521-S	32.73			
Lig3	LIG-M	THR600-M	6.68	LIG-M	TYR519-M	17.44
	--			LIG-M	GLU602-S	8.87
				LIG-M	SER598-S	14.21
				LIG-M	HID583-S	12.13
				LYN597-S	LIG-M	10.49

				LYN597-S	LIG-S	8.58
				SER598-M	LIG-M	6.43
Lig4		--		GLU447-M	LIG-M	10.46
Lig5	LIG-M	THR600-S	56.02	--		
	ASN464-M	LIG-S	13.76			
	TYR446-M	LIG-S	8.51			
	ASN464-S	LIG-M	14.79			
	TYR446-M	LIG-M	23.11			
Lig6	ASN464-S	LIG-S	56.65	--		
	ASN464-S	LIG-M	13.21			
	TYR446-M	LIG-S	72.19			
	LIG-M	SER403-S	30.03			
Lig7	ASN464-S	LIG-S	9.07	--		
	LIG-M	THR600-S	12.93			

*M es principal (por main en inglés) y S es lado (por side en inglés).

En la Tabla A2, se puede observar que el **Lig3** es el que presenta una mayor cantidad de interacciones por puentes de hidrógeno con un total de ocho, seguido del **Lig5** con cinco interacciones; no obstante, el **Lig6** presenta dos interacciones con porcentajes superiores al 50% con los aminoácidos Asn464 y Tyr446 y el **Lig5** una interacción con el aminoácido Thr600.

10.1.3 Receptor 7LO8

Las interacciones por puentes de hidrógeno que presentan los ligandos con el receptor durante los 100 ns con un porcentaje de ocupación superior al 5% en las simulaciones realizadas en Amber, se muestran para la región de los aminoácidos clave en la Tabla A3 y para la región media del canal en la Tabla A4.

Tabla A3. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 100 ns de 7LO8 de RA en Amber.

Ligando	Donador*	Aceptor*	% de ocupación
Lig1	LIG-S	ASN137-S	35.58
	ASH307-S	LIG-S	69.38
	SER226-M	LIG-S	15.88
	SER226-M	LIG-M	9.34
Lig2	LIG-M	ASN137-S	19.12
	TYR131-S	LIG-M	5.83
	TYR131-S	LIG-S	8.20
Lig3	LIG-M	PHE13-S	7.25
	LIG-M	PHE6-M	6.67
	TYR131-S	LIG-S	9.36
Lig4	--		

Lig5	LIG-M	SER241-S	11.93
	LIG-M	THR245-S	15.43
Lig6	LIG-M	ASH307-S	31.15
Lig7	LIG-S	GLU222-S	109.89
	ASN137-S	LIG-S	11.25
	LIG-M	ASN137-S	56.65
Lig8	--		

*M es principal (por main en inglés) y S es lado (por side en inglés).

En la Tabla A3, se observa que **Lig1** es el que presenta más interacciones, siendo una de ellas con el Ash307 con un porcentaje superior al 50%. Otras interacciones superiores al 50%, las presenta el **Lig7** con el Glu222 y la Asn137.

Tabla A4. Interacciones por puentes de hidrógeno presentadas durante la trayectoria de 100 ns de 7LO8 de RM en Amber.

Ligando	Donador*	Aceptor*	% de ocupación
Lig1	LIG-S	ILE136-M	6.27
Lig2	ASN340-S	LIG-S	12.78
	LIG-M	ASN137-S	62.17
	ASN340-S	LIG-M	11.19
	LIG-M	GLU222-S	29.82
Lig3	ASN340-S	LIG-S	10.59
	LIG-M	GLU222-S	81.09
Lig4	--		
Lig5	ASN332-S	LIG-S	20.15
	GLN51-S	LIG-S	9.06
Lig6	LIG-M	THR314-S	43.22
	GLN51-S	LIG-S	11.57
	GLN51-S	LIG-M	8.04
Lig7	LIG-S	GLU222-S	85.94
	LIG-M	GLN51-S	21.41
Lig8	--		

*M es principal (por main en inglés) y S es lado (por side en inglés).

En la Tabla A4, se observa que **Lig2** es el que presenta más interacciones y tiene una interacción con la Asn137 con un porcentaje superior al 50%. Otras interacciones superiores al 50%, las presenta el **Lig3** y el **Lig7** con el Glu222.

10.2 Anexo II. Mapas de potencial electrostático de los ligandos Lig1 al Lig8

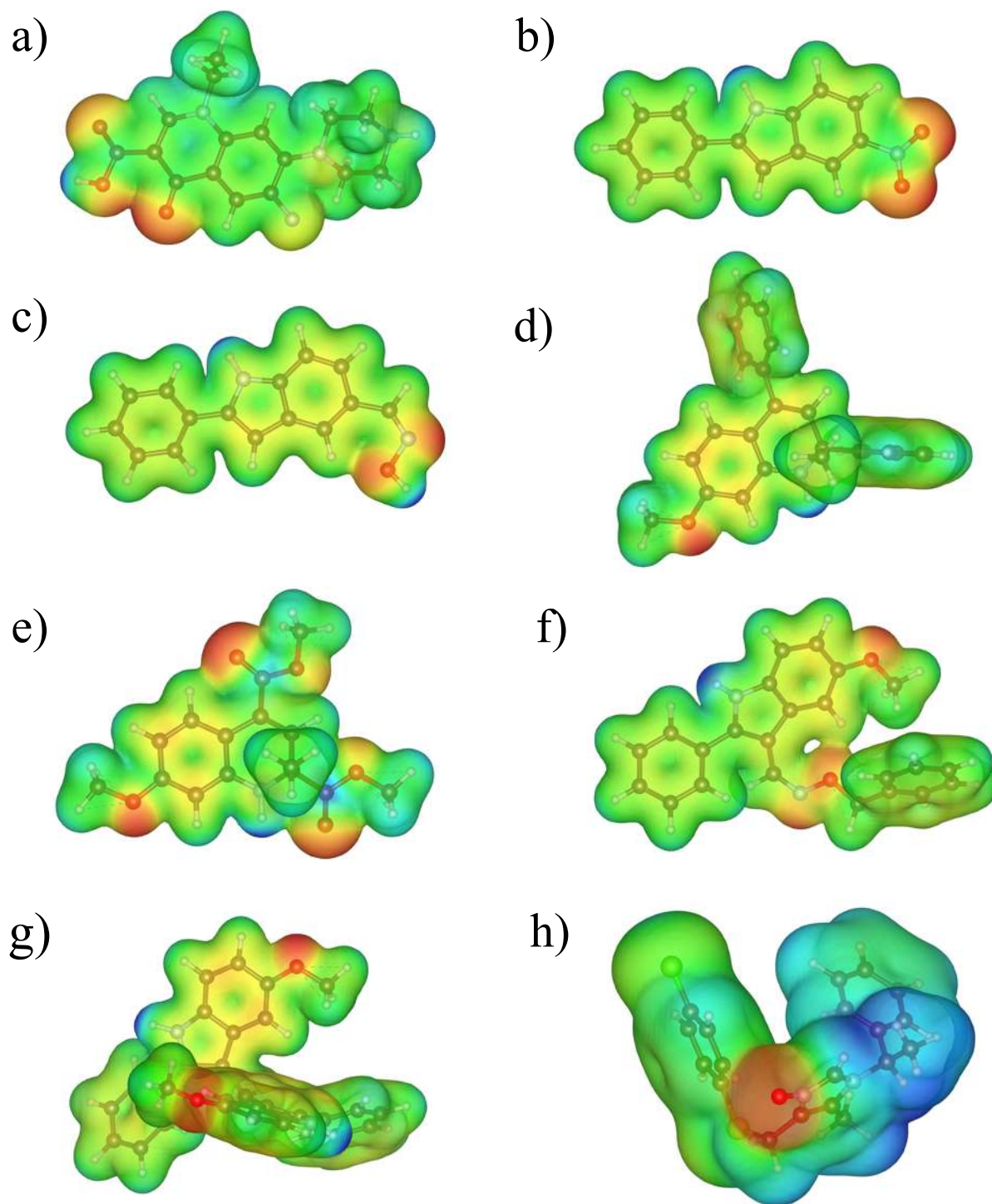


Figura A1 Mapas de potencial electrostático de a) Lig1, b) Lig2, c) Lig3, d) Lig4, e) Lig5, f) Lig6, g) Lig7 y h) Lig8.

10.3 Anexo III. Funciones de Parr de los ligandos Lig1 al Lig8

Tabla A5. Funciones de Parr del Lig1.

Átomo	Átomo numerado	Parr+	Parr–
F	F	0.146775	0.078194
O	O1	0.393174	0.230386
O	O2	0.370364	0.336884
O	O3	0.399418	0.317519
N	N1	0.324428	0.236445
N	N2	0.521203	0.490003
N	N3	0.274451	0.221084
C	C1	0.060623	0.03864
C	C2	0.058472	0.036922
C	C3	0.072997	0.046716
C	C4	0.082376	0.045454
C	C5	0.070217	0.123725
C	C6	0.090105	0.128382
C	C7	0.154157	0.095221
C	C8	0.035361	0.031566
C	C9	0.06089	0.153249
C	C10	0.127118	0.056186
C	C11	0.047222	0.029109
C	C12	0.108245	0.171208
C	C13	0.020038	0.087763
C	C14	0.08432	0.015586
C	C15	0.237062	0.217762
C	C16	0.221267	0.260389
H	H1	0.077603	0.118679
H	H2	0.097713	0.115169
H	H3	0.093694	0.115465
H	H4	0.077616	0.11563
H	H5	0.069911	0.099195
H	H6	0.080468	0.121705
H	H7	0.060293	0.119699
H	H8	0.060762	0.098019
H	H9	0.225646	0.310467
H	H10	0.08214	0.115753
H	H11	0.094312	0.141992
H	H12	0.091905	0.1167
H	H13	0.096153	0.129791
H	H14	0.089691	0.147178
H	H15	0.081079	0.102977
H	H16	0.07884	0.089457

H	H17	0.074837	0.109469
H	H18	0.326164	0.368475

Tabla A6. Funciones de Parr del **Lig2**.

Átomo	Átomo numerado	Parr+	Parr–
O	O1	0.311491	0.137468
O	O2	0.302527	0.141622
N	N1	0.417613	0.376001
N	N2	0.000383	0.087861
C	C1	0.035273	0.007732
C	C2	0.079297	0.135163
C	C3	0.056685	0.16197
C	C4	0.153144	0.022611
C	C5	0.02687	0.00989
C	C6	0.13867	0.020931
C	C7	0.137325	0.057873
C	C8	0.039116	0.090591
C	C9	0.105184	0.014371
C	C10	0.110734	0.052838
C	C11	0.118854	0.061838
C	C12	0.114944	0.056228
C	C13	0.118945	0.055247
C	C14	0.1404	0.025158
H	H1	0.084877	0.142427
H	H2	0.316239	0.356882
H	H3	0.084286	0.140224
H	H4	0.076522	0.1309
H	H5	0.092284	0.142988
H	H6	0.087333	0.117653
H	H7	0.082427	0.114062
H	H8	0.081324	0.12593
H	H9	0.079699	0.125786
H	H10	0.072268	0.132119

Tabla A7. Funciones de Parr del **Lig3**.

Átomo	Átomo numerado	Parr+	Parr–
H	H1	0.076359	0.11993
C	C1	0.144559	0.047795
C	C2	0.153946	0.072307
C	C3	0.03941	0.009503
C	C4	0.05506	0.004248
C	C5	0.128641	0.016977

C	C6	0.082619	0.138773
H	H2	0.069915	0.129577
H	H3	0.069866	0.124484
N	N1	0.420013	0.384993
H	H4	0.313401	0.351753
C	C7	0.136138	0.064748
C	C8	0.129922	0.060888
C	C9	0.048819	0.00636
C	C10	0.132871	0.060607
C	C11	0.166856	0.033414
C	C12	0.126702	0.056178
H	H5	0.070096	0.122364
H	H6	0.058127	0.128214
H	H7	0.076735	0.115357
H	H8	0.07169	0.122777
C	C13	0.014253	0.061857
H	H9	0.09011	0.129199
N	N2	0.334755	0.217713
O	O1	0.328429	0.280778
H	H10	0.326479	0.371149
H	H11	0.071545	0.111769
C	C14	0.170023	0.044794
H	H12	0.077093	0.135031
C	C15	0.047852	0.158846

Tabla A8. Funciones de Parr del Lig4.

Átomo	Átomo numerado	Parr+	Parr–
C	C1	0.09398	0.138903
C	C2	0.160705	0.064707
C	C3	0.043386	0.022815
C	C4	0.147149	0.101058
C	C5	0.056191	0.129598
C	C6	0.117468	0.062092
C	C7	0.046197	0.020837
C	C8	0.146426	0.024172
C	C9	0.095986	0.110128
N	N1	0.447943	0.377656
C	C10	0.253576	0.211091
H	H1	0.075185	0.095045
H	H2	0.06153	0.105502
H	H3	0.053312	0.103348
H	H4	0.295307	0.337435
H	H5	0.084393	0.124641

H	H6	0.081546	0.116807
H	H7	0.070291	0.124309
H	H8	0.069915	0.125112
C	C11	0.008454	0.021112
C	C12	0.121715	0.074112
C	C13	0.100605	0.095065
C	C14	0.121555	0.092593
C	C15	0.122943	0.079101
C	C16	0.122908	0.079942
H	H9	0.091718	0.096566
H	H10	0.078903	0.109347
H	H11	0.077471	0.112295
H	H12	0.074505	0.110106
H	H13	0.078333	0.100881
C	C17	0.015448	0.011667
C	C18	0.139729	0.066437
C	C19	0.105415	0.083599
C	C20	0.112576	0.083414
C	C21	0.121737	0.075253
C	C22	0.120077	0.077799
H	H14	0.077621	0.111238
H	H15	0.088	0.100887
H	H16	0.077214	0.101584
H	H17	0.073616	0.112387
H	H18	0.069258	0.114978
O	O1	0.239774	0.183609
C	C23	0.167785	0.103319
H	H19	0.043617	0.127027
H	H20	0.065134	0.108048
H	H21	0.050495	0.107945

Tabla A9. Funciones de Parr del **Lig5**.

Átomo	Átomo numerado	Parr+	Parr–
O	O1	0.253361	0.249739
O	O2	0.40103	0.349678
O	O3	0.301351	0.260177
O	O4	0.278876	0.257713
O	O5	0.456974	0.33933
N	N1	0.501045	0.318232
C	C1	0.110617	0.130972
C	C2	0.211966	0.040149
C	C3	0.101519	0.190948
C	C4	0.042025	0.025365

C	C5	0.133027	0.007559
C	C6	0.22718	0.187229
C	C7	0.339893	0.342481
C	C8	0.145554	0.071949
C	C9	0.114937	0.056606
C	C10	0.068877	0.148972
C	C11	0.154043	0.04434
C	C12	0.272962	0.341196
C	C13	0.083317	0.065969
C	C14	0.090429	0.071299
C	C15	0.093927	0.07144
H	H1	0.296506	0.366165
H	H2	0.059035	0.131753
H	H3	0.081703	0.097194
H	H4	0.06822	0.114312
H	H5	0.055096	0.102982
H	H6	0.080919	0.131869
H	H7	0.087974	0.12543
H	H8	0.071601	0.127955
H	H9	0.09529	0.118039
H	H10	0.097736	0.113406
H	H11	0.093259	0.112649
H	H12	0.086534	0.121975
H	H13	0.082952	0.100987
H	H14	0.082514	0.100459
H	H15	0.081749	0.112942
H	H16	0.086527	0.108687
H	H17	0.087577	0.109569

Tabla A10. Funciones de Parr del Lig6.

Átomo	Átomo numerado	Parr+	Parr–
H	H1	0.085831	0.114711
C	C1	0.14045	0.055846
C	C2	0.138374	0.056968
C	C3	0.023627	0.007767
C	C4	0.054089	0.112926
C	C5	0.150459	0.066442
C	C6	0.067975	0.088797
H	H2	0.076199	0.129349
H	H3	0.076997	0.124664
N	N1	0.430354	0.354738
H	H4	0.311667	0.359438
C	C7	0.048318	0.011727

C	C8	0.166076	0.054475
C	C9	0.118666	0.074028
C	C10	0.141147	0.079256
C	C11	0.130415	0.069451
C	C12	0.132891	0.069388
H	H5	0.083118	0.106636
H	H6	0.070212	0.105881
H	H7	0.070837	0.117175
H	H8	0.071413	0.117149
H	H9	0.05812	0.120587
O	O1	0.245275	0.195184
C	C13	0.12907	0.110705
H	H10	0.087191	0.096593
H	H11	0.09024	0.122344
H	H12	0.08625	0.101983
C	C14	0.021979	0.077959
N	N2	0.314787	0.179416
O	O2	0.142015	0.085942
C	C15	0.056186	0.037494
H	H13	0.085343	0.112975
H	H14	0.086524	0.115972
C	C16	0.009837	0.021396
C	C17	0.112441	0.081503
C	C18	0.085023	0.094869
C	C19	0.104029	0.089172
C	C20	0.108368	0.082463
C	C21	0.099918	0.084906
H	H15	0.105682	0.096776
H	H16	0.08726	0.101717
H	H17	0.084829	0.107807
H	H18	0.090805	0.104652
H	H19	0.084029	0.108011
H	H20	0.101409	0.13474
C	C22	0.070927	0.034786
C	C23	0.060678	0.149543

Tabla A11. Funciones de Parr del Lig7.

Átomo	Átomo numerado	Parr+	Parr–
H	H1	0.088085	0.096724
C	C1	0.134373	0.102579
C	C2	0.131437	0.075939
C	C3	0.029653	0.01208
C	C4	0.059648	0.108253

C	C5	0.144248	0.087747
C	C6	0.069012	0.101807
H	H2	0.079987	0.11937
H	H3	0.079542	0.116618
N	N1	0.429009	0.383275
H	H4	0.313451	0.344557
C	C7	0.035676	0.01449
C	C8	0.145593	0.076003
C	C9	0.122504	0.093703
C	C10	0.111026	0.085068
C	C11	0.117956	0.081046
C	C12	0.123335	0.082334
H	H5	0.07917	0.097433
H	H6	0.089137	0.102229
H	H7	0.080081	0.108145
H	H8	0.076522	0.10785
H	H9	0.069193	0.110522
O	O1	0.24148	0.187362
C	C13	0.125276	0.108916
H	H10	0.092432	0.100642
H	H11	0.092984	0.120862
H	H12	0.089828	0.100265
C	C14	0.049709	0.030897
C	C15	0.062794	0.095211
C	C16	0.147346	0.136889
H	H13	0.080951	0.095399
H	H14	0.084268	0.102414
C	C17	0.028838	0.009259
C	C18	0.143118	0.055082
C	C19	0.131791	0.109865
C	C20	0.069651	0.114927
C	C21	0.130327	0.083825
C	C22	0.060485	0.098239
H	H15	0.091365	0.102616
H	H16	0.080003	0.115542
H	H17	0.080269	0.126033
C	C23	0.066008	0.125796
N	N2	0.427657	0.40157
H	H18	0.31222	0.339951
C	C24	0.046295	0.010331
C	C25	0.035196	0.006849
C	C26	0.14599	0.062445
C	C27	0.108799	0.080634
C	C28	0.125621	0.079453

C	C29	0.122314	0.074203
C	C30	0.118595	0.076903
H	H19	0.090833	0.101169
H	H20	0.078096	0.105738
H	H21	0.076991	0.11364
H	H22	0.080804	0.11152
H	H23	0.068951	0.116152
O	O2	0.240831	0.201278
C	C31	0.125064	0.109775
H	H24	0.092833	0.099672
H	H25	0.093179	0.119041
H	H26	0.090325	0.101489

Tabla A12. Funciones de Parr del Lig8.

Átomo	Átomo numerado	Parr+	Parr-
H	H1	0.018443	0.104007
C	C1	0.136651	0.088144
C	C2	0.112826	0.081748
C	C3	0.028161	0.018079
C	C4	0.128859	0.075309
C	C5	0.129632	0.075662
C	C6	0.106816	0.100109
H	H2	0.05299	0.112511
H	H3	0.06916	0.112277
H	H4	0.087864	0.089406
H	H5	0.084438	0.106722
C	C7	0.018188	0.04537
H	H6	0.053429	0.123924
N	N1	0.247451	0.215441
C	C8	0.085913	0.114571
C	C9	0.053523	0.079659
N	N2	0.13273	0.103922
C	C10	0.115109	0.178755
H	H7	0.132098	0.168607
O	O1	0.35599	0.158048
C	C11	0.26008	0.20614
H	H8	0.077466	0.108589
H	H9	0.072997	0.104846
H	H10	0.007151	0.111361
C	C12	0.13182	0.114305
H	H11	0.1036	0.124314
H	H12	0.092532	0.126827
S	S1	0.064093	0.098914
C	C13	0.015287	0.004857

C	C14	0.001183	0.044361
C	C15	0.096569	0.080509
C	C16	0.108038	0.067484
C	C17	0.108261	0.070514
C	C18	0.103575	0.072305
H	H13	0.097392	0.103757
H	H14	0.090048	0.118467
H	H15	0.093445	0.123562
H	H16	0.097759	0.121123
Cl	Cl19	0.098925	0.010256
C	C19	0.27396	0.216052
H	H17	0.046392	0.110568
H	H18	0.022067	0.098759
H	H19	0.068973	0.097383

10.4 Anexo IV. Resultados del reporte generado por la plataforma anti-plagio



Página 1 of 162 - Portada

Identificador de la entrega trn:oid::3117:426513706

Karen Astrid Ortiz Vargas

Estudio de Acoplamiento y Dinámica Molecular de una Serie de Ligandos tipo aza-heterociclos contra D



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117:426513706

Fecha de entrega

4 feb 2025, 10:17 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

4 feb 2025, 10:44 a.m. GMT-6

Nombre de archivo

Estudio de Acoplamiento y Dinámica Molecular de una Serie de Ligandos tipo aza-heterociclos co....pdf

Tamaño de archivo

49.9 MB

140 Páginas

48,230 Palabras

251,483 Caracteres



Página 1 of 162 - Portada

Identificador de la entrega trn:oid::3117:426513706

20% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Fuentes principales

- 19%  Fuentes de Internet
- 12%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

10.5 Anexo V. Formato de declaración de originalidad y uso de Inteligencia Artificial

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



A quien corresponda,

Por este medio, quien abajo firma, bajo protesta de decir verdad, declara lo siguiente:

- Que presenta para revisión de originalidad el manuscrito cuyos detalles se especifican abajo.
- Que todas las fuentes consultadas para la elaboración del manuscrito están debidamente identificadas dentro del cuerpo del texto, e incluidas en la lista de referencias.
- Que, en caso de haber usado un sistema de inteligencia artificial, en cualquier etapa del desarrollo de su trabajo, lo ha especificado en la tabla que se encuentra en este documento.
- Que conoce la normativa de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en particular los Incisos IX y XII del artículo 85, y los artículos 88 y 101 del Estatuto Universitario de la UMSNH, además del transitorio tercero del Reglamento General para los Estudios de Posgrado de la UMSNH.

Datos del manuscrito que se presenta a revisión		
Programa educativo	Maestría en Ciencias Químicas	
Título del trabajo	Estudio de Acoplamiento y Dinámica Molecular de una Serie de Ligandos tipo aza-heterociclos contra Dianas de Agentes Bacteriológicos	
	Nombre	Correo electrónico
Autor/es	Karen Astrid Ortiz Vargas	1718959h@umich.mx
Director	D.C. Pedro Navarro Santos	pedro.navarro@umich.mx
Codirector	D.C. Rafael Herrera Bucio	rafael.herrera.bucio@umich.mx
Coordinador del programa	D.C. Janett Betzabe González Campos	mae.ciencias.quimicas@umich.mx

Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Asistencia en la redacción	No	

Formato de Declaración de Originalidad y Uso de Inteligencia Artificial

Coordinación General de Estudios de Posgrado
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo



Uso de Inteligencia Artificial		
Rubro	Uso (sí/no)	Descripción
Traducción al español	No	
Traducción a otra lengua	No	
Revisión y corrección de estilo	No	
Análisis de datos	No	
Búsqueda y organización de información	No	
Formateo de las referencias bibliográficas	No	
Generación de contenido multimedia	No	
Otro	No	

Datos del solicitante	
Nombre y firma	Karen Astrid Ortiz Vargas
Lugar y fecha	Morelia, Michoacán a 04 de febrero de 2025