



*Identificación de compuestos con afinidad de unión por la proteína Lon
en Acinetobacter baumannii por medio de un análisis in silico.*

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Bacteriología y Laboratorio Clínico
Trabajo de grado
Bogotá D.C., septiembre 03 de 2021



*Identificación de compuestos con afinidad de unión por la proteína Lon
en Acinetobacter baumannii por medio de un análisis in silico.*

David Orlando Lara Sanabria

Natalia Chicuasique Pérez

Asesor interno

Ruth Mélida Sánchez

Bacterióloga, MSc., PhD

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Asesor externo

Ibeth Cristina Romero Calderón

Bacterióloga, MSc., PhD

Profesor Asistente

Universidad Nacional de Colombia - La Paz

Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca

Facultad de Ciencias de la Salud

Bacteriología y Laboratorio Clínico

Trabajo de grado

Bogotá D.C., septiembre 03 de 2021



Identificación de compuestos con afinidad de unión por la proteína Lon
en *Acinetobacter baumannii* por medio de un análisis *in silico*.

Meritoria: _____

Laureada: _____

Aprobada: _____

JURADOS: _____

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
BACTERIOLOGÍA Y LABORATORIO CLÍNICO
TRABAJO DE GRADO
BOGOTA D.C
SEPTIEMBRE 03 DE 2021

Tabla de contenido

Resumen	7
Abstract	8
Introducción	9
1.Objetivos	12
1.1 Objetivo general	12
1.2 Objetivos específicos	12
2. Marco referencial	13
2.1. Antecedentes o estado del arte	13
2.2. Marco teórico	15
2.2.1. <i>Acinetobacter baumannii</i> : características generales	15
2.2.2. Enfermedades ocasionadas por <i>A. baumannii</i>	16
2.2.3. Tratamiento y resistencia	16
2.2.4. Búsqueda de nuevos medicamentos para el control de <i>A. baumannii</i>	20
2.2.5. Estudio de Proteasas Lon como posible blanco terapéutico	20
2.2.6. Proteasa Lon en <i>Acinetobacter baumannii</i> , función y clasificación	23
2.2.7. Biología computacional en el diseño racional de fármacos.....	24
3. Bases Legales	28
4. Materiales y métodos	28
5. Resultados	34
6. Discusión	50
7. Conclusiones	52
8. Perspectivas	53
9. Referencias bibliográficas	54
10. Anexos	66

Lista de figuras

Fig 1. Características microscópicas y macroscópicas de <i>Acinetobacter baumannii</i>	15
Fig 2. Diferentes mecanismos de resistencia en <i>A. baumannii</i> : (I) betalactámicos; (II) aminoglucósidos; (III) quinolonas; (IV) colistina	19
Fig 3. Dominios putativos de proteasas Lon de <i>M. smithii</i> , <i>E. coli</i> , levadura, humano y <i>T. kodakarensis</i>	24
Fig 4. Flujograma de actividades a desarrollar en la ejecución del proyecto	29
Fig 5. Ubicación del gen Lon dentro de la secuencia genómica completa de <i>Acinetobacter baumannii</i>	35
Fig 6. Resultados arrojados por el BLAST	36
Fig 7. Alineamiento múltiple de secuencias por Mult Alin	40
Fig 8. Dominios encontrados en Pfam y ScanProsite	41
Fig 9. Alineamiento múltiple de secuencias y motivos encontrados	42
Fig 10. Estructura Secundaria por GOR IV (Visualización gráfica de la predicción)	42
Fig 11. Modelo tridimensional de la proteasa Lon de <i>Acinetobacter baumannii</i> realizado mediante la herramienta SWISS-MODEL	43
Fig 12. Validación del modelo mediante ProSA-web	44
Fig 13. Gráfico de Ramachandran mediante servidor PROCHECK	45
Fig 14. Caja y coordenadas sobre las cuales se realizó el docking molecular	46
Fig 15. Propiedades farmacocinéticas ADMET.....	49

Lista de tablas

Tabla No. 1. Composición de aminoácidos en la estructura de la proteína Lon de <i>A. baumannii</i>	37
Tabla No. 2. Composición atómica de la proteína Lon de <i>A. baumannii</i>	39

RESUMEN

Acinetobacter baumannii hace parte de la lista de bacterias que necesitan con urgencia nuevos antibióticos, junto a otras bacterias se encuentran como prioridad número 1 (crítica) para investigación y descubrimiento de nuevos antibióticos, además hace parte de las infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS). Para el control de la enfermedad causada por *A. baumannii* es indispensable la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos alternativos para implementar nuevos tratamientos, por ello se investigó a fondo las características de la proteasa Lon, una proteína que cumple diversas funciones muy importantes en *Acinetobacter baumannii* entre ellas la degradación de proteínas. Es por ello que en el presente trabajo se realizó una caracterización *in silico* de la proteína Lon de *A. baumannii*, así como también una identificación de compuestos con afinidad por la proteína mediante el uso de herramientas y bases de datos bioinformáticas de libre acceso. Lo cual permitió demostrar que *A. baumannii* posee un gen que codifica para la proteína Lon, la cual presenta todos los motivos y dominios importantes para la actividad catalítica que han sido descritos en la familia de proteasas Lon en bacterias Gram negativas. Mediante el uso de la herramienta SWISS-MODEL se obtuvo el modelo tridimensional de la proteína a partir de una plantilla de la proteasa Lon de *E. coli*, el cual presentó una topología correcta y alta calidad con puntajes típicamente encontrados en proteínas nativas. El acoplamiento molecular y las predicciones farmacocinéticas ADMET permitieron identificar compuestos con alta afinidad por la proteína Lon, dentro de las cuales se destacan ZINC000003435531, ZINC000005006669, ZINC000034924974, ZINC000000426267 y ZINC000041721989 como candidatos potenciales para estudios *in vitro* y el posible desarrollo a futuro de una terapia alternativa y selectiva como tratamiento de infecciones asociadas a *A. baumannii*.

Palabras clave: *Acinetobacter baumannii*, Proteína Lon, Proteasas de serina, Serina proteasa dependiente de ATP, Blancos de acción, Multirresistencia, IAAS, Patógenos.

ABSTRACT

Acinetobacter baumannii is part of the list of bacteria that urgently need new antibiotics, along with other bacteria are as priority number 1 (critical) for research and discovery of new antibiotics, it is also part of the healthcare associated infections (HAI). For the control of the disease caused by *A. baumannii* it is essential to search for a therapeutic target to implement new alternative treatments, therefore, the characteristics of the Lon protease, a protein that fulfills several very important functions in *Acinetobacter baumannii*, including protein degradation, were thoroughly investigated. For this reason, in the present work, an *in silico* characterization of the Lon protein of *A. baumannii* was carried out, as well as an identification of compounds with affinity for the protein by using freely available bioinformatics tools and databases. This allowed demonstrating that *A. baumannii* possesses a gene coding for the Lon protein, which presents all the motifs and domains important for catalytic activity that have been described in the Lon family of proteases in Gram-negative bacteria. Using the SWISS-MODEL tool, the three-dimensional model of the protein was obtained from a template of the *E. coli* Lon protease, which presented a correct topology and high quality with scores typically found in native proteins. Molecular docking and ADMET pharmacokinetic predictions allowed the identification of compounds with high affinity for the Lon protein, among which ZINC000003435531, ZINC000005006669, ZINC000034924974, ZINC000000426267 and ZINC000041721989 stand out as potential candidates for *in vitro* studies and the possible future development of an alternative and selective therapy for the treatment of infections associated with *Acinetobacter baumannii*.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, Lon protein, Serine proteases, ATP-dependent serine protease, Targets of action, Multidrug resistance, HAI, Pathogens.

Introducción

Acinetobacter baumannii es uno de los principales microorganismos causantes de infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) a nivel mundial, con una prevalencia entre el 2% al 10% dentro de todas las infecciones hospitalarias causadas por bacterias Gram negativas ¹. Entre las infecciones asociadas a *Acinetobacter baumannii* se encuentran las infecciones en la piel, tejidos blandos, infecciones en tracto urinario, infección de heridas y meningitis secundaria ²; así como infecciones con altas tasas de prevalencia como la neumonía asociada a ventilador entre un 45-70% de las neumonías intrahospitalarias y la bacteriemia, en un 20-30% de las bacteriemias asociadas a catéteres intravasculares ¹.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha incluido a *Acinetobacter baumannii* dentro de la lista de patógenos ESKAPE, acrónimo que describe bacterias como *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter sp.* para las que se prioriza la búsqueda y desarrollo de nuevos antibióticos que permitan mitigar los fenotipos resistentes en este tipo de bacterias ³. En la búsqueda y desarrollo de nuevos medicamentos, la identificación y caracterización de moléculas importantes en la supervivencia y desarrollo del patógeno como blancos terapéuticos es el punto de partida para el diseño racional de fármacos ⁴.

Las proteasas de serina como la proteína Lon descritas en algunas bacterias Gram negativas, pueden llegar a ser posibles blancos terapéuticos, debido a que dentro de sus funciones fisiológicas son importantes para la degradación de proteínas mal plegadas, además de estar relacionadas con la formación de biopelículas en algunos patógenos, facilitando el desarrollo de enfermedades infecciosas.³⁶ Por otro lado se ha visto que la inhibición de las proteasa de serina en bacterias puede llegar a ocasionarles la muerte por apoptosis celular, debido a la dificultad que presentan las bacterias para degradar proteínas de desecho que son nocivas para el microorganismo ^{5, 6, 7}.

Según la OMS, la resistencia bacteriana a fármacos es un problema de salud pública, debido a que dificulta el tratamiento y control de microorganismos de interés clínico,

como *A. baumannii* implicado en las infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS) con altas tasas de morbimortalidad alrededor del 26%-68%^{10,18}.

Así mismo la OMS estipula que los países en vías de desarrollo son los más afectados por las IAAS en comparación a los países desarrollados que presentan porcentajes de 10% y 7% respectivamente ¹¹. En cifras, al menos 1.7 millones de pacientes que se encuentran hospitalizados recibiendo tratamiento por otras enfermedades y adquieren infecciones relacionadas a IAA's en el ámbito hospitalario ¹².

En cifras establecidas por la PAHO (Organización Panamericana de la Salud) las infecciones por IAAS cuentan con una prevalencia del 37% a pesar de que presentan una alta morbilidad y mortalidad son pocos los datos que hay frente a los casos a nivel Latinoamérica ¹³.

En Colombia según los boletines publicados por el instituto nacional de salud en los últimos 4 años (2016-2020), *Acinetobacter baumannii* ocupa el tercer puesto de brotes ocasionados por (IAAS). Las cifras demuestran que el número de brotes año tras año aumenta ya que del 2016 de 22 brotes aumentó al año 2019 a 61 brotes con 333 casos de los cuales 33 de dichos casos fueron por *Acinetobacter baumannii* reportado por el instituto nacional de salud ⁹. Las IAAS a nivel nacional son consideradas la segunda causa de muerte con 64,7 por 100.000 habitantes ¹⁴.

Por otro lado, *A. baumannii* ha sido asociado con altas tasas de mortalidad las cuales a nivel mundial van desde el 26-43% en las UCI. En Colombia recientemente se ha reportado una tasa de mortalidad que oscila entre 7,8% y 23% en unidades de cuidados intensivos (UCI), dado de estudios de casos y controles y estudios de cohorte realizados en diferentes hospitales del país, lo que representa una cifra preocupante por la infección y mortalidad asociada en ambientes como las UCI ¹⁷.

Teniendo en cuenta lo anterior, en el estudio y la búsqueda de nuevos blancos terapéuticos la proteína Lon en *Acinetobacter baumannii* exhibe gran potencial como blanco terapéutico, debido a que hace parte de la familia de proteasas de serina que al ser inhibida puede desencadenar en problemas como en la incapacidad de degradar proteínas de desecho, correcta formación de biopelícula además de

alteraciones morfológicas y funcionales en *A. baumannii*³⁶. En este sentido, nuestro trabajo de grado propone una estrategia innovadora mediante biología computacional que permita no sólo caracterizar *in silico* a la proteína Lon de *A. baumannii*, sino además identificar compuestos con afinidad de unión al sitio activo de la misma y que puedan llegar a ser inhibidores específicos de la proteína, es así como en esta investigación se pretende dar respuesta a la siguiente pregunta de investigación: ¿qué compuestos identificados mediante acoplamiento molecular presentan gran afinidad de unión por el sitio activo de la proteína Lon de *Acinetobacter baumannii* ?.

Título:**Identificación de compuestos con afinidad de unión por la proteína Lon en *Acinetobacter baumannii* por medio de un análisis *in silico*.****1. Objetivos****1.1 Objetivo general:**

Identificar compuestos con afinidad de unión por la proteína Lon de *Acinetobacter baumannii* por medio de un análisis *in silico*.

Objetivos específicos:

1. Identificar los aminoácidos que forman la región catalítica o sitio activo de la proteína Lon de *Acinetobacter baumannii* necesarios para el acoplamiento molecular.
2. Determinar la energía de unión o energía de acoplamiento entre compuestos químicos y el sitio activo de la proteína Lon de *Acinetobacter baumannii* mediante acoplamiento molecular.
3. Predecir las propiedades farmacocinéticas (ADMET) de los compuestos que presenten mejor energía de unión con la proteína Lon de *A. baumannii*.

2. Marco referencial

2.1 Antecedentes o estado del arte

La proteasa Lon, pertenece a la familia de proteasas de serina, descritas en diferentes microorganismos tales como arqueas, bacterias y levaduras se considera una de las principales proteasas involucradas en la proteólisis de proteínas mal plegadas. Esto lo podemos evidenciar por ejemplo en la bacteria *Escherichia coli* en donde aproximadamente el 50% de las proteínas mal plegadas son degradadas por la proteasa Lon ¹⁸.

Además de la función asociada a proteólisis, las proteínas Lon parecen estar involucradas en metabolismo y virulencia como lo propuso Hua C. y colaboradores (2020) al intervenir en la regulación transcripcional de algunos genes de virulencia en respuesta a diferentes señales externas en *Pseudomonas syringae* ¹⁹.

Estudios recientes realizados por Muselius B et al (2020), revelan algunas nuevas funciones de la proteasa Lon en *Klebsiella pneumoniae*, resulta que dicha bacteria en ambientes o entornos limitados ya sea en nutrientes o en el entorno de un hospedero en la infección, secreta sideróforos, para la adquisición de hierro, lo cual son factores importantes en la virulencia de la bacteria, debido a que durante la infección inducen la secreción de interleucina-6, CXCL1 y CXCL2, ayudan con la diseminación bacteriana al bazo y estabilizan el factor 1a inducible por hipoxia (HIF-1a). En este estudio se informó la presencia de la proteasa Lon de forma extracelular en respuesta de la bacteria a un ambiente bajo en niveles de hierro, dicha proteasa podría desempeñar un papel en la degradación de las proteínas del huésped para liberar hierro y otros iones metálicos escasos en el entorno circundante, esto como una posible nueva función de la proteasa en casos de limitación de nutrientes como el hierro, una función no clásica en este tipo de proteasas. Además también se propone que la proteasa Lon pudiese degradar las proteínas del huésped perjudiciales para la bacteria o degradar las proteínas del huésped para promover la invasión del patógeno, esto atribuyendo como un posible nuevo factor de virulencia a la proteasa Lon en *Klebsiella pneumoniae* ²⁰.

Por otro lado, en *Shigella flexneri* se ha encontrado que la proteasa Lon es la responsable de la regulación de los sistemas de toxina-antitoxina (TA) del plásmido de invasión pINV, estos sistemas TA dan estabilidad al plásmido en las diferentes temperaturas experimentadas por la bacteria. Los sistemas de toxina-antitoxina (TA) de tipo II requieren la acción de una proteasa específica para degradar la antitoxina, en este caso el sistema de TA en *Shigella flexneri* se rige por la actividad de la proteasa Lon. Por lo tanto, los autores examinaron el impacto de Lon sobre la estabilidad del plásmido. Encontrando que la delección de la proteasa Lon desestabilizó el plásmido de virulencia y anuló el efecto de mutaciones en los loci del sistema TA, demostrando que la acción de los principales sistemas pINV TA de *Shigella flexneri*, VapBC y GmvAT, se basan en la actividad de la proteasa Lon ²¹.

Algunos autores como Lantz (2006) afirman que las proteasas son consideradas factores de virulencia cuando estas actúan sobre el tejido del huésped al dañar las células y proteínas del mismo, al inducir la activación de proteasas endógenas del huésped que tienen como repercusión daño al propio organismo, al inactivar distintos mediadores del sistema inmune importantes para la defensa del huésped, y finalmente, por ser proteínas necesarias para la producción de otros factores de virulencia del microorganismo ⁵⁰.

Podemos encontrar también como anteriormente se mencionó a las proteasas de serina implicadas en la evasión de la respuesta inmune del huésped, donde según García et al (2019) se encuentran interfiriendo tanto a nivel de la inmunidad innata, como de la inmunidad adaptativa. Estas alteraciones van desde la degradación de compuestos antimicrobianos, hasta eventos de defensa más sofisticados como la inactivación de la cascada del complemento, en la que la destrucción de las proteínas C3, C3b y C5 (glucoproteínas que al activarse de forma secuencial, producen una serie de reacciones con la finalidad de destruir la célula diana) o las alteraciones en C5, favorecen la sobrevivencia de estos organismos en el huésped ⁵¹.

2.2 Marco teórico

2.2.1. *Acinetobacter baumannii*: características generales

Acinetobacter baumannii ha sido descrito como un cocobacilo pleomórfico corto gramnegativo, estrictamente aeróbico, catalasa positivo, oxidasa negativo, no fermentador y no móvil. Produce a 37 °C colonias mucoides lisas, de color blanco grisáceo, en medios sólidos comúnmente utilizados para fines de diagnóstico, como agar sangre de oveja y agar tripticasa de soja ¹⁹.

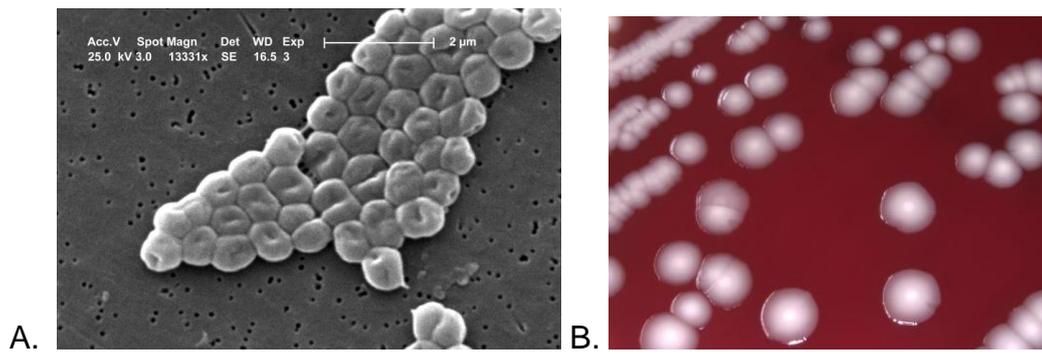


Figura 1. Características microscópicas y macroscópicas de *Acinetobacter baumannii*. A. Fotografía obtenida mediante microscopio electrónico de barrido (SEM) de *A. baumannii* ⁶⁵. B. Colonias de *Acinetobacter baumannii* en agar sangre ⁶⁶.

A diferencia de otras especies de *Acinetobacter* que se aíslan con frecuencia del suelo, el agua y algunos animales, *Acinetobacter baumannii* se encuentra casi exclusivamente en el entorno hospitalario, particularmente en las unidades de cuidados intensivos (UCI) ².

A pesar de su asociación con infecciones cutáneas, *Acinetobacter baumannii* se ha encontrado sólo en raras ocasiones como parte de la microbiota normal de la piel, y un estudio estima que solo el 3% (como máximo) de la población está colonizada por la bacteria. El tracto respiratorio, la sangre, el líquido pleural, el tracto urinario, las heridas quirúrgicas, el SNC, la piel y los ojos pueden ser lugares de infección o colonización ²⁸.

2.2.2. Enfermedades ocasionadas por *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii está asociado a una alta mortalidad y principalmente se encuentra en pacientes hospitalizados que están conectados a respiradores (ventiladores), dispositivos como catéteres, con heridas abiertas de cirugía, que están en unidades de cuidados intensivos y con estadías prolongadas en el hospital ²⁸.

Acinetobacter baumannii se encuentra involucrado en infecciones del torrente sanguíneo en entornos médicos por catéteres vía intravenosa o vía respiratoria como fuente de contagio, y la bacteriemia que puede ser más frecuente en pacientes con cáncer y neutropenia ³⁰. También se ha aislado de tejidos blandos en pacientes con quemaduras graves, heridas o traumatismos, por ejemplo, heridas de guerra o víctimas de desastres naturales ²⁵. En recientes investigaciones se ha demostrado que las infecciones de tracto urinario son provenientes de catéteres urinarios permanentes y una de cada cinco cepas produce la infección en tracto urinario, finalmente también puede ocasionar meningitis con una alta tasa de mortalidad ²⁸. Por otro lado, también se encuentra implicado en infecciones de tracto respiratorio inferior en pacientes en estado crítico, especialmente en aquellos con neumonía asociada a ventiladores ²⁹.

Además de las IAAS, *A. baumannii* también ha sido asociado a infecciones comunitarias, siendo el shock y la bacteriemia los síndromes clínicos más prevalentes en pacientes respecto a la mortalidad con alguna patología de base como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), diabetes mellitus e insuficiencia renal y también fibrosis quística, cabe destacar que en la mayoría de casos se describen las infecciones respiratorias como enfermedad predisponente para la adquisición de la bacteria ^{28,30}.

2.2.3. Tratamiento y resistencia

Se han implementado terapias de combinación que consiste en suministrar dos o más antibióticos para lograr una efectividad, los estudios muestran que inicialmente resultó exitosa la combinación de rifampicina y colistina, pero en estudios más recientes realizados por la universidad de Oxford mostraron poca efectividad en infecciones

graves por *A. baumannii* XDR la implicación clínica de este hallazgo recomienda no agregar rifampicina a la colistina en práctica clínica ⁴². Sin embargo, se ha visto que la terapia de combinación entre colistina y carbapenem mostró mejores resultados en infecciones por *Acinetobacter baumannii* extremadamente resistente a los fármacos en comparación a la monoterapia con colistina.⁴³

En estudios realizados previamente por Poulikakos P et al (2014) y Schmid A et al (2019) se ha comprobado una mayor efectividad en el uso de las dianas de estos fármacos, en cuanto a la mortalidad presentada en pacientes utilizando estas dos opciones, deduciendo que lo ideal sería no usar en lo posible la terapia combinada, ya que hay una mayor probabilidad de desarrollarse una resistencia bacteriana, esto debido a que la monoterapia consiste en la administración de un solo fármaco y en la terapia combinada de dos o más fármacos ³³.

Desde hace algunos años se implementa también el uso de la colistina para organismos altamente resistentes a fármacos como lo son *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* ²⁸. Aunque a pesar de los grandes esfuerzos, recientemente se han encontrado genes de resistencia para la colistina en *Acinetobacter baumannii* lo que genera un problema en salud por la falta de antibióticos efectivos para el tratamiento y al gran número de los mismos a los cuales ya se presenta un porcentaje de resistencia bastante preocupante ³⁴.

Acinetobacter baumannii está clasificado por la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas como uno de los seis microorganismos patógenos multirresistentes alrededor del mundo con tasas alarmantes de resistencia a antibióticos reportadas a nivel mundial ²⁶. Esta resistencia puede estar derivada a diferentes factores o procesos del microorganismo tales como la síntesis de enzimas inactivadoras del antibiótico o debido a mecanismos no enzimáticos, también por transferencia horizontal de elementos genéticos móviles que transportan genes de resistencia como los plásmidos, que confiere un fenotipo de resistencia a diversos fármacos ²⁷.

En la actualidad una importante proporción de los aislamientos de *Acinetobacter baumannii* son resistentes a los carbapenémicos ⁴¹. Las tasas de resistencia a los

carbapenémicos superan el 90% en algunas partes del mundo y los antimicrobianos usados actualmente para combatir estas cepas de *A. baumannii* resistentes a los carbapenémicos (como polimixinas, tigeciclina, aminoglucósidos) difícilmente están cerca de ser opciones terapéuticas ideales debido a sus propiedades farmacocinéticas y el incremento cada vez más frecuente de sus tasas de resistencia³⁵. En Colombia la resistencia de *Acinetobacter baumannii* a los carbapenémicos supera el 50% lo que resulta en una situación preocupante¹⁶.

Acinetobacter baumannii XDR es aquella bacteria con la capacidad de resistencia a todos los agentes de las categorías de antibióticos, aunque susceptibles al menos a dos categorías, su importancia intrahospitalaria se debe a su grado de resistencia y que muestran cifras de mortalidad en las unidades de cuidados intensivos (UCI) del 10% al 42%, y en hospitalización, del 7,8% al 23%, respectivamente¹⁶.

Acinetobacter baumannii emplea diferentes mecanismos de resistencia a los antibióticos, dentro de los cuales se han descrito la degradación mediada por enzimas (betalactamasas), las manipulaciones genéticas (mutaciones, adquisición o abandono de un gen, regulación positiva o negativa de la expresión génica) y bombas de eflujo, para los diferentes tipos de antibióticos que se han utilizado en esta bacteria³⁶.

También estos mecanismos de resistencia pueden ser clasificados dependiendo del tipo o familia de antibióticos usados, de entre los cuales, los más importantes están exhibidos en la (Figura 2), dentro de los cuales se encuentran:

- **Degradación por β -lactamasas:** 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. Entre las betalactamasas, la cefalosporinasa ampC o la betalactamasa de clase molecular C es más prevalente en *Acinetobacter baumannii*.
- **Resistencia a las quinolonas:** adquirida principalmente mediante mutaciones en los genes gyrA y parC, que resulta en cambios fenotípicos en el ADN girasa y la topoisomerasa IV, lo que lleva a la afinidad fármaco reducida.

- **Resistencia a los aminoglucósidos:** principalmente mediante la modificación del grupo amino o hidroxilo por enzimas modificadoras de aminoglucósidos. Se han identificado en *Acinetobacter* todos los tipos de enzimas modificadoras de aminoglucósidos (adenilasas, acetilasas, metiltransferasas y fosfotransferasas). La reducción de la entrada del fármaco y la alteración de la proteína ribosómica diana son los otros mecanismos implicados en la resistencia a los aminoglucósidos.
- **Mecanismos de resistencia a la colistina:** estos mecanismos 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. Detecta las condiciones ambientales (pH, Mg²⁺ y Fe³⁺) y, en respuesta, regula la expresión de genes implicados en la síntesis de lípidos⁸.

37.

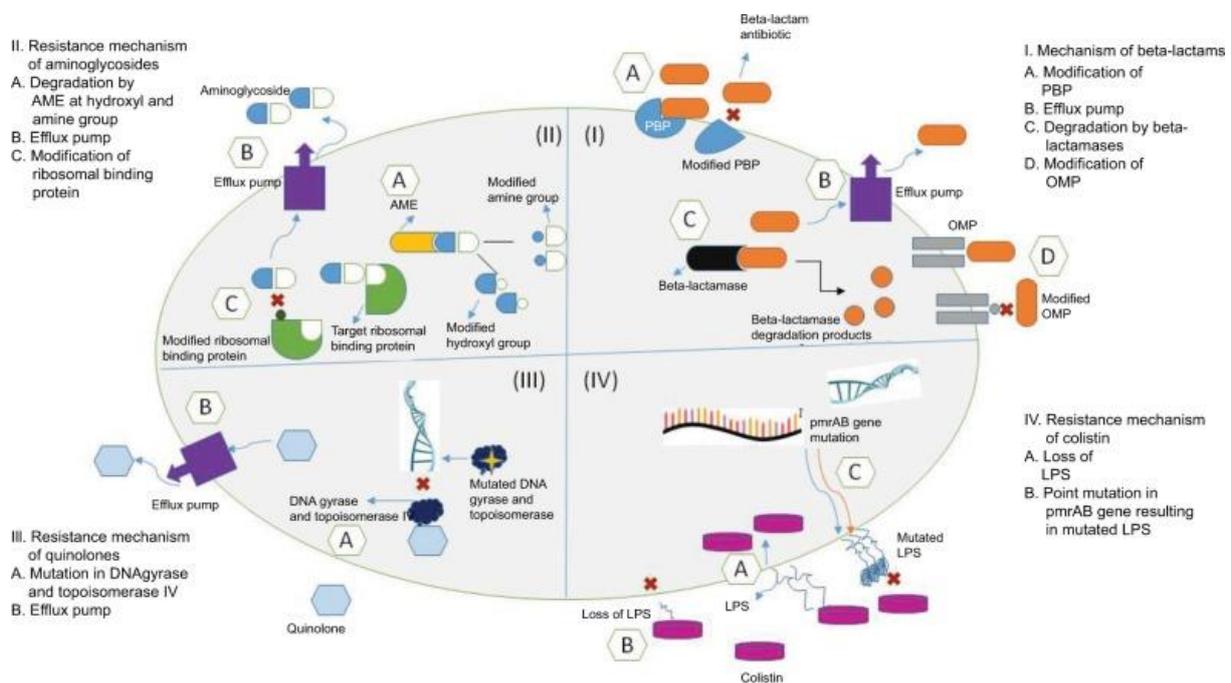


Figura 2. Diferentes mecanismos de resistencia en *A. baumannii*: (I) betalactámicos; (II) aminoglucósidos; (III) quinolonas; (IV) colistina ⁸.

2.2.4. Búsqueda de nuevos medicamentos para el control de *A. baumannii*

Acinetobacter baumannii ha sido declarado por la OMS como el patógeno de máxima prioridad para el desarrollo de fármacos junto a otros patógenos.³⁸ Es por eso que nuevos candidatos están siendo estudiados como es el caso del cefiderocol que ha presentado actividad antimicrobiana debido a que es una cefalosporina sideróforo de amplio espectro de actividad contra patógenos Gram negativos y está en fase III de desarrollo; otro medicamento que ha mostrado un efecto antimicrobiano promisorio es la eravaciclina que es una nueva fluorociclina de la clase de las tetraciclinas; fue desarrollado para uso intravenoso y oral y tiene una actividad de amplio espectro contra patógenos aerobios y anaerobios Gram-negativos y Gram-positivos ³⁹. El mecanismo de cefiderocol consiste principalmente en una actividad antibacteriana - bactericida produciendo la inhibición de la síntesis de la pared celular de bacterias Gram negativas mediante la unión a proteínas de unión a penicilina tiene una particularidad de entrar al espacio periplásmico resultado de su propiedad de tipo sideróforo y tiene una mayor estabilidad frente a las β -lactamasas ⁴⁰.

Por otro lado, además de los fármacos, el uso de bacteriófagos líticos, que logran infectar a la bacteria y posteriormente causar lisis celular, como una posible alternativa terapéutica para el control de *A. baumannii*, especialmente en cepas resistentes a carbapenémicos está siendo estudiada; investigaciones hechas en ratones infectados con *A. baumannii* y tratados con el fago SH-Ab15519 por vía intranasal, han mostrado de manera eficaz el control de la infección pulmonar letal causada por *Acinetobacter baumannii* en los ratones tratados ⁴⁴.

2.2.5. Estudio de Proteasas Lon como posible blanco terapéutico

Inicialmente se puede definir a un blanco terapéutico o diana molecular como una molécula presente en un organismo, generalmente una proteína o biomolécula, que está intrínsecamente asociada con un proceso biológico particular y que podría ser tratada por un medicamento o sustancia para producir un efecto terapéutico deseado³⁴.

Recientemente se han estudiado diversas terapias o tratamientos alternativos como solución a la infección por algunos tipos de bacterias Gram negativas, que ha implicado el empleo de inhibidores en las proteasas de interés en estas bacterias como tratamiento, al evitar un desbalance en la actividad proteolítica de estas enzimas, o trabajando en la síntesis de sustratos imitadores que puedan actuar de forma competitiva en el sitio activo de la enzima, bloqueando o limitando así la renovación normal del sustrato de la misma.²³

Como también lo menciona Raju R et al, las proteasas se han dirigido con éxito para el tratamiento de varias enfermedades, incluida la hipertensión, la diabetes tipo 2, el mieloma múltiple, el VIH y las infecciones por el virus de la hepatitis C, dada la capacidad farmacológica demostrada de esta familia de enzimas y la urgente necesidad de nuevos fármacos para combatir la resistencia a los antibióticos, las proteasas también han atraído interés como dianas antibacterianas, en particular las proteasas degradativas bacterianas intracelulares ampliamente conservadas, que a menudo son indispensables para el crecimiento bacteriano normal o la virulencia, y que hoy en día no se tiene aún ningún antibiótico disponible dirigido a estos complejos de proteasa en las bacterias que comparten estos sistemas de proteólisis²⁴.

Se han considerado como posibles blancos terapéuticos algunas proteasas producidas por microorganismos patógenos que en algunos casos actúan a nivel del propio microorganismo para regular la expresión de factores de virulencia, estos mecanismos de regulación son necesarios para permitir las condiciones de adaptación a su huésped, haciendo de ellas una buena opción para enfocar estudios futuros¹⁴.

Se han estudiado múltiples inhibidores para la proteína Lon en diferentes organismos, uno de estos realizados por Bayot. A et al, muestra cómo la proteasa Lon en humanos es homóloga en *Escherichia coli* y se hicieron estudios para inhibidores de proteasa

Lon y proteosoma en humanos, como resultado se han establecido múltiples inhibidores para la proteasa Lon basándose en inhibidores de proteosoma, en el estudio realizado encontraron posibles candidatos para inhibidores de proteasa Lon utilizando algunos inhibidores de proteosoma humanos, en los estudios encontraron que los inhibidores que eran efectivos en proteosoma eran poco efectivos en proteína Lon. Se encontraron que los inhibidores como los derivados cumarínicos son inhibidores de proteasa eficientes versátiles, no peptídicos y de bajo peso molecular, por otro lado, también fueron muy eficientes el péptido aldehído MG132 y péptido boronato MG262. Estos inhibidores tienen la particularidad de ser específicos para proteasa Lon y la interferencia de proteosoma no será inconveniente ²⁵.

Dentro de las alternativas que se tienen y se han estudiado actualmente se tienen múltiples opciones para combatir a *Acinetobacter baumannii* como lo son la generación de prototipos de vacunas como el que plantean Hosseingholi E et al en donde entre 18 proteínas investigadas in silico los resultados mostraron que 7 proteínas implicadas en la regulación transcripcional, ensamblaje de pilus, catabolismo de proteínas, biosíntesis de ácidos grasos, adhesión, catálisis de urea e hidrólisis de monoésteres de fosfato, tienen un potencial teórico de participación en la supervivencia y patogénesis exitosa de *A. baumannii*, además, los análisis inmunológicos con software de predicción indicaron que 4 proteínas hipotéticas eran probables candidatos a vacunas lo que propone nuevos caminos y alternativas hacia nuevas terapéuticas a través de investigaciones experimentales, que podrían ser muy útiles a futuro ²⁶.

Culp E y Wright G describieron el potencial y el progreso reciente en el desarrollo de compuestos que se dirigen a las proteasas bacterianas con un enfoque en los complejos proteolíticos de la familia AAA + y las peptidasas señal (SP), la proteasa caseinolítica (ClpP) que pertenece a la familia de proteasas AAA +, un grupo de complejos multiméricos en forma de barril cuya actividad está estrechamente regulada por las ATPasas AAA + asociadas. La oportunidad de perturbación química de estos complejos está demostrada por compuestos que se dirigen a ClpP para su inhibición, activación o perturbación de su ATPasa asociada. Mientras tanto, las peptidasas señal también son un objetivo antibiótico comprobado, responsables de la escisión de los péptidos dirigidos durante la secreción de proteínas, tanto las SP de tipo I como los

de tipo II han sido dirigidos con éxito por inhibidores químicos, una metodología que también podría ser aplicada a otros tipos de proteasas bacterianas, tales como en este caso la proteasa Lon para tratar microorganismos como *Acinetobacter baumannii*²⁷.

2.2.6. Proteasa Lon en *Acinetobacter baumannii*, función y clasificación.

Las proteasas, son máquinas proteolíticas que ayudan en el control de calidad de proteínas, donde degradan proteínas mal plegadas o dañadas evitando una agregación, y que también son usadas en circuitos reguladores principalmente en células procariontas que permiten la degradación de proteínas funcionales, porque ya no son necesarias. La destrucción de proteínas es irreversible por ello su control debe ser muy específico para no generar su destrucción innecesaria^{33, 45}.

La mayoría de las proteasas pertenecientes a esta familia comparten un dominio de ATPasa y un dominio de proteasa C-terminal, en el estudio realizado por Pei J et al (2016) se recreó el árbol filogenético de la bacteria *Methanobrevibacter smithii* con miembros Lon previamente estudiados de LonA (humano, levadura, *E. coli*) y subfamilias de LonB (algunos extremófilos) donde los resultados indicaron que todas aquellas proteínas de especies similares se derivaron de un ancestro común. También analizaron los dominios enzimáticos utilizando una herramienta de investigación de arquitectura modular simple (SMART) en conjunto con los organismos hallados en la relación evolutiva (Figura 3), revelando que todos comparten un dominio de ATPasa y un dominio de proteasa C-terminal²².

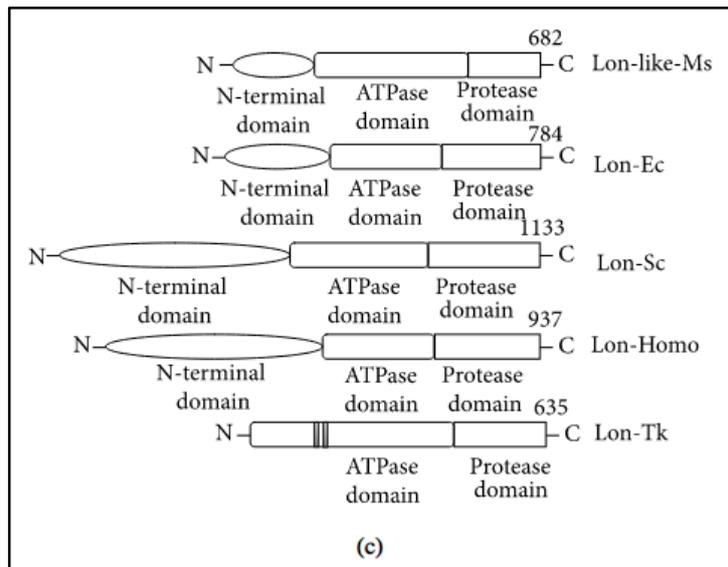


Figura 3. Dominios putativos de proteasas Lon de *M. smithii* (Lon-like-Ms y WP_011954752), *E. coli* (Lon-Ec, WP_001295325.1), levadura (Lon-Sc, NP_009531.1), humano (Lon-Homo, NP_004784.2) y *T. kodakarensis* (Lon-Tk, WP_011250215.1).

Se ha demostrado en estudios como el de Ching et al (2018) la asociación de la proteasa Lon en el proceso de formación de biopelículas en *Acinetobacter baumannii*, esto debido a que pueden contribuir a mantener la síntesis equilibrada del lipopolisacárido, además de también ayudar a mantener en óptimas condiciones características morfológicas como la envoltura celular, esto lo concluyeron los autores luego de hacer pruebas con cepas mutantes de *Acinetobacter baumannii* carentes de la proteasa Lon, en donde se logró evidenciar falencias en las características anteriormente mencionadas, como alteración en la envoltura celular y en su capacidad de formar cápsula bacteriana generando cápsulas aumentadas y defectuosas, así como la incapacidad de adherencia a la superficie ⁴⁶.

2.2.7. Biología computacional en el diseño racional de fármacos

La finalización del proyecto del genoma humano abrió un camino al descubrimiento de nuevas dianas terapéuticas para describir fármacos, asimismo se han desarrollado técnicas tales como la purificación de proteínas, cristalografía y espectroscopía de resonancia magnética nuclear, que han dado lugar a la investigación de las

características estructurales de proteínas y los complejos proteína-ligando, esto ha permitido la predicción por medio de estrategias computacionales de características importantes en la búsqueda de fármacos novedosos y actuales. La caracterización de forma *in silico* de estas dianas terapéuticas ha permitido la asertividad y optimización de dichos fármacos, además de bajar los costos experimentales. El método más empleado en acoplamiento molecular es aquel basado en la estructura. El desarrollo de programas basados en algoritmos ha permitido la evolución del docking molecular permitiendo que se vuelva cada vez más importante en la investigación farmacéutica ⁴⁷.

Se sabe actualmente que las metodologías computacionales se han convertido en un componente crucial de muchos estudios de descubrimiento de fármacos, el proceso de acoplamiento o docking molecular implica la predicción de la conformación y orientación del ligando (o posición) dentro de un sitio de unión dirigido ⁴⁸. En general, los estudios de acoplamiento tienen dos objetivos: el modelado estructural preciso y la predicción correcta de la actividad. Como mencionan Kitchen et al el docking o acoplamiento molecular son enfoques computacionales que "acoplan" moléculas pequeñas en las estructuras de moléculas de mayor tamaño tales como proteínas, lípidos o ácidos nucleicos y "puntúan" su complementariedad potencial con los sitios de unión en estas moléculas, además mencionan que los cálculos de acoplamiento se han aplicado en la investigación farmacéutica durante casi dos décadas ⁴⁹.

En el docking molecular se tienen diferentes estrategias de búsqueda e identificación de ligandos; como el cribado virtual en plantillas de proteínas, que difiere de los métodos de cribado virtual basados en ligandos y similitud molecular, y provee una oportunidad para la identificación de nuevos compuestos activos, además de mencionar que la interacción entre las funciones de acoplamiento y puntuación mediante este proceso son bastante complejos, pero que a menudo es más fácil producir modelos fiables de ligandos unidos, que distinguir ligandos "verdaderos" de falsos positivos, lo que puede abrir una ventana de probabilidades en el uso de esta metodología ³⁹.

En un estudio realizado por Spyraakis F. et al se evaluaron inhibidores para betalactamasas y carbapenemasas, mediante análisis *in silico* por medio de bioinformática y ensayos in vivo, se inició con la búsqueda de ligandos para CTX-M-

15 ESBL y KPC-2 carbapenemasa, y de NDM-1 y VIM-2 MBL, se utilizaron 60 moléculas para inhibir las 4 enzimas mencionadas por ensayos enzimáticos. Se usó el protein data bank (PDB), FLAP S-score para hacer la selección e identificación. Finalmente, los resultados más altos de inhibición fueron encontrados en compuestos como derivados de sulfonamida y tetrazol ⁵².

En otros estudios se realizó la identificación computacional de la proteína LipU como un blanco terapéutico en *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium leprae* la cual es esencial para la supervivencia de estas dos bacterias, se optó por usar Lip U como un objetivo farmacológico y se incursionó en la búsqueda de medicamentos aptos por la FDA como inhibidores de Lip U, para ello se establecieron y estabilizaron estructuras tridimensionales 3D de Lip U en *Mycobacterium leprae* y Lip U *Mycobacterium tuberculosis* por medio de la dinámica molecular que permite la interacción entre átomos y moléculas. Luego para escoger los fármacos que presentaron afinidad e inhibición implementaron Glide Xp en Lip U en *Mycobacterium leprae* los fármacos con mejores resultados fueron digoxina, Indinavir y Travoprost, por otro lado, en *Mycobacterium tuberculosis* Diosmina, Acarbosa y Ouabain. También se utilizó Prime / MM-GBSA para evaluar la unión ligando receptor; que tanta afinidad pueden presentar y de esta manera se evaluó la alta posibilidad que poseen los medicamentos estudiados para destruir LipU. Por último, se sugiere la alta probabilidad de estos medicamentos como candidatos para combatir la tuberculosis y la lepra ⁵³.

Se han adelantado también estudios direccionados hacia el uso del docking molecular como herramienta importante en la inhibición de proteasas bacterianas, tal como lo proponen Nitulescu G et al en un estudio de posibles inhibidores a utilizar para la sortasa A (SrtA), una proteasa de *Staphylococcus aureus* a partir de moléculas bioactivas derivadas de plantas naturales, moléculas como los flavinoides y las cumarinas, antraquinonas y alcaloides conocidos previamente por sus propiedades antimicrobianas ⁵⁴.

También se han realizado estudios de este tipo utilizando compuestos naturales en acoplamiento molecular para *Acinetobacter baumannii* tal como lo describen Skariyachan S et al en un estudio que se centró en la detección de nuevos fitoterápicos frente a objetivos prioritarios de *Acinetobacter baumannii* mediante

investigación computacional, como resultado el cribado computacional sugirió que Ajmalicine, Strictamin y Limonin exhibieron una unión prometedora hacia múltiples blancos terapéuticos de *A. baumannii* en comparación con la unión entre los fármacos estándar y sus objetivos ⁵⁵.

Se han descrito también estudios utilizando docking molecular evaluando la inhibición de otros mecanismos característicos de *Acinetobacter baumannii* como lo son las bombas de eflujo, las cuales son claves dentro del proceso de resistencia bacteriana, como lo investigan Verma P et al en un estudio en donde se enfocan en superar la resistencia a los fármacos mediante la identificación de inhibidores que pueden unirse e inhibir eficazmente la proteína de membrana integral AdeB de esta bomba de salida. Como resultado el cribado virtual de alto rendimiento *in silico* y la validación de MDS identificaron el compuesto ZINC01155930 como posible inhibidor de AdeB ⁵⁶.

En últimos estudios con compuestos derivados del carbono y utilizando modelos de docking molecular se han encontrado resultados también de posibles inhibidores en dianas moleculares de *Acinetobacter baumannii* como es en el estudio de Skariyachan S et al, basados en el rol funcional de los genes 36 y 86 que están involucrados en la formación de biopelículas de *A. baumannii* y *P. aeruginosa* respectivamente, se seleccionaron y la red metabólica se construyó computacionalmente. Como resultado se obtuvo que el fullereno de carbono mostró una capacidad de unión significativa a la mayoría de los objetivos priorizados en comparación con la unión de los antibióticos de último recurso y su objetivo habitual, lo que puede demostrar como este y anteriores estudios mencionados hacen del docking molecular una posible técnica a utilizar en este estudio, frente a la búsqueda de posibles inhibidores de la proteasa Lon en *Acinetobacter baumannii* ⁵⁷.

3. Bases legales

En la resolución N° 008430 de 1993 del ministerio de salud de la República de Colombia, la investigación que será desarrollada, según estipula el artículo N° 67 de la misma resolución, no representaría un riesgo biológico, ya que se llevará a cabo una simulación con la ayuda de herramientas bioinformáticas (*in silico*) y estas a su vez no realizan manipulaciones a microorganismos patógenos en los laboratorios (*in vitro*), lo que la clasificaría dentro del grupo de riesgo del literal a del presente artículo; GRUPO DE RIESGO I: Microorganismos que representan escaso riesgo para el individuo y para la comunidad. El artículo N° 87 indica en lo posible no hacer uso de organismos vivos (animales) y de esta manera optar por usar métodos alternativos como los modelos matemáticos, simulación en computador (bioinformática) y sistemas biológicos *in vitro*, siguiendo así los lineamientos propuestos por las autoridades de salud para el fin de la presente investigación ⁵⁸.

4. Materiales y métodos

Se utilizaron plataformas y bases de datos de internet como Uniprot, Protein Data Bank y GenBank que son bancos de secuencias proteicas para la búsqueda de la secuencia de la proteasa Lon de *Acinetobacter baumannii* para este trabajo, frente a estas alternativas se obtuvieron resultados satisfactorios, ya que se cumple con uno de los objetivos de la investigación, para ello, se emplea netamente la bioinformática utilizando softwares que contribuyan a encontrar las secuencias. Además de utilizar un software o programa adecuado para realizar el análisis de acoplamiento molecular y especificidad de unión del o los compuestos o ligandos encontrados inhibiendo la actividad de la proteína Lon de *Acinetobacter baumannii*.

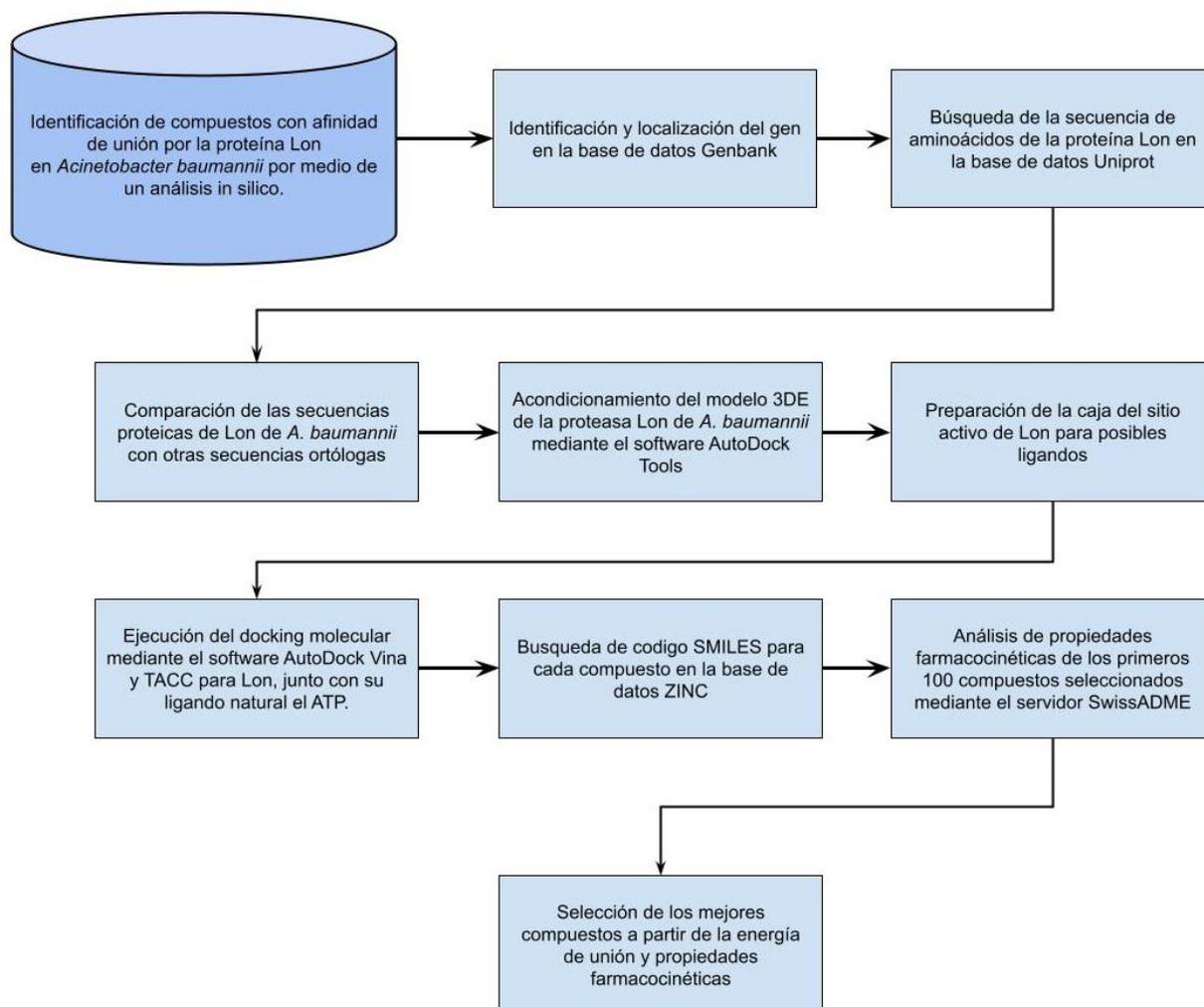


Figura 4. Flujo de actividades a desarrollar en la ejecución del proyecto.

5.1. Identificación y localización del gen que codifica para la proteína Lon de *A. baumannii* mediante estudios *in silico*.

Para la búsqueda se utilizó la base de datos GenBank de NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), en este caso se utilizó a *Acinetobacter baumannii* cepa AB 307-0294 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/CP001172.2>), y se buscó en el apartado “nucleótidos” con el fin de buscar la secuencia de nucleótidos que codifican para la proteína dentro del genoma de la bacteria.

5.2. Búsqueda de la secuencia de aminoácidos de la proteína Lon.

Para obtener la secuencia de aminoácidos de la proteína, en este caso la proteasa Lon, se utilizó la base de datos UniProt (<https://www.uniprot.org/>). Posteriormente la base de datos arrojó los resultados encontrados para proteasa Lon, se dan inicialmente unas entradas no específicas de la proteasa Lon, para luego filtrar la búsqueda mediante un segundo buscador dentro de la plataforma donde se introdujo el nombre del organismo, en este caso *Acinetobacter baumannii* (<https://www.uniprot.org/uniprot/B7GXS7>).

Se obtuvo la secuencia aminoacídica de la proteína Lon en formato “FASTA” para posteriormente realizar la búsqueda de proteínas que tuvieran afinidad o que fueran posibles ortólogos u homólogos (Bacterias, Humanas, otros microorganismos etc.) de la proteína en cuestión, para lo cual se procedió a utilizar la herramienta de “BLAST” de la base de datos NCBI, la cual es una herramienta básica de alineación local que encuentra regiones de similitud entre secuencias biológicas, en este caso comparando secuencias de proteínas con bases de datos de secuencias y calculando la significación estadística. Una vez dentro de la página de la herramienta BLAST se configuraron los filtros de la búsqueda, excluyendo al género *Acinetobacter* e incluyendo dentro de la búsqueda taxones de bacterias y de humanos, para poder así encontrar proteínas ortólogas a la proteína Lon de *Acinetobacter baumannii*.

5.3. Características generales de la proteína Lon en *Acinetobacter baumannii*

Para las propiedades físicas y químicas tales como: el peso molecular, el índice de estabilidad, el punto isoeléctrico, el tiempo de vida y el índice alifático de la proteasa Lon se ingresó a ExPasy (<https://www.expasy.org/>) donde se encontró un programa llamado ProtParam (<https://www.expasy.org/resources/protparam>) para encontrar dichas propiedades .

5.4. Alineamiento múltiple entre secuencias de proteínas Lon (*A. baumannii*, humanas u ortólogas).

Se eligieron 4 proteínas de las obtenidas mediante la herramienta BLAST con los mayores porcentajes de identidad o similitud con la proteasa Lon (desde 50% hasta 100%), se descargaron sus secuencias en formato FASTA y se procedió a utilizar el

servidor de CLUSTAL OMEGA (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>) esto con la finalidad de realizar un alineamiento múltiple de las secuencias. También se utilizó el programa MultAlin (<http://multalin.toulouse.inra.fr/multalin/>) para el alineamiento múltiple de secuencias como programa de soporte y comparación frente a los resultados de ambos programas utilizados.

Luego de realizado el alineamiento múltiple de secuencias se procede a buscar los dominios y motivos dentro de las secuencias proteicas alineadas, para ello se utilizaron dos herramientas ScanProsite (<https://prosite.expasy.org/scanprosite/>) y Pfam (<http://pfam.xfam.org/>) que permiten identificar los dominios y sitios activos de las proteínas y los motivos o residuos específicos donde se da la actividad principal en cada secuencia proteica, uno de los objetivos más importantes dentro de la investigación, más específicamente en la secuencia de la proteasa Lon.

5.5. Predicción y modelamiento de estructuras de la proteína Lon de *A. baumannii*.

Para realizar el modelamiento de la estructura secundaria se utilizó la herramienta GOR IV (https://npsa-prabi.ibcp.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_gor4.html), la cual permitió determinar el porcentaje de láminas β y α hélices que presentó la proteasa Lon en *A. baumannii*. Para realizar el modelamiento de la estructura terciaria se utilizó la herramienta SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/>). La calidad del modelo obtenido se analizó con base en los parámetros de GMQE score y QMEAN Z-score. GMQE (Estimación de la calidad del modelo global) es una estimación de la calidad que combina las propiedades de la alineación objetivo-plantilla y la estructura de la plantilla. La puntuación GMQE resultante se expresa como un número entre 0 y 1, lo que refleja la precisión esperada de un modelo construido con esa alineación y plantilla, normalizada por la cobertura de la secuencia objetivo. Los números más altos indican una mayor confiabilidad. Por otro lado, el QMEAN Z-score proporciona una estimación del "grado de natividad" de las características estructurales observadas en el modelo a escala global (Benkert et al) ⁵⁹. Indica si la puntuación QMEAN del modelo es comparable a lo que cabría esperar de estructuras experimentales de tamaño

similar. Las puntuaciones Z de QMEAN alrededor de cero indican una buena concordancia entre la estructura del modelo y las estructuras experimentales de tamaño similar. Las puntuaciones de -4,0 o menos son una indicación de modelos con baja calidad ⁶⁰.

5.6. Validación del modelo estructural (3DE) y búsqueda de sitios activos/catalíticos.

El modelo estructural de la proteína en 3D previamente realizado fue validado mediante las herramientas ProSA-web (<https://prosa.services.came.sbg.ac.at/prosa.php>) y PROCHECK (<https://servicesn.mbi.ucla.edu/PROCHECK/>) ⁶¹

5.7. Búsqueda de compuestos con afinidad por la proteína Lon de *A. baumannii* mediante docking molecular.

5.7.1. Preparación de la proteína Lon y ligando natural para docking molecular.

Se preparó la proteína junto con el ligando natural en el programa AutoDock Tools, este ligando sirvió como referencia de unión a la proteína. Inicialmente se utilizó el modelo 3DE obtenido mediante SWISS-MODEL en formato .PDB en el programa AutoDock Tools, en donde se eliminaron las moléculas de agua, se agregaron hidrógenos polares y se guardó la proteína en formato PDBQT. Para establecer las coordenadas generales de la caja, se tomaron como referencia los aminoácidos del sitio de unión de nucleótidos 369 a 376, siendo X= 20Å, Y= 18Å y Z= 20Å en donde se unió el ligando natural. Y basado en el aminoácido Val³⁷³, se predijo el centro de la caja en X= 88Å, Y= 121Å, Z= 115Å.

El ligando natural adenosín trifosfato (ATP) se preparó también utilizando la herramienta AutoDock Tools agregándole hidrógenos polares y asignando enlaces rotativos. Tanto la proteasa Lon como su ligando natural ya acondicionados se guardaron en formato PDBQT para poder realizar el acoplamiento molecular.

5.7.2. Docking entre la proteína Lon y su ligando natural ATP.

Para poder obtener un punto de referencia de la energía de unión que pudiera haber entre la proteasa Lon y un ligando, se realizó un docking de la proteasa con su ligando natural, el adenosín trifosfato ATP, utilizando la herramienta AutoDock Vina.

5.7.3. Docking masivo entre la proteasa Lon de *Acinetobacter baumannii* y compuestos con potencial de unión a la proteasa.

Se utilizó una librería de compuestos comerciales similares a fármacos, la cual contiene 546.003 compuestos a partir de la base de datos ZINC disponible en el servidor TACC de la Universidad de Texas (<https://drugdiscovery.tacc.utexas.edu/#/>), para realizar la búsqueda de compuestos con potencial unión o afinidad por la proteasa Lon de *A. baumannii*. El docking se realizó sobre las mismas coordenadas anteriormente mencionadas y los resultados se clasificaron teniendo en cuenta las energías de unión de Lon proteasa. Se obtuvieron 1000 compuestos con energía de unión similar o superior a la obtenida entre la proteasa y su ligando natural (adenosín trifosfato ATP). De estos resultados fueron seleccionados los primeros 100 compuestos para poder realizar análisis de propiedades farmacocinéticas *in silico* ADMET (Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción y Toxicidad).

5.8 Predicción *in silico* de características farmacocinéticas de los mejores compuestos obtenidos.

Las propiedades farmacocinéticas ADMET (absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad) fueron predichas usando el servidor pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/>), el cual es una herramienta utilizada para predecir y optimizar las propiedades farmacocinéticas y de toxicidad de moléculas pequeñas que se basa en firmas gráficas basadas en la distancia, prediciendo 30 propiedades farmacocinéticas ADMET, de las cuales las más adecuadas e

importantes en el desarrollo de una molécula farmacológicamente eficaz fueron escogidas dependiendo de la división así: Absorción (Permeabilidad en las células de adenocarcinoma de colon humano (Caco-2), absorción intestinal humana (HIA), y Sustrato de glicoproteína P), en Distribución (unión a proteínas plasmáticas (PPB), paso a través de la barrera hematoencefálica (BBB)), en Metabolismo (inhibidor/sustrato de isoformas que hacen parte del complejo citocromo p450 (CYP450)), en Excreción (Sustrato de OCT2 Renal), y para Toxicidad (mutagénesis AMES, Inhibición de canales (hERG I,II), toxicidad oral aguda y hepatotoxicidad). Para llevar a cabo el análisis *in silico* se utilizaron los primeros 100 compuestos obtenidos del docking masivo con la biblioteca ZINC disponible en el servidor TACC de la Universidad de Texas que mostraron una energía de unión mayor a -7.0 Kcal/mol, la cual es superior a la mostrada por el ligando natural de Lon proteasa en el docking con la proteína.

5. Resultados

5.1. Identificación y localización del gen que codifica para la proteína Lon de *A. baumannii* mediante estudios *in silico*.

Posterior a la búsqueda, la base de datos NCBI arrojó los resultados encontrados para el genoma de *Acinetobacter baumannii* cepa AB 307-0294, permitió identificar una secuencia con 2430 nucleótidos que codifica para la proteína Lon como su producto principal. También se identificó la región dentro de todo el genoma donde se encuentra ubicado el gen Lon (Figura 5).

```

2736181 aaattagtc tttttcaac attttctatt gtcatgccc tgaattttt aaaatacaca
2736241 tcactataaa aaacatggca acctcgttgt cactcattag gactgcccgt gtctgaaatt
2736301 attatgaatg aaaaaactga cttagagcct caggttccaa gtgtattacc actattagcc
2736361 ttacgtgatg tgggtggtta tccacacatg cagattgccc tatttgggg tcgtgaaaaa
2736421 tcgatcaatg cagttgatgt ggctcgtaac agtgacaatt tagtattttt agttgcgcaa
2736481 aaagattcgc ttacagaaga aattgatcac gacaatttat accagtagcg tacagtcctt
2736541 aagattgtac aagtagttaa tcatgaaaa gatgaaaaact gcattaaagt acttattgaa
2736601 ggcttacatc gttctaagtt gaaaaaaatt atcgtgaaag atagtatttt gactgcccga
2736661 catgaattaa gtccaatgac gattaatgta gataaggcaa cgcaagaaac tcgtttacaa
2736721 gagttacgta acttatttgc tcaatagca gaagcaaaa tacgtaatcg acgtgaaactg
2736781 gttgctgctg ccaacaaaa cgaagattta ttgcaattga ttttcttctg agcaactcgt
2736841 gtgctctaa atattgaaat taagcagaaa ttttagaggt acgatgagtt tgaagctcat
2736901 ttgcaagagt tgatpacta cttgatgaat caatctgctg aacagcaaat tgagcaaatg
2736961 ttacatgaca gcgtgaaaacg ccaaatggaa aagaaccaac gtgaaactt tcaaatgaa
2737021 aaaatgaaag tcattcaacg tgaactttcc gacatgaatg gcggtgctga agatgacgtt
2737081 gctgaaatg agaaactct tgcagaactg gatttacctg aacagtagc taaaaagcc
2737141 gaagctgagt tccgtaaaact taaagcaatg cagcctgcat ctagtgaagc tgctgtgta
2737201 cgtactatc tagaagtgat tctagatagc ccatggaaca aagcagcaaa agtcagatt
2737261 aacctgaaca aagcgaaga gattcttgat gccgatcatt atggtcttga tgactttaa
2737321 gatcgtattg ttgagtacct agctgttcaa tcacgtgtga aaaaactcaa aggcctatc
2737381 cttgcttggg ttggacctcc aggggttggg aaaacttcc ttggtgaaat agtagcgaaa
2737441 gcaacaggtc gtaatttgt tcgatggcg cttggtggcg tacgtgatga agcagaaatt
2737501 cgtggacacc gtgtactta tattggtcgc atgccagga aaactgtgca gtcttaaca
2737561 aaagtgggtg tgaagaacc attgttcta ctgacgaaa ttgacaagat ggcacaagac
2737621 taccgtgggt atcctgctt tgcittgctt gaagtgctt atccatcaca aaacagtaag
2737681 ttcaacgac actattttaga tcttgatctt gaccttctg aagtgatgtt catctgact
2737741 gcaaacagca tgaatattcc agaagcctg ttggacctga tgaagttat tgcctaccg
2737801 ggttataccg aagatgaaaa agttaacatt gctgagcgtt acctgttcc taaagcaatt
2737861 aagaacaatg gcctacgtcc aaaagagta actattcatg aagaagcgt tcgtgacatt
2737921 gttcaacgct atacacgtga agctggcgtg cgtaattag aacgtgaaat ttctaaaatt
2737981 gcacgtaaag tcgtaaaaga agcagtaagt aaaaaacta aaaacttaca gcttgacgtt
2738041 acctctgcca atcttctga atacctaggt cccataaat ttgacttgg tatggcccga
2738101 gatgaagcac aagtagccg gttaaatggc ttggcatgga ctctgtagg tggtaattg
2738161 ctactattg aagttgcagc tgttaaaggt aaaggtaaat tcattacaac cggttactc
2738221 ggtgatgtaa tgaagaatc aattaccaca gcaatgactg tagtacgac acgtgccgat
2738281 gaacttggaa ttgaagcatc tgccttgaa gaaactgatg tacacgttca cttaactgaa
2738341 ggtgcaactc caaagatgg tccatctgct ggttagcgc taacaactgc actgtatca
2738401 gcatttactg gaattgcat tgcaccagat attgcaatga caggtgaaac aagcttaggt
2738461 ggtctgcca tgcgtatcgg tggcttgaag gagaaactt ttgctgcaca tcgtggggg
2738521 atcaagctcg tcttattcc tcaagataac gttcgtgatt tggcagaaat tccagacaat
2738581 gtgaaagaag gattagaat caaagctgtg aaaagcattg atgaaactt accttagca
2738641 ttaacttcca tgcctaaagc ttactctaaa acaccgattg taaaaccggt ggaaggctca
2738701 aaagcagcgc gtcactaatt tacatataaa aagagagggc ttcggctctc tttttttgt

```

Figura 5. Ubicación del gen Lon dentro de la secuencia genómica completa de *Acinetobacter baumannii*.

5.2. Búsqueda de la secuencia de aminoácidos de la proteína Lon.

La herramienta arrojó los resultados encontrados dentro de las bases de datos, en donde se pueden visualizar diferentes proteínas tanto humanas (Figura 6A), como bacterianas (Figura 6B), organizadas de acuerdo al porcentaje de identidad o similitud con la proteína problema, en este caso la proteasa Lon de *Acinetobacter baumannii*.

A.

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
lon protease homolog 2, peroxisomal isoform X2 [Homo sapiens]	Homo sapiens	362	362	39%	3e-114	51.40%	605	NP_079245.1
unnamed protein product [Homo sapiens]	Homo sapiens	361	361	39%	8e-114	51.09%	605	BAG57906.1
MDN1, midasin homolog (yeast), isoform CRA_a [Homo sapiens]	Homo sapiens	44.7	44.7	6%	0.004	50.98%	5596	FAW48545.1
midasin [Homo sapiens]	Homo sapiens	44.7	44.7	6%	0.004	50.98%	5596	NP_055426.1
midasin isoform X1 [Homo sapiens]	Homo sapiens	44.7	44.7	6%	0.004	50.98%	5499	XP_011533937.1
midasin isoform X3 [Homo sapiens]	Homo sapiens	44.7	44.7	6%	0.004	50.98%	4748	XP_024302150.1
midasin isoform X2 [Homo sapiens]	Homo sapiens	44.3	44.3	6%	0.004	50.98%	5242	XP_011533938.1
unnamed protein product [Homo sapiens]	Homo sapiens	501	501	63%	2e-168	44.77%	571	BAG51340.1
Substrate-free human mitochondrial LONP1 [Homo sapiens]	Homo sapiens	461	461	64%	2e-153	44.61%	527	TKSL_A

B.

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
DNA-binding ATP-dependent protease La [Klebsiella pneumoniae]	Klebsiella pneumoniae	1649	1649	100%	0.0	100.00%	809	SSW82602.1
endopeptidase La [Moraxellaceae bacterium]	Moraxellaceae bacterium	1556	1556	100%	0.0	95.06%	809	MBH2029639.1
endopeptidase La [Acinetobacter baumannii]	Acinetobacter baumannii	1548	1548	100%	0.0	94.56%	809	MBC9230554.1
endopeptidase La [Gammaproteobacteria bacterium]	Gammaproteobacteria bacte...	1524	1524	100%	0.0	93.57%	808	NO297081.1
endopeptidase La [Pseudomonadales bacterium RIFCSPHIGHO2_12_FULL_40_16]	Pseudomonadales bacteriu...	1521	1521	100%	0.0	93.83%	809	OHC24401.1
endopeptidase La [Moraxellaceae bacterium]	Moraxellaceae bacterium	1514	1514	96%	0.0	95.53%	783	MBH2001429.1
endopeptidase La [Acinetobacter lwoffii]	Acinetobacter lwoffii	1502	1502	100%	0.0	92.58%	808	NGP42014.1
endopeptidase La [Gammaproteobacteria bacterium]	Gammaproteobacteria bacte...	1501	1501	100%	0.0	92.58%	808	NLN58143.1
hypothetical protein ACD_6C00428G0005 [uncultured bacterium]	uncultured bacterium	1499	1499	100%	0.0	92.58%	808	EKE23555.1
endopeptidase La [Acinetobacter shaoyimingii]	Acinetobacter shaoyimingii	1496	1496	100%	0.0	92.21%	808	NHB58404.1
endopeptidase La [Acinetobacter wanghuuae]	Acinetobacter wanghuuae	1491	1491	100%	0.0	91.84%	808	MQW93327.1
endopeptidase La [Serratia sp. S1B]	Serratia sp. S1B	1450	1450	100%	0.0	89.00%	809	WP_116727322.1
endopeptidase La [Alkanindiges illinoisensis]	Alkanindiges illinoisensis	1266	1266	99%	0.0	76.95%	807	WP_134245533.1
endopeptidase La [Moraxellaceae bacterium]	Moraxellaceae bacterium	1266	1266	99%	0.0	76.83%	807	RYY80734.1
endopeptidase La [Alkanindiges hydrocarboniclasticus]	Alkanindiges hydrocarbonicl...	1264	1264	99%	0.0	77.20%	807	WP_076878370.1
endopeptidase La [Alkanindiges illinoisensis]	Alkanindiges illinoisensis	1261	1261	99%	0.0	76.58%	807	WP_026470929.1
endopeptidase La [Moraxellaceae bacterium HYN0046]	Moraxellaceae bacterium H...	1234	1234	98%	0.0	74.88%	813	AXI02439.1
endopeptidase La [Candidatus Saccharibacteria bacterium]	Candidatus Saccharibacteri...	1213	1213	97%	0.0	75.09%	812	MBC7752120.1

Figura 6. A) Resultados arrojados por el BLAST, la flecha señala el porcentaje de identidad o similitud de proteínas humanas encontradas con la proteína problema. B) Resultados arrojados por el BLAST para proteínas bacterianas con similitud a la proteasa Lon.

De estos resultados se escogieron 4 proteínas con el mayor porcentaje de similitud para realizar luego el alineamiento múltiple de secuencias junto con la proteasa Lon, de las cuales las proteínas que resultaron escogidas fueron una proteasa Lon humana (lon protease homolog 2, peroxisomal isoform X2) con un 51.40% de identidad de secuencia, una proteasa Lon de *Escherichia coli* (Lon protease [*Escherichia coli* str. K-12 substr. MG1655]), una proteasa dependiente de ATP de *Klebsiella pneumoniae*

(DNA-binding ATP-dependent protease La) con cerca de un 100% de identidad o similitud de secuencia, y una endopeptidasa de *Gammaproteobacteria bacterium* (endopeptidase La) con un 93.57% de identidad de secuencia con las cuales se realizó el alineamiento múltiple de secuencias.

5.3. Características generales de la proteína Lon en *Acinetobacter baumannii*

5.3.1 Composición de aminoácidos

Se determinó mediante la base de datos UniProt que la secuencia de la proteína Lon consta de 809 aminoácidos y las propiedades fisicoquímicas de la proteína fueron establecidas con ayuda de la herramienta ProtParam.

Tabla 1. Composición de aminoácidos en la estructura de la proteína Lon de *A. baumannii*

AMINOÁCIDOS	RESIDUOS	PORCENTAJE
Alanina (A)	72	8.9%
Arginina(R)	45	5.6%
Asparagina(N)	36	4.4%
Ácido aspártico(D)	49	6.1%
Cisteína(C)	3	0.4%
Glutamina(Q)	28	3.5%
Ácido glutámico (E)	76	9.4%
Glicina (G)	46	5.7%
Histidina (H)	17	2.1%
Isoleucina(I)	49	6.1%
Leucina (L)	87	10.8%
Lisina (K)	62	7.7%
Metionina(M)	23	2.8%
Fenilalanina (F)	19	2.3%

Prolina (P)	34	4.2%
Serina (S)	38	4.7%
Treonina(T)	36	4.4%
Triptófano(W)	2	0.2%
Tirosina(Y)	18	2.2%
Valina(V)	69	8.5%
Pirrolisina (O)	0	0.0%
Selenocisteína(U)	0	0.0%

Según los resultados obtenidos por Protparam, se encontró que el aminoácido de mayor abundancia es la Leucina (L), que consta de 87 residuos equivalente a un porcentaje del 10.8% de todos los aminoácidos en la estructura proteica. La leucina es clasificada como alifática e hidrofóbica. El segundo aminoácido más abundante es el ácido glutámico (E) que consta de 76 residuos equivalentes a un 9.4%. El ácido glutámico es clasificado como hidrofílico y alifático. El tercer aminoácido más abundante es la Alanina (A) que consta de 72 residuos equivalentes a un porcentaje de 8.9 %. La Alanina se clasifica como hidrofóbica y alifática.

5.3.2 Carga

El pI o punto isoeléctrico (pH al que la proteína tiene carga neta cero) calculado para la proteína hipotética fue de 5.62. También se determinó que la proteína tiene 39 residuos cargados positivamente (Arg + Lys) y 37 residuos cargados negativamente (Asp + Glu).

5.3.3 Peso molecular

El peso molecular calculado para la proteína Hipotética fue de 90127.57 daltons

5.3.4 Composición atómica

El programa Protparam calculó la fórmula química y el número de átomos de la proteína. Los valores se pueden observar en la tabla a continuación:

Tabla 2. Composición atómica de la proteína Lon de *A. baumannii*

Elemento	Número de átomos	Fórmula química
Carbono C	6492	$C_{3980} H_{6492} N_{1106} O_{1216} S_{26}$
Hidrógeno H	6492	
Nitrógeno N	1106	
Oxígeno O	1216	
Azufre S	26	
Total átomos	12820	

5.4. Alineamiento múltiple entre secuencias de proteínas Lon (*A. baumannii*, humanas u ortólogas).

A primera vista se muestran los resultados del alineamiento múltiple de secuencias, donde se encuentran secuencias de aminoácidos conservadas y en las que muestran interlineado continuo, secuencias no conservadas. Cabe resaltar que la secuencia de *A. baumannii* mostró un mayor porcentaje de identidad con proteasas y proteasas dependientes de ATP de bacterias Gram negativas como lo son *Klebsiella pneumoniae* (Proteasa La dependiente de ATP que se une al ADN, 100%), *Gammaproteobacteria bacterium* (Endopeptidasa La, 93.56%), y *Escherichia coli* (Proteasa Lon, 54.85%), a la vez que el porcentaje de identidad de secuencia fue menor entre la secuencia de la proteasa Lon de *A. baumannii* con la proteasa Lon ortóloga más cercana al humano (Lon proteasa, 39.57%).

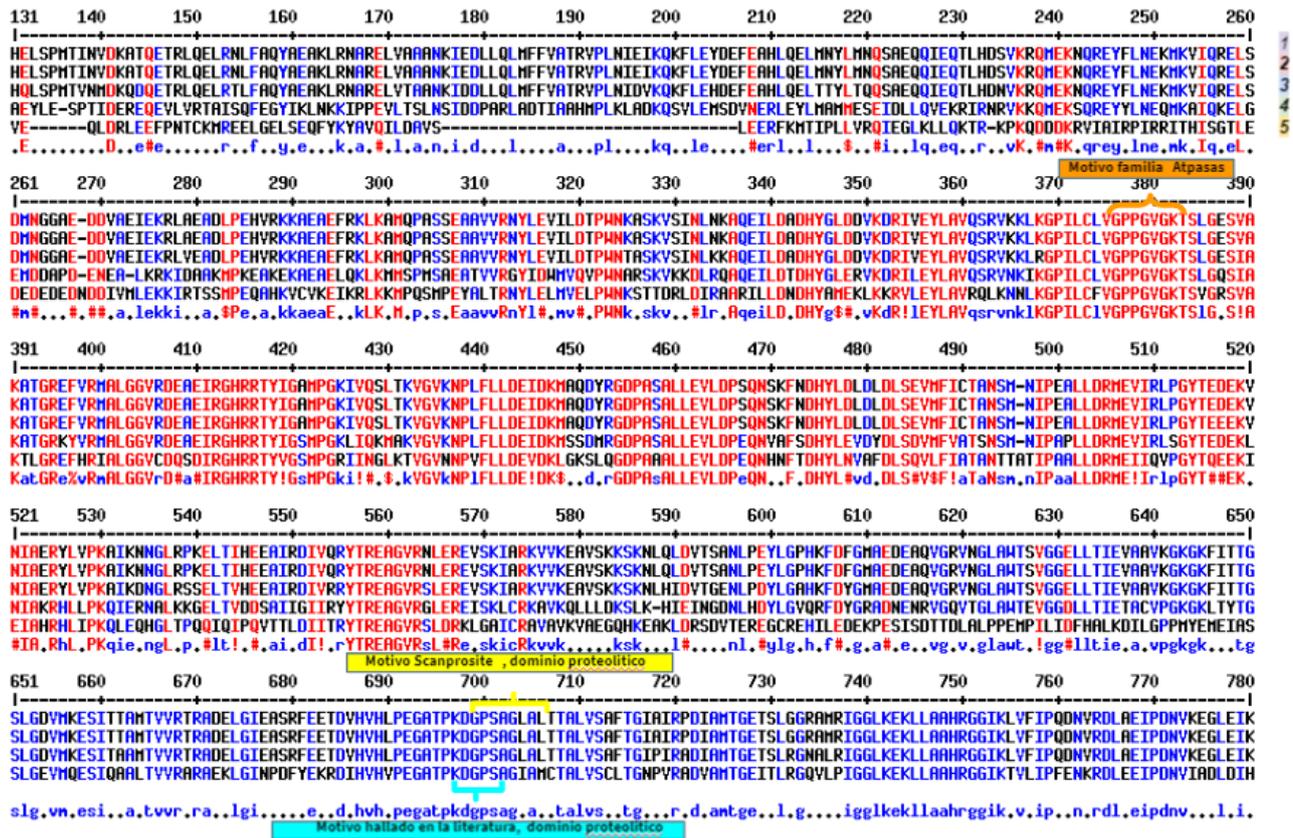


Figura 7. Alineamiento múltiple de secuencias por Mult Alin. La secuencia numerada como 1 corresponde a la proteasa Lon de *A. baumannii*, la número 2 proteasa La de *K. pneumoniae*, la número 3 endopeptidasa La de *G. bacterium*, la número 4 proteasa Lon de *E. coli*, y la número 5 proteasa Lon Humana. El corchete naranja representa al motivo que hace parte del dominio Familia de Atpasas asociadas con diversas actividades celulares (AAA), el corchete amarillo el motivo encontrado por Scanprosite que está presente en el dominio proteolítico y el corchete azul al motivo que hace parte del dominio proteolítico.

Los motivos y dominios hallados en programas como Scanprosite y Pfam son importantes para determinar el lugar donde se lleva a cabo la activación de las funciones de la proteasa Lon de manera específica dentro de la secuencia de aminoácidos de la proteasa.

Se determinaron con la ayuda de los programas Pfam y ScanProsite tres dominios importantes dentro de la secuencia de la proteasa Lon, estos son los dominios Lon N-terminal, dominio proteolítico, y un dominio presente de la familia de ATPasas (Figura 8A), estos dominios encontrados dan una orientación acerca de las funciones biológicas que la proteína cumple dentro de la bacteria *Acinetobacter baumannii* como su función proteolítica, así como también de las proteínas pertenecientes a esta familia de serin proteasas que poseen otras bacterias.

A



B

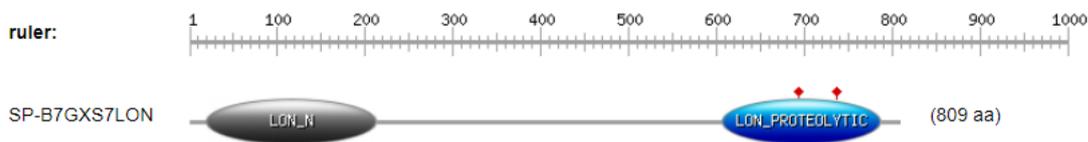


Figura 8. A) Dominios encontrados en Pfam, donde se observan tres dominios importantes; los dominios Lon N-terminal de color rojo, dominio presente de la familia de ATPasas de color azul y dominio proteolítico de color verde. B) Dominios encontrado en Scanprosite, donde se observa el dominio N-terminal de color gris, en color azul se observa el dominio proteolítico y además los rombos de color rojo posicionados en dicho dominio representan los sitios activos importantes.

Los motivos subrayados de color naranja representaran la secuencia de *Acinetobacter baumannii*. En la figura (A) se señala el motivo GPPGVGKT encontrado en la literatura, que hace parte del dominio de la familia de ATPasas asociadas con diversas actividades celulares, presente en todas las secuencias analizadas. Este dominio ha sido descrito entre las posiciones 583 a 787, y dentro de éste se encontró el motivo previamente mencionado que comprende de la posición 676 a 683. Al realizar la búsqueda también se encontró el dominio proteolítico, el cual se ubica de la posición 601 a 800, en este dominio se encuentran los sitios activos importantes para la función de la proteasa Lon como el descrito en la figura 9 (B), el cual fue encontrado mediante el programa Scanprosite con la secuencia de aminoácidos “DGPSAGLAL” ubicado de la posición 698 a 706, este motivo solamente se identificó en 3 de las 5 secuencias de proteínas ortólogas analizadas en el alineamiento múltiple: *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* y *Gammaproteobacteria bacterium*. El último motivo que también se encuentra en el dominio proteolítico, con la secuencia de aminoácidos “KDGPSA” encontrado en la posición 697 a 702, el cual se encontraría en todas las secuencias excepto en la humana, en este motivo se destacan los aminoácidos serina (S) y lisina (K) que hacen parte del sitio activo. Al observar las dos secuencias del dominio proteolítico tienen la secuencia de aminoácidos “DGPSA” en común.

A

[Homo	LAVRQLKNNLKGPILCFV	GPPGVGKT	SVGRSVAKTLGREFHRIALGGVCDQSDIRGHRRT	372
[Escherichia	LAVQSRVKNKIKGPILCLV	GPPGVGKT	SLGQSIKATGRKYVRMALGGVRDEAEIRGHRRT	397
[Acinetobacter	LAVQSRVKKLKGPIILCLV	GPPGVGKT	SLGESVAKATGREFVRMALGGVRDEAEIRGHRRT	410
[Klebsiella	LAVQSRVKKLKGPIILCLV	GPPGVGKT	SLGESVAKATGREFVRMALGGVRDEAEIRGHRRT	410
[Gammaproteobacteria	LAVQSRVKKLRGPILCLV	GPPGVGKT	SLGESIAKATGREFVRMALGGVRDEAEIRGHRRT	409
	:..	:::**:*****:*.*.**:	::: *:*: *:*:***** *:::*****	

B

[Homo	-----	605		
[Escherichia	FYEKRDIHVVHPEGATPKDGP	SAGIAMCTALVSCLTGNPVRADVAMTGEITLRGQVLP	717	
[Acinetobacter	RFEETDVHVHLP	EGATPKDGP	SAGLALTTALVSAFTGIAIRPDIA	731
[Klebsiella	RFEETDVHVHLP	EGATPKDGP	SAGLALTTALVSAFTGIAIRPDIA	731
[Gammaproteobacteria	RFEETDVHVHLP	EGATPKDGP	SAGLALTTALVSAFTGIPIRADI	730

C

[Homo	-----	605		
[Escherichia	FYEKRDIHVVHPEGATPKDGP	SAGIAMCTALVSCLTGNPVRADVAMTGEITLRGQVLP	717	
[Acinetobacter	RFEETDVHVHLP	EGATPKDGP	SAGLALTTALVSAFTGIAIRPDIA	731
[Klebsiella	RFEETDVHVHLP	EGATPKDGP	SAGLALTTALVSAFTGIAIRPDIA	731
[Gammaproteobacteria	RFEETDVHVHLP	EGATPKDGP	SAGLALTTALVSAFTGIPIRADI	730

Figura 9. Alineamiento múltiple de secuencias y motivos encontrados. A) Motivo que hace parte del dominio Familia de Atpasas asociadas con diversas actividades celulares (AAA). B) Motivo encontrado por Scanprosite que hace parte de las bacterias *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Gammaproteobacteria bacterium*. C) Motivo encontrado en la literatura que hace parte de las bacterias *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Gammaproteobacteria bacterium*.

5.5. Predicción y modelamiento de estructuras secundaria y terciaria de la proteína Lon de *A. baumannii*.

Para el modelamiento de la estructura secundaria se usó el programa GOR IV (Figura 10), donde en la composición de la estructura proteica predominan las Hélices alfa: 424 aa con un porcentaje del 52,41%, seguido de random coil: 300 aa con un porcentaje de 37.08% y finalmente láminas β: 85 aa con un porcentaje del 10.51%.

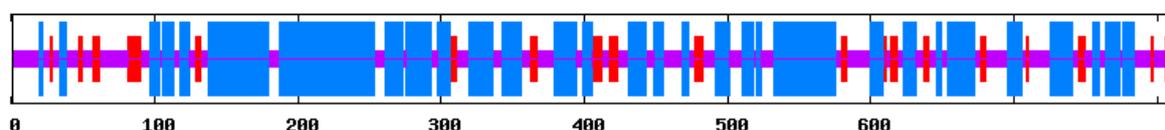


Figura 10. Estructura Secundaria por GOR IV (Visualización gráfica de la predicción). Azul: hélice α , Rojo: cadena extendida (hélice β), Morado: otros estados (desorganizados).

Para el modelamiento de la estructura terciaria de la proteína Lon, la herramienta SWISS-MODEL proporciona estructuras de proteínas de otros microorganismos que pueden servir como molde, en este caso se utilizó la proteína Lon de *Escherichia coli* código PDB: 6u5z, como molde o plantilla para modelar la estructura 3DE de la proteasa Lon de *A. baumannii* la cual se compone de 6 subunidades en forma de hélice ensambladas. Se obtuvieron 5 posibles modelos, de los cuales se seleccionó el modelo 1 debido a sus puntajes de GMQE-score y QMEAN Z-score que aseguran un buen nivel de calidad y confiabilidad del modelo predicho, por las características ya mencionadas. El modelo escogido presentó un GMQE-score de 0,62, y QMEAN Z-score de -0,34. Por otro lado, la “identidad” muestra el número de aminoácidos alineados, en este caso la identidad corresponde a un 55.41%. De igual forma los resultados de SWISS-MODEL mediante la predicción de función y sitios de ligando permitieron determinar que la proteasa Lon exhibe sitios de unión al ATP desde el residuo 369 a 376 y el sitio activo de la proteína se encuentra en los residuos 693 y 736.

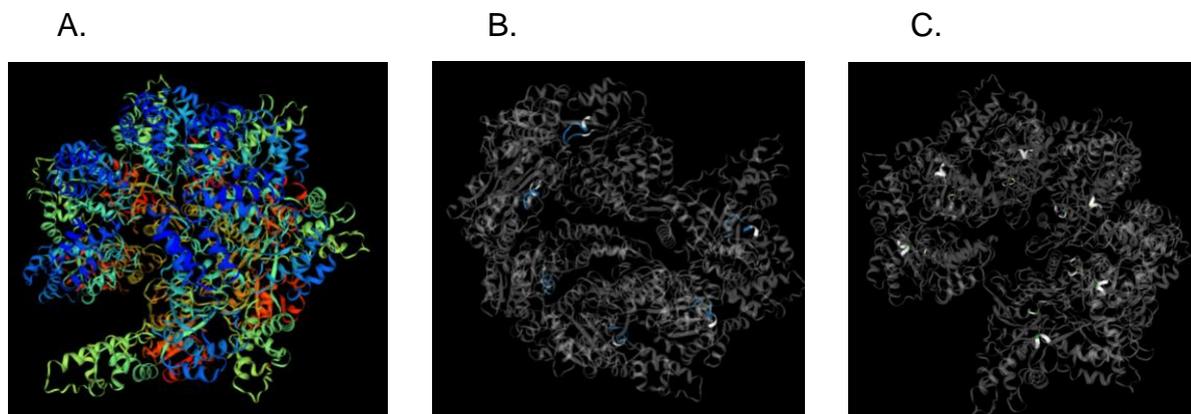


Figura 11. Modelo tridimensional de la proteasa Lon de *Acinetobacter baumannii* realizado mediante la herramienta SWISS-MODEL. A. Modelo 3DE ensamblado con dominios N-terminal, proteolítico y de unión al ATP. B. Sitio de unión al ATP. C. Sitios activos del dominio proteolítico.

5.6. Validación del modelo estructural (3DE) y búsqueda de sitios activos/catalíticos.

La validación estructural del modelo se realizó por medio de ProSA-web, y arrojó un puntaje Z óptimo de -11.21, este puntaje indica que el modelo tiene una calidad razonablemente buena ya que se encuentra dentro del rango de puntajes típicamente encontrados en proteínas nativas ya descritas en PDB y que poseen un tamaño similar. También se 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, 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.

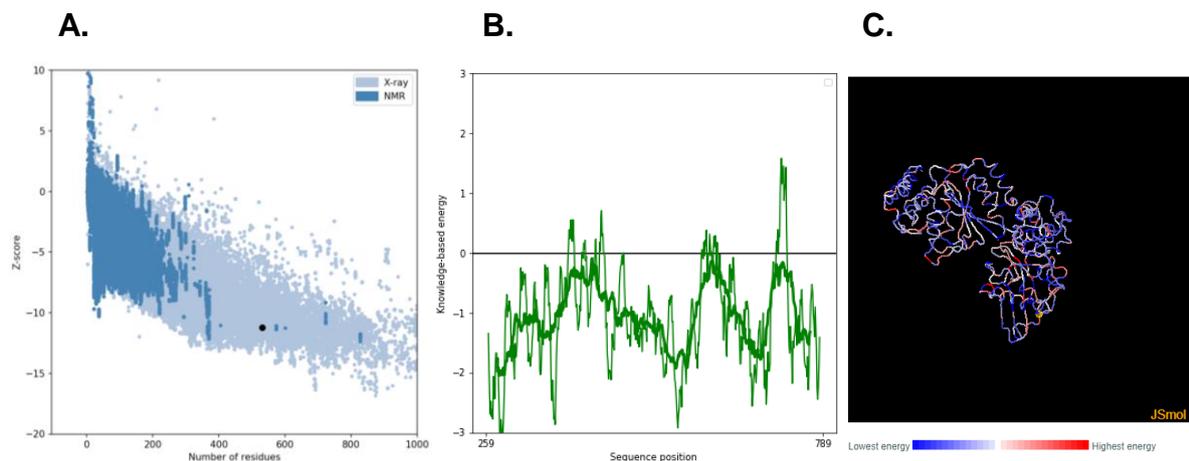


Figura 12. Validación del modelo mediante ProSA-web. A. Gráfico de Z-score. B. Gráfico de energía de residuos. C. Representación visual de la energía en la estructura tridimensional mediante Jmol.

En cuanto a la validación de la estabilidad y propiedades estereoquímicas del modelo el gráfico de Ramachandran mostró que la estructura no tenía una cantidad importante de errores o posiciones inusuales de los aminoácidos en cuanto a las posibles

torsiones o giros que podrían tener los ángulos Phi y Psi en la formación de la estructura secundaria de la proteína. La mayoría de los residuos se encontraban dentro de las regiones favorables, permitidas y generosamente permitidas, para la proteasa Lon 86.5% de los residuos de aminoácidos se encuentran en regiones favorables, 13.1% en regiones permitidas, 0.4% en regiones generosamente permitidas y 0% en regiones no permitidas estos resultados indican que la conformación del modelo es estable y de buena calidad estequiométrica (Figura 13).

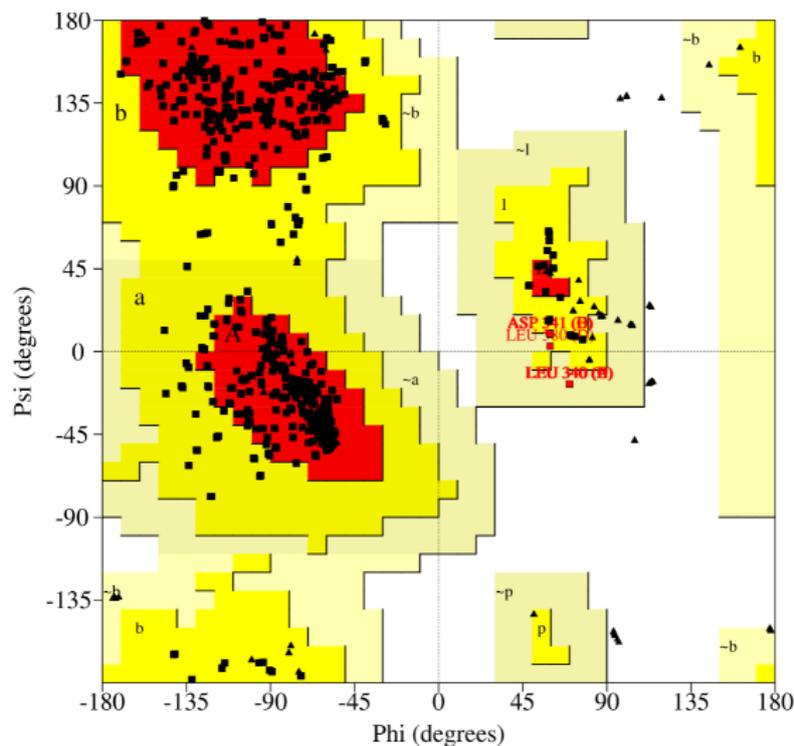


Figura 13. Gráfico de Ramachandran mediante servidor PROCHECK. Las regiones más favorecidas se indican en color rojo; las regiones adicionales permitidas y generosas se indican en amarillo y amarillo claro; las regiones no permitidas se indican en color blanco.

5.7 Docking molecular entre la proteasa Lon de *Acinetobacter baumannii* y posibles ligandos.

La búsqueda se realizó utilizando el motivo de unión a nucleótidos de la proteasa Lon, residuos 369 a 376, utilizando el software AutoDock Vina, primero que todo se hizo el acoplamiento entre la proteasa Lon y su ligando natural adenosín trifosfato ATP con

el objetivo de conocer la energía de acoplamiento o unión para 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/#/>).

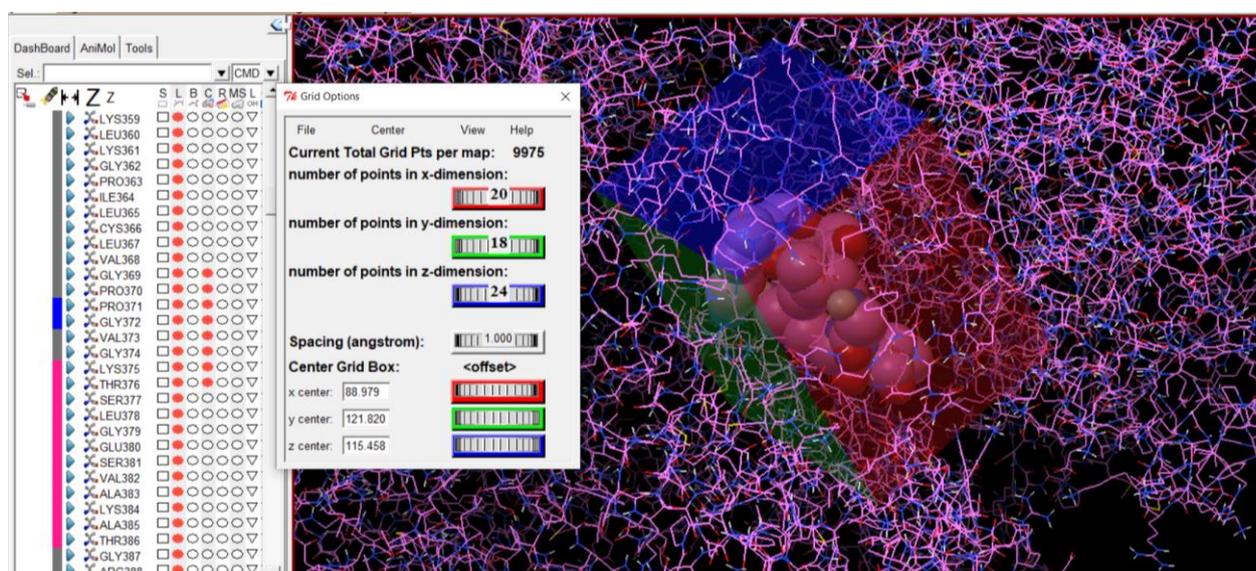


Figura 14. Caja y coordenadas sobre las cuales se realizó el docking molecular.

Los resultados obtenidos mediante el docking molecular realizado con la librería ZINC permitieron identificar cerca de 1000 compuestos que presentaron afinidad por la proteasa Lon con energías de unión entre -7.8 a -6.8 Kcal/mol. De estos 1000 compuestos se seleccionaron los 100 primeros cuya energía de unión fue mayor de -7.0 Kcal/mol, a los cuales se les realizó análisis de las características farmacocinéticas ADMET *in silico*.

5.8. Análisis de propiedades farmacocinéticas ADMET en los compuestos con mayor energía de unión a la proteasa Lon de *A. baumannii*.

En el desarrollo de una molécula farmacológicamente eficaz las propiedades farmacocinéticas tales como absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET) son fundamentales. El servidor pkCSM permitió determinar un total

de 30 propiedades por cada compuesto, de las cuales para este caso fueron seleccionadas 18, las cuales son esenciales y más utilizadas para el desarrollo y diseño de fármacos: Caco-2, HIA, Sustrato de glicoproteína P, unión a proteínas plasmáticas (PPB), paso a través de la barrera hematoencefálica (BBB), inhibidor/sustrato de isoformas que hacen parte del complejo citocromo p450 (CYP450), Sustrato de OCT2 Renal, mutagénesis AMES, Inhibición de canales (hERG I,II), toxicidad oral aguda y hepatotoxicidad. Para el apartado de absorción por vía oral (HIA, Caco-2 y Sustrato de glicoproteína P) se tuvo que en cuanto a HIA, una de las características más importantes en el desarrollo y descubrimiento de fármacos orales, la mayoría de compuestos presentaron un alto porcentaje en la absorción mayor del 30%, y compuestos tales como ZINC000000344145, ZINC000034924974, ZINC000005006669 y ZINC000003435531 presentaron porcentajes de absorción intestinal mayores al 90% (99.20%, 96.97%, 94.08%, 94.08% respectivamente). En cuanto a Permeabilidad Caco-2, 50 de los 100 compuestos presentaron valores mayores a 0.90 que se traducirían en una alta permeabilidad de Caco-2.

Dentro del parámetro de unión a proteínas plasmáticas compuestos tales como ZINC000007996455, ZINC000014988512, ZINC000004710802 y ZINC000065341879 obtuvieron valores bajos de la fracción que no se une al plasma, es decir, que la mayor parte de estos compuestos mencionados se unen casi completamente a proteínas séricas. De igual manera otro marcador de distribución es la P-gp transportador que limita la penetración en varios tejidos, que de acuerdo con los resultados 43 de los 100 compuestos son sustratos de esta glicoproteína, de otro lado la mayoría de compuestos muestran una baja permeabilidad de la barrera hematoencefálica salvo algunos pocos como ZINC000000984000 o ZINC000007030119 que tienen una buena permeabilidad (0.691 y 0.907 respectivamente).

En los parámetros que describen el apartado de metabolismo, la inhibición de la CYP450 particularmente las isoformas CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP1A2, los resultados muestran que la mayoría de compuestos no inhiben a estas isoformas salvo algunos en donde hay una inhibición parcial como en ZINC000000984000 y ZINC000007030119 (Anexo 2). Para el parámetro de excreción medido por la probabilidad ser o no un sustrato de OCT2 Renal, la mayoría (97) de

los compuestos no son sustratos de OCT2, solo ZINC000007030119, ZINC000100318276 y ZINC000004625446 son probables sustratos (Anexo 2).

Los resultados obtenidos para el apartado de toxicidad en los parámetros de mutagénesis AMES, inhibición de los canales hERG I y II y toxicidad oral aguda, permiten determinar que la mayoría de compuestos presentan una baja probabilidad de generar toxicidad, a excepción del parámetro de hepatotoxicidad, en donde 58 compuestos tienen probabilidad de ser hepatotóxicos.

Teniendo en cuenta las energías de unión, junto con los resultados de ADMET anteriormente mencionados y principalmente los siguientes parámetros analizados HIA, PPB, sustrato OCT2, inhibición CYP34A, mutagénesis AMES, toxicidad oral aguda y hepatotoxicidad de los 100 compuestos analizados se seleccionaron los siguientes 5 compuestos ZINC000003435531, ZINC000005006669, ZINC000034924974, ZINC000000426267 y ZINC000041721989 por su potencial para ser usados en estudios *in vitro* como posibles inhibidores de la proteína Lon de *Acinetobacter baumannii*.

Figura 15. Propiedades farmacocinéticas ADMET

Resultados de ADMET para 5 compuestos potenciales candidatos a inhibidores de la proteína Lon de *Acinetobacter baumannii*.

Compuesto	Energía de unión Lon Kcal/mol	Permeabilidad Caco-2	Absorción Intestinal Humana (HIA)	Sustrato de glicoproteína P	Unión a Proteínas Plasmáticas	Barrera Hematoencefalica	Sustrato CYP2D6	Sustrato CYP3A4	Inhibición de CYP2D6	Inhibición de CYP3A4	Inhibición de CYP2C9	Inhibición de CYP2C19	Inhibición de CYP1A2	Sustrato OCT2 Renal	Toxicidad AMES	Inhibición humana hERG I	Inhibición humana hERG II	Toxicidad Oral Aguda	Hepato toxicidad
ATP	-7.0	-0.575	20.127	SI	0.483	-2.751	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	2.424	NO
ZINC000003435531	-7.4	1.168	94.079	NO	0.294	-0.251	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.168	NO
ZINC000005006669	-7.4	1.34	94.079	NO	0.276	-0.251	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	1.191	NO
ZINC000034924974	-7.3	1.326	96.971	SI	0.225	-0.38	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	2.269	NO
ZINC000000426267	-7.2	0.95	92.459	SI	0.324	-0.212	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.283	NO
ZINC000041721989	-7.2	1.041	93.255	NO	0.191	-0.437	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	2.304	NO

6. Discusión

En la actualidad el avance en la formulación y descubrimiento de compuestos o antibióticos eficientes se ve afectado principalmente por la resistencia que presentan muchos microorganismos patógenos de interés clínico frente a los compuestos que se utilizan de forma tradicional en su tratamiento, tal como es el caso recientemente de *Acinetobacter baumannii*, el cual se ha convertido en un patógeno emergente, generando preocupación frente a la falta de recursos clínicos para su tratamiento, lo que ha generado un problema por el incremento de casos relacionados a infecciones asociadas a la atención en salud (IAAS). Partiendo de la problemática enfocada, en el desarrollo de este estudio se realizó una caracterización *in silico* de la proteína Lon de *Acinetobacter baumannii* como posible blanco terapéutico e identificación de compuestos mediante docking molecular que pudiesen llegar a ser potenciales inhibidores de la proteína Lon.

Dentro del genoma de *A. baumannii* se encontró un gen que codifica para la proteína Lon, lo que resulta algo común en bacterias Gram negativas, pues también como se pudo observar en nuestros resultados del BLAST y alineamiento múltiple de secuencias realizado, son las que mayor porcentaje de similitud presentan entre sí, como *E. coli* y *K. pneumoniae*, esto puede ser debido a que este tipo de bacterias emplean estas proteínas en funciones específicas muy similares a las que cumple en *A. baumannii* y a su conservación entre especies a lo largo del tiempo, pues dentro de estos resultados comparten ancestros comunes evolutivos, por ejemplo en *Escherichia coli* la proteasa Lon está bien caracterizada y regula la homeostasis celular a través de la degradación de proteínas anormales o en *Pseudomonas aeruginosa*, donde Lon es importante para controlar la virulencia, la resistencia a los antibióticos y la respuesta al estrés como lo describe en sus resultados de estudio Muselius B et al ²⁰.

La proteína Lon hace parte de la familia de proteasas dependientes del ATP, pues al analizar las características de los resultados, se encontró que dicha proteína presenta 3 dominios principales, dominio N-terminal, dominio ATPasa y un dominio proteolítico, este último caracterizado por presentar una díada catalítica serina-lisina para la proteína Lon de *A. baumannii* en los aminoácidos Serina 693 y Lisina 736 (S693 y K736). Las proteasas Lon se pueden dividir en dos subfamilias, LonA y LonB, que de

acuerdo a nuestros resultados se puede inferir que la proteína Lon de *A. baumannii* hace parte de la subfamilia LonA, esto debido a que la subfamilia LonA se define por la presencia de un gran dominio N-terminal, mientras que la subfamilia LonB no tiene tal dominio ⁶³.

En cuanto a la estructura 3DE resultante se aprecia que la proteína Lon de *A. baumannii* está conformada por 6 subunidades ensambladas en forma de anillos, algo característico y representativo de este tipo de proteasas en las bacterias ya que funcionan como ensamblajes oligoméricos, como lo ha descrito Park S et al en los resultados de su estudio con la estructura de la proteasa Lon de *Escherichia coli*, describiendo también que los Lons bacterianos forman anillos que constan de seis subunidades, como ha sido ya descrito para la proteasa Lon de *E. coli* o la proteasa Lon de *Brevibacillus thermoruber* que poseen esta característica ⁶⁴, este tipo de conformación particular se podría deber principalmente por las interacciones del pequeño dominio α que interactúa con el dominio α / β de la subunidad adyacente. Estos conjuntos se estabilizan mediante la unión de ATP y, en muchos casos, la hidrólisis de ATP requiere el estado de hexámero ensamblado, el nucleótido se une en una hendidura formada por los dominios α y α / β de una subunidad, pero al menos un residuo, generalmente una arginina (denominada "dedo Arg"), de la subunidad adyacente sobresale hacia el sitio de unión del nucleótido y puede activar la hidrólisis de nucleótidos ⁶³. La estructura predicha además presentó un alto nivel de confiabilidad determinados por puntajes dados por el programa (GMQE-score de 0,62, y QMEAN Z-score de -0,34) que aseguran un buen nivel de calidad y credibilidad del modelo predicho, esto se corrobora además con los puntajes Z obtenidos mediante la validación del modelo por ProSAweb (-11.21) el cual indica 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, una característica positiva en un estudio de este tipo, ya que no se habían realizado anteriormente enfocados hacia la proteína Lon de *A. baumannii*.

Por medio de docking molecular se identificaron moléculas o compuestos con afinidad por la proteína Lon de *Acinetobacter baumannii* en este estudio por primera vez para este microorganismo, puesto que se han realizado estudios tomando a la proteína Lon

como posible blanco terapéutico, pero en otros microorganismos también de importancia clínica. Los resultados de la predicción de propiedades farmacocinéticas ADMET, especialmente de los parámetros más importantes tales como HIA, PPB, sustrato OCT2, inhibición CYP34A, mutagénesis AMES, toxicidad oral aguda y hepatotoxicidad son determinantes para el diseño racional de fármacos y en la selección de compuestos viables para el desarrollo de nuevos tipos de terapias alternativas a las convencionalmente utilizadas, que para este caso de entre todos los compuestos identificados permitió sobresaltar a ZINC000003435531, ZINC000005006669, ZINC000034924974, ZINC000000426267 y ZINC000041721989 como compuestos potenciales en el desarrollo de inhibidores para la proteína Lon de *Acinetobacter baumannii*, y donde quedan como principal opción propuesta para posibles estudios futuros de su mecanismo de inhibición de la proteasa y lograr así mecanismos de tratamiento o terapias alternativas a los antibióticos y fármacos actuales que poseen resistencia frente a infecciones de este microorganismo patógeno y que en la actualidad se está convirtiendo en un difícil problema de salud pública al cual tratar eficazmente.

7. Conclusiones

La caracterización y búsqueda de inhibidores de la proteasa Lon en *Acinetobacter baumannii* de manera *in silico* no solo agiliza pasos en el laboratorio; como fue realizado en este estudio, sino que además es una práctica de muy bajo costo en comparación a realizar todo el procedimiento ya sea de forma *in vivo* o *in vitro*, los cuales son estudios que usualmente son costosos y requieren más tiempo.

El análisis *in silico* permitió predecir la estructura 3DE de la proteasa Lon, identificar los aminoácidos que forman la región catalítica o sitio activo de la proteína Lon y además este estudio permitió conocer la capacidad de la proteína Lon de *A. baumannii* como potencial blanco terapéutico y obtener compuestos tales como ZINC000003435531, ZINC000005006669, ZINC000034924974, ZINC000000426267 y ZINC000041721989 los cuales son viables para una posible validación *in vitro* en futuros estudios a partir de nuestro trabajo para llegar a ser potenciales inhibidores de la proteína Lon de *A. baumannii*.

8. PERSPECTIVAS

1. Dar inicio a ensayos *in vitro* como continuación a lo realizado de forma *in silico*, estudiando principalmente la interacción proteína-ligando de los compuestos resultantes del estudio para la fabricación futura de un fármaco que tenga como función la inhibición de la proteína Lon en *A. baumannii*.

9. Referencias bibliográficas:

1. Joly-Guillou M. Clinical impact and pathogenicity of Acinetobacter. *Clinical Microbiology and Infection*. [Internet]. 2005. [cited 18 Dec 2020]. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X14626008>
2. Antunes L, Visca P, Towner K. Acinetobacter baumannii: evolution of a global pathogen. *Pathogens and Disease*. [Internet]. 2014. [cited 18 Dec 2020]. Available in: <https://academic.oup.com/femspd/article/71/3/292/475786>
3. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos [Internet]. Who.int. 2017 [citado 20 septiembre 2020]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
4. Cooper M, Shlaes D. Fix the antibiotics pipeline. *Nature*. [Internet]. 2011. [cited 18 Dec 2020]. Available in: <https://www.nature.com/articles/472032a>
5. Breidenstein E, Janot L, Strehmel J, Fernández L, Taylor PK, Kukavica-Ibrulj I, et al. The Lon Protease Is Essential for Full Virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS One*. [Internet]. 2012. [cited 18 Dec 2020]. Available in: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0049123>
6. Rogers A et al. The LonA Protease Regulates Biofilm Formation, Motility, Virulence, and the Type VI Secretion System in *Vibrio cholerae*. *Journal of bacteriology*. [Internet]. 2016. [cited 18 Dec 2020]. 198(6), 973–985. Available in: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/JB.00741-15>
7. Marr AK, Overhage J, Bains M, Hancock REW. The Lon protease of *Pseudomonas aeruginosa* is induced by aminoglycosides and is involved in biofilm formation and motility. *Microbiology*. [Internet]. 2007. [cited 18 Dec 2020]. 1;153(2):474–82. Available in: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/micro/10.1099/mic.0.20>

8. Asif M, Alvi I, Rehman S. Insight into *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, global resistance, mechanisms of resistance, treatment options, and alternative modalities. *Infection and Drug Resistance*. [Internet]. 2018. [cited 17 Dec 2020]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6110297/>

9. Boletín Epidemiológico Semanal [Internet]. Instituto nacional de salud. 2020 [citado 20 septiembre 2020]. Disponible en: https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/BoletinEpidemiologico/2020_Boletin_epidemiologico_semana_10.pdf#search=Acinetobacter%20baumannii

10. Khan H, Baig F, Mehboob R. Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. [Internet]. 2017. [cited 16 Dec 2021]. 7(5), 478-482. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169116309509?via%3Dihub>

11. BROTE EPIDÉMICO POR ACINETOBACTER BAUMANII PRODUCTOR DE CARBAPENAMASA OXA-23 LIKE EN UNA UNIDAD DE HOSPITALIZACIÓN. *Rev Esp Salud Pública*. [Internet]. 2021 [citado 10 Jun 2021]. Disponible en: https://www.mscbs.gob.es/biblioPublic/publicaciones/recursos_propios/resp/revista_cdrom/VOL95/O_BREVES/RS95C_202102027.pdf

12. Haque M, Sartelli M, McKimm J, Bakar M. Health care-associated infections – an overview. *Infection and Drug Resistance*. [Internet]. 2018. [cited 17 Dec 2020]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6245375/>

13. Mulani MS, Kamble EE, Kumkar SN, Tawre MS, Pardesi KR. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial

Resistance: A Review. *Front Microbiol* [Internet]. 2019 [cited 2021 Jun 10]. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00539/pdf>

14. Rodríguez C, Nastro M, Famiglietti A. Carbapenemases in *Acinetobacter baumannii*. Review of their dissemination in Latin America. *Revista Argentina de Microbiología*. [Internet]. 2018. [cited 11 jun 2021]. 50(3), 327-333. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0325754117301785?via%3Dihub>
15. Urrutia Gómez JA, Rueda Riaño AM, Rojas Páez CA, Silva Rodríguez MA, Méndez Faniño YR. Eficacia de la colisina en el tratamiento de pacientes adultos con infecciones severas por *Acinetobacter baumannii* XDR en cuidados intensivos. *Univ. Med.* [Internet]. 15 de julio de 2016 [citado 11 de junio de 2021];57(2):212-25. Disponible en: <https://revistas.javeriana.edu.co/index.php/vnimedica/article/view/17036>
16. Varón Fabio Andres, Uribe Ana Maria, Palacios Jonathan Orlando, Sánchez Efraín Guillermo, Gutiérrez Deimer, Carvajal Katherine et al. Mortalidad y desenlaces clínicos en pacientes críticamente enfermos con infecciones por bacterias productoras de carbapenemases en un hospital de alta complejidad en Bogotá, Colombia. *Infect.* [Internet]. 2021 Mar [cited 2021 June 11]; 25 (1): 16-21. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-93922021000100016&lng=en.
17. Lemos EV, De la Hoz Restrepo F, Alvis N, Quevedo E, Cañon O, León Y. Mortalidad por *Acinetobacter baumannii* en unidades de cuidados intensivos en Colombia. *Rev Panam Salud Publica*. [Internet]. 2011. [citado 18 oct 2020];30:287–94. Disponible en: <https://www.scielosp.org/article/rpsp/2011.v30n4/287-294/#ModalArticles>
18. He L, Luo D, Yang F, Li C, Zhang X, Deng H, Zhang J. Multiple domains of bacterial and human Lon proteases define substrate selectivity. *Emerging microbes & infections*. [Internet]. 2018. [cited 14 oct 2020];7(1), 149. Available

in: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1038/s41426-018-0148-4>

19. Hua C, Wang T, Shao X, Xie Y, Huang H, Liu J. *Pseudomonas syringae* dual-function protein Lon switches between virulence and metabolism by acting as both DNA - binding transcriptional regulator and protease in different environments. *Environmental Microbiology*. [Internet]. 2020. [cited 14 oct 2020]. Available in: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/1462-2920.15067>
20. Muselius B. Iron Limitation in *Klebsiella pneumoniae* Defines New Roles for Lon Protease in Homeostasis and Degradation by Quantitative Proteomics. *frontiers in Microbiology*. [Internet]. 2020. [cited 14 oct 2020]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7194016/>
21. McVicker G, Hollingshead S, Pilla G, Tang CM. Maintenance of the virulence plasmid in *Shigella flexneri* is influenced by Lon and two functional partitioning systems. *Molecular Microbiology*. [Internet]. 2019. [cited 14 oct 2020]. 111 (5), 1355-1366. Available in: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/mmi.14225>
22. Pei J, Yan J, Jiang Y. Characterization of the ATP-Dependent Lon-Like Protease in *Methanobrevibacter smithii*. *Archaea*. [Internet]. 2016 [cited 25 jun 2020]. Available in: <https://www.hindawi.com/journals/archaea/2016/5759765/>
23. Gur E et al. Regulated proteolysis in Gram-negative bacteria — how and when?. *Nature Reviews Microbiology*. [Internet]. 2011 [cited 28 oct 2020]. Volume 9(12), 839–848. Available in: <https://www.nature.com/articles/nrmicro2669>
24. Raju R, Goldberg A, Rubin E. Bacterial proteolytic complexes as therapeutic targets. *nature reviews drug discovery*. [Internet]. 2012 [cited 28 oct 2020]; Volume (11): 777-789. Available in: <https://www.nature.com/articles/nrd3846>

25. Bayot A, Basse N, Lee I, Gareil M, Pirotte B, Bulteau A, Friguet B, Reboud-Ravaux, M. Towards the control of intracellular protein turnover: Mitochondrial Lon protease inhibitors versus proteasome inhibitors. *Biochimie*. [Internet]. 2008 [cited 26 oct 2020]. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0300908407003045?via%3Dihub>
26. Hosseingholi E, Zarrini G, Pashazadeh M, Mohammad S, Hayat G, Molavi G. In Silico Identification of Probable Drug and Vaccine Candidates Against Antibiotic-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Microbial Drug Resistance*. [Internet]. 2020. [cited 14 oct 2020]. Available in: https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/mdr.2019.0236?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed
27. Culp E, Wright GD. Bacterial proteases, untapped antimicrobial drug targets. *J Antibiot (Tokyo)*. [Internet]. 2017. [cited 10 nov 2020];70(4):366-377. Available in: <https://www.nature.com/articles/ja2016138>
28. Moubarek C, Halat D. Insights into *Acinetobacter baumannii*: A Review of Microbiological, Virulence, and Resistance Traits in a Threatening Nosocomial Pathogen. *Antibiotics*. [Internet]. 2020. [cited 18 Dec 2020]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7148516/>
29. Chaari A, Mnif B, Bahloul M, Mahjoubi F, Chtara K, Turki O, et al. *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia: epidemiology, clinical characteristics, and prognosis factors. *Int J Infect Dis*. [Internet]. 2013. [cited 10 Dec 2020];17(12):e1225-8. Available in: [https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712\(13\)00249-X/fulltext](https://www.ijidonline.com/article/S1201-9712(13)00249-X/fulltext)
30. Cillóniz C, Dominedò C, Torres A. Multidrug Resistant Gram-Negative Bacteria in Community-Acquired Pneumonia. *Annual Update in Intensive Care and Emergency Medicine*. [Internet]. 2019. [cited 10 Dec 2020]. 459–475. Available in: <https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-3-030-06067->

31. Emanuele Durante-Mangoni et al. 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*. [Internet]. 2013. [cited 15 Dec 2020]. 349–358. Available in: <https://academic.oup.com/cid/article/57/3/349/461315>
32. Shi H, Lee J, Park S, Ko Y, Eom J. Colistin Plus Carbapenem versus Colistin Monotherapy in the Treatment of Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Pneumonia. *Infection and drug resistance*. [Internet]. 2019. [cited 18 Dec 2020]. 12, 3925–3934. Available in: <https://www.dovepress.com/colistin-plus-carbapenem-versus-colistin-monotherapy-in-the-treatment--peer-reviewed-fulltext-article-IDR>
33. Poulidakos P, Tansarli G, Falagas M. Combination antibiotic treatment versus monotherapy for multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and pandrug-resistant *Acinetobacter* infections: a systematic review. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases* : official publication of the European Society of Clinical Microbiology. [Internet]. 2014. [cited 18 Dec 2020]. 33(10), 1675–1685. Available in: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10096-014-2124-9>
34. Baran G, Erbay A, Bodur H, Onguru P, Akinci E et al. Risk factors for nosocomial imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *International Journal of Infectious Diseases*. [Internet]. 2008. [cited 18 Dec 2020]. Available in: [https://www.ijdonline.com/article/S1201-9712\(07\)00068-9/fulltext](https://www.ijdonline.com/article/S1201-9712(07)00068-9/fulltext)
35. Freire M, Oliveira D, Garcia P, Hoff P, Pierrotti L, Abdala E. Bloodstream infection caused by extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* in cancer patients: high mortality associated with delayed treatment rather than with the degree of neutropenia. *Clinical Microbiology and Infection*. [Internet]. 2008. [cited 18 Dec 2020]. Available in: [https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X\(15\)01036-8/fulltext](https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(15)01036-8/fulltext)

36. Davis K, Moran K, McAllister C, Gray P. Multidrug-Resistant Acinetobacter Extremity Infections in Soldiers. *Emerging Infectious Diseases*. [Internet]. 2005. [cited 18 Dec 2020]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3320488/>
37. Alekshun M, Levy S. Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. *Cell*. [Internet]. 2007. [cited 18 Dec 2020]. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009286740700311X>
38. Tacconelli E, Carrara E, Savoldi A, Harbarth S, Mendelson M, Monnet D et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*. [Internet]. 2018. [cited 18 Dec 2020]. Available in: [https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(17\)30753-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(17)30753-3/fulltext)
39. Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance [Internet]. *Euro.who.int*. 2017 [cited 18 December 2020]. Available in: https://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0005/354434/WHO_CAESAR_AnnualReport_2017.pdf?ua=1
40. Zhanel, G.G., Golden, A.R., Zelenitsky, S. et al. Cefiderocol: A Siderophore Cephalosporin with Activity Against Carbapenem-Resistant and Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli. *Drugs* 79. [Internet]. 2019. [cited 18 Dec 2020]. 271–289. Available in: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs40265-019-1055-2>
41. Isler B, Doi Y, Bonomo R, Paterson D. New Treatment Options against Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. [Internet]. 2018. [cited 18 Dec 2020]. Available in: <https://aac.asm.org/content/63/1/e01110-18>
42. Spellberg B, Bonomo R. Combination Therapy for Extreme Drug Resistant

- (XDR) *Acinetobacter baumannii*: Ready for Prime-Time?. *Critical Care Medicine*. [Internet]. 2015. [cited 18 Dec 2020]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4620434/>
43. Khanh N, Riordan D, Hoang T, Thanh D, Thwaites G, Huong N et al. The induction and identification of novel Colistin resistance mutations in *Acinetobacter baumannii* and their implications. *Scientific Reports*. [Internet]. 2016. [cited 18 Dec 2020]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4916428/>
44. Hua Y, Luo T, Yang Y, Dong D, Wang R, Wang J. Phage Therapy as a Promising New Treatment for Lung Infection Caused by Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in Mice. *Frontiers in Microbiology*. [Internet]. 2018. [cited 18 Dec 2020]. Available in: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2017.02659/full>
45. Sauer R, Baker T. AAA+ Proteases: ATP-Fueled Machines of Protein Destruction. *Annual Review of Biochemistry*. [Internet]. 2011 [cited 14 oct 2020].(80): 587–612 Available in: https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-biochem-060408-172623?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed
46. Ching C, Yang B, Onwubueke C, Lazinski D, Camilli A, Godoy V. Lon Protease Has Multifaceted Biological Functions in *Acinetobacter baumannii*. *J Bacteriol*. [Internet]. 2018 [cited 25 jun 2020]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6304660/>
47. Meng X, Zhang H, Mezei M, Cui M. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design*. [Internet]. 2011. [cited 24 jul 2020]. 7(2), 146–157. Available in: <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
48. Silakari O, Singh P. Chapter 6 - Molecular docking analysis: Basic technique to predict drug-receptor interactions. *Concepts and Experimental Protocols of*

Modelling and Informatics in Drug Design. [Internet]. 2021. [cited 24 jul 2020]. Pages 131-155. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128205464000064>

49. Kitchen D, Decornez H, Furr J et al. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nat Rev Drug Discov* 3. [Internet]. 2004. [cited 24 jul 2020]. 935–949. Available in: <https://www.nature.com/articles/nrd1549>
50. Lantz M. Are bacterial proteases important virulence factors?. *J Periodontol*. [Internet]. 2006. [cited 25 jul 2020]; Volume (32):126-132. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9085222/>
51. García-González G, González G, Palma-Nicolás J. Las proteasas de serina bacterianas y su implicación en la fisiopatología de la infección. *Rev Laboratorio Clínico*. [Internet]. 2019 [citado 28 junio 2020]; Volumen (12): 137-146. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-revista-del-laboratorio-clinico-282-articulo-las-proteasas-serina-bacterianas-su-S1888400819300303>
52. Spyraakis F, Santucci M, Maso L et al. Virtual screening identifies broad-spectrum β -lactamase inhibitors with activity on clinically relevant serine- and metallo-carbapenemases. *nature scientific reports*. [Internet]. 2020. [cited 28 oct 2020]. Available in: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-69431-y#citeas>
53. Kaur G, Pandey B, Kumar A, Garewal N, Grover A, Kaur J. Drug targeted virtual screening and molecular dynamics of LipU protein of *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium leprae*. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. [Internet]. 2019. [cited 28 oct 2020]. Available in: <https://www.tandfonline.com/action/showCitFormats?doi=10.1080%2F07391102.2018.1454852>
54. Nitulescu G, Nicorescu IM, Olaru OT, et al. Molecular Docking and Screening Studies of New Natural Sortase A Inhibitors. *Int J Mol Sci*. [Internet]. 2017. [cited 28 oct 2020]. Available in:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5666896/>

55. Skariyachan S, Manjunath M, Bachappanavar N. Screening of potential lead molecules against prioritised targets of multi-drug-resistant-Acinetobacter baumannii - insights from molecular docking, molecular dynamic simulations and in vitro assays. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. [Internet]. 2017. [cited 28 oct 2020]. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29529934/>
56. Verma P, Tiwari M, Tiwari V. In silico high-throughput virtual screening and molecular dynamics simulation study to identify inhibitor for AdeABC efflux pump of Acinetobacter baumannii. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. [Internet]. 2017. [cited 28 oct 2020]. Available in: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07391102.2017.1317025?src=rcsys>
57. Skariyachan S, Gopal D, Kadam S, Muddebihalkar A, Uttarkar A, Niranjana V. Carbon fullerene acts as a potential lead molecule against prospective molecular targets of biofilm-producing multidrug-resistant Acinetobacter baumannii and Pseudomonas aeruginosa: computational modeling and MD simulation studies. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. [Internet]. 2020. [cited 28 oct 2020]. Available in: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07391102.2020.1726821?src=rcsys>
58. RESOLUCIÓN NÚMERO 8430 DE 1993 [Internet]. Hospitalsanpedro.org. 1993 [cited 20 jan 2021]. Available from: https://www.hospitalsanpedro.org/images/Comite_Investigacion/Resolucion_8430_de_1993.pdf
59. Benkert P, Biasini M, Schwede T. Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 27(3), 343–350. [Internet]. 2011. [cited 24 may 2021]. Available in: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article/27/3/343/320383>

60. Markus Wiederstein, Manfred J. Sippl, ProSA-web: interactive web service for the recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. *Nucleic Acids Research*, Volume 35, Issue suppl_2, 1 July 2007, Pages W407–W410. [Internet]. 2007. [cited 25 may 2021]. Available in: https://academic.oup.com/nar/article/35/suppl_2/W407/2920938
61. Laskowski A, MacArthur M, Moss D, Thornton J. PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. *Journal of Applied Crystallography*, 26(2), 283–291. [Internet]. 1993. [cited 25 mar 2021]. Available in: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1107/S0021889892009944>
62. Pundir S, Magrane M, Martin MJ, O'Donovan C. Searching and Navigating UniProt Databases. *Curr Protoc Bioinformatics*. [Internet]. 2016. [cited 15 feb 2021]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4522465/>
63. Rotanova T, Botos I, Melnikov E, Rasulova F, Gustchina A, Maurizi M, Wlodawer A. Slicing a protease: Structural features of the ATP-dependent Lon proteases gleaned from investigations of isolated domains. *Protein Science*. [Internet]. 2006. [cited 24 jul 2021]. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2242575/>
64. Park S, Jia B, Yang J, Le Van D, Shao Y, Woo S et al. Oligomeric Structure of the ATP-dependent Protease La (Lon) of *Escherichia coli*. *Molecules and Cells*. [Internet]. 2006. [cited 24 jul 2021]. Available in: <http://www.molcells.org/journal/view.html?year=2006&volume=21&number=1&spage=129#body01>
65. Carr J, Arduino M, Swenson J. *Acinetobacter baumannii*. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). [Internet]. 2004. [cited 21 jan 2021]. Available in: <https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=6498>
66. Parker T. Colonial growth displayed by the Gram-negative bacterium *Acinetobacter baumannii*. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). [Internet]. 2014. [cited 21 jan 2021]. Available in:

<https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=17068>

10. Anexos

1. Compuestos con afinidad de unión por la proteasa Lon de *Acinetobacter baumannii*, obtenidos mediante docking molecular.

Se presentan los compuestos obtenidos mediante el docking masivo usando la librería de compuestos ZINC y servidor TACC de la Universidad de Texas ([https://drugdiscovery.tacc.utexas.edu/#/.](https://drugdiscovery.tacc.utexas.edu/#/))

Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol
ZINC000096516163-t1	-7.8	ZINC000065341879-t1	-7.2	ZINC000011903671-t1	-7.1	ZINC000004555410-t1	-7.0	ZINC000000288018-t1	-7.0	ZINC000019771942-t1	-7.0	ZINC000078503337-t1	-6.9
ZINC0000253471435-t1	-7.5	ZINC0000085346777-t1	-7.2	ZINC0000095416329-t1	-7.1	ZINC000004771260-t1	-7.0	ZINC000010030294-t1	-7.0	ZINC000016545658-t1	-7.0	ZINC0000100049856-t1	-6.9
ZINC000000984000-t1	-7.5	ZINC000096530773-t1	-7.2	ZINC000001707351-t1	-7.1	ZINC000006471639-t1	-7.0	ZINC000033064829-t1	-7.0	ZINC000017142426-t1	-7.0	ZINC0000100559285-t1	-6.9
ZINC000007030119-t1	-7.5	ZINC000016429546-t1	-7.2	ZINC000008189786-t1	-7.1	ZINC000011691403-t1	-7.0	ZINC000066088720-t1	-7.0	ZINC000004577642-t1	-7.0	ZINC000000195752-t1	-6.9
ZINC0000082092195-t1	-7.4	ZINC000098212370-t1	-7.2	ZINC000007237370-t1	-7.1	ZINC000011757640-t1	-7.0	ZINC000096345765-t1	-7.0	ZINC000019091256-t1	-7.0	ZINC000002447354-t1	-6.9
ZINC000005943942-t1	-7.4	ZINC000010254038-t1	-7.2	ZINC000096530405-t1	-7.1	ZINC000012274238-t1	-7.0	ZINC000000141611-t1	-7.0	ZINC000022005438-t1	-7.0	ZINC000011990573-t1	-6.9
ZINC0000049470283-t1	-7.4	ZINC000096138071-t1	-7.2	ZINC0000217708329-t1	-7.1	ZINC000016776981-t1	-7.0	ZINC000002493545-t1	-7.0	ZINC000000092272-t1	-7.0	ZINC000012559602-t1	-6.9
ZINC000006557423-t1	-7.4	ZINC000096138072-t1	-7.2	ZINC0000685937804-t1	-7.1	ZINC000019205091-t1	-7.0	ZINC000036725330-t1	-7.0	ZINC000000366065-t1	-7.0	ZINC000028497360-t1	-6.9
ZINC000003435531-t1	-7.4	ZINC00001711098-t1	-7.2	ZINC0000032511773-t1	-7.1	ZINC0000038343241-t1	-7.0	ZINC000095496440-t1	-7.0	ZINC00003898572-t1	-7.0	ZINC000065386049-t1	-6.9
ZINC0000643276657-t1	-7.4	ZINC000048302607-t1	-7.2	ZINC000033559084-t1	-7.1	ZINC0000100673004-t1	-7.0	ZINC000096001547-t1	-7.0	ZINC0000100536401-t1	-7.0	ZINC000067788772-t1	-6.9
ZINC000009607557-t1	-7.4	ZINC000000186507-t1	-7.2	ZINC000065347757-t1	-7.1	ZINC000003903609-t1	-7.0	ZINC00006661988-t1	-7.0	ZINC000000230410-t1	-7.0	ZINC000071519226-t1	-6.9
ZINC0000088104928-t1	-7.4	ZINC000004138257-t1	-7.2	ZINC000004158410-t1	-7.1	ZINC000020120419-t1	-7.0	ZINC0000195559245-t1	-7.0	ZINC000032102173-t1	-7.0	ZINC000003625540-t1	-6.9
ZINC000005006669-t1	-7.4	ZINC000006738039-t1	-7.2	ZINC000006440900-t1	-7.1	ZINC000034333903-t1	-7.0	ZINC000000331380-t1	-7.0	ZINC000057676201-t1	-7.0	ZINC000000306715-t1	-6.9
ZINC000098212314-t1	-7.4	ZINC000098212315-t1	-7.2	ZINC000097104787-t1	-7.1	ZINC000006225165-t1	-7.0	ZINC000004413485-t1	-7.0	ZINC000000384511-t1	-7.0	ZINC000002696202-t1	-6.9
ZINC000098212323-t1	-7.4	ZINC000098212319-t1	-7.2	ZINC0000101518952-t1	-7.1	ZINC000007779484-t1	-7.0	ZINC000016578160-t1	-7.0	ZINC000064555135-t1	-7.0	ZINC000006907419-t1	-6.9
ZINC000000090633-t1	-7.4	ZINC00000426267-t1	-7.2	ZINC000065369941-t1	-7.1	ZINC000019873558-t1	-7.0	ZINC000096001550-t1	-7.0	ZINC000005332262-t1	-7.0	ZINC000012671868-t1	-6.9
ZINC000000344145-t1	-7.4	ZINC000000450701-t1	-7.2	ZINC000000149852-t1	-7.1	ZINC000039334731-t1	-7.0	ZINC000096009095-t1	-7.0	ZINC000013211973-t1	-7.0	ZINC000013010345-t1	-6.9
ZINC000000222806-t1	-7.3	ZINC000022005434-t1	-7.2	ZINC0000005072886-t1	-7.1	ZINC000045894167-t1	-7.0	ZINC000051092333-t1	-7.0	ZINC000016946460-t1	-7.0	ZINC000013010347-t1	-6.9
ZINC000007996455-t1	-7.3	ZINC000041721989-t1	-7.2	ZINC0000008803841-t1	-7.1	ZINC0000100694292-t1	-7.0	ZINC000000045760-t1	-7.0	ZINC000085386019-t1	-7.0	ZINC000031653560-t1	-6.9
ZINC000091624624-t1	-7.3	ZINC00000410191-t1	-7.2	ZINC000004813128-t1	-7.1	ZINC0000100694296-t1	-7.0	ZINC000096530407-t1	-7.0	ZINC000035962971-t1	-7.0	ZINC000038031812-t1	-6.9
ZINC0000082092196-t1	-7.3	ZINC000065340459-t1	-7.2	ZINC000006740824-t1	-7.1	ZINC0000426711282-t1	-7.0	ZINC0000218689428-t1	-7.0	ZINC000040542118-t1	-7.0	ZINC000043934611-t1	-6.9
ZINC000072207082-t1	-7.3	ZINC0000100318276-t1	-7.2	ZINC000005338549-t1	-7.1	ZINC000004272372-t1	-7.0	ZINC0000225297682-t1	-7.0	ZINC000096312848-t1	-7.0	ZINC000045894024-t1	-6.9
ZINC000000129537-t1	-7.3	ZINC0000100311507-t1	-7.2	ZINC000023641095-t1	-7.1	ZINC000045894090-t1	-7.0	ZINC000008653054-t1	-7.0	ZINC000031291012-t1	-7.0	ZINC000085533054-t1	-6.9
ZINC000014988512-t1	-7.3	ZINC000004625446-t1	-7.2	ZINC000097104530-t1	-7.1	ZINC0000089756180-t1	-7.0	ZINC000080636912-t1	-7.0	ZINC000041161582-t1	-7.0	ZINC000095236217-t1	-6.9
ZINC000038489165-t1	-7.3	ZINC000000411287-t1	-7.1	ZINC0000100528650-t1	-7.1	ZINC000005014690-t1	-7.0	ZINC000096530767-t1	-7.0	ZINC000064555315-t1	-7.0	ZINC0000170082082-t1	-6.9
ZINC000000994231-t1	-7.3	ZINC000004135714-t1	-7.1	ZINC000000631532-t1	-7.1	ZINC0000008617048-t1	-7.0	ZINC0000000471116-t1	-7.0	ZINC000071860729-t1	-7.0	ZINC0000225797495-t1	-6.9
ZINC000004710802-t1	-7.3	ZINC000011731191-t1	-7.1	ZINC0000005484029-t1	-7.1	ZINC000026893387-t1	-7.0	ZINC000001440429-t1	-7.0	ZINC0000426563576-t1	-7.0	ZINC000003212721-t1	-6.9
ZINC0000058157427-t1	-7.3	ZINC000059715809-t1	-7.1	ZINC000001036821-t1	-7.1	ZINC000072207085-t1	-7.0	ZINC000003626301-t1	-7.0	ZINC000000236205-t1	-7.0	ZINC000013998993-t1	-6.9
ZINC0000065606987-t1	-7.3	ZINC000073647932-t1	-7.1	ZINC0000020191960-t1	-7.1	ZINC0000103707086-t1	-7.0	ZINC0000040400064-t1	-7.0	ZINC0000000077828-t1	-7.0	ZINC000019403152-t1	-6.9
ZINC000034924974-t1	-7.3	ZINC000075163268-t1	-7.1	ZINC000005001180-t1	-7.1	ZINC0000685937850-t1	-7.0	ZINC000013123017-t1	-7.0	ZINC000000409090-t1	-7.0	ZINC0000170598378-t1	-6.9
ZINC000075877681-t1	-7.3	ZINC0000584896509-t1	-7.1	ZINC000015436161-t1	-7.1	ZINC000096029091-t1	-7.0	ZINC0000061811191-t1	-7.0	ZINC000009136136-t1	-7.0	ZINC000001667942-t1	-6.9
ZINC000004717421-t1	-7.2	ZINC000000779966-t1	-7.1	ZINC000001642486-t1	-7.1	ZINC000008700995-t1	-7.0	ZINC000065347761-t1	-7.0	ZINC000065341867-t1	-7.0	ZINC000004945632-t1	-6.9
ZINC000005009329-t1	-7.2	ZINC000008856071-t1	-7.1	ZINC000000121465-t1	-7.1	ZINC000008997302-t1	-7.0	ZINC000082825930-t1	-7.0	ZINC000049815180-t1	-7.0	ZINC000005977019-t1	-6.9
ZINC000012274237-t1	-7.2	ZINC000072333120-t1	-7.1	ZINC000000161597-t1	-7.1	ZINC000020258144-t1	-7.0	ZINC000090396283-t1	-7.0	ZINC0000216623364-t1	-7.0	ZINC000017420914-t1	-6.9
ZINC000002102479-t1	-7.2	ZINC000012428255-t1	-7.1	ZINC00003255512-t1	-7.1	ZINC000020457379-t1	-7.0	ZINC0000606441539-t1	-7.0	ZINC000003843480-t1	-7.0	ZINC000040165578-t1	-6.9
ZINC000027628000-t1	-7.2	ZINC000072170048-t1	-7.1	ZINC000023625302-t1	-7.1	ZINC0000534634896-t1	-7.0	ZINC000000209747-t1	-7.0	ZINC0000132025745-t1	-7.0	ZINC000049474303-t1	-6.9
ZINC0000253471766-t1	-7.2	ZINC000001563885-t1	-7.1	ZINC000004805928-t1	-7.1	ZINC000021958067-t1	-7.0	ZINC000000407253-t1	-7.0	ZINC000006757479-t1	-7.0	ZINC000072207083-t1	-6.9
ZINC000009948838-t1	-7.2	ZINC000003160824-t1	-7.1	ZINC000016946484-t1	-7.1	ZINC000096476291-t1	-7.0	ZINC000002803364-t1	-7.0	ZINC000095094754-t1	-7.0	ZINC000096516000-t1	-6.9
ZINC0000044968134-t1	-7.2	ZINC000096531467-t1	-7.1	ZINC000095094748-t1	-7.1	ZINC0000126451888-t1	-7.0	ZINC000022459329-t1	-7.0	ZINC000020263362-t1	-6.9	ZINC0000103707128-t1	-6.9
ZINC000096125541-t1	-7.2	ZINC000096531470-t1	-7.1	ZINC000096312315-t1	-7.1	ZINC000000157843-t1	-7.0	ZINC0000148596229-t1	-7.0	ZINC000012062420-t1	-6.9	ZINC0000117611589-t1	-6.9
ZINC0000253471154-t1	-7.2	ZINC000057478074-t1	-7.1	ZINC0000105737116-t1	-7.1	ZINC000004505224-t1	-7.0	ZINC0000585146626-t1	-7.0	ZINC000000020684-t1	-6.9	ZINC0000217712885-t1	-6.9
ZINC000078869231-t1	-7.2	ZINC000001125800-t1	-7.1	ZINC0000003845346-t1	-7.1	ZINC000021634839-t1	-7.0	ZINC000000477923-t1	-7.0	ZINC000000119857-t1	-6.9	ZINC0000217714196-t1	-6.9
ZINC0000010707349-t1	-7.2	ZINC000022203965-t1	-7.1	ZINC0000004052150-t1	-7.1	ZINC0000008393977-t1	-7.0	ZINC0000001390763-t1	-7.0	ZINC000000119859-t1	-6.9	ZINC00000017894105-t1	-6.9
ZINC000096531463-t1	-7.2	ZINC000096479713-t1	-7.1	ZINC000005602864-t1	-7.1	ZINC000000171366-t1	-7.0	ZINC000005936439-t1	-7.0	ZINC000000210429-t1	-6.9	ZINC000001749355-t1	-6.9
ZINC000096531465-t1	-7.2	ZINC000000151365-t1	-7.1	ZINC000043598723-t1	-7.1	ZINC0000000171377-t1	-7.0	ZINC0000009058684-t1	-7.0	ZINC000000240938-t1	-6.9	ZINC000005415223-t1	-6.9
ZINC000008739835-t1	-7.2	ZINC000019849589-t1	-7.1	ZINC000025358882-t1	-7.1	ZINC000008393977-t1	-7.0	ZINC000012360261-t1	-7.0	ZINC000001280929-t1	-6.9	ZINC000008618458-t1	-6.9
ZINC000097079738-t1	-7.2	ZINC000095405641-t1	-7.1	ZINC0000258395980-t1	-7.1	ZINC000009516261-t1	-7.0	ZINC000089807616-t1	-7.0	ZINC000002569650-t1	-6.9	ZINC000016958405-t1	-6.9
ZINC000065228114-t1	-7.2	ZINC000075505253-t1	-7.1	ZINC0000000145284-t1	-7.0	ZINC0000074797531-t1	-7.0	ZINC0000000058460-t1	-7.0	ZINC0000014987853-t1	-6.9	ZINC000002292870-t1	-6.9
ZINC000018219310-t1	-7.2	ZINC000097101842-t1	-7.1	ZINC0000001689596-t1	-7.0	ZINC000096132185-t1	-7.0	ZINC0000000407917-t1	-7.0	ZINC000021961873-t1	-6.9	ZINC000011903104-t1	-6.9
ZINC000085346781-t1	-7.2	ZINC000013327030-t1	-7.1	ZINC000002569651-t1	-7.0	ZINC000096501814-t1	-7.0	ZINC000087810163-t1	-7.0	ZINC000032500258-t1	-6.9	ZINC000020209252-t1	-6.9

Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol
ZINC000035347688-t1	-6.9	ZINC000396657546-t1	-6.9	ZINC000075505258-t1	-6.9	ZINC000036312878-t1	-6.9	ZINC000059715812-t1	-6.8	ZINC000001750459-t1	-6.8	ZINC000020267994-t1	-6.8
ZINC000103561346-t1	-6.9	ZINC000000972816-t1	-6.9	ZINC000000018011-t1	-6.9	ZINC000036312885-t1	-6.9	ZINC000069849046-t1	-6.8	ZINC000002031935-t1	-6.8	ZINC000034566714-t1	-6.8
ZINC0000253536512-t1	-6.9	ZINC000006703734-t1	-6.9	ZINC000014988628-t1	-6.9	ZINC000148458838-t1	-6.9	ZINC000072404540-t1	-6.8	ZINC000005031041-t1	-6.8	ZINC000036238440-t1	-6.8
ZINC0000253536518-t1	-6.9	ZINC000008652428-t1	-6.9	ZINC000075609321-t1	-6.9	ZINC00004028911-t1	-6.9	ZINC000073647912-t1	-6.8	ZINC000049467243-t1	-6.8	ZINC000037716386-t1	-6.8
ZINC0000257357168-t1	-6.9	ZINC000018221920-t1	-6.9	ZINC000087810161-t1	-6.9	ZINC000005089858-t1	-6.9	ZINC000082160663-t1	-6.8	ZINC000051332573-t1	-6.8	ZINC000067805879-t1	-6.8
ZINC0000534581162-t1	-6.9	ZINC000020220651-t1	-6.9	ZINC000151482788-t1	-6.9	ZINC000005818449-t1	-6.9	ZINC000035961766-t1	-6.8	ZINC000053488740-t1	-6.8	ZINC000068675300-t1	-6.8
ZINC000004945040-t1	-6.9	ZINC000023623272-t1	-6.9	ZINC000000344894-t1	-6.9	ZINC000013641122-t1	-6.9	ZINC000100746890-t1	-6.8	ZINC000070646798-t1	-6.8	ZINC000087844521-t1	-6.8
ZINC000008638025-t1	-6.9	ZINC000095443722-t1	-6.9	ZINC000014607879-t1	-6.9	ZINC000019470587-t1	-6.9	ZINC000101034430-t1	-6.8	ZINC000072397475-t1	-6.8	ZINC000116843982-t1	-6.8
ZINC000020253493-t1	-6.9	ZINC000128069455-t1	-6.9	ZINC000216522778-t1	-6.9	ZINC000000246853-t1	-6.9	ZINC000225523526-t1	-6.8	ZINC000072417669-t1	-6.8	ZINC000152885588-t1	-6.8
ZINC000020353731-t1	-6.9	ZINC000159352155-t1	-6.9	ZINC000001433930-t1	-6.9	ZINC0000000447397-t1	-6.9	ZINC000252627807-t1	-6.8	ZINC000072417670-t1	-6.8	ZINC000254305126-t1	-6.8
ZINC000057348073-t1	-6.9	ZINC000036470974-t1	-6.9	ZINC000000115144-t1	-6.9	ZINC000000711395-t1	-6.9	ZINC000534644777-t1	-6.8	ZINC000075131380-t1	-6.8	ZINC000000146075-t1	-6.8
ZINC000097057846-t1	-6.9	ZINC000067172721-t1	-6.9	ZINC000000226015-t1	-6.9	ZINC0000005819269-t1	-6.9	ZINC0000004732869-t1	-6.8	ZINC000096517030-t1	-6.8	ZINC000000148139-t1	-6.8
ZINC000015906893-t1	-6.9	ZINC000084610155-t1	-6.9	ZINC000002487801-t1	-6.9	ZINC000009322233-t1	-6.9	ZINC000005723988-t1	-6.8	ZINC000021789387-t1	-6.8	ZINC000000361298-t1	-6.8
ZINC000017948569-t1	-6.9	ZINC000005771119-t1	-6.9	ZINC000005945157-t1	-6.9	ZINC000019733381-t1	-6.9	ZINC000005927294-t1	-6.8	ZINC0000585143564-t1	-6.8	ZINC000000407265-t1	-6.8
ZINC000018219883-t1	-6.9	ZINC000006927561-t1	-6.9	ZINC000006927561-t1	-6.9	ZINC000142411370-t1	-6.9	ZINC000009202827-t1	-6.8	ZINC00000568451-t1	-6.8	ZINC00003886059-t1	-6.8
ZINC000100757106-t1	-6.9	ZINC000037452682-t1	-6.9	ZINC000064875523-t1	-6.9	ZINC000725273563-t1	-6.9	ZINC000013019819-t1	-6.8	ZINC000001628959-t1	-6.8	ZINC000004833349-t1	-6.8
ZINC000102672912-t1	-6.9	ZINC000080671016-t1	-6.9	ZINC000000238129-t1	-6.9	ZINC000004243807-t1	-6.9	ZINC000019222860-t1	-6.8	ZINC000001720089-t1	-6.8	ZINC000005173960-t1	-6.8
ZINC000193664567-t1	-6.9	ZINC000108356614-t1	-6.9	ZINC000000426315-t1	-6.9	ZINC000004255604-t1	-6.9	ZINC000019891362-t1	-6.8	ZINC000005670201-t1	-6.8	ZINC000006743044-t1	-6.8
ZINC000005730283-t1	-6.9	ZINC000216233223-t1	-6.9	ZINC000012538320-t1	-6.9	ZINC0000008672863-t1	-6.9	ZINC0000020388154-t1	-6.8	ZINC000005810966-t1	-6.8	ZINC000008915135-t1	-6.8
ZINC000018055437-t1	-6.9	ZINC000217700268-t1	-6.9	ZINC000013641110-t1	-6.9	ZINC000009287706-t1	-6.9	ZINC000026496111-t1	-6.8	ZINC000006557008-t1	-6.8	ZINC000008982230-t1	-6.8
ZINC000032500760-t1	-6.9	ZINC000003844528-t1	-6.9	ZINC000026420145-t1	-6.9	ZINC000074328738-t1	-6.9	ZINC000027465391-t1	-6.8	ZINC000020550474-t1	-6.8	ZINC000012322473-t1	-6.8
ZINC000012321826-t1	-6.9	ZINC000010338617-t1	-6.9	ZINC000010338617-t1	-6.9	ZINC0000039279020-t1	-6.9	ZINC0000040736563-t1	-6.8	ZINC000034332978-t1	-6.8	ZINC00001277277-t1	-6.8
ZINC000096132186-t1	-6.9	ZINC000019167426-t1	-6.9	ZINC000101028699-t1	-6.9	ZINC000003190897-t1	-6.9	ZINC000170621731-t1	-6.8	ZINC000038518599-t1	-6.8	ZINC000012872469-t1	-6.8
ZINC000000238348-t1	-6.9	ZINC000096530762-t1	-6.9	ZINC000170087679-t1	-6.9	ZINC000004290159-t1	-6.9	ZINC0000529120282-t1	-6.8	ZINC000057478071-t1	-6.8	ZINC000025309202-t1	-6.8
ZINC000008672858-t1	-6.9	ZINC000080998207-t1	-6.9	ZINC000000087052-t1	-6.9	ZINC000006922148-t1	-6.9	ZINC000002519662-t1	-6.8	ZINC000103707090-t1	-6.8	ZINC000036015447-t1	-6.8
ZINC000012321826-t1	-6.9	ZINC000000175224-t1	-6.9	ZINC000000339551-t1	-6.9	ZINC0000049820875-t1	-6.9	ZINC000001403378-t1	-6.8	ZINC000017894223-t1	-6.8	ZINC000063156943-t1	-6.8
ZINC000023082092-t1	-6.9	ZINC000002803363-t1	-6.9	ZINC000001391253-t1	-6.9	ZINC000216617023-t1	-6.9	ZINC000002624238-t1	-6.8	ZINC000225794974-t1	-6.8	ZINC000075505346-t1	-6.8
ZINC000032928079-t1	-6.9	ZINC000003908302-t1	-6.9	ZINC0000023995956-t1	-6.9	ZINC000000346102-t1	-6.9	ZINC000007779483-t1	-6.8	ZINC000225795292-t1	-6.8	ZINC000096224322-t1	-6.8
ZINC000034925147-t1	-6.9	ZINC000002650811-t1	-6.9	ZINC000004729458-t1	-6.9	ZINC000000357198-t1	-6.9	ZINC000012672122-t1	-6.8	ZINC000005817138-t1	-6.8	ZINC000193664556-t1	-6.8
ZINC000043717141-t1	-6.9	ZINC000028923417-t1	-6.9	ZINC000008728760-t1	-6.9	ZINC000000430491-t1	-6.9	ZINC000013146931-t1	-6.8	ZINC000008741151-t1	-6.8	ZINC000252489143-t1	-6.8
ZINC000078593656-t1	-6.9	ZINC000032627029-t1	-6.9	ZINC000013125358-t1	-6.9	ZINC000000549180-t1	-6.9	ZINC000023081457-t1	-6.8	ZINC000033821637-t1	-6.8	ZINC000252489144-t1	-6.8
ZINC000080642427-t1	-6.9	ZINC000039553378-t1	-6.9	ZINC000076062603-t1	-6.9	ZINC000005491223-t1	-6.9	ZINC000026508060-t1	-6.8	ZINC000037400942-t1	-6.8	ZINC000606440382-t1	-6.8
ZINC000000418320-t1	-6.9	ZINC000061957944-t1	-6.9	ZINC000100519123-t1	-6.9	ZINC000006697897-t1	-6.9	ZINC000030611553-t1	-6.8	ZINC000053732291-t1	-6.8	ZINC000004121845-t1	-6.8
ZINC000000621487-t1	-6.9	ZINC000072302524-t1	-6.9	ZINC000170087880-t1	-6.9	ZINC000012652392-t1	-6.9	ZINC000034215944-t1	-6.8	ZINC000253536514-t1	-6.8	ZINC000004505221-t1	-6.8
ZINC000000999361-t1	-6.9	ZINC000076062587-t1	-6.9	ZINC000254914012-t1	-6.9	ZINC000013407411-t1	-6.9	ZINC000048072534-t1	-6.8	ZINC0000585119433-t1	-6.8	ZINC000008915685-t1	-6.8
ZINC000007769764-t1	-6.9	ZINC000097140334-t1	-6.9	ZINC000000176919-t1	-6.9	ZINC0000032101464-t1	-6.9	ZINC000049498025-t1	-6.8	ZINC000000998318-t1	-6.8	ZINC000015289265-t1	-6.8
ZINC0000093701366-t1	-6.9	ZINC000097163155-t1	-6.9	ZINC000006788941-t1	-6.9	ZINC000107875865-t1	-6.9	ZINC000058299175-t1	-6.8	ZINC000000129143-t1	-6.8	ZINC000046088193-t1	-6.8
ZINC000012975056-t1	-6.9	ZINC000000473768-t1	-6.9	ZINC000020253850-t1	-6.9	ZINC00001604205-t1	-6.9	ZINC000069980242-t1	-6.8	ZINC000000257834-t1	-6.8	ZINC000071914415-t1	-6.8
ZINC000016260570-t1	-6.9	ZINC000000505339-t1	-6.9	ZINC000045796044-t1	-6.9	ZINC000001717640-t1	-6.9	ZINC000071279780-t1	-6.8	ZINC000000373405-t1	-6.8	ZINC000075505235-t1	-6.8
ZINC000040496464-t1	-6.9	ZINC000005941289-t1	-6.9	ZINC0000082548739-t1	-6.9	ZINC000002526922-t1	-6.9	ZINC0000075505198-t1	-6.8	ZINC000004093255-t1	-6.8	ZINC000085558828-t1	-6.8
ZINC000040496465-t1	-6.9	ZINC000007720713-t1	-6.9	ZINC000098012622-t1	-6.9	ZINC000031943799-t1	-6.9	ZINC000095946567-t1	-6.8	ZINC000001429476-t1	-6.8	ZINC000093736649-t1	-6.8
ZINC000095509444-t1	-6.9	ZINC000071847811-t1	-6.9	ZINC000426550351-t1	-6.9	ZINC000095094749-t1	-6.9	ZINC000003821096-t1	-6.8	ZINC000002512511-t1	-6.8	ZINC000097377682-t1	-6.8
ZINC000098212310-t1	-6.9	ZINC000078546305-t1	-6.9	ZINC000000500118-t1	-6.9	ZINC0000258730983-t1	-6.9	ZINC000152815394-t1	-6.8	ZINC000002536606-t1	-6.8	ZINC000534672956-t1	-6.8
ZINC000095236258-t1	-6.9	ZINC000087810075-t1	-6.9	ZINC000091304348-t1	-6.9	ZINC0000000119861-t1	-6.8	ZINC000000074890-t1	-6.8	ZINC000004749098-t1	-6.8	ZINC000585141818-t1	-6.8
ZINC000001508230-t1	-6.9	ZINC000096500452-t1	-6.9	ZINC000000194985-t1	-6.9	ZINC000000119863-t1	-6.8	ZINC000001344439-t1	-6.8	ZINC000012359677-t1	-6.8	ZINC000000127526-t1	-6.8
ZINC000002472325-t1	-6.9	ZINC000098020435-t1	-6.9	ZINC000002556362-t1	-6.9	ZINC000000121054-t1	-6.8	ZINC000009667818-t1	-6.8	ZINC000012370444-t1	-6.8	ZINC000000238349-t1	-6.8
ZINC000012389865-t1	-6.9	ZINC000000837263-t1	-6.9	ZINC0000000837263-t1	-6.9	ZINC0000004343314-t1	-6.8	ZINC000001242856-t1	-6.8	ZINC000012428561-t1	-6.8	ZINC000000269343-t1	-6.8
ZINC000022023921-t1	-6.9	ZINC000005286488-t1	-6.9	ZINC000039259100-t1	-6.9	ZINC000004678453-t1	-6.8	ZINC000257358237-t1	-6.8	ZINC000013693183-t1	-6.8	ZINC000003378745-t1	-6.8
ZINC000089920503-t1	-6.9	ZINC000005602264-t1	-6.9	ZINC000040169605-t1	-6.9	ZINC000004938560-t1	-6.8	ZINC000583651227-t1	-6.8	ZINC000014987602-t1	-6.8	ZINC000007779086-t1	-6.8
ZINC000225589613-t1	-6.9	ZINC000006704278-t1	-6.9	ZINC000040443339-t1	-6.9	ZINC000034412434-t1	-6.8	ZINC000001631290-t1	-6.8	ZINC000014989042-t1	-6.8	ZINC000009497477-t1	-6.8

Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol	Codigo ZINC del compuesto	Energía de unión Kcal/mol
ZINC000012892794-t1	-6.8	ZINC000095238740-t1	-6.8	ZINC000003907761-t1	-6.8	ZINC000008738871-t1	-6.8	ZINC000051559022-t1	-6.8	ZINC0000980633951-t1	-6.8
ZINC000013012572-t1	-6.8	ZINC000096001551-t1	-6.8	ZINC000005997167-t1	-6.8	ZINC000012946727-t1	-6.8	ZINC000075287069-t1	-6.8	ZINC000001680934-t1	-6.8
ZINC000025333042-t1	-6.8	ZINC000097374345-t1	-6.8	ZINC000007755393-t1	-6.8	ZINC000015924513-t1	-6.8	ZINC000100573794-t1	-6.8	ZINC000004243462-t1	-6.8
ZINC000041154715-t1	-6.8	ZINC000015829710-t1	-6.8	ZINC000008666392-t1	-6.8	ZINC000016470657-t1	-6.8	ZINC0000725273459-t1	-6.8	ZINC000005734631-t1	-6.8
ZINC0000935413910-t1	-6.8	ZINC000584885032-t1	-6.8	ZINC000009255971-t1	-6.8	ZINC000022538269-t1	-6.8	ZINC000000401169-t1	-6.8	ZINC000013589620-t1	-6.8
ZINC000096429907-t1	-6.8	ZINC000015829550-t1	-6.8	ZINC000011004477-t1	-6.8	ZINC000075271424-t1	-6.8	ZINC000001508817-t1	-6.8	ZINC000016492841-t1	-6.8
ZINC000097202634-t1	-6.8	ZINC000051095730-t1	-6.8	ZINC000016973034-t1	-6.8	ZINC000100006737-t1	-6.8	ZINC000003561809-t1	-6.8	ZINC000019780353-t1	-6.8
ZINC000179043877-t1	-6.8	ZINC000051096307-t1	-6.8	ZINC000019015039-t1	-6.8	ZINC000225548394-t1	-6.8	ZINC000006657554-t1	-6.8	ZINC000020154399-t1	-6.8
ZINC000225555175-t1	-6.8	ZINC000086781372-t1	-6.8	ZINC000019741327-t1	-6.8	ZINC000426465263-t1	-6.8	ZINC000006657556-t1	-6.8	ZINC000035962941-t1	-6.8
ZINC000000027763-t1	-6.8	ZINC000670469759-t1	-6.8	ZINC000019795161-t1	-6.8	ZINC001506424115-t1	-6.8	ZINC000006742214-t1	-6.8	ZINC000040443338-t1	-6.8
ZINC000000053756-t1	-6.8	ZINC000000571361-t1	-6.8	ZINC000026508116-t1	-6.8	ZINC000004108202-t1	-6.8	ZINC000008205769-t1	-6.8	ZINC000040443428-t1	-6.8
ZINC000006865166-t1	-6.8	ZINC000001686209-t1	-6.8	ZINC000035971972-t1	-6.8	ZINC000026472867-t1	-6.8	ZINC000008844783-t1	-6.8	ZINC000054444810-t1	-6.8
ZINC000009493465-t1	-6.8	ZINC000001730553-t1	-6.8	ZINC000042122647-t1	-6.8	ZINC000000186720-t1	-6.8	ZINC000012374518-t1	-6.8	ZINC000082675814-t1	-6.8
ZINC000012390500-t1	-6.8	ZINC000003847012-t1	-6.8	ZINC000045918703-t1	-6.8	ZINC000049155369-t1	-6.8	ZINC000012410539-t1	-6.8	ZINC000096311532-t1	-6.8
ZINC000012428854-t1	-6.8	ZINC000005799116-t1	-6.8	ZINC000064543403-t1	-6.8	ZINC000065339381-t1	-6.8	ZINC000012539829-t1	-6.8	ZINC000096311543-t1	-6.8
ZINC000014266402-t1	-6.8	ZINC000005880924-t1	-6.8	ZINC000064543405-t1	-6.8	ZINC000075500587-t1	-6.8	ZINC000013125346-t1	-6.8	ZINC000096312854-t1	-6.8
ZINC000020496335-t1	-6.8	ZINC000006925802-t1	-6.8	ZINC000064556012-t1	-6.8	ZINC000097572360-t1	-6.8	ZINC000015096892-t1	-6.8	ZINC000140296696-t1	-6.8
ZINC0000223142718-t1	-6.8	ZINC000009926850-t1	-6.8	ZINC000064556013-t1	-6.8	ZINC000335363749-t1	-6.8	ZINC000015589885-t1	-6.8	ZINC000257206015-t1	-6.8
ZINC000040351430-t1	-6.8	ZINC000020137014-t1	-6.8	ZINC000065606985-t1	-6.8	ZINC000001607651-t1	-6.8	ZINC000019881437-t1	-6.8	ZINC000000063265-t1	-6.8
ZINC000079024568-t1	-6.8	ZINC000033976371-t1	-6.8	ZINC000071282080-t1	-6.8	ZINC000001724151-t1	-6.8	ZINC000034624081-t1	-6.8	ZINC000000154018-t1	-6.8
ZINC000089807639-t1	-6.8	ZINC000037430599-t1	-6.8	ZINC000075505358-t1	-6.8	ZINC000006502117-t1	-6.8	ZINC000034956091-t1	-6.8	ZINC000000319200-t1	-6.8
ZINC000096001546-t1	-6.8	ZINC000040174306-t1	-6.8	ZINC000100519151-t1	-6.8	ZINC000019771944-t1	-6.8	ZINC000040542122-t1	-6.8	ZINC000001861775-t1	-6.8
ZINC000097082001-t1	-6.8	ZINC000046088169-t1	-6.8	ZINC000225387130-t1	-6.8	ZINC000019772023-t1	-6.8	ZINC000042121762-t1	-6.8	ZINC000002755321-t1	-6.8
ZINC000252538753-t1	-6.8	ZINC000049334522-t1	-6.8	ZINC000253478803-t1	-6.8	ZINC000040164163-t1	-6.8	ZINC000065340089-t1	-6.8	ZINC000004763702-t1	-6.8
ZINC000492665267-t1	-6.8	ZINC000062712406-t1	-6.8	ZINC0000000252920-t1	-6.8	ZINC000070461528-t1	-6.8	ZINC000065520496-t1	-6.8	ZINC000004787227-t1	-6.8
ZINC000069977205-t1	-6.8	ZINC000100227195-t1	-6.8	ZINC000000505342-t1	-6.8	ZINC000096311531-t1	-6.8	ZINC000089556412-t1	-6.8	ZINC000004834515-t1	-6.8
ZINC000000158565-t1	-6.8	ZINC000100498760-t1	-6.8	ZINC0000005942356-t1	-6.8	ZINC0000100136820-t1	-6.8	ZINC000095348338-t1	-6.8	ZINC000005630861-t1	-6.8
ZINC000002808425-t1	-6.8	ZINC000101983955-t1	-6.8	ZINC000009606418-t1	-6.8	ZINC000135984810-t1	-6.8	ZINC000096147930-t1	-6.8	ZINC000006715251-t1	-6.8
ZINC000014899682-t1	-6.8	ZINC000212038743-t1	-6.8	ZINC000009609864-t1	-6.8	ZINC000000152175-t1	-6.8	ZINC000000123457-t1	-6.8	ZINC000008672859-t1	-6.8
ZINC000020282074-t1	-6.8	ZINC000218820084-t1	-6.8	ZINC000012360260-t1	-6.8	ZINC000001730922-t1	-6.8	ZINC000000205493-t1	-6.8	ZINC000012391230-t1	-6.8
ZINC000045894053-t1	-6.8	ZINC000226106786-t1	-6.8	ZINC000012525395-t1	-6.8	ZINC000006740823-t1	-6.8	ZINC000000314777-t1	-6.8	ZINC000013320331-t1	-6.8
ZINC000074826073-t1	-6.8	ZINC000020523202-t1	-6.8	ZINC000012525582-t1	-6.8	ZINC000008727752-t1	-6.8	ZINC000000372155-t1	-6.8	ZINC000016696618-t1	-6.8
ZINC000082163918-t1	-6.8	ZINC000072208496-t1	-6.8	ZINC000030600836-t1	-6.8	ZINC000013782579-t1	-6.8	ZINC000000995604-t1	-6.8	ZINC000071570896-t1	-6.8
ZINC000095992225-t1	-6.8	ZINC000085346773-t1	-6.8	ZINC000034956240-t1	-6.8	ZINC000019771943-t1	-6.8	ZINC000003070600-t1	-6.8	ZINC000114961754-t1	-6.8
ZINC000102504797-t1	-6.8	ZINC000064875550-t1	-6.8	ZINC000035697275-t1	-6.8	ZINC000041722232-t1	-6.8	ZINC000003882671-t1	-6.8	ZINC000000057675-t1	-6.8
ZINC000000127402-t1	-6.8	ZINC000096296162-t1	-6.8	ZINC000037164376-t1	-6.8	ZINC000044272126-t1	-6.8	ZINC000006789306-t1	-6.8	ZINC000000057927-t1	-6.8
ZINC000000170524-t1	-6.8	ZINC000257197553-t1	-6.8	ZINC000065606879-t1	-6.8	ZINC000045921976-t1	-6.8	ZINC000008548520-t1	-6.8	ZINC000000096200-t1	-6.8
ZINC00001389337-t1	-6.8	ZINC000409416120-t1	-6.8	ZINC000075156880-t1	-6.8	ZINC000095629429-t1	-6.8	ZINC000008793591-t1	-6.8	ZINC000000154770-t1	-6.8
ZINC000002430352-t1	-6.8	ZINC000521205744-t1	-6.8	ZINC000082109502-t1	-6.8	ZINC000000142027-t1	-6.8	ZINC000021805948-t1	-6.8	ZINC000000171260-t1	-6.8
ZINC000009280127-t1	-6.8	ZINC000000041293-t1	-6.8	ZINC000096180530-t1	-6.8	ZINC000000169265-t1	-6.8	ZINC000021805950-t1	-6.8	ZINC000000198813-t1	-6.8
ZINC000012408629-t1	-6.8	ZINC000000341227-t1	-6.8	ZINC00001667940-t1	-6.8	ZINC000000350912-t1	-6.8	ZINC000035660492-t1	-6.8	ZINC000000271638-t1	-6.8
ZINC000016855223-t1	-6.8	ZINC000003074580-t1	-6.8	ZINC000000149855-t1	-6.8	ZINC000002807066-t1	-6.8	ZINC000095391824-t1	-6.8	ZINC000000291242-t1	-6.8
ZINC000018136531-t1	-6.8	ZINC000006556534-t1	-6.8	ZINC000000316982-t1	-6.8	ZINC000003435445-t1	-6.8	ZINC000426368408-t1	-6.8	ZINC000000291251-t1	-6.8
ZINC000020309435-t1	-6.8	ZINC000011903101-t1	-6.8	ZINC000000342716-t1	-6.8	ZINC000005943064-t1	-6.8	ZINC000000041809-t1	-6.8	ZINC000000333592-t1	-6.8
ZINC000043529666-t1	-6.8	ZINC000019239044-t1	-6.8	ZINC000000347286-t1	-6.8	ZINC000007311152-t1	-6.8	ZINC000000077843-t1	-6.8	ZINC000000362938-t1	-6.8
ZINC000065508004-t1	-6.8	ZINC000033559231-t1	-6.8	ZINC000000385417-t1	-6.8	ZINC000009387484-t1	-6.8	ZINC000013234013-t1	-6.8	ZINC000000386265-t1	-6.8
ZINC000072329936-t1	-6.8	ZINC000095481162-t1	-6.8	ZINC000004006344-t1	-6.8	ZINC000012539148-t1	-6.8	ZINC000022120801-t1	-6.8	ZINC000000399805-t1	-6.8
ZINC000072329950-t1	-6.8	ZINC000000005945-t1	-6.8	ZINC000004086158-t1	-6.8	ZINC000020158796-t1	-6.8	ZINC000033805560-t1	-6.8	ZINC000000401909-t1	-6.8
ZINC000082879332-t1	-6.8	ZINC000000131998-t1	-6.8	ZINC000005177232-t1	-6.8	ZINC000026508125-t1	-6.8	ZINC000040542124-t1	-6.8	ZINC0000001507097-t1	-6.8
ZINC000085809603-t1	-6.8	ZINC000000327349-t1	-6.8	ZINC000006699493-t1	-6.8	ZINC000032916896-t1	-6.8	ZINC000061857392-t1	-6.8	ZINC000003844886-t1	-6.8

Anexo 2. Propiedades farmacocinéticas ADMET obtenidas para los 100 primeros compuestos con energía de unión a proteasa Lon.

Codigo ZINC	SMILES	Energía de unión Lon Kcal/mol	Permeabilidad Caco-2	Absorción Intestinal Humana (HIA)	Sustrato de glicoproteína P	Unión a Proteínas Plasmáticas	Barrera Hematoencefalica	Sustrato CYP2D6	Sustrato CYP3A4	Inhibición de CYP2D6	Inhibición de CYP3A4	Inhibición de CYP2C9	Inhibición de CYP2C19	Inhibición de CYP1A2	Sustrato OCT2 Renal	Toxicidad AMES	Inhibición humana hERG I	Inhibición humana hERG II	Toxicidad Oral Aguda	Hepato toxicidad
ATP	<chem>Nc1ncnc2c1ncn2[C@@H]1O[C@H](CO[P@](=O)(O)OP(=O)(O)O)[C@H](O)[C@H]1O</chem>	-7.0	-0.575	20.127	SI	0.483	-2.751	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	2.424	NO
ZINC000096516163	<chem>O=C(O)c1ccc2c(O)nc3cnnc3c2c1</chem>	-7.8	0.974	73.238	NO	0.162	-0.824	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.485	SI
ZINC000253471435	<chem>Cc1nc2c([nH]1)-c1nnc1Nc1nnc1-2</chem>	-7.5	0.137	86.99	SI	0.455	-1.745	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	1.91	SI
ZINC000000984000	<chem>Cc1ccc2c(c1)Oc1nc3cccc3nc1N2</chem>	-7.5	1.328	93.515	SI	0.059	0.691	NO	SI	NO	SI	SI	SI	SI	NO	NO	NO	NO	2.076	NO
ZINC000007030119	<chem>Cc1ccc2c(c1)Nc1nc3cccc3nc1O2</chem>	-7.5	1.37	92.745	NO	0.102	0.907	NO	SI	NO	SI	NO	SI	SI	SI	NO	NO	NO	2.225	NO
ZINC000082092195	<chem>Cc1ccc(N2CC[C@]3(CC(=O)NC3=O)C2)nn1</chem>	-7.4	0.759	88.841	NO	0.645	-0.447	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	2.601	SI
ZINC000005943942	<chem>O=C(Nc1ccc(O)c(C(=O)O)c1)c1ncn[nH]1</chem>	-7.4	-0.112	41.103	SI	0.476	-2.051	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	2.518	SI
ZINC000049470283	<chem>O=C(O)c1ccc(-n2nc(C(=O)O)cc2O)cc1</chem>	-7.4	0.452	34.064	SI	0.385	-1.124	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	1.901	SI
ZINC000006557423	<chem>nH]cnc2nc(-c3ccc(O)cc3)c</chem>	-7.4	-0.227	88.053	NO	0.296	-1.264	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.764	SI
ZINC000003435531	<chem>D)c1cccc(NC(=O)c2cc(C)O</chem>	-7.4	1.168	94.079	NO	0.294	-0.251	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.168	NO
ZINC000643276657	<chem>noc(-c2nc(-c3cccc3F)no2</chem>	-7.4	1.244	97.046	NO	0.216	-0.934	NO	SI	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.381	SI
ZINC000009607557	<chem>ccc(-c2nc3nc(C)cc(O)n3n</chem>	-7.4	1.325	97.227	NO	0.255	1.178	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.194	SI
ZINC000888104928	<chem>noc(-c2nc(-c3ccc(F)cc3)no</chem>	-7.4	1.199	97.333	NO	0.276	-0.957	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.341	SI
ZINC000005006669	<chem>D)c1cccc(NC(=O)c2cc(C)n</chem>	-7.4	1.34	94.079	NO	0.276	-0.251	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	1.191	NO
ZINC000098212314	<chem>noc(-c2nc(-c3cccc3C)no2</chem>	-7.4	1.177	97.912	NO	0.245	-0.726	NO	SI	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.387	SI
ZINC000098212323	<chem>noc(-c2nc(-c3cccc(F)c3)no</chem>	-7.4	1.216	98.065	NO	0.239	-0.952	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.293	SI
ZINC00000090633	<chem>cc2nc3c(nc2c1)-c1cccc1O</chem>	-7.4	1.197	97.381	NO	0.213	0.911	NO	SI	NO	SI	NO	SI	SI	NO	SI	NO	NO	2.31	NO
ZINC000000344145	<chem>c2nc3c(nc2c1)C(=O)c1ccc</chem>	-7.4	0.939	99.195	NO	0.245	0.541	NO	SI	NO	SI	NO	SI	SI	NO	SI	NO	NO	2.516	NO
ZINC000000222806	<chem>C1=C[C@H](C2CCCC2)n2r</chem>	-7.3	0.52	64.534	NO	0.307	-0.219	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	1.89	SI
ZINC000007996455	<chem>D)c1ccc(CNc2nccc(=O)nH</chem>	-7.3	0.006	46.969	SI	0.27	-1.298	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	2.001	SI
ZINC000091624624	<chem>[nH]cccc1-c1nc(-c2cccn2</chem>	-7.3	0.214	87.375	NO	0.381	-0.957	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.321	SI
ZINC000082092196	<chem>CC[C@@]3(CC(=O)NC3=</chem>	-7.3	0.759	88.841	NO	0.645	-0.447	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	2.601	SI

ZINC000072207082)(C)(C(=O)O)CC[C@H]12N	-7.3	-0.005	58.965	NO	0.677	-0.711	NO	2.007	NO										
ZINC000000129537	ccc(NC(=O)c2ccno2)c1C(=O)	-7.3	0.808	62.544	SI	0.317	-0.522	NO	2.668	SI										
ZINC000014988512	nnc(-c2ccc(C(=O)O)c(N)c2)	-7.3	0.156	62.197	SI	0.37	-0.201	NO	1.938	SI										
ZINC000038489165	O)c1cccc(NC(=O)c2cn(C)n2)	-7.3	1.288	82.621	NO	0.315	-0.467	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.078	SI
ZINC000000994231	O)c1cccc(NC(=O)c2nonc2)	-7.3	1.5	94.394	NO	0.263	-0.486	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.023	SI
ZINC000004710802	C1c2ccccc2-c2nc3cccnc3n	-7.3	1.353	100	NO	0.31	0.654	NO	SI	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.38	NO
ZINC000058157427	C@@H](c2ccc(F)cc2)Nc2	-7.3	1.23	93.978	SI	0.296	0.1	NO	SI	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.245	NO
ZINC000065606987	([C@@H]2NC(=O)c3cccnc3)	-7.3	1.242	95.051	SI	0.313	0.06	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.364	NO
ZINC000034924974	(C)c1nc(-c2ccc(C(=O)O)cc2)	-7.3	1.326	96.971	SI	0.225	-0.38	NO	2.269	NO										
ZINC000075877681	(O)c1ccc(-c2nc3ccc3oc2)	-7.3	1.144	96.404	NO	0.263	-0.457	NO	2.708	SI										
ZINC000004717421)Cn1nnc(-c2ccc(C(=O)O)cc2)	-7.2	-0.125	27.538	NO	0.293	-1.03	NO	1.732	SI										
ZINC000005009329	c(Nc2cccc(C(=O)O)c2)[nH]	-7.2	0.363	46.005	SI	0.448	-1.263	NO	2.576	SI										
ZINC000012274237	ccc2c(c1)C[C@@H](C(=O)O)	-7.2	0.381	36.892	NO	0.509	-0.513	NO	1.711	NO										
ZINC000020120479	nnc(-c2ccc(C(=O)O)c(N)c2)	-7.2	0.765	49.567	SI	0.387	-0.392	NO	1.91	SI										
ZINC000027628000)c1cccc(NC(=O)c2nnn[nH]2)	-7.2	0.331	59.032	SI	0.327	-1.334	NO	2.273	SI										
ZINC000253471766	nc2c(n1)-c1nonc1Nc1nonc1	-7.2	0.502	83.492	NO	0.282	-0.66	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.001	SI
ZINC000009948838	c1nc2ccc(-n3cnnn3)cc2nc1	-7.2	-0.17	77.82	SI	0.232	-0.949	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	1.736	SI
ZINC000044968134	1ccccn1)N[C@@H]1CCCC1	-7.2	0.729	84.316	NO	0.692	-0.889	NO	2.213	NO										
ZINC000096125541	NC(=O)c1noc(-c2ccc[nH]c2)	-7.2	0.141	81.63	NO	0.368	-0.751	NO	2.363	SI										
ZINC000253471154	onc2c1Oc1nonc1-c1nonc1	-7.2	0.526	81.957	NO	0.262	-1.538	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	SI	2.179	SI
ZINC000078869231	(C(=O)Nc2cccc(C(N)=O)n2)	-7.2	-0.117	81.339	NO	0.562	-0.7	NO	2.555	SI										
ZINC000001707349	H]1CC=CCC12C(=O)NC(=O)	-7.2	0.632	77.054	NO	0.558	0.06	NO	2.338	NO										
ZINC000096531463	C@@H]2CCc3n[nH]c(=O)c3	-7.2	1.264	70.323	NO	0.345	-0.46	NO	SI	NO	NO	2.464	SI							
ZINC000096531465	[C@H]2CCc3n[nH]c(=O)c3	-7.2	1.264	70.323	NO	0.345	-0.46	NO	SI	NO	NO	2.464	SI							
ZINC000008739835	nnc(Nc2ccc(C(=O)O)cc2)n	-7.2	0.482	57.154	SI	0.402	-1.215	NO	2.474	SI										
ZINC000097079738	ocnc1CNC(=O)c1ccc(O)cc1	-7.2	0.394	75.177	SI	0.384	-0.918	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.042	NO
ZINC000065228114	cc(C(=O)Nc2cccn3cnnn23)	-7.2	1.238	86.338	NO	0.373	-0.794	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.62	SI
ZINC000018219910	H]c2nc(-c3ccccc3)nn2c(=O)	-7.2	0.899	95.822	SI	0.223	0.226	SI	SI	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.805	NO
ZINC000085346781	O)NC(=O)c1ccc(-c2ccc(N)c2)	-7.2	1.025	91.941	NO	0.357	-0.159	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.85	NO
ZINC000065341879	O)c1cccc(-c2ccc(O)c(C=O)c2)	-7.2	1.059	94.308	NO	0.14	-0.153	NO	NO	NO	SI	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.075	NO
ZINC000085346777	O)NC(=O)c1ccc(-c2cccc(N)c2)	-7.2	0.966	92.739	NO	0.332	-0.141	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.625	NO
ZINC000096530773	@H](c2nc(-c3cccc(F)c3)cc2)	-7.2	0.483	96.299	SI	0.291	-0.508	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.053	SI
ZINC000016429546	O)c1ccc(-c2ccc(C(=O)O)cc2)	-7.2	1.086	91.544	SI	0.386	-0.396	NO	1.575	NO										
ZINC000098212370	c1noc(-c2nc(-c3ccccc3)no2)	-7.2	1.218	97.642	NO	0.223	-0.755	NO	SI	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.257	SI
ZINC000010254038	=O)c1cccc(NC(=O)c2ccno2)	-7.2	1.371	94.337	NO	0.263	-0.234	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.19	SI
ZINC000096138071	2nc([C@@H]3CCOC3)no3	-7.2	1.124	95.582	SI	0.276	-0.369	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.353	NO

ZINC000096138072	c2nc([C@H]3CCOC3)no2	-7.2	1.124	95.582	SI	0.276	-0.369	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.353	NO
ZINC000017111098	ccc(-c2cnc3c(O)ncn3n2)	-7.2	1.481	97.03	NO	0.233	-0.453	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.352	SI
ZINC000048302607	C(Nc1cccc2cccnc12)c1ccc	-7.2	0.834	96.359	NO	0.325	-0.356	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.778	SI
ZINC000000186507	c1c2cccc2-c2nc3cccc3n	-7.2	1.37	100	NO	0.286	0.932	NO	SI	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.4	NO
ZINC000001438257	[(C@@H]2NC(=O)C3CCCC	-7.2	1.217	94.48	SI	0.333	0.438	NO	SI	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.516	NO
ZINC000006738039	ccc(O)c(NC(=O)c2cc(C)no	-7.2	1.246	92.347	NO	0.322	-0.212	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.375	NO
ZINC000098212315	noc(-c2nc(-c3cccc3)no2	-7.2	1.222	97.75	NO	0.244	-0.735	NO	SI	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.29	SI
ZINC000098212319	ccc(-c2noc(-c3nc(C)no3)n	-7.2	1.248	98.729	NO	0.254	-0.753	NO	SI	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.305	SI
ZINC000000426267	ccc(O)c(NC(=O)c2cc(C)no	-7.2	0.95	92.459	SI	0.324	-0.212	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.283	NO
ZINC000000450701	cc(C(=O)O)ccc1-c1ccc(C(=	-7.2	0.895	98.439	NO	0.346	-0.154	NO	2.265	NO										
ZINC000022005434	cc(C(=O)O)ccc1-c1ccc(C(=	-7.2	0.921	98.513	NO	0.342	-0.096	NO	2.44	SI										
ZINC000041721989)c1ccc(-c2noc(C3CCC3)nc	-7.2	1.041	93.255	NO	0.191	-0.437	NO	2.304	NO										
ZINC000000410191	[(C@@H]2NC(=O)c3cccc	-7.2	1.068	93.382	SI	0.144	0.276	NO	NO	NO	NO	NO	SI	SI	NO	SI	NO	NO	2.231	NO
ZINC000065340459	=O)c1ccc(-c2ccc(O)c(C)cc	-7.2	1.248	93.816	SI	0.102	-0.071	NO	SI	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.226	NO
ZINC000100318276	1cccc2c(N)c(-c3cccc3)nc	-7.2	1.311	89.898	SI	0.203	0.545	NO	NO	SI	SI	NO	SI	SI	SI	SI	NO	NO	2.755	NO
ZINC000100311507	cccc(-c2cc3nc(C)cc(O)n3n	-7.2	1.308	97.039	SI	0.271	0.859	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.199	NO
ZINC000004625446	cccn2c(N)c(-c3ccc(F)cc3)n	-7.2	1.296	89.195	SI	0.232	0.631	NO	NO	SI	SI	NO	SI	SI	SI	SI	NO	NO	2.816	NO
ZINC000000411287	=C(O)c1ccc(-n2cnn2)cc1	-7.1	0.601	60.783	SI	0.291	-0.707	NO	1.982	SI										
ZINC0000004135714	c1c[nH]c2cc3c(cc2c1=O)C	-7.1	0.294	64.77	SI	0.349	-0.409	NO	2.046	NO										
ZINC000011731191	O)c1ccc(Nc2cn[nH]c(=O)	-7.1	-0.18	47.34	SI	0.341	-1.574	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.139	SI
ZINC000059715809	(c2ccc(C(=O)O)cc2)NC(=	-7.1	-0.024	56.154	SI	0.632	-0.611	NO	2.379	NO										
ZINC000073647932	(O)c1cc(Nc2nccc(O)n2)cc	-7.1	0.423	51.626	SI	0.242	-1.726	NO	2.197	SI										
ZINC000075163268	c1nnn(-c2cccc2)n1)N1CC	-7.1	0.173	97.407	NO	0.304	-0.249	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.026	NO
ZINC000584896509	nn[nH]1)N1CCC(c2cc[nH]	-7.1	0.583	83.099	NO	0.761	-1.281	NO	2.357	NO										
ZINC000000779966	ccc2[nH]c(=O)[nH]c2c1c1	-7.1	-0.289	64.293	SI	0.216	-1.883	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	2.629	SI
ZINC000008856071	onc1-c1noc(-c2ccc[nH]c2=	-7.1	0.366	77.543	NO	0.311	-1.268	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.417	SI
ZINC000072333120	oc(-c2cccn3c(=O)[nH]nc2	-7.1	1.234	94.433	NO	0.436	-1.445	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.367	SI
ZINC000012428255	1cc2c(cc1-n1cnn1)OCCO	-7.1	0.775	72.888	NO	0.365	-0.829	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.186	SI
ZINC000072170048	=O)[nH]c(=O)c1-c1ccnc2[-7.1	-0.029	77.351	SI	0.372	-1.065	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.724	NO
ZINC000001563885	H]c(=O)c2nc(-c3ccnc3)cn	-7.1	0.259	78.84	SI	0.351	-1.244	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.149	SI
ZINC000003160824	C2Nc3nonc3N=C2Nc2nor	-7.1	-0.026	93.719	NO	0.435	-1.186	NO	2.877	SI										
ZINC000096531467	C@H]2CCc3n[nH]c(=O)	-7.1	1.249	68.771	SI	0.314	-0.483	NO	SI	NO	NO	2.474	SI							
ZINC000096531470	[(C@H]2CCc3n[nH]c(=O)c	-7.1	1.249	68.771	SI	0.314	-0.483	NO	SI	NO	NO	2.474	SI							
ZINC000057478074	CCC(c2nc(-c3ccnc3)no2)	-7.1	0.123	88.267	NO	0.461	-0.714	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	2.361	SI
ZINC000001125800	N(c2ccc(C(=O)O)c(N)c2)C	-7.1	0.05	64.89	NO	0.555	-0.059	NO	1.644	NO										

ZINC000022203965	O)c1cc(/N=N/c2nnn[nH]2)c	-7.1	0.149	49.668	SI	0.314	-1.766	NO	2.231	SI											
ZINC000096479713	Cc1cccn1)Nc1ccc(C(=O)C	-7.1	0.037	63.158	SI	0.457	-0.37	NO	2.248	NO											
ZINC000000151365	(O)c1ccc(NC(=O)c2ccno	-7.1	0.121	67.836	NO	0.28	-0.522	NO	2.262	SI											
ZINC000019849589	(NN=Cc1ccc(O)c1)c1ccc	-7.1	0.769	94.865	NO	0.363	-0.237	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	SI	NO	NO	NO	2.184	SI
ZINC000095405641	ccc2c(=O)[nH]c(-c3cccn3)	-7.1	1.157	96.142	SI	0.219	-0.381	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	NO	2.369	NO
ZINC000075505253	ccc(-c2noc(-c3cccn3)n2)c	-7.1	1.241	100	NO	0.381	-0.564	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	NO	2.278	SI
ZINC000097101842	(=O)Cc1noc(-c2ccc(O)c2	-7.1	1.26	71.583	SI	0.325	-0.477	NO	NO	NO	NO	NO	NO	SI	NO	NO	NO	NO	NO	2.17	SI
ZINC000013327030	c(C(=O)Nc2ccccc2C(N)=C	-7.1	0.171	86.386	NO	0.332	-0.31	NO	2.174	NO											