



**Caracterización de la enzima cisteína sintasa en
Acinetobacter baumannii como posible blanco
terapéutico mediante un análisis *in silico*.**

Francy Rocío León Castro

**Bogotá D.C., Colombia
Marzo 12 de 2021**

**Caracterización de la enzima cisteína sintasa en *Acinetobacter baumannii*
como posible blanco terapéutico mediante un análisis *in silico***

Francy Rocío León Castro
Bacterióloga y Laboratorista Clínico

Director:
Ibeth Cristina Romero Calderón
Bacterióloga., MSc., Ph.D.
Universidad Nacional de Colombia, sede La Paz

Co-Director:
Ruth Mélida Sánchez
Bacterióloga., MSc., Ph.D.
Programa Ciencias de la salud
Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Línea de Investigación:
Salud Humana
Grupo de Investigación Genética y Biotecnología U.C.M.C

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la salud
Programa de Maestría en Microbiología
Bogotá D.C., Colombia
Marzo 12 de 2021

Aprobado por el comité evaluador en cumplimiento
de los requisitos exigidos para otorgar el título de Magister en
Microbiología de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Dr.
Jurado

Dra.
Jurado

Dr.
Jurado

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mi hija María José, Mi madre Amparo Castro, Mi tía Sol, Mi hermano Richard, Mi ángel protector (Abuelita Lola) y Mi compañero de vida Andrés.

Agradecimientos

Inicialmente agradezco a Dios y a mi ángel (mi abuelita) por guiar mi camino para mi crecimiento profesional y personal, a mi hija María José, quién fue mi motor desde el primer momento que decidí emprender este viaje, mi madre Amparo quien estuvo apoyándome moral y emocionalmente para lograr la culminación de este proyecto, a mi guía y emprendedora de sueños tía Sol, mi hermano Richard por forjar mi carácter y hacer de mí una persona más fuerte y Andrés por su paciencia y comprensión.

Mi directora, la Doctora Ibeth por aceptarme y confiar en mi para el desarrollo de este proyecto, por su paciencia y por formarme como una futura magister en Microbiología, a la Doctora Ruth por su colaboración, consejos y acompañamiento.

CONTENIDO

RESUMEN	10
ABSTRACT	11
1.INTRODUCCIÓN	11
2. MARCO CONCEPTUAL Y GENERALIDADES	14
2.1 <i>Acinetobacter baumannii</i> , características generales.....	14
2.2 Enfermedades ocasionadas por <i>A. baumannii</i>	15
1.2.1 Patología de <i>A. baumannii</i>	16
2.3 Tratamiento para las enfermedades ocasionadas por <i>A. baumannii</i>	17
2.4 Resistencia a antibióticos en <i>A. baumannii</i>	18
2.5 Nuevos compuestos para el tratamiento de <i>A. baumannii</i>	21
2.6 Complejo cisteína sintasa (CS) (CysK- CysM).....	23
2.6.1 Funciones de la cisteína en la supervivencia celular	24
2.6.2 Cisteína Sintasa un blanco de inhibición en patógenos humanos	26
2.7 Docking Molecular, análisis <i>in silico</i> de nuevos compuestos	27
3.PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN - HIPÓTESIS.....	28
4.OBJETIVOS	29
4.1 Objetivo General	29
4.2 Objetivos específicos	29
5. MATERIALES Y MÉTODOS	29
5.1 Caracterización <i>in silico</i> de la cs en <i>A. baumannii</i>	30
5.1.1 Identificación de la secuencia nucleotídica del gen CS en las bases de datos bioinformáticas	30
5.1.2 Búsqueda de dominios y motivos característicos en la secuencia proteica de CS	30
5.1.3 Comparación de las secuencias proteicas de CS en <i>A. baumannii</i> y otras secuencias ortólogas	31
5.1.4 Predicción de estructuras secundaria y terciaria de las CS en <i>A. baumannii</i> ...	31
5.2 Docking molecular para cisteína sintasa (CysK) de <i>A. baumannii</i>	32
5.2.1 Preparación de la proteína CysK y los ligandos naturales para el docking molecular	32
5.2.2 Docking entre CysK, sustratos naturales y algunos compuestos control.....	33
5.2.3 Docking masivo entre CysK y compuestos con potencial unión a la enzima....	33

5.3 Predicción in silico de las propiedades farmacocinéticas ADMET	34
5.4 Interacciones moleculares entre CysK y posibles ligandos (Proteína-Ligando)	34
6.RESULTADOS.....	35
6.1 Identificación del gen que codifica para CS en <i>A. baumannii</i>	35
6.2 Características generales de la enzima CS en <i>Acinetobacter baumannii</i>	40
6.3 Comparación de las secuencias proteicas de CS en <i>A. baumannii</i> y otras secuencias ortólogas	42
6.4 Predicción de estructuras secundaria y terciaria de las CS en <i>A. baumannii</i>	45
6.5 Docking molecular entre cisteína sintasa (CysK) de <i>A. baumannii</i> – posibles ligandos	50
6.6 Análisis de las propiedades farmacocinéticas ADMET en los compuestos con mejor energía de unión a CysK.	52
6.7 Interacciones moleculares entre cisteína sintasa (CysK) y ligandos con mejor energía de unión	56
7.DISCUSIÓN	58
8.CONCLUSIONES.....	60
9.PERSPECTIVAS.....	61
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	62
ANEXOS.....	74

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Microfotografía electrónica de <i>A. baumannii</i> . -----	15
Figura 2 Diferentes mecanismos de resistencia de <i>A. baumannii</i> (Asif,Muhammad). -----	20
Figura 3 Superposición estructural de OASS de varios organismos; -----	24
Figura 4 Vía de novo para biosíntesis de cisteína. -----	26
Figura 5 Diseño de actividades a desarrollar durante la ejecución del proyecto-----	30
Figura 6 Alineamiento múltiple de las secuencias de nucleótidos de Cisteína Sintasa de <i>Acinetobacter baumannii</i> , -----	37
Figura 7 Mapas de ubicación de los genes que codifican para CS dentro del genoma de <i>Acinetobacter baumannii</i> , (http://bacteria.ensembl.org/index.html). -----	39
Figura 8 Representación esquemática de los ORF para <i>cysM</i> (I) y <i>cysK</i> (II) a escala de la proteína para cada uno. -----	39
Figura 9 Composición aminoacídica de las enzimas <i>CysM</i> y <i>CysK</i> . Para las dos isoformas se observa en mayor proporción los aminoácidos Glicina, Isoleucina y Lisina. -----	41
Figura 10 Localización subcelular de las proteínas <i>CysM</i> (I) y <i>CysK</i> (II), por medio de DeepLoc-1.0-----	41
Figura 11 Presencia del dominio típico de unión a PLP (PXXSVKDR) para <i>CysM</i> (I) y <i>CysK</i> (II), se resaltan en color amarillo. -----	42
Figura 12 Alineamiento múltiple de secuencias de aminoácidos deducidas de CS de <i>Acinetobacter baumannii</i> y otros organismos representativos. -----	45
Figura 13 Predicción de estructura secundaria por medio de DTU.bioinformatics (NetSurfP) de las isoformas <i>CysM</i> (I) y <i>CysK</i> (II). -----	46
Figura 14 Modelo tridimensional de la enzima cisteína sintasa de <i>Acinetobacter baumannii</i> predicho mediante la herramienta I-TASSER. -----	48
Figura 15 Validación local, global y estructural de los modelos tridimensionales de <i>CysM</i> (I) y <i>CysK</i> (II) mediante ProSA-web.-----	49
Figura 16 Gráfico de Ramachandran mediante servidor PROCHECK, <i>CysM</i> (I) y <i>CysK</i> (II). -----	50
Figura 17 Caja y coordenadas del sitio alostérico en <i>CysK</i> de <i>A. baumannii</i> sobre la cual se realizó el docking molecular. -----	51
Figura 18. Esquemas de Interacciones moleculares entre 5 ligandos y <i>CysK</i> a partir de las coordenadas 3D. -----	56

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Características generales para las enzimas CysM y CysK.....	40
Tabla 2. Propiedades farmacocinéticas ADMET	55
Tabla 3. Interacciones moleculares CysK y los 5 Ligandos.....	57

RESUMEN

Acinetobacter baumannii se ha convertido en uno de los microorganismos fuertemente implicados en las infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) y representa una amenaza para la salud pública debido a las altas tasas de resistencia y mortalidad que genera. La búsqueda de nuevos blancos terapéuticos para desarrollar terapias alternativas es indispensable para garantizar el control de las enfermedades asociadas a este patógeno. En este sentido, en el presente trabajo se hizo una caracterización *in silico* de la enzima cisteína sintasa (CS) de *A. baumannii*, así como una identificación de compuestos con afinidad por la enzima mediante el uso de herramientas y bases de datos bioinformáticas de acceso libre. El estudio *in silico* demostró que *A. baumannii* posee dos genes que codifican para las proteínas CysM y CysK; las dos isoformas presentan todos los residuos y dominios importantes para la actividad catalítica y que han sido descritos en la familia de enzimas piridoxal 5'-fosfato (PLP) dependientes involucradas en la síntesis de cisteína por la vía *de novo* a la cual pertenece CS. Mediante la herramienta I-TASSER se obtuvieron los modelos tridimensionales de las dos isoformas los cuales presentaron una topología correcta y alta calidad con puntajes típicamente encontrados en proteínas nativas. El acoplamiento molecular, las predicciones ADMET y los análisis de interacción permitieron identificar compuestos con alta afinidad por la isoforma CysK, dentro de lo que se destacan ZINC13643289, ZINC14996361, ZINC000002957581 y ZINC20353527 como candidatos para estudios *in vitro* y futuro desarrollo de una terapia selectiva para el tratamiento de infecciones asociadas a *A. baumannii*.

Palabras clave: *Acinetobacter baumannii*, Cisteína Sintasa, IAAS, Resistencia, Mortalidad.

ABSTRACT

Acinetobacter baumannii has become one of the microorganisms strongly implicated in health care associated infections (HAI) and represents a threat to public health due to the high rates of resistance and mortality it generates. The search for new therapeutic targets to develop alternative therapies is essential to guarantee the control of diseases associated with this pathogen. In this sense, in the present work an *in silico* characterization of the enzyme cysteine synthase (CS) of *A. baumannii* was carried out, as well as an identification of compounds with affinity for the enzyme through the use of tools and bioinformatic databases of access free. The *in silico* study showed that *A. baumannii* has two genes that code for the CysM and CysK proteins; the two isoforms present all the important residues and domains for catalytic activity and which have been described in the family of dependent Pyridoxal 5'-Phosphate (PLP) enzymes involved in the synthesis of cysteine by the de novo route to which CS belongs. Using the I-TASSER tool, the three-dimensional models of the two isoforms were obtained, which presented a correct and high-quality topology with scores typically found in native proteins. Molecular coupling, ADMET predictions, and interaction analysis made it possible to identify compounds with high affinity for the CysK isoform, among which ZINC13643289, ZINC14996361, ZINC000002957581 and ZINC20353527 stand out as candidates for *in vitro* studies and future development of a selective therapy for the treatment of infections associated with *A. baumannii*.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, Cysteine Synthase, therapeutic target, *in silico*, Cystathionine Beta Synthase

1.INTRODUCCIÓN

Las infecciones nosocomiales o infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS), son aquellas contraídas por un paciente en el hospital o en otro establecimiento de atención de salud y que el paciente no tenía o no estaba incubando al momento de su ingreso (Ducel,

G. Fabry, J. Nicolle, L. Girard, R. Perraud, M. Prüss, A. Savey, 2009). Se consideran el evento adverso más comúnmente presentado durante la atención en salud, con 1.7 millones de pacientes que adquieren una IAAS mientras reciben tratamiento por otros problemas de salud (Haque et al., 2018). Según la OMS, dichas infecciones se presentan con mayor frecuencia en países en vía de desarrollo, donde 10 de cada 100 pacientes hospitalizados (10%) pueden adquirir una IAAS, mientras que en países desarrollados la prevalencia sólo llega al 7% (Khan et al., 2017).

Según la Organización Panamericana de la Salud, en América Latina, a pesar de que la infección hospitalaria es una causa importante de morbilidad y mortalidad, son pocos los datos que se tienen de la carga de enfermedad, se estima que la prevalencia de estos eventos es del 37,14% (Mulani et al., 2019); además se ha visto que las IAAS repercuten significativamente en los costos asistenciales, por ejemplo, en Colombia las IAAS actualmente son el evento adverso más frecuente en hospitales con una prevalencia de 13.338 casos reportados durante el 2014 en Bogotá notificados por 96 IPS de diferente nivel de complejidad en el Distrito y se consideran la segunda causa de muerte con 64,7 por 100.000 habitantes (Rodríguez et al., 2018).

Las IAAS son causadas por diferentes tipos de microorganismos dentro de los cuales se encuentran las bacterias del grupo ESKAPE por su acrónimo, el cual incluye seis patógenos lo cuales poseen diversos factores de virulencia: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter spp*, la mayoría de ellas presentan resistencia a múltiples fármacos lo que genera desafíos en la práctica clínica para el tratamiento de las infecciones causadas por este grupo de patógenos (Rodríguez et al., 2018). *Acinetobacter baumannii* es una de las bacterias más frecuentemente asociadas con IAAS principalmente las que ocurren en las UCI, donde cerca del 27% casos son debidas a éste patógeno, especialmente cepas de *Acinetobacter* multi-rresistente (MDR) (Mulani et al., 2019), con una mayor prevalencia de resistencia a los carbapenémicos (CRAB) entre un 40-80%, asociada directamente a las tasas de mortalidad en un 60% (Morrissey et al., 2019)

Este patógeno se ha visto implicado en un amplio espectro de enfermedades infecciosas como neumonías asociadas a ventiladores mecánicos, bacteriemia, meningitis, infecciones del tracto urinario, peritonitis e infecciones de la piel, los tejidos blandos e infecciones

relacionadas con el uso de dispositivos (ventilación mecánica, catéter venoso central, sondaje uretral entre otros) (Karlowsky et al., 2017)

Teniendo en cuenta la problemática mencionada en este trabajo se caracterizó la enzima CS en *A. baumannii* (CSAb) debido a que esta enzima presenta características que pueden llevarla a ser un nuevo blanco terapéutico: CS no se encuentra en los mamíferos incluyendo al hombre, existen diferencias significativas tanto a nivel bioquímico como estructural entre CS y su homólogo más cercano en el hombre la cistationina β -sintasa (CBS), CS está involucrada en la síntesis de cisteína, aminoácido esencial para cualquier ser vivo (Santajit & Indrawattana, 2016) y en otros microorganismos patógenos como parásitos (*Trypanosoma cruzi*, *Leishmania braziliensis*) y bacterias (*Mycobacterium tuberculosis*, *Bacillus subtilis*) (Romero et al., 2014). CS, mantiene los niveles de cisteína necesarios para la síntesis de los tioles como glutatión (GSH), micotiol (MSH), bacilitiol (BSH) y tripanotión (T[SH]₂), moléculas centrales en la defensa antioxidante de esos microorganismos, neutralizando las especies reactivas de oxígeno y manteniendo el equilibrio redox intracelular, lo cual les permite sobrevivir a la explosión oxidativa generada por la defensa del hospedero (Mazumder & Gourinath, 2015)(Pinzi & Rastelli, 2019; Romero et al., 2015).

Para este fin se realizó una caracterización *in silico* de la enzima cisteína sintasa identificando dos genes *cysM* y *cysK* que codifican para las isoformas CysM y CysK respectivamente de *Acinetobacter baumannii*, adicionalmente se identificó el dominio típico de piridoxal 5'-fosfato (PLP) y se determinaron las estructuras secundarias y terciarias de las dos proteínas mediante herramientas bioinformáticas, se realizó un alineamiento múltiple entre las dos isoformas con los ortólogos más cercanos con la finalidad de observar similitud e identidad entre ellas, evidenciando una identidad mayor en bacterias Gram negativas.

En este estudio se enfocó en la enzima CysK ya que presenta características que la hacen un modelo apto para la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas, para el desarrollo de esta predicción se acondiciono el modelo de la proteína por medio de AutodockVina y se identificaron compuestos que presentaron afinidad por el sitio activo de la enzima estableciendo las propiedades farmacocinéticas de los posibles candidatos a inhibidores de la cisteína sintasa.

Este trabajo aporta conocimiento sobre posibles compuestos que se proponen como candidatos a fármacos que inhiban la función de la CS en el patógeno nosocomial *A. baumannii*, a través de las propiedades farmacocinéticas ADMET, con el fin de proporcionar información útil para seleccionar terapias adecuadas que sean desconocidas para el microorganismo y no generen resistencia, para el control de la diseminación de las infecciones causadas y comprender el fenómeno de la multiresistencia en *Acinetobacter* que se presenta tanto alrededor del mundo como en Colombia.

2. MARCO CONCEPTUAL Y GENERALIDADES

2.1 *Acinetobacter baumannii*, características generales.

Acinetobacter baumannii (*A. baumannii*) es un cocobacilo Gram negativo aerobio (C. R. Lee et al., 2017) inmóvil, no fermentativo, no formador de esporas (Asif et al., 2018). Esta bacteria pertenece al género *Acinetobacter*, familia *Moraxellaceae*, clase Proteobacteria dentro de las Eubacterias (Eze et al., 2018).

Las bacterias de este género crecen bien a temperaturas de 35°C – 37°C y *A. baumannii* puede también crecer a 44°C; adicionalmente, este género crece en medios microbiológicos de rutina como agar sangre, agar chocolate y agar MacConkey y en un medio selectivo Leeds para el género de *Acinetobacter* (Asif et al., 2018). Forma colonias rosadas con fondo malva, circulares, convexas, lisas, opacas con márgenes completos de 1 a 2 mm de diámetro (Figura 1) (Jawad et al., 1994). Metabólicamente se caracteriza por ser catalasa positivo, oxidasa, ureasa, citrato e indol negativos (Asif et al., 2018).

Como mecanismo de barrera de protección frente a la respuesta inmunitaria del huésped, presenta una cápsula de exopolisacárido, porinas de membrana externa, fosfolipasas, proteasas, lipopolisacáridos (LPS), sistemas de secreción de proteínas y sistemas quelantes de hierro, estos factores de virulencia lo hacen resistente no solo a la respuesta inmune del huésped sino también a los fármacos de uso convencional, colocando a este patógeno en la lista de prioridades de investigación y de prioridad crítica para el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas (Monem et al., 2020).

A. baumannii es saprófito ambiental ampliamente distribuido en la naturaleza, se encuentra tanto en el suelo como en el agua y es capaz de sobrevivir por largos periodos en superficies inertes como camas, cortinas, paredes, techos, dispositivos y equipos médicos, facilitando su propagación en el entorno hospitalario (Lucidi et al., 2018). Esta bacteria es considerada un patógeno oportunista que representa una amenaza creciente en salud, debido a que puede colonizar la piel, el tracto respiratorio, urinario, gastrointestinal y el torrente sanguíneo humano (Kapoor, 2008). De igual forma, es importante resaltar que *Acinetobacter baumannii* se ha convertido en uno de los patógenos más exitosos en la atención médica, debido a su sorprendente capacidad de adquirir resistencia a la mayoría de los antibióticos disponibles clínicamente (C. R. Lee et al., 2017).



Figura 1 Microfotografía electrónica de *A. baumannii*.

Se observan cocobacilo Gram negativos de 1-2 mm de diámetro de *A. baumannii* dentro de una biopelícula. Microfotografía electrónica de barrido en color (SEM); (Kunkel,Dennis).

2.2 Enfermedades ocasionadas por *A. baumannii*

A. baumannii es un patógeno que apareció por primera vez en instalaciones de tratamiento militares durante la guerra de Irak (Eze et al., 2018). Entre las especies de *Acinetobacter*,

A. baumannii es el miembro más importante asociado con infecciones adquiridas a nivel intrahospitalario, conocidas como Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS), principalmente en pacientes tratados en unidades de cuidados intensivos (UCI), representando hasta el 20% de estas infecciones en todo el mundo (C. R. Lee et al., 2017).

Dentro de las IAAS más fuertemente asociadas a *A. baumannii* están, neumonía asociada al ventilador mecánico en un 15%(Rada, 2016), infecciones del torrente sanguíneo en 10-15% asociadas a procedimientos invasivos (catéteres, tubos etc); infecciones en la piel en un 2.1% y los tejidos blandos e incluso meningitis nosocomial en un 4% y con menos frecuencia infecciones del tracto urinario asociadas con el uso de catéteres con un 1,6%(Asif et al., 2018; Eze et al., 2018). Además de las IAAS, *A. baumannii* también ha sido asociado a infecciones comunitarias, siendo la neumonía y la bacteremia los síndromes clínicos más prevalentes en pacientes con alguna patología de base como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), Diabetes mellitus e Insuficiencia Renal(Nowak & Paluchowska, 2016).

Acinetobacter baumannii es una de las bacterias más frecuentemente asociadas con IAAS principalmente las que ocurren en las UCI, donde cerca del 27% casos son debidas a éste patógeno siendo una amenaza para la salud pública debido a las altas tasas de resistencia a los medicamentos de uso clínico.

2.2.1 Patología de *A. baumannii*

La capacidad de *A. baumannii* para anclarse con células mucosas es baja en comparación con otros microorganismos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria meningitides*, entre otros; atribuible a su baja virulencia; sin embargo, posee una capacidad hidrófoba que proporciona unión a materiales extraños como plásticos utilizados en dispositivos intravasculares. Se ha comprobado que la hidrofobicidad de la superficie está altamente expresada en cepas aisladas de pacientes en comparación con la flora normal de la piel.

La proteína A de la membrana externa (OmpA) está asociada con la mejora de la adhesión, específicamente a las células epiteliales del tracto respiratorio. Se localiza en las mitocondrias y los núcleos e induce la expresión del citocromo c de la molécula pro apoptótica, lo que provoca la muerte celular (Schweppe et al., 2015). *A. baumannii* evade

la muerte mediada por la vía alternativa del complemento al neutralizar el factor H, un regulador clave de la vía alternativa del complemento, con la ayuda de OmpA. Este fenómeno se conoce como resistencia sérica de *A. baumannii* (Kim et al., 2016). La OmpA induce la diferenciación de CD4 +, la activación y maduración de las células dendríticas y provoca su apoptosis prematura (J. S. Lee et al., 2010).

La secreción de vesículas de la membrana externa que contienen diferentes proteínas relacionadas con la virulencia (proteasas, fosfolipasas, superóxido dismutasa y catalasa) en el sitio de la infección acelera la respuesta inmune innata local y, en última instancia, conduce a daño tisular. Las vesículas de la membrana externa también aumentan la formación de biopelículas en superficies abióticas (Nho et al., 2015). Los lipopolisacáridos (LPS) de *A. baumannii* consisten en un antígeno O, el núcleo de carbohidratos y una fracción de lípido A. El LPS es un agente quimiotáctico que recluta células inflamatorias y las obliga a liberar su material citotóxico (Rossi et al., 2016).

2.3 Tratamiento para las enfermedades ocasionadas por *A. baumannii*

Las enfermedades causadas por *A. baumannii*, son actualmente tratadas con diversos tipos de antibióticos que se usan en monoterapia o en terapia combinada (C. R. Lee et al., 2017). Los carbapenémicos como imipenem y el meropenem son los medicamentos de elección para el tratamiento de infecciones causadas por cepas susceptibles. También son empleados aminoglucósidos como la Amikacina y tobramicina; fluoroquinolonas como ciprofloxacina y levofloxacina y cefalosporinas de amplio espectro como ceftazidima, cefotaxima, ceftriaxona, cefepima. Estos fármacos han presentado una efectiva actividad in vitro contra este organismo y un perfil de seguridad favorable en sujetos sanos con eventos adversos mínimos (Doi et al., 2015). En los casos, cada vez más frecuentes, de resistencia a estos antibióticos, se utilizan como alternativas terapéuticas las polimixinas, minociclina, tigeciclina y sulbactam (Asif et al., 2018; Doi et al., 2015).

Debido a la disminución en la susceptibilidad que está presentando *A. baumannii* frente a los antibióticos convencionales en monoterapia, se ha propuesto realizar tratamiento combinado, de tal forma que usando dos o más antibióticos al mismo tiempo se aumente la eficacia en el tratamiento y disminuya el desarrollo de fenotipos resistentes por parte de

esta bacteria (C. R. Lee et al., 2017). Por ejemplo, en un estudio en Turquía utilizando la combinación de rifampicina y colistina, para tratar 43 pacientes con neumonía asociada al ventilador, debido a *A. baumannii* resistente a carbapenémicos, se demostró que la mortalidad cruda en el hospital y la mortalidad relacionada con la neumonía fueron menores en el grupo tratado con la combinación de los dos antibióticos (61.9 y 38.1%) comparados con el grupo tratado con colistina en monoterapia (72.7% y 63.6%) (Doi et al., 2015).

De igual forma, las terapias combinadas con imipenem / sulbactam, colistina / rifampicina, colistina / sulbactam, colistina / tigeciclina, colistina / imipenem o meropenem y colistina / teicoplanina se han estudiado y propuesto como posibles opciones terapéuticas contra *A. baumannii* (Lin, 2014). Así mismo, la combinación ampicilina/sulbactam ha sido eficaz en el tratamiento de las infecciones del torrente sanguíneo causadas por *A. baumannii* multi-resistente, se ha logrado evidenciar que el tratamiento combinado reduce la tasa de mortalidad en pacientes tratados con estos dos medicamentos (mortalidad 41.4%) versus los tratados en monoterapia (91.7%)(Smolyakov et al., 2003).

De otro modo, la combinación de Trimetoprim-sulfametoxazol con colistina, también ha demostrado mayor efectividad y rapidez para matar cepas de *A. baumannii* resistentes a carbapenémicos (C. R. Lee et al., 2017); así mismo, un efecto sinérgico se ha visto entre los carbapenémicos como meropenem o imipenem y la plazomicina un aminoglucósido de última generación (de la Fuente-Salcido et al., 2015; C. R. Lee et al., 2017).

2.4 Resistencia a antibióticos en *A. baumannii*

A. baumannii tiene la capacidad de desarrollar resistencia a antibióticos de una forma muy rápida con tasas de resistencia superiores al 50% a nivel mundial, según estudio donde se comparan dichas resistencias en terapias de carbapenémicos en diferentes continentes, como América Latina (40%) versus América del norte y Europa (13% y el 15% respectivamente) (Asif et al., 2018). Por tal motivo, en 2017, la Organización Mundial de la Salud (OMS) incluyó a éste patógeno en la lista de los microorganismos ESKAPE por su acrónimo (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *A. baumannii*, *Pseudomona aeruginosa* y especies de *Enterobacter*) con prioridad crítica para la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas, debido a que escapan efectivamente del

efecto de los fármacos antibacterianos de mayor importancia a nivel clínico (Viehman et al., 2014; WHO, 2017).

Los mecanismos de resistencia exhibidos por *A. baumannii* dependen del tipo o familia de antibióticos, sin embargo, los más importantes están representados en la (Figura 2) (Asif et al., 2018). Dentro estos mecanismos se encuentran:

- **Producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE):** Mediada por una mayor degradación por las betalactamasas, la alteración de las proteínas de unión a la penicilina, los cambios en las porinas de la membrana externa para disminuir la permeabilidad y la expulsión de los antibióticos fuera de la célula a través de la bomba de salida.
- **Mecanismo de resistencia aminoglucósidos:** Modificación del grupo amino o hidroxilo por enzimas modificadoras de aminoglucósidos. En *Acinetobacter* se han identificado todos los tipos de enzimas modificadoras de aminoglucósidos (adenilasas, acetilasas, metiltransferasas y fosfotransferasas).
- **Quinolonas:** Dada por mutaciones en los *gyrA* y *parC* genes, que resulta en cambios fenotípicos en el ADN girasa y la topoisomerasa IV, lo que lleva a la afinidad fármaco reducida.
- **Colistina:** Los mecanismos de resistencia a la colistina están codificados por el ADN cromosómico de la bacteria. Se han informado dos mecanismos principales. El primer mecanismo consiste en mutaciones en los genes que codifican el lípido A (*lpxA*, *lpxC* e *lpxD*), lo que da como resultado la pérdida de LPS, una parte externa de los organismos gramnegativos y un objetivo inicial de colistina. El segundo mecanismo involucra el sistema de dos componentes de *pmrAB*, que es un regulador de respuesta y un sensor de quinasa.

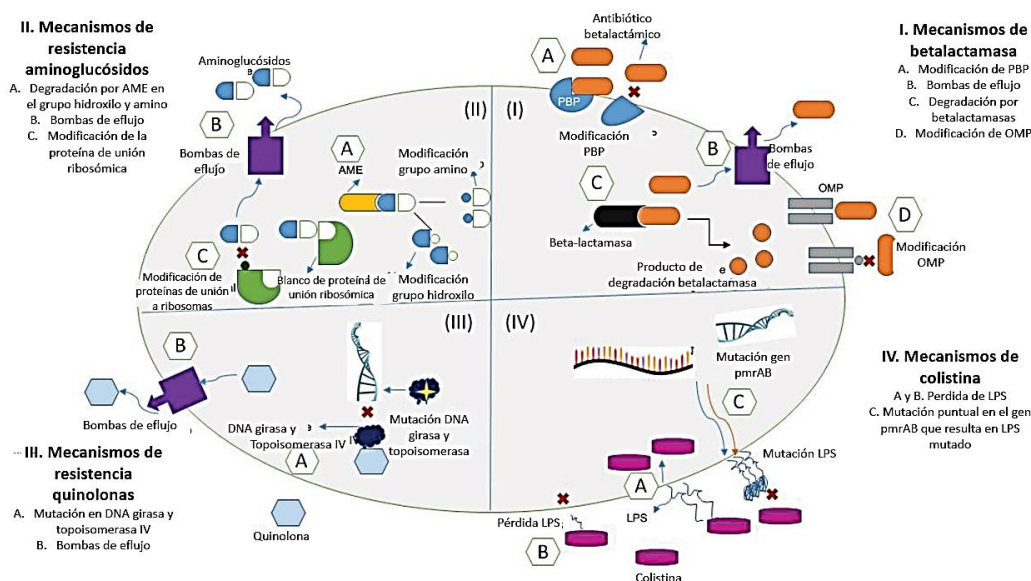


Figura 2 Diferentes mecanismos de resistencia de *A. baumannii* (Asif, Muhammad).

La figura representa los principales mecanismos de resistencia a los fármacos antibacterianos de *A. baumannii*. (I) betalactámicos; (II) aminoglucósidos; (III) quinolonas; (IV) colistina. Abreviaturas: AME, enzima modificadora de aminoglucósidos; LPS, lipopolisacárido; OMP, membrana externa de porina; PBP, proteína de unión a penicilina.

Otros mecanismos de resistencia más específicos incluyen, las bombas de eflujo, la familia de casetes de unión a ATP (ABC), la modificación de las proteínas de unión a la penicilina (PBP), modificación de unión a proteína ribosomal, mutación en el DNA girasa y topoisomerasa IV (Asif et al., 2018). Por otro lado, es importante mencionar que, gracias a la plasticidad de su genoma es que *A. baumannii* logra adquirir e intercambiar genes asociados a resistencia de una forma muy rápida, por medio de mecanismos de transferencia horizontal de genes, conjugación y transducción de plásmidos, de transposones o integrones (Lin, 2014).

Adicionalmente, se han identificado varios factores de virulencia que también contribuyen a la resistencia, como, por ejemplo, las porinas de membrana externa, las proteasas, los sistemas de secreción de proteínas y la formación de biopelículas, éstas últimas no sólo le permiten a la bacteria persistir en superficies vivas e inertes, sino también le confieren protección contra el sistema inmune y contra la acción de los antibióticos (C. R. Lee et al., 2017).

La adquisición rápida de fenotipos farmacorresistentes en este patógeno, se ha asociado con la presencia de regiones genómicas denominadas 'islas de resistencia' que se pueden encontrar en el cromosoma y / o en los plásmidos bacterianos (Nasr, 2020) como con la plasticidad de su genoma, facilitándole la transferencia e intercambio horizontal de genes con otras bacterias y así poder desarrollar diferentes mecanismos que le permiten escapar de la destrucción de los antibióticos (Pagano et al., 2016).

Al ser considerada esta bacteria como un problema de salud prioritario según la OMS se incluye este patógeno para el desarrollo de nuevos antibióticos, que logren contrarrestar las infecciones ocasionadas por él (Alcántar-Curiel et al., 2019).

2.5 Nuevos compuestos para el tratamiento de *A. baumannii*

Debido a que *A. baumannii* hace parte de los microorganismos de prioridad crítica, por las altas tasas de resistencia a antibióticos reportadas, las cuales, han sido asociadas a mortalidad en pacientes hospitalizados (Durante-Mangoni et al., 2013), recientes estudios de investigación se han enfocado a encontrar nuevas alternativas terapéuticas que logren combatir las infecciones ocasionadas por *A. baumannii* multirresistente (T. Wang & Leyh, 2012). Un ejemplo es el cefiderocol (S-649266), una cefalosporina siderófora destinada a la actividad contra carbapenémicos y especies gramnegativas resistentes a múltiples fármacos, incluidas las cepas productoras de β -lactamasa de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas (Neto et al., 2018).

Otro compuesto en estudio que se encuentra en fase 3 de desarrollo clínico, es la eravaciclina (TP-434), un compuesto que hace parte de las tetraciclinas con modificaciones en las posiciones C-7 y C-9 del anillo tetracíclico, el cual inhibe la síntesis de proteínas bacterianas a través de la unión a la subunidad ribosómica 30S, ha demostrado ser un tratamiento eficaz en infecciones causadas por microorganismos Gram negativos y Gram positivos multi-resistentes (MDR) (Roberto Carlos Barletta Farías et al., 2018). La actividad del fármaco no se ve comprometida por algún mecanismo de resistencia que posea la bacteria como por ejemplo las bombas de eflujo y además la evidencias demuestran que puede tener un efecto mejorado sobre medicamentos ya en uso clínico como la tigeciclina

usado contra el género de *Acinetobacter spp.* MDR y la familia Enterobacteriaceae productoras de BLEE (Betalactamasas de espectro extendido) (Roberto Carlos Barletta Farías et al., 2018).

Así mismo, el compuesto DS-8587 que pertenece a la familia de fluoroquinolonas que de manera similar a éstas actúa inhibiendo la ADN topoisomerasa, ha demostrado tener una potente actividad contra patógenos que causan infecciones comunitarias y nosocomiales (Roberto Carlos Barletta Farías et al., 2018). Estudios realizados demuestran que DS-8587 posee una excelente actividad antibacteriana contra cepas de *A. baumannii* portadoras de mutaciones en los genes *gyrA/parC*, con una Concentración inhibitoria mínima (CMI) de 0,015 a 0,06 g/ml, las cuales fueron 4-8 veces y de 8-16 veces menores comparadas con las CMI de antibióticos de uso clínico actual como levofloxacino y ciprofloxacino respectivamente (Roberto Carlos Barletta Farías et al., 2018).

Dentro del grupo de las monosulfactamas, el compuesto denominado BAL 30072, se encuentra en la fase 1 de desarrollo, éste ha mostrado actividad contra muchas bacterias Gram negativas, incluidas las que producen metalo- β -lactamasas y KPC como *Klebsiella pneumoniae* carbapenemasa y *A. baumannii*; además se ha demostrado que posee un efecto sinérgico con carbapenémicos, por ejemplo, cuando se combina con meropenem, la CMI es 4 veces menor en *A. baumannii* y en *K. pneumoniae* comparado con el solo meropenem (Roberto Carlos Barletta Farías et al., 2018).

Pese a que se están desarrollando nuevos compuestos para el tratamiento de microorganismos resistentes, estos se han basado en la modificación química de los compuestos existentes; este tipo de estrategias podría desencadenar la aparición de fenotipos de resistencia en un menor tiempo; es por eso por lo que, desde la OMS, también se promueve la búsqueda de nuevas moléculas blanco en los patógenos microbianos, que permitan desarrollar medicamentos alternativos. Una de esas moléculas puede ser la enzima cisteína sintasa (CS), que ha sido descrita en otros microorganismos de importancia médica y que en el presente trabajo se pretende identificar y caracterizar en la bacteria *A.*

baumannii. A continuación, se describen las principales características de la enzima cisteína sintasa (CS).

2.6 Complejo cisteína sintasa (CS) (CysK- CysM)

Se han clasificado dos tipos O-acetil-L-serina sulfhidrilasa (OASS): OASS- A (CysK) y OASS-B (CysM), estas pertenecen al tipo II de enzimas dependientes de piridoxal-5'-fosfato (PLP), donde la aldimina interna se forma en los residuos de lisina de una hélice α en el dominio N-terminal, y la enzima apo se estabiliza por las interacciones de sus residuos de serina y treonina con un anillo de piridina de PLP (Percudani & Peracchi, 2003).

Esta familia está representada por el triptófano sintasa. La primera estructura de OASS que se resolvió fue la de *S. typhimurium* en 1998 por Burkhard (Burkhard et al., 1998). Desde entonces, se han determinado varias estructuras OASS de varias plantas, bacterias y protozoos (Chinthalapudi et al., 2008). Todas las OASS son homodímeros de alrededor de 75 kDa, y las estructuras cristalinas revelan que cada monómero está compuesto por dos dominios, cada dominio tiene un pliegue α / β (Figura 3) típico de las enzimas PLP tipo pliegue II. El dominio N Terminal incluye una hoja β paralela central de cuatro cadenas, que está flanqueada por tres hélices α en un lado y una hélice α en el otro lado (Mazumder & Gourinath, 2015).

El dominio C-terminal se pliega en una lámina β mixta de seis hebras intercaladas por cuatro hélices α . El análisis de la red comunitaria, que identifica comunidades (grupos de residuos altamente conectados) basados en la correlación y proximidad de residuo por residuo. Como se ve en estas figuras, los sitios de unión al ligando están presentes en el grupo 4, que está fuertemente conectado al grupo 11. Los residuos responsables de la apertura y cierre del sitio activo están presentes en el grupo 11. La figura demuestra la correlación positiva de movimiento del grupo 11 con el del grupo 4, que desencadena el cierre y la apertura del sitio activo tras la unión del ligando (Mazumder & Gourinath, 2015).



Figura 3 Superposición estructural de OASS de varios organismos;

Entamoeba histolytica, *Leishmania donovani*, *Haemophilus influenzae*, *Salmonella typhimurium*, *Mycobacterium tuberculosis*, *E. coli* y *Arabidopsis thaliana*; con conformaciones abiertas, cerradas e. La superposición de todos los OASS sugiere que las estructuras generales de los OASS son muy similares, los colores en la estructura representan cada microorganismo en mención.

Cisteína sintasa al ser una enzima tipo II plegable, en contraste con las enzimas tipo I plegadas, generalmente tienen el residuo Lys de la base de Schiff más cerca del extremo N, mientras que la región del asa para la unión del grupo fosfato PLP está cerca del extremo C-terminal. Hay dos cadenas β flanqueadas por hélices α en enzimas tipo II plegables. La región para la unión a PLP en enzimas tipo II de pliegue contiene un dominio N-terminal y un dominio C-terminal con un tamaño similar entre sí (Liang et al., 2019).

Las enzimas tipo II plegables son funcionales como dímeros, tetrámeros u oligómeros con el sitio activo compuesto de residuos, todos de una subunidad y muchas enzimas tipo II plegadas están bajo control alostérico (Liang et al., 2019).

2.6.1 Funciones de la cisteína en la supervivencia celular

La cisteína es un aminoácido indispensable para la supervivencia de prácticamente todos los organismos vivos, desde procariotas hasta eucariotas superiores. L-cisteína juega un

papel crucial en el plegado, ensamblaje y estabilidad de proteínas, a través de la formación de enlaces disulfuro,(Romero et al., 2014). Igualmente, la cisteína debido a su capacidad para formar puentes disulfuro en un entorno oxidativo hace parte de los residuos aminoacídicos del sitio activo en varias familias de enzimas como la tiorredoxina (Trx) y la glutaredoxina (Grx), que participan en la protección de las células en condiciones de estrés oxidativo. Por otro lado, debido a su alta reactividad, la cisteína es considerado el bloque central en la formación de los tioles como glutatión (GSH), micotiol (MSH), bacilitiol (BSH) y tripanotion (T[SH]₂) consideradas moléculas importantes en la defensa antioxidante de muchas células tanto procariotas como eucariotas; estas moléculas tiol pueden reaccionar con especies reactivas de oxígeno neutralizándolas y manteniendo el equilibrio redox intracelular (Kohl et al., 2019). En algunos patógenos intracelulares, la cisteína juega un papel importante para la sobrevivencia en estos ambientes oxidantes dentro del macrófago; por ejemplo, cuando *Mycobacterium tuberculosis* invade los macrófagos, regula las vías que producen los reductores de azufre, incluidas la cisteína, el micotiol y la metionina, que le permiten sobrevivir en el ambiente oxidativo del fagosoma (K. Singh et al., 2017). De igual forma, en parásitos como la *Leishmania donovani* y el *Trypanosoma cruzi*, la cisteína mantiene los niveles aumentados de tripanotion el cual les permite sobrevivir al estrés oxidativo proporcionado por el macrófago humano (K. Singh et al., 2017).

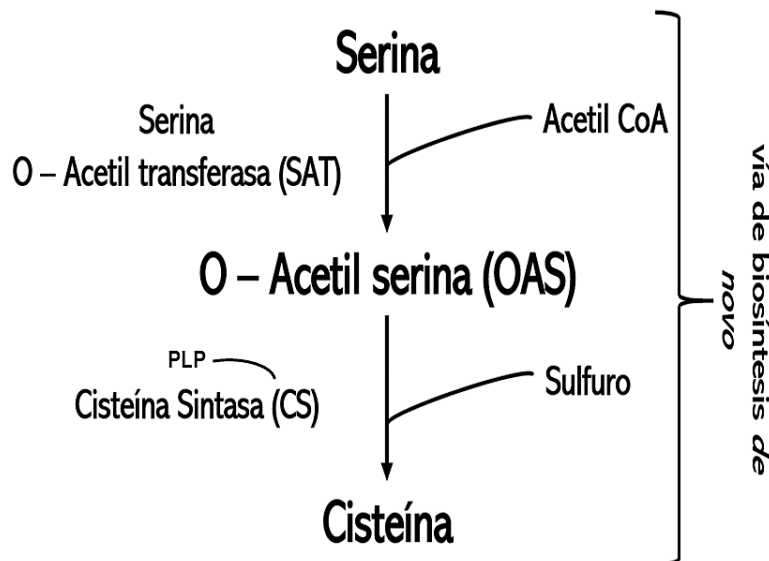


Figura 4 Vía *de novo* para biosíntesis de cisteína.

Representación esquemática de enzimas involucradas en las vías de biosíntesis de cisteína en *Leishmania*; figura adaptada de la referencia (Singh,K)

2.6.2 Cisteína Sintasa un blanco de inhibición en patógenos humanos

Cisteína Sintasa (CS) es una enzima involucrada en la síntesis de cisteína por la vía *de novo* en plantas, bacterias y algunos parásitos protozoarios (Romero et al., 2014). En bacterias y en plantas, la cisteína se sintetiza a partir de la serina e incluye la asimilación o incorporación de sulfuro o tiosulfato externos; además, CS junto con Serina o-Acetil transferasa (SAT) juegan un papel fundamental en la regulación de la ruta en respuesta a la disponibilidad de azufre en el medio (K. Singh et al., 2017). Durante el exceso de azufre, CS y SAT se asocian para formar un complejo, en el cual, el extremo C-terminal de SAT se une a la CS bloqueando su sitio activo y disminuyendo la actividad CS, pero aumentando la actividad SAT, resultando en un exceso de producción de O- acetilserina (OAS) lo que posteriormente, conduce a la disociación del complejo, liberando la enzima CS para catalizar la formación de cisteína a partir de OAS y sulfuros que la célula toma del medio (Figura 4) (K. Singh et al., 2017).

En bacterias se han descrito dos isoformas de OASS conocidas como OAS-sulfidrilasa A (CysK) y OAS-sulfidrilasa B (CysM) con un porcentaje de identidad del 43% (Volker F. Wendisch, 2007). Ambas son enzimas homodiméricas dependientes de pirodoxal -5'-fosfato (PLP) fuertemente unido a CS por un residuo de lisina; estas enzimas están codificadas por los genes *cysK* y *cysM* localizadas en el operón *Cys* (Dietrich H. Nies, 2007).

Frávega y colaboradores en su investigación evaluaron la importancia del sulfuro en la resistencia a antibióticos, debido a que *cysK* utiliza este compuesto como sustrato para la producción de cisteína y la acumulación de H₂S; de esta manera suponen una relación con la resistencia a los fármacos. Se considera que el gen *cysK*, pero no *cysM*, podría estar involucrado en el mecanismo de eliminación de los antibióticos ceftriaxona y ciprofloxacina en *Salmonella typhimurium*, actuando como un mecanismo antioxidante (Frávega et al., 2016), adicionalmente la isoforma CysK presenta una baja identidad frente a la CβS

humana y una zona de regulación alostérica presente en bacterias y protozoarios; según estudios mencionan que la producción de cisteína se ve mas favorecida hacia la vía que esta sintetizando CysK en vez de CysM (Joshi et al., 2019).

Algunos estudios han permitido establecer la relación entre la actividad de CS y el favorecimiento de estadios de latencia, supervivencia y resistencia a fármacos, Se ha demostrado que en *Mycobacterium tuberculosis* cuando se aumenta la expresión de *cysM* le permite a la bacteria generar estadios de latencia, resistiendo al estrés oxidativo dentro del macrófago (Joshi et al., 2019).

En *Bacillus subtullis*, CysK activa el represor CymR, CysK está involucrada en la activación de los sistemas de inhibición del crecimiento dependiente del contacto bacteriano (CDI) (Joshi et al., 2019), en *P. aeruginosa*, CysM se sobreexpresa cuando el patógeno se encuentra bajo condiciones de estrés térmico o por la presencia de metales pesados como el cadmio(Joshi et al., 2019). En el caso de *Neisseria gonorrhoeae* en cepas resistentes a espectinomicina (SpecR), se observó la isoforma CysK sobreexpresada, mecanismo que contribuye a la resistencia a dicho fármaco. En *Leishmania braziliensis* cuando se presenta un aumento en la expresión de la cisteína sintasa se genera resistencia frente a la exposición del peróxido de hidrogeno.

Teniendo en cuenta la importancia de la cisteína y de la enzima cisteína sintasa en patógenos intracelulares como *A. baumannii*, además de que considerar que esta enzima no está presente en los mamíferos incluyendo el hombre (Romero et al., 2014), CS puede llegar a ser un importante blanco molecular para la búsqueda de nuevos fármacos que hagan frente a la problemática de resistencia por esta bacteria oportunista.

2.7 Docking Molecular, análisis *in silico* de nuevos compuestos

El acoplamiento molecular se utiliza actualmente como una técnica rápida y económica en entornos académicos como industriales, es un método que analiza la conformación y la orientación (denominadas en conjunto como "pose") de moléculas en el sitio de unión de un objetivo macromolecular. Los algoritmos de búsqueda generan posibles poses, que se clasifican mediante funciones de puntuación (Torres et al., 2019).

Los enfoques *in silico* ahora permiten la detección virtual de millones de compuestos en un tiempo asequible, reduciendo así los costos iniciales de identificación de aciertos y mejorando las posibilidades de encontrar los fármacos candidatos deseados (Pinzi & Rastelli, 2019). En este contexto, el acoplamiento se ha convertido en una herramienta esencial para desarrollar diferentes protocolos de diseño de fármacos racionales, incluido el cribado virtual basado en estructuras para identificar nuevos candidatos y la comprensión de los elementos químicos más importantes que guían las interacciones ligando-proteína en objetivos biológicos relevantes (Ramírez & Caballero, 2018). Existen software como AutoDock, AutoDock Vina, DockThor, GOLD, FlexX y Docker virtual Molegro, que facilitan el análisis de acoplamiento molecular, siendo estas plataformas de acceso libre (Torres et al., 2019).

Una vez obtenido el docking molecular de los complejos proteína- ligando se analizan las propiedades farmacocinéticas como absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad de sustancias químicas (ADMET), estas juegan un papel clave en el descubrimiento y desarrollo de fármacos; un candidato a fármaco de alta calidad no solo debe tener suficiente eficacia contra el objetivo terapéutico, sino también mostrar propiedades ADMET apropiadas a una dosis terapéutica, evitando de tal forma la falta de eficacia y seguridad en las nuevas alternativas terapéuticas. Por lo tanto, es necesario encontrar moléculas eficaces con las mejores propiedades ADMET. Software diseñados para la predicción de las propiedades fisicoquímicas; como admetSAR, SwissADME; TOPKAT y MedChem Designer permiten clasificar moléculas biológicas para el descubrimiento de fármacos en términos de sus propiedades ADMET (Guan et al., 2019).

AdmetSAR predice más de 40 propiedades farmacocinéticas ADMET de moléculas en estudio, usando 95.629 compuestos que tiene en su base de datos.

3.PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN - HIPÓTESIS

¿Cuáles son las características moleculares y bioquímicas que presenta cisteína sintasa en la bacteria Gram negativa *Acinetobacter baumannii* como posible blanco terapéutico y qué compuestos presentan afinidad por la enzima?

4.OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Caracterizar la enzima cisteína sintasa de *Acinetobacter baumannii* como posible blanco terapéutico e identificar compuestos con afinidad por la enzima mediante un análisis *in silico*.

4.2Objetivos específicos

1. Describir los dominios y motivos característicos de la enzima cisteína sintasa en *A. baumannii* reconociendo el sitio activo de la proteína para análisis de acoplamiento molecular.
2. Identificar compuestos que presenten afinidad por el sitio de regulación alostérica de la proteína cisteína sintasa (CysK) de *A. baumannii* mediante un docking molecular.
3. Predecir las propiedades farmacocinéticas de los compuestos con afinidad por el sitio de regulación alostérica de la proteína CysK de *A. baumannii*.
4. Determinar por medio de herramientas bioinformáticas las interacciones moleculares entre la enzima cisteína sintasa (CysK) de *A. baumannii* y algunos potenciales ligandos.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo de investigación es de tipo cuantitativo, en el cual, basados en una estrategia de análisis *in silico* se hizo la caracterización de la proteína Cisteína Sintasa de *A. baumannii*, como posible blanco para el diseño de medicamentos; así mismo, mediante la predicción de un modelo cristalográfico de la proteína, se realizó un acoplamiento molecular o docking identificando compuestos con afinidad por esa enzima; por último se realizó una predicción de parámetros farmacocinéticos de dichos compuestos y se predijeron las posibles interacciones moleculares entre un grupo de compuestos seleccionados y la proteína CS de *A. baumannii*. La figura 5 presenta el esquema general de metodología utilizada para esta investigación

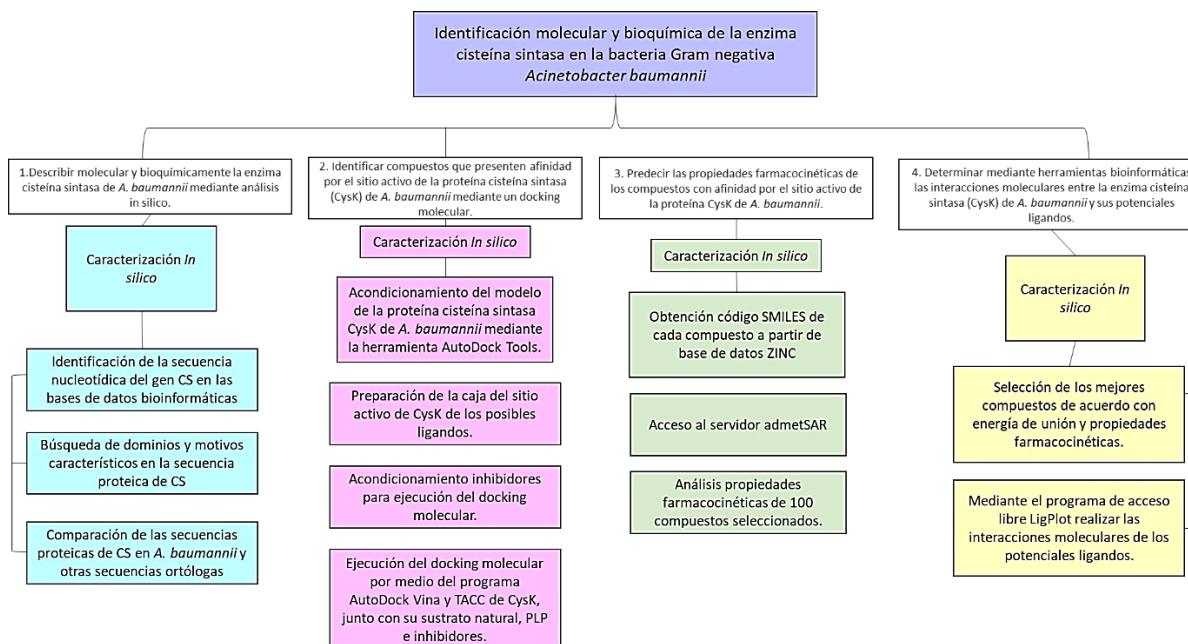


Figura 5 Diseño de actividades a desarrollar durante la ejecución del proyecto

(diseño propio)

5.1 Caracterización *in silico* de la cs en *A. baumannii*

5.1.1 Identificación de la secuencia nucleotídica del gen CS en las bases de datos bioinformáticas

Las secuencias de nucleótidos del gen o los genes que codifican para cisteína sintasa en *Acinetobacter baumannii* se obtuvieron del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) a partir del GeneBank. Estas secuencias se almacenaron en formato FASTA y se utilizaron para los demás análisis *in silico* (Bhattacharya et al., 2018).

5.1.2 Búsqueda de dominios y motivos característicos en la secuencia proteica de CS

Las secuencias de aminoácidos de las proteínas CysM (número de acceso: A0A0R4J6S5) y CysK (número de acceso: A0A0D5YN58) obtenidas a partir de la base de datos UniProtKB (<http://www.uniprot.org/>), se realizó la predicción y análisis de las propiedades

fisicoquímicas como el coeficiente de extinción (EC), el índice alifático (AI), el índice de inestabilidad (II), la hidropatía media promedio (GRAVY), el punto isoeléctrico (pI), peso molecular, átomos totales, número de carga positiva y número de residuos cargados negativamente, haciendo uso del servidor ExPASy-ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) (Bhattacharya et al., 2018).

5.1.3 Comparación de las secuencias proteicas de CS en *A. baumannii* y otras secuencias ortólogas

La comparación entre las proteínas CS en especies ortólogas a *A. baumannii* se llevó a cabo mediante un alineamiento múltiple construido con la herramienta BioEdit (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) (Huma et al., 2014).

5.1.4 Predicción de estructuras secundaria y terciaria de las CS en *A. baumannii*

A partir de la secuencia de aminoácidos de CysK y CysM se realizó la predicción de estructuras tanto secundaria como terciaria de cada una de las isoformas mencionadas; para la predicción de la estructura secundaria se utilizó la herramienta bioinformática Netsurf (<http://www.cbs.dtu.dk/services/>) (Klausen et al., 2019), el cual permitió determinar el porcentaje de láminas β y α hélices que presentaron las dos isoformas de CS en *A. baumannii*. Debido a que las enzimas CS de *A. baumannii* no cuentan con una estructura cristalográfica en la base de datos de proteínas (Protein Data Base, <https://www.rcsb.org/>), fue necesario realizar el modelamiento o la predicción de la estructura terciaria, usando el programa I-TASSER (Iterative-Threading/ASSEMBLY/Refinement, option I assign additional restraints & templates to guide I-TASSER modeling) (<https://zhanglab.ccmb.med.umich.edu/I-TASSER/>) (J. Yang et al., 2014). La calidad de los modelos predichos se analizó con base en los parámetros C-score y TM-score. El C-score, es un puntaje de confianza para estimar la calidad del modelo predicho, los valores aceptables para el puntaje están en el rango de -5 a 2, los valores más altos indican un modelo con una mejor calidad. Por otro lado, el TM-score es una escala para medir la similitud estructural entre el modelo predicho y la estructura nativa de la proteína; los valores > 0.5 indican que el modelo tiene una topología global correcta; adicionalmente, los modelos fueron validados usando los programas de acceso libre PROSA-Web

(<https://prosa.services.came.sbg.ac.at/prosa.php>) y PROCHECK (<https://servicesn.mbi.ucla.edu/PROCHECK/>) (Wiederstein & Sippl, 2007).

5.2 Docking molecular para cisteína sintasa (CysK) de *A. baumannii*

Los ensayos de acoplamiento molecular-docking para la búsqueda de posibles ligandos de la enzima CS en *A. baumannii*, fueron realizados solamente con la enzima CysK, porque esta isoforma estructuralmente presenta una región de regulación alostérica en el C-terminal (aminoácidos 220-250), en la cual además de ser importante para actividad catalítica de la enzima, esta región no es conservada entre las proteínas que pertenecen a gran familia de enzimas PLP-dependientes dentro de la cual está Cistationina Beta Sintasa (CBS) humana, ortólogo más cercano a CS (Irwin et al., 2012).

Igualmente, como control de unión a CS, se realizó un acoplamiento molecular entre la CBS humana y los compuestos con mayor afinidad de unión a CysK de *A. baumannii*; usando como referencia los aminoácidos 70 a 308 que corresponden con el sitio activo de la CBS.

5.2.1 Preparación de la proteína CysK y los ligandos naturales para el docking molecular

La proteína CysK junto con los ligandos naturales que sirvieron como referencia de unión a la enzima se prepararon usando el software de acceso libre AutoDock Tools como ha sido descrito previamente (Thirumal Kumar et al., 2017). Inicialmente, se cargó el modelo 3DE de la CysK predicho mediante I-TASSER en formato .PDB al software AutoDock Tools, se eliminaron las moléculas de agua, se agregaron hidrógenos polares, se calculó la carga de la molécula y se guardó la proteína en formato PDBQT. Tomando como referencia los aminoácidos Lys²²²-Lys²⁵³ del sitio alostérico, se establecieron las coordenadas generales de la caja en X= 24Å, Y= 16Å y Z= 20Å sobre las cuales se unieron los ligandos durante el acoplamiento molecular. La predicción del centro de la caja se realizó basados en la Lys²⁴⁰ utilizando la configuración de AutoDock Tools en X=59 Å, Y=54 Å, Z=41 Å.

Los ligandos naturales como la orto-acetil-serina (OAS), piridoxal fosfato (PLP, piridoxal-5'-fosfato, P5P), substratos naturales y los compuestos como el ZINC01690699 inhibidor de

CS descrito previamente por (S. Singh et al., 2013). Los ligandos también se prepararon en AutoDock tools agregando hidrógenos polares, calculando las cargas Gasteiger-Marsili y asignando enlaces rotativos. Finalmente, las proteínas y ligandos preparados se guardaron en formato PDBQT para realizar el acoplamiento molecular.

5.2.2 Docking entre CysK, sustratos naturales y algunos compuestos control

Con el objetivo de tener un punto de referencia o de corte de la energía de unión que pueda haber entre un ligando y la CysK de *A. baumannii*, se realizó el acoplamiento de la enzima con sus sustratos naturales, la OAS y el PLP, mediante el software AutoDock vina (Kwofie et al., 2018). Así mismo, se usaron 64 compuestos descritos previamente como posibles ligandos-inhibidores de CS en otros organismos como el ZINC01690699 con alta afinidad por la enzima CS de *Trichomonas vaginalis* (CSTv) y 63 más con afinidad por la CS de *Leishmania braziliensis* (CSLb) (Téllez J., Romero I. 2021 sometido a Molecules) con los cuales también se realizaron ensayos de acoplamiento entre estos compuestos y la CysK usando AutoDock vina.

5.2.3 Docking masivo entre CysK y compuestos con potencial unión a la enzima

Para realizar la búsqueda de compuestos con potencial unión o afinidad por la CysK, se utilizó una librería de compuestos comerciales similares a fármacos que contiene 546.003 compuestos a partir de la base de datos ZINC (<https://zinc.docking.org/>), disponible en el servidor TACC de la Universidad de Texas (<https://drugdiscovery.tacc.utexas.edu/#/>) (Irwin & Shoichet, 2005). El docking fue realizado sobre las mismas coordenadas de la enzima CysK descritas anteriormente, manteniendo los ligandos flexibles y el receptor rígido. A cada ligando se le permitieron seis conformaciones para cada proceso de acoplamiento y su resultado fue almacenado en formato pdbqt. (Wassermann & Bajorath, 2011). Los resultados del docking se clasificaron u organizaron teniendo en cuenta las energías de unión con CysK, de tal forma que se obtuvieron 1000 compuestos con energía de unión superior a la presentada entre la enzima y los sustratos naturales (OAS-PLP). Del cribado virtual, se seleccionaron los primeros 100 compuestos para realizar análisis de propiedades

farmacocinéticas *in silico* ADMET (Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad).

5.3 Predicción *in silico* de las propiedades farmacocinéticas ADMET

La absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad, propiedades farmacocinéticas (ADMET) fueron predichas usando el servidor AdmetSAR (<http://lmmd.ecust.edu.cn:8000/predict/>), este servidor predice más de 40 propiedades farmacocinéticas ADMET de compuestos o moléculas usando 95,629 compuestos que tiene en su base de datos, los cuales están aprobados por la FDA (H. Yang et al., 2019). En este estudio, las características farmacocinéticas más estudiadas y esenciales para el desarrollo de una molécula eficaz farmacológica fueron consideradas incluyendo en absorción (absorción intestinal humana (HIA), permeabilidad en las células de adenocarcinoma de colon humano (Caco-2)), en distribución (unión a proteínas plasmáticas (PPB), paso a través de la barrera hematoencefálica (BBB) y sustrato de la glicoproteína P (P-gp), en metabolismo (sustrato / inhibidor de isoformas que hacen parte del complejo citocromo p450 (CYP450)), en cuanto a excreción (inhibidor de OCT2) y para evaluar toxicidad (Inhibición del canal (hERG), mutagénesis AMES, carcinogenicidad, y la toxicidad oral). Para el análisis *in silico* se usaron los primeros 100 compuestos que mostraron energía de unión mayor a -7.0 Kcal/mol, la cual es superior a la presentada por los sustratos naturales de CysK (Kwofie et al., 2018).

5.4 Interacciones moleculares entre CysK y posibles ligandos (Proteína-Ligando)

Para visualizar las interacciones moleculares de 5 compuestos seleccionados se empleó el programa LIGPLOT+ el cual se centra en interacciones específicas, mediadas a través de moléculas de agua o mediante un residuo específico, con el fin de crear un diagrama 2D de interacciones entre ligando y proteína, en los cuales se representan los patrones de interacción mediada por puentes de hidrógeno, enlaces hidrófobos entre el ligando o los

ligandos y los elementos de la cadena principal o de la cadena lateral de la proteína (RA & MB, 2011).

Los 5 compuestos elegidos para el análisis de los sitios de interacción, además de presentar una buena energía de unión con la CysK, presentaron características farmacocinéticas que los hace buenos candidatos para futuros ensayos *in vitro* como posibles inhibidores específicos de la enzima CysK en *A. baumannii*.

6.RESULTADOS

En este estudio, se empleó un enfoque *in silico* para caracterizar y analizar el papel funcional de la enzima cisteína sintasa en el patógeno de importancia clínica *A. baumannii* con el fin de determinar la conformación preferida e interacciones moleculares entre la cisteína sintasa (CysK) y sus posibles ligandos. Los resultados obtenidos en este trabajo se describen a continuación:

6.1 Identificación del gen que codifica para CS en *A. baumannii*

La búsqueda de las secuencias de nucleótidos del gen de la CS de *A. baumannii* en la base de datos GenBank, permitió identificar dos secuencias nucleotídicas que codifican para dos isoformas diferentes de la proteína Cisteína sintasa en este microorganismo. Una secuencia descrita como Cisteína sintasa B [*Acinetobacter baumannii* CysM] con 915 nucleótidos y la secuencia Cisteína sintasa A [*Acinetobacter baumannii* CysK] con 999 nucleótidos. Al realizar una comparación por medio de un alineamiento entre las dos secuencias de nucleótidos, se observó que el porcentaje de identidad encontrada entre ellas fue del 42.05% (Figura 6).

Los genes encontrados en el GENE BANK fueron ubicados en el genoma completo de *A. baumannii*, utilizando el programa EnsemblBacteria (<http://bacteria.ensembl.org/index.html>). Ninguno de los genes se transpone el uno con el otro dentro del genoma de *A. baumannii*. El gen Cisteína Sintasa B *cysM* (identificado en Ensemblbacteria como A1S_0575) se ubicó entre la posición 624,714pb - 625,628 pb y el gen de Cisteína sintasa A *cysK* (identificado en Ensemblbacteria como A1S_0177) entre la posición 199,355 - 200,751pb del genoma como se puede observar en la figura 7I y 7II respectivamente. (Figura 7).

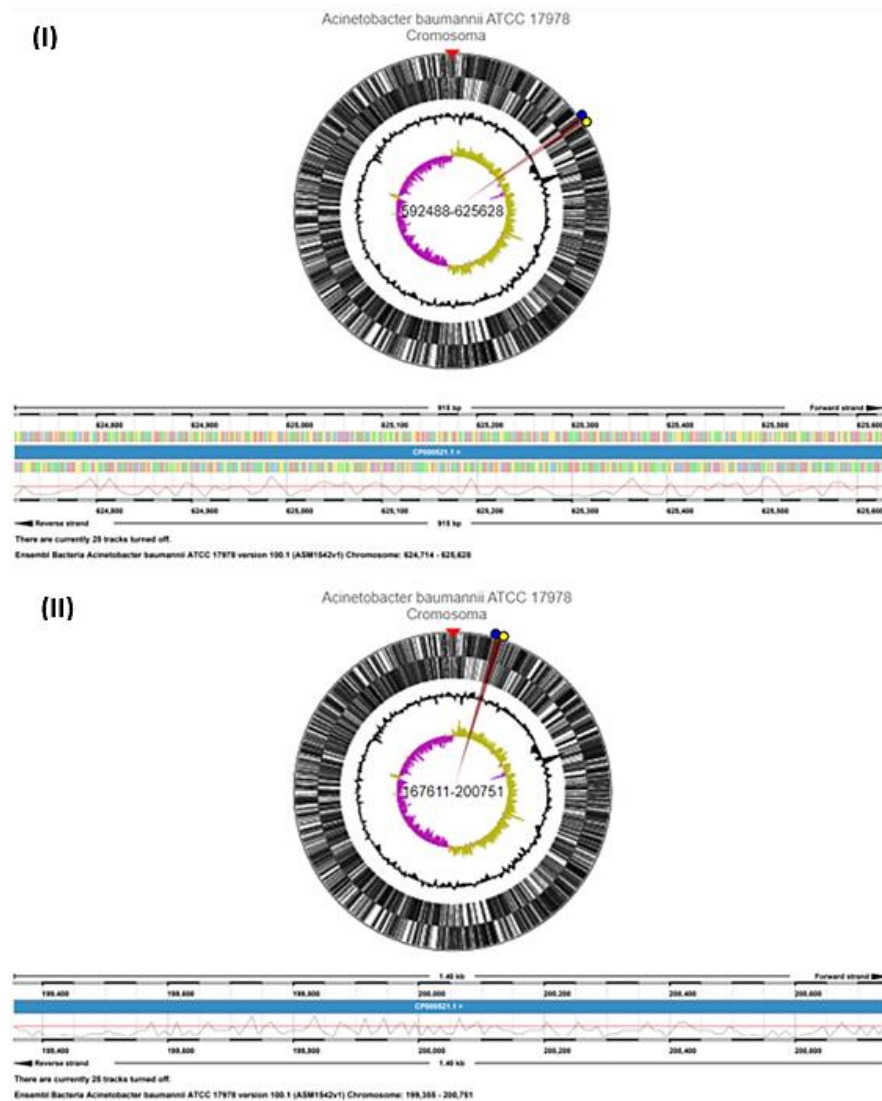


Figura 7 Mapas de ubicación de los genes que codifican para CS dentro del genoma de *Acinetobacter baumannii*, (<http://bacteria.ensembl.org/index.html>).

Las líneas de color azul muestran la ubicación del gen que codifica para cada una de las enzimas, respectivamente de *cysM* (I) y *cysK* (II).

Para ubicar los marcos abiertos de lectura (ORF, por sus siglas en inglés) se utilizó el programa ORF finder, el cual predijo un marco abierto de lectura para CysM, que se ubica en la posición 624,714pb y finaliza con un codón de parada en la posición 625,628pb, este ORF codifica para una proteína de 304 aa. Para la proteína CysK se observa un ORF en la posición 199.355 y su codón de parada en la posición 200,751pb codificando para una proteína de 332 aa Figura 8.

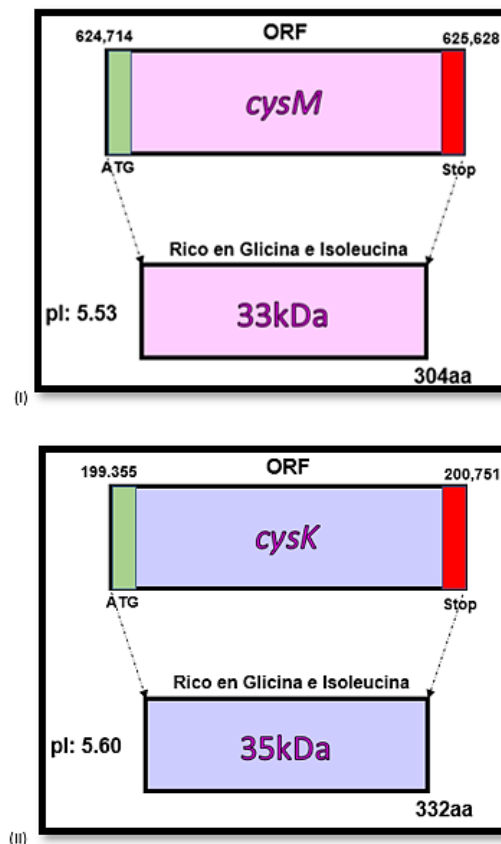


Figura 8 Representación esquemática de los ORF para *cysM* (I) y *cysK* (II) a escala de la proteína para cada uno.

6.2 Características generales de la enzima CS en *Acinetobacter baumannii*

La proteína CysM tiene un peso molecular estimado de 33 kDa y un pI teórico de 5.53. Así mismo, la proteína CysK, cuyo peso molecular estimado es de aproximadamente 35 kDa y un pI teórico de 5.60. El total de cargas negativas para CysM y CysK es de 36 y 35 respectivamente. Los valores calculados para el índice de estabilidad, índice alifático y GRAVY (Gran Promedio de Hidropaticidad), indican que CysM y CysK son estables en un amplio rango de temperatura, hidrofílicas y solubles (Tabla 1).

Tabla 1 Características generales para las enzimas CysM y CysK

PARÁMETRO	RESULTADOS	
	CysM	CysK
FORMULA MOLECULAR	$C_{1446}H_{2326}N_{408}O_{449}S_{17}$	$C_{1566}H_{2536}N_{424}O_{478}S_{6}$
PUNTO ISOELECTRICO TEORICO (pI)	5.53	5.60
PESO MOLECULAR (Da)	33155.86	35144.28
No DE RESIDUOS CON CARGA NEGATIVA (Asp+Glu) %	36	35
No DE RESIDUOS CON CARGA POSITIVA (Asp+Lys) %	31	31
TOTAL DE ÁTOMOS	4646	5010
ÍNDICE DE INESTABILIDAD	36.09	31.19
ÍNDICE ALIFÁTICO	82.86	98.49
GRAVY	-0.300	-0.011

En cuanto a la composición de aminoácidos de las enzimas CysM y CysK, se observa en mayor proporción los aminoácidos Glicina e Isoleucina, siendo estos de naturaleza apolar y Lisina el cual le confiere carga positiva a la proteína (Figura 9).

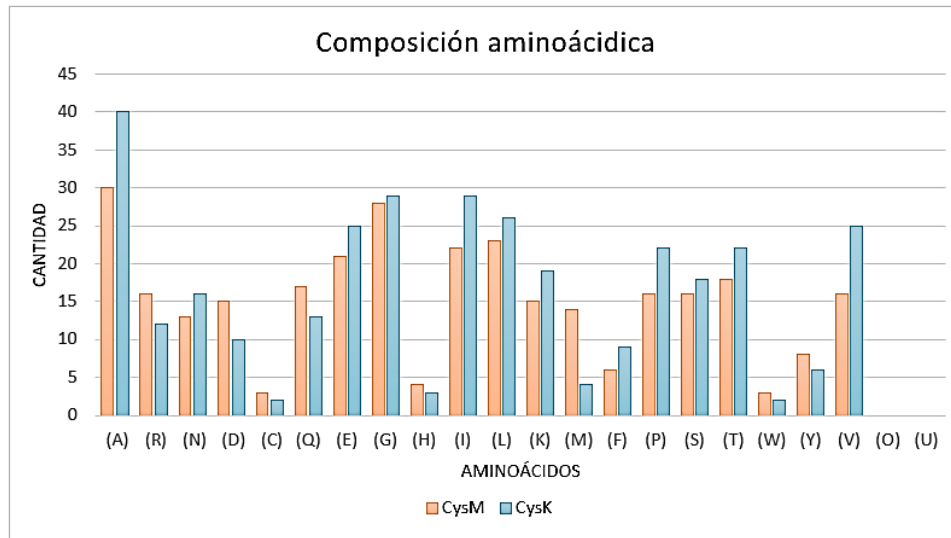


Figura 9 Composición aminoácida de las enzimas CysM y CysK. Para las dos isoformas se observa en mayor proporción los aminoácidos Glicina, Isoleucina y Lisina.

Por medio del programa DeepLoc-1.0, se pudo determinar la localización de las isoformas de la CS. Se encontró una ubicación subcelular para las dos isoformas, para CysM se observó que es una proteína citoplasmática (probabilidad de 32%), al igual que para la isoforma CysK (probabilidad de 37%) (Figura 10).

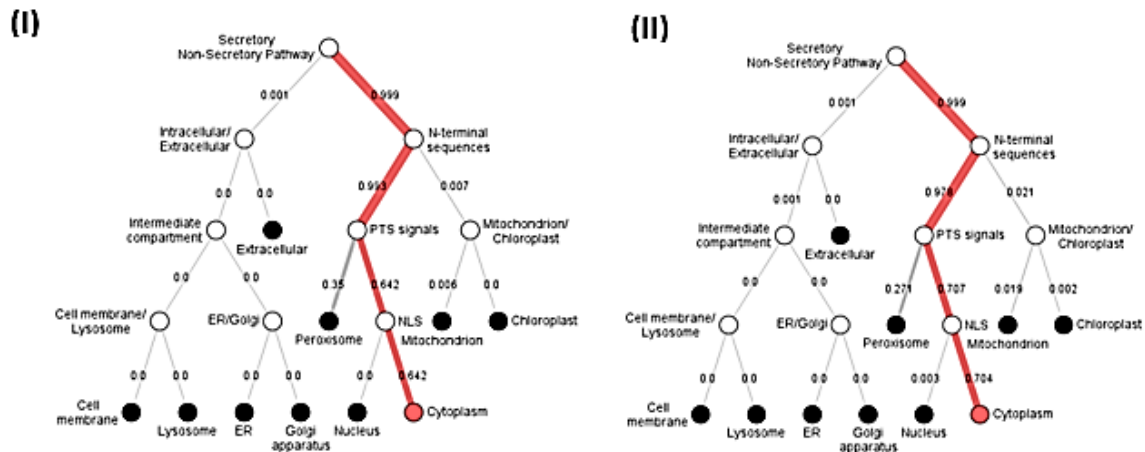


Figura 10 Localización subcelular de las proteínas CysM (I) y CysK(II), por medio de DeepLoc-1.0

La predicción y búsqueda de dominios y motivos propios de proteínas mediante la herramienta ScanProsite del Expasy (<https://prosite.expasy.org/scanprosite/>) y la bases de datos Pfam (<http://pfam.xfam.org/>), permitió determinar la presencia del motivo típico de

unión al cofactor piridoxal fosfato-PLP (PXXSVKDR) en las secuencias de aminoácidos de las dos enzimas (CysM y CysK) de *A. baumannii* dominio presente en todas las proteínas que pertenecen a la gran familia de proteínas PLP dependientes (Figura 11).

(I)

found: 1 hit in 1 sequence

USERSEQ1 (304 aa)

```
MSNTQPDFLADEFLLDHYVGKTPLVRLQRLACHTQATVLAKLEGNNPAGSVKDRPAYNNIMQAEKR
GQIKPGDTLVEATSGNTGIALAMVAAMRGYKMKLIMPGNSSQERKDAMRAYGAELIEAPNMEAARD
MALQMQAEGGLGLVLNQFGNPDNVEAHYLTGPEIWKQTGGKITHFVSSMGTTGTIMGVSKYLKEQN
PDIQIIIGLQPSEGSNIAGIRRWPEYLPITIFEPKRVDQIMDIPQIEAEKTARRLAREEGISAGTSS
GGAVWASVKIAEENPDAVIVCIICDRGDRYLSTGLFSVQD
```

(II)

found: 1 hit in 1 sequence

USERSEQ1 (332 aa)

```
MSTDPQFPTPNLGIAYVSNNAEAIGNTPLVRINRLIKTGATVLAKVESRNPAFSVKCRIGAALIA
DAEKRGLVKEGKHIVEPTSGNTGIALAFVAAAKGYSITLMPASMSLERRKVLKALGANLVLTEPA
KGMKGAVDEAVRLATEQPEIYFLPQQFENPANPQIHVDTTGPEIWQATGGQVDILIAGVGTGGTIT
GISRYFEQVQNKPLYSVAVEPAESPIITQTKKGENITPAPHKIQGIGANFIPKNLDDLVDVIPV
SSEEAIQWARKCATQEGILVGISSGAALAAAIAERPENAGKTIVVILPDSGERYLSSVLFEGFL
DE
```

Figura 11 Presencia del dominio típico de unión a PLP (PXXSVKDR) para CysM (I) y CysK (II), se resaltan en color amarillo.

6.3 Comparación de las secuencias proteicas de CS en *A. baumannii* y otras secuencias ortólogas

La comparación entre las secuencias de proteínas CS en *A. baumannii* con las secuencias ortólogas en otros microorganismos permitió determinar que las enzimas CysM forman un grupo separado de las CysK presentando una mayor identidad de secuencia entre ellas y todas las proteínas CysK junto a las enzimas CS de parásitos *Leishmania braziliensis* y *L. major* forman otro grupo diferente. Es importante resaltar que tanto la secuencia de CysM

como la de CysK de *A. baumannii* mostraron una identidad mayor con las enzimas CysM y CysK de bacterias Gram negativas como *P. aeruginosa* (CysM 66.89%, CysK 65.52%), *E. coli* (CysM 63.82%, CysK 65.30%), *S. typhimurium* (CysM 62.80%, CysK 63.72%) que con las de otras bacterias como *M. tuberculosis* (CysM 38.41%, CysK 55.56%) y *S. aureus* (CysM 48%, CysK 47.87%); así mismo, la identidad de secuencia fue mucho menor entre CysM y CysK (35.76% y 39.38% respectivamente) con la proteína cistationina beta sintasa(CBS), ortóloga más cercana en el humano.

Por otro lado, en el alineamiento múltiple de secuencias se muestran algunos de los dominios y motivos representativos y conservados entre las proteínas que pertenecen a la gran familia de proteínas PLP dependientes, como los cuatro residuos de lisina necesarios para la actividad catalítica de la enzima están marcados con triángulos para el caso de la CysM (K⁴¹, K⁵², K⁶⁵ y K¹⁹²), y para CysK (K⁴⁶, K⁵⁷, K⁷⁰ y K²¹⁰), el dominio (PXXSVKDR) de unión al cofactor PLP, así como los residuos sobre los cuales se forma el bolsillo del sitio activo de las cisteínas sintasas (K⁵², N⁸², S²⁶³ en CysM y K⁵⁷, N⁸⁷, S²⁸⁷ en CysK); de igual forma en la isoforma CysK se encuentran los residuos de K²²⁹, H²³⁹, K²⁴⁰ importantes para la unión con la enzima Serina Acetil Transferasa en el sitio de regulación alostérica, el cual está ausente en la isoforma CysM (Figura 12).

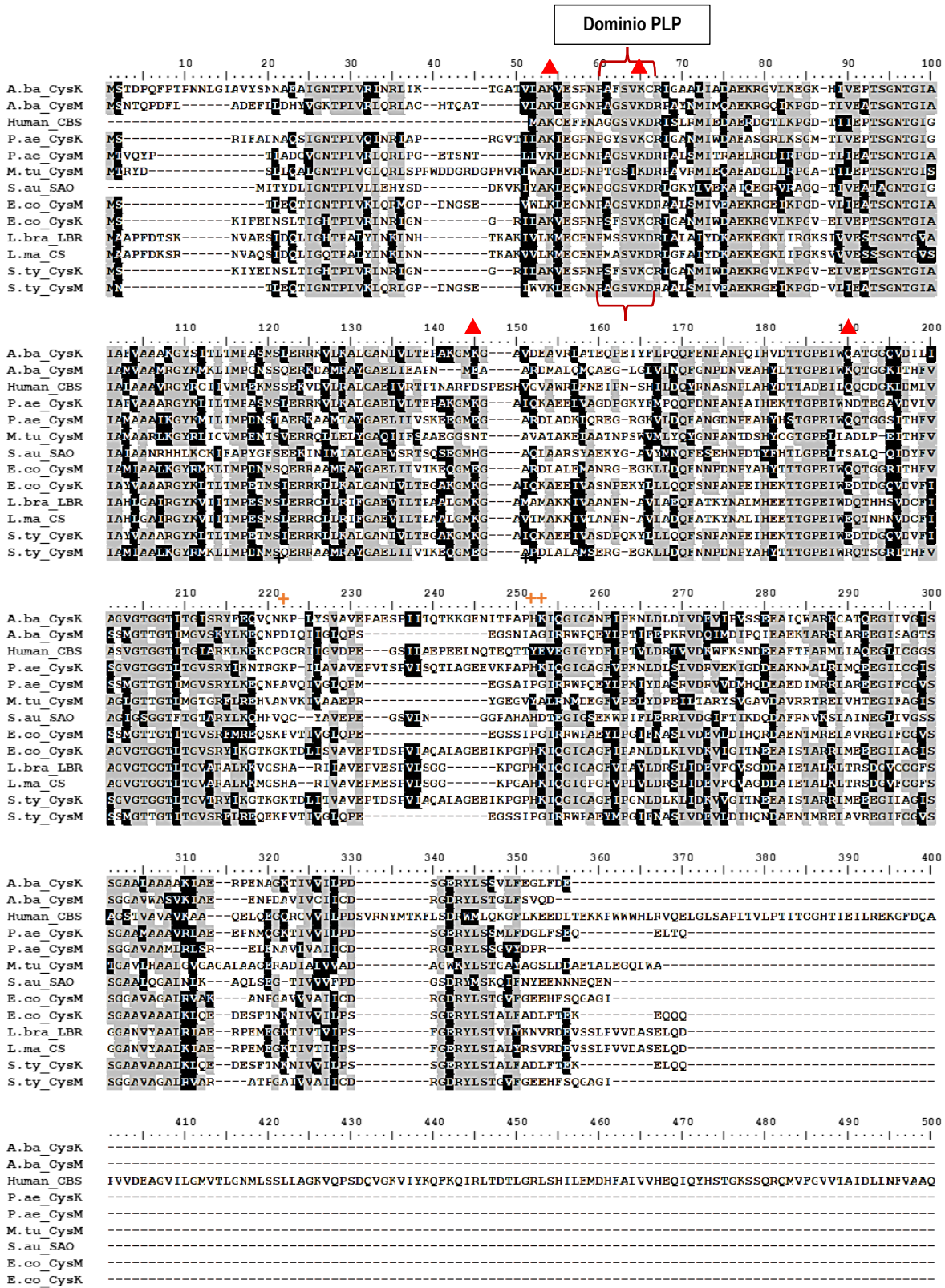


Figura 12 Alineamiento múltiple de secuencias de aminoácidos deducidas de CS de *Acinetobacter baumannii* y otros organismos representativos.

La identidad de residuos de aminoácidos se muestra en fondo negro y la conservación en fondo gris. Los corchetes indican los aminoácidos consenso del motivo de unión a fosfato de piridoxal-PLP (PXXSVKDR) y los residuos de lisina requeridos para la actividad de cisteína sintasa se indican con triángulos y los residuos cargados positivamente implicados en la unión con SAT se indican con (+). A.bauCysM: *A.baumannii* (CysM), A.bauCysK: *A.baumannii* (CysK), HumanCBS: Cistationina β sintasa humana, P.aeCysM: *P.aeruginosa* (CysM), P.aeCysK: *P.aeruginosa* (CysK), M.tuCysM: *M. tuberculosis* (CysM), S.auSAO: *S. aureus* (SAO), E.coCysM: *E.coli* (CysM), E.coCysK: *E.coli* (CysK), L.braLBR: *L.braziliensis* (LBR), L.maCB: *L.major* (CB), S.tyCysK: *S.typhimurium* (CysK), S.tyCysM: *S.typhimurium* (CysM).

6.4 Predicción de estructuras secundaria y terciaria de las CS en *A. baumannii*

Los patrones de estructura secundaria predichos para las dos isoformas de CS en *A. baumannii*, demostraron que tanto CysM como CysK contienen el mismo porcentaje de láminas Beta (17%), pero en cuanto a hélices alfa existe una variación entre las dos isoformas, siendo CysK la que presenta un porcentaje mayor (44%) comparado con CysM (41%), en la figura 15 se observa los random coil de cada proteína resaltado en línea de color rosado (Figura13).

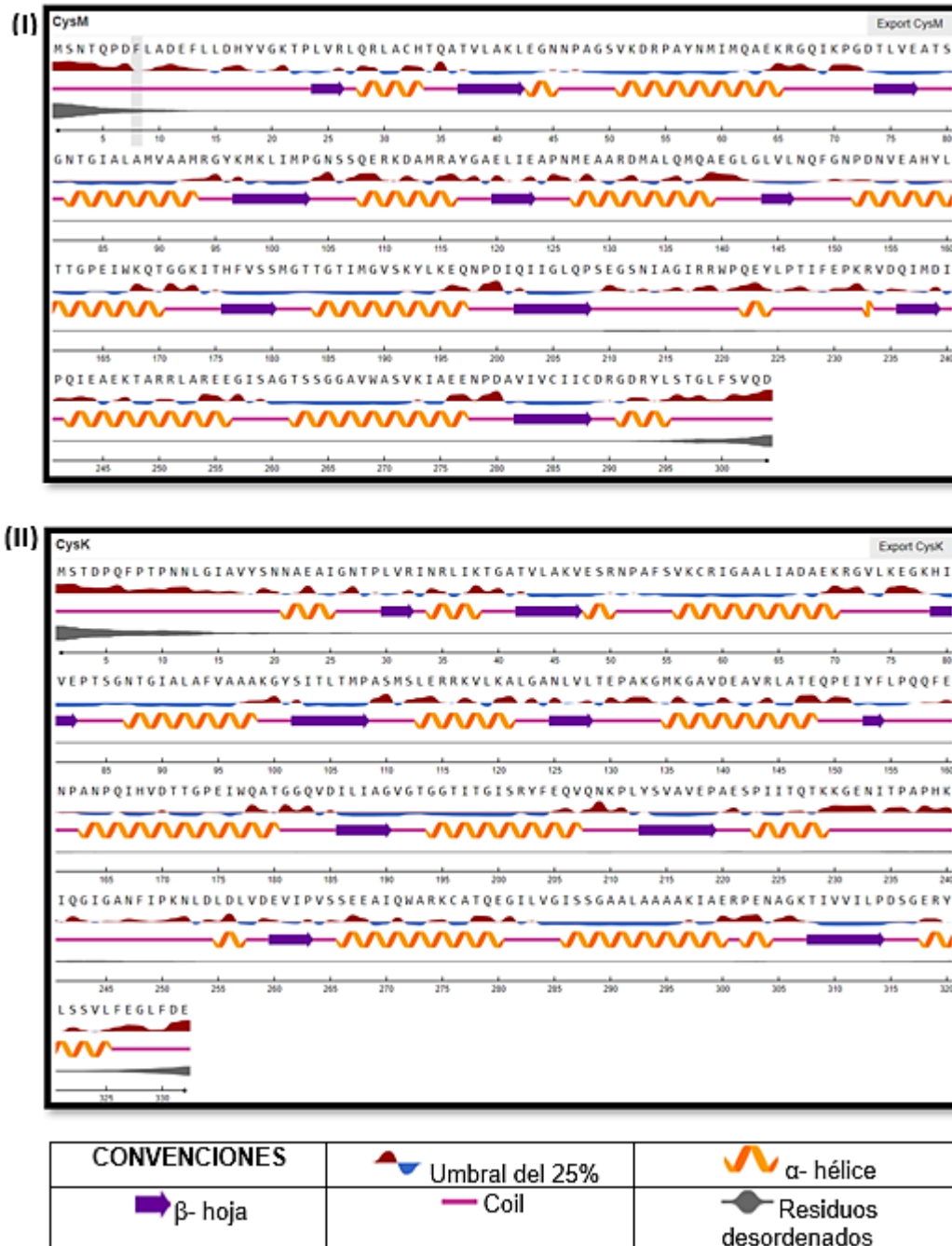


Figura 13 Predicción de estructura secundaria por medio de DTU.bioinformatics (NetSurfP) de las isoformas CysM (I) y CysK (II).

Los modelos tridimensionales predichos para las enzimas CysM y CysK se obtuvieron mediante la herramienta I-TASSER, en la cual para cada isoforma se presentaron 5 posibles modelos, de los cuales, para cada caso, el modelo 1 fue el seleccionado debido a sus puntajes en C-score y TM-score que aseguran un alto nivel de confianza, buena calidad y correcta topología de la proteína modelada. Para CysM el modelo escogido presentó un C-score:0.90, TM-score:0.84±0.08 y RMSD: 4.4±2.9Å (Figura 16I A). El análisis de alineamiento estructural (TM-align) mostró que el modelo tiene una estructura muy cercana con algunas proteínas que ya han sido reportadas en el banco de datos de proteínas (PDB, por sus siglas en inglés), como la O-acetilserina sulfhidrilasa (OASS) de *Escherichia. coli* (94.1%), OASS de *Arabidopsis Thaliana* (93%) y cisteína sintasa (OASS) de *Entamoeba histolytica* (92.4%). Así mismo, los resultados de I-TASSER mediante la predicción de función y sitios de ligandos con los programas COFACTOR y COACH respectivamente permitieron determinar y a la vez confirmar los hallazgos obtenidos en los alineamientos múltiples de secuencia primaria, que CysM exhibe sitios de unión tanto al ligando piridoxal fosfato (PLP) cofactor de la enzima en los residuos V51, K52, N82, S180, M181, G182, T183, T184, G185, T186, G216, I217, S263, C288, D289 como al sustrato natural O-Acetilserina (OAS) mediante el bolsillo del sitio activo descrito entre los residuos K52 y S263(Figura 14-I B,C).

Por otro lado, para CysK el modelo seleccionado presentó un C-score=0.97; TM-score = 0.85±0.08 y RMSD = 4.4±2.9Å; de igual forma el análisis de alineamiento estructural (TM-align) mostró que ese modelo tiene una estructura muy cercana con algunas proteínas que ya han sido reportadas en el PDB, como la O-acetilserina sulfhidrilasa (OASS) de *Salmonella typhimurium* (94.5%), OASS de *Haemophilus influenzae* (93,2%) y OASS de *Mycobacterium tuberculosis* (90.5%). A partir de los resultados de I-TASSER y mediante el análisis de función y sitios de posibles ligandos se pudo determinar y confirmar que CysK presenta también sitios de unión a PLP en los residuos V56, K57, N87, G190, V191, G192, T193, G194, G195, T196, G243, I244, S287, L314, P315 y al sustrato natural en su sitio activo residuos K57, S287(Figura. 14-II B,C).

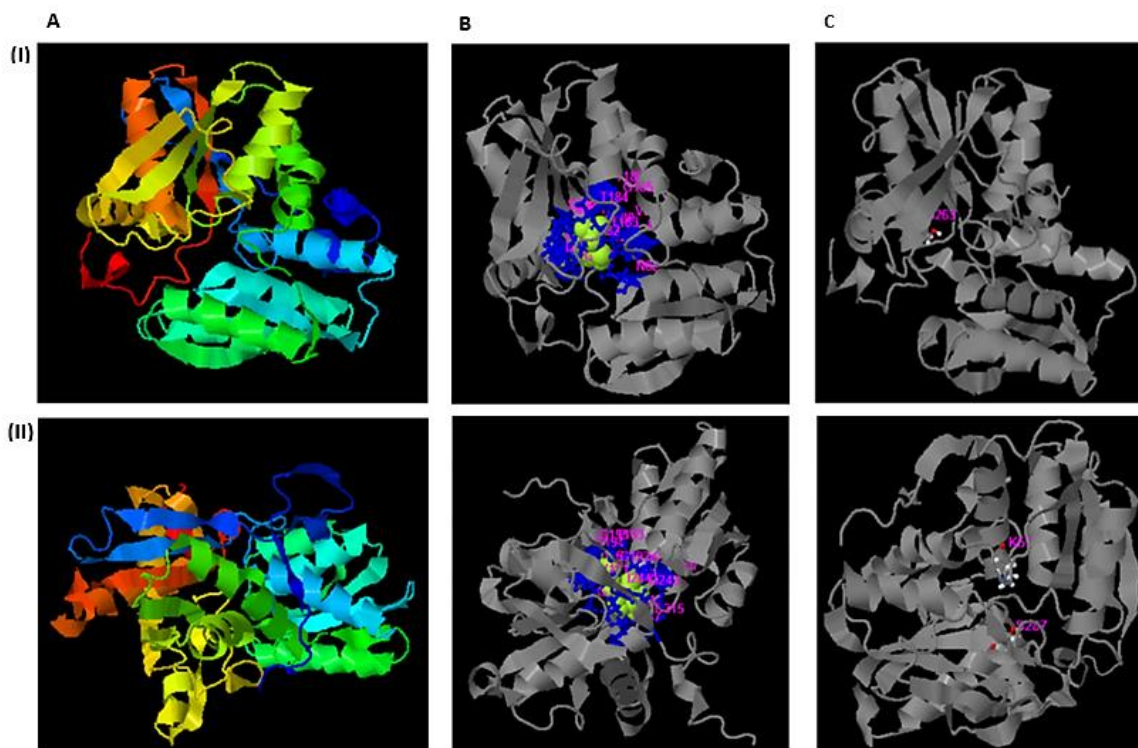


Figura 14 Modelo tridimensional de la enzima cisteína sintasa de *Acinetobacter baumannii* predicho mediante la herramienta I-TASSER.

(I): Cisteína sintasa isoforma CysM y **(II):** Cisteína sintasa isoforma CysK. **A.** Modelo 3DE seleccionado **B.** Sitios de unión a los ligandos **C.** Sitio activo de la enzima

La validación estructural de los modelos se realizó por medio de ProSAweb arrojó puntajes Z óptimos -7.94 y -10.36 para CysM y CysK respectivamente (Figura 15 A). Estos puntajes indican que los modelos tienen una calidad razonablemente buena ya que todos se encuentran dentro del rango de puntajes típicamente encontrados en proteínas nativas ya descritas en PDB y que poseen un tamaño similar. La figura 15 B representa la energía en función a la posición de los residuos de aminoácidos, indicando que la estructura no tiene partes problemáticas o erróneas ya que todas las fluctuaciones se encuentran en la parte negativa de la gráfica, lo cual es lo esperado para el correcto y adecuado plegamiento de la proteína. Por último, la validación de la estructura 3D visualizada en Jmol (figura 15 C), indicó que la estructura es estable ya que los residuos en ella son de energía negativa (visualizados en color azul) y la cantidad de los residuos de energía positiva (visualizados en color rojo), no son representativos.

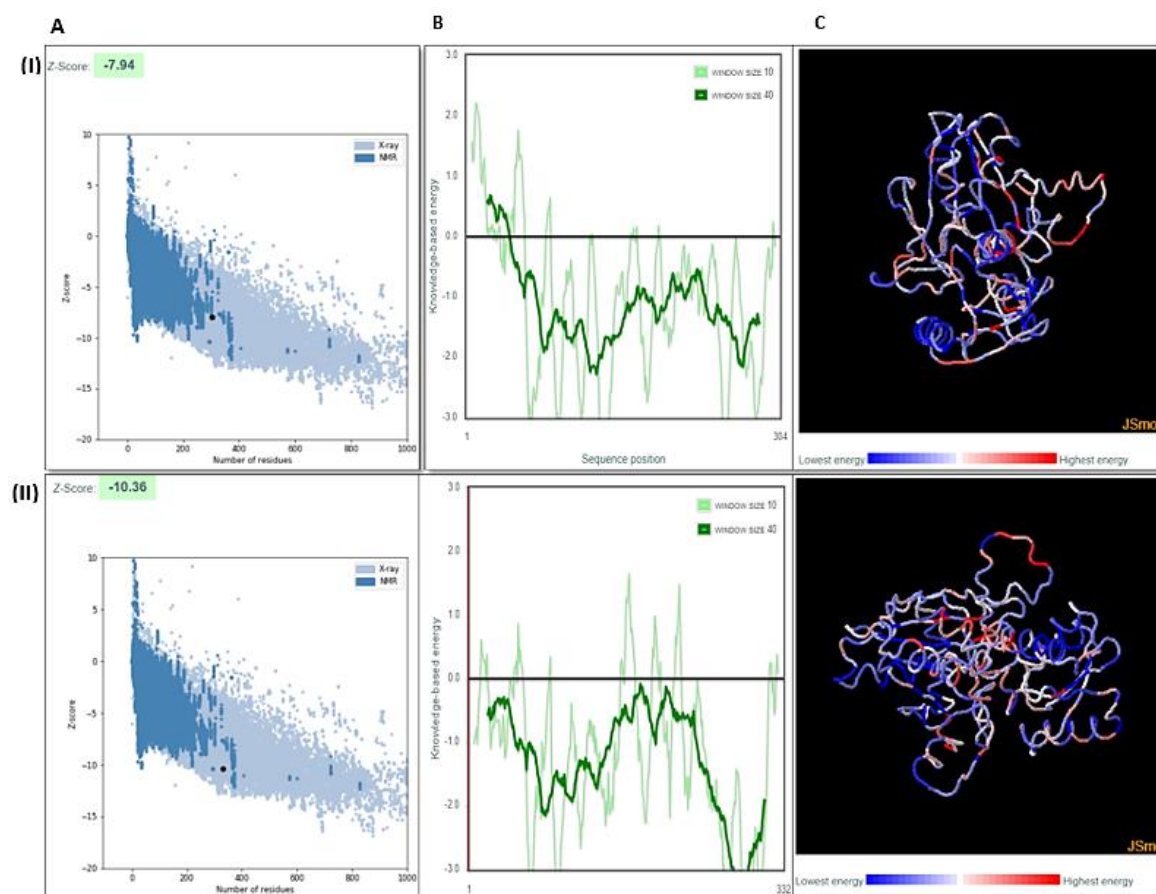


Figura 15 Validación local, global y estructural de los modelos tridimensionales de CysM (I) y CysK (II) mediante ProSA-web.

Gráficos de puntuaciones Z (A). Gráfico de energía de residuos (B). Representación visual de la energía en las estructuras tridimensionales mediante Jmol (C).

En cuanto a la validación de la estabilidad y propiedades estereoquímicas de los modelos predichos para cada isoforma de cisteína sintasa, los gráficos de Ramachandran mostraron que la estructura de cada modelo no contiene una cantidad importante de errores o posiciones inusuales de los aminoácidos en cuanto a las posibles torsiones o giros de los ángulos Phi y Psi en la formación de la estructura secundaria de la proteína. La mayoría de los residuos (>90%) se encontraban dentro de las regiones favorables, permitidas y generosamente permitidas, para CysM 79.8 % de los residuos de aminoácidos se encuentran en regiones favorables, 18.6% en regiones permitidas, 1.6% en regiones generosamente permitidas y 0% en regiones no permitidas; por su parte para CysK, 79.6%

de sus residuos se encuentran en regiones favorables, 20% en regiones permitidas, 0.4% en regiones generosamente permitidas y 0% en regiones no permitidas; estos resultados indican que las conformaciones de los dos modelos son estables y de buena calidad estequiométrica (Figura 16).

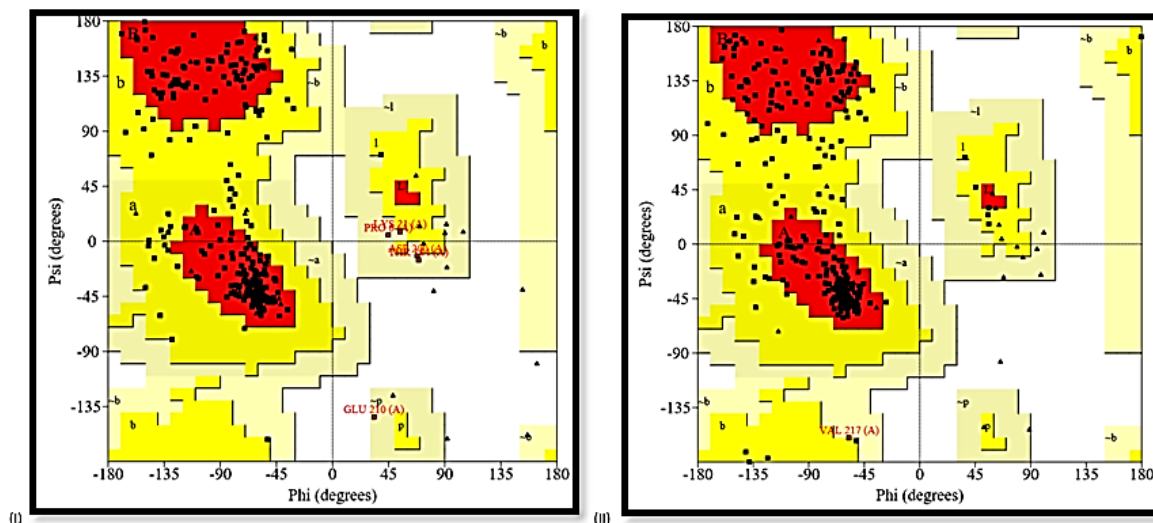


Figura 16 Gráfico de Ramachandran mediante servidor PROCHECK, CysM (I) y CysK (II).

Las regiones más favorecidas se indican en color rojo; las regiones adicionales permitidas y generosas se indican en amarillo y amarillo claro; las regiones no permitidas se indican en color blanco.

6.5 Docking molecular entre cisteína sintasa (CysK) de *A. baumannii* – posibles ligandos

Teniendo en cuenta que sólo la isoforma CysK contiene el sitio alostérico, en donde la CS interactúa con la enzima serina acetil transferasa (SAT) formando un complejo (CS-SAT), el cual se ha visto afecta la actividad catalítica de CS, el cribado o búsqueda virtual de posibles ligandos para esa isoforma se realizó basados en la Lys²⁴⁰, residuo importante para la formación del complejo con SAT (Figura 17).

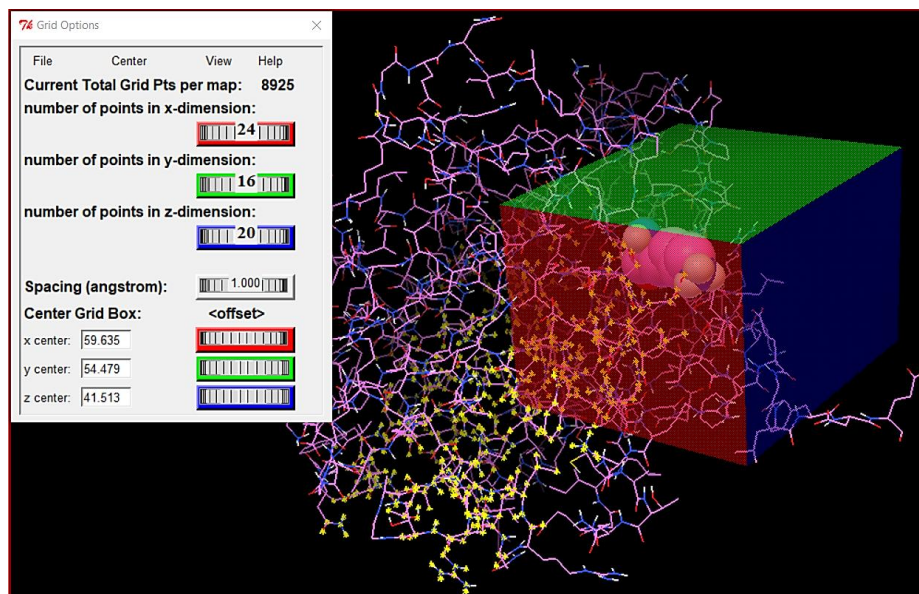


Figura 17 Caja y coordenadas del sitio alostérico en CysK de *A. baumannii* sobre la cual se realizó el docking molecular.

Se observa a K240 al interior de la caja, residuo importante dentro del sitio alostérico para la formación del complejo CS-SAT en formato 3D y la formación de la caja con coordenadas X:59.635, Y:54.479 y Z:41.513

Mediante la herramienta Autodock Vina se hizo el acoplamiento entre la enzima CysK con los sustratos naturales OAS y PLP con el fin de conocer la energía de acoplamiento y así tener una referencia o punto de corte para escoger y clasificar los ligandos identificados a partir de la librería ZINC (<https://zinc.docking.org/>), disponible en el servidor TACC de la Universidad de Texas (<https://drugdiscovery.tacc.utexas.edu/#/>); también se hizo acoplamiento molecular entre CysK de *A. baumannii* con el compuesto ZINC01690699, ligando ya identificado para la CS de *Trichomonas vaginalis* (CSTv) y con 63 compuestos más, ligandos para la enzima CS de *Leishmania braziliensis* (CSLb).

Los resultados del docking molecular contra la librería ZINC que contiene cerca de 546.003 compuestos comerciales permitieron identificar cerca de 1000 compuestos que presentaron afinidad por CysK con energías de unión negativas entre -8.4 a -7.4 Kcal/mol; de igual forma los 63 compuestos adicionales que se usaron presentaron energías de unión (-8.3 a -5.8 Kcal/mol) comparables con las de los compuestos identificados mediante la librería ZINC-TACC. Es importante resaltar que esas energías de unión fueron mayores que las

presentadas con los ligandos naturales de la enzima, OAS (-4.3 Kcal/mol) y PLP (-4.8 Kcal/mol) (Anexo 1).

A partir de los 1063 compuestos que presentaron afinidad por CysK, se seleccionaron los 100 primeros compuestos cuya energía de unión fue mayor de -7.0 Kcal/mol que fue la presentada con el compuesto ZINC01690699 ligando de CSTv, energía mayor que la obtenida con los sustratos naturales OAS y PLP para realizar acoplamiento molecular con la enzima cistationina beta sintasa CBS que pertenece a la familia de enzimas PLP dependientes al igual que cisteína sintasa y además es el ortólogo más cercano presente en los humanos, de igual forma a estos 100 compuestos se les realizó análisis de las características farmacocinéticas ADMET *in silico*. Los resultados del acoplamiento con la enzima CBS humana mostraron muy poca afinidad de estos compuestos por el sitio activo de la CBS, las energías de unión estuvieron entre -0.6 a -0.2 Kcal/mol (Tabla 2.), lo que revela una especificidad de unión entre esos ligandos con la CysK de *A. baumannii*.

6.6 Análisis de las propiedades farmacocinéticas ADMET en los compuestos con mejor energía de unión a CysK.

Las propiedades farmacocinéticas como absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET) son esenciales para el desarrollo de una molécula eficaz farmacológica. Los resultados de ADMETSar permitieron determinar 46 propiedades farmacocinéticas por cada compuesto evaluado; sin embargo, en este estudio se seleccionaron 18 propiedades de las que más prevalecen al momento del diseño de fármacos como son: HIA, Caco-2, PPB, BBB, P-gp, OCT2, Sustrato/inhibidor isoenzimas complejo CYP45, Carcinogénesis, AMES, hERG y toxicidad aguda oral. En términos de absorción por vía oral (HIA y Caco-2), la mayoría de compuestos presentaron alta probabilidad de tener esas características con valores por encima de 0.7 (70%), pero solo 24 de los 100 mostraron valores de Permeabilidad Caco-2 en un rango de 0.9726 a 0.8022. En cuanto a HIA, que es una de las propiedades de ADMET más influyentes en las primeras etapas del descubrimiento de medicamentos orales, los resultados revelaron que compuestos como ZINC13643289, ZINC000005121182 y ZINC20353527 presentaron valores altos de HIA (0.9894; 0.9829 y 0.9882 respectivamente) (Tabla 2, Anexo 2).

Un parámetro importante en la distribución de un fármaco es su alta capacidad de unirse a proteínas plasmáticas, lo que presupone una vida media prolongada y una eficacia estable del compuesto, los resultados muestran que de los 100 compuestos solamente el ZINC000095094748 presentó una probabilidad menor del 0.7, resaltando compuestos como ZINC13643289, ZINC000005121182, ZINC14996361 y ZINC20353527 quienes presentaron una probabilidad del 100% de PPB. Igualmente, otro marcador de distribución importante es la P-gp transportador que limita la penetración en varios tejidos, de acuerdo con los resultados, cerca de 60 compuestos mostraron una alta probabilidad (>0.7) de ser sustratos de esta glicoproteína dentro de los cuales se resaltan ZINC000005121182, ZINC14996361 y ZINC000002957581 (0.9908, 0.7274 y 0.9567 respectivamente), por otro lado también se destaca que todos los 100 compuestos demuestran una alta permeabilidad de la barrera hematoencefálica (Tabla 2, Anexo 2).

En cuanto al metabolismo, reflejado en el parámetro inhibición de la CYP450 particularmente las isoformas CYP3A4, CYP2C9 y CYP2C19, cerca de 40 compuestos demuestran baja probabilidad de inhibir esas isoformas como por ejemplo los compuestos como ZINC13643289, ZINC14996361 y ZINC20353527 que presentaron valores menores de 0.7 para cada isoforma (Anexo 2). Así mismo en cuanto a excreción medida por la probabilidad de inhibir OCT2, la mayoría (55) compuestos presentan valores bajos que oscilan entre 0.5-0.69 como ZINC13643289, ZINC14996361, ZINC000002957581 y ZINC20353527 (0.5819, 0.60, 0.68 y 0.63 respectivamente) (Tabla 2, Anexo 2)

A partir de los resultados arrojados por ADMETSar en cuanto a toxicidad representada en parámetros como carcinogénesis, mutagénesis AMES, inhibición del canal hERG y toxicidad aguda oral, se determinó que la mayoría de compuestos presentan una probabilidad de generar toxicidad menor del 0.7, destacando compuestos como ZINC14996361 con una de las probabilidades de mutagénesis más baja (0.5) y ZINC13643289 cuya probabilidad de carcinogénesis fue de 0.4990.

Teniendo en cuenta las energías de unión, junto con los resultados de ADMET y principalmente los siguientes parámetros analizados HIA, PPB, inhibidor OCT2, inhibición CYP3A4, carcinogénesis, mutagénesis y toxicidad aguda oral de los 100 compuestos analizados se seleccionaron los compuestos ZINC13643289, ZINC000005121182, ZINC14996361, ZINC000002957581 y ZINC20353527 para análisis de interacción

molecular por su potencial para ser usados en estudios *in vitro* como posibles inhibidores de la CysK en *A. baumannii* (Tabla 2).

Tabla 2. Propiedades farmacocinéticas ADMET

Se muestran los resultados de ADMET predichos para 5 compuestos con energía de unión a CysK mayor de -7.0 Kcal/mol potenciales candidatos a inhibidores de la enzima CysK en *A. baumannii*.

Compuesto	Energía de unión CysK Kcal/Mol	Energía de unión C β S Kcal/Mol	Absorción intestinal humana (HIA)	Permeabilidad Caco-2	Unión a proteínas plasmáticas 100%	Barrera hematoencefálica	Sustrato de glicoproteína P	Inhibidor de OCT2	Sustrato CYP3A4	Sustrato CYP2C9	Sustrato CYP2D6	Inhibición de CYP3A4	Inhibición de CYP2C9	Inhibición de CYP2C19	Inhibición de CYP2D6	Inhibición de CYP1A2	Carcinogenicidad (trinaria)	Mutágenos de Ames	Inhibición humana (hERG)	Toxicidad oral aguda
OAS	-3.6	-4.2	0.7241	0.9726	0.032	0.8758	0.9822	0.9000	0.7289	0.6063	0.8369	0.8822	0.9369	0.9515	0.9132	0.8483	0.6636	0.5800	0.8700	0.8500
PLP	-4.8	-5.1	0.9487	0.6093	0.743	0.9703	0.9032	0.8750	0.5186	0.7987	0.8788	0.9488	0.8282	0.8099	0.8710	0.8143	0.5519	0.6600	0.7331	0.7750
ZINC01690699	-7.0	-0.2	0.9626	0.8371	0.868	0.9845	0.7174	0.8750	0.5317	1	0.8490	0.7973	0.5639	0.6986	0.9133	0.5243	0.4496	0.5600	0.7058	0.9750
ZINC13643289	-8.3	-0.6	0.9882	0.8548	1.213	0.9763	0.5058	0.5819	0.6358	0.8156	0.6952	0.6945	0.7637	0.5279	0.9030	0.6977	0.4990	0.5700	0.7514	0.6270
ZINC000005121182	-7.9	-0.6	0.9894	0.7430	1.057	0.9847	0.9908	0.9750	0.7462	0.7795	0.8471	0.8250	0.8146	0.7140	0.8132	0.8270	0.5886	0.8200	0.5369	0.6540
ZINC14996361	-7.4	-0.4	0.9592	0.7568	1.09	0.9886	0.7274	0.6000	0.6720	0.5816	0.8647	0.6438	0.5673	0.5992	0.8501	0.8669	0.6275	0.5000	0.8826	0.5394
ZINC000002957581	-7.4	-0.6	0.9783	0.6510	0.775	0.9898	0.9567	0.6885	0.9567	0.5811	0.8870	0.9233	0.9688	0.9466	0.7817	0.8904	0.5073	0.5400	0.7701	0.6161
ZINC20353527	-7.4	-0.6	0.9829	0.7842	1.288	0.9925	0.5250	0.6354	0.6391	10.000	0.7900	0.5149	0.5851	0.7118	0.9531	0.5791	0.9143	0.5300	0.9443	0.7167

6.7 Interacciones moleculares entre cisteína sintasa (CysK) y ligandos con mejor energía de unión

Las interacciones entre CysK y los 5 compuestos seleccionados a partir de la predicción ADMET, se realizó usando el programa Ligplot que permite predecir formación de enlaces de hidrogeno e interacciones hidrofóbicas las cuales son importantes para la estabilización de unión entre la proteína y el ligando. Los resultados revelaron que 3 de los 5 compuestos analizados (ZINC000005121182, ZINC14996361 y ZINC000002957581) presentaron el mayor número de interacciones con CysK (13, 11 y 11 respectivamente) de los cuales ZINC000005121182 presentó 2 enlaces de hidrógeno y 11 enlaces de tipo hidrofóbico, ZINC14996361 presentó 1 enlace de hidrógeno y 10 enlaces de tipo hidrofóbico y ZINC000002957581 presentó 2 enlaces de hidrógeno y 9 enlaces de tipo hidrofóbico; los otros dos compuestos (ZINC13643289 y ZINC20353527) presentaron 10 y 9 interacciones de tipo hidrofóbico con la proteína CysK (Figura 18).

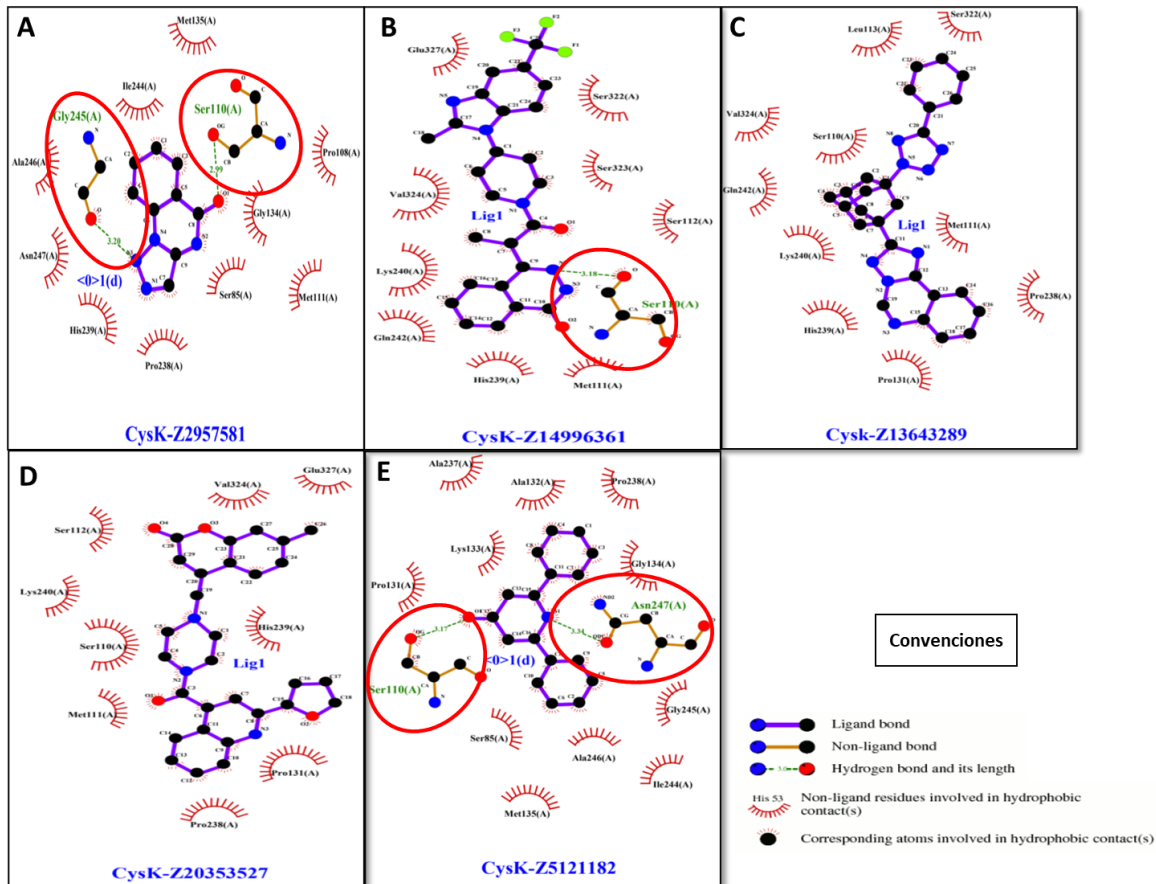


Figura 18. Esquemas de Interacciones moleculares entre 5 ligandos y CysK a partir de las coordenadas 3D.

Los gráficos fueron generados mediante LigPlot. **A)** CysK-ZINC2957581; **B)** CysK-ZINC14996361; **C)** CysK-ZINC13643289; **D)** CysK-ZINC20353527; **E)** CysK-ZINC5121182. En color rojo se destacan los residuos de aminoácidos cercanos al bolsillo de la proteína con quién presenta interacción cada ligando.

Los análisis de estructura de los 5 ligandos permitieron determinar que todos los residuos involucrados en las interacciones hidrofóbicas se encuentran dentro del bolsillo del sitio activo (K^{57} - S^{287}); así mismo es de resaltar que en 4 de los 5 compuestos esas interacciones se dan con los residuos H^{239} y K^{240} importantes para unirse con SAT en la región alostérica de la CysK (Tabla 3).

Tabla 3. Interacciones moleculares CysK y los 5 Ligandos.

Las energías de unión de los ligandos 5 ligandos seleccionados se muestran en kcal / mol, igualmente se presentan los residuos específicos de la proteína con los que interactúan cada ligando mediante enlaces de hidrógeno o interacciones hidrofobas. En negrita se presenta un sustrato natural de la enzima PLP y el inhibidor conocido de la enzima CSTv; en rojo se resaltan los residuos importantes para formar complejo el complejo CS-SAT, ND es no determinado.

Ligandos	Energía de unión CysK Kcal/Mol	Residuos que interactúan con los enlaces de hidrógeno (CysK)	Residuos de interacción de enlaces hidrofóbicos (CysK)
PLP	-4.8	ND	Ser110, Met111, Ser112, His239, Lys240 , Ile241, Gln242, Ser323, Val324
ZINC01690699	-7.0	ND	Ser110, Met111, Ser112, Pro131, Pro238, His239, Lys240 , Ser323, Val324
ZINC13643289	-8.3	ND	Ser110, Met111, Leu113, Pro131, Pro238, His239, Lys240 , Gln242, Ser322, Val324
ZINC000005121182	-7.9	Ser110, Asn247	Ser85, Pro131, Ala132, Lys133, Gly134, Met135, Ala237, Pro238, Ile244, Gly245, Ala246
ZINC14996361	-7,4	Ser110	Met111, Ser112, His239, Lys240 , Gln242, Ser322, Ser323, Val324, Glu327
ZINC000002957581	-7,4	Ser110, Gly245	Ser85, Pro108, Gly134, Met135, Pro238, His239 , Ile244, Ala246, Asn247
ZINC20353527	-7,4	ND	Ser110, Met111, Ser112, Pro131, Pro238, His239, Lys240 , Val324, Glu327

En conjunto los resultados permiten determinar que de los 5 compuestos analizados, se pueden seleccionar 4 (ZINC13643289, ZINC14996361, ZINC000002957581 y

ZINC20353527) con potencial para inhibir la CysK de *A. baumannii* y que además ZINC14996361 y ZINC000002957581 fueron descritos como posibles inhibidores de CS en *L. braziliensis* y candidatos para futuros ensayos a nivel *in vitro*.

7.DISCUSIÓN

El descubrimiento de nuevos compuestos antibacterianos es un gran desafío debido a la facilidad con que microorganismos como *A. baumannii* desarrollan mecanismos de resistencia frente a los fármacos de uso convencional, generando un problema en salud pública. En este estudio, se hizo una caracterización *in silico* de la cisteína sintasa (CS) de *A. baumannii* explorando el potencial de la enzima como blanco para desarrollar nuevas alternativas terapéuticas en el control de infecciones por *A. baumannii*; igualmente, se identificaron compuestos con afinidad de unión por la CS los cuales pueden ser potenciales inhibidores de la enzima.

A. baumannii contiene genes que codifican para dos isoformas de CS, CysM (OAAS-B) y CysK (OASS-A) lo que ha sido común en la mayoría de procariontes en donde se ha estudiado la vía *de novo* para la síntesis de cisteína; sin embargo, este hallazgo difiere de microorganismos como *Mycobacterium tuberculosis* quien presenta 3 isoformas (CysM, CysK1 y CysK2), parásitos protozoarios como *Entamoeba histolytica* que también presenta 3 isoformas (EhOASS1, EhOASS2 y EhOASS3) y algunos otros microorganismos que sólo presentan una isoforma de la enzima como es el caso de *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania* spp (Benoni et al., 2016; Romero et al., 2014).

Al igual que otras enzimas de la misma familia (enzimas PLP-dependientes) como las de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Leishmania. donovani*, *Mycobacterium. tuberculosis*, estructuralmente tanto CysM como CysK presentan el sitio de unión al cofactor PLP, el cual se localiza en la interfase entre la región N-terminal y la C-terminal de las enzimas, involucrando residuos de Lisina (41, 52,65 y 192 en CysM, 46, 57, 70 y 210 en CysK), asparagina y serina (N82, S263 en CysM y N87, S287 en CysK) que además de formar enlaces de hidrógeno con el PLP forman el bolsillo del sitio activo sobre el cual se une la OAS sustrato natural de la enzima. Igualmente, las dos isoformas en *A. baumannii* presentan el dominio rico en glicinas y treoninas (T183, G185, T186, G189 en CysM y T193, G194, T196, G199 en CysK), el cual ha sido descrito importante en la formación de bucles alrededor del grupo fosfato de

PLP manteniendo estable la unión entre el cofactor y la enzima (Joshi et al., 2019; Raj et al., 2012).

La isoforma CysK de *A. baumannii* cuenta con los 3 residuos de aminoácidos (L229, H239 y L240) presentes en la región C-terminal y que permiten formar complejo con la enzima Serina-Acetil-Transferasa (SAT o CysE), lo cual es común entre todas las isoformas CysK de bacterias, entre las CS de algunos protozoarios como *Leishmania major*, *Leishmania braziliensis*, pero ausentes en las isoformas CysM bacterianas, en la CS de *Trichomonas vaginalis* y en el ortólogo más cercano en el humano la enzima CBS (Romero et al., 2015; K. Singh et al., 2016; Williams et al., 2009). Estudios previos han resaltado la regulación alostérica que se presenta en la enzima CS cuando forma un complejo estable con la enzima SAT (CSC), competitivamente la CS se disocia de su sustrato natural OAS y la actividad enzimática de CS es inhibida impidiendo la formación de cisteína, sin embargo, al disociarse el complejo CSC el sitio activo de CS queda libre para unirse con OAS y formar la cisteína (Benoni et al., 2016; Joshi et al., 2019; Schnell & Schneider, 2010).

De acuerdo con el análisis de los patrones de plegamiento de las estructuras secundarias predichos para las CysM y CysK de *A. baumannii*, (α -hélices: 41% y 44% respectivamente, láminas- β : 17%) se pudo determinar que fueron muy similares a los encontrados en CS de microorganismos como *Haemophilus influenzae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Entamoeba histolytica* y *Leishmania donovani*, los cuales también se presentaron en rangos de 40- 42% de α -hélices y 16-17% de láminas- β (Chinthalapudi et al., 2008; Huang et al., 2005; Raj et al., 2012).

En cuanto a la estructura terciaria predicha para las dos enzimas, los modelos tanto de CysM como de CysK presentaron altos niveles de confianza determinados por sus puntajes (C-score: 0.90 y 0.97, TM-score: 0.84 y 0.85 respectivamente) que en conjunto significa buena calidad y una topología correcta de los modelos (Roy et al., 2010; J. Yang et al., 2014). Estos datos se corroboran con los puntajes Z obtenidos mediante la validación de cada modelo por ProSAweb (-8.1 CysM y -10.36 CysK) los cuales no sólo indican que la calidad es razonablemente buena ya que todos se encuentran dentro del rango de puntajes típicamente encontrados en proteínas nativas ya descritas en Protein Data Bank (PDB) y que poseen un tamaño similar, sino que además se encuentran muy próximos a los encontrados para CS de *T. vaginalis* (-

9.06) y las reportados previamente por nuestro grupo para CysM y CysK de *P. aeruginosa* (-7.94 y -10.36 respectivamente) (S. Singh et al., 2013; Farfán N y Molina K., 2020)

Además de la caracterización *in silico* de la CS y haciendo uso de acoplamiento molecular, se identificaron compuestos con afinidad por la CysK, isoforma que ya en estudios anteriores ha sido blanco para el diseño de péptidos e inhibidores específicos de la enzima en otros microorganismos de importancia médica (Brunner et al., 2017; Franko et al., 2018; Jean Kumar et al., 2013; Spyraakis et al., 2013). La predicción de propiedades farmacocinéticas ADMET y en especial la HIA, PPB, inhibidor OCT2, inhibición CYP34A, carcinogénesis, mutagénesis y toxicidad aguda oral se han convertido en factores determinantes de la farmacabilidad de los compuestos químicos y hacen parte de los métodos principales en el actual diseño racional de medicamentos permitiendo priorizar las moléculas líderes en el desarrollo de nuevas terapias, permitió realizar una selección de todos los compuestos identificados en el acoplamiento destacando ZINC13643289, ZINC14996361, ZINC000002957581 y ZINC20353527 como posibles compuestos líderes para el desarrollo de inhibidores específicos de CysK en *A. baumannii* (Y. Wang et al., 2015). Igualmente, el potencial de estos 4 compuestos se sustenta en el hecho de que ellos interactúan formando enlaces hidrofóbicos con los residuos His239, Lys240 importantes para formar el complejo estable con SAT y se esperaría que al igual que se ha reportado para CysK de *H. influenzae*, CS de *L. major*, *L. donovani*, *T. vaginalis* los péptidos y compuestos que interactúan en región C-terminal de la enzima compitan con el sustrato natural OAS y se dé la inhibición de la actividad enzimática de CysK (Fyfe et al., 2012; Magalhães et al., 2019; Raj et al., 2012; A. K. Singh et al., 2017; S. Singh et al., 2013)

8.CONCLUSIONES

Los análisis *in silico*, permitieron identificar dos isoformas de la enzima CS (CysM y CysK) en *A. baumannii*, con todos los residuos y dominios funcionales descritos en los ortólogos ya validados funcionalmente, esto sugiere que la vía *de Novo* está presente en este microorganismo como vía para la síntesis de cisteína.

Las isoformas de CS encontradas en *A. baumannii* presentan diferencias estructurales marcadas con respecto al ortólogo más cercano en el humano (CBS), característica importante en un posible blanco de inhibición selectiva para el diseño de fármacos a futuro.

La biología computacional ha sido una herramienta importante en el diseño racional de fármacos y búsqueda de blancos terapéuticos, que en este estudio permitió explorar el potencial de CS en *A. baumannii* como blanco e identificar compuestos como ZINC13643289, ZINC14996361, ZINC000002957581 y ZINC20353527 candidatos fuertes para validación *in vitro* como posibles inhibidores de la enzima CysK de *A. baumannii*.

9.PERSPECTIVAS

Se reconoce el factor preponderante que aporta este estudio, y se plantean las perspectivas de trabajos futuros los cuales se orienten a:

1. Probar las interacciones de proteína-ligando a nivel experimental (*in vitro*) con el fin de estudiar el comportamiento que se pueda presentar en dicho complejo, completando las fases requeridas para la fabricación de un fármaco que tenga como función la inhibición de la cisteína sintasa en *A. baumannii*.
2. Se sugiere realizar estudios *in silico* de dinámica molecular, método que permitiría confirmar dilucidar el proceso de entrada del ligando en el bolsillo de unión de la proteína y la estabilidad del complejo ligando proteína.
3. Realizar la validación funcional *in vitro* de la cisteína sintasa como blanco terapéutico, así como la validación experimental de ZINC13643289, ZINC14996361, ZINC000002957581 y ZINC20353527 como posibles inhibidores específicos de la enzima.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alcántar-Curiel, M. D., Rosales-Reyes, R., Jarillo-Quijada, M. D., Gayosso-Vázquez, C., Fernández-Vázquez, J. L., Toledano-Tableros, J. E., Giono-Cerezo, S., Garza-Villafuerte, P., López-Huerta, A., Vences-Vences, D., Morfín-Otero, R., Rodríguez-Noriega, E., López-Álvarez, M. del R., Espinosa-Sotero, M. del C., & Santos-Preciado, J. I. (2019). Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in Three Tertiary Care Hospitals in Mexico: Virulence Profiles, Innate Immune Response and Clonal Dissemination. *Frontiers in Microbiology*, 10(September), 1-19. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02116>
- Asif, M., Alvi, I. A., & Ur Rehman, S. (2018). Insight into *acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infection and Drug Resistance*, 11, 1249-1260. <https://doi.org/10.2147/IDR.S166750>
- Benoni, R., Pertinhez, T. A., Spyraakis, F., Davalli, S., Pellegrino, S., Paredi, G., Pezzotti, A., Bettati, S., Campanini, B., & Mozzarelli, A. (2016). Structural insight into the interaction of O-acetylserine sulfhydrylase with competitive, peptidic inhibitors by saturation transfer difference-NMR. *FEBS Letters*, 590(7), 943-953. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12126>
- Bhattacharya, M., Hota, A., Kar, A., Sankar Chini, D., Chandra Malick, R., Chandra Patra, B., & Kumar Das, B. (2018). In silico structural and functional modelling of Antifreeze protein (AFP) sequences of Ocean pout (*Zoarces americanus*, Bloch & Schneider 1801). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 721-730. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.08.004>
- Brunner, K., Steiner, E. M., Reshma, R. S., Sriram, D., Schnell, R., & Schneider, G. (2017). Profiling of in vitro activities of urea-based inhibitors against cysteine synthases from *Mycobacterium tuberculosis*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 27(19), 4582-4587. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.08.039>
- Burkhard, P., Rao, G. S. J., Hohenester, E., Schnackerz, K. D., Cook, P. F., & Jansonius, J. N. (1998). Three-dimensional structure of O-acetylserine sulfhydrylase from *Salmonella typhimurium*. *Journal of Molecular Biology*, 283(1), 121-133. <https://doi.org/10.1006/jmbi.1998.2037>

- Chinthalapudi, K., Kumar, M., Kumar, S., Jain, S., Alam, N., & Gourinath, S. (2008). Crystal structure of native O-acetyl-serine sulfhydrylase from *Entamoeba histolytica* and its complex with cysteine: Structural evidence for cysteine binding and lack of interactions with serine acetyl transferase. *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 72(4), 1222-1232. <https://doi.org/10.1002/prot.22013>
- de la Fuente-Salcido, N. M., Villarreal-Prieto, J. M., Díaz León, M. Á., & García Pérez, A. P. (2015). Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 46(2), 7-16.
- Dietrich H. Nies, S. P. (2007). Molecular Microbiology of Heavy Metals. En *Molecular Microbiology of Heavy Metals*. <https://doi.org/10.1007/978-3-540-69771-8>
- Doi, Y., Murray, G. L., & Peleg, A. Y. (2015). *Acinetobacter baumannii*: Evolution of antimicrobial resistance-treatment options. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 36(1), 85-98. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1398388>
- Ducel, G. Fabry, J. Nicolle, L. Girard, R. Perraud, M. Prüss, A. Savey, a. (2009). Prevención de las infecciones nosocomiales. *Who.int*, 2, 70. <https://doi.org/10.1590/S0036-36341999000700012>
- Durante-Mangoni, E., Signoriello, G., Andini, R., Mattei, A., De Cristoforo, M., Murino, P., Bassetti, M., Malacarne, P., Petrosillo, N., Galdieri, N., Mocavero, P., Corcione, A., Viscoli, C., Zarrilli, R., Gallo, C., & Utili, R. (2013). Colistin and rifampicin compared with colistin alone for the treatment of serious infections due to extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: A multicenter, randomized clinical trial. *Clinical Infectious Diseases*, 57(3), 349-358. <https://doi.org/10.1093/cid/cit253>
- Eze, E. C., Chenia, H. Y., & El Zowalaty, M. E. (2018). *Acinetobacter baumannii* biofilms: Effects of physicochemical factors, virulence, antibiotic resistance determinants, gene regulation, and future antimicrobial treatments. *Infection and Drug Resistance*, 11, 2277-2299. <https://doi.org/10.2147/IDR.S169894>
- Franko, N., Grammatoglou, K., Campanini, B., Costantino, G., Jirgensons, A., & Mozzarelli, A. (2018). Inhibition of O-acetylserine sulfhydrylase by fluoroalanine derivatives. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 33(1), 1343-1351.

<https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1504040>

- Frávega, J. S. T. exhibits fluoroquinolone resistance mediated by the accumulation of the antioxidant molecule H₂S in a CysK-dependent manner. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(12), 3409-3415. <https://doi.org/10.1093/JAC/DKW311>
- Fyfe, P. K., Westrop, G. D., Ramos, T., Müller, S., Coombs, G. H., & Hunter, W. N. (2012). Structure of *Leishmania major* cysteine synthase. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications*, 68(7), 738-743. <https://doi.org/10.1107/S1744309112019124>
- Guan, L., Yang, H., Cai, Y., Sun, L., Di, P., Li, W., Liu, G., & Tang, Y. (2019). ADMET-score-a comprehensive scoring function for evaluation of chemical drug-likeness. *MedChemComm*, 10(1), 148-157. <https://doi.org/10.1039/C8MD00472B>
- Haque, M., Sartelli, M., Mckimm, J., & Abu Bakar, M. (2018). Infection and Drug Resistance Dovepress Health care-associated infections-an overview. *Infection and Drug Resistance*, 11(1), 2321-2333. <https://doi.org/10.2147/IDR.S177247>
- Huang, B., Vetting, M. W., & Roderick, S. L. (2005). The active site of O-acetylserine sulfhydrylase is the anchor point for bienzyme complex formation with serine acetyltransferase. *Journal of Bacteriology*, 187(9), 3201-3205. <https://doi.org/10.1128/JB.187.9.3201-3205.2005>
- Huma, T., Maryam, A., Rehman, S., Tahir, M., Haque, A., & Shaheen, B. (2014). Phylogenetic and Comparative Sequence Analysis of Thermostable Alpha Amylases of kingdom. *Biomedical Informatics*, 10(7).
- Irwin, J. J., & Shoichet, B. K. (2005). ZINC - A free database of commercially available compounds for virtual screening. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 45(1), 177-182. <https://doi.org/10.1021/ci049714+>
- Irwin, J. J., Sterling, T., Mysinger, M. M., Bolstad, E. S., & Coleman, R. G. (2012). ZINC: A free

- tool to discover chemistry for biology. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 52(7), 1757-1768. <https://doi.org/10.1021/ci3001277>
- Jawad, A., Hawkey, P. M., Heritage, J., & Snelling, A. M. (1994). Description of Leeds Acinetobacter Medium, a New Selective and Differential Medium for Isolation of Clinically Important Acinetobacter spp., and Comparison with Herellea Agar and Holton's Agar. En *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*.
- Jean Kumar, V. U., Poyraz, Ö., Saxena, S., Schnell, R., Yogeeswari, P., Schneider, G., & Sriram, D. (2013). Discovery of novel inhibitors targeting the Mycobacterium tuberculosis O-acetylserine sulfhydrylase (CysK1) using virtual high-throughput screening. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 23(5), 1182-1186. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.01.031>
- Joshi, P., Gupta, A., & Gupta, V. (2019). Insights into multifaceted activities of CysK for therapeutic interventions. *3 Biotech*, 9(2), 1-16. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1572-4>
- Kapoor, R. (2008). Acinetobacter infection. *New England Journal of Medicine*, 358(26), 2845-2847. <https://doi.org/10.1056/NEJMc080854>
- Karlowsky, J. A., Hoban, D. J., Hacke, M. A., Lob, S. H., & Sahm, D. F. (2017). Antimicrobial susceptibility of gram-negative ESKAPE pathogens isolated from hospitalized patients with intra-abdominal and urinary tract infections in Asia-Pacific countries: SMART 2013-2015. *Journal of Medical Microbiology*, 66(1), 61-69. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000421>
- Khan, H. A., Baig, F. K., & Mehboob, R. (2017). Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(5), 478-482. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.01.019>
- Kim, S. W., Oh, M. H., Jun, S. H., Jeon, H., Kim, S. Il, Kim, K., Lee, Y. C., & Lee, J. C. (2016). Outer membrane Protein A plays a role in pathogenesis of Acinetobacter nosocomialis. *Virulence*, 7(4), 413-426. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1140298>
- Klausen, M. S., Jespersen, M. C., Nielsen, H., Jensen, K. K., Jurtz, V. I., Sønderby, C. K.,

- Sommer, M. O. A., Winther, O., Nielsen, M., Petersen, B., & Marcatili, P. (2019). NetSurfP-2.0: Improved prediction of protein structural features by integrated deep learning. *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics*, 87(6), 520-527. <https://doi.org/10.1002/prot.25674>
- Kohl, J. B., Mellis, A. T., & Schwarz, G. (2019). Homeostatic impact of sulfite and hydrogen sulfide on cysteine catabolism. *British Journal of Pharmacology*, 176(4), 554-570. <https://doi.org/10.1111/bph.14464>
- Kwofie, S. K., Dankwa, B., Odame, E. A., Agamah, F. E., Doe, L. P. A., Teye, J., Agyapong, O., Miller, W. A., Mosi, L., & Wilson, M. D. (2018). In silico screening of isocitrate lyase for novel anti-buruli ulcer natural products originating from Africa. *Molecules*, 23(7). <https://doi.org/10.3390/molecules23071550>
- Lee, C. R., Lee, J. H., Park, M., Park, K. S., Bae, I. K., Kim, Y. B., Cha, C. J., Jeong, B. C., & Lee, S. H. (2017). Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7(MAR). <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00055>
- Lee, J. S., Choi, C. H., Kim, J. W., & Lee, J. C. (2010). *Acinetobacter baumannii* outer membrane protein a induces dendritic cell death through mitochondrial targeting. *Journal of Microbiology*, 48(3), 387-392. <https://doi.org/10.1007/s12275-010-0155-1>
- Liang, J., Han, Q., Tan, Y., Ding, H., & Li, J. (2019). Current advances on structure-function relationships of pyridoxal 5'-phosphate-dependent enzymes. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 6(MAR). <https://doi.org/10.3389/fmolb.2019.00004>
- Lin, M.-F. (2014). Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii* : From bench to bedside . *World Journal of Clinical Cases*, 2(12), 787. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v2.i12.787>
- Lucidi, M., Runci, F., Rampioni, G., Frangipani, E., Leoni, L., & Visca, P. (2018). New shuttle vectors for gene cloning and expression in multidrug-resistant *Acinetobacter* species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(4), 1-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.02480-17>
- Magalhães, J., Franko, N., Annunziato, G., Pieroni, M., Benoni, R., Nikitjuka, A., Mozzarelli, A.,

- Bettati, S., Karawajczyk, A., Jirgensons, A., Campanini, B., & Costantino, G. (2019). Refining the structure–activity relationships of 2-phenylcyclopropane carboxylic acids as inhibitors of O-acetylserine sulfhydrylase isoforms. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, *34*(1), 31-43. <https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1518959>
- Mazumder, M., & Gourinath, S. (2015). Structure-Based Design of Inhibitors of the Crucial Cysteine Biosynthetic Pathway Enzyme O-Acetyl Serine Sulfhydrylase. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, *16*(9), 948-959. <https://doi.org/10.2174/1568026615666150825142422>
- Monem, S., Furmanek-Blaszk, B., Łupkowska, A., Kuczyńska-Wiśnik, D., Stojowska-Swędryńska, K., & Laskowska, E. (2020). Mechanisms protecting acinetobacter baumannii against multiple stresses triggered by the host immune response, antibiotics, and outside host environment. En *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 21, Número 15, pp. 1-30). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms21155498>
- Morrissey, I., Olesky, M., Hawser, S., Lob, S. H., Karlowsky, J. A., Corey, G. R., Bassetti, M., & Fyfe, C. (2019). In Vitro Activity of Eravacycline against Gram-Negative Bacilli Isolated in Clinical Laboratories Worldwide from 2013 to 2017 . *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *41*(December), 1-29. <https://doi.org/10.1128/aac.01699-19>
- Mulani, M. S., Kamble, E. E., Kumkar, S. N., Tawre, M. S., & Pardesi, K. R. (2019). Emerging strategies to combat ESKAPE pathogens in the era of antimicrobial resistance: A review. *Frontiers in Microbiology*, *10*(APR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00539>
- Nasr, P. (2020). Genetics, epidemiology, and clinical manifestations of multidrug-resistant Acinetobacter baumannii. *Journal of Hospital Infection*, *104*(1), 4-11. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2019.09.021>
- Neto, N. N. M., Maia, J., Queiroz, I. T., Zacarkim, M. R., Lins, M. G., Labeaud, D., Aronoff, D., & Medicine, F. (2018). In vitro Activity of Cefiderocol (S-649266), a Siderophore Cephalosporin, Against Enterobacteriaceae With Defined Extended-Spectrum B-Lactamases and Carbapenemases. *5*(Suppl 1), 250-251.
- Nho, J. S., Jun, S. H., Oh, M. H., Park, T. I., Choi, C. W., Kim, S. II, Choi, C. H., & Lee, J. C. (2015). Acinetobacter nosocomialis secretes outer membrane vesicles that induce

- epithelial cell death and host inflammatory responses. *Microbial Pathogenesis*, *81*, 39-45. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.03.012>
- Nowak, P., & Paluchowska, P. (2016). *Acinetobacter baumannii*: Biology and drug resistance — role of carbapenemases. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, *54*(2), 61-74. <https://doi.org/10.5603/FHC.a2016.0009>
- Pagano, M., Martins, A. F., & Barth, A. L. (2016). Mobile genetic elements related to carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Brazilian Journal of Microbiology*, *47*(4), 785-792. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.06.005>
- Percudani, R., & Peracchi, A. (2003). A genomic overview of pyridoxal-phosphate-dependent enzymes. *EMBO Reports*, *4*(9), 850-854. <https://doi.org/10.1038/sj.embor.embor914>
- Pinzi, L., & Rastelli, G. (2019). Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(18). <https://doi.org/10.3390/ijms20184331>
- RA, L., & MB, S. (2011). LigPlot+: multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery. *Journal of Chemical Information and Modeling*, *51*, 2778-2786.
- Rada, J. (2016). An actual pathogen *Acinetobacter*. *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, *55*(1), 29-48. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1024-06752016000100006
- Raj, I., Kumar, S., & Gourinath, S. (2012). The narrow active-site cleft of O-acetylserine sulfhydrylase from *Leishmania donovani* allows complex formation with serine acetyltransferases with a range of C-terminal sequences. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, *68*(8), 909-919. <https://doi.org/10.1107/S0907444912016459>
- Ramírez, D., & Caballero, J. (2018). Is It Reliable to Take the Molecular Docking Top Scoring Position as the Best Solution without Considering Available Structural Data? *Molecules*, *23*(5), 1-17. <https://doi.org/10.3390/molecules23051038>
- Roberto Carlos Barletta Farías, Leonardo Javier Pérez Ponce, Gabriela Castro Vega, Misael Pujol Pérez, J., & Emilio Barletta del Castillo, Y. D. P. (2018). Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: a challenge for current therapeutic. *Revista científica de*

ciencias médicas en Cienfuegos, 13.

- Rodríguez, C. H., Nastro, M., & Famiglietti, A. (2018). Carbapenemases in *Acinetobacter baumannii*. Review of their dissemination in Latin America. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(3), 327-333. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.10.006>
- Romero, I., Téllez, J., Romanha, A. J., Steindel, M., & Grisard, E. C. (2015). Upregulation of cysteine synthase and cystathionine β -synthase contributes to *Leishmania braziliensis* survival under oxidative stress. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59(8), 4770-4781. <https://doi.org/10.1128/AAC.04880-14>
- Romero, I., Téllez, J., Yamanaka, L. E., Steindel, M., Romanha, A. J., & Grisard, E. C. (2014). Transsulfuration is an active pathway for cysteine biosynthesis in *Trypanosoma rangeli*. *Parasites and Vectors*, 7(1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-197>
- Rossi, E., Longo, F., Barbagallo, M., Peano, C., Consolandi, C., Pietrelli, A., Jaillon, S., Garlanda, C., & Landini, P. (2016). Glucose availability enhances lipopolysaccharide production and immunogenicity in the opportunistic pathogen *Acinetobacter baumannii*. *Future Microbiology*, 11(3), 335-349. <https://doi.org/10.2217/fmb.15.153>
- Roy, A., Kucukural, A., & Zhang, Y. (2010). I-TASSER: A unified platform for automated protein structure and function prediction. *Nature Protocols*, 5(4), 725-738. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.5>
- Santajit, S., & Indrawattana, N. (2016). Mechanisms of Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *BioMed Research International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>
- Schnell, R., & Schneider, G. (2010). Structural enzymology of sulphur metabolism in *Mycobacterium tuberculosis*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 396(1), 33-38. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.02.118>
- Schweppe, D. K., Harding, C., Chavez, J. D., Wu, X., Ramage, E., Singh, P. K., Manoil, C., & Bruce, J. E. (2015). Host-Microbe Protein Interactions during Bacterial Infection. *Chemistry and Biology*, 22(11), 1521-1530. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2015.09.015>
- Singh, A. K., Ekka, M. K., Kaushik, A., Pandya, V., Singh, R. P., Banerjee, S., Mittal, M., Singh,

- V., & Kumaran, S. (2017). Substrate-Induced Facilitated Dissociation of the Competitive Inhibitor from the Active Site of O-Acetyl Serine Sulfhydrylase Reveals a Competitive-Allostery Mechanism. *Biochemistry*, 56(37), 5011-5025. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.7b00500>
- Singh, K., Ali, V., Pratap Singh, K., Gupta, P., Suman, S. S., Ghosh, A. K., Bimal, S., Pandey, K., & Das, P. (2017). z. *Redox Biology*, 12(March), 350-366. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.03.004>
- Singh, K., Singh, K. P., Equbal, A., Suman, S. S., Zaidi, A., Garg, G., Pandey, K., Das, P., & Ali, V. (2016). Interaction between cysteine synthase and serine O-acetyltransferase proteins and their stage specific expression in *Leishmania donovani*. En *Biochimie* (Vol. 131). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.09.004>
- Singh, S., Sablok, G., Farmer, R., Singh, A. K., Gautam, B., & Kumar, S. (2013). Molecular dynamic simulation and inhibitor prediction of cysteine synthase structured model as a potential drug target for trichomoniasis. *BioMed Research International*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/390920>
- Smolyakov, R., Borer, A., Riesenber, K., Schlaeffer, F., Alkan, M., Porath, A., Rimar, D., Almog, Y., & Gilad, J. (2003). Nosocomial multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection: Risk factors and outcome with ampicillin-sulbactam treatment. *Journal of Hospital Infection*, 54(1), 32-38. [https://doi.org/10.1016/S0195-6701\(03\)00046-X](https://doi.org/10.1016/S0195-6701(03)00046-X)
- Spyrakakis, F., Singh, R., Cozzini, P., Campanini, B., Salsi, E., Felici, P., Raboni, S., Benedetti, P., Cruciani, G., Kellogg, G. E., Cook, P. F., & Mozzarelli, A. (2013). Isozyme-Specific Ligands for O-acetylserine sulfhydrylase, a Novel Antibiotic Target. *PLoS ONE*, 8(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077558>
- Thirumal Kumar, D., Lavanya, P., George Priya Doss, C., Tayubi, I. A., Naveen Kumar, D. R., Francis Yesurajan, I., Siva, R., & Balaji, V. (2017). A Molecular Docking and Dynamics Approach to Screen Potent Inhibitors Against Fosfomycin Resistant Enzyme in Clinical *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Cellular Biochemistry*, 118(11), 4088-4094. <https://doi.org/10.1002/jcb.26064>

- Torres, P. H. M., Sodero, A. C. R., Jofily, P., & Silva-Jr, F. P. (2019). Key topics in molecular docking for drug design. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 1-29. <https://doi.org/10.3390/ijms20184574>
- Viehman, J. A., Nguyen, M. H., & Doi, Y. (2014). Treatment options for carbapenem-resistant and extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Drugs*, 74(12), 1315-1333. <https://doi.org/10.1007/s40265-014-0267-8>
- Volker F. Wendisch. (2007). *Amino Acid Biosynthesis – Pathways, Regulation and Metabolic Engineering*. <https://books.google.com.co/books?id=0wJUFr1TphYC&pg=PA201&dq=cysk&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiv4Zyl19ToAhWOg-AKHZXwBYAQ6AEINTAB#v=onepage&q=cysk&f=false>
- Wang, T., & Leyh, T. S. (2012). Three-stage assembly of the cysteine synthase complex from *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 287(6), 4360-4367. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.288423>
- Wang, Y., Xing, J., Xu, Y., Zhou, N., Peng, J., Xiong, Z., Liu, X., Luo, X., Luo, C., Chen, K., Zheng, M., & Jiang, H. (2015). In silico ADME/T modelling for rational drug design. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 48(4), 488-515. <https://doi.org/10.1017/S0033583515000190>
- Wassermann, A. M., & Bajorath, J. (2011). BindingDB and ChEMBL: Online compound databases for drug discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 6(7), 683-687. <https://doi.org/10.1517/17460441.2011.579100>
- WHO. (2017). La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. En *Who*. <https://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- Wiederstein, M., & Sippl, M. J. (2007). ProSA-web: Interactive web service for the recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. *Nucleic Acids Research*, 35(SUPPL.2), 407-410. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm290>
- Williams, R. A. M., Westrop, G. D., & Coombs, G. H. (2009). Two pathways for cysteine

- biosynthesis in *Leishmania major*. *Biochemical Journal*, 420(3), 451-462. <https://doi.org/10.1042/BJ20082441>
- Yang, H., Lou, C., Sun, L., Li, J., Cai, Y., Wang, Z., Li, W., Liu, G., & Tang, Y. (2019). AdmetSAR 2.0: Web-service for prediction and optimization of chemical ADMET properties. *Bioinformatics*, 35(6), 1067-1069. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty707>
- Yang, J., Yan, R., Roy, A., Xu, D., Poisson, J., & Zhang, Y. (2014). The I-TASSER suite: Protein structure and function prediction. *Nature Methods*, 12(1), 7-8. <https://doi.org/10.1038/nmeth.3213>
- Magalhães J, Franko N, Annunziato G, Pieroni M, Benoni R, Nikitjuka A, et al. Refining the structure–activity relationships of 2-phenylcyclopropane carboxylic acids as inhibitors of O-acetylserine sulfhydrylase isoforms. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2019;34(1):31-43.
- Singh AK, Ekka MK, Kaushik A, Pandya V, Singh RP, Banerjee S, et al. Substrate-Induced Facilitated Dissociation of the Competitive Inhibitor from the Active Site of O-Acetyl Serine Sulfhydrylase Reveals a Competitive-Allostery Mechanism. *Biochemistry*. 2017;56(37):5011-25.
- Wang Y, Xing J, Xu Y, Zhou N, Peng J, Xiong Z, et al. In silico ADME/T modelling for rational drug design. *Q Rev Biophys*. 2015;48(4):488-515.
- Franko N, Grammatoglou K, Campanini B, Costantino G, Jirgensons A, Mozzarelli A. Inhibition of O-acetylserine sulfhydrylase by fluoroalanine derivatives. *J Enzyme Inhib Med Chem* [Internet]. 2018;33(1):1343-51. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1504040>
- Brunner K, Steiner EM, Reshma RS, Sriram D, Schnell R, Schneider G. Profiling of in vitro activities of urea-based inhibitors against cysteine synthases from *Mycobacterium tuberculosis*. *Bioorganic Med Chem Lett* [Internet]. 2017;27(19):4582-7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.08.039>
- Jean Kumar VU, Poyraz Ö, Saxena S, Schnell R, Yogeeswari P, Schneider G, et al. Discovery of novel inhibitors targeting the *Mycobacterium tuberculosis* O-acetylserine sulfhydrylase

- (CysK1) using virtual high-throughput screening. *Bioorganic Med Chem Lett* [Internet]. 2013;23(5):1182-6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2013.01.031>
- Spyrakis F, Singh R, Cozzini P, Campanini B, Salsi E, Felici P, et al. Isozyme-Specific Ligands for O-acetylserine sulfhydrylase, a Novel Antibiotic Target. *PLoS One*. 2013;8(10).
- Roy A, Kucukural A, Zhang Y. I-TASSER: A unified platform for automated protein structure and function prediction. *Nat Protoc*. 2010;5(4):725-38.
- Huang B, Vetting MW, Roderick SL. The active site of O-acetylserine sulfhydrylase is the anchor point for holoenzyme complex formation with serine acetyltransferase. *J Bacteriol*. 2005;187(9):3201-5.
- Schnell R, Schneider G. Structural enzymology of sulphur metabolism in *Mycobacterium tuberculosis*. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2010;396(1):33-8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.02.118>
- Williams RAM, Westrop GD, Coombs GH. Two pathways for cysteine biosynthesis in *Leishmania major*. *Biochem J*. 2009;420(3):451-62.
- Raj I, Kumar S, Gourinath S. The narrow active-site cleft of O-acetylserine sulfhydrylase from *Leishmania donovani* allows complex formation with serine acetyltransferases with a range of C-terminal sequences. *Acta Crystallogr Sect D Biol Crystallogr*. 2012;68(8):909-19.
- Benoni R, Pertinhez TA, Spyrakis F, Davalli S, Pellegrino S, Paredi G, et al. Structural insight into the interaction of O-acetylserine sulfhydrylase with competitive, peptidic inhibitors by saturation transfer difference-NMR. *FEBS Lett*. 2016;590(7):943-53.
- Farfan N, Molina K. Caracterización molecular y bioquímica de la enzima Cisteína Sintasa en la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* mediante análisis in silico, como posible blanco terapéutico en este patógeno. 2020 trabajo Fin de Grado no publicado.

ANEXOS

Anexo 1. Compuestos con afinidad de unión por la enzima CysK de *Acinetobacter baumannii*, identificados mediante docking molecular.

Los compuestos con (-t1) al final de su código ZINC fueron identificados a partir del docking masivo usando la librería de compuestos ZINC y servidor TACC de la Universidad de Texas (<https://drugdiscovery.tacc.utexas.edu/#/>). Los compuestos sin (-t1) son ligandos de CS de parásitos previamente identificados.

Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol
ZINC00000519177-11	-8.4	ZINC00001416786-11	-7.6	ZINC00000060567-11	-7.6	ZINC000001059864-11	-7.5	ZINC000042784416-11	-7.5	ZINC000065184347-11	-7.4	ZINC00001613439-11	-7.4
ZINC000003847876-11	-8.4	ZINC000001417136-11	-7.6	ZINC000001395154-11	-7.6	ZINC000001186464-11	-7.5	ZINC000521396567-11	-7.5	ZINC000098211092-11	-7.4	ZINC00001672643-11	-7.4
ZINC13643289	-8.3	ZINC09561319	-7.6	ZINC000005387628-11	-7.6	ZINC20375693	-7.5	ZINC09561318	-7.5	ZINC000246067305-11	-7.4	ZINC000005943100-11	-7.4
ZINC000408720980-11	-8.3	ZINC000009237466-11	-7.6	ZINC000019800411-11	-7.6	ZINC000002884590-11	-7.5	ZINC00000276639-11	-7.5	ZINC000257181838-11	-7.4	ZINC000006222853-11	-7.4
ZINC13643289	-8.3	ZINC000042040311-11	-7.6	ZINC000022147267-11	-7.6	ZINC000004812049-11	-7.5	ZINC000000412030-11	-7.5	ZINC00000208023-11	-7.4	ZINC000008021500-11	-7.4
ZINC000004532572-11	-8.2	ZINC000005723988-11	-7.6	ZINC000003638882-11	-7.6	ZINC000004831127-11	-7.5	ZINC000000513044-11	-7.5	ZINC000000540463-11	-7.4	ZINC000016545658-11	-7.4
ZINC000254385507-11	-8.2	ZINC000017016881-11	-7.6	ZINC000068675255-11	-7.6	ZINC000006188216-11	-7.5	ZINC000001557826-11	-7.5	ZINC000066091399-11	-7.4	ZINC000017142426-11	-7.4
ZINC000408720981-11	-8.1	ZINC000170080121-11	-7.6	ZINC000075260214-11	-7.6	ZINC000005602864-11	-7.5	ZINC000001580784-11	-7.5	ZINC000009499465-11	-7.4	ZINC000022073219-11	-7.4
ZINC000018084826-11	-8.1	ZINC09561278	-7.6	ZINC00000003275-11	-7.6	ZINC000012360260-11	-7.5	ZINC000001683961-11	-7.5	ZINC000018165916-11	-7.4	ZINC000022073225-11	-7.4
ZINC09855428	-8.0	ZINC000005009555-11	-7.6	ZINC00000266028-11	-7.6	ZINC000012505077-11	-7.5	ZINC000002526946-11	-7.5	ZINC000018219910-11	-7.4	ZINC000034083418-11	-7.4
ZINC000095115682-11	-8.0	ZINC000005009556-11	-7.6	ZINC000000996370-11	-7.6	ZINC0000034962140-11	-7.5	ZINC000004990578-11	-7.5	ZINC000018246911-11	-7.4	ZINC000071257754-11	-7.4
ZINC000000395911-11	-8.0	ZINC000005731612-11	-7.6	ZINC000001684988-11	-7.6	ZINC000068692808-11	-7.5	ZINC000005077224-11	-7.5	ZINC000032100423-11	-7.4	ZINC000007125775-11	-7.4
ZINC000005204548-11	-8.0	ZINC000015869025-11	-7.6	ZINC000002561770-11	-7.6	ZINC000009511775-11	-7.5	ZINC0000013191117-11	-7.5	ZINC000041158187-11	-7.4	ZINC0000074705404-11	-7.4
ZINC000003847874-11	-8.0	ZINC000093885167-11	-7.6	ZINC000005286427-11	-7.6	ZINC000226931440-11	-7.5	ZINC000016492867-11	-7.5	ZINC000053565811-11	-7.4	ZINC000095004884-11	-7.4
ZINC000101092507-11	-8.0	ZINC000001344439-11	-7.6	ZINC000008856653-11	-7.6	ZINC00000501666-11	-7.5	ZINC0000031943799-11	-7.5	ZINC000426580915-11	-7.4	ZINC00001548919461-11	-7.4
ZINC000021365399-11	-8.0	ZINC000036421263-11	-7.6	ZINC000012942092-11	-7.6	ZINC000006025409-11	-7.5	ZINC0000031943799-11	-7.5	ZINC000001017466-11	-7.4	ZINC000000914878-11	-7.4
ZINC000017021212-11	-8.0	ZINC32999079	-7.6	ZINC000016756669-11	-7.6	ZINC000006440785-11	-7.5	ZINC0000037761563-11	-7.5	ZINC000003104610-11	-7.4	ZINC000015952969-11	-7.4
ZINC09561285	-7.9	ZINC09561283	-7.6	ZINC000075286825-11	-7.6	ZINC000008405315-11	-7.5	ZINC0000070462762-11	-7.5	ZINC0000078069642-11	-7.4	ZINC0000034434393-11	-7.4
ZINC09855418	-7.9	ZINC14540049	-7.6	ZINC000095094749-11	-7.6	ZINC000000173061-11	-7.5	ZINC0000070462769-11	-7.5	ZINC000083728665-11	-7.4	ZINC000035660520-11	-7.4
ZINC05835063	-7.9	ZINC000039613561-11	-7.6	ZINC0000128800945-11	-7.6	ZINC000000282707-11	-7.5	ZINC000075253647-11	-7.5	ZINC000089885114-11	-7.4	ZINC000041298914-11	-7.4
ZINC000004824881-11	-7.9	ZINC000124665137-11	-7.6	ZINC000000119863-11	-7.5	ZINC000000292243-11	-7.5	ZINC000095094759-11	-7.5	ZINC000095115681-11	-7.4	ZINC000064875523-11	-7.4
ZINC000000173216-11	-7.9	ZINC000426421815-11	-7.6	ZINC000011691402-11	-7.5	ZINC000000318396-11	-7.5	ZINC000096531262-11	-7.5	ZINC000098019140-11	-7.4	ZINC000089263272-11	-7.4
ZINC000000086635-11	-7.9	ZINC000004824882-11	-7.6	ZINC000004207090-11	-7.5	ZINC000000382835-11	-7.5	ZINC000169974061-11	-7.5	ZINC000115151222-11	-7.4	ZINC00000099503-11	-7.4
ZINC000013568160-11	-7.9	ZINC000006578613-11	-7.6	ZINC000005773134-11	-7.5	ZINC000003160303-11	-7.5	ZINC14996361	-7.4	ZINC0000137253181-11	-7.4	ZINC000000133614-11	-7.4
ZINC000095117754-11	-7.9	ZINC000095532201-11	-7.6	ZINC000006885996-11	-7.5	ZINC000006476274-11	-7.5	ZINC20353527	-7.4	ZINC00000075312-11	-7.4	ZINC000000410192-11	-7.4
ZINC000029347641-11	-7.9	ZINC000408720977-11	-7.6	ZINC000019691305-11	-7.5	ZINC000008619208-11	-7.5	ZINC20484695	-7.4	ZINC000002028490-11	-7.4	ZINC15862847	-7.3
ZINC000334157421-11	-7.9	ZINC000004532574-11	-7.6	ZINC000072302524-11	-7.5	ZINC000009609862-11	-7.5	ZINC09561317	-7.4	ZINC000002229718-11	-7.4	ZINC21173226	-7.2
ZINC000001797254-11	-7.9	ZINC000096223794-11	-7.6	ZINC000426589737-11	-7.5	ZINC000081217803-11	-7.5	ZINC000002957581-11	-7.4	ZINC000002872413-11	-7.4	ZINC09856866	-7.2
ZINC000039281162-11	-7.9	ZINC000096515903-11	-7.6	ZINC00000041333-11	-7.5	ZINC000098212319-11	-7.5	ZINC000003102311-11	-7.4	ZINC000003124488-11	-7.4	ZINC000011912222	-7.2
ZINC000019370037-11	-7.9	ZINC000013483449-11	-7.6	ZINC00000505342-11	-7.5	ZINC000009210079-11	-7.5	ZINC000005051460-11	-7.4	ZINC000003349695-11	-7.4	ZINC000019836622	-7.1
ZINC000005590044-11	-7.9	ZINC000109861878-11	-7.6	ZINC000001292916-11	-7.5	ZINC0000020159537-11	-7.5	ZINC000005051462-11	-7.4	ZINC000004114249-11	-7.4	ZINC20529295	-7.1
ZINC000001019522-11	-7.9	ZINC000109861882-11	-7.6	ZINC000001480995-11	-7.5	ZINC000032101464-11	-7.5	ZINC000100746890-11	-7.4	ZINC000004810079-11	-7.4	ZINC20326505	-7.1
ZINC000005121182-11	-7.9	ZINC20355940	-7.6	ZINC000021730056-11	-7.5	ZINC000032666119-11	-7.5	ZINC0000102420413-11	-7.4	ZINC000019701921-11	-7.4	ZINC08448923	-7.1
ZINC11879327	-7.8	ZINC000230163923-11	-7.6	ZINC000026443610-11	-7.5	ZINC000049538545-11	-7.5	ZINC000216619274-11	-7.4	ZINC000019723839-11	-7.4	ZINC12713953	-7.0
ZINC000408720979-11	-7.8	ZINC000012615553-11	-7.6	ZINC000032092047-11	-7.5	ZINC000059367710-11	-7.5	ZINC000003189439-11	-7.4	ZINC0000030692430-11	-7.4	ZINC21886209	-7.0
ZINC000001344433-11	-7.8	ZINC000030501863-11	-7.6	ZINC000032235080-11	-7.5	ZINC000076018025-11	-7.5	ZINC000003907070-11	-7.4	ZINC000035606482-11	-7.4	ZINC15003445	-7.0
ZINC000096516038-11	-7.8	ZINC000000171366-11	-7.6	ZINC000052514008-11	-7.5	ZINC000005392873-11	-7.5	ZINC000004380407-11	-7.4	ZINC000004776021-11	-7.4	ZINC20994621	-7.0
ZINC000096516039-11	-7.8	ZINC000000171377-11	-7.6	ZINC000057352288-11	-7.5	ZINC000012410062-11	-7.5	ZINC000006575768-11	-7.4	ZINC000050912627-11	-7.4	ZINC33059769	-7.0
ZINC000100740738-11	-7.8	ZINC000004108645-11	-7.6	ZINC000091624624-11	-7.5	ZINC000014607879-11	-7.5	ZINC000012907645-11	-7.4	ZINC000095408707-11	-7.4	ZINC33122972	-7.0
ZINC000101831307-11	-7.8	ZINC000000238348-11	-7.6	ZINC000000543384-11	-7.5	ZINC000022127157-11	-7.5	ZINC0000011773062-11	-7.4	ZINC000100309886-11	-7.4	ZINC09206000	-7.0
ZINC000102072196-11	-7.8	ZINC000003944831-11	-7.6	ZINC000001344463-11	-7.5	ZINC000216522778-11	-7.5	ZINC0000032101583-11	-7.4	ZINC000100915981-11	-7.4	ZINC15862846	-6.9
ZINC000001386306-11	-7.8	ZINC000004216512-11	-7.6	ZINC000002696202-11	-7.5	ZINC0000823770158-11	-7.5	ZINC000003462801-11	-7.4	ZINC000100915983-11	-7.4	ZINC20915411	-6.9
ZINC000163342002-11	-7.8	ZINC000158071217-11	-7.6	ZINC000004853115-11	-7.5	ZINC000000003827-11	-7.5	ZINC000089929950-11	-7.4	ZINC000100920147-11	-7.4	ZINC21043753	-6.9
ZINC000001344470-11	-7.8	ZINC000072115174-11	-7.6	ZINC000005997809-11	-7.5	ZINC000001726374-11	-7.5	ZINC000100285723-11	-7.4	ZINC000189559098-11	-7.4	ZINC04842876	-6.8
ZINC000012504788-11	-7.8	ZINC000000342813-11	-7.6	ZINC0000016025653-11	-7.5	ZINC0000016025653-11	-7.5	ZINC0000011230714-11	-7.4	ZINC000521394177-11	-7.4	ZINC09205995	-6.8
ZINC000017857022-11	-7.8	ZINC000000373758-11	-7.6	ZINC0000023382703-11	-7.5	ZINC000008021508-11	-7.5	ZINC000257175796-11	-7.4	ZINC000585148573-11	-7.4	ZINC000003775575	-6.8
ZINC000084493516-11	-7.8	ZINC000000439658-11	-7.6	ZINC0000036358509-11	-7.5	ZINC0000013306052-11	-7.5	ZINC000298793223-11	-7.4	ZINC00000006995-11	-7.4	ZINC000012020615	-6.8
ZINC000000005945-11	-7.8	ZINC000001351730-11	-7.6	ZINC000044908435-11	-7.5	ZINC000017680665-11	-7.5	ZINC000000055497-11	-7.4	ZINC000000033299-11	-7.4	ZINC0000033059709	-6.8

ZINC000094419921-t1	-7.8	ZINC000003086175-t1	-7.6	ZINC000070631644-t1	-7.5	ZINC000098175369-t1	-7.5	ZINC000001081249-t1	-7.4	ZINC000000170524-t1	-7.4	ZINC14539328	-6.7
ZINC000100519151-t1	-7.8	ZINC000003086176-t1	-7.6	ZINC000098211096-t1	-7.5	ZINC000005741330-t1	-7.5	ZINC000001410328-t1	-7.4	ZINC000000395913-t1	-7.4	ZINC12078123	-6.7
ZINC000000166588-t1	-7.8	ZINC000008548588-t1	-7.6	ZINC000100150949-t1	-7.5	ZINC00000128478-t1	-7.5	ZINC000001860080-t1	-7.4	ZINC000000461440-t1	-7.4	ZINC00869087	-6.7
ZINC000019626612-t1	-7.8	ZINC000015424705-t1	-7.6	ZINC000002574862-t1	-7.5	ZINC000000255098-t1	-7.5	ZINC000002624238-t1	-7.4	ZINC000000479805-t1	-7.4	ZINC000011995947	-6.7
ZINC000071281459-t1	-7.8	ZINC000065508004-t1	-7.6	ZINC000005999883-t1	-7.5	ZINC000000281742-t1	-7.5	ZINC000005664650-t1	-7.4	ZINC000001744617-t1	-7.4	ZINC000012462127	-6.7
ZINC000000584460-t1	-7.8	ZINC000067172716-t1	-7.6	ZINC000015424698-t1	-7.5	ZINC00000347682-t1	-7.5	ZINC000009347865-t1	-7.4	ZINC000012341845-t1	-7.4	ZINC00562677	-6.6
ZINC000000334187-t1	-7.8	ZINC000059268610-t1	-7.6	ZINC000057352318-t1	-7.5	ZINC000000468026-t1	-7.5	ZINC000016025651-t1	-7.4	ZINC000014068189-t1	-7.4	ZINC000021018389	-6.6
ZINC000001438257-t1	-7.8	ZINC000085361590-t1	-7.6	ZINC000072344371-t1	-7.5	ZINC000001636779-t1	-7.5	ZINC000073667847-t1	-7.4	ZINC000015424675-t1	-7.4	ZINC000033130618	-6.6
ZINC000005072886-t1	-7.8	ZINC00000265451-t1	-7.6	ZINC0000097014452-t1	-7.5	ZINC000005190965-t1	-7.5	ZINC0000082092195-t1	-7.4	ZINC000015685432-t1	-7.4	ZINC000021043825	-6.4
ZINC000032666117-t1	-7.8	ZINC000000408357-t1	-7.6	ZINC000104236077-t1	-7.5	ZINC000012719949-t1	-7.5	ZINC000085533054-t1	-7.4	ZINC000016942697-t1	-7.4	ZINC000012062987	-6.4
ZINC000008651698-t1	-7.8	ZINC000034519855-t1	-7.6	ZINC000526055750-t1	-7.5	ZINC000013957079-t1	-7.5	ZINC000100694296-t1	-7.4	ZINC000017747472-t1	-7.4	ZINC20484660	-6.4
ZINC000071257725-t1	-7.8	ZINC000077538313-t1	-7.6	ZINC000000033503-t1	-7.5	ZINC000027515246-t1	-7.5	ZINC000223142306-t1	-7.4	ZINC000017975744-t1	-7.4	ZINC20232264	-6.4
ZINC000004023021-t1	-7.8	ZINC000163341777-t1	-7.6	ZINC000001563885-t1	-7.5	ZINC000091293271-t1	-7.5	ZINC000294188737-t1	-7.4	ZINC000022501457-t1	-7.4	ZINC23330030	-6.4
ZINC000032252429-t1	-7.8	ZINC000005600326-t1	-7.6	ZINC000409419118-t1	-7.5	ZINC000334160345-t1	-7.5	ZINC000330355191-t1	-7.4	ZINC000066324177-t1	-7.4	ZINC000020484698	-6.4
ZINC000004729458-t1	-7.8	ZINC000026503995-t1	-7.6	ZINC000409419119-t1	-7.5	ZINC000000032602-t1	-7.5	ZINC000000074890-t1	-7.4	ZINC000085809603-t1	-7.4	ZINC000021038294	-6.3
ZINC000095346828-t1	-7.8	ZINC000001617744-t1	-7.6	ZINC000000393031-t1	-7.5	ZINC000000087052-t1	-7.5	ZINC000000992628-t1	-7.4	ZINC000096001550-t1	-7.4	ZINC000020119110	-6.1
ZINC000100258164-t1	-7.8	ZINC000002048388-t1	-7.6	ZINC000095951675-t1	-7.5	ZINC000000230410-t1	-7.5	ZINC000001410329-t1	-7.4	ZINC000128075982-t1	-7.4	ZINC000101502396	-6.1
ZINC000071257725-t1	-7.8	ZINC000041064635-t1	-7.6	ZINC000000040942-t1	-7.5	ZINC000001508817-t1	-7.5	ZINC000002808200-t1	-7.4	ZINC000004599379-t1	-7.4	ZINC20484760	-6.0
ZINC000022114734-t1	-7.8	ZINC000098214156-t1	-7.6	ZINC000005387705-t1	-7.5	ZINC000060393071-t1	-7.5	ZINC000004854623-t1	-7.4	ZINC000042383920-t1	-7.4	ZINC000101565846	-6.0
ZINC000015924493-t1	-7.8	ZINC000000360481-t1	-7.6	ZINC000065365513-t1	-7.5	ZINC000095094133-t1	-7.5	ZINC000036421262-t1	-7.4	ZINC000063084490-t1	-7.4	ZINC000020921360	-5.8
ZINC000000038938-t1	-7.8	ZINC000085652980-t1	-7.6	ZINC000096249782-t1	-7.5	ZINC000096298875-t1	-7.5	ZINC000066323277-t1	-7.4	ZINC000072302521-t1	-7.4	ZINC01690699*	-7.0
ZINC000096510275-t1	-7.8	ZINC000104094011-t1	-7.6	ZINC000236423500-t1	-7.5	ZINC000000162753-t1	-7.5	ZINC000075249293-t1	-7.4	ZINC000004992797-t1	-7.4	OAS	-4.3
ZINC000075566870-t1	-7.8	ZINC000000318141-t1	-7.6	ZINC000253536054-t1	-7.5	ZINC000000283244-t1	-7.5	ZINC000133451049-t1	-7.4	ZINC000037045094-t1	-7.4	PLP	-4.8
ZINC000142411370-t1	-7.8	ZINC00008582772-t1	-7.6	ZINC000253536518-t1	-7.5	ZINC000000995604-t1	-7.5	ZINC0000757177949-t1	-7.4	ZINC000079387591-t1	-7.4		
ZINC000000064438-t1	-7.8	ZINC000100429693-t1	-7.6	ZINC000006565681-t1	-7.5	ZINC000001036821-t1	-7.5	ZINC000008381978-t1	-7.4	ZINC000089717640-t1	-7.4		
ZINC000016124821-t1	-7.8	ZINC000336569926-t1	-7.6	ZINC00032696062-t1	-7.5	ZINC000002566912-t1	-7.5	ZINC000008617048-t1	-7.4	ZINC000245316646-t1	-7.4		
ZINC000003111973-t1	-7.8	ZINC000020869422-t1	-7.6	ZINC000100904922-t1	-7.5	ZINC000004710110-t1	-7.5	ZINC000011730317-t1	-7.4	ZINC000258134582-t1	-7.4		
ZINC000013208455-t1	-7.8	ZINC000034925148-t1	-7.6	ZINC000101150923-t1	-7.5	ZINC000005723389-t1	-7.5	ZINC000013472986-t1	-7.4	ZINC000258191326-t1	-7.4		
ZINC000095094748-t1	-7.8	ZINC000048645221-t1	-7.6	ZINC00000069707-t1	-7.5	ZINC000006658429-t1	-7.5	ZINC000016525187-t1	-7.4	ZINC000001582773-t1	-7.4		
ZINC000000396981-t1	-7.8	ZINC00000035800-t1	-7.6	ZINC000004649448-t1	-7.5	ZINC000004788377-t1	-7.5	ZINC000019374824-t1	-7.4	ZINC000005771119-t1	-7.4		
ZINC000000402012-t1	-7.8	ZINC000000148440-t1	-7.6	ZINC000006842004-t1	-7.5	ZINC000071757257-t1	-7.5	ZINC000019702358-t1	-7.4	ZINC000100139158-t1	-7.4		
ZINC000000984000-t1	-7.8	ZINC000000186507-t1	-7.6	ZINC000007833454-t1	-7.5	ZINC000169974063-t1	-7.5	ZINC000070451465-t1	-7.4	ZINC000017380842-t1	-7.4		
ZINC000007030119-t1	-7.8	ZINC09211201	-7.6	ZINC000012664581-t1	-7.5	ZINC000100137725-t1	-7.5	ZINC000072361428-t1	-7.4	ZINC000018175699-t1	-7.4		
ZINC16524774	-7.7	ZINC000005185621-t1	-7.6	ZINC000031077630-t1	-7.5	ZINC000239562635-t1	-7.5	ZINC000096516193-t1	-7.4	ZINC000018212848-t1	-7.4		
ZINC000000119859-t1	-7.7	ZINC000009108612-t1	-7.6	ZINC000100207575-t1	-7.5	ZINC000426361285-t1	-7.5	ZINC000096530633-t1	-7.4	ZINC000022127166-t1	-7.4		
ZINC000000210429-t1	-7.7	ZINC000013777703-t1	-7.6	ZINC000100207578-t1	-7.5	ZINC000426368408-t1	-7.5	ZINC000102349241-t1	-7.4	ZINC000101983955-t1	-7.4		
ZINC000086012994-t1	-7.7	ZINC000015671176-t1	-7.6	ZINC000005274803-t1	-7.5	ZINC000426394744-t1	-7.5	ZINC000001703714-t1	-7.4	ZINC000102934043-t1	-7.4		
ZINC000012525661-t1	-7.7	ZINC000050913621-t1	-7.6	ZINC000008231220-t1	-7.5	ZINC000001595185-t1	-7.5	ZINC000005012636-t1	-7.4	ZINC000005422141-t1	-7.4		
ZINC000096516030-t1	-7.7	ZINC000100021637-t1	-7.6	ZINC000032666531-t1	-7.5	ZINC000001700418-t1	-7.5	ZINC000008618458-t1	-7.4	ZINC000005741763-t1	-7.4		
ZINC000096516031-t1	-7.7	ZINC000100263204-t1	-7.6	ZINC000062152618-t1	-7.5	ZINC000005001185-t1	-7.5	ZINC000010339424-t1	-7.4	ZINC000012417567-t1	-7.4		
ZINC000096516417-t1	-7.7	ZINC000000018011-t1	-7.6	ZINC000096429670-t1	-7.5	ZINC000005471556-t1	-7.5	ZINC000013835600-t1	-7.4	ZINC000013480256-t1	-7.4		
ZINC000096530878-t1	-7.7	ZINC000000494969-t1	-7.6	ZINC000100914342-t1	-7.5	ZINC000005594568-t1	-7.5	ZINC000096516035-t1	-7.4	ZINC000017380858-t1	-7.4		
ZINC000256054077-t1	-7.7	ZINC000004108202-t1	-7.6	ZINC000000081236-t1	-7.5	ZINC000038878872-t1	-7.5	ZINC000096516418-t1	-7.4	ZINC000018067108-t1	-7.4		
ZINC000013638779-t1	-7.7	ZINC000004769985-t1	-7.6	ZINC000000238349-t1	-7.5	ZINC000045070840-t1	-7.5	ZINC000096516455-t1	-7.4	ZINC000019167426-t1	-7.4		
ZINC000101018679-t1	-7.7	ZINC000005818565-t1	-7.6	ZINC000002209589-t1	-7.5	ZINC000077293647-t1	-7.5	ZINC000096516740-t1	-7.4	ZINC000019170497-t1	-7.4		
ZINC000000478139-t1	-7.7	ZINC000013136445-t1	-7.6	ZINC000002782477-t1	-7.5	ZINC000077293649-t1	-7.5	ZINC000096530635-t1	-7.4	ZINC000020523206-t1	-7.4		
ZINC000017948569-t1	-7.7	ZINC000065606987-t1	-7.6	ZINC000008716866-t1	-7.5	ZINC0000100931180-t1	-7.5	ZINC000096531445-t1	-7.4	ZINC000096530762-t1	-7.4		
ZINC000004785434-t1	-7.7	ZINC000005392877-t1	-7.6	ZINC000014988528-t1	-7.5	ZINC000334157234-t1	-7.5	ZINC000256050821-t1	-7.4	ZINC000113708330-t1	-7.4		
ZINC000045918699-t1	-7.7	ZINC000001694672-t1	-7.6	ZINC000088832257-t1	-7.5	ZINC000001694671-t1	-7.5	ZINC000002292870-t1	-7.4	ZINC000408980244-t1	-7.4		

Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol
ZINC00000054341-t1	-7.7	ZINC000013234078-t1	-7.6	ZINC000005669873-t1	-7.5	ZINC000001718514-t1	-7.5	ZINC000005387704-t1	-7.4	ZINC000001563971-t1	-7.4		
ZINC000100999020-t1	-7.7	ZINC000020272894-t1	-7.6	ZINC000031681476-t1	-7.5	ZINC000002529753-t1	-7.5	ZINC000026834195-t1	-7.4	ZINC000071257751-t1	-7.4		
ZINC0000138082980-t1	-7.7	ZINC000022073217-t1	-7.6	ZINC000038169127-t1	-7.5	ZINC000003847852-t1	-7.5	ZINC000033573493-t1	-7.4	ZINC000072398201-t1	-7.4		
ZINC000075566934-t1	-7.7	ZINC000071257730-t1	-7.6	ZINC000071477460-t1	-7.5	ZINC000005813125-t1	-7.5	ZINC000096516427-t1	-7.4	ZINC000079032873-t1	-7.4		
ZINC000017917321-t1	-7.7	ZINC000008972014-t1	-7.6	ZINC000095359027-t1	-7.5	ZINC000013589620-t1	-7.5	ZINC000236423530-t1	-7.4	ZINC000212420219-t1	-7.4		
ZINC000095532237-t1	-7.7	ZINC000000792229-t1	-7.6	ZINC000096429669-t1	-7.5	ZINC000016946225-t1	-7.5	ZINC000253536516-t1	-7.4	ZINC000225683831-t1	-7.4		
ZINC000019170494-t1	-7.7	ZINC000000518414-t1	-7.6	ZINC000000234064-t1	-7.5	ZINC000020632717-t1	-7.5	ZINC000000507410-t1	-7.4	ZINC00000001322-t1	-7.4		
ZINC000064874876-t1	-7.7	ZINC000001465684-t1	-7.6	ZINC000000273010-t1	-7.5	ZINC000026507383-t1	-7.5	ZINC000000546834-t1	-7.4	ZINC000000175224-t1	-7.4		
ZINC000096268923-t1	-7.7	ZINC000004426525-t1	-7.6	ZINC000000291855-t1	-7.5	ZINC000039246610-t1	-7.5	ZINC0000000550734-t1	-7.4	ZINC0000000341512-t1	-7.4		
ZINC000018207009-t1	-7.7	ZINC000039279020-t1	-7.6	ZINC000001563506-t1	-7.5	ZINC000082823938-t1	-7.5	ZINC000002527029-t1	-7.4	ZINC000002488664-t1	-7.4		
ZINC000001438258-t1	-7.7	ZINC000098086472-t1	-7.6	ZINC000001909793-t1	-7.5	ZINC000096510277-t1	-7.5	ZINC000013693183-t1	-7.4	ZINC000004024783-t1	-7.4		
ZINC000044123216-t1	-7.7	ZINC000100631532-t1	-7.6	ZINC000005520066-t1	-7.5	ZINC000103231179-t1	-7.5	ZINC000034926297-t1	-7.4	ZINC000004245243-t1	-7.4		
ZINC000000403259-t1	-7.7	ZINC000000055022-t1	-7.6	ZINC000012811594-t1	-7.5	ZINC000216605851-t1	-7.5	ZINC000252549058-t1	-7.4	ZINC000006488168-t1	-7.4		
ZINC000005687157-t1	-7.7	ZINC000000184556-t1	-7.6	ZINC0000051353986-t1	-7.5	ZINC000000494295-t1	-7.5	ZINC000001479031-t1	-7.4	ZINC000020167101-t1	-7.4		
ZINC000011849201-t1	-7.7	ZINC000000612262-t1	-7.6	ZINC000242538680-t1	-7.5	ZINC000003834201-t1	-7.5	ZINC000000148549-t1	-7.4	ZINC000044136477-t1	-7.4		
ZINC000001571950-t1	-7.7	ZINC000005695132-t1	-7.6	ZINC000000127356-t1	-7.5	ZINC000008672860-t1	-7.5	ZINC000006598448-t1	-7.4	ZINC000058157428-t1	-7.4		
ZINC000005807978-t1	-7.7	ZINC000010013006-t1	-7.6	ZINC000000225578-t1	-7.5	ZINC000018199562-t1	-7.5	ZINC000006721188-t1	-7.4	ZINC000064541742-t1	-7.4		
ZINC000022127160-t1	-7.7	ZINC000000077275-t1	-7.6	ZINC000000401655-t1	-7.5	ZINC0000024636985-t1	-7.5	ZINC000006721189-t1	-7.4	ZINC0000169302070-t1	-7.4		
ZINC000017680661-t1	-7.7	ZINC000000268840-t1	-7.6	ZINC000000621582-t1	-7.5	ZINC000072157318-t1	-7.5	ZINC000022008408-t1	-7.4	ZINC00000001236-t1	-7.4		
ZINC000071257762-t1	-7.7	ZINC000004027009-t1	-7.6	ZINC0000008652428-t1	-7.5	ZINC000426663576-t1	-7.5	ZINC000035326963-t1	-7.4	ZINC000000063794-t1	-7.4		
ZINC000138755251-t1	-7.7	ZINC000006759452-t1	-7.6	ZINC000012408629-t1	-7.5	ZINC000000122891-t1	-7.5	ZINC000037974416-t1	-7.4	ZINC000000092290-t1	-7.4		
ZINC000000410191-t1	-7.7	ZINC0000008813033-t1	-7.6	ZINC0000012650905-t1	-7.5	ZINC000000135796-t1	-7.5	ZINC0000066324458-t1	-7.4	ZINC000000238995-t1	-7.4		
ZINC000005939834-t1	-7.7	ZINC000100232362-t1	-7.6	ZINC000016972272-t1	-7.5	ZINC000000190329-t1	-7.5	ZINC000088832258-t1	-7.4	ZINC000005776712-t1	-7.4		
ZINC000015867874-t1	-7.7	ZINC0000005517925-t1	-7.6	ZINC000020760227-t1	-7.5	ZINC000000199221-t1	-7.5	ZINC000100207572-t1	-7.4	ZINC000065606985-t1	-7.4		
ZINC000247778735-t1	-7.7	ZINC000017221159-t1	-7.6	ZINC000023373744-t1	-7.5	ZINC000000203623-t1	-7.5	ZINC000101831312-t1	-7.4	ZINC000072422436-t1	-7.4		
ZINC000004075052-t1	-7.7	ZINC0000020153924-t1	-7.6	ZINC0000053994729-t1	-7.5	ZINC000000271638-t1	-7.5	ZINC000104141788-t1	-7.4	ZINC000101518952-t1	-7.4		
ZINC0000009378735-t1	-7.7	ZINC000030824206-t1	-7.6	ZINC000075286279-t1	-7.5	ZINC000000399013-t1	-7.5	ZINC000001391610-t1	-7.4	ZINC000102734252-t1	-7.4		
ZINC000055244574-t1	-7.7	ZINC000059488100-t1	-7.6	ZINC000089861247-t1	-7.5	ZINC000002047959-t1	-7.5	ZINC000001463395-t1	-7.4	ZINC000295822810-t1	-7.4		
ZINC000000394190-t1	-7.7	ZINC000001608277-t1	-7.6	ZINC000095416328-t1	-7.5	ZINC000003159716-t1	-7.5	ZINC000001463396-t1	-7.4	ZINC000177257259-t1	-7.4		
ZINC00003847853-t1	-7.7	ZINC000001709155-t1	-7.6	ZINC000095416329-t1	-7.5	ZINC000003182541-t1	-7.5	ZINC000005368593-t1	-7.4	ZINC00000070150-t1	-7.4		
ZINC00003848029-t1	-7.7	ZINC000004428312-t1	-7.6	ZINC000096115390-t1	-7.5	ZINC000003847964-t1	-7.5	ZINC000008952422-t1	-7.4	ZINC000000153843-t1	-7.4		
ZINC00003848030-t1	-7.7	ZINC000005129556-t1	-7.6	ZINC000063084496-t1	-7.5	ZINC000004362104-t1	-7.5	ZINC000009059640-t1	-7.4	ZINC000000184514-t1	-7.4		
ZINC000019688750-t1	-7.7	ZINC000005581536-t1	-7.6	ZINC000065462112-t1	-7.5	ZINC000012410091-t1	-7.5	ZINC000016494308-t1	-7.4	ZINC000000340087-t1	-7.4		
ZINC000005001184-t1	-7.7	ZINC000019200219-t1	-7.6	ZINC000245316647-t1	-7.5	ZINC000019926418-t1	-7.5	ZINC000031560184-t1	-7.4	ZINC000001461250-t1	-7.4		
ZINC000001642486-t1	-7.7	ZINC000039281164-t1	-7.6	ZINC000006484217-t1	-7.5	ZINC0000065386375-t1	-7.5	ZINC000062152617-t1	-7.4	ZINC000005323283-t1	-7.4		
ZINC000006308509-t1	-7.7	ZINC000096510273-t1	-7.6	ZINC000095532236-t1	-7.5	ZINC000254989185-t1	-7.5	ZINC000064555321-t1	-7.4	ZINC000009609864-t1	-7.4		
ZINC0000100051807-t1	-7.7	ZINC0000096510276-t1	-7.6	ZINC000096530405-t1	-7.5	ZINC000000355946-t1	-7.5	ZINC000071773141-t1	-7.4	ZINC000013323595-t1	-7.4		
ZINC000000057926-t1	-7.7	ZINC000100365124-t1	-7.6	ZINC000000033971-t1	-7.5	ZINC000001407012-t1	-7.5	ZINC000072416402-t1	-7.4	ZINC000013736823-t1	-7.4		
ZINC000000057927-t1	-7.7	ZINC000148458838-t1	-7.6	ZINC000000898179-t1	-7.5	ZINC000001674987-t1	-7.5	ZINC000076500191-t1	-7.4	ZINC000017111098-t1	-7.4		
ZINC000001861776-t1	-7.7	ZINC000000041676-t1	-7.6	ZINC000001491487-t1	-7.5	ZINC000002173024-t1	-7.5	ZINC0000089019139-t1	-7.4	ZINC0000019144255-t1	-7.4		
ZINC00003847875-t1	-7.7	ZINC000000062146-t1	-7.6	ZINC000019170488-t1	-7.5	ZINC000013111144-t1	-7.5	ZINC000100856213-t1	-7.4	ZINC000032843892-t1	-7.4		
ZINC000005819269-t1	-7.7	ZINC0000000340352-t1	-7.6	ZINC000026947600-t1	-7.5	ZINC000013497279-t1	-7.5	ZINC000534581728-t1	-7.4	ZINC000033028758-t1	-7.4		
ZINC000061415684-t1	-7.7	ZINC000019836798-t1	-7.6	ZINC000033732204-t1	-7.5	ZINC000035372455-t1	-7.5	ZINC000585133405-t1	-7.4	ZINC000036378538-t1	-7.4		
ZINC000000094067-t1	-7.7	ZINC000000101547-t1	-7.6	ZINC0000484845876-t1	-7.5	ZINC0000036876673-t1	-7.5	ZINC000001384439-t1	-7.4	ZINC000040162951-t1	-7.4		
ZINC000000119939-t1	-7.7	ZINC000000161597-t1	-7.6	ZINC000059256734-t1	-7.5	ZINC000067851247-t1	-7.5	ZINC000008939929-t1	-7.4	ZINC000055351321-t1	-7.4		
ZINC0000008716991-t1	-7.7	ZINC0000000335905-t1	-7.6	ZINC000096268916-t1	-7.5	ZINC0000131220920-t1	-7.5	ZINC000009607402-t1	-7.4	ZINC000065406914-t1	-7.4		
ZINC000009915591-t1	-7.7	ZINC000001720536-t1	-7.6	ZINC000096530739-t1	-7.5	ZINC000216624271-t1	-7.5	ZINC000013597568-t1	-7.4	ZINC000065606879-t1	-7.4		
ZINC000032099758-t1	-7.7	ZINC000002492238-t1	-7.6	ZINC000096530767-t1	-7.5	ZINC000000575092-t1	-7.5	ZINC000014242663-t1	-7.4	ZINC000072169109-t1	-7.4		
ZINC000001647732-t1	-7.7	ZINC000003847873-t1	-7.6	ZINC000096530773-t1	-7.5	ZINC000001647729-t1	-7.5	ZINC000014242664-t1	-7.4	ZINC00000009070-t1	-7.4		

Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol	Código ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal /mol
ZINC00004805928-t1	-7.7	ZINC000033391177-t1	-7.6	ZINC000114612011-t1	-7.5	ZINC000006575974-t1	-7.5	ZINC000032603894-t1	-7.4	ZINC000008706580-t1	-7.4		
ZINC000006003266-t1	-7.7	ZINC000034522461-t1	-7.6	ZINC000616591778-t1	-7.5	ZINC000016492837-t1	-7.5	ZINC000000058206-t1	-7.4	ZINC000018223012-t1	-7.4		
ZINC000008703371-t1	-7.7	ZINC000065372322-t1	-7.6	ZINC000000040915-t1	-7.5	ZINC000016946484-t1	-7.5	ZINC000000149852-t1	-7.4	ZINC000019093828-t1	-7.4		
ZINC000013213568-t1	-7.7	ZINC000071778195-t1	-7.6	ZINC000001556783-t1	-7.5	ZINC000017429227-t1	-7.5	ZINC000000149855-t1	-7.4	ZINC000019626813-t1	-7.4		
ZINC000084618163-t1	-7.7	ZINC000426615343-t1	-7.6	ZINC000001665207-t1	-7.5	ZINC000017429231-t1	-7.5	ZINC000000151583-t1	-7.4	ZINC000032666118-t1	-7.4		
ZINC000000211472-t1	-7.7	ZINC000000140906-t1	-7.6	ZINC000001713331-t1	-7.5	ZINC000026893810-t1	-7.5	ZINC000000212403-t1	-7.4	ZINC000071889527-t1	-7.4		
ZINC000000310112-t1	-7.7	ZINC000000189121-t1	-7.6	ZINC000169302067-t1	-7.5	ZINC000030823287-t1	-7.5	ZINC000000246980-t1	-7.4	ZINC000075252488-t1	-7.4		
ZINC000001395152-t1	-7.7	ZINC000000386645-t1	-7.6	ZINC000000068315-t1	-7.5	ZINC000216601697-t1	-7.5	ZINC000000344010-t1	-7.4	ZINC000001644728-t1	-7.4		
ZINC000003905249-t1	-7.7	ZINC000000434678-t1	-7.6	ZINC000013123017-t1	-7.5	ZINC000000139495-t1	-7.5	ZINC000000347286-t1	-7.4	ZINC000008615488-t1	-7.4		
ZINC0000009013149-t1	-7.7	ZINC000002532543-t1	-7.6	ZINC000000104041-t1	-7.5	ZINC000000173516-t1	-7.5	ZINC000000570382-t1	-7.4	ZINC000008615489-t1	-7.4		
ZINC0000009013150-t1	-7.7	ZINC000035372453-t1	-7.6	ZINC000000106117-t1	-7.5	ZINC000000173517-t1	-7.5	ZINC000004114251-t1	-7.4	ZINC000047218874-t1	-7.4		
ZINC000017957974-t1	-7.7	ZINC000037761247-t1	-7.6	ZINC0000009607557-t1	-7.5	ZINC000000237646-t1	-7.5	ZINC000005177232-t1	-7.4	ZINC000063084532-t1	-7.4		
ZINC000021992300-t1	-7.7	ZINC000071416238-t1	-7.6	ZINC0000009669326-t1	-7.5	ZINC000000347543-t1	-7.5	ZINC000005187157-t1	-7.4	ZINC000097572360-t1	-7.4		
ZINC000082080739-t1	-7.7	ZINC00000036635-t1	-7.6	ZINC000022996751-t1	-7.5	ZINC000000357198-t1	-7.5	ZINC000006699493-t1	-7.4	ZINC000138231242-t1	-7.4		
ZINC000005479686-t1	-7.7	ZINC000001646107-t1	-7.6	ZINC000048603426-t1	-7.5	ZINC000000384851-t1	-7.5	ZINC000012410572-t1	-7.4	ZINC000334157217-t1	-7.4		
ZINC000037761576-t1	-7.7	ZINC000013124370-t1	-7.6	ZINC000068692806-t1	-7.5	ZINC000000389196-t1	-7.5	ZINC000020720768-t1	-7.4	ZINC000000309160-t1	-7.4		
ZINC0000095094754-t1	-7.7	ZINC000030823190-t1	-7.6	ZINC000071773410-t1	-7.5	ZINC000000393644-t1	-7.5	ZINC000020861360-t1	-7.4	ZINC000000337244-t1	-7.4		
ZINC000097758167-t1	-7.7	ZINC000031959183-t1	-7.6	ZINC000000393701-t1	-7.5	ZINC000068852792-t1	-7.5	ZINC000064541823-t1	-7.4	ZINC000001565654-t1	-7.4		
ZINC000225417810-t1	-7.7	ZINC000037554741-t1	-7.6	ZINC000000399961-t1	-7.5	ZINC000038813594-t1	-7.5	ZINC000035655651-t1	-7.4	ZINC000005748810-t1	-7.4		
ZINC000685938540-t1	-7.7	ZINC000000058053-t1	-7.6	ZINC0000000401198-t1	-7.5	ZINC000041066135-t1	-7.5	ZINC000095473593-t1	-7.4	ZINC000001581138-t1	-7.4		

Anexo 2. Propiedades farmacocinéticas ADMET predichas para los 100 primeros compuestos con energía de unión a CysK mayor de -7.0 Kcal/mol.

Código base de datos Zinc	SMILES	Energía de unión CysK Kcal/Mol	Energía de unión CBS Kcal/Mol	Absorción intestinal humana (HIA)	Permeabilidad Caco-2	Unión a proteínas plasmáticas 100%	Barrera hematoencefálica	Sustrato de glicoproteína P	Inhibidor de OCT2	Sustrato CYP3A4	Sustrato CYP2C9	Sustrato CYP2D6	Inhibición de CYP3A4	Inhibición de CYP2C9	Inhibición de CYP2C19	Inhibición de CYP2D6	Inhibición de CYP1A2	Carcinogenicidad (trínaria)	Mutagénesis de Ames	Inhibición humana (hERG)	Toxicidad oral aguda
OAS	<chem>CC(=O)OC[C@@H](N)C(=O)O</chem>	-3.6	-0.3	0.7241	0.9726	0.032	0.8758	0.9822	0.9000	0.7289	0.6063	0.8369	0.8822	0.9369	0.9515	0.9132	0.8483	0.6636	0.5800	0.8700	0.8500
PLP	<chem>Cc1c(O)c(C=O)c(COP(=O)(O)O)c[n+1][O-]</chem>	-4.8	-0.3	0.9487	0.6093	0.743	0.9703	0.9032	0.8750	0.5186	0.7987	0.8788	0.9488	0.8282	0.8099	0.8710	0.8143	0.5519	0.6600	0.7331	0.7750
ZINC01690699	<chem>O=C(Nc1cc(-c2nc3cccc3[nH]2)c1)c1ccc(C(=O)Nc2cccc(-c3nc4cccc4[nH]3)c2)cc1</chem>	-7.0	-0.2	0.9626	0.8371	0.868	0.9845	0.7174	0.8750	0.5317	1	0.8490	0.7973	0.5639	0.6986	0.9133	0.5243	0.4496	0.5600	0.7058	0.9750
ZINC00000519177	<chem>O=c4c1ccc(-c1nc3CCc2cccc2n34)cc1</chem>	-8.4	-0.5	0.9861	0.8335	0.907	0.9946	0.9634	0.5792	0.5449	0.6157	0.8477	0.8474	0.7511	0.5337	0.9496	0.8261	0.6109	0.61	0.4781	0.6896
ZINC000003847876	<chem>O=C1c2ccc(cc2C[C@H]2CCc3cccc3N12)cc1</chem>	-8.4	-0.5	0.9946	0.9410	0.967	0.9940	0.8756	0.5912	0.5317	0.5317	0.7924	0.7250	0.5482	0.6960	0.9183	0.8195	0.5934	0.7400	0.3673	0.5249
ZINC13643289	<chem>c1ccc(-c2nnn(C34C[C@H]5C[C@H](CC(c6nc7c8cccc8ncn7n6)(C5)C3)C4)n2)cc1</chem>	-8.3	-0.6	0.9882	0.8548	1213	0.9763	0.5058	0.5819	0.6358	0.8156	0.6952	0.6945	0.7637	0.5279	0.9030	0.6977	0.4990	0.5700	0.7514	0.6270
ZINC000408720980	<chem>O=C1N[C@@H]2[C@@H](NNC3nc4cccc4n32)N1</chem>	-8.3	-0.6	0.9621	0.8971	0.676	0.9787	0.7816	0.6316	0.5380	1	0.8531	0.8980	0.8980	0.7467	0.8505	0.5382	0.5305	0.7400	0.6377	0.6403
ZINC000004532572	<chem>O=C1N[C@@H]2C=c3ccc3=C[C@@H]2[C@@H]2C=CC=C[C@H]12</chem>	-8.2	-0.6	0.9891	0.8896	0.816	0.9496	0.8716	0.9500	0.5316	0.8155	0.8275	0.6219	0.6013	0.7408	0.5925	0.8688	0.6237	0.6000	0.6074	0.6478
ZINC000254385507	<chem>O=C1N[C@@H]2C=c3cccc3=C[C@@H]2[C@@H]2C=CC=C[C@H]12</chem>	-8.2	-0.6	0.9891	0.8896	0.816	0.9496	0.8716	0.9500	0.5316	0.8155	0.8275	0.6219	0.6013	0.7408	0.5925	0.8688	0.6237	0.6000	0.6074	0.6478
ZINC000408720981	<chem>O=C1N[C@@H]2Nnc3nc4cccc4n3[C@@H]2N1</chem>	-8.1	-0.6	0.9621	0.8971	0.676	0.9787	0.7816	0.6316	0.5380	1	0.8531	0.8980	0.8980	0.7467	0.8505	0.5382	0.5305	0.7400	0.6377	0.6403
ZINC000018084826	<chem>O=C1[C@H]2[C@H]3C=C[C@H](C3)C[C@H]2C(=O)[C@H]2[C@@H]1C=C[C@H]2C1</chem>	-8.1	-0.5	0.9687	0.4879	0.154	0.9255	0.9801	0.9750	0.7402	0.8100	0.7557	0.7989	0.7175	0.6700	0.8120	0.6174	0.4508	0.6600	0.7042	0.6287

Código base de datos Zinc	SMILES	Energía de unión CysK Kcal/Mol	Energía de unión CβS Kcal/Mol	Absorción intestinal humana (HIA)	Permeabilidad Caco-2	Unión a proteínas plasmáticas 100%	Barrera hematoencefálica	Sustrato de glicoproteína P	Inhibidor de OCT2	Sustrato CYP3A4	Sustrato CYP2C9	Sustrato CYP2D6	Inhibición de CYP3A4	Inhibición de CYP2C9	Inhibición de CYP2C19	Inhibición de CYP2D6	Inhibición de CYP1A2	Carcinogenicidad (trinaria)	Mutagénesis de Ames	Inhibición humana (hERG)	Toxicidad oral aguda
ZINC00009 5115682	<chem>O=C1Nc2c cccc2C(=O) N2C(=O)C CC(C@H)1 2</chem>	-8.0	-0.6	0.9763	0.7497	0.761	0.9903	0.8835	0.5858	0.5254	0.8056	0.8421	0.6688	0.8030	0.6508	0.9180	0.7189	0.7091	0.7400	0.6392	0.5410
ZINC09855 428	<chem>Cc1ccc(C(= O)c2on(CC(=O)Nc3ccc(F)c(F)c3)c3 cc4c(cc3c2 =O)OCCO4) cc1</chem>	-8.0	-0.3	0.9655	0.7540	0.929	0.9885	0.5617	0.5731	0.5520	1	0.8771	0.5666	0.7320	0.6101	0.8477	0.6457	0.5639	0.5800	0.8011	0.7339
ZINC00000 0395911	<chem>O=C1c2ccc cc2[C@@H]]2C(C@H)(O)c3cccn3 N12</chem>	-8.0	-0.5	0.9922	0.8479	0.7	0.9859	0.8992	0.6383	0.5396	1	0.8052	0.9309	0.5773	0.5679	0.7628	0.6222	0.5165	0.7500	0.7131	0.5710
ZINC00000 5204548	<chem>O=C1c2ccc cc2- c2n[nH]c(- c3ccccc3)c 21</chem>	-8.0	-0.5	0.9953	0.5502	1045	0.9872	0.9382	0.8000	0.6398	0.7980	0.8430	0.5360	0.5873	0.5314	0.5864	0.9271	0.5530	0.5400	0.7781	0.6929
ZINC00000 3847874	<chem>O=C1c2ccc cc2C(C@H) 2C=Cc3ccc cc3N12</chem>	-8.0	-0.6	0.9849	0.9189	1012	0.9834	0.7928	0.6016	0.5156	0.6048	0.7995	0.5000	0.6893	0.6872	0.9149	0.6570	0.5670	0.5800	0.6113	0.4373
ZINC00010 1092507	<chem>CC1=CC(C @H)2C(= O)[C@@H]]3C=C(C(C)C@H)3 C(=O)[C@ H]2C1</chem>	-8.0	-0.6	0.9878	0.8934	0.471	0.9046	0.9654	0.8500	0.6376	0.7977	0.7696	0.7608	0.7152	0.6506	0.7810	0.6315	0.5450	0.8600	0.5151	0.6099
ZINC00002 1365399	<chem>c2n[nH]c3c 2nc2ccccc 23)cc1 c1ccc(-</chem>	-8.0	-0.4	0.9959	0.5287	0.81	0.9855	0.8653	0.5500	0.5714	1	0.7841	0.7529	0.5358	0.5076	0.6153	0.9688	0.6504	0.5700	0.5339	0.6332
ZINC00001 7021212	<chem>c2cc3c(nn2)[nH]c2cccc c23)cc1 c1ccc(-</chem>	-8.0	-0.4	0.9924	0.5810	1083	0.9728	0.8622	0.7000	0.6069	1	0.7555	0.5000	0.6791	0.5706	0.9236	0.9188	0.6051	0.5500	0.5395	0.6557
ZINC00000 4824881	<chem>O[C@@H]1 [C@@H]2C Oc3nc4ccc cc4n3[C@ @H](O2)[C @@H]1O</chem>	-7.9	-0.5	0.9541	0.5919	1022	0.9755	0.8913	0.9250	0.5322	1	0.8094	0.9768	0.8919	0.8313	0.8847	0.6223	0.6005	0.5300	0.5672	0.5731
ZINC09561 285	<chem>Cc1ccc(N2 CCN(C(=O) c3cccc(Nc4 nc5ccccn 5cnn45)c3)C(C@@H) 2C)c1</chem>	-7.9	-0.5	0.9928	0.7398	1186	0.9959	0.6446	0.5359	0.6476	0.5928	0.8729	0.8328	0.7858	0.6721	0.9096	0.8908	0.5628	0.5600	0.9547	0.6041
ZINC09855 418	<chem>Cc1ccc(C(= O)c2on(CC(=O)Nc3ccc(F)c(F)c3)c3 cc4c(cc3c2 =O)OCCO4)c c1</chem>	-7.9	-0.3	0.9353	0.7256	0.962	0.9806	0.5169	0.7807	0.5408	10.000	0.8912	0.5434	0.5269	0.6315	0.7123	0.7284	0.4965	0.5700	0.8358	0.7465
ZINC05835 063	<chem>O=c1oc2cc ccc2(O)c1 C1c2c(c3cc cc3oc2=O) Oc2c1c(=O)oc1ccccc2 1</chem>	-7.9	-0.6	0.9820	0.7762	1228	0.7673	0.8773	0.9750	0.5367	0.6545	0.8712	0.8375	0.8443	0.8401	0.9573	0.8017	0.6478	0.5500	0.6522	0.7501

Código base de datos Zinc	SMILES	Energía de unión CysK Kcal/Mol	Energía de unión CBS Kcal/Mol	Absorción intestinal humana (HIA)	Permeabilidad Caco-2	Unión a proteínas plasmáticas 100%	Barrera hematoencefálica	Sustrato de glicoproteína P	Inhibidor de OCT2	Sustrato CYP3A4	Sustrato CYP2C9	Sustrato CYP2D6	Inhibición de CYP3A4	Inhibición de CYP2C9	Inhibición de CYP2C19	Inhibición de CYP2D6	Inhibición de CYP1A2	Carcinogenicidad (trinaría)	Mutagénesis de Ames	Inhibición humana (hERG)	Toxicidad oral aguda
ZINC00000173216	CNC(=O)N1c2ccccc2NC(=O)C[C@@H]1C	-7.9	-0.6	0.9846	0.7775	0.919	0.9890	0.7958	0.9500	0.5174	0.6071	0.7958	0.9693	0.8515	0.6557	0.8963	0.7282	0.6686	0.7600	0.6282	0.6030
ZINC000000086635	CC(C)[C@]1(C)C(=O)N=C2c3ccc(cc3C(=O)N21	-7.9	-0.5	10000	0.6483	0.905	0.9904	0.9281	0.9000	0.5437	1	0.8158	0.8712	0.7217	0.5401	0.8847	0.5061	0.6351	0.6600	0.5587	0.4541
ZINC000003568160	O=C1N[C@]2(C)C[C@@H]3C[C@@H]2N3)Nc2ccccc21	-7.9	-0.6	0.9568	0.6548	1142	0.9846	0.7640	0.5250	0.5217	0.5897	0.8014	0.7553	0.7420	0.6574	0.5810	0.6042	0.6530	0.6900	0.5468	0.6008
ZINC0000095117754	Cc1ccc([C@@H]2CC(=O)c3ccc(=O)[nH]c3C2)o1	-7.9	-0.5	0.9556	0.6076	0.77	0.9860	0.6880	0.8500	0.5052	0.6202	0.8559	0.6374	0.7089	0.6008	0.9105	0.6558	0.4753	0.6400	0.5158	0.6842
ZINC0000029347641	O=c1[nH]c2ccnc2c(O)c1-c1ccccc1	-7.9	-0.5	0.9902	0.6500	1129	0.9855	0.9635	0.9000	0.6039	0.6031	0.8839	0.8748	0.6673	0.6897	0.9180	0.9771	0.7887	0.5500	0.8115	0.5043
ZINC0000034157421	O=[n+]1c(-c2ccccc2)c(O)c2ccccc21	-7.9	-0.5	0.9204	0.9588	0.938	0.9781	0.9631	0.8819	0.6256	10000	0.8668	0.9122	0.7671	0.6799	0.9102	0.7667	0.4278	0.6300	0.8303	0.6837
ZINC000001797254	c1ccc(-c2nnc3c4ccc4nncn23)cc1	-7.9	-0.4	0.9949	0.7669	0.713	0.9805	0.9142	0.5319	0.5626	1	0.7599	0.7276	0.8824	0.8670	0.9616	0.9044	0.5090	0.5200	0.5200	0.6045
ZINC0000039281162	O=C1c2ccc(cc2[C@@H]2Nc3ccccc3N12	-7.9	-0.7	0.9874	0.9214	0.895	0.9944	0.8637	0.8914	0.5219	0.7982	0.8463	0.7394	0.6922	0.5407	0.6799	0.8286	0.4573	0.5200	0.7676	0.4024
ZINC0000019370037	c1ccc([C@@H]2NCCc3c2[nH]c2c3ccccc2)cc1	-7.9	-0.6	0.9898	0.7941	0.918	10.000	0.8684	0.6000	0.5338	0.5374	0.6778	0.6300	0.9070	0.8136	0.8932	0.6010	0.7717	0.5400	0.8508	0.4902
ZINC000005590044	O=C1NC2(CCCCC2)Nc2ccccc21	-7.9	-0.6	0.9688	0.7322	1.26	0.9856	0.9443	0.5500	0.5718	0.5981	0.8510	0.8843	0.8368	0.6956	0.8418	0.6301	0.6939	0.8300	0.4396	0.5640
ZINC000001019522	c1ccc(-c2n[nH]c3c2COC2ccccc2-3)cc1	-7.9	-0.4	0.9966	0.6667	0.994	0.9826	0.9101	0.6250	0.5780	0.8229	0.7345	0.7550	0.5860	0.7624	0.5716	0.9370	0.6324	0.5600	0.5172	0.6720
ZINC000005121182	O=c1cc(-c2ccccc2)[nH]c1-c2ccccc2)c1	-7.9	-0.6	0.9894	0.7430	1057	0.9847	0.9908	0.9750	0.7462	0.7795	0.8471	0.8250	0.8146	0.7140	0.8132	0.8270	0.5886	0.8200	0.5369	0.6540

Código base de datos Zinc	SMILES	Energía de unión CysK Kcal/Mol	Energía de unión CpsS Kcal/Mol	Absorción intestinal humana (HIA)	Permeabilidad Caco-2	Unión a proteínas plasmáticas 100%	Barrera hematoencefálica	Sustrato de glicoproteína P	Inhibidor de OCT2	Sustrato CYP3A4	Sustrato CYP2C9	Sustrato CYP2D6	Inhibición de CYP3A4	Inhibición de CYP2C9	Inhibición de CYP2C19	Inhibición de CYP2D6	Inhibición de CYP1A2	Carcinogenicidad (trinaría)	Mutágenis de Ames	Inhibición humana (hERG)	Toxicidad oral aguda
ZINC00040 8720979	O=C1N[C@H]2Nnc3nc4cccc4n3[C@H]2N1	-7.8	-0.6	0.9621	0.8971	0.676	0.9787	0.7816	0.6316	0.5380	10.000	0.8531	0.8980	0.8980	0.7467	0.8505	0.5382	0.5305	0.7400	0.6377	0.6403
ZINC00000 1344433	O=C1NC2=C(C(=O)OC2)[C@@H](c2ccc(F)cc2)N1	-7.8	-0.5	0.9875	0.6616	0.769	0.9725	0.8482	0.9067	0.5182	0.8004	0.8832	0.6186	0.5241	0.5505	0.8253	0.5359	0.6077	0.5800	0.4488	0.6185
ZINC11879 327	O=C(c1ccc2c3c(cccc13)CC2)[C@H]1CCN(C(=O)Nc2ccc3c(c2)OC3)C1	-7.8	-0.4	0.9885	0.7715	1054	0.9881	0.5109	0.7000	0.6525	0.6298	0.7598	0.5400	0.8006	0.5880	0.6725	0.5678	0.6176	0.6000	0.8285	0.7021
ZINC00009 6516038	O=c1[nH]c2ccc(F)cc2c(=O)n1[C@@H]1CCN1	-7.8	-0.6	0.9559	0.5451	0.873	0.9787	0.6592	0.6250	0.5197	0.7552	0.8340	0.8045	0.7108	0.8055	0.5528	0.6235	0.6624	0.5400	0.4506	0.5172
ZINC00009 6516039	O=c1[nH]c2ccc(F)cc2c(=O)n1[C@H]1CCN1	-7.8	-0.6	0.9559	0.5451	0.873	0.9787	0.6592	0.6250	0.5197	0.7552	0.8340	0.8045	0.7108	0.8055	0.5528	0.6235	0.6624	0.5400	0.4506	0.5172
ZINC00010 0740738	[C]C@@H1CC(=O)Nc2nc3cccc3c(=O)n21	-7.8	-0.8	0.9840	0.6014	0.685	0.9874	0.8562	0.7385	0.5398	0.5989	0.8894	0.9576	0.7666	0.6497	0.9602	0.5641	0.5668	0.5500	0.6560	0.4654
ZINC00010 1831307	Cc1cc(N2C(=O)[C@H]3[C@@H](C)C=CC[C@H]3C2=O)no1	-7.8	-0.4	0.9726	0.5434	0.73	0.9877	0.7959	0.8500	0.5493	1	0.8563	0.8398	0.7184	0.5719	0.8984	0.6934	0.4136	0.5100	0.5322	0.7146
ZINC00010 2072196	Cc1cc(N2C(=O)[C@@H]3CC=C[C@H](C)[C@H]3C2=O)no1	-7.8	-0.5	0.9726	0.5434	0.73	0.9877	0.7959	0.8500	0.5493	1	0.8563	0.8398	0.7184	0.5719	0.8984	0.6934	0.4136	0.5100	0.5322	0.7146
ZINC00016 3342002	[C]C@H]1Cc2cccc2N1C(=O)[C@@H]1(F)CCN1	-7.8	-0.4	0.9739	0.9111	1011	0.9881	0.6434	0.5750	0.5233	1	0.4358	0.8290	0.6807	0.6056	0.6042	0.6463	0.6836	0.7100	0.4458	0.5971
ZINC00000 1386306	CC1(C)OC(=O)C2(Cc3cccc3C2)C(=O)O1	-7.8	-0.5	0.9869	0.7686	0.881	0.8847	0.9739	0.9500	0.5445	0.8032	0.7491	0.5939	0.5868	0.6975	0.8918	0.7532	0.6621	0.6300	0.7783	0.6023
ZINC00000 1386307	CC(=O)OCc1c(C)nc2c(C#N)cn2c1Cl	-7.9	-0.3	0.9874	0.5210	0.656	0.9814	0.8722	0.6250	0.5871	0.7954	0.8819	0.9204	0.5926	0.5566	0.9237	0.5000	0.5983	0.5900	0.4618	0.5315
ZINC00000 1386308	CC(=O)OCc1c(C)nc2c(C#N)cn2c1N1CCCC1	-7.10	-0.4	0.9872	0.5415	0.717	0.9929	0.6601	0.7500	0.5844	0.7859	0.8746	0.5384	0.6487	0.5714	0.8711	0.5675	0.5919	0.5400	0.4010	0.4596

Código base de datos Zinc	SMILES	Energía de unión CysK Kcal/Mol	Energía de unión CBS Kcal/Mol	Absorción intestinal humana (HIA)	Permeabilidad Caco-2	Unión a proteínas plasmáticas 100%	Barrera hematoencefálica	Sustrato de glicoproteína P	Inhibidor de OCT2	Sustrato CYP3A4	Sustrato CYP2C9	Sustrato CYP2D6	Inhibición de CYP3A4	Inhibición de CYP2C9	Inhibición de CYP2C19	Inhibición de CYP2D6	Inhibición de CYP1A2	Carcinogenicidad (trinaria)	Mutagénesis de Ames	Inhibición humana (hERG)	Toxicidad oral aguda
ZINC000012504788	O=c1[nH]c2cccc2c(=O)n1-c1cccc1Cc1cc(N2C(=O)C@H]3CC=C[C@H](C)C@@H]3C2=O)n1	-7.8	-0.5	0.9378	0.7998	0.831	0.9967	0.9693	0.8635	0.5530	0.6057	0.8869	0.9587	0.5526	0.5472	0.9646	0.7670	0.5847	0.5500	0.6928	0.4816
ZINC000017857022	O=C1Nc2ncccc2Oc2cc(F)cc(O)c21	-7.8	-0.4	0.9726	0.5434	0.73	0.9877	0.7959	0.8500	0.5493	1	0.8563	0.8398	0.7184	0.5719	0.8984	0.6934	0.4136	0.5100	0.5322	0.7146
ZINC000084493516	c1cncc(-c2nnc3c4cccc4cnn23)c1	-7.8	-0.5	0.9865	0.8022	1015	0.9768	0.9015	0.8500	0.5107	1	0.8826	0.7903	0.7449	0.6175	0.7901	0.7535	0.6534	0.5500	0.6380	0.5158
ZINC000000005945	O=C1NC2(CCCC2)C(=O)Nc2cccc21	-7.8	-0.6	0.9949	0.8153	0.744	0.9736	0.8781	0.5069	0.5549	10000	0.7599	0.8375	0.9624	0.9436	0.9777	0.9093	0.5239	0.6700	0.6338	0.7319
ZINC000094419921	Oc1c2c(nc3cc(-c4cccc4)nn13)CCC2	-7.8	-0.5	0.9834	0.5540	0.97	0.9869	0.9348	0.6818	0.5662	0.5976	0.8463	0.7084	0.7111	0.6139	0.7122	0.7498	0.6905	0.7500	0.5227	0.6488
ZINC000100519151	Oc1[nH]c2c1cnc1c(F)cc(F)cc12	-7.8	-0.7	0.9789	0.5132	1.08	0.9856	0.8555	0.6317	0.5350	1	0.7962	0.9122	0.5466	0.5844	0.7632	0.7828	0.6242	0.6800	0.7385	0.5319
ZINC000000166588	Oc1[nH]c2c1cnc1cc(F)c(F)cc12	-7.8	-0.5	0.9835	0.5593	1013	0.9784	0.8373	0.8500	0.5861	1	0.8179	0.7837	0.8168	0.7216	0.7769	0.8241	0.6244	0.6000	0.8325	0.5666
ZINC000019626612	O=C1CCCc2[nH]c(-c3cccc(O)c3)c21	-7.8	-0.7	0.9835	0.5328	0.891	0.9780	0.8450	0.8500	0.6231	1	0.8179	0.7519	0.7726	0.6592	0.7442	0.8876	0.6490	0.6600	0.8722	0.5016
ZINC000071281459	O=C1CCCc2[nH]c(-c3cccc(O)c3)c21	-7.8	-0.5	0.9890	0.5458	0.958	0.9769	0.8015	0.5250	0.5356	0.6121	0.8106	0.5873	0.6068	0.6253	0.6057	0.7734	0.5704	0.7400	0.6680	0.6340
ZINC000000058460	Cc1ccc2c(c1)Nc1nc3nonc3nc1N2	-7.8	-0.6	0.9937	0.6849	0.866	0.9768	0.9383	0.7250	0.5696	1	0.8416	0.8945	0.9293	0.9304	0.9431	0.8473	0.4734	0.5600	0.5522	0.7074
ZINC0000000334187	c1ccc2c(c1)CC1(CCCC1)n1nnnc1-2	-7.8	-0.5	0.9881	0.8686	1004	0.9873	0.9087	0.5931	0.5000	1	0.7726	0.7405	0.7620	0.7718	0.8731	0.6708	0.5354	0.7600	0.3942	0.4726
ZINC0000001438257	Cc1ccc([C@@H]2NC(=O)c3cccc3N2)n1	-7.8	-0.4	0.9845	0.9220	0.772	0.9854	0.7688	0.8250	0.5171	0.5918	0.9092	0.7863	0.8213	0.7600	0.9599	0.8882	0.6499	0.5200	0.4487	0.6302

Código base de datos Zinc	SMILES	Energía de unión CysK Kcal/Mol	Energía de unión CβS Kcal/Mol	Absorción intestinal humana (HIA)	Permeabilidad Caco-2	Unión a proteínas plasmáticas 100%	Barrera hematoencefálica	Sustrato de glicoproteína P	Inhibidor de OCT2	Sustrato CYP3A4	Sustrato CYP2C9	Sustrato CYP2D6	Inhibición de CYP3A4	Inhibición de CYP2C9	Inhibición de CYP2C19	Inhibición de CYP2D6	Inhibición de CYP1A2	Carcinogenicidad (trínaria)	Mutágenos de Ames	Inhibición humana (HERG)	Toxicidad oral aguda
ZINC000005072886	O=c1[nH]c(-c2cccc2O)nc2cccc1c1ccc2c(-c3n[nH]c4cccc34)nncc2c1	-7.8	-0.6	0.9900	0.7035	0.999	0.9820	0.9519	0.9000	0.5490	0.7898	0.8811	0.8100	0.6982	0.6089	0.7954	0.9792	0.7175	0.5000	0.8873	0.4456
ZINC000075566870	c1ccc2[nH]c(Cc3noc4cccc34)nc2c1	-7.8	-0.4	0.9959	0.5286	0.829	0.9667	0.8917	0.5750	0.5501	1	0.7841	0.5779	0.8525	0.8732	0.8414	0.9692	0.6961	0.5100	0.6181	0.6882
ZINC000142411370	Cc1ccc(-c2nc3cccc3[n+](2C)c(C)c1	-7.8	-0.5	0.9813	0.5057	0.988	0.9890	0.8612	0.6250	0.5000	1	0.6858	0.5545	0.7150	0.6099	0.7198	0.9155	0.5050	0.5600	0.7013	0.6979
ZINC00000064438	O=c1cc(-c2cccc2)n c(-c2cccc2)[nH]1	-7.8	-0.4	0.9185	0.9326	1038	0.9929	0.8447	0.7069	0.5152	1	0.8347	0.5152	1	0.6923	0.5537	0.5063	0.4586	0.5100	0.8680	0.4467
ZINC000016124821	O=C1Nc2cccc2NC12CCCC2C[C@@](O)(c1cccc1)c1ccc2cccc2n1	-7.8	-0.5	0.9920	0.7044	0.916	0.9942	0.9720	0.9250	0.7063	0.8046	0.8997	0.9510	0.8540	0.9156	0.9718	0.7242	0.6073	0.5100	0.5100	0.7404
ZINC000003111973	Cc1ccc(-c2cc(-c3ccnc3)[nH]n2)cc1	-7.8	-0.5	0.9726	0.6466	0.948	0.9914	0.9714	0.5818	0.6394	0.8071	0.3645	0.6778	0.8659	0.6688	0.6537	0.6202	0.7195	0.7800	0.4602	0.6462
ZINC000013208455	O=c1cc(-c2cccc2)nc1	-7.8	-0.4	0.9951	0.5073	1128	0.9903	0.9550	0.9500	0.6509	0.8153	0.7515	0.8310	0.9070	0.8993	0.9434	0.8585	0.7473	0.6300	0.6508	0.7990
ZINC000095094748	c1ccc2c(c1)ccc1c(-c3ccnc3)[nH]nc12	-7.8	-0.5	0.9969	0.8091	0.661	0.9898	0.8407	0.5750	0.6252	0.8331	0.8442	0.6185	0.6932	0.5239	0.7766	0.9060	0.4791	0.6800	0.4304	0.7474
ZINC000000396981	O=c1cc(-c2cccc2)nc1	-7.8	-0.6	0.9882	0.7176	1043	0.8592	0.9947	1	0.7409	1	0.8154	0.5000	0.5434	0.9187	0.9359	0.8614	0.4587	0.8000	0.5694	0.6921
ZINC000000984000	Cc1ccc2c(c1)Oc1nc3cccc3nc1N2	-7.8	-0.6	0.9873	0.8784	0.999	0.9862	0.9471	0.8750	0.5430	1	0.8334	0.7354	0.6463	0.7670	0.8375	0.9591	0.6797	0.5500	0.4898	0.7245
ZINC000007030119	Cc1ccc2c(c1)Nc1nc3cccc3nc1O2	-7.8	-0.8	0.9873	0.8671	0.988	0.9862	0.9448	0.8750	0.5417	1	0.8234	0.7354	0.6463	0.7670	0.8375	0.9591	0.6797	0.5800	0.4224	0.7245

Código base de datos Zinc	SMILES	Energía de unión CysK Kcal/Mol	Energía de unión Cps Kcal/Mol	Absorción intestinal humana (HIA)	Permeabilidad Caco-2	Unión a proteínas plasmáticas 100%	Barrera hematoencefálica	Sustrato de glicoproteína P	Inhibidor de OCT2	Sustrato CYP3A4	Sustrato CYP2C9	Sustrato CYP2D6	Inhibición de CYP3A4	Inhibición de CYP2C9	Inhibición de CYP2C19	Inhibición de CYP2D6	Inhibición de CYP1A2	Carcinogenicidad (trinaría)	Mutágenos de Ames	Inhibición humana (HERG)	Toxicidad oral aguda
ZINC00000119859	O=C1NC(=O)C@H]23CCc4ccc(c(42)C(=O)C@H]13	-7,7	-0,5	0,9919	0,5234	0,96	0,9863	0,7678	0,7500	0,5278	0,6108	0,8002	0,9336	0,8640	0,7601	0,8612	0,5652	0,5134	0,5300	0,6377	0,5042
ZINC00000210429	O=C1NC(O)=N]C@]2(N1)C(=O)Nc1cccc12	-7,7	-0,5	0,9710	0,6351	0,812	0,9792	0,8366	0,9250	0,5627	0,5801	0,8033	0,9424	0,8890	0,8416	0,8485	0,6237	0,6874	0,6900	0,9211	0,6446
ZINC16524774	O=C(c1ccc(Nc2nc3ccc(cc3n3nnc23)c1)N1CCc2cccc2C1	-7,7	-0,5	0,9860	0,7336	1,132	0,9943	0,5498	0,6324	0,5994	0,5905	0,8784	0,7381	0,6264	0,7517	0,6827	0,8788	0,4905	0,5500	0,7633	0,5974
ZINC09561278	Cc1ccc(N2CCN(C(=O)c3cccc(Nc4nc5cccc5n5nnc45)c3)CC2)c1C	-7,6	-0,5	0,9928	0,7793	1,19	0,9937	0,6485	0,5141	0,6347	0,5928	0,8729	0,5723	0,5068	0,7982	0,6479	0,9094	0,4799	0,5100	0,9159	0,5326
ZINC09561319	Cc1ccc(C)c(N2CCN(C(=O)c3cccc(Nc4nc5cccc5n5nnc45)c3)CC2)c1	-7,6	-0,4	0,9928	0,7788	1,247	0,9937	0,6451	0,5141	0,6300	0,5928	0,8729	0,5723	0,5068	0,7982	0,6479	0,9094	0,4799	0,5400	0,9200	0,5326
ZINC32999079	O=c1cc2ccc2cc1-c1nc(Cn2c(=O)oc3cccc32)no1	-7,6	-0,4	0,9791	0,7439	1,052	0,9816	0,7447	0,7999	0,5313	1	0,8610	0,5646	0,5381	0,6329	0,8875	0,6011	0,5333	0,5200	0,3617	0,7012
ZINC09561283	O=c1cc2ccc2cc1-c1nc(Cn2c(=O)oc3cccc32)no1	-7,6	-0,4	0,9791	0,7439	1,052	0,9816	0,7447	0,7999	0,5313	1	0,8610	0,5646	0,5381	0,6329	0,8875	0,6011	0,5333	0,5200	0,3617	0,7012
ZINC1454049	CCn1nc(C(=O)N2CCN(c3cccc3)CC2)c2c1CN(C(=O)c1n[nH]c3ccc(C)cc13)C2	-7,6	-0,3	0,9921	0,7136	0,742	0,9913	0,6856	0,5859	0,6197	0,5928	0,8082	0,7157	0,8047	0,7215	0,7264	0,8603	0,5966	0,6800	0,7440	0,6011
ZINC20355940	Cc1ccc(S(=O)(=O)c2nn3c2nc(NC2ccc4c(c2)OCO4)c2ccc3)cc1C	-7,6	-0,3	0,9901	0,6877	1,375	0,9730	0,5135	0,7250	0,6435	1	0,8987	0,7900	0,7040	0,6462	0,7445	0,5714	0,5290	0,6600	0,7376	0,5586
ZINC09211201	O=C([C@H]1CCCN(c2ncnc3c2nc2n3CCCC2)C1)N1CC=C(c2cccc2)CC1	-7,6	-0,6	0,9891	0,6890	1,209	0,9934	0,5141	0,8433	0,6338	0,5821	0,8626	0,7949	0,7585	0,9185	0,8722	0,5400	0,6624	0,6500	0,8126	0,6171
ZINC20375693	Cc1ccc2c(CN3CCN(C(=O)c4ccc(c5cnc5)n5cccc45)CC3)cc(=O)oc2c1	-7,5	-0,5	0,9829	0,7808	1,163	0,9959	0,5350	0,5396	0,6110	1	0,7900	0,6479	0,5396	0,7746	0,9678	0,5487	0,6328	0,5300	0,9360	0,6578
ZINC09561318	Cc1ccc(C)c(c1N1CCN(C(=O)c2ccc(Nc3nc4ccc(cc4n4nnc34)c2)CC1	-7,5	-0,5	0,9935	0,8120	1,283	0,9937	0,6442	0,5641	0,6911	0,5973	0,8803	0,5644	0,5528	0,8792	0,6709	0,9257	0,5063	0,6000	0,8876	0,5066

Código base de datos Zinc	SMILES	Energía de unión CysK Kcal/Mol	Energía de unión CBS Kcal/Mol	Absorción intestinal humana (HIA)	Permeabilidad Caco-2	Unión a proteínas plasmáticas 100%	Barrera hematoencefálica	Sustrato de glicoproteína P	Inhibidor de OCT2	Sustrato CYP3A4	Sustrato CYP2C9	Sustrato CYP2D6	Inhibición de CYP3A4	Inhibición de CYP2C9	Inhibición de CYP2C19	Inhibición de CYP2D6	Inhibición de CYP1A2	Carcinogenicidad (trinaria)	Mutagénesis de Ames	Inhibición humana (hERG)	Toxicidad oral aguda
ZINC14996361	Cc1nc2cc(C(F)(F)F)cc2n1C1CCN(C(=O)C@H)(C)cn[nH]c(=O)c3ccccc23)CC1	-7,4	-0,4	0.9592	0.7568	1.09	0.9886	0.7274	0.6000	0.6720	0.5816	0.8647	0.6438	0.5673	0.5992	0.8501	0.8669	0.6275	0.5000	0.8826	0.5394
ZINC000002957581	O=c1[nH]c2cn[n]c2c2ccc12	-7,4	-0,6	0.9783	0.6510	0.775	0.9898	0.9567	0.6885	0.9567	0.5811	0.8870	0.9233	0.9688	0.9466	0.7817	0.8904	0.5073	0.5400	0.7701	0.6161
ZINC000003102311	C[C@@H]1CC(=O)C2C([nH]c3ccccc23)C1	-7,4	-0,6	0.9907	0.7604	0.759	0.9901	0.8055	0.6500	0.5267	0.6419	0.8141	0.6561	0.5819	0.6561	0.6768	0.6154	0.5878	0.5100	0.5367	0.7443
ZINC20353527	Cc1ccc2c(CN3CCN(C(=O)c4cc(-c5ccccc5)nc5ccccc45)C3)cc(=O)oc2c1	-7,4	-0,6	0.9829	0.7842	1288	0.9925	0.5250	0.6354	0.6391	1	0.7900	0.5149	0.5851	0.7118	0.9531	0.5791	0.6368	0.5300	0.9443	0.7167
ZINC20484695	C[C@@H](NC(=O)c1nccccc1-2)c1ccc2c(c1)OCCO2	-7,4	-0,5	0.9801	0.5550	1024	0.9749	0.5177	0.8000	0.5967	1	0.8772	0.8539	0.5825	0.6405	0.8404	0.8174	0.5236	0.5500	0.9095	0.6499
ZINC09561317	Cc1ccc(N2CCN(C(=O)c3ccccc(Nc4ccccc5cnn45)c3)CC2)c1C	-7,4	-0,5	0.9928	0.7753	-2513	0.9955	0.6451	0.5391	0.6266	0.5928	0.8729	0.6176	0.5404	0.6883	0.8257	0.8702	0.5554	0.5500	0.9256	0.5447
ZINC15862847	C[C@@H]1Oc2ccc(S(=O)(=O)N3CCN(C(=O)c4ccccc5oc4=O)CC3)c2NC1=O	-7,3	-0,5	0.9198	0.7350	1222	0.9744	0.5000	0.6250	0.6056	1	0.8683	0.7255	0.6653	0.5824	0.9015	0.8590	0.5956	0.5500	0.7379	0.8750
ZINC21173226	COc1ccc2oc(=O)cc(CN3CCN(C(=O)c4cc(-c5ccccc5)nc5ccccc45)C3)c2c1	-7,2	-0,5	0.9783	0.7936	1164	0.9868	0.5410	0.6250	0.6606	0.8151	0.7556	0.6653	0.7685	0.7257	0.9606	0.7322	0.6405	0.5500	0.9325	0.7042
ZINC09856866	COc1ccc2c(c1)c(=O)c(S(=O)(=O)c1ccc(C)cc1)cn2CC(=O)Nc1ccc(F)cc1	-7,2	-0,2	0.9484	0.6395	1309	0.9719	0.5401	0.8250	0.6125	1	0.8782	0.8412	0.5665	0.6927	0.8401	0.5925	0.5778	0.6400	0.8221	0.5947
ZINC20529295	CC(=O)N1c2ccc(S(=O)(=O)N3CC[C@@H]3C(=O)N3Cn4c3nc3cccc4)cc2C[C@@H]1C	-7,1	-0,5	0.9747	0.6582	1077	0.9750	0.6077	0.5322	0.6383	0.7389	0.8838	0.6408	0.7637	0.7087	0.9336	0.8960	0.6123	0.5100	0.7130	0.5913
ZINC20326505	Cc1ccc(C(=O)c2cn(CC(=O)Nc3ccc4c(c3)OCO4)c3cc4c(cc3c2=O)OC4)cc1C	-7,1	-0,3	0.9247	0.7205	0.971	0.9714	0.5105	0.9000	0.5288	0.8052	0.8925	0.7688	0.6665	0.6891	0.5703	0.7858	0.5288	0.5500	0.7586	0.7417
ZINC08448923	CN1C(=O)C2(c3ccccc31)c1c(c3ccc3cc3oc1=O)Oc1c2c(=O)oc2ccccc12	-7,1	-0,6	0.9570	0.5764	1071	0.9812	0.7518	0.9750	0.5784	0.8156	0.8521	0.6446	0.6642	0.5439	0.8846	0.5851	0.3951	0.5700	0.4706	0.5820

Código base de datos Zinc	SMILES	Energía de unión CysK Kcal/Mol	Energía de unión CBS Kcal/Mol	Absorción intestinal humana (HIA)	Permeabilidad Caco-2	Unión a proteínas plasmáticas 100%	Barrera hematoencefálica	Sustrato de glicoproteína P	Inhibidor de OCT2	Sustrato CYP3A4	Sustrato CYP2C9	Sustrato CYP2D6	Inhibición de CYP3A4	Inhibición de CYP2C9	Inhibición de CYP2C19	Inhibición de CYP2D6	Inhibición de CYP1A2	Carcinogenicidad (trinaria)	Mutagénesis de Ames	Inhibición humana (hERG)	Toxicidad oral aguda
ZINC12713 953	<chem>O=C(c1cn(C[C@H]2COc3cccc3O2)nn1)N1CCC2(C=Cc3cccc32)CC1</chem>	-7	-0,4	0.9486	0.7531	1252	0.9854	0.5186	0.5750	0.6333	0.5984	0.8350	0.6376	0.5000	0.6608	0.8395	0.7928	0.4933	0.6200	0.3816	0.5750
ZINC21886 209	<chem>O=C(c1ccc(O)N1CCN(C(=O)[C@@H]2CCCN(c3nc4nccc4n4)C2)CC1</chem>	-7	-0,5	0.9810	0.7722	0.876	0.9972	0.6136	0.5500	0.6608	0.5824	0.8351	0.7629	0.6566	0.5389	0.8460	0.5932	0.5913	0.6100	0.8694	0.7612
ZINC15003 445	<chem>Cc1cc(-c2cc(F)cc3c2O[C@H](CNC(=O)c2cnc4ccccn4c2=O)C3)ccc1F</chem>	-7	-0,5	0.9558	0.6959	1105	0.9825	0.6582	0.8816	0.6640	0.5928	0.8565	0.8508	0.7385	0.6315	0.8445	0.6885	0.5838	0.5400	0.9040	0.5903
ZINC20994 621	<chem>O=C(CCN1Cc2cccc2O[C@H](C2cccc2)C1)NCC1cc(-c2cccc2)[nH]n1</chem>	-7	-0,2	0.9810	0.7611	1202	0.9797	0.5000	0.6250	0.6277	10.000	0.4065	0.6037	0.5335	0.7363	0.5131	0.5730	0.6327	0.6500	0.9850	0.7021
ZINC33059 769	<chem>Cc1ccc2c(c1)N(C(=O)Cn1cnc3nc4c(cc3c1=O)C[C@H](C)CC4)CCO2</chem>	-7	-0,6	0.9762	0.6614	0.925	0.9923	0.6535	0.5000	0.6502	0.5865	0.8731	0.6106	0.5820	0.8261	0.9519	0.7871	0.6493	0.5100	0.7463	0.7836
ZINC33122 972	<chem>Cc1ccc(-c2c(C)nn3c2NC(=O)C(C)C(=O)S(=O)(=O)N1CCn2c1nc1cccc12</chem>	-7	-0,3	0.9833	0.7725	1082	0.9724	0.5159	0.6921	0.6786	0.8000	0.8918	0.6551	0.6018	0.6797	0.8984	0.8884	0.6047	0.5100	0.7699	0.7500
ZINC09206 000	<chem>Cc1ccc(-n2ccc(=O)c(C(=O)Nc3cc(C)cc4)oc4cccc34)n2)cc1</chem>	-7	-0,3	0.9326	0.7891	1123	0.9767	0.6214	0.8996	0.7089	0.8006	0.9100	0.5384	0.6151	0.5560	0.8997	0.5999	0.8857	0.5400	0.8437	0.7480
ZINC01690 699	<chem>O=C(Nc1ccc(-c2nc3cccc3[nH]2)c1)C1ccc(C(=O)Nc2cccc(-c3nc4cccc4[nH]3)e2)cc1</chem>	-7	-0,3	0.9626	0.8371	0.868	0.9845	0.7174	0.8750	0.5317	10.000	0.8490	0.7973	0.5639	0.6986	0.9133	0.5243	0.4496	0.5600	0.7058	0.6111