



**Somos calidad,
somos USC**

**Cribado virtual y Docking Molecular de nuevos inhibidores de la β -lactamasa
BlaC de *Mycobacterium tuberculosis*.**

Autoras

Camila Angulo Rincón, Hillary Camargo Gutiérrez.

Químicas farmaceuticas.

Directores

**Yhors Alexander Ciro
Yesid Armando Aristizabal Salazar**

**Grupo de Investigación
QUIBIO**

**Línea de Investigación
Desarrollos tecnológicos y biotecnológicos.**

**Facultad de Ciencias Básicas
Programa de Química Farmacéutica.
Universidad Santiago de Cali
Santiago de Cali - Colombia
2026**

IMPACTOS

IMPACTO	PRODUCTO	BENEFICIARIO(S)
Económico	Reducción de costos en fases iniciales de desarrollo de fármacos mediante el cribado virtual.	Industria farmacéutica, sistema de salud, pacientes
Responsabilidad social	Desarrollo de conocimiento para la búsqueda de nuevos tratamientos contra la tuberculosis.	Población afectada por la tuberculosis, comunidades vulnerables
Científico	Identificación de potenciales inhibidores de la enzima BlaC mediante docking molecular.	Comunidad científica, investigadores en microbiología y farmacología
Indicadores de Gestión	Metodología reproducible de cribado virtual y análisis computacional de ligandos.	Grupos de investigación, universidades
Tecnológico	Uso de Software de docking molecular y herramientas bioinformáticas (AutoDock, Discovery Studio, etc.)	Centros de investigación, laboratorio de bioinformática
Técnico	Generación de protocolos computacionales para evaluación de interacciones ligando-proteína.	Investigadores y estudiantes en ciencias farmacéuticas
Ambiental	Reducción del uso de pruebas experimentales iniciales en laboratorio (menor uso de reactivos).	Medio ambiente, laboratorio de investigación
Social	Contribución al desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas contra la tuberculosis resistente.	Pacientes, sistema de salud pública
Cultural	Fortalecimiento de la cultura investigativa en ciencias farmacéuticas y biomédicas.	Comunidad académica, estudiantes

CRIBADO VIRTUAL Y DOCKING MOLECULAR DE NUEVOS INHIBIDORES DE LA β -LACTAMASA BLAC DE *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*.

Camila Angulo Rincón ¹ (camila.angulo01@usc.edu.co), Hillary Camargo Gutierrez ² (hillary.camargo00@usc.edu.co)

¹Grupo de Investigación en Química y Biotecnología (QUIBIO). Programa de Química Farmacéutica. Facultad de Ciencias Básicas. Universidad Santiago de Cali. Campus Pampalinda Calle 5 # 62-00. Santiago de Cali. Colombia

RESUMEN

La tuberculosis multirresistente (TB-MDR) representa un desafío para la salud pública mundial debido a la resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* a fármacos de primera línea. La β -lactamasa BlaC constituye uno de los mecanismos de resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* frente a los antibióticos β -lactámicos mediante su actividad enzimática, modifica e inactiva los antibióticos β -lactámicos, limitando su uso terapéutico en el tratamiento de la enfermedad. El objetivo de este estudio fue evaluar, mediante diseño *in silico*, compuestos inhibidores potenciales de BlaC como alternativa terapéutica. Se empleó acoplamiento molecular con la estructura cristalográfica BlaC obtenida del Protein Data Bank (PDB), analizando afinidad de unión e interacciones proteína ligando. Los ligandos se filtraron por propiedades farmacocinéticas, similitud estructural, farmacóforos y afinidad. Se seleccionó un top 20, cuyos valores de afinidad fueron superiores a los inhibidores de referencia Avibactam, Relebactam y Durlabactam. La molécula M2122 presentó la mayor afinidad de unión (-9,034 kcal/mol), seguida por los compuestos diazabicyclooctano (DBO) M1093 y M1890. Predominaron enlaces de hidrógeno (66,2%), destacándose residuos SER84 THR253 e ILE117.

Palabras clave: Tuberculosis multirresistente, *Mycobacterium tuberculosis*, acoplamiento molecular, diseño *in silico*, DBO.

VIRTUAL SCREENING AND MOLECULAR DOCKING OF NEW INHIBITORS OF THE β -LACTAMASE BLAC FROM *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*.

ABSTRACT

Multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) represents a major global public health challenge due to the resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to first-line drugs. The β -lactamase BlaC constitutes one of the resistance mechanisms of *Mycobacterium tuberculosis* against β -lactam antibiotics. Through its enzymatic activity, BlaC modifies and inactivates β -lactam antibiotics, limiting their therapeutic use in the treatment of the disease. The aim of this study was to evaluate potential BlaC inhibitory compounds as a therapeutic alternative through an *in silico* approach. Molecular docking was performed using the crystallographic structure of BlaC obtained from the Protein Data Bank (PDB), analyzing binding affinity and protein-ligand interactions. Ligands were filtered according to pharmacokinetic properties, structural similarity, pharmacophore features, and affinity. A top 20 compounds were selected, showing higher affinity values than the reference inhibitors Avibactam, Relebactam, and Durlabactam. Molecule M2122 exhibited the highest binding affinity (-9.034 kcal/mol), followed by the diazabicyclooctane (DBO) compounds M1093 and M1890. Hydrogen bonds predominated (66.2%), with SER84, THR253 and ILE117 identified as the most relevant interacting residues.

Keywords: Multidrug-resistant tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, molecular docking, *in silico* design, DBO.

1. INTRODUCCIÓN

La tuberculosis (TB) causada por el microorganismo *Mycobacterium tuberculosis*, sigue siendo un problema importante de salud pública global, a pesar de los avances en tecnologías diagnósticas y la disponibilidad de quimioterapias eficaces. A nivel global se estima que una cuarta parte de la población ha estado en contacto con *M. tuberculosis*. Entre el 5% y 10% desarrollan la enfermedad activa, mientras que el 90% de las personas infectadas no enferman, es decir, tienen la infección latente y el sistema de defensas es capaz de controlar la multiplicación de la bacteria. En personas que viven con VIH este riesgo puede incrementarse del 5% al 10% anual dependiendo de su estado inmune. Esto aumenta las probabilidades de contraer TB activa, así mismo cambia la gravedad, letalidad y manejo que se le da a la enfermedad. [1]

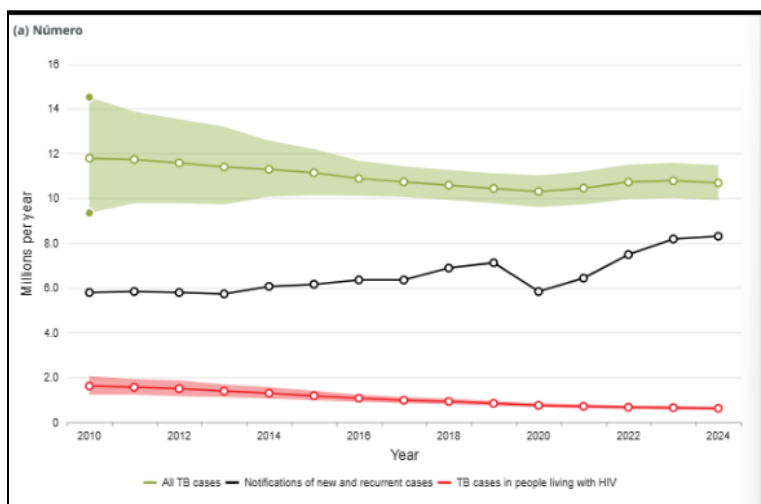


Figura 1. Tendencia mundial en el número estimado de casos incidentes de tuberculosis, 2010-2024. [2]

La figura 1 muestra la tendencia a nivel mundial en el número estimado de casos incidentes de tuberculosis desde el 2010 al 2024, se pudo observar que en 2020 se detectaron 5.835.712 millones de nuevos casos, en 2021 fueron 6.434.672 y en 2024 fueron 8.304.648, no hay una disminución de la tendencia de casos nuevos y recurrentes de tuberculosis para 2024 a comparación de tiempos de COVID 19. En Colombia se notifican casi 13 mil casos de TB con una incidencia de 31 casos por cada 100.000 habitantes. La incidencia de TB-MDR en 2019 fue de 1,2 casos por 100.000 habitantes [3]. En 2023 se diagnosticaron 593 casos según SIVIGILA, con una variación del 27% respecto al 2022 (126 casos). Estos resultados demuestran el desafío en el país para el control de la enfermedad y su incremento significa una amenaza importante en el sistema de salud pública. [4]

Hablamos de tuberculosis multirresistente (TB-MDR) a la forma de tuberculosis causada por cepas de *M. tuberculosis* que presenta resistencia, al menos, a los dos fármacos de primera línea más utilizados en su tratamiento; Isoniazida y Rifampicina. [5] Estos han sido el pilar del tratamiento de la TB. Sin embargo, la larga duración del tratamiento (al menos de 6 meses para TB sensible a fármacos y de 18-24 meses para TB resistente), la toxicidad y aumento de farmacorresistencia han evidenciado limitaciones en el enfoque actual del desarrollo de nuevos tratamientos. [6]

Mycobacterium tuberculosis codifica una única enzima betalactamasa de clase A, también considerada una betalactamasa de espectro extendido (BLEE), denominada BlaC [7], que es capaz de hidrolizar los antibióticos β -lactámicos, limitando su uso para el tratamiento de la enfermedad. [8] BlaC es una β -lactamasa de clase A perteneciente a las serina-betalactamasa, estas tienen un anillo de serina en sus sitios activos para la catálisis, hidrolizan el anillo β -lactámico a través de un mecanismo de reacción bimolecular que implica un intermediario covalente. En el sitio activo de la enzima, se encuentra una triada catalítica, conformada por una serina (Ser), un aminoácido ácido (generalmente glutamato o aspartato) y un aminoácido básico (generalmente lisina), estos son encargados de dar lugar y estabilizar

el proceso catalítico, permitiendo la capacidad de inactivar antibióticos [9]. Los antibióticos β -lactámicos no forman parte del tratamiento convencional de la tuberculosis; sin embargo, la enzima BlaC constituye un mecanismo de resistencia de *Mycobacterium tuberculosis*, ya que es capaz de hidrolizar estos antibióticos mediante residuos catalíticos localizados en su sitio activo. Esta característica convierte a BlaC en un blanco molecular de interés para la búsqueda de inhibidores capaces de bloquear su actividad enzimática e interferir con su función biológica.

Hasta la fecha, son escasos los estudios que han explorado sistemáticamente esta estructura como blanco molecular para la búsqueda de nuevos inhibidores. Es importante la búsqueda y descubrimiento de nuevos inhibidores de β -lactamasas para combatir la resistencia a los antibióticos β -lactámicos. [10]. Los compuestos del grupo diazabicyclooctano (DBO) fueron utilizados como base estructural para la búsqueda y construcción de la librería, partiendo de moléculas de referencia como Avibactam, Relebactam y Durlabactam, considerando su potencial como inhibidores no β -lactámicos capaces de acilar reversiblemente el sitio activo del residuo de serina contra la betalactamasa [11], es posible que compuestos con características estructurales adecuadas presenten afinidad por la enzima BlaC de *M. tuberculosis*. La interacción de estos compuestos con el sitio activo podría generar un efecto inhibitorio, posicionándose como potenciales candidatos en la búsqueda de inhibidores de β -lactámicos.

El docking molecular se ha convertido en una herramienta indispensable en la investigación científica moderna y en el descubrimiento de fármacos [12]. El aumento en el número de las estructuras proteicas cargadas en el PDB [13], ha permitido tener una amplia disponibilidad que contribuye a acelerar y optimizar los procesos de diseño de fármacos. Entre 2021 y 2025 se incorporaron anualmente más de 10.000 nuevas estructuras proteicas al repositorio, registrando 11.962, 10.361, 11.764, 12.077 y 12.538 estructuras, respectivamente, mientras que en lo que lleva del 2026 se han reportado más de 6.000 estructuras proteicas adicionales. Como resultado, el repositorio pasó de 161.795 estructuras en 2021 a más de 218.000 en 2026, evidenciando el crecimiento continuo de los recursos estructurales disponibles. [14] La amplia disponibilidad de estas estructuras tridimensionales facilita el análisis de las interacciones ligando-proteínas, siendo fundamental para simular la unión de compuestos con el sitio activo y evaluar las actividades inhibitorias.

En el contexto del desarrollo de nuevos tratamientos contra *M. tuberculosis*, las herramientas computacionales han sido ampliamente utilizadas para la identificación preliminar de compuestos con potencial actividad biológica entre ellas la inhibición de enzimas. Un ejemplo de estas aproximaciones es el estudio realizado en la Universidad CES, donde mediante técnicas de acoplamiento molecular se evaluó la interacción de compuestos con las proteínas de membrana MmpL-3 y MmpL-11 de *Mycobacterium tuberculosis*, implicadas en el transporte de lípidos y en la integridad de la pared celular [15]. Asimismo, diversos estudios *in silico* han explorado otros blancos terapéuticos como la β -lactamasa BlaC, una enzima clave en la resistencia a antibióticos β -lactámicos, mediante simulaciones de acoplamiento molecular y cribado virtual para identificar potenciales inhibidores [16].

Estas aproximaciones evidencian la utilidad del acoplamiento molecular como herramienta en la identificación de compuestos con potencial terapéutico. En este contexto, el presente estudio se enfoca en la β -lactamasa BlaC como blanco molecular, una enzima clave en los mecanismos de resistencia antimicrobiana de *M. tuberculosis*. A diferencia de otros blancos relacionados con procesos estructurales de la bacteria, como proteínas de transporte lipídico, BlaC participa directamente en la inactivación de antibióticos β -lactámicos, lo que la posiciona como un objetivo estratégico para el desarrollo de inhibidores que permitan contrarrestar la resistencia bacteriana.

En el proceso de descubrimiento y/o diseño de fármacos, las tasas de fracaso durante ensayos clínicos suelen ser elevados debido a factores como la toxicidad, baja eficacia terapéutica y propiedades farmacocinéticas deficientes. Además, los costos de investigación y desarrollo (I+D), han incrementado de manera considerable con el tiempo, en parte debido al endurecimiento de los requisitos regulatorios establecidos por entidades como la *Food and Drug Administration* (FDA), que han elevado los estándares de seguridad para reducir los riesgos asociados al uso de nuevos medicamentos. Frente a estas limitaciones, herramientas computacionales como el cribado virtual y el docking molecular han adquirido un papel fundamental, ya que permiten optimizar el proceso de descubrimiento de fármacos y

El objetivo de este estudio fue evaluar el potencial inhibitorio de diversos compuestos frente a la enzima β -lactamasa BlaC de *M. tuberculosis* mediante estrategias de cribado virtual y acoplamiento molecular (*Docking Molecular*), con el propósito de identificar posibles candidatos para el diseño y desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas orientadas a contrarrestar la resistencia antimicrobiana hacia *M. tuberculosis*.

Search results for beta-lactamase

COMPOUNDS 413 TARGETS 1.3 K ASSAYS 35 K DOCUMENTS 8.2 K CELL LINES 3 TISSUES 0

1,316 results

Figura 2. Categorización de resultados en ChEMBL.

- 2.1.2. Se realizó un filtrado general de resultados por grupo taxonómico, cuya coincidencia fuera del grupo de bacterias, tal como se observa en la figura 3.

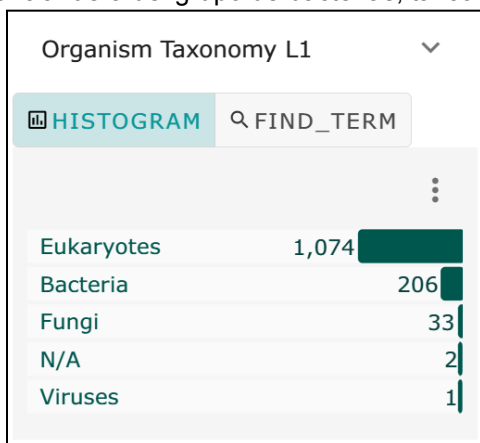


Figura 3. Filtro personalizado de ChEMBL por grupo taxonómico de primer nivel (L1).

- 2.1.3. Sobre los 206 resultados, se realizó una búsqueda manual sobre cada proteína (*Target*), y se descargaron los ligandos, cuya estructura base tuviera un DBO para cualquier ensayo de actividad biológica (*MIC*, *IC50*, *MEC*, *Activity*).
- 2.1.4. Para el diseño de nuevos ligandos diazabicyclooctanos (DBO), se cargaron los ligandos obtenidos de ChEMBL en el software DataWarrior V6.04 para ejecutar la herramienta *Build Evolutionary Library* (figura 4), el cual simula un proceso de evolución molecular en el que las estructuras iniciales son modificadas de manera iterativa mediante operaciones como adición, eliminación o sustitución de grupos funcionales. A lo largo de este proceso, el sistema selecciona las moléculas que cumplen con criterios previamente establecidos, permitiendo que estas “sobrevivan” y sirvan como base para la generación de nuevas estructuras en ciclos posteriores. [22]

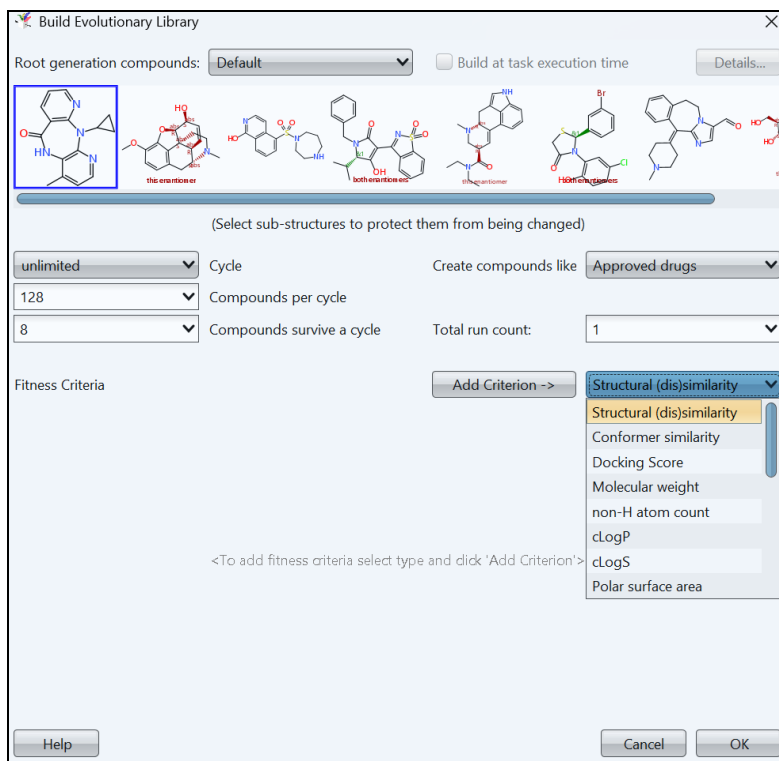


Figura 4. Construcción elibrería evolutiva en DataWarrior.

2.1.5. En la herramienta *Build Evolutionary Library* de DataWarrior se utilizaron los siguiente criterios de búsqueda, tal como se observa en la figura 4:

- **Ciclos:** Ilimitado (se detiene hasta llegar los 1500 ciclos)
- **Compuestos generados por ciclo:** 128
- **Compuestos sobrevivientes por ciclo:** 8.

2.1.6. Para el criterio de aptitud (*Fitness Criteria*) se seleccionaron los siguiente opciones:

- **Similitud estructural:** Con un valor del 80%
- Regla de Lipinski [23]:
- **cLogP:** menor a 5
- **Peso molecular:** menor a 500
- **Donadores de enlace de hidrógeno:** menor a 5
- **Aceptores de enlace de hidrógeno:** menor a 10

Regla de Veber [24]:

- **# Enlaces rotables:** menor a 10
- **Área de Superficie Polar:** menor a 140

Regla de Shultz-Vieth [25]:

- **# Anillos aromáticos:** menor a 5

2.2. Obtención de estructuras por el método de similitud estructural de PubChem

Se realizó la búsqueda por similitud de los diazabiciclooctano (DBO) obtenidos en la plataforma PubChem. (Utilizando la búsqueda avanzada en el menú de compuestos (compounds) *Search by structure similarity*.)

2.3. Generación de moléculas por la plataforma Pharmit [26]

2.3.1. Se cargarán los ligandos obtenidos en ChEMBL, en la plataforma Pharmit, para realizar una búsqueda de similitud basada en la naturaleza de densidad electrónica de los grupos funcionales representativos de los diazabiciclooctanos, basada en farmacóforos.

- i. Se realizó un filtrado basado en un modelo de farmacóforo combinado, construido directamente en la plataforma y con la librería Python ConPhar [27], basándonos en la metodología usada por Córdova et al [28]

2.4. Combinación de ligandos obtenidos en DataWarrior, PubChem y Pharmit

2.4.1. Se integraron los resultados de ligandos obtenidos de la plataforma de Pharmit, DataWarrior y PubChem, para ello se cargaron los resultados en diferentes formatos (.csv y .sdf) en el software DataWarrior.

2.4.2. Se eliminaron moléculas duplicadas a partir del descriptor InChI como cadena clave, se filtraron moléculas que cumplieran mínimo 3 de las 4 reglas de Lipinski y se guardaron los resultados en una única librería en formato sdf.

2.5. Separación y estandarización de librería de ligandos

2.5.1. Para automatizar el proceso de estandarización de los ligandos contenidos en la librería molecular generada en el paso 2.4, se utilizó código Python para automatizar el proceso de separación de los ligandos en archivos individuales.

2.5.2. Se utilizó la librería python RDKit para generar estructuras tridimensionales a partir de las estructuras 2D de los ligandos, minimizando cada uno de ellos con el campo de fuerza MMFF94. Posteriormente, cada ligando fue almacenado de forma individual en archivos en formato .sdf.

2.5.3. Se utilizó la librería python RDKit para leer los archivos sdf estandarizado y la librería python Meeko [29] para transformar los archivos SDF a formato PDBQT, añadiendo previamente hidrógenos polares y cargas de Gasteiger [30]

3. Acoplamiento molecular entre la β -lactamasa y los inhibidores potenciales

3.1. Se generó la *GridBox* sobre el sitio activo de la enzima β -lactamasa previamente limpia, utilizando la suite de AutoDockTools. [19]

3.2. Con las coordenadas del centro y el tamaño de la caja (*GridBox*), se cargó la información en un script Python para el cribado virtual sobre cada uno de los ligandos. Posteriormente se ejecutó el script, que en segundo plano también ejecuta *AutoDockVina* V1.2.7 [31] para el acoplamiento molecular entre la enzima β -lactamasa y los ligandos, ambos sobre archivos en formato .pdbqt.

- 3.3. Los resultados de energía de unión se guardaron en archivo .log individuales, para el proceso de análisis de resultados posterior al acoplamiento molecular.

4. **Análisis del Acoplamiento Molecular**

- 4.1. Se realizó la comparación de los valores de energía libre de Gibbs obtenidos para la librería de ligandos con los compuestos de referencia (avibactam, durlobactam y relebactam), con el fin de evaluar la afinidad relativa de unión al sitio activo de la β -lactamasa.
- 4.2. Se realizó la selección de los mejores 20 compuestos incluyendo las moléculas de control (Avibactam, Relebactam y Durlobactam), con los valores de energía libre de Gibbs más negativos, correspondientes al Top 20 del cribado virtual.
- 4.3. Se utilizó el software BIOVIA Discovery Studio Client versión 2021 [32], para identificar y analizar las interacciones intermoleculares de los complejos de la β -lactamasa y los ligandos. Este análisis permitió caracterizar los tipos de interacciones presentes en los complejos, incluyendo enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas e hidrofóbicas, con el fin de evaluar la estabilidad y el patrón de reconocimiento molecular en el sitio activo.
- 4.4. Se generaron representaciones gráficas en 2D y 3D de las interacciones moleculares entre la β -lactamasa y los inhibidores evaluados, incluyendo los compuestos de referencia.

2. RESULTADOS

El acoplamiento molecular permitió obtener información relacionada con la afinidad de unión, tipos de interacción (enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas e interacciones electrostáticas) y los residuos de aminoácidos involucrados en la estabilización de los complejos proteína- ligando frente a la β -lactamasa BlaC. Desde el punto de vista fisicoquímico, la energía de unión calculada considera las EI, las fuerzas de van der Waals, las interacciones de Coulomb y la formación de HB para predecir la fuerza del enlace o la afinidad de unión en la interacción ligando-receptor. [33] Valores más negativos indican sistemas más estables, lo cual ocurre cuando el ligando logra una complementariedad óptima con la cavidad enzimática, reduciendo la energía del sistema global. Estudios en β -lactamasas han demostrado que la estabilidad del complejo está fuertemente influenciada por interacciones no covalentes, especialmente enlace de hidrógeno y fuerza de dispersión. [34]

Los resultados evidenciaron diferencias en los valores de energía de unión como en los perfiles de interacción establecidos dentro del sitio activo, permitiendo la identificación de residuos que interactuaron.

Top	Ligando	Energía de unión (kcal/mol)	Tipo de Interacción			Interacciones de residuos
			Enlace de hidrógeno	Hidrofóbica	Electrostática	
1	M2122	-9.034	7	3	1	SER84, LYS87, ILE117, THR253, GLU182, SER142, TYR141, PRO119
2	M1933 (DBO)	-8.984	7	2	1	SER84, SER142, ASN186, THR253, GLU182, ILE117, TYR286
3	M116	-8.982	7	1	0	SER142, LYS250, THR251, THR253, SER84, ILE117
4	M1032 (DBO)	-8.926	5	1	2	SER84, ARG236, THR253, GLU182, ILE117, ASP255, PRO183
5	M25	-8.762	1	2	1	THR253, GLU182, ILE117
6	M2129	-8.737	4	7	1	LYS87, ASN186, ARG236, THR253, SER84, GLU182, PRO290, ILE117
7	M130	-8.616	3	2	1	THR251, THR253, ASP255, SER142, ILE117
8	M1190 (DBO)	-8.592	9	3	0	SER84, SER142, ASN186, THR253, ILE117, PRO183, ARG115
9	M1942 (DBO)	-8.519	7	1	0	ASN186, THR232, THR251, THR253, ILE117, ASP255
10	M1890 (DBO)	-8.518	11	1	0	SER84, ILE117, SER142, ASN186, LYS250, THR251, THR253, ASP255
11	M1770 (DBO)	-8.497	7	2	2	SER84, ILE117, SER142, THR253, ARG187, GLU182

12	M1845 (DBO)	-8.465	10	2	0	ILE117, ASN186, THR253, SER84, SER142, LYS250, ASP255, TYR286
13	M2268	-8.453	7	6	0	SER142, THR253, THR232, GLU182, ILE117, PRO183
14	M1948 (DBO)	-8.452	8	1	2	SER84, ILE117, SER142, THR253, TYR286, GLU182, THR251
15	M1873 (DBO)	-8.437	6	3	2	SER84, ILE117, SER142, THR253, ARG187, GLU182, PRO183
16	M1891 (DBO)	-8.409	7	2	2	SER84, ILE117, SER142, LYS250, THR253, PRO183, GLU182
17	M959	-8.394	6	3	1	SER84, LYS87, SER142, THR253, GLU182, ILE117, PRO183
18	M2018 (DBO)	-8.377	7	4	0	SER84, ASN186, THR253, ILE117, ASP255, PRO183
19	M2020 (DBO)	-8.377	7	4	0	SER84, ASN186, THR253, ILE117, ASP255, PRO183
20	M1093 (DBO)	-8.358	9	3	0	SER84, SER142, ASN186, THR253, ILE117, PRO183, ARG115
757	M1105 (Avibactam)	-7.275	8	2	0	SER84, THR253, GLY252, ILE117
1088	M1671 (Relebactam)	-7.021	13	2	0	ASN186, THR253, SER84, THR232, THR251, GLY252, GLU182, ILE117
1647	M997 (Durlobactam)	-6.608	9	1	0	SER84, THR253, THR232, GLY252, ASN186, ILE117

Tabla 1. Resultados del acoplamiento molecular de los ligandos con mayor afinidad de unión y compuestos de referencia

Se presentan los 20 ligandos con la mejor energía de unión, seleccionados a partir del cribado virtual de la librería creada por la combinación de moléculas de DataWarrior, similitud estructural en PubMed y caracterización de farmacóforos claves en Pharmit, donde finalmente se evaluó los más afines mediante el acoplamiento molecular, contrastando con inhibidores de referencia como control experimental (Avibactam, Relebactam y Durlobactam). Los ligandos fueron ordenados de mayor a menor afinidad, según los valores de energía de unión, bajo el criterio como mejor aquel con el valor más negativo. Estos valores de energía de unión oscilaron entre -9.034 y -6.608 kcal/mol.

Al analizar las características estructurales de los ligando seleccionados, se identificó una proporción importante corresponden a derivados tipo diazabiciclooctano (DBO). Los compuestos tipo DBO se caracterizan por una estructura relativamente rígida y por la presencia de grupos funcionales que favorecen la interacción con residuos catalíticos clave. Estos fueron considerados de especial interés dentro del conjunto analizado debido a su naturaleza estructural. En particular, las moléculas M1032, M1093, M1190, M1770, M1845, M1873, M1890, M1891, M1933, M1942, M1948, M2018 y M2020 presentan este tipo de estructura. Por otra parte, los ligandos M116, M130, M25, M959, M2122, M2129 y

M2268, no corresponden a estructuras tipo DBO. A pesar de esta diferencia, ambos grupos exhiben valores de afinidad de unión favorables, destacándose particularmente la molécula **M2122**, que presenta la mayor afinidad dentro del conjunto evaluado.

La molécula M2122 presentó la mayor energía de unión (-9.034 kcal/mol), es decir, la de mayor afinidad con la enzima, este comportamiento podría relacionarse con la capacidad del ligando para establecer interacciones con múltiples residuos distribuidos en distintas regiones de la cavidad activa, incluso, no solo con el núcleo catalítico, sino también con residuos periféricos. A diferencia de los demás compuestos derivados de DBO, cuya interacción está más restringida a un modo de unión más específico, estos ligandos que no son DBO pueden adaptar diferentes orientaciones dentro del sitio activo, sugiriendo que compuestos no DBO pueden alcanzar afinidades de unión comparables o superiores a los inhibidores clásicos, debido a una mayor complementariedad geométrica y fisicoquímica con el sitio activo de la enzima. [35] Este compuesto formó 7 enlaces de hidrógeno (**HB**), 3 HI y una única interacción electrostática (**EI**), interactuando con los residuos de aminoácidos (aa) SER84, LYS87, ILE117, THR253, GLU182, SER142, TYR141 y PRO119.

Las moléculas M1933 y M116, tuvieron resultados de -8.984 kcal/mol y -8.982 kcal/mol, respectivamente. Ambas registraron 7 interacciones de enlace de hidrógeno; sin embargo difieren en el número de interacciones. La molécula M116 presentó 1 interacción hidrofóbica y ausencia de interacciones tipo electrostática, interactuando con los residuos SER142, LYS250, THR251, THR253, SER84 e ILE117. Por su parte, la molécula M1933 presentó 2 HI y 1 electrostática, involucrando los residuos SER84, SER142, ASN186, THR253, GLU182, ILE117 y TYR286.

La molécula M1032 (-8.926 kcal/mol) presentó 5 HB, 1 interacción hidrofóbica y 2 electrostáticas. La molécula M25 con una afinidad de unión de -8.762 kcal/mol) presentó 1 enlace de hidrógeno, 2 HI y 1 electrostática, interactuando con los residuos THR253, GLU182 e ILE117, siendo la que tiene menor número de interacciones de aa.

Continuando con la molécula M2129 (-8,737 kcal/mol) presentó el mayor número de HI, acompañado de 4 HB y 1 electrostática, en interacción con los residuos LYS87, ASN186, ARG236, THR253, SER84, GLU182, PRO290, ILE117 de la proteína. La molécula M130 con -8.616 kcal/mol de afinidad de unión, presentó 3 HB, 2 HI y una electrostática, en interacción con THR251, THR253, ASP255, SER142, ILE117.

La molécula M1190 (-8.592 kcal/mol) presentó 9 HB y 3 HI, mientras que la molécula 1942 (-8.519 kcal/mol) mostró 7 HB y 2 HI. Ambas con ausencia de EI. Para ambas se registraron interacciones con los residuos de aa ASN186, THR232, THR251, THR253, ILE117, ASP255 y SER84, ILE117, SER142, ASN186, LYS250, THR251, THR253, ASP255, respectivamente.

La molécula M1890 (-8.518 kcal/mol) se resalta porque presentó 11 HB, evidenciando una fuerte contribución de estas interacciones. Las moléculas M1770 (-8.497 kcal/mol), M1948 (-8.452 kcal/mol), M1873 (-8.437), M1891 (-8.409) presentaron la mayor cantidad de EI (2), junto con la molécula M1032. Asimismo, la molécula M1845 con afinidad de -8.465 kcal/mol mostró 10 HB, posicionándose entre los compuestos con mayor número de este tipo de interacción.

La molécula M1891 mostró los tres tipos de interacciones, 7 HB, 2 HI y electrostáticas, también interacciones con los residuos de aa SER84, ILE117, SER142, LYS250, THR253, PRO183, GLU182. La molécula M959 (-8,394 kcal/mol) mostró ausencia de EI y 7 interacciones con HB y 4 HI.

Se encontraron 6 HI para la molécula M2286, presentando una afinidad de unión de -8.453 kcal/mol y 7 HB, también interactuó con los residuos de aa SER142, THR253, THR232, GLU182, ILE117, PRO183.

Las moléculas M2018 y M2020, presentaron los mismo valores tanto en afinidad (-8.377 kcal/mol) como en interacciones, incluyendo los residuos de aminoácidos involucrados SER84, ASN186, THR253, ILE117, ASP255, PRO183. La molécula M1093, presentó el menor valor de afinidad con un valor de

-8.358 kcal/mol, con 9 interacciones de HB, 3 HI e interacción con los residuos de aa SER84, SER142, ASN186, THR253, ILE117, PRO183, ARG115.

Por último, la molécula M1105 presentó 8 HB y 2 HI, sin EI, interactuando con los residuos SER84, THR253, GLY252 e ILE117. La molécula M1671 presentó 13 HB, siendo el mayor número dentro del conjunto total, junto con 2 HI y ausencia de EI, interactuando con los residuos ASN186, THR253, SER84, THR232, THR251, GLY252, GLU182 e ILE117. Por su parte, la molécula M997 presentó 9 HB, 1 interacción hidrofóbica y ninguna EI, interactuando con los residuos SER84, THR253, THR232, GLY252, ASN186 e ILE117. Las moléculas M1105 (-7.275 kcal/mol), 1671 (-7.021 kcal/mol) y 997 (-6.608 kcal/mol), correspondientes a los compuestos de referencia Avibactam, Relebactam y Durlobactam, presentaron valores de afinidad de unión menos negativos en comparación con los 20 mejores ligandos obtenidos en el acoplamiento molecular, esto puede explicarse porque estos fármacos no fueron diseñados específicamente contra BlaC. Las **β -lactamasas** presentan una alta variabilidad estructural, lo que implica que un inhibidor eficaz para una enzima puede no serlo para otra. Esta variabilidad es una de las principales causas de resistencia bacteriana, ya que pequeñas mutaciones pueden alterar la afinidad por los fármacos sin afectar la función enzimática. [36]

Adicionalmente, este comportamiento no debe interpretarse únicamente como una diferencia numérica en la energía libre de unión, si no como una consecuencia directa de la adaptación estructural y energética de los ligandos de los sitios activos de la enzima.

Los valores de afinidad del *top 20* se distribuyeron en un rango de -9.034 a -8.358 kcal/mol, excluyendo las moléculas de referencia. Dentro de este conjunto, la molécula M2122 registró -9.034 kcal/mol siendo el valor más negativo (mejor afinidad de unión) y la molécula M1093 registró -8.358 kcal/mol como el último del listado de los 20 mejores ligandos en términos de afinidad, en contraste con los compuestos de referencia (Avibactam, Relebactam y Durlobactam), cuyos valores correspondieron a -7.275, -7.021 y -6.608 kcal/mol, respectivamente, siendo estos ubicados por debajo del listado en términos de afinidad. Estos resultados sugieren una interacción favorable de los compuestos evaluados con el sitio activo de BlaC y respaldan su selección como candidatos potenciales. Sin embargo, es importante considerar que el acoplamiento molecular evalúa principalmente la afinidad de unión inicial entre ligando y proteína, sin modelar de forma explícita los eventos químicos posteriores involucrados en la inhibición enzimática. En el caso de los inhibidores tipo DBO, se ha reportado que la eficacia inhibitoria depende no solo de la afinidad inicial de unión, sino también de la formación y estabilidad del complejo covalente generado durante el proceso de inhibición. [37] Por tanto, los resultados obtenidos constituyen una aproximación útil para la priorización de compuestos candidatos, aunque no permiten predecir la actividad biológica final.

Por otra parte, la presencia simultánea de compuestos DBO y no DBO dentro del análisis indica que el cribado virtual permitió explorar un espacio químico amplio, lo cual es altamente deseable en procesos de descubrimiento de fármacos. Mientras que los compuestos DBO representan una estrategia de diseño racional basada en estructuras conocidas, los compuestos no DBO ofrecen la posibilidad de identificar nuevos scaffolds (la estructura base o núcleo químico de una molécula) con potencial inhibitorio, lo que podría contribuir al desarrollo de inhibidores más efectivos frente a **β -lactamasas** como **BlaC**. [38]

Se observa que todos los ligandos interactuaron con la proteína mediante una combinación de HB, HI y, en menor medida, EI, incluyendo las moléculas de referencia. En casi su totalidad, los HB se presentaron de forma predominante en la mayoría de los complejos, sugiriendo una participación importante de residuos polares localizados en la cavidad de BlaC. Los ligandos con afinidades similares presentan diferentes perfiles de interacción, esto puede explicarse por el equilibrio entre energía entálpica (interacciones) y energía entrópica (flexibilidad molecular). Un ligando muy rígido puede formar muchas interacciones, pero presenta una mayor penalización entrópica. En cambio, uno más flexible puede adaptarse mejor al sitio activo, logrando una afinidad similar con menos interacciones. [39]

Aunque el ligando rígido puede establecer un mayor número de interacciones específicas con los residuos del sitio activo como puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas o contactos electrostáticos, la afinidad final no depende únicamente de la cantidad de interacciones formadas. [40]

Durante el proceso de unión, la energía libre de enlace está determinada por el equilibrio entre contribuciones entálpicas y entrópicas. [41] Los ligandos rígidos suelen presentar una geometría pre organizada que favorece la formación de múltiples contactos favorables; sin embargo, la inmovilización adicional del complejo del complejo proteína-ligando puede generar una compensación entalpía-entropía que limita el aumento de afinidad. [42]

Por otra parte, se identificó un patrón de recurrente en los residuos de aminoácidos que interactúan, destacando SER84, THR253 e ILE117, aparecen de manera consistente en la mayoría, lo cual sugiere puntos clave de interacción dentro del sitio de unión. Asimismo, se encuentran los residuos como GLU182, SER142 y ASN186 con alta frecuencia entre las interacciones.

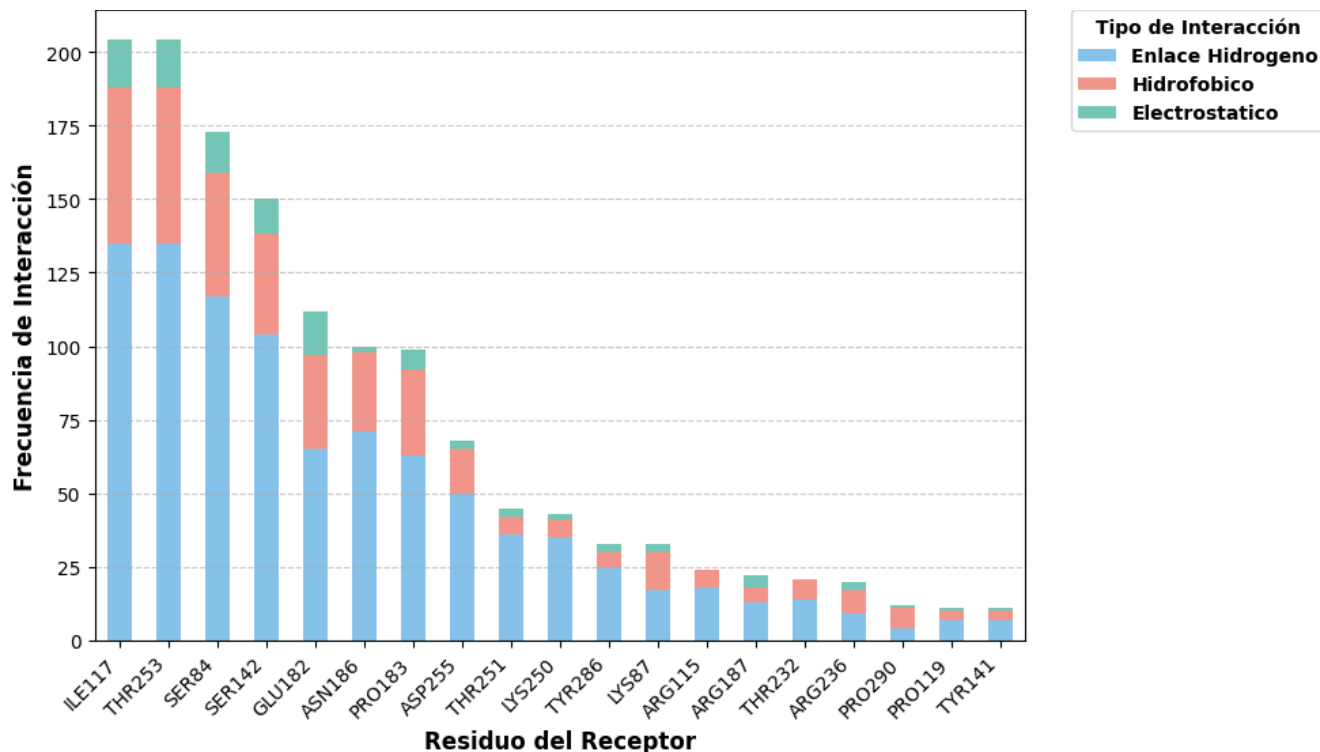


Figura 5. Perfil de Interacciones Intermoleculares por residuo de β -lactamasa.

La Figura 5 presenta el perfil de interacciones intermoleculares por residuo de la enzima β -lactamasa, discriminando por interacciones de tipo enlace de hidrógeno, hidrofóbica y electrostática. Se observó que los residuos ILE117, THR253, SER84 y SER142 son los de mayor frecuencia total de interacciones dentro de los ligandos analizados.

La recurrencia de interacciones con el residuo SER84, puede explicarse porque este forma parte del entorno catalítico de la enzima. En β -lactamasas de clase A, el residuo de serina es esencial en el mecanismo de hidrólisis del anillo β -lactámico, actuando como el nucleófilo en la reacción catalítica. [43]

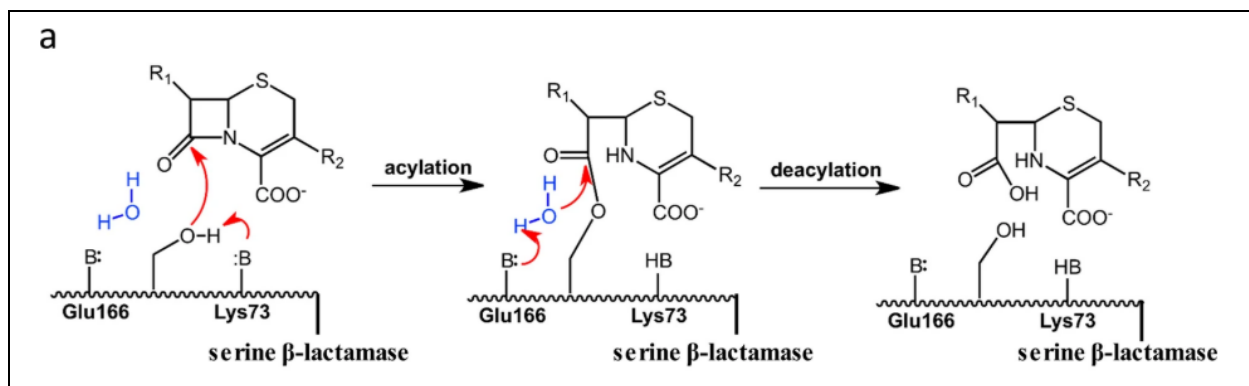


Figura 6. Mecanismo catalítico de la β -lactamasa de clase A. [43]

Nota: Las β -lactamasas basadas en serina de clase A emplean un proceso de dos pasos para hidrolizar los antibióticos β -lactámicos. Se etiquetan los componentes clave de la maquinaria catalítica, incluido el residuo de serina catalítica (Ser), la base general para el paso de acilación (BA) así como para el paso de desacilación (BD). También se enumeran los residuos de aminoácidos que cumplen estas funciones en la clase A.

Aunque en la literatura la actividad catalítica de la triada se conforma por una serina, un residuo ácido (GLU o ASP) y un residuo básico (LYS), no todos los residuos de AA que se identificaron como los principales en las interacciones proteína-ligando del top 20, se encuentran asociados. El residuo de serina en el sitio activo, en el caso de la Figura 6. SER70, es activado por los AA cercanos, LYS73 y GLU166, los cuales facilitan el proceso de acilación y desacilación, respectivamente. [43]

Esta interacción sugiere que el ligando se posiciona estratégicamente dentro del sitio activo, potencialmente interfiriendo con el mecanismo nucleofílico necesario para la hidrólisis del anillo β -lactámico. La capacidad del ligando para establecer este tipo de contacto con el residuo catalítico constituye un factor determinante en su posible actividad inhibitoria. [44]

En el presente estudio, se observó la presencia recurrente de SER84, evidenciando lo reportado en la literatura, considerando que al ser una serina posee un grupo funcional hidroxilo ($-OH$) en su estructura al igual que **SER70**, dándole la capacidad de establecer HB, los cuales permiten una unión más fuerte entre proteína y ligando. [45]

Un aspecto fundamental en la interpretación de los resultados del acoplamiento molecular corresponde al papel diferencial que desempeñan los residuos de serina dentro del sitio activo de la enzima BlaC, particularmente **SER84 y SER142**. Aunque ambos residuos pueden participar en interacciones con los ligandos evaluados, su contribución funcional es significativamente distinta, tal como se describe en la tabla 2.

A diferencia de **SER142** no participa directamente en la reacción catalítica, sino que cumple un rol secundario dentro del entorno del sitio activo. Este residuo puede establecer interacciones no covalentes, como HB, con los ligandos, contribuyendo a la estabilización del complejo ligando-proteína y a la correcta orientación del compuesto dentro del bolsillo catalítico. Sin embargo, al no intervenir en el paso nucleofílico de la reacción, su impacto sobre la actividad enzimática es indirecto [46] Aunque ambos residuos contribuyen a la interacción ligando-proteína, la **SER84** representa el objetivo estructural y funcional más relevante para la inhibición de la enzima BlaC, mientras que **SER142** actúa como un elemento complementario en la estabilización del complejo.

Tabla 2. Caracterización funcional de los residuos **SER84** y **SER142** en el sitio activo y su impacto en la inhibición [46].

Residuo	Tipo Funcional	Rol en el mecanismo	Impacto en la inhibición	Importancia
SER84	Catalítica	Actúa como nucleófilo en la hidrólisis del anillo β -lactámico, formación del intermediario acil-enzima	Interacciones covalentes (en inhibidores tipo DBO) y HB en docking	Crítica
SER142	Estructural/Estabilizadora	Contribuye a la orientación y estabilización del ligando dentro del sitio activo	HB y contactos polares	Secundaria

El residuo THR253 presentó la recurrencia más alta, sin embargo, no forma parte de la tríada catalítica. A pesar de ello, su estructura contiene un grupo hidroxilo que le puede permitir establecer interacciones similares a las de serina en cuanto a la formación de HB.

En contraste, el residuo ILE117, tampoco participa en la triada catalítica, pero se asocia principalmente con HI debido a su naturaleza alifática en su cadena lateral, lo que favorece su participación en este tipo de interacciones. [47]

Residuos como GLU182, ASN186, PRO183 y ASP255 mostraron una frecuencia considerable de interacciones, mientras que los residuos de LYS250, TYR186 y LYS87, se pueden considerar en un valor intermedio. Respecto a PRO290, PRO119 y TYR141, registraron las menores frecuencias de interacción.

Estudios estructurales han demostrado que los residuos del sitio activo en β -lactamasas no solo participan en la catálisis, sino que también definen la especificidad de unión del ligando, de modo que pequeñas variaciones en estos aminoácidos pueden alterar significativamente la afinidad y el reconocimiento molecular. [48] Por esta razón, el hecho de que la mayoría de los ligandos interactúen con estos residuos sugiere que están correctamente posicionados en el sitio catalítico y no en regiones inespecíficas de la proteína.

En términos generales, los HB presentan el tipo de interacción más frecuente en todos los residuos evaluados, a excepción del residuo PRO290, donde se encuentra en mayor proporción las HI. El predominio de puentes de hidrógeno observado en la mayoría de los residuos sugiere que la estabilización de los complejos proteína-ligando está asociada principalmente a contribuciones entálpicas. Estas interacciones son altamente direccionales y favorecen la disminución de la energía del sistema mediante contactos electrostáticos específicos entre el ligando y los residuos del sitio de unión. [49]

Las HI se presentaron en menor cantidad, sin embargo, mostraron una contribución notable en residuos como ILE117, THR253, SER84, SER142, GLU182, ASN186 y PRO183. En cuanto a la producción de entropía, las moléculas de agua tienden a segregarse alrededor de las cadenas laterales “hidrofóbicas” de una proteína naciente en un entorno acuoso, creando capas de hidratación de moléculas de agua ordenadas [50]. El ordenamiento de las moléculas de agua alrededor de una región hidrofóbica aumenta el orden en un sistema y, por lo tanto, contribuye a un cambio negativo en la entropía (menor entropía en el sistema) [51]

Adicionalmente la presencia recurrente de residuos como GLU182 y ASN186 indica que el reconocimiento molecular no depende exclusivamente del núcleo catalítico, sino de una red extendida de interacciones dentro del bolsillo activo. Este fenómeno ha sido descrito en estudios de docking molecular donde múltiples aminoácidos dentro de un radio cercano contribuyen a estabilizar el ligando mediante redes de HB. [52]

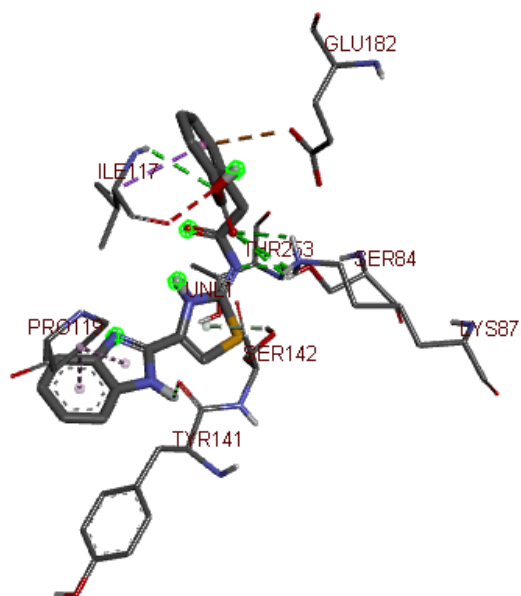


Figura 7. Visualización tridimensional de los residuos de aminoácidos involucrados en la interacción de la molécula M2122 con la cavidad de unión de BlaC.

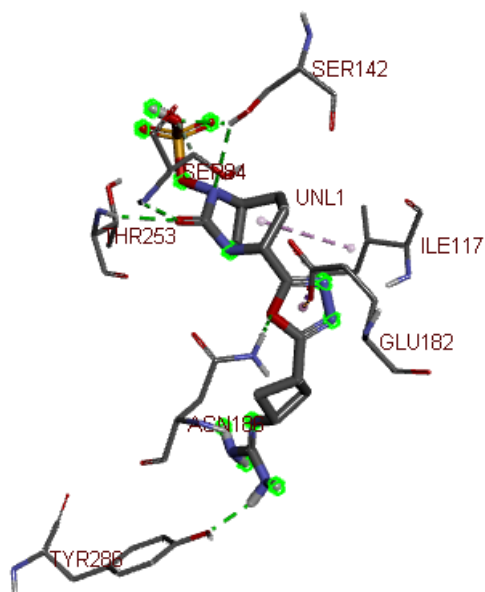


Figura 8. Visualización tridimensional de los residuos de aminoácidos involucrados en la interacción de la molécula M1933 con la cavidad de unión de BlaC.

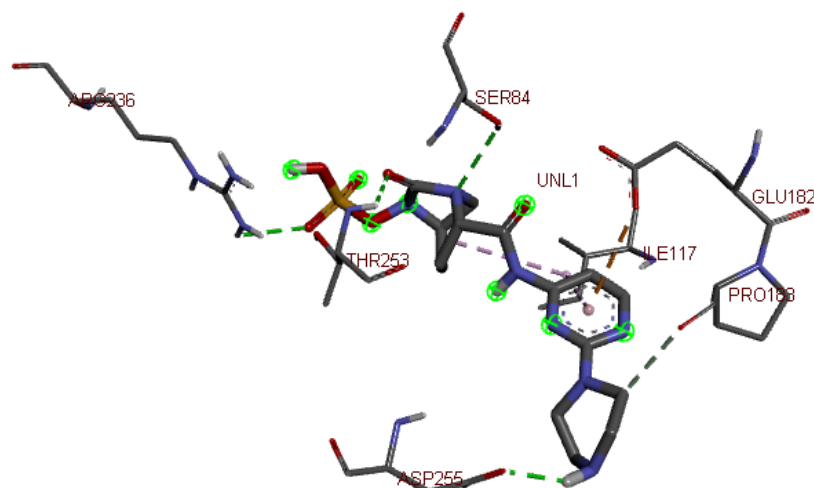


Figura 9. Visualización tridimensional de los residuos de aminoácidos involucrados en la interacción de la molécula M1032 con la cavidad de unión de BlaC.

La visualización de las interacciones en Discovery Studio Visualizer (Figura 7-9), permitió observar la disposición espacial de los residuos de aa alrededor de los ligandos dentro de la cavidad catalítica de BlaC. Los residuos de mayor frecuencia de interacción se localizaron principalmente próximos al núcleo del bolsillo activo, entre ellos THR253 e ILE117 que se observaron próximos a la región central del ligando, mientras que SER84 se encontró más enterrado dentro de la cavidad. Por su parte, SER142 se localizó dentro de la cavidad, aunque orientada hacia regiones laterales del bolsillo de unión. Por su parte GLU182 se vio orientado hacia el interior de la cavidad y próximo a regiones centrales del ligando, ASN186 se localizó hacia una región interna cerca al núcleo del bolsillo activo, mientras que PRO183 se identificó próximo a la entrada de la cavidad de unión. Asimismo, residuos que presentaron frecuencias intermedias de interacción se encontraron en regiones un poco más periféricas del bolsillo activo.

Finalmente, residuos como TYR286, LYS87, ARG236, PRO119 y TYR141 se presentaron hacia regiones superficiales o periféricas de la enzima, lo que podría asociarse a su menor recurrencia dentro de los complejos analizados.

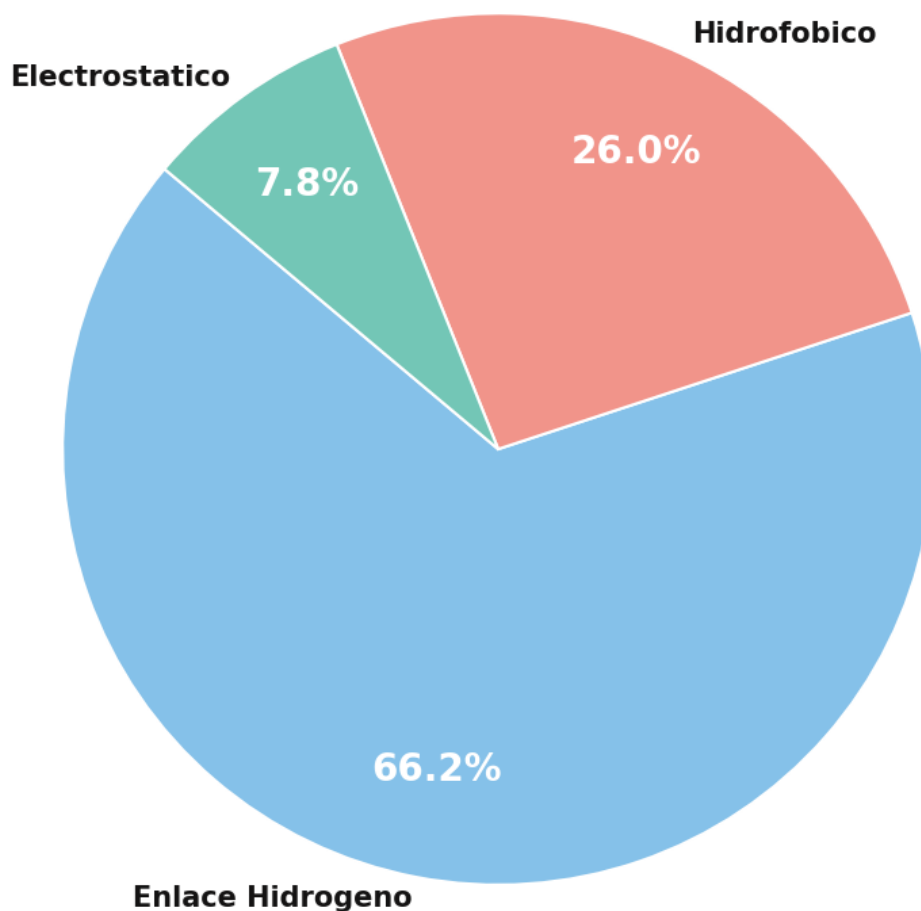


Figura 10. Distribución global por tipo de interacción.

La Figura 11 presenta la distribución global de los tipos de interacción identificados en los complejos, sin contar las moléculas de referencia Avibactam (Top 757), Durllobactam (Top 1088) y Relebactam (Top 1671).

El predominio de HB (66.2%, Figura 10) responde a la naturaleza polar del sitio activo de la enzima. Las β -lactamasas presentan múltiples grupos funcionales capaces de donar y aceptar electrones, lo que facilita la formación de este tipo de interacciones, entre ellos, carbonilos, amidas, carboxilos e incluso heterocíclicos nitrogenados. Hay más factores involucrados que simplemente contar el número de HB formados, las diferencias en las propiedades del ligando antes de la unión a la proteína pueden determinar la afinidad, [45] como también la distribución energética de estos enlaces depende de su geometría y entorno químico. Por ello, algunas moléculas con menos enlaces, pero mejor orientación puede presentar afinidades similares o superiores. [53]

Las HI (26%, Figura 10), aunque menos frecuentes, desempeñan un papel fundamental en la estabilización del complejo. Las HI constituyen la principal fuerza impulsora termodinámica que dirige la unión de los ligandos pequeños a sus receptores proteicos. Este fenómeno ocurre cuando el ligando desplaza las moléculas de agua confinadas en la cavidad del sitio activo, estas se encuentran en un entorno energéticamente desfavorable debido al confinamiento generado por cadenas laterales hidrofóbicas. La liberación de las moléculas de agua hacia la solución (medio acuoso que rodea a la proteína) produce una ganancia de afinidad que favorece la estabilización del complejo y el posicionamiento preciso del ligando dentro del sitio activo. [54] En conjunto con los HB actúan de manera

sinérgica, convirtiéndose en piezas claves para estabilizar energéticamente al ligando dentro del sitio activo de la proteína. [55]

Por lo tanto, aunque las HI se observaron en menor frecuencia, su contribución a la afinidad y estabilidad del complejo es considerable.

Para el caso de las EI, con el menor porcentaje de interacciones registradas (Figura 10), se puede asociar con la menor disponibilidad de grupos funcionales ionizables capaces de establecer contactos en los ligando evaluados.

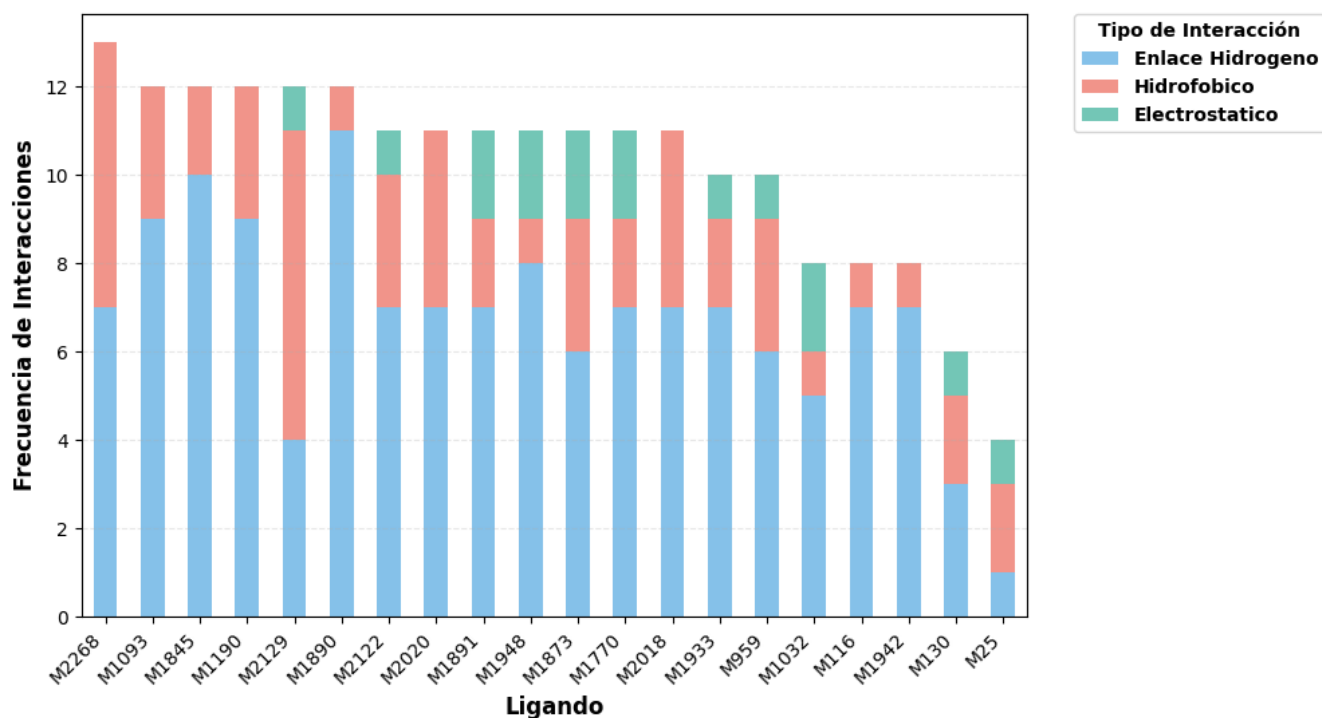


Figura 11. Perfil de interacciones por ligando

La Figura 11 muestra el perfil de interacciones por molécula (ligando), considerando los HB, HI y electrostáticas para cada uno de los compuestos analizados.

La molécula M2268 registró el mayor número de frecuencia de interacciones dentro del conjunto, alcanzando un total de 13 interacciones correspondientes a 7 HB y 6 HI. En los siguientes lugares están las moléculas que presentaron 12 interacciones en total; las moléculas M1093 y M1190 presentan el mismo número de tipo de interacciones, tanto de HB como electrostáticas, mientras que la molécula M1890, M2129 y M1845 presentaron el mismo número de interacciones pero en diferentes proporciones de tipo de interacciones.

Seguidamente las moléculas M1770, M1873, M1891, M1948, M2018, M2020 y M2122 presentaron un total de 11 interacciones. Las moléculas M1933 y M959 registraron un total de 10 interacciones cada una.

Posteriormente, las moléculas M116, M1032, y M1942 tiene 8 interacciones en total, donde las dos últimas tienen ausencia de EI. Las molécula M130 se presentó con solo 6 interacciones y la molécula 25 con 4 interacciones, siendo estas las que menor frecuencia de interacciones tienen.

Se observó un predominio de valores intermedios entre 10 y 12 interacciones, con una variabilidad en las proporciones de los tipos de interacción. Los HB constituyen el tipo de interacción más predominante.

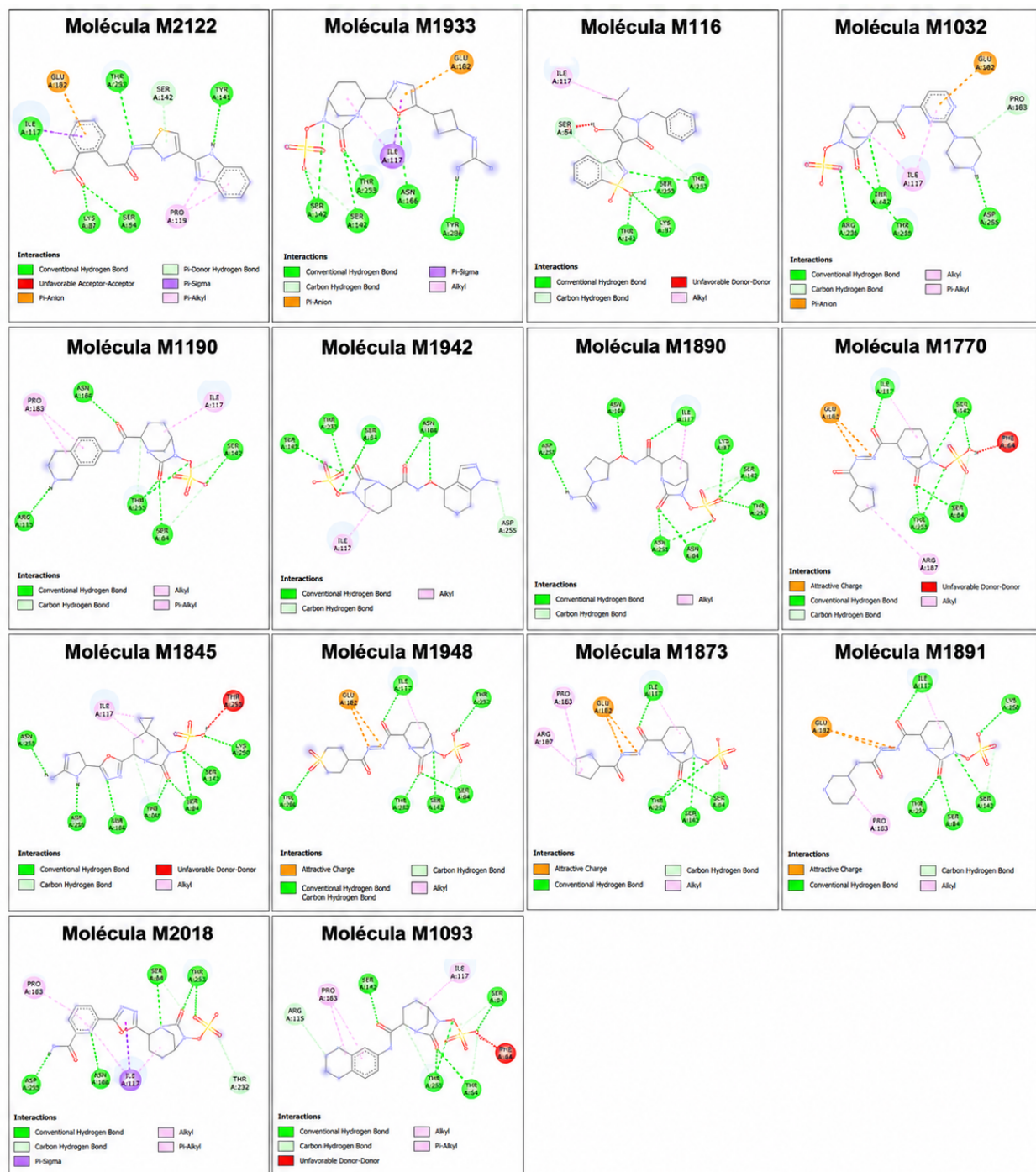


Figura 12. Diagramas 2D de interacciones proteína-ligando de moléculas del top20.

Nota: Se tomaron en cuenta moléculas tipo DBO incluidas dentro del top 20 de afinidad obtenido en el cribado virtual, además de las moléculas no DBO M2122 y M116, las cuales fueron consideradas debido a que se posicionaron dentro del top 3 de mejores afinidades de unión frente a la β -lactamasa BlaC.

Las interacciones no covalentes presentan un aporte energético en la formación y estabilización de complejos proteína-ligando. Entre las más destacadas se encuentran los HB, las HI y las electrostáticas.

Enlaces de hidrógeno.

Los HB presentan interacciones altamente en el posicionamiento del ligando dentro del sitio activo. Su aporte energético oscila entre 1 a 5 kcal/mol, aunque en entornos menos expuestos al solvente pueden alcanzar valores cercanos a 7 kcal/mol, estas interacciones favorecen la estabilidad estructural del complejo y aumentan la precisión de unión entre el ligando y los residuos catalíticos de las proteína.[56] En los diagramas 2D de interacciones de proteína-ligando (Figura 12), se identificaron distintos tipos de interacciones entre los ligando evaluados y los residuos del sitio activo. Los HB fueron los que más predominaron de las interacciones que se registraron. El residuo SER84 presentó interacciones con las moléculas M2122, M1933, M1032, M1190, M1890, M1770, M1845, M1948, M1873, M1891, M2018 y M1093, mientras que THR253 se observó en todos los ligandos analizados. De manera similar, el residuo SER142, se presentó en interacciones con múltiples moléculas, entre ellos, M1933, M116, M1190, M1890, M1770, M1845, M1948, M1873, M1891 y M1093.

Por otra parte, ASN186 mostró interacciones con las moléculas M1933, M1190, M1942, M1890, M1845, M2018 y M1093, el residuo ASP255 interaccionó con M1032, M1890, M1845 y M2018. Otros residuos con participación recurrente incluyen LYS250 con moléculas M116, M1890, M1845 y M2018; THR251 con M116, M1942, 1890 y M1948, y TYR286 con M1933, M1845 y M1948. Por último, algunos residuos mostraron interacciones con una única molécula, como ILE117 y LYS87 en M2122, ARG236 en M1032 y THR232 en 1924.

Interacciones hidrofóbicas.

Las HI aportan fundamentalmente estabilidad termodinámica reduciendo la energía del sistema. Individualmente suelen presentar aportes energéticos menores, aproximadamente entre 0.5 y 2 kcal/mol por contacto hidrofóbico. Las HI favorecen la asociación entre superficies apolares mediante un proceso impulsado entrópicamente.[57] Las HI se llevaron el segundo lugar en cuanto a la recurrencia en el análisis de los complejos proteína-ligando. (Figura 11) En los ligandos evaluados, las HI se pueden asociar a la presencia de anillos aromáticos, heterocíclicos y regiones alifáticas con grupos carbonados capaces de establecer contactos de tipo alquilo y pi-alquilo. Se podría explicar que la menor proporción de estas interacciones se da por la naturaleza polar predominante de la cavidad de unión de BlaC, donde los residuos SER84, SER142 y THR253 fueron más recurrentes que aminoácidos hidrofóbicos.

ILE 117 representó el principal residuo hidrofóbico asociado frecuentemente a este tipo de interacciones, participando principalmente en contactos con regiones aromáticas y apolares de algunos ligandos, lo cual se puede evidenciar en los diagramas 2D de la Figura 7. Este residuo se localizó en las regiones internas de la cavidad, próximo a zonas apolares y aromáticas, participando en interacciones de tipo alquilo y pi-alquilo. Esto puede sugerir que ILE117 forma parte del entorno hidrofóbico de la cavidad y explicar su alta frecuencia a pesar de no pertenecer a la triada o a un residuo de naturaleza polar. Se observaron interacciones pi-sigma con las moléculas M2122, M1933 y M2018, como las de tipo alquilo en moléculas M116, M1032, M1190, M1942, M1890, M1770, M1845, M1948, M1873, M1891, M2018 y M1093. Adicionalmente, las moléculas M2122, M1933, M1032, M1190, M1873, M1891, M2018 y M1093 presentaron interacciones de tipo pi-alquilo con ILE117.

Asimismo, el residuo PRO183 presentó interacciones de tipo alquilo con M1190, M1873, M1891, M2018, M1093, como también interacciones de tipo pi-alquilo con M1190, M2018 y M1093. Por otro lado, PRO119 tuvo interacciones únicas de tipo pi-alquilo con M2122 y ARG187 se observó únicamente en interacciones de tipo alquilo en M1770 y M1873.

Interacciones electrostáticas.

Por otro lado, las EI corresponden a fuerzas de atracción entre grupos cargados presentes en el ligando y el sitio activo de la proteína [58]. Su aporte energético puede variar según la distancia intermolecular, el entorno dieléctrico y la exposición al solvente, influyendo directamente en la estabilidad y afinidad del complejo proteína-ligando. [59]

Estas EI se relacionan con GLU182, que presentó interacciones tipo pi-anión y carga atractiva con distintos ligandos y los residuos del sitio activo, en las moléculas M2122, M1933 y M1032, así como interacciones de tipo carga atractiva en M1770, M1891 y M1873, y carga negativa en M1948. La participación de este residuo puede relacionarse por las propiedades del ácido glutámico, cuya cadena lateral cargada negativamente favorece la formación de EI, también conocidas como enlaces iónicos, puentes salinos, enlaces salinos o pares iónicos. [60] Este tipo de EI contribuye a la estabilización del ligando dentro del entorno activo; no obstante, su efectividad depende de la orientación espacial y la distancia entre los grupos funcionales involucrados [61] Asimismo, se han reconocido como una contribución más importante a la catálisis enzimática. [62]

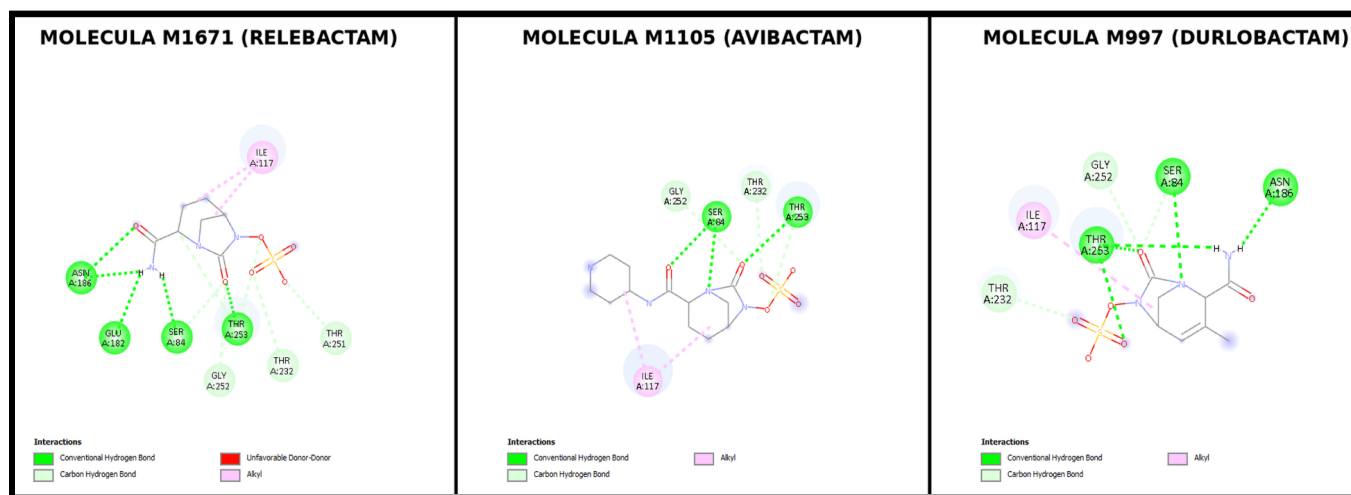


Figura 13. Diagramas 2D de interacciones proteína-ligando de las moléculas de referencia.

Molécula M1671 (Relebactam)

El diagrama 2D del complejo correspondiente a la molécula de referencia M1671 (Relebactam, Figura 13) evidenció la formación de HB con los residuos SER84 y THR253. Se logró observar interacciones de tipo enlace de hidrógeno carbono con GLY252 y THR232. Por último, se presentaron HI de tipo alquilo con ILE117.

Molécula M1105 (Avibactam)

El diagrama 2D del complejo correspondiente a la molécula de referencia M1105 (Avibactam, Figura 13) evidenció la formación de HB con los residuos ASN186, GLU182, SER84 y THR253. Adicionalmente, se observaron HI de tipo alquilo con ILE117. También se presentaron interacciones de tipo HB carbono con GLY252, THR232 y THR252

Molécula M997 (Durlobactam)

El diagrama 2D del complejo correspondiente a la molécula de referencia M997 (Durlobactam, Figura 13) evidenció la formación de HB con los residuos SER84, THR253, ASN186. Asimismo, se identificaron interacciones de tipo enlace de hidrógeno carbono con los residuos GLY252 y THR232. Adicionalmente, se observaron HI de tipo alquilo con ILE117.

En términos generales, se evidenció un patrón dominado principalmente por las interacciones de HB, las cuales se establecieron de forma consistente con los residuos de aa SER84, THR253, SER142 y ASN186. De igual manera, las HI, en especial las de tipo alquilo y pi-alquilo, con el residuo ILE117 y, aunque en menor medida, PRO183, se vio marcada. Las EI fueron menos frecuentes, se asocian principalmente con GLU182.

Los ligando evaluados mostraron una mayor variabilidad en los tipos de interacción en comparación con los compuestos de referencia. En comparación con las moléculas de referencia (M1671, M1105 y M997), las moléculas evaluadas del top 20 presentaron mayor diversidad en los tipos de interacción. Mientras que las moléculas de referencia mostraron un patrón más conservado caracterizado por HB, HI de tipo alquilo y HB carbono, las moléculas evaluadas presentaron adicionalmente EI, HI de tipo pi-alquilo y pi-sigma, así como mayor participación de residuos de aa, como PRO183, ARG187, SER142, THR251, LYS250, ASP255, ARG236, ARG115, PRO119, TYR286, SER184 y LYS87.

Estos resultados, evidencian una participación más amplia de residuos de aa y mayor diversidad de interacciones, en contraste con el comportamiento observado en las moléculas de referencia.

4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio permitieron comparar la biblioteca de ligandos generada mediante DataWarrior con los ligandos de referencia Avibactam, Relebactam y Durlobactam, evidenciando que estos últimos fueron superados en términos de energía de unión por varios compuestos de la biblioteca evaluada. Estos nuevos inhibidores mostraron una mayor capacidad inhibitoria frente a la β -lactamasa BlaC de *Mycobacterium tuberculosis* en comparación con las moléculas de referencia, considerando que esta enzima constituye uno de los principales mecanismos de defensa de la bacteria frente a los antibióticos β -lactámicos.

A partir del cribado virtual y el acoplamiento molecular, se evidenció que múltiples compuestos lograron establecer interacciones favorables dentro del bolsillo activo de BlaC, involucrando residuos clave como **SER84, THR253, SER142, ILE117 y GLU182**. La recurrencia de estos residuos sugiere que los ligandos lograron posicionarse en regiones funcionalmente importantes de la cavidad catalítica, favoreciendo la estabilización de los complejos proteína-ligando.

Los resultados también evidenciaron que una mayor cantidad de interacciones no necesariamente se relacionó con una mejor afinidad de unión, lo cual sugiere que factores como la geometría de interacción, la orientación espacial y la complementariedad estructural entre el ligando y la cavidad catalítica influyen significativamente en la estabilidad del complejo. Esto permitió observar que algunas moléculas con menor número de interacciones lograron mantener afinidades favorables, mientras que otras con perfiles de interacción más extensos presentaron una estabilización importante dentro del sitio activo.

Adicionalmente, la presencia de compuestos tipo DBO y no DBO dentro de los mejores ligandos evidencia que el cribado virtual permitió explorar diferentes scaffolds químicos con potencial inhibitorio frente a BlaC. Particularmente, moléculas no DBO como **M2122** mostraron afinidades superiores incluso a los inhibidores de referencia, sugiriendo que estructuras alternativas podrían adaptarse de manera más eficiente a la conformación específica de BlaC en *M. tuberculosis*. Esto representa una aproximación prometedora para el diseño de nuevas estrategias terapéuticas dirigidas a mejorar la actividad de antibióticos β -lactámicos frente a *M. tuberculosis*, especialmente en el contexto de tuberculosis multirresistente.

5. AGRADECIMIENTOS

Camila Rincón Angulo

Agradezco a mi familia, por su apoyo incondicional a lo largo de este proceso académico y personal. En especial a mi mamá, por todo el esfuerzo, sacrificio y dedicación que realizó para brindarme la oportunidad de estudiar y cumplir esta meta profesional.

A mis tutores, Yhors Ciro, por su orientación y acompañamiento académico durante el desarrollo de este trabajo de investigación y Yesid Aristizábal, por su compromiso, paciencia y apoyo constante durante todo el proceso.

A mi pareja, Miguel Angel Barrera, por acompañarme en todo este proceso, por darme la confianza y el apoyo incondicional para lograr esta meta, y ser esa persona que siempre está para mí.

A mi compañera Hillary Camargo, por compartir este proceso académico, el trabajo en equipo y el esfuerzo conjunto durante el desarrollo de esta investigación. Este logro no sería posible sin ella.

Finalmente, agradezco a todas las personas que, de una u otra manera, contribuyeron a mi formación profesional y personal, y que hicieron posible culminar esta etapa tan importante.

Hillary Camargo Gutiérrez

Agradezco a mi familia por su amor incondicional, comprensión y apoyo en cada etapa de mi formación. Gracias por ser mi motivación y fortaleza incluso en los momentos más difíciles.

Al profesor Yesid Aristizabal y al tutor Yhors Ciro por su acompañamiento y apoyo constante. Sus conocimientos y orientación académica fueron fundamentales para culminar este proceso investigativo.

A mi compañera Camila Angulo, por compartir este camino académico, por el esfuerzo y la paciencia para poder alcanzar esta meta.

Y finalmente a mí misma, porque a pesar de las dificultades, los momentos de agotamiento y las batallas que enfrenté muchas veces en silencio, seguí adelante. Por no rendirme en los días difíciles y por demostrarme que, incluso en medio de la oscuridad, aún tenía fuerza para cumplir este objetivo.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] «ABECÉ Tuberculosis», MinSalud, ago. 2021. [En línea]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ET/abece-tuberculosis-m-sps.pdf>
- [2] «Resistencia a los antimicrobianos». Accedido: 8 de mayo de 2026. [En línea]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- [3] G. M. Puerto Castro, F. N. Montes Zuluaga, J. E. Alcalde-Rabanal, y F. Pérez, «Factores de éxito del tratamiento de la tuberculosis multidrogorresistente relacionados con el paciente y el personal sanitario en Colombia», *Rev. Panam. Salud Pública*, vol. 45, p. 1, abr. 2021, doi: 10.26633/RPSP.2021.5.
- [4] D. González, «Informe de Evento 2024: Tuberculosis Farmacorresistente», Instituto Nacional de Salud, Bogotá, jun. 2025. [En línea]. Disponible en: <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/Informesdeevento/TUBERCULOSIS%20FARMACORRESISTENTE%20INFORME%20EVENTO%202024.pdf>
- [5] O. A. Omoteso, A. O. Fadaka, R. B. Walker, y S. M. Khamanga, «Innovative Strategies for Combating Multidrug-Resistant Tuberculosis: Advances in Drug Delivery Systems and Treatment», *Microorganisms*, vol. 13, n.o 4, p. 722, mar. 2025, doi: 10.3390/microorganisms13040722.
- [6] C.-Y. Zhao et al., «A New Era in Tuberculosis Prevention and Treatment: Breakthroughs in Drug Development and Future Prospects», *Infect. Dis. Ther.*, vol. 14, n.o 10, pp. 2205-2219, oct. 2025, doi: 10.1007/s40121-025-01221-3.
- [7] S. Sreekumar *et al.*, «Molecular docking, validation, dynamic simulation and pharmacokinetic prediction of natural compounds against *Mycobacterium tuberculosis* Beta-lactamase BlaC», 8 de enero de 2025, *Bioinformatics*. doi: 10.1101/2025.01.07.631633.
- [8] «La incapacidad para fabricar antibióticos nuevos favorece la resistencia de las bacterias a los medicamentos», ONU, 15 de abril de 2021. [En línea]. Disponible en: <https://news.un.org/es/story/2021/04/1490872>
- [9] Y.-S. Huang y H. Zhou, «Breakthrough Advances in Beta-Lactamase Inhibitors: New Synthesized Compounds and Mechanisms of Action Against Drug-Resistant Bacteria», *Pharmaceuticals*, vol. 18, n.o 2, p. 206, feb. 2025, doi: 10.3390/ph18020206.
- [10] R. Pestana-Nobles et al., «Docking and Molecular Dynamic of Microalgae Compounds as Potential Inhibitors of Beta-Lactamase», *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, n.o 3, p. 1630, ene. 2022, doi: 10.3390/ijms23031630.
- [11] S. Zhang, X. Liao, T. Ding, y J. Ahn, «Role of β -Lactamase Inhibitors as Potentiators in Antimicrobial Chemotherapy Targeting Gram-Negative Bacteria», *Antibiotics*, vol. 13, n.o 3, p. 260, mar. 2024, doi: 10.3390/antibiotics13030260.
- [12] A. R. Vaghela, «Molecular docking in drug design: Basic concepts and application spectrums», *Am. J. Pharmacother. Pharm. Sci.*, vol. 5, p. 1, ene. 2026, doi: 10.25259/AJPPS_2026_001.
- [13] RCSB Protein Data Bank, «About Us», RCSB PDB. [En línea]. Disponible en: <https://www.rcsb.org/pages/about-us/index>
- [14] Bank, R. P. D. (s. f.). PDB Statistics: Protein-only structures released per year. <https://www.rcsb.org/stats/growth/growth-protein>

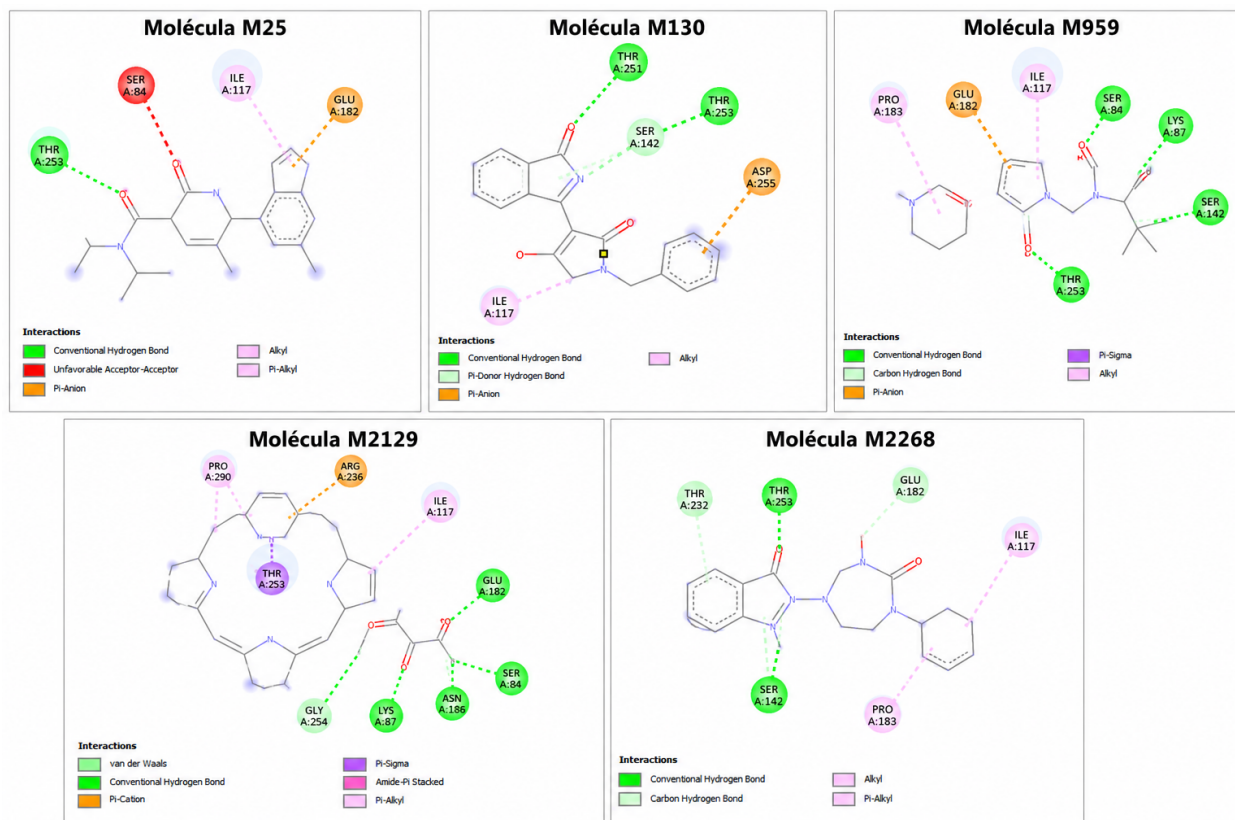
- [15] J. Daza, L. Valencia, y K. Duque, «Estudio in silico de acoplamiento molecular para la búsqueda de potenciales inhibidores para el tratamiento de tuberculosis», Universidad CES, 2022. [En línea]. Disponible en: <https://repository.ces.edu.co/bitstreams/4c82254a-10c0-4823-90ab-81a54de17192/download>
- [16] J. Gonzalez, «In Silico-Mediated Virtual Screening and Molecular Docking Platforms for Discovery of Non β -Lactam Inhibitors of Y-49 β -Lactamase from *Mycobacterium Tuberculosis*», MOJ Proteomics Bioinforma., vol. 7, n.o 1, ene. 2018, doi: 10.15406/mojpb.2018.07.00207.
- [17] Y. Chang, B. A. Hawkins, J. J. Du, P. W. Groundwater, D. E. Hibbs, y F. Lai, «A Guide to In Silico Drug Design», Pharmaceutics, vol. 15, n.o 1, p. 49, dic. 2022, doi: 10.3390/pharmaceutics15010049.
- [18] M. Roney y M. F. F. Mohd Aluwi, «The importance of in-silico studies in drug discovery», Intell. Pharm., vol. 2, n.o 4, pp. 578-579, ago. 2024, doi: 10.1016/j.ipha.2024.01.010.
- [19] S. Forli, R. Huey, M. E. Pique, M. F. Sanner, D. S. Goodsell, y A. J. Olson, «Computational protein–ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite», Nat. Protoc., vol. 11, n.o 5, pp. 905-919, may 2016, doi: 10.1038/nprot.2016.051.
- [20] U. Dasmahapatra et al., «In-silico molecular modelling, MM/GBSA binding free energy and molecular dynamics simulation study of novel pyrido fused imidazo[4,5-c]quinolines as potential anti-tumor agents», Front. Chem., vol. 10, p. 991369, sep. 2022, doi: 10.3389/fchem.2022.991369.
- [21] B. Zdrazil et al., «The ChEMBL Database in 2023: a drug discovery platform spanning multiple bioactivity data types and time periods», Nucleic Acids Res., vol. 52, n.o D1, pp. D1180-D1192, ene. 2024, doi: 10.1093/nar/gkad1004.
- [22] T. Sander, J. Freyss, M. Von Korff, y C. Rufener, «DataWarrior: An Open-Source Program For Chemistry Aware Data Visualization And Analysis», J. Chem. Inf. Model., vol. 55, n.o 2, pp. 460-473, Feb. 2015, doi: 10.1021/ci500588j.
- [23] S. Nhlapho et al., «Druggability of Pharmaceutical Compounds Using Lipinski Rules with Machine Learning», Sci. Pharm., vol. 3, n.o 4, pp. 177-192, nov. 2024, doi: 10.58920/sciphar0304264.
- [24] L. D. Pennington, M. J. Hesse, D. C. Koester, R. C. McAtee, A. M. Qunies, y D. X. Hu, «Property-Based Drug Design Merits a Nobel Prize», J. Med. Chem., vol. 67, n.o 14, pp. 11452-11458, jul. 2024, doi: 10.1021/acs.jmedchem.4c01345.
- [25] D. F. Veber, S. R. Johnson, H.-Y. Cheng, B. R. Smith, K. W. Ward, y K. D. Kopple, «Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates», J. Med. Chem., vol. 45, n.o 12, pp. 2615-2623, jun. 2002, doi: 10.1021/jm020017n.
- [26] E. Aghaee, M. Ghodrati, y J. B. Ghasemi, «In silico exploration of novel protease inhibitors against coronavirus 2019 (COVID-19)», Inform. Med. Unlocked, vol. 23, p. 100516, 2021, doi: 10.1016/j.imu.2021.100516.
- [27] A. J. Ruiz-Moreno, R. Cedillo-González, L. Cordova-Bahena, Z. An, J. L. Medina-Franco, y M. A. Velasco-Velázquez, «Consensus Pharmacophore Strategy For Identifying Novel SARS-Cov-2 Mpro Inhibitors from Large Chemical Libraries», J. Chem. Inf. Model., vol. 64, n.o 6, pp. 1984-1995, mar. 2024, doi: 10.1021/acs.jcim.3c01439.
- [28] L. J. Córdoba-Bahena, S. M. Pérez-Tapia, y M. A. Velasco-Velázquez, «Pharmacophore Modeling for Targets with Extensive Ligand Libraries: A Case Study on SARS-CoV-2 Mpro», J. Vis. Exp., n.o 223, p. 68933, sep. 2025, doi: 10.3791/68933.
- [29] D. Santos-Martins et al., «Meeko: Molecule Parametrization and Software Interoperability for Docking and Beyond», J. Chem. Inf. Model., vol. 65, n.o 24, pp. 13045-13050, dic. 2025, doi: 10.1021/acs.jcim.5c02271.

- [30] J. Eberhardt, D. Santos-Martins, A. F. Tillack, y S. Forli, «AutoDock Vina 1.2.0: New Docking Methods, Expanded Force Field, and Python Bindings», *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 61, n.º 8, pp. 3891-3898, ago. 2021, doi: 10.1021/acs.jcim.1c00203.
- [31] R. Agarwal y J. C. Smith, «Speed vs Accuracy: Effect on Ligand Pose Accuracy of Varying Box Size and Exhaustiveness in AutoDock Vina», *Mol. Inform.*, vol. 42, n.o 2, p. 2200188, feb. 2023, doi: 10.1002/minf.202200188.
- [32] BIOVIA Discovery Studio. 3DEXPERIENCE Company. [En línea]. Disponible en: <https://www.3ds.com/fileadmin/PRODUCTS-SERVICES/BIOVIA/PDF/whats-new-in-discovery-studio-2021.pdf>
- [33] J. J. Rochín-Medina, K. Ramírez, I. A. Mendoza-López, y E. S. Ramírez-Serrano, «Evaluación in silico de la interacción de la enzima DPP-IV con derivados del ácido CAFEICO», *Rev. IPSUMTEC*, vol. 6, n.o 4, pp. 79-84, sep. 2023, doi: 10.61117/ipsumtec.v6i4.266.
- [34] A. M. Bayan et al., «Integrating molecular docking and molecular dynamics simulation studies on the affinity and interactions of piperine with β -lactamase class A enzymes», *J. Mol. Struct.*, vol. 1292, p. 136151, nov. 2023, doi: 10.1016/j.molstruc.2023.136151.
- [35] V. Arer y D. Kar, «Biochemical exploration of β -lactamase inhibitors», *Front. Genet.*, vol. 13, p. 1060736, ene. 2023, doi: 10.3389/fgene.2022.1060736.
- [36] D. Martinez, «Caracterización de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en cepas de *Escherichia coli* aisladas de humanos y cerdos», Tesis, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS, 2021. [En línea]. Disponible en: <http://riaa.uaem.mx/handle/20.500.12055/3190>
- [37] D. E. Ehmann et al., «Avibactam is a covalent, reversible, non- β -lactam β -lactamase inhibitor», *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 109, n.o 29, pp. 11663-11668, jul. 2012, doi: 10.1073/pnas.1205073109.
- [38] L. Ferreira, R. Dos Santos, G. Oliva, y A. Andricopulo, «Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies», *Molecules*, vol. 20, n.o 7, pp. 1338 4-13421, jul. 2015, doi: 10.3390/molecules200713384.
- [39] N. Singh y A. Warshel, «A comprehensive examination of the contributions to the binding entropy of protein-ligand complexes», *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.*, vol. 78, n.º 7, pp. 1724-1735, may 2010, doi: 10.1002/prot.22689.
- [40] I. V. Komarov, V. A. Bugrov, A. Cherednychenko, y O. O. Grygorenko, «Insights into Modeling Approaches in Chemistry: Assessing Ligand-Protein Binding Thermodynamics Based on Rigid-Flexible Model Molecules», *Chem. Rec.*, vol. 24, n.º 2, p. e202300276, feb. 2024, doi: 10.1002/tcr.202300276.
- [41] V. Kairys et al., «Recent advances in computational and experimental protein-ligand affinity determination techniques», *Expert Opin. Drug Discov.*, vol. 19, n.º 6, pp. 649-670, jun. 2024, doi: 10.1080/17460441.2024.2349169.
- [42] J. S. Jiménez y M. J. Benítez, «Gibbs Free Energy and Enthalpy-Entropy Compensation in Protein-Ligand Interactions», *Biophysica*, vol. 4, n.º 2, pp. 298-309, jun. 2024, doi: 10.3390/biophysica4020021.
- [43] Y. He, J. Lei, X. Pan, X. Huang, y Y. Zhao, «The hydrolytic water molecule of Class A β -lactamase relies on the acyl-enzyme intermediate ES* for proper coordination and catalysis», *Sci. Rep.*, vol. 10, n.º 1, p. 10205, jun. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-66431-w.

- [44] S. C. Mehta, I. M. Furey, O. A. Pemberton, D. M. Boragine, Y. Chen, y T. Palzkill, «KPC-2 β -lactamase enables carbapenem antibiotic resistance through fast deacylation of the covalent intermediate», *J. Biol. Chem.*, vol. 296, p. 100155, ene. 2021, doi: 10.1074/jbc.RA120.015050.
- [45] D. Zhang, Q. Meng, y F. Guo, «Incorporating Water Molecules into Highly Accurate Binding Affinity Prediction for Proteins and Ligands», *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 25, n.º 23, p. 12676, nov. 2024, doi: 10.3390/ijms252312676.
- [46] A. A. Medeiros, « β -Lactamases: quality and resistance», *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 3, pp. 4S2-4S9, 1997, doi: 10.1016/S1198-743X(14)65030-8.
- [47] Shen F, Sergi C. Biochemistry, Amino Acid Synthesis and Degradation. [Updated 2023 Jan 11]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2026 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559250/>
- [48] G. M. D. Silva, J. Yang, B. Leang, J. Huang, D. M. Weinreich, y B. M. Rubenstein, «Covalent docking and molecular dynamics simulations reveal the specificity-shifting mutations Ala237Arg and Ala237Lys in TEM beta-lactamase», *PLOS Comput. Biol.*, vol. 18, n.º 6, p. e1009944, jun. 2022, doi: 10.1371/journal.pcbi.1009944.
- [49] J. Cramer et al., «Enhancing the enthalpic contribution of hydrogen bonds by solvent shielding», *RSC Chem. Biol.*, vol. 1, n.o 4, pp. 281-287, 2020, doi: 10.1039/D0CB00108B.
- [50] G. Klebe, «Thermodynamic Data Remain a Hot Tip for Decoding Binding Affinity and Water Impact on Protein–Ligand Complex Formation to Assist Lead Optimization», *J. Med. Chem.*, vol. 69, n.º 4, pp. 3719-3730, feb. 2026, doi: 10.1021/acs.jmedchem.5c03100.)
- [51] J. S. Jiménez y M. J. Benítez, «Gibbs Free Energy and Enthalpy–Entropy Compensation in Protein–Ligand Interactions», *Biophysica*, vol. 4, n.o 2, pp. 298-309, jun. 2024, doi: 10.3390/biophysica4020021
- [52] J. Ning *et al.*, «Analysis of the stability and affinity of BlaR-CTD protein to β -lactam antibiotics based on docking and mutagenesis studies», *J. Biol. Eng.*, vol. 13, n.º 1, p. 27, dic. 2019, doi: 10.1186/s13036-019-0157-4.
- [53] C. Bissantz, B. Kuhn, y M. Stahl, «A Medicinal Chemist's Guide to Molecular Interactions», *J. Med. Chem.*, vol. 53, n.º 14, pp. 5061-5084, jul. 2010, doi: 10.1021/jm100112j.
- [54] T. Young, R. Abel, B. Kim, B. J. Berne, y R. A. Friesner, «Motifs for molecular recognition exploiting hydrophobic enclosure in protein–ligand binding», *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 104, n.º 3, pp. 808-813, ene. 2007, doi: 10.1073/pnas.0610202104.
- [55] R. Patil, S. Das, A. Stanley, L. Yadav, A. Sudhakar, y A. K. Varma, «Optimized Hydrophobic Interactions and Hydrogen Bonding at the Target-Ligand Interface Leads the Pathways of Drug-Designing», *PLoS ONE*, vol. 5, n.º 8, p. e12029, ago. 2010, doi: 10.1371/journal.pone.0012029.
- [56] V. Vennelakanti, H. W. Qi, R. Mehmood, y H. J. Kulik, «When are two hydrogen bonds better than one? Accurate first-principles models explain the balance of hydrogen bond donors and acceptors found in proteins», *Chem. Sci.*, vol. 12, n.º 3, pp. 1147-1162, 2021, doi: 10.1039/D0SC05084A.
- [57] F. C. L. Almeida, K. Sanches, R. Pinheiro-Aguiar, V. S. Almeida, y I. P. Caruso, «Protein Surface 2021, doi: 10.3389/fmolb.2021.706002.
- [58] D. D. Wang, M.-T. Chan, y H. Yan, «Structure-based protein–ligand interaction fingerprints for binding affinity prediction», *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, vol. 19, pp. 6291-6300, 2021, doi: 10.1016/j.csbj.2021.11.018.

- [59] G. Bitencourt-Ferreira y W. F. De Azevedo Junior, «Electrostatic Potential Energy in Protein-Drug Complexes», *Curr. Med. Chem.*, vol. 28, n.º 24, pp. 4954-4971, ago. 2021, doi: 10.2174/0929867328666210201150842.
- [60] V. N. Uversky, «The alphabet of intrinsic disorder: II. Various roles of glutamic acid in ordered and intrinsically disordered proteins», *Intrinsically Disord. Proteins*, vol. 1, n.º 1, p. e24684, ene. 2013, doi: 10.4161/idp.24684.
- [61] F. de J. Viales Rojas, Evaluación in silico de los metabolitos bioactivos de las flores, semillas y hojas de *Moringa oleifera* con actividad citotóxica y farmacocinética contra la proteína PSMA del cáncer de próstata, con capacidad reductora y estabilizante para la formación de nanopartículas verdes a partir óxidos metálicos, trabajo final de graduación, Universidad Internacional de las Américas, 2025.
- [62] J. J. Ruiz-Pernía, K. Świderek, J. Bertran, V. Moliner, y I. Tuñón, «Electrostatics as a Guiding Principle in Understanding and Designing Enzymes», *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 20, n.º 5, pp. 1783-1795, mar. 2024, doi: 10.1021/acs.jctc.3c01395.

ANEXOS



Anexo 1. Diagramas 2D de interacciones proteína-ligando de moléculas del top 20.

Nota: Las moléculas presentadas (**M25**, **M130**, **M959**, **M2129** y **M2268**) corresponden a compuestos no pertenecientes al grupo DBO. Aunque hicieron parte del top 20 obtenido en el cribado virtual y presentaron interacciones favorables con la enzima BlaC, no fueron consideradas de mayor relevancia dentro de la discusión. Se centró principalmente en las moléculas tipo DBO y únicamente en aquellos compuestos no DBO que se posicionaron dentro del top 3 de mejores afinidades de unión.