



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO

**ESTUDIO POR MODELADO MOLECULAR DE
LA INTERACCIÓN ENTRE LA FAMILIA DE
FOSFOMICINA Y LOS RECEPTORES PARA
*ESCHERICHIA COLI***

Autor: Paula Caridad Golbano

Tutor: Antonio Luis Doadrio Villarejo

Fecha: Julio 2019

CONTENIDO

RESUMEN	III
INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES	IV
OBJETIVOS	XI
METODOLOGÍA	XI
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	XII
CONCLUSIONES	XX
BIBLIOGRAFÍA	XXI

RESUMEN

El modelado molecular consiste en tratar de responder a los interrogantes que se presentan en el área de la química mediante estrategias de simulación computacional.

Se puede tratar de predecir las condiciones en las cuales una reacción química va a ser factible y determinar la velocidad a la que va a ocurrir dicha reacción. En muchos casos, se pueden obtener respuestas a muchas hipótesis con un coste más bajo tanto en tiempo humano como en material que si se quisiera responder a las mismas preguntas mediante experimentos convencionales.

A través del modelado molecular se propone tratar de entender como funcionan por ejemplo las biomoléculas, como es la reactividad, como está relacionada la estructura con dicha reactividad, y para ello se usan una serie de programas informáticos ya existentes.

El fin de estas técnicas de simulación es tratar de llegar hacia donde las demás técnicas no pueden o les cuesta llegar, es decir, tratar de obtener información nueva y más completa.

En realidad, la parte experimental se complementa a través de sus observaciones con el área de modelado molecular que, por su parte, da una visión distinta, una visión más microscópica y productiva que servirá como guía para la experimentación tradicional.

Decidimos decantarnos por el estudio de la interacción existente entre fosfomicina como ligando y *Escherichia coli* como receptor por dos razones. La primera, por la importancia de las infecciones urinarias y el gran impacto que presentan en la población, siendo dicha bacteria su causa más común; y la segunda, porque la presencia de microorganismos resistentes es cada vez más frecuente. La resistencia bacteriana a los antibióticos se relaciona con el consumo de éstos, esta prevalencia creciente hace imprescindible la orientación racional al paciente en el medio extrahospitalario.

Para dicho estudio, decidimos visualizar por métodos computacionales diferentes receptores presentes en *Escherichia coli* para la molécula de fosfomicina con el fin de estudiar su unión. Una vez obtenidos los resultados deseados, decidimos comparar uno de los receptores con otros antibióticos como ligando, siendo los mismos levofloxacino y vancomicina.

Palabras clave: *Escherichia coli*, fosfomicina, modelado molecular, docking, interacción ligando-receptor.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

La resistencia bacteriana es un problema antiguo pero de gran actualidad, ya que pese a la aparición gradual de nuevas moléculas de antibiótico en el mercado, la presencia de microorganismos resistentes es cada vez más frecuente. No se exagera al afirmar que es uno de los problemas mas graves para la salud mundial actualmente.

Por esta razón, existen numerosos equipos de investigación dedicados única y exclusivamente a este problema declarado de emergencia por la OMS.

En la Comunidad de Madrid, por ejemplo, se publicaron este mismo año dos guías de uso de antimicrobianos en pacientes con tratamiento ambulatorio que, tratan de facilitar esta tarea y contribuirán al correcto tratamiento de las infecciones, a disminuir los antibióticos innecesarios y con ello, frenar la generación de nuevas bacterias resistentes. Cabe destacar que España se encuentra entre los primeros países de Europa en infecciones por bacterias resistentes a los antimicrobianos. Profesionales sanitarios implicados en la prescripción y seguimiento del tratamiento antimicrobiano ambulatorio son los principales destinatarios de estas guías, y es que los pacientes a los que se les pueden aplicar estas recomendaciones son aquellos inmunocompetentes que siguen su tratamiento de forma ambulatoria.

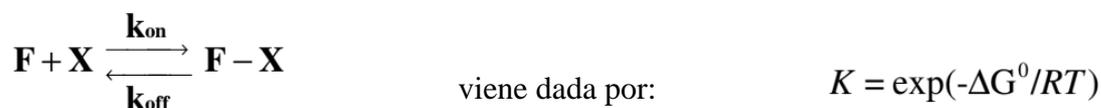
Todo lo expuesto anteriormente sumado a que la promoción del uso racional de los antimicrobianos es una de las líneas de trabajo en la que la Subdirección General de Farmacia y Productos Sanitarios de la Comunidad de Madrid está trabajando más intensamente, nos llevó a la decisión de optar por el estudio por modelado molecular de la interacción existente entre la familia de fosfomicina y los correspondientes receptores presentes en *Escherichia Coli*.

MODELADO MOLECULAR

El modelado molecular se puede definir como el conjunto de métodos teóricos y técnicas computacionales para modelar, imitar y predecir el comportamiento de moléculas. Las técnicas y métodos utilizados se encuentran en un amplio rango de campos de la física (termodinámica, mecánica clásica, mecánica estadística, mecánica cuántica, física matemática y ciencia de materiales), la química computacional y la bioquímica para el estudio de sistemas moleculares que abarcan desde pequeños sistemas químicos a grandes moléculas biológicas.

Por todo ello, el modelado molecular es una herramienta de gran utilidad para conocer e interpretar con exactitud el proceso de interacción entre un receptor y su ligando, proporcionando por medio de programas informáticos, datos fiables que permiten predecir el comportamiento del sistema.

Esta interacción es determinada mediante el estudio de las fuerzas de unión entre ambas estructuras, así la afinidad de un fármaco F por un receptor X en la reacción de asociación simple:



Donde $K = [FX]/[F][X]$ es la constante de asociación en el equilibrio que será más alta cuanto mayor es la energía que se libera en la interacción, ΔG es el cambio en energía libre de Gibbs, R es la constante de los gases y T es la temperatura en Kelvin. La energía libre de Gibbs es una medida adecuada de la fuerza directriz para reacciones a temperatura y presión constantes. [1]

DOCKING MOLECULAR

El acoplamiento molecular es un método computacional perteneciente al campo del modelado molecular cuyo fin es predecir la estructura de un complejo formado por un ligando, por lo general moléculas pequeñas, en el sitio de unión de un receptor que actúa como blanco molecular.

Por lo tanto, trata de predecir cuál es la conformación de ese ligando dentro del sitio del receptor, dato de suma importancia para las posibles interacciones y, por lo tanto para la actividad que pueda propiciar este compuesto.

La mayor aplicación del docking molecular es el screening virtual, pero existen otras como la optimización de fármacos, la predicción de constantes de afinidad y lo que concierne en dicho trabajo, que es la identificación de sitios de unión y posterior estudio de su función estructural.

La metodología del acoplamiento molecular es la búsqueda de las interacciones ligando-receptor, el cálculo de las energías que nos determinan la alta probabilidad de unión, y el análisis visual.

La mayoría de las funciones están basadas en la mecánica de la física molecular por campos de fuerza que determinan la energía de la conformación espacial del ligando y del receptor cuando están unidos, así como la evaluación de interacciones favorables como los enlaces de hidrógeno o las interacciones hidrofóbicas. [2]

ESCHERICHIA COLI

Escherichia coli es un bacilo gram-negativo de la familia Enterobacteriaceae, de gran importancia en la patología infecciosa puesto que están implicados en diferentes síndromes clínicos. Recibe su nombre de Theodore Escherich, que describió este microorganismo por primera vez en 1885 durante sus estudios de la microbiota fecal de neonatos.

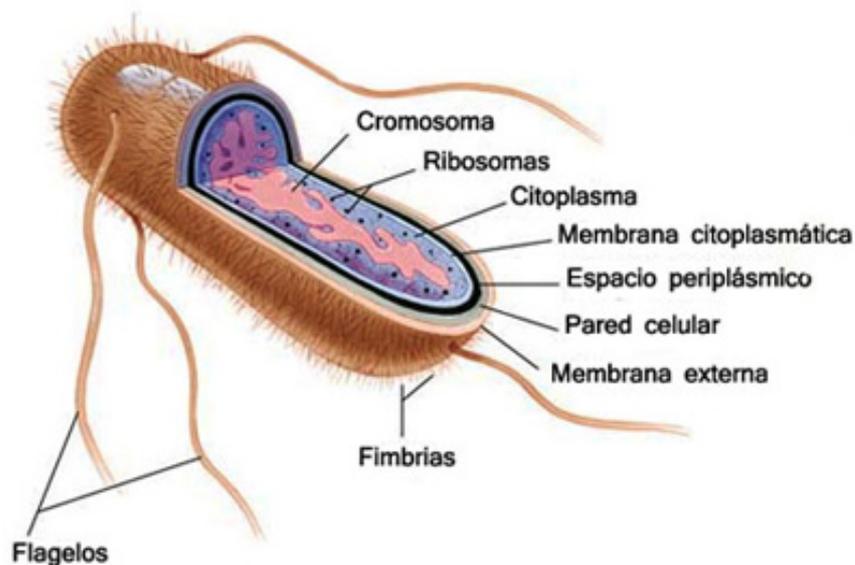
E. coli es anaerobio facultativo no esporulado, fermentador de glucosa y numerosos azúcares, reductor de nitratos a nitritos, catalasa positivo, oxidasa negativo, positivo en la prueba del indol y negativo en la de la ureasa. Crece bien en la mayoría de medios generales y selectivos para gram-negativos. [3]

La población de esta bacteria se divide en tres grupos en función de su impacto en la salud pública: comensal, intestinal y extraintestinal. También está presente en el agua y en la tierra, generalmente por contaminación por materia fecal. Por esta razón se usa como marcador de contaminación de las aguas.

El primer tipo forma parte de la microbiota normal del tracto intestinal del ser humano, que es colonizado al poco de nacer. La bacteria actúa como comensal, ayudando así a la absorción de nutrientes, además de la producción de vitaminas B y K. El segundo tipo es causante de cuadros de diarrea variable. Y por último, el más importante para dicho trabajo, *E. coli* patógeno extraintestinal que puede estar colonizando el tracto gastrointestinal del ser humano pero se caracteriza por infectar también localizaciones normalmente estériles como el tracto urinario, dando lugar a las infecciones conocidas como ITUs. Por ello, tienen un impacto considerable en salud pública y son un campo muy extendido de investigación. [4]

Escherichia Coli es, por lo tanto, el principal causante de infecciones del tracto urinario a nivel comunitario y hospitalario. La mayoría de estas infecciones están causadas por *E.coli* uropatógenos que son un patotipo específico dentro de la población de *E.coli* patogénico extraintestinal. [5]

En cuanto a su estructura, la cubierta celular de las enterobacterias está formada por una membrana citoplasmática externa correspondiente a una capa de fosfolípidos con proteínas intercaladas. Sobre ésta, se sitúa una capa de peptidoglicanos y, entre ellas, se encuentra el periplasma. Por encima, se sitúa la membrana externa formada por una bicapa de fosfolípidos intercalada con distintos componentes como el lipopolisacárido, lipoproteínas y porinas. Además presentan flagelos y fimbrias. [6]

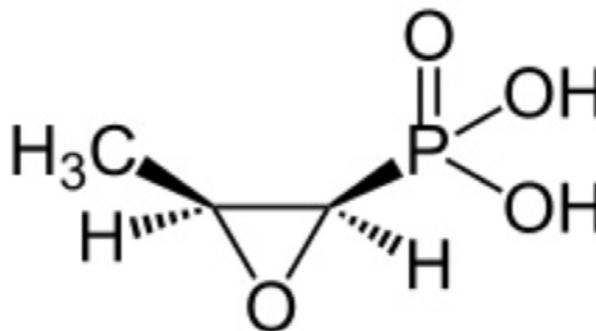


ESTRUCTURA DE LA BACTERIA

FOSFOMICINA

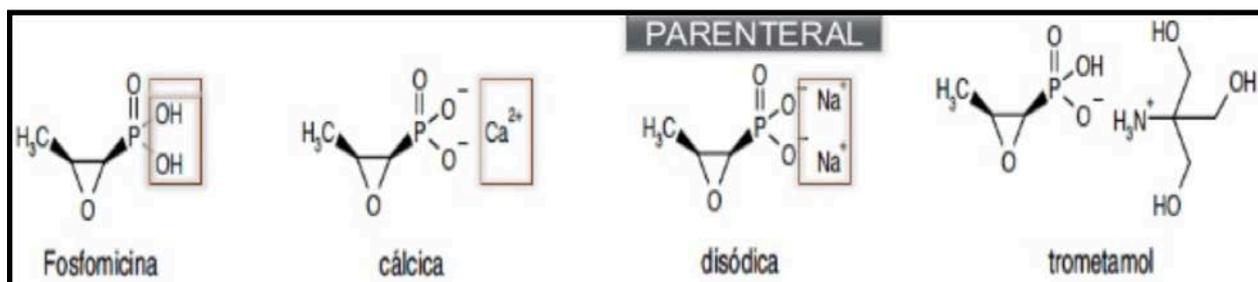
Hay una amplia diversidad de familias y grupos de antimicrobianos de interés clínico. Los mecanismos por los que los compuestos con actividad antibacteriana inhiben el crecimiento o causan la muerte de las bacterias son muy variados, y dependen de las dianas afectadas.

La fosfomicina es un antibiótico natural de estructura epoxídica con actividad bactericida, de amplio espectro y buena tolerancia. Es una molécula muy simple y pequeña, con alto grado de difusión, es polar lo que asegura su solubilidad. Derivada del ácido propiónico, cuya fórmula corresponde a la de un epóxido con una particularidad química no presente en los compuestos fosforados orgánicos y es la unión directa sin enlace de oxígeno entre carbono y fósforo. En general, son poco tóxicos por actuar selectivamente en una estructura que no está presente en las células humanas.



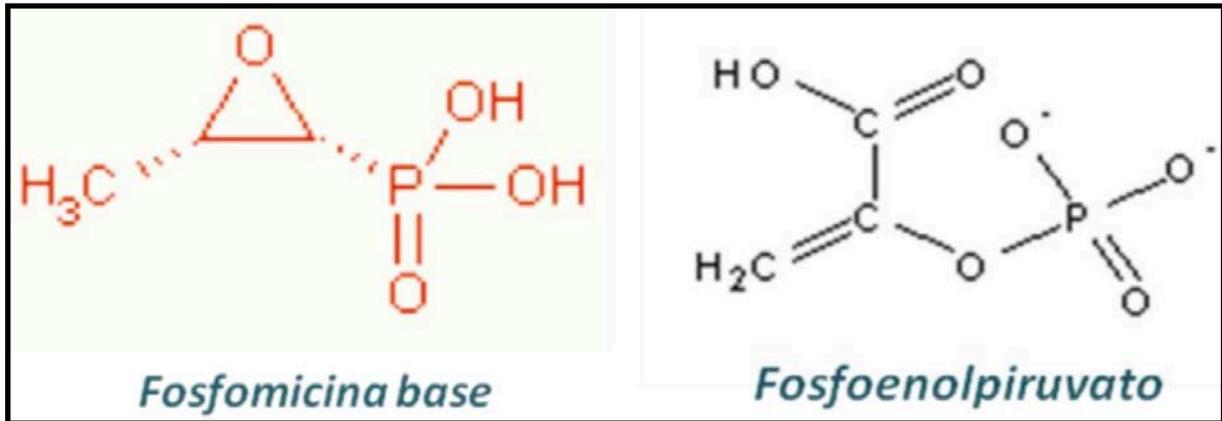
La importancia de la fosfomicina radica en no tener resistencia cruzada con otros antibióticos y tener actividad sinérgica con la mayoría de los mismos. Esta situación permite superar ese temor a la resistencia mediante pautas de combinación.

Actualmente es el antibiótico de elección para el tratamiento de cistitis. Y se comercializa en tres presentaciones: una forma intravenosa que corresponde a la sal disódica y dos presentaciones orales, la sal de trometamol y la sal cálcica. [7] [8]

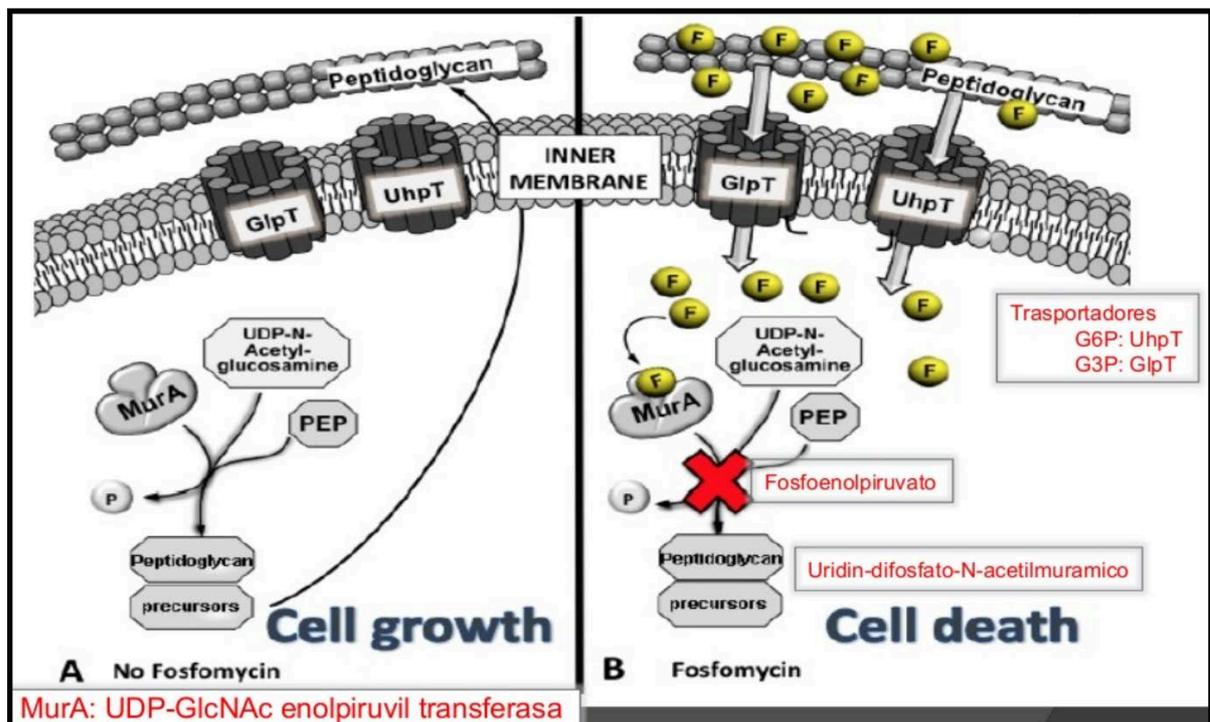


MECANISMO DE ACCIÓN

La fosfomicina actúa inhibiendo la piruviltransferasa, enzima causante de la adición del fosfoenolpiruvato a la molécula de UDP-NAG para formar el precursor UDP-NAM. Esta reacción se inhibe porque la fosfomicina, que es un análogo estructural del fosfoenolpiruvato, se une covalentemente con la enzima.



La fosfomicina atraviesa la membrana externa mediante las porinas, atraviesa la barrera de peptidoglicano sin dificultad debido a su pequeño tamaño y finalmente atraviesa la membrana citoplásmica a través de sistemas de transporte activo, uno de los cuales es de expresión inducible, que se favorece en presencia de glucosa-6-fosfato.

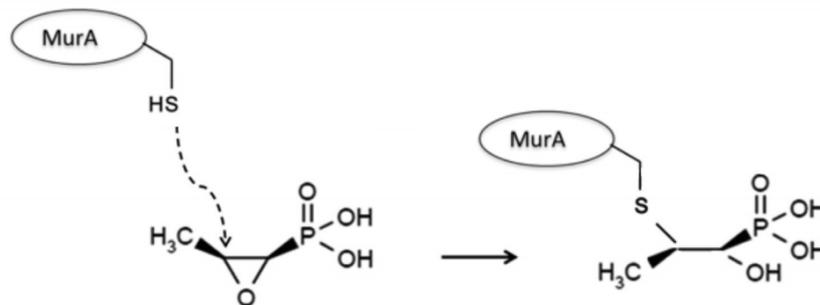
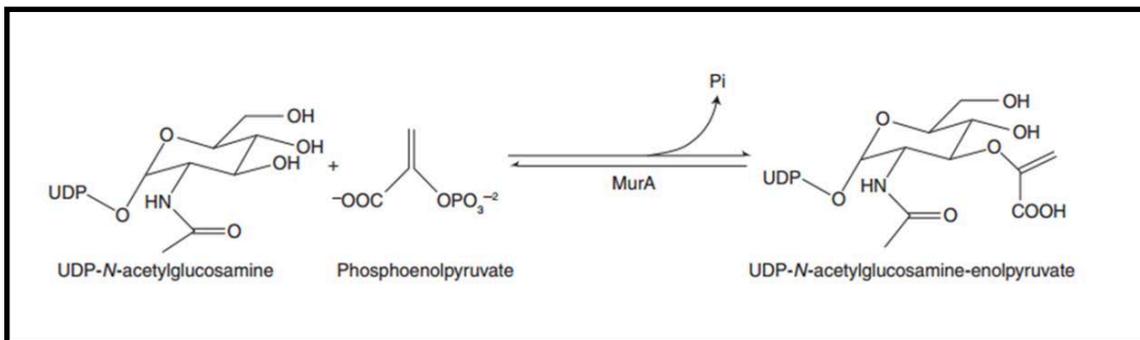


Por lo tanto, pertenece al grupo de antibióticos que inhiben la síntesis de la pared bacteriana. Más concretamente actúa en la etapa de síntesis de precursores de peptidoglicano.

La pared celular protege la integridad anatomofisiológica de la bacteria y soporta su gran presión osmótica interna. La ausencia de esta estructura condicionaría la destrucción del microorganismo, inducida por el elevado gradiente de osmolaridad que suele existir entre el medio y el citoplasma bacteriano.

Los antibióticos que inhiben la síntesis de la pared necesitan para ejercer su acción que la bacteria se halle en crecimiento activo, y para su acción bactericida requieren que el medio en que se encuentre la bacteria sea isotónico o hipotónico, lo que favorece el estallido celular cuando la pared celular se pierde o se desestructura.

En el citoplasma bacteriano se sintetizan los precursores del peptidoglicano a partir de diferentes elementos: uridindifosfato-N-acetil-glucosamina (UDP-NAG), ácido fosfoenolpirúvico, uridin-trifosfato (UTP) y NADH, a partir de los cuales se forma el ácidouridindifosfato-N-acetilmurámico (UDP-NAM). [8] [9]



MECANISMO DE ACCIÓN FOSFOMICINA

OBJETIVOS

Los objetivos actuales de este trabajo son:

1. La realización de una revisión bibliográfica a modo de introducción sobre los términos a los que hace referencia, siendo los mismos el modelado y docking moleculares, *Escherichia coli* y fosfomicina.
2. Visualizar y analizar por métodos computacionales las estructuras moleculares derivadas de la interacción de fosfomicina con varios receptores de *Escherichia coli* seleccionados previamente para determinar con cuál de ellos se acopla mejor. Así como visualizar uno de los receptores con otros dos antibióticos, levofloxacino y vancomicina.

METODOLOGÍA

En primer lugar, se ha realizado una revisión bibliográfica para el apartado de introducción y antecedentes usando como bases de datos PubMed, Scifinder, así como la colección digital de la biblioteca de la facultad.

En segundo lugar, para el estudio que nos ocupa mediante modelado molecular de la unión ligando-receptor, las bases de datos utilizadas para la obtención de los mismos han sido ChEBI, PubChem y Protein Data Bank (PDB); y los software para la ejecución del docking molecular y posterior estudio del complejo fueron Hex Protein Docking 6.0; UCSF Chimera , Jmol y Avogadro, respectivamente.

El método a seguir para llevar a cabo el modelado molecular es el siguiente:

1. Conocer la estructura tridimensional de los receptores previamente seleccionados para la molécula de fosfomicina. Se encuentran almacenados en una base de datos denominada Protein Data Bank. Se procede a su obtención en formato PDB que corresponde a las coordenadas de la molécula que serán reconocidas posteriormente por los software nombrados.
2. Determinar y obtener la estructura del ligando (fosfomicina) para su posterior uso en el estudio de la interacción con cada uno de los receptores. Se utiliza PubChem y ChEBI como bases de datos respectivamente.

3. Realizar el docking introduciendo los archivos generados anteriormente en el programa Hex Protein Docking. En primer lugar se introduce el receptor, después el ligando y se ejecuta.
4. Recoger los resultados de energía de cada una de las uniones ligando-receptor.
5. Una vez obtenidos los diferentes complejos ligando-receptor, se procede a su estudio mediante visualización interactiva y análisis de estructura molecular usando un visor Java de código abierto denominado Jmol, y un programa extensible UCSF Chimera.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este trabajo se basa en el estudio de la unión ligando-receptor correspondiente a la formación del complejo entre la molécula de fosfomicina y receptores de *Escherichia coli* presentes para la misma.

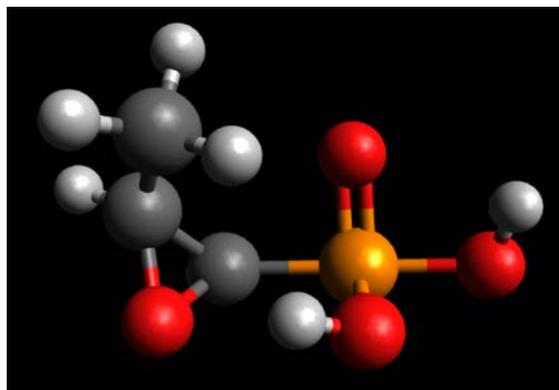
Posteriormente, se realiza un estudio comparativo, para ello se selecciona uno de los receptores, el más pequeño, el que menos número de átomos presenta, y se estudia su unión con otros dos antibióticos, siendo los mismos levofloxacino y vancomicina.

Para hacer el análisis del acoplamiento, necesitamos ambas estructuras que se ingresaran posteriormente en el programa adecuado.

El primer paso a seguir ha sido la obtención en formato PDB de la molécula de fosfomicina que actúa como ligando de la base de datos PubChem. También se puede descargar de Protein Data Bank, desensamblando de alguna proteína.

Se visualizó e identificó su estructura con el programa Avogadro, un editor y visualizador de moléculas:

- Nombre IUPAC: Ácido [(2R, 3S)-3-metiloxiran-2-il] fosfónico
- Fórmula molecular C₃H₇O₄P. Un ácido fosfónico que tiene un grupo (R, S)-1,2-epoxipropilo unido a fósforo.
- Grupos funcionales: oxígenos, carbonos, hidrógenos y fósforo.

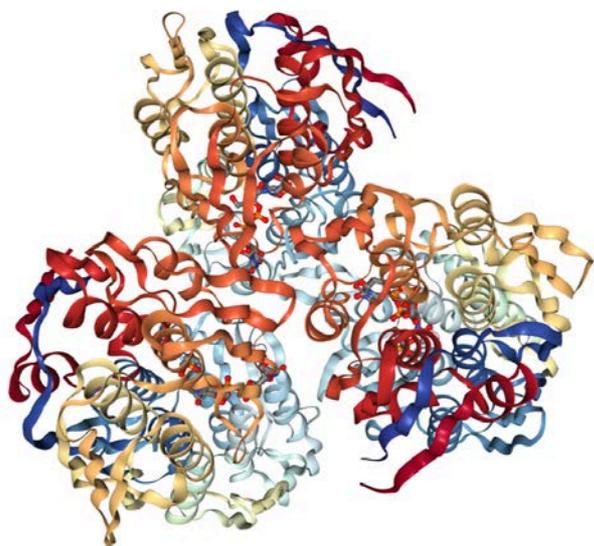


CHEBI:28915 - FOSFOMYCIN [10]

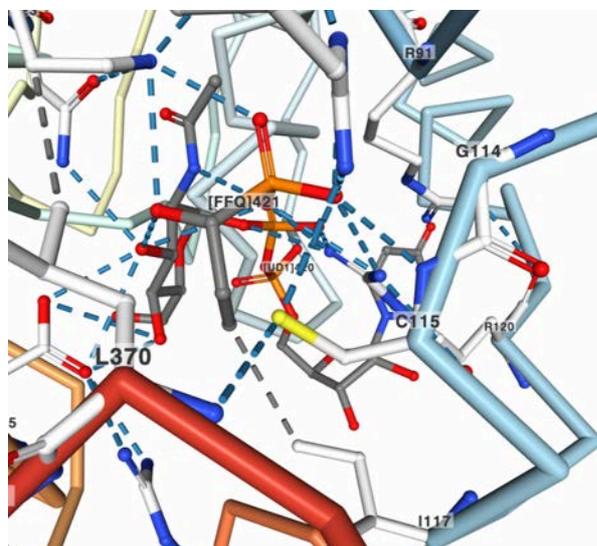
El segundo paso es la selección y posterior obtención en formato PDB de los receptores. Se introduce “fosfomicin receptor” en el buscador de Protein Data Bank. Es una herramienta muy importante con la que se cuenta hoy en día, corresponde a una base de datos que nos proporciona información sobre las estructuras tridimensionales de las proteínas:

- **PDB ID: 1UAE** “Structure of UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase.” [11]
MurA cataliza el primer paso comprometido de la biosíntesis de la pared celular bacteriana y es una diana para la fosfomicina en el organismo *Escherichia coli*.

El antibiótico inhibe dicha enzima que cataliza la formación de peptidoglicano.



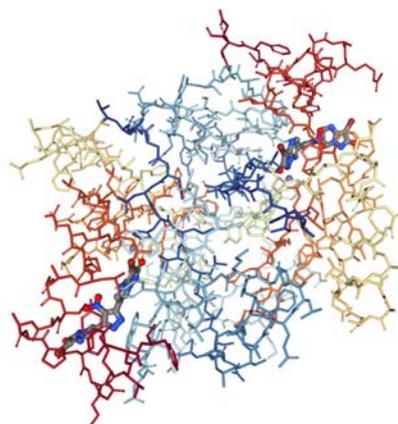
SIMULACIÓN 1UAE RECEPTOR



UNIÓN MURA FOSFOMICINA

- **PDB ID: 5WEP** “Crystal structure of fosfomicin resistance protein FosA3 inhibitor ANY1 bound” [12]

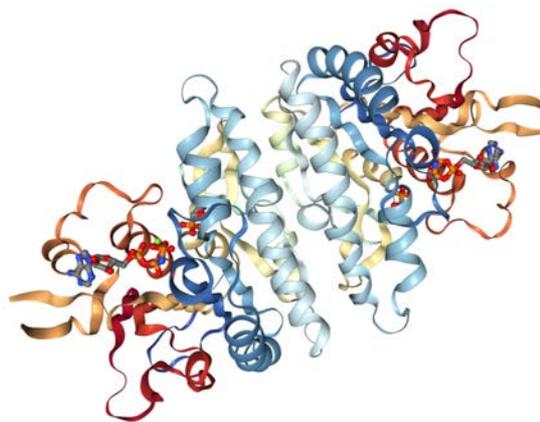
Es un polipéptido con una longitud de 144 residuos con actividad inhibido de la transferasa. Sistema de expresión es *E.coli*.



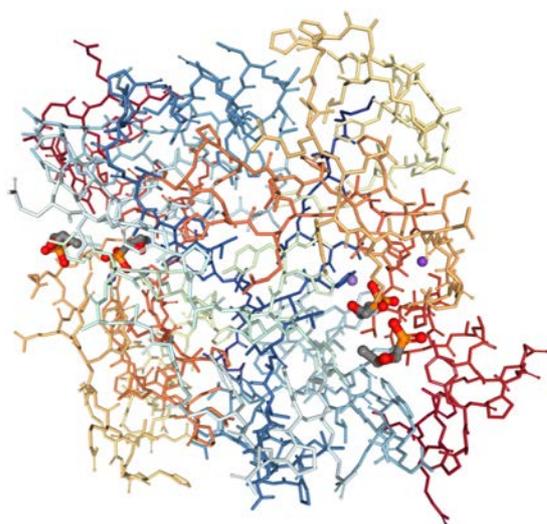
SIMULACIÓN 5WEP RECEPTOR

- **PDB ID: 3D41** “Crystal structure of fosfomicin resistance kinase FomA from *Streptomyces wedmorensis* complexed with MgAMPPNP and fosfomicin” [13]

Se trata de un polímero con una longitud de 286 residuos.



SIMULACIÓN DEL RECEPTOR 3D41



SIMULACIÓN RECEPTOR 1LQP

- **PDB ID: 1LQP** “Crystal structure of the fosfomicin resistance protein (FosA) containing bound substrate” [14]

Es un polímero con actividad transferasa con una longitud de 135 residuos. Organismo es *Pseudomonas aeruginosa*. Sistema de expresión *Escherichia coli* BL21 (se utilizan proteínas recombinantes por transformación genética).

En el caso que nos ocupa, mediante modelado molecular, que consiste en la representación digital de una molécula y sus interacciones, y teniendo en cuenta las propiedades fisicoquímicas de la proteína que actúa como receptor, se puede predecir la formación de complejos. En este caso lo que se busca es realizar el estudio de dicha unión ligando-receptor.

Se introduce cada receptor de los citados anteriormente en el software HEX Protein Docking, a continuación el ligando fosfomicina.

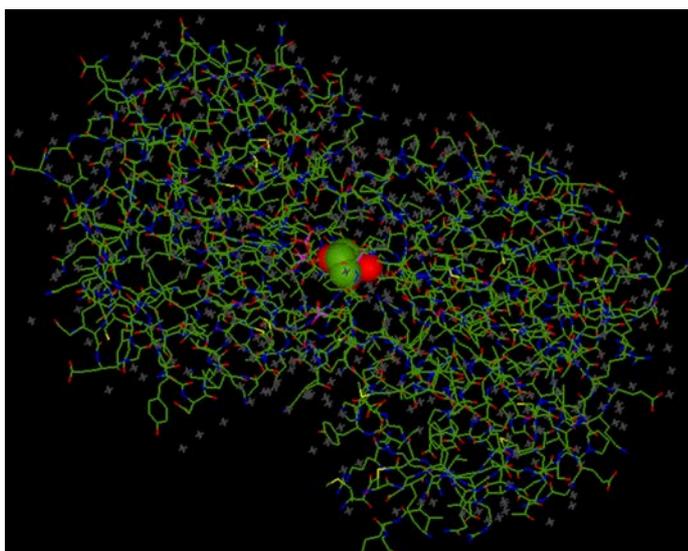
Se realiza el docking de cada uno de los complejos ligando-receptor por separado y se obtiene la energía total de cada sistema, parámetro que nos indica la estabilidad de la unión. Por lo tanto, aquel sistema que presente mayor energía negativa, que será por tanto el de menor energía en valor absoluto, será la conformación más estable.

Los resultados de energía de enlace entre ligando y receptor se expresan en hartrees porque es la unidad correspondiente a la mecánica cuántica en la cual se está trabajando. Se utiliza el método Hartree-Fock, afinitio que tiene en cuenta las funciones de onda y que considera las interacciones que hay entre el electrón más externo de cada átomo pero no el de los internos de la cadena nuclear efectiva. Si usáramos el método de densidad electrónica el tiempo empleado en realizar todos los cálculos sería mucho mayor.

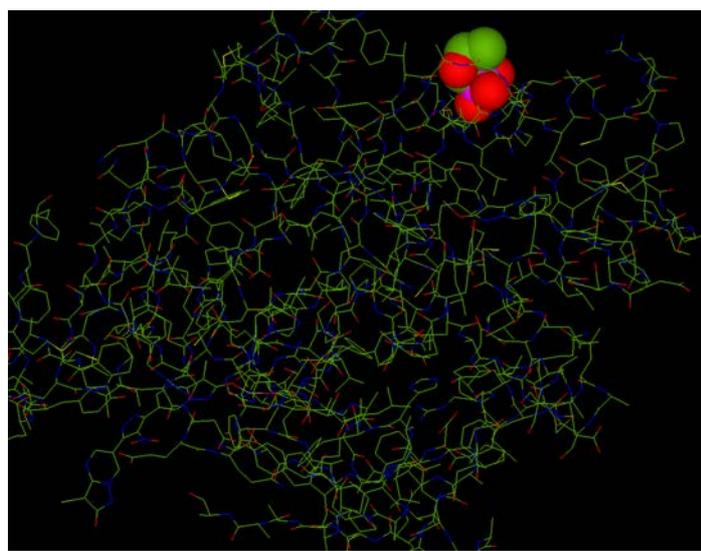
Energía de enlace entre los diferentes receptores y el ligando fosfomicina

1UAE	5WEP	3D41	1LQP
-137,22	-121,45	-112,90	-121,93

Con estos resultados se puede determinar que efectivamente los receptores seleccionados de *Escherichia coli* para fosfomicina son específicos. En base a los valores anteriores, podríamos afirmar que la conformación más estable es aquella formada por el receptor 1UAE pero no es así porque no hay diferencias de energía notable.

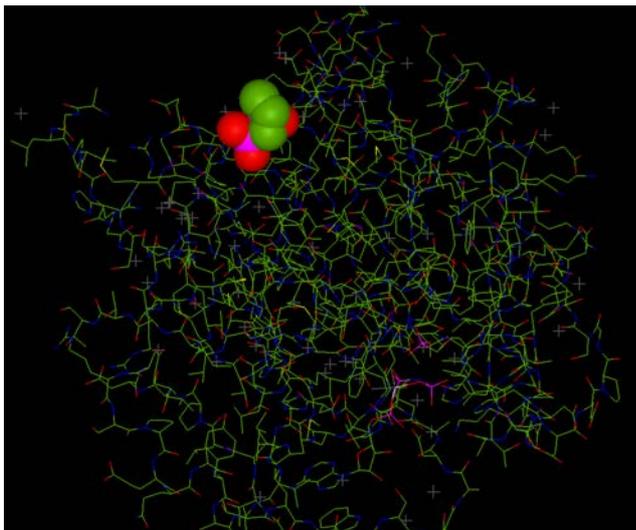


SIMULACIÓN DOCKING FOSFOMICINA- RECEPTOR 1UAE

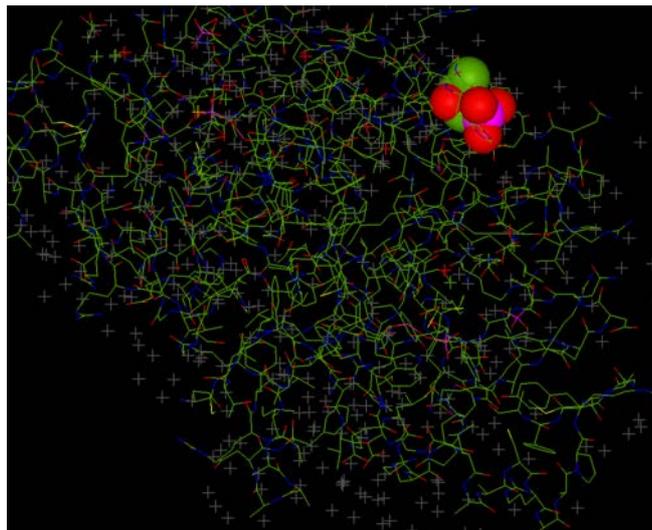


SIMULACIÓN DOCKING FOSFOMICINA-RECEPTOR 5WEP

Este trabajo tiene una finalidad docente. La Facultad de Farmacia y el/la Tutor/a no se hacen responsables de la información contenida en el mismo.



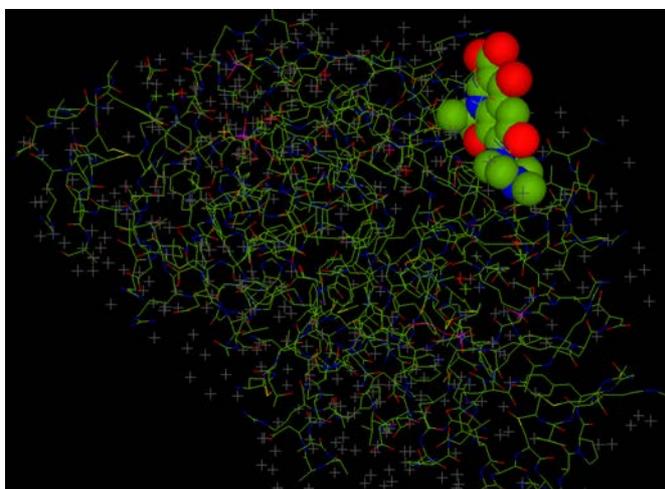
SIMULACIÓN DOCKING FOSFOMICINA-RECEPTOR 3D41



SIMULACIÓN DOCKING FOSFOMICINA RECEPTOR 1LQP

Para comparar estos datos y así afirmar que dichas uniones son estables y específicas, decidimos realizar otro docking. En este caso, seleccionamos el receptor más pequeño, 1LQP. Como ligando optamos por otros dos antibióticos comercializados que son levofloxacin y vancomicina. Se obtienen los siguientes resultados de elevada energía de enlace:

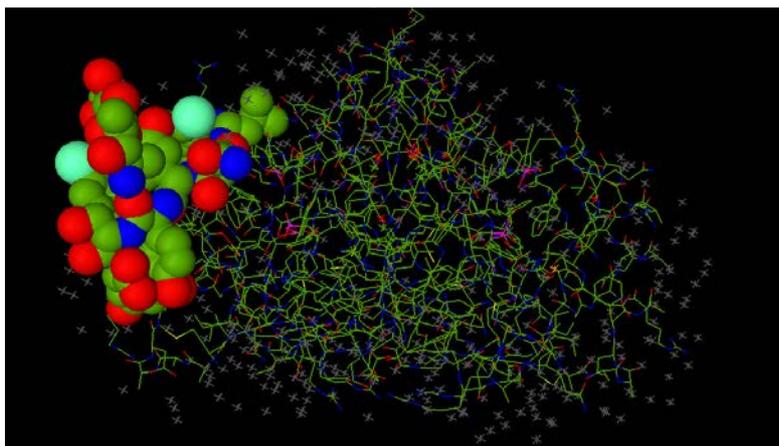
LEVOFLOXACINO	VANCOMICINA
-200,93	-316,09



DOCKING LEVOFLOXACINO RECEPTOR 1LQP.

En el caso del levofloxacin [15], pese al alto valor de energía, esa unión no es única, no es un receptor específico. El ligando sí que se acopla en la proteína pero no en el receptor específico porque lo hace de forma mucho más externa que en el caso de la fosfomicina.

En el segundo caso, el receptor 1LQP es inespecífico para vancomicina [16]. Se puede observar que se une de forma muy externa por lo que no presenta interacciones con el receptor, solo se une por fuerzas electrostáticas.



DOCKING VANCOMICINA RECEPTOR 1LQP

Una vez se tienen todos estos resultados, se estudian dos de las uniones estables introduciendo cada complejo en una herramienta bioinformática llamada Jmol que aplica diversas técnicas de análisis teórico para clasificarlas y estudiarlas. Además, se visualizan en el programa USDC Chimera.

Se comienza con el complejo **fosfomicina-5WEP** que presenta 2460 átomos, 2528 enlaces, 275 grupos, 4 cadenas y 6 polímeros.

Visualmente se analiza la unión ligando-receptor previamente en la imagen del docking, y vemos que existe un enlace de hidrógeno fuerte puesto que se presenta de forma corta. Este enlace se visualiza después con mayor exactitud y se observa que tiene lugar entre la fosfomicina y un residuo de arginina del receptor, con una longitud de 2.312 ángstrom.



PRESENTACIÓN COMPLEJO CINTAS

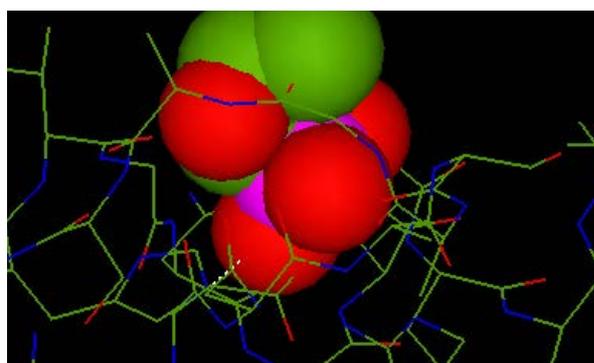


IMAGEN HEX DOCKING ENLACE DE HIDRÓGENO LIGANDO-RECEPTOR

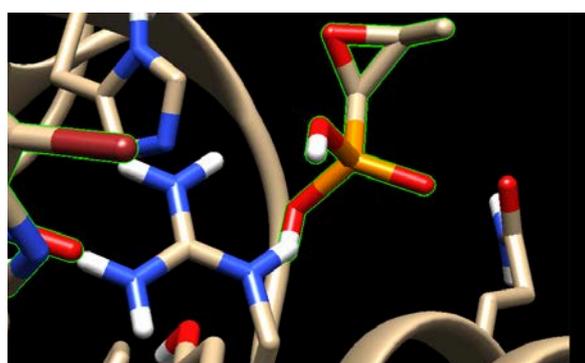
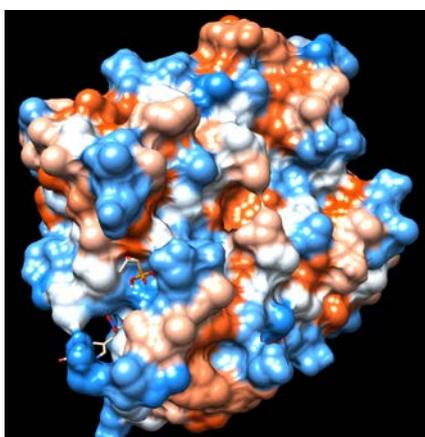


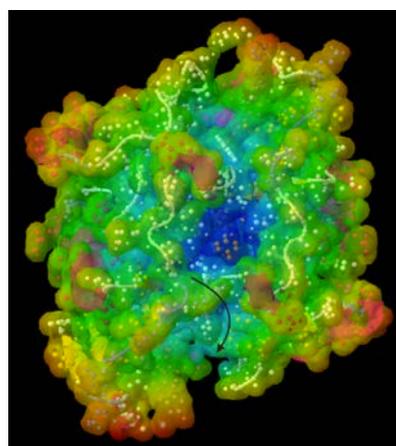
IMAGEN CHIMERA ENLACE DE HIDRÓGENO DEL COMPLEJO

Posteriormente, se distingue la superficie de hidrofobicidad de la proteína receptora donde podemos observar que las zonas coloreadas en azul corresponden a zonas hidrofílicas y las naranjas a zonas hidrofóbicas.

Por último, se determina el potencial electrostático que permite visualizar las regiones hacia las que se sentirán atraídas partículas cargadas positivamente (regiones de potencial electrostático negativo) o negativamente (regiones de potencial positivo). En este caso, observamos que la carga electrostática es positiva, representada en la imagen por color azul. Además se observa una hendidura inferior, marcada con una flecha, que muestra un probable lugar de unión en dicho receptor.

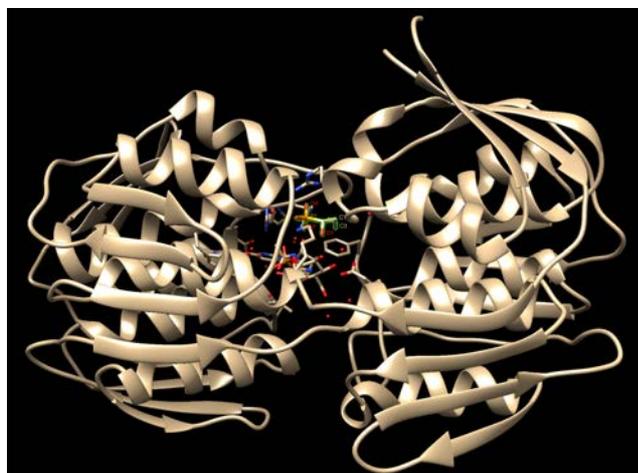


SUPERFICIE DE HIDROFOBICIDAD



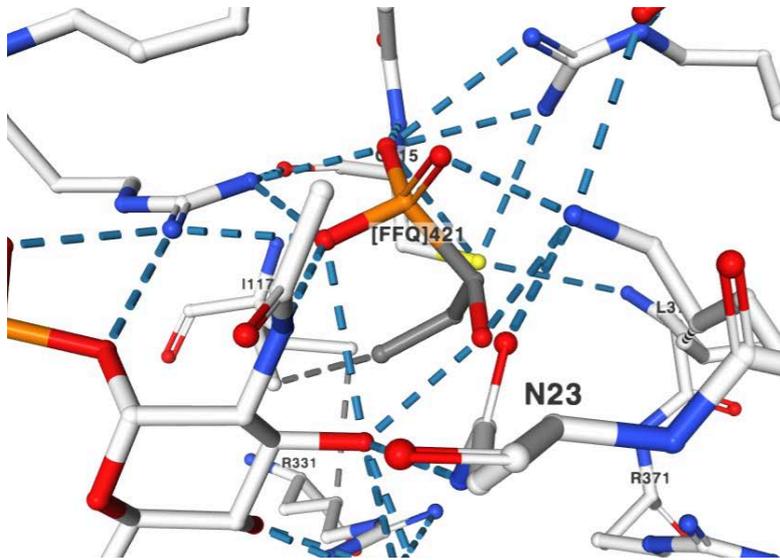
VISTA POTENCIAL ELECTROSTÁTICO

Por último, se estudia la unión del complejo **fosfomicina-1UAE** que presenta 4314 átomos, 3944 enlaces, 843 grupos, 1 cadena y 1 polímero.



PRESENTACIÓN DEL COMPLEJO FORMATO CINTAS

Para determinar el tipo de unión existente entre el receptor correspondiente y la molécula de fosfomicina, se procede a su estudio visual y molecular.



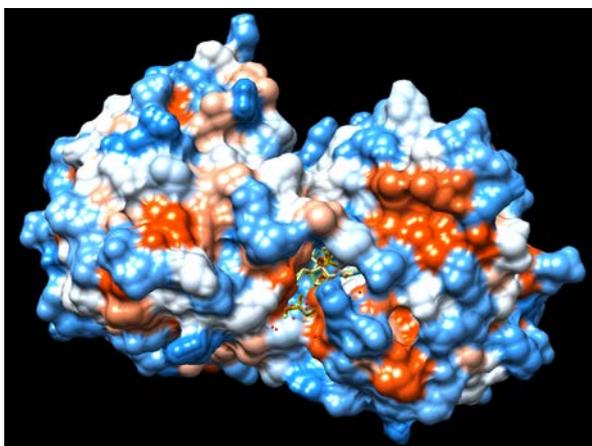
VISION DEL LIGANDO EN SU SITIO DE UNIÓN. LOS ENLACES DE HIDRÓGENO ESTÁN REPRESENTADOS EN COLOR AZUL.

La fosfomicina se une por los siguientes enlaces de hidrógeno:

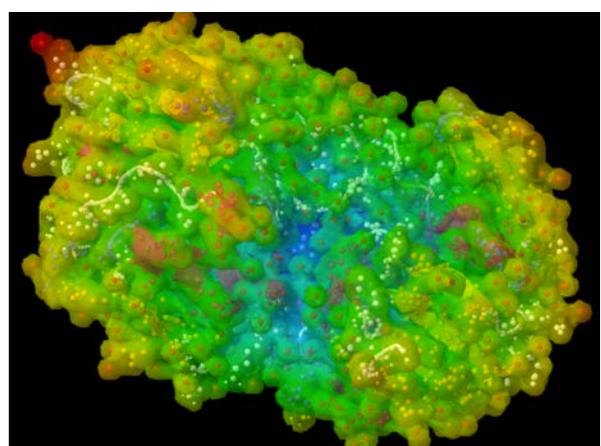
- El oxígeno 1 se une a lisina 22.
- A.O2 se une al residuo de arginina 120 en NH₁ y NH₂.
- A.O3 se une a lisina 22.
- A.O4 se une a arginina 120 por NH₁, a arginina 397 por NH₁ y por NH₂, y a un residuo de cistina115.

Siguiendo los mismos pasos que en el estudio del receptor anterior, se procede a visualizar la superficie de la proteína donde se distinguen las zonas hidrofóbicas, representadas en la figura de color naranja, y las zonas hidrofílicas de color azul.

En cuanto al potencial electrostático, se observa que también es positivo debido al predominio de zonas azules y verdes correspondientes a zonas de carga positiva.



HIDROFOBICIDAD DE LA SUPERFICIE DE LA PROTEÍNA



VISTA DEL POTENCIAL ELECTROSTÁTICO

CONCLUSIONES

- El progreso en los avances computacionales hace del docking molecular un campo en constante mejora, por lo tanto, su aplicación se extiende a diferentes áreas del descubrimiento de fármacos. Son una herramienta informática predictiva que permite acercarse a la realidad, de tal forma que se pueden llevar a cabo experimentos químicos en el ordenador en lugar de hacerlo en laboratorios físicos, lo que supone un gran ahorro.
- La fosfomicina se ha posicionado como una alternativa a considerar en el tratamiento de las resistencias bacterianas causadas por los antibióticos de nueva generación tanto por su actividad sostenida frente a microorganismos resistentes como por sus propiedades farmacocinéticas. Su modelo terapéutico, dada su seguridad y actividad, es la infección del tracto urinario.
- Las células poseen en su superficie una serie de receptores proteicos con una forma muy determinada en la que interaccionan o encajan las moléculas señalizadoras poniendo en marcha mecanismos moleculares que dan lugar a una respuesta.
- El objetivo esencial es alcanzar una conformación óptima tanto para el receptor como para su ligando haciendo que la orientación entre ambos minimice la energía libre de la unión.
- Se ha comprobado que la fosfomicina se une a receptores de *Escherichia coli* pero no hay diferencias de energía notables para determinar cuál de ellos es el más específico.
- Los receptores son inespecíficos para levofloxacino y vancomicina. Estas uniones son cinéticamente más inestables desde el punto de vista de la dinámica molecular. Cabe destacar que en el presente trabajo se trata de términos termodinámicos, no cinéticos.
- El estudio posterior de los docking moleculares fue centrado sobre el tipo de enlace que se produce, la hidrofobicidad de la proteína y el potencial electrostático dando lugar a una información que permite ampliar el conocimiento sobre estas dos uniones específicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sanchez Montero, JM. Metodologías de modelado molecular en el diseño, síntesis y explicación racional de resultados. *Analesranf* [internet]. 2016 [citado 2019]; 82(2): 168-184. Disponible en: <https://www.analesranf.com/index.php/aranf/article/view/1708/1731>
2. Meng XY, Zhang HX, Mezei M y Cui M. Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug Discovery. NCBI (National Center for Biotechnology Information) [Internet]. 2011 [citado 2019]; 7(2): 146-157. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3151162/>
3. Puerta-Garcia A y Mateos-Rodriguez F. Enterobacterias. *Medicine* [internet]. 2010 [citado 2019]; 10(51): 3426-3431. Disponible en: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf
4. Vidal J, Canizález-Roman A, Gutierrez-Jimenez J, Navarro-García F. Patogénesis Molecular, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena. *Salud Pública Méx.* [internet]. 2007 [citado 2019]; 49(5): 376-386. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/spm/v49n5/a08v49n5.pdf>
5. Bennett J. Infecciones del tracto urinario. En: Bennet J, Dolin R y Blaser M. *Mandel, Douglas y Bennett. Enfermedades Infecciosas. Principios y Practica.* 8° ed. USA: Elsevier; 2015. 919-948.
6. Murray P. Bacilos aerobios gramnegativos fermentadores. En: Murray P. *Microbiología Medica Basica.* 1ª ed. USA: Elsevier; 2018. 52-64.
7. Ema.europa.eu [Internet]. UE: European Medicines Agency; 2018 [actualizado 13 Dic 2018; citado 2019]. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/referrals/fosfomicin-containing-medicinal-products>
8. Mediavilla A. Macrólidos. Cetólidos. Lincosamidas. Tetraciclinas. Cloranfenicol. Otros antibióticos. En: Florez J, Armijos J A y Mediavilla A. *Farmacología Humana.* 6ª ed. España: Elsevier Masson; 2013. 1023-1025.
9. Brenner G. Inhibidores de la síntesis de la pared celular bacteriana. En: Brenner G y Stevens C. *Farmacología Basica.* 5ª ed. USA: Elsevier; 2019. 437-447.
10. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Fosfomicin, CID=446987, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Fosfomicin> (accessed on April, 2019)
11. Skarzynski, T., Mistry, A., Wonacott, A., Hutchinson, S.E., Kelly, V.A., Duncan, K. (1996). Structure of UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase, an enzyme essential for the synthesis of bacterial peptidoglycan, complexed with substrate UDP-N-acetylglucosamine and the drug fosfomicin. 4: 1465-1474
12. Tomich, A.D., Klontz, E.H., Deredge, D., Barnard, J.P., McElheny, C.L., Eshbach, M.L., Weisz, O.A., Wintrode, P., Doi, Y., Sundberg, E.J., Sluis-Cremer, N. (2019). Small-Molecule Inhibitor of FosA Expands Fosfomicin Activity to Multidrug-Resistant Gram-Negative Pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.* 63.
13. Pakhomova, S., Bartlett, S.G., Augustus, A., Kuzuyama, T., Newcomer, M.E. (2008). Crystal Structure of Fosfomicin Resistance Kinase FomA from *Streptomyces wedmorensis*. *Journal of Biological Chemistry.* 283: 28518-28526 Rife, C.L.
14. Pharris, R.E., Newcomer, M.E., Armstrong, R.N. Crystal structure of a genomically encoded fosfomicin resistance protein (FosA) at 1.19 Å resolution by MAD phasing off the L-III edge of TI(+). (2002). *Journal of the American Chemical Society.* 124: 11001-11003.
15. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Levofloxacin, CID=149096, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Levofloxacin> (accessed on May, 2019).
16. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Vancomycin, CID=14969, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vancomycin> (accessed on May, 2019).