



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE QUÍMICA

DISEÑO DE FÁRMACOS ASISTIDO POR  
COMPUTADORA: DINÁMICA MOLECULAR DE 5  
POTENCIALES INHIBIDORES DE ENTRADA DEL  
VIH-1

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**Químico**

PRESENTA:

**Raúl Márquez Avilés**

ASESOR DE TESIS:

Dr. Joaquín Barroso Flores



Ciudad Universitaria, CDMX, 2020



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.





# Declaración de autenticidad

---

Por la presente declaro que, salvo cuando se haga referencia específica al trabajo de otras personas, el contenido de esta tesis es original y no se ha presentado total o parcialmente para su consideración para cualquier otro título o grado en esta o cualquier otra Universidad. Esta tesis es resultado de mi propio trabajo y no incluye nada que sea el resultado de algún trabajo realizado en colaboración, salvo que se indique específicamente en el texto.

Raúl Márquez Avilés. Ciudad Universitaria, CDMX, 2020



# Resumen

---

El Virus de Inmunodeficiencia Humana se ha convertido en un problema de prioridad global debido a la necesidad de salud pública y a la necesidad de prevención y tratamiento adecuados del virus. Al tener una gran variabilidad, los fármacos actuales, no son capaces de prevenir la infección del VIH, el cual debilita al sistema inmune generando el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA).

En este trabajo se utiliza la entrada del virus a los linfocitos T como el objetivo de inhibición de cinco ligandos propuestos anteriormente para su estudio mediante dinámicas moleculares de 500 ns y cálculos de energías de unión los cuales muestran la capacidad de inhibición de tres ligandos, siendo el ligando L255 de gran interés debido a su interacción con una cavidad con propiedades alostéricas, proponiendo una mayor efectividad en la inhibición de este proceso dando lugar a potenciales inhibidores con una probabilidad grande de éxito aumentando la gama de inhibidores del VIH.





# Índice general

---

<b>Índice de figuras</b>	<b>XIII</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. Presentación . . . . .	1
1.2. Objetivos . . . . .	2
1.2.1. Objetivos particulares . . . . .	2
1.3. Contribución . . . . .	2
<b>2. Antecedentes</b>	<b>3</b>
2.1. Diseño de fármacos asistido por computadora (CADD) . . . . .	3
2.1.1. Selección de la enfermedad . . . . .	4
2.1.2. Selección de la diana farmacológica específica . . . . .	4
2.1.3. Descubrimiento y Diseño de Nuevos Compuestos . . . . .	5
2.1.4. Factibilidad Sintética . . . . .	5
2.1.5. Ensayos . . . . .	5
2.2. Virus de Inmunodeficiencia Humana . . . . .	6
2.2.1. Epidemia global . . . . .	6
2.2.2. VIH y SIDA en México . . . . .	8
2.2.3. Género y especies del VIH . . . . .	9
2.2.4. Estructura y ciclo de vida del VIH . . . . .	11
2.2.4.1. Ciclo de vida y replicación . . . . .	11
2.2.5. Transmisión e Infección del VIH . . . . .	14
2.2.6. Ensayos clínicos . . . . .	16
2.2.6.1. Pruebas de detección de anticuerpos . . . . .	16
2.3. Terapia Antirretroviral contra el VIH-1 . . . . .	18
2.4. Proteína superficial gp120 . . . . .	21
2.4.1. Interacción de CD4 con gp120 . . . . .	22
<b>3. Marco teórico</b>	<b>27</b>
3.1. Estudios previos . . . . .	27
3.1.1. Docking Molecular . . . . .	27
3.1.2. BMS-378807 . . . . .	28
3.2. Dinámica molecular . . . . .	29

3.2.1. Dinámica Molecular mediante la repartición de masas de hidrógeno	31
3.3. Energías de unión MM-PB(GB)SA . . . . .	31
<b>4. Metodología</b>	<b>35</b>
4.1. Selección de sistemas de estudio . . . . .	35
4.2. Realización de dinámicas moleculares . . . . .	41
4.2.1. Minimización . . . . .	41
4.2.2. Calentamiento . . . . .	42
4.2.3. Equilibrio . . . . .	42
4.2.4. Producción . . . . .	42
4.2.5. MM-PB(GB)SA . . . . .	42
4.3. Análisis de las dinámicas moleculares . . . . .	42
4.3.1. Mapas de potencial electrostático . . . . .	43
<b>5. Resultados y Discusión</b>	<b>45</b>
5.1. Dinámicas moleculares . . . . .	45
5.1.1. Sistema de referencia SB . . . . .	45
5.1.2. Ligando L255 . . . . .	47
5.1.2.1. Sistema S2 (figura 4.3) . . . . .	47
5.1.2.2. Sistema S3 (Figura 4.4) . . . . .	50
5.1.2.3. Sistema S4 (Figura 4.5) . . . . .	52
5.1.3. Ligando L141 . . . . .	54
5.1.3.1. Sistema S2 (Figura 4.3) . . . . .	54
5.1.3.2. Sistema S3 (Figura 4.4) . . . . .	57
5.1.3.3. Sistema S4 (Figura 4.5) . . . . .	59
5.1.4. Ligando L002 . . . . .	61
5.1.4.1. Sistema S2 (Figura 4.3) . . . . .	61
5.1.4.2. Sistema S3 (Figura 4.4) . . . . .	64
5.1.4.3. Sistema S4 (Figura 4.5) . . . . .	66
5.1.5. Ligando 009 . . . . .	68
5.1.5.1. Sistema 2 (Figura 4.3) . . . . .	68
5.1.5.2. Sistema S3 (Figura 4.4) . . . . .	71
5.1.5.3. Sistema S4 (Figura 4.5) . . . . .	73
5.1.6. Ligando L022 . . . . .	75
5.1.6.1. Sistema S2 (Figura 4.3) . . . . .	75
5.1.6.2. Sistema S3 (Figura 4.4) . . . . .	78
5.1.6.3. Sistema S4 (Figura 4.5) . . . . .	80
5.2. MM-PB(GB)SA . . . . .	82
5.3. Mapas de Potencial Electrostático MESP . . . . .	83
<b>6. Conclusiones</b>	<b>87</b>
<b>A. Anexos</b>	<b>89</b>

**Bibliografía**

**107**



# Índice de figuras

---

2.1. Estadística sobre nuevas infecciones por VIH.(29) . . . . .	7
2.2. Estadística sobre muertes relacionadas con SIDA. (29) . . . . .	7
2.3. Mapa geográfico sobre la población infectada por VIH.(29) . . . . .	8
2.4. Estadística sobre nuevas infecciones por VIH en México.(29) . . . . .	9
2.5. Estadística sobre muertes relacionadas con SIDA en México. (29) . . . . .	10
2.6. Ciclo de vida del VIH.(11) . . . . .	13
2.7. Fases en el ciclo de vida del VIH dentro del huésped.(8) . . . . .	13
2.8. Etapas del VIH dentro del organismo.(22) . . . . .	15
2.9. Infección prototípica del VIH en fases patológicas.(28) . . . . .	16
2.10. Recuento de linfocitos T CD4+ en adultos.(28) . . . . .	17
2.11. <b>Infección por VIH sin tratamiento y cambios después de la terapia antirretroviral.</b> (A) Conteo de células CD4 y RNA viral en infecciones sin tratamiento (B) Conteo de células CD4 y RNA viral después de tratamiento antirretroviral.(14) . . . . .	18
2.12. Moléculas pequeñas como inhibidores de entrada del VIH-1.(32) . . . . .	20
2.13. Interacción inicial entre la membrana celular y el complejo trimérico de glicoproteínas del VIH-1.(33) . . . . .	21
2.14. Diagrama de cintas de gp120 y los componentes de su estructura secundaria.(26) 22	
2.15. <b>Izquierda</b> Diagrama de cintas de la interacción entre gp120 (rojo) y la segunda región de CD4 (amarillo) donde se aprecia la cavidad Phe43 <b>Derecha</b> Mapa de densidad electrónica de la cavidad Phe43. (26) . . . . .	24
2.16. <b>Izquierda</b> Interfase de la interacción gp120 (línea simple) - CD4 (doble línea) <b>Derecha</b> Contactos de los residuos de gp120 al rededor de Phe43 y Arg49 de CD4.(26) . . . . .	25
3.1. Interacción entre la proteína o enzima (E) y un ligando o inhibidor (I) dando como resultado al complejo (E + I) con una energía libre de unión asociada.(6) . . . . .	28
3.2. Compuesto BMS-378806.(38) . . . . .	28
3.3. Pasos incluidos en el algoritmo de acoplamiento molecular realizado por Castillo-Pazos(4) donde se parte del “High-throughput virtual screening” (HTVS), siguiendo con “GlideScore standard precision” (SP) y “GlideScore extra precision” (XP). . . . .	29

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

3.4. Ciclo termodinámico para la obtención de energías libres de unión implementado por el método MM-PB(GB)SA.(21) . . . . .	33
4.1. PDB 1gc1. gp120 (azul) interactuando con CD4 (turquesa) y el antígeno 17b (rojo y amarillo). (26) . . . . .	36
4.2. 1gc1 modificado. gp120 (azul) unido a CD4 (verde) . . . . .	36
4.3. Sistema S2. gp120 (azul) interactuando con un ligando (rojo), CD4 (verde) cerca del sitio de unión . . . . .	37
4.4. Sistema S3. gp120 (azul) unido a CD4 (verde) con un ligando (rojo) cerca del sitio de unión . . . . .	37
4.5. Sistema S4. gp120 (azul) interactuando con CD4 (verde) con 5 ligandos (rojo) cerca del sitio de unión . . . . .	38
4.6. Top score de los 10 mejores ligandos con núcleo de piperazina con base en el “Induced-fit docking”(IFD). (4) . . . . .	38
4.7. Ligando 255.(4) . . . . .	39
4.8. Ligando 141.(4) . . . . .	39
4.9. Ligando 002.(4) . . . . .	39
4.10. Ligando 009.(4) . . . . .	39
4.11. Ligando 022.(4) . . . . .	40
4.12. Sistema generado para estudiar la energía de unión entre ligandos y la cavidad Phe43 . . . . .	40
4.13. Benchmark del performance de los CPUs en Amber16 (ambermd.org) . . . . .	41
5.1. RMSD del sistema de referencia (Figura 4.2) . . . . .	46
5.2. histograma del RMSD . . . . .	46
5.3. RMSF del sistema de referencia . . . . .	46
5.4. Ligando L255 . . . . .	47
5.5. RMSD del sistema S2 (Figura 4.3) . . . . .	48
5.6. histograma del RMSD . . . . .	48
5.7. RMSF del sistema S2 . . . . .	49
5.8. Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema . . . . .	49
5.9. dRMSD del ligando . . . . .	49
5.10. RMSD del sistema S3 (Figura 4.4) . . . . .	50
5.11. histograma del RMSD . . . . .	51
5.12. RMSF del sistema S3 . . . . .	51
5.13. Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema . . . . .	51
5.14. dRMSD del ligando . . . . .	51
5.15. RMSD del sistema S4 (Figura 4.5) . . . . .	52
5.16. histograma del RMSD . . . . .	53
5.17. RMSF del sistema S4 . . . . .	53
5.18. Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema . . . . .	53
5.19. Ligando L141 . . . . .	54
5.20. RMSD del sistema S2 (Figura 4.3) . . . . .	55
5.21. histograma del RMSD . . . . .	55

5.22. RMSF del sistema S2 . . . . .	56
5.23. Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema . . . . .	56
5.24. dRMSD del ligando . . . . .	56
5.25. RMSD del sistema S3 (Figura 4.4) . . . . .	57
5.26. histograma del RMSD . . . . .	58
5.27. RMSF del sistema S3 . . . . .	58
5.28. Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema . . . . .	58
5.29. dRMSD del ligando . . . . .	58
5.30. RMSD del sistema 4 (Figura 4.5) . . . . .	60
5.31. histograma del RMSD . . . . .	60
5.32. RMSF del sistema 2 . . . . .	60
5.33. Interacciones electrostáticas y de Van der Waals del sistema . . . . .	60
5.34. Ligando L002 . . . . .	61
5.35. RMSD del sistema S2 (Figura 4.3) . . . . .	62
5.36. histograma del RMSD . . . . .	62
5.37. RMSF del sistema S2 . . . . .	63
5.38. Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema . . . . .	63
5.39. dRMSD del ligando . . . . .	63
5.40. RMSD del sistema S3 (Figura 4.4) . . . . .	64
5.41. histograma del RMSD . . . . .	65
5.42. RMSF del sistema S3 . . . . .	65
5.43. Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema . . . . .	65
5.44. dRMSD del ligando . . . . .	65
5.45. RMSD del sistema S4 (Figura 4.5) . . . . .	66
5.46. histograma del RMSD . . . . .	67
5.47. RMSF del sistema S2 . . . . .	67
5.48. Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema . . . . .	67
5.49. Ligando L009 . . . . .	68
5.50. RMSD del sistema S2 (Figura 4.3) . . . . .	69
5.51. histograma del RMSD . . . . .	69
5.52. RMSF del sistema S2 . . . . .	70
5.53. Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema . . . . .	70
5.54. dRMSD del ligando . . . . .	70
5.55. RMSD del sistema S3 (Figura 4.4) . . . . .	71
5.56. histograma del RMSD . . . . .	71
5.57. RMSF del sistema S3 . . . . .	72
5.58. Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema . . . . .	72
5.59. dRMSD del ligando . . . . .	72
5.60. RMSD del sistema S4 (Figura 4.5) . . . . .	73
5.61. histograma del RMSD . . . . .	74
5.62. RMSF del sistema S4 . . . . .	74
5.63. Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema . . . . .	74
5.64. Ligando L022 . . . . .	75

## ÍNDICE DE FIGURAS

---

5.65. RMSD del sistema S2 (Figura 4.3)	76
5.66. histograma del RMSD	76
5.67. RMSF del sistema S2	77
5.68. Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema	77
5.69. dRMSD del ligando	77
5.70. RMSD del sistema S3 (Figura 4.4)	78
5.71. histograma del RMSD	79
5.72. RMSF del sistema S3	79
5.73. Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema	79
5.74. dRMSD del ligando	79
5.75. RMSD del sistema S4 (Figura 4.5)	80
5.76. histograma del RMSD	81
5.77. RMSF del sistema S2	81
5.78. Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema	81
5.79. MESP de BMS-378806	84
5.80. MESP del ligando L255	84
5.81. MESP del ligando 141	84
5.82. MESP del ligando 002	85
5.83. MESP del ligando 009	85
5.84. MESP del ligando 022	85
A.1. Energías de unión del complejo gp120-CD4	90
A.2. Energías de unión del complejo gp120-L255	91
A.3. Energías de unión del complejo gp120-L141	92
A.4. Energías de unión del complejo gp120-L002	93
A.5. Energías de unión del complejo gp120-L009	94
A.6. Energías de unión del complejo gp120-L022	95
A.7. Energía total sistema de referencia	96
A.8. Temperatura del sistema de referencia	96
A.9. Energía total L255 sistema 2	96
A.10. Temperatura L255 sistema 2	96
A.11. Energía total L255 sistema 3	97
A.12. Temperatura L255 sistema 3	97
A.13. Energía total L255 sistema 4	97
A.14. Temperatura L255 sistema 4	97
A.15. Energía total L141 sistema 2	98
A.16. Temperatura L141 sistema 2	98
A.17. Energía total L141 sistema 3	98
A.18. Temperatura L141 sistema 3	98
A.19. Energía total L141 sistema 4	99
A.20. Temperatura L141 sistema 4	99
A.21. Energía total L002 sistema 2	99
A.22. Temperatura L002 sistema 2	99
A.23. Energía total L002 sistema 3	100



A.24.Temperatura L002 sistema 3 . . . . .	100
A.25.Energía total L002 sistema 4 . . . . .	100
A.26.Temperatura L002 sistema 4 . . . . .	100
A.27.Energía total L009 sistema 2 . . . . .	101
A.28.Temperatura L009 sistema 2 . . . . .	101
A.29.Energía total L009 sistema 3 . . . . .	101
A.30.Temperatura L009 sistema 3 . . . . .	101
A.31.Energía total L009 sistema 4 . . . . .	102
A.32.Temperatura L009 sistema 4 . . . . .	102
A.33.Energía total L022 sistema 2 . . . . .	102
A.34.Temperatura L022 sistema 2 . . . . .	102
A.35.Energía total L022 sistema 3 . . . . .	103
A.36.Temperatura L022 sistema 3 . . . . .	103
A.37.Energía total L022 sistema 4 . . . . .	103
A.38.Temperatura L022 sistema 4 . . . . .	103
A.39.Temperatura L255 GB . . . . .	104
A.40.Temperatura L141 GB . . . . .	104
A.41.Temperatura L002 GB . . . . .	104
A.42.Temperatura L009 GB . . . . .	104
A.43.Temperatura L022 GB . . . . .	105
A.44.RMSF con las estructuras secundarias de gp120 . . . . .	105

# Introducción

---

## 1.1. Presentación

El Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) ha sido un tema de interés en el ámbito científico desde su descubrimiento a inicios del año 1980 debido a ser la mayor causa del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), de la cual, no se ha encontrado una cura a pesar del gran uso de recursos e investigación desde la epidemia global que generó el siglo pasado. Las personas que se ven infectadas por el VIH, permanecen asintomáticas alrededor de 15 años hasta desarrollar SIDA, de las cuales, algunas toman tratamientos que solo alargan la lucha del sistema inmune contra el virus.

Este virus tiene la capacidad de mutar, lo que lo hace un objetivo difícil para los diferentes inhibidores creados a lo largo de procesos de investigación, además al infectar los linfocitos T del cuerpo huésped, los cuales informan al sistema inmune de las posibles afecciones para combatir las, ocasiona un debilitamiento del mismo sistema inmune hasta la generación de SIDA. El VIH contiene dos antígenos en su superficie importantes para su unión: las glicoproteínas gp120 y gp41, las cuales pueden formar un complejo que facilita la fusión de las membranas lipídicas con la célula huésped.

En México, se conocen 203,312 casos de SIDA notificados al cuarto trimestre del 2018 donde 15,543 nuevos casos fueron diagnosticados siendo 9,791 de afectados por VIH y el resto por SIDA.(16)

El ciclo de vida del VIH a pesar de tener un gran número de pasos, actividades enzimáticas y mecanismos en los que puede interferir la acción de los fármacos, pocos de estos han sido completamente explorados, de los cuales, los inhibidores de entrada solo un pequeño grupo de compuestos activos están disponibles.

El progreso metodológico utilizado para el descubrimiento de nuevos fármacos ha evolucionado aceleradamente, requiriendo métodos cada vez más eficientes donde el uso de computadoras se ha vuelto obligatorio para todos los pasos que tiene el proceso de creación de fármacos. El descubrimiento y el diseño de fármacos toma varios pasos considerados como generales, siendo la selección de una diana farmacológica específica y el descubrimiento y diseño de nuevos compuestos el enfoque de los métodos

## 1. INTRODUCCIÓN

---

computacionales.

El estudio fisicoquímico mediante dinámicas moleculares puede corroborar la validez de los compuestos seleccionados como potenciales inhibidores de entrada del VIH y explicar las interacciones generadas, facilitando posteriores procesos del diseño de fármacos como su síntesis y ensayos llevando así a la lucha contra el SIDA un paso más cerca.

### 1.2. Objetivos

El objetivo principal de este proyecto es realizar una simulación adecuada de la interacción de inhibidores seleccionados con la glicoproteína 120 del virus en un medio bajo condiciones fisiológicas simuladas, mediante sus energías libres de unión, para proponer los más probables a tener éxito y así poder cumplir el proceso general del diseño de fármacos reduciendo costos y recursos.

#### 1.2.1. Objetivos particulares

- Estudiar diferentes sistemas mediante simulación molecular para conocer si es posible desplazar la proteína gp120 con un inhibidor buscando así la competitividad por el sitio de unión.
- Generar dinámicas con 5 moléculas como potenciales inhibidores para obtener y analizar las interacciones con gp120 unido a la segunda región del linfocito T.
- Conocer qué residuos generan las mayores fluctuaciones en cada una de las interacciones.

### 1.3. Contribución

El proyecto realizado busca mostrar 5 potenciales inhibidores del VIH-1 generados a partir de un trabajo anterior<sup>(4)</sup> de los cuales no se han generado referencias, evaluando su efectividad de inhibición del VIH in *silico* a través de dinámicas moleculares y estudios de energías libres de unión para determinar su viabilidad como nuevos fármacos.

# Antecedentes

---

El diseño de fármacos es un proceso de toma de decisiones complejo e iterativo que evoluciona continuamente junto a los avances tecnológicos de la época que, en conjunto con el auge computacional, ha tomado gran fuerza para convertirse en parte importante de la investigación científica.

La construcción de una buena hipótesis es un paso fundamental en la creación de un compuesto,(1) pues facilita y acelera el flujo y calidad de ideas, que en procesos computacionales, mejora drásticamente la probabilidad de éxito y la reducción de costos.

## 2.1. Diseño de fármacos asistido por computadora (CADD)

El desarrollo de un fármaco que sea efectivo y seguro es un proceso altamente costoso en cuanto a tiempo y recursos(23) debido a factores como el precio de fracaso y el costo de oportunidad o el costo de la inversión de los recursos disponibles a costa de la mejor inversión alternativa disponible.

Los enfoques computacionales son una parte integral de la investigación interdisciplinaria de descubrimiento de fármacos. Comprender la ciencia detrás de las herramientas computacionales, sus oportunidades y limitaciones es esencial para tener un verdadero impacto en el descubrimiento de fármacos a diferentes niveles. Si se aplica de una manera científicamente significativa, los métodos computacionales mejoran la capacidad de identificar y evaluar moléculas de potenciales fármacos.(3)

Tan sólo en 2017, el costo aproximado relacionado a la creación de un fármaco fue de 2.6 billones de dólares,(10) sin embargo, en recientes años, el diseño de fármacos asistido por computadora se ha convertido en parte integral en el proceso de descubrimiento temprano, donde tomar como base la estructura de un compuesto ha contribuido a la introducción de al menos 50 compuestos en ensayos clínicos y a la aprobación de distintos fármacos.(19)

El éxito de el CADD radica en enfocarse en los diferentes problemas farmacológicos, como la bio-disponibilidad y la toxicidad, haciendo al descubrimiento de fármacos

complejo.

El proceso general del diseño de fármacos se puede clasificar de la siguiente manera:(1),(19)

1. Selección de la enfermedad
2. Selección de la diana farmacológica específica
3. Descubrimiento y diseño de nuevos compuestos
4. Síntesis
5. Ensayos
6. Ajustes

### 2.1.1. Selección de la enfermedad

La selección de la enfermedad varía según su relevancia actual (determinada por la población objetivo, el beneficio económico que podría representar y cuán problemática se ha convertido), los tratamientos disponibles, la población afectada, así como los aspectos socio-políticos.(4)

En este paso, no se suelen utilizar métodos computacionales, pues se realiza una búsqueda intensiva de datos y obtención de bibliografía.

### 2.1.2. Selección de la diana farmacológica específica

Cuando se conocen las características generales del sitio activo, ya sea por cristalografía de rayos X o análisis de resonancia magnética nuclear (NMR) se puede realizar un diseño directo de fármacos(18) o Diseño de Fármacos Basado en la Estructura (SBDD).(31)

El primer paso en el diseño directo consiste en un análisis de la estructura tridimensional del target o sitio activo, si la estructura espacial está disponible en una base de datos (Protein Data Bank, etc.) el sitio activo será determinado inequívocamente, si no está disponible es necesario detectarlo, lo cual puede realizarse de distintas maneras, donde la mejor aproximación es buscando los aminoácidos clave en la catálisis o el co-factor, y la región o cavidad cerca de la región será el sitio activo.

Cuando el diseño está basado en el análisis comparativo de las características estructurales de moléculas activas e inactivas conocidas que son complementarias a un sitio del receptor hipotético, se habla de un diseño de fármacos indirecto(18) o Diseño de Fármacos Basado en ligandos (LBDD).(31)

Los métodos realizados en esta dirección (cuando la estructura espacial de la diana farmacológica dentro de la macromolécula es desconocida y no es posible diseñar un modelo confiable) están basados en el análisis de diferentes conjuntos de ligandos con actividad biológica conocida.

Los métodos computacionales generalmente ocupados para este paso son el cribado virtual y el docking, además del múltiple uso de bases de datos.

### 2.1.3. Descubrimiento y Diseño de Nuevos Compuestos

Una vez que nuevos compuestos activos son identificados, entran a la etapa de diseño y posteriormente a la fase de optimización.

En esta etapa se generan y optimizan compuestos con propiedades necesarias para convertirse en un fármaco (solubilidad, disponibilidad oral, estabilidad metabólica, etc.)<sup>(3)</sup> donde los métodos computacionales son una herramienta adecuada para mejorar la habilidad de identificación y evaluación de los compuestos generados.

En esta etapa las aproximaciones computacionales tienen un papel importante en el éxito del diseño de un nuevo fármaco. Las más utilizadas son: la relación cuantitativa estructura-actividad (QSAR) donde la estructura química es traducida a un vector numérico de descriptores, el cual es correlacionado cuantitativamente con un proceso bien definido, como la actividad biológica (unión de un fármaco con un receptor) o la reactividad química (afinidad de una sustancia por otra para que produzcan una reacción); las predicciones de propiedades relacionadas a la absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad de un compuesto (ADMET); y tratamientos avanzados en la unión proteína-ligando como simulaciones de la mecánica estadística Monte Carlo (MC) o simulaciones de dinámica molecular (MD) y estudios de perturbaciones de la energía libre de Gibbs (FEP) o integración termodinámica (TI).

### 2.1.4. Factibilidad Sintética

Una vez obtenidos los potenciales compuestos con buenas propiedades de adsorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME), se realiza la síntesis de estos con una prueba sintética para encontrar una ruta robusta y así producirlos con alto rendimiento y en un corto periodo de tiempo.

### 2.1.5. Ensayos

Al obtenerse el producto en buenas cantidades, se realizan distintos ensayos bioquímicos cuidadosamente seleccionados para medir la actividad del ligando en diferentes condiciones. Estos ensayos generalmente incluyen pruebas *in vivo* e *in vitro*, y técnicas analíticas. Estas evaluaciones dan una idea del posible desarrollo del compuesto hacia la aprobación de una organización reguladora como la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA).<sup>(3)</sup>

Uno de los principales problemas esencialmente no resueltos en el descubrimiento de fármacos asistidos por computadora es la predicción consistente y precisa de las afinidades de los compuestos. Existe un consenso en el campo de que la capacidad de predecir de manera confiable la energía libre de unión de los compuestos en estructuras modeladas o determinadas experimentalmente de complejos de ligando-sitio activo sería un evento clave y ubicaría el diseño del fármaco en un nuevo nivel.<sup>(3)</sup> Esta es un área

donde se ubican la optimización del diseño de fármacos, la química computacional, el modelado molecular interactivo y el diseño de fármacos basados en la estructura se encuentran.

### 2.2. Virus de Inmunodeficiencia Humana

El Virus de Inmunodeficiencia Humana fue descubierto en 1980 y se señaló como el agente etiológico del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida, el cual alcanzó su pico más alto en 1996.(22)

El aislamiento del retrovirus en 1983, en el Instituto Pasteur en París, Francia (11) conocido después como VIH-1, llevó a una intensa búsqueda e investigación sobre el virus logrando un acercamiento a su estudio, tratamiento y prevención.

#### 2.2.1. Epidemia global

La epidemia del VIH/SIDA es más severa en Sudáfrica, donde más de la mitad de muertes en el mundo relacionadas con el SIDA han ocurrido desde 1998, sin embargo este número de muertes ha decaído progresivamente desde 2010 debido a la disposición de tratamientos farmacológicos gratuitos en la región.(22)

Se estima que 77.3 millones de personas contrajeron la infección por el VIH desde el comienzo de la epidemia (Figura 2.3) y hasta el 2017, 36.9 millones de personas vivían con el VIH en todo el mundo, de las cuales 21.7 millones (59 %) tenían acceso a la terapia antiretroviral (un aumento desde 2016 y con relación a los 8 millones de 2010), siendo 940,000 las que fallecieron a causa de enfermedades relacionadas con el SIDA.

Desde el pico alcanzado en 1996, las nuevas infecciones por el VIH se han reducido en un 47 % (Figura 2.1) y desde el pico alcanzado en 2004, los casos de muertes relacionadas con el sida se han reducido en más de un 51 % (Figura 2.2) (UNAIDS, 2018).(29)

En 2017, tres de cada cuatro personas que vivían con el VIH (75 %) conocían su estado, entre las personas que conocían su estado, cuatro de cada cinco (79 %) tenían acceso al tratamiento y, entre las personas que tenían acceso al tratamiento, cuatro de cada cinco (81 %) habían logrado la supresión viral. El 47 % de toda la gente que vive con el VIH tiene una carga viral indetectable. (29)

Los grupos de población clave son grupos definidos que, por sus comportamientos específicos de gran riesgo, presentan una especial susceptibilidad a contraer el VIH independientemente del tipo de epidemia y del contexto local. Además, suelen enfrentarse a problemas jurídicos y sociales a causa de estos comportamientos que aumentan su vulnerabilidad al VIH. Los grupos de población clave son importantes para la dinámica de la transmisión del VIH y constituyen asociados esenciales para lograr una respuesta eficaz a la epidemia.

Los grupos de población clave y sus parejas sexuales representan:

1. El 47 % de las infecciones nuevas por el VIH a nivel mundial.

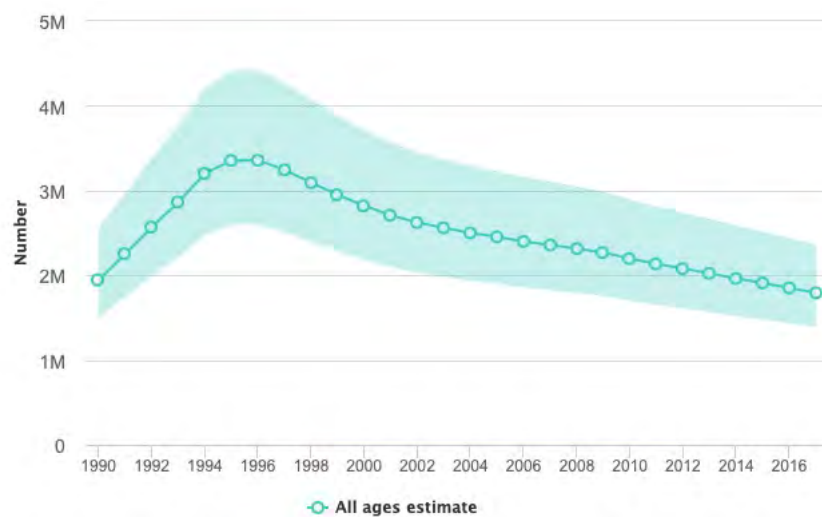


Figura 2.1: Estadística sobre nuevas infecciones por VIH.(29)

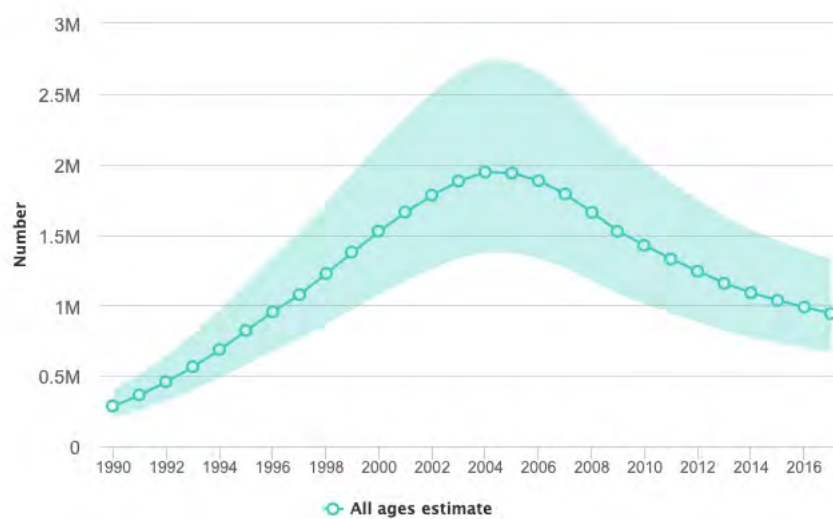
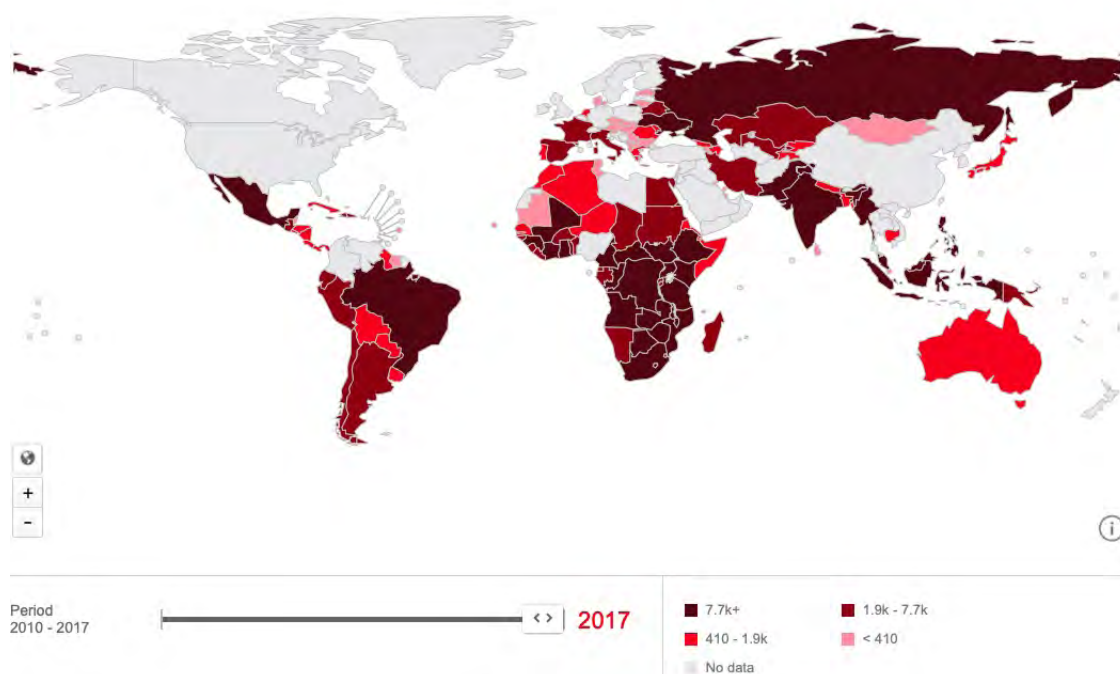


Figura 2.2: Estadística sobre muertes relacionadas con SIDA. (29)



## 2. ANTECEDENTES

---



**Figura 2.3:** Mapa geográfico sobre la población infectada por VIH.(29)

2. El 95 % de las infecciones nuevas por el VIH en Europa Oriental y Asia Central, y el Oriente Medio y África Septentrional.
3. El 16 % de las infecciones nuevas por el VIH en África Oriental y Meridional.

Donde el riesgo de contraer el VIH es: 27 veces mayor entre los hombres que tienen relaciones sexuales con hombres, 23 veces mayor entre las personas que se inyectan drogas, 13 veces mayor para las trabajadoras sexuales y 13 veces mayor para las mujeres transgénero.(29)

### 2.2.2. VIH y SIDA en México

El Sistema de Vigilancia Epidemiológica de VIH/SIDA presentó al cuarto trimestre del 2018, 14,143 nuevos casos diagnosticados en 2018, donde 8,324 son por VIH y 5,819 por una evolución a SIDA.

Las defunciones por SIDA hasta 2017 en México han sido de 4,720 personas, con una tasa de mortalidad por 100,000 habitantes de 3.82, donde los estados con la mayor tasa de casos nuevos diagnosticados son Quintana Roo, Campeche, Yucatán, Veracruz y Morelos.(16) De estos casos, el 82.1 % de casos reportados es en hombres mientras que en mujeres es del 17.9 %, esto es debido a que los grupos de población clave o de riesgo

en México son los hombres homosexuales y las mujeres transgénero pues presentan en el 2017 casi la mitad de las nuevas infecciones. (16)

Como se puede apreciar en la Figura 2.4, ha habido un considerable aumento de casos notificados de VIH, sin embargo los casos notificados de SIDA tienden a la baja gracias al uso de terapias antiretrovirales (Figura 2.5).

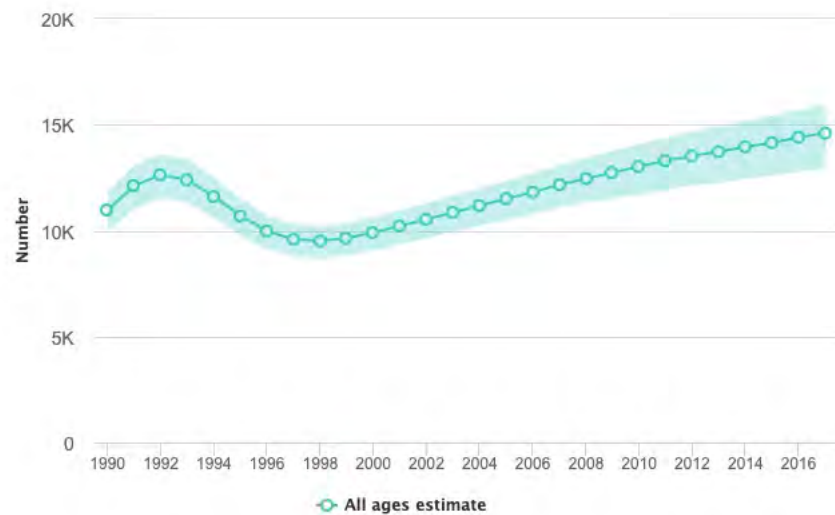


Figura 2.4: Estadística sobre nuevas infecciones por VIH en México.(29)

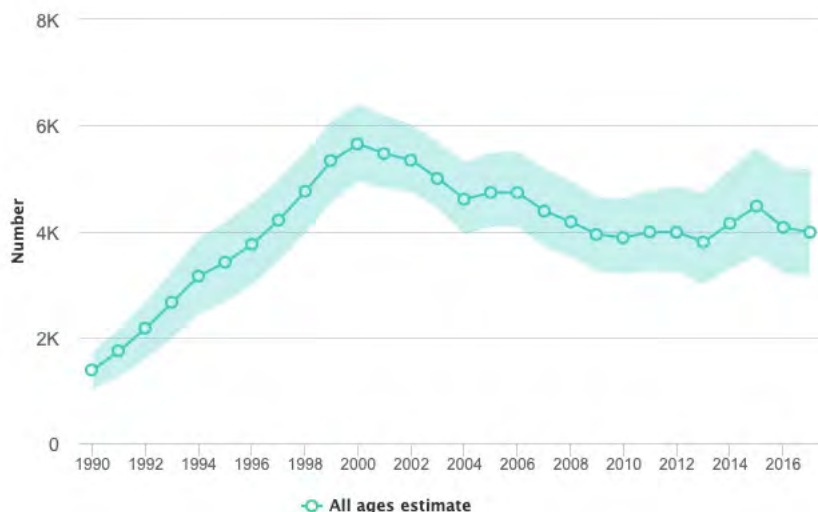
### 2.2.3. Género y especies del VIH

El VIH infecta a las células del sistema inmune y al sistema nervioso central, más notablemente el VIH infecta a las células CD4 T también conocidas como linfocitos T, los cuales tienen un papel crucial en el sistema inmune, pues coordinan las acciones de este para combatir infecciones. Cuando se reduce el número de células T se debilita considerablemente el sistema inmune.

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida es más letal que otras inmunodeficiencias asociadas con distintas infecciones virales, fúngicas bacteriológicas, enfermedades autoinmunes y perturbaciones endocrinas.

El VIH es un virus del género lentivirus, que es parte de la familia retroviral, estos virus se caracterizan por un largo periodo de latencia e infección progresiva en la cual el virus evade la respuesta inmune del huésped.(22) Los lentivirus insertan su información genética dentro del ácido desoxirribonucleico (DNA) del huésped teniendo la habilidad única de replicación en células indivisibles. Este tipo de replicación es uno de los métodos más efectivos para transmitir información genética.(25)

Los retrovirus tienen la capacidad de transformar ácido ribonucleico (RNA) en ácido desoxirribonucleico (DNA). Durante el proceso natural de transcripción el RNA



**Figura 2.5:** Estadística sobre muertes relacionadas con SIDA en México. (29)

es sintetizado a partir de DNA, pero los retrovirus usan la transcriptasa reversa, enzima DNA polimerasa, para transcribir cadenas simples de RNA a cadenas simples de DNA.

El VIH tiene la capacidad de mutar y evolucionar, lo que lo lleva a tener una gran diversidad.

El VIH se categoriza en dos tipos: VIH-1 y VIH-2, sin embargo la mayor parte de infecciones en el mundo son a partir del tipo VIH-1, pues la infección a partir de VIH-2 ha sido confinada mayoritariamente a gente dentro del oeste de África. VIH-1 y VIH-2 tienen rutas similares de transmisión y ambos causan síndrome de inmunodeficiencia adquirida. El origen del VIH se da a partir del Virus de Inmunodeficiencia en Simios (SIV), específicamente a partir de chimpancés ( $SIV_{cpz}$ ) del centro-oeste de África.(20)

Numerosos tipos aislados de VIH han evolucionado de distintos orígenes geográficos (filogenia), los cuales pueden ser clasificados en cuatro grupos virales: M, N, O y P, los cuales son resultado de transmisiones independientes entre especies de chimpancés y gorilas del centro-oeste de África a humanos a principios del siglo XX.

Adicionalmente, al menos 9 subtipos distintos de VIH-1(20) han sido identificados al igual que casos de infección con dos o más cepas han sido documentados.(22)

Se ha propuesto que el grupo M del VIH-1, al igual que los varios subtipos y recombinaciones que presenta, es el principal responsable de la pandemia global.(2) Este grupo puede ser dividido en más de 8 subtipos, los cuales pueden ser divididos aún más. Las recombinaciones del VIH-1 asociadas con la epidemia son conocidas como Formas Recombinantes Circulantes (CRFs), al igual que las recombinaciones únicas conocidas como Formas Recombinantes Únicas (URFs), las cuales muestran la gran diversidad genética debido a su alta tasa de recombinación y mutación, rápidas tasas de rotación y naturaleza persistente del virus.(7) Esta gran capacidad de evolución permite al virus evadir al sistema inmune del cuerpo y tener una gran resistencia a fármacos, lo que lo

convierte en una gran problemática en la producción de vacunas para combatirlo. El grupo N es menos frecuente, se reporta únicamente en Camerún al igual que el grupo O, el cual es responsable del 1% del total de casos de VIH-1 y se encuentra principalmente en Camerún y Gabón. El grupo P es el más raro de todos y ha sido identificado únicamente en mujeres embarazadas de origen camerunés en Francia.(30)

#### 2.2.4. Estructura y ciclo de vida del VIH

El VIH, al igual que otros retrovirus, comprende proteínas que son específicas del virus o antígenos. Dos antígenos en la superficie del VIH son las glicoproteínas 120 y 41 (gp120 y gp41), las cuales forman un complejo glicoprotéico que permite al VIH fusionarse con la membrana celular para iniciar el ciclo de infección. Dentro de la cápside del virus se encuentra el núcleo del virus que contiene RNA y enzimas virales. Esta cápside está formada por una cubierta viral compuesta por fosfolípidos.

##### 2.2.4.1. Ciclo de vida y replicación

El ciclo de vida del VIH es un proceso complejo que ocurre a nivel molecular (Figura 2.6), las etapas principales(22) pueden ser clasificadas como:

1. **Unión.** La transmisión del VIH empieza con el anclaje del virus al huésped. La proteína superficial gp120 se ajusta conformacionalmente para unirse a los co-receptores de la superficie de las células T para así entrar exponiendo las moléculas de glicoproteína gp41 incrustadas en la superficie del virus, asimismo, el virus puede usar un receptor de quimiocinas  $\beta$  tipo 5 (CCR5) o un receptor de quimiocinas  $\alpha$  tipo 4 (CXCR4). Estas interacciones con el receptor generan modificaciones en las proteínas de la superficie viral, lo que permite que las bicapas lipídicas del virus y la célula se fusionen. El proceso completo de entrada se realiza en una hora desde el contacto del virus con la célula (Figura 2.7).
2. **Penetración y Transcripción Reversa.** El virus entra al linfocito T digiriendo su matriz y proteínas de la cápside, liberando enzimas virales y RNA dentro del citoplasma de la célula. El material genético viral es incorporado a la célula en un proceso llamado endocitosis. Usando los nucleótidos del huésped, la enzima del VIH transcriptasa reversa transforma el RNA viral en DNA monocatenario. Mientras este proceso ocurre, errores aleatorios son comúnmente realizados debido a la pobre actividad de corrección de pruebas característica de la transcriptasa reversa, lo que le confiere la capacidad de mutar con facilidad. Posteriormente, el DNA monocatenario es transcrito y sintetizado como DNA bicatenario. Este proceso se extiende alrededor de las 10 horas posteriores a la infección (Fig 2.7).
3. **Integración.** El proceso de integración es de gran importancia en el ciclo de vida de los retrovirus. El virión pasa a través de varios cambios estructurales complejos para entrar al núcleo de la célula. Una vez allí, inserta el ADN del VIH

## 2. ANTECEDENTES

---

en el cromosoma del huésped, lo que lleva a la producción de la enzima proteasa del VIH a través del proceso de replicación del ADN de la célula huésped, el cuál es completado en aproximadamente 26 horas después de la infección.

4. **Transcripción.** Esta etapa resulta en la producción del RNA viral, el cuál actuará como plantilla para la generación de nuevos virus. La RNA polimerasa se utilizará para producir ARNm que ayudará a sintetizar diferentes proteínas virales a través de los ribosomas, posteriormente, las proteínas se transportan e incrustan en la membrana celular formando un conjunto cercano a la superficie de la célula huésped.
5. **Ensamblaje, Gemación y Maduración.** El ensamblaje del VIH es un proceso de varios pasos que involucra varias proteínas virales y celulares, lípidos y ARN, este proceso implica:
  - a) Minimización del número de proteínas que deben ser dirigidas a la membrana plasmática.
  - b) Regulación de la morfogénesis de partículas víricas
  - c) Posicionamiento de proteínas estructurales dentro de las partículas del virus

Una vez que el virus inmaduro llega a la superficie de la célula, se separa de la célula huésped en el proceso de gemación. El proceso de maduración del virión del VIH inmaduro ocurre recién formado o después de abandonar la célula. La enzima viral proteasa que se produjo durante la etapa de integración rompe las cadenas multiproteínicas virales a su tamaño adecuado y finalmente conduce a la maduración funcional y morfológica del virus. El virus ahora está listo para infectar a otra célula del sistema inmunológico.

El virus de inmunodeficiencia humana puede infectar células  $T_h$  (CD4+), macrófagos (leucocitos) y células neurogliales (microglías), de este modo, el tropismo viral se refiere a la caracterización de cepas de VIH mediante el tipo de células que infecta. Las cepas macrófago (M-trópicas) se replican en macrófagos y células T CD4+ y usan receptores  $\beta$  de quimiocina tipo 5 (CCR5, los cuales se encuentran en la superficie de los linfocitos T) para entrar. Las cepas T-trópicas se replican principalmente en células T CD4+ y usan receptores  $\alpha$  de quimiocina tipo 4 (CXCR4, que al igual que CCR5, se encuentran en la superficie de los linfocitos T) para entrar a la célula. Existen cepas virales con tropismo dual que son consideradas como transicionales y pueden usar CCR5 y CXCR4 como co-receptores.(22)

La progresión de la enfermedad con la infección por VIH ocurre cuando el gen que codifica la proteína gp120 se altera a través de la mutación. La proteína gp120 alterada modifica la adherencia de su co-receptor y ahora se une con éxito a diferentes receptores CXCR4. El VIH realiza su ciclo de vida a través de células T CD4+ específicas durante varios de años, lo que produce nuevas partículas de virus. A medida que los nuevos virus abandonan la célula T CD4+, la membrana plasmática de la célula se rompe y la célula T CD4+ se destruye inevitablemente. A medida que estos virus recién liberados

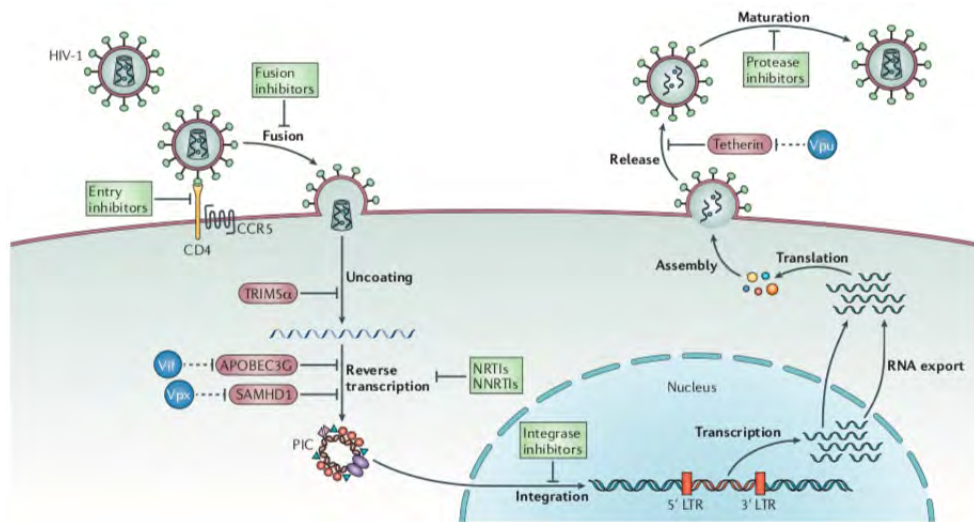


Figura 2.6: Ciclo de vida del VIH.(11)

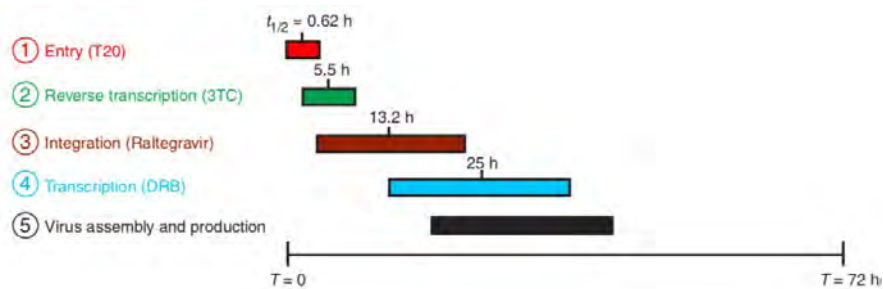


Figura 2.7: Fases en el ciclo de vida del VIH dentro del huésped.(8)

invaden y destruyen otras células T, el sistema inmunológico de la persona infectada se debilita, lo que lleva a la progresión del SIDA.(22)

Aunque las células T CD4+ son objetivos importantes del VIH, los macrófagos también desempeñan un papel crucial en la infección del VIH-1. Los macrófagos son células no divisorias que presentan una primera línea de defensa contra los patógenos. El proceso de exocitosis (proceso durable que consume energía y en el cual una célula dirige el contenido de sus vesículas secretoras hacia el espacio extracelular) causa un daño mínimo a los macrófagos. Por lo tanto, el VIH puede continuar multiplicándose mientras hace poco daño aparente a la persona infectada. Los macrófagos son las principales células objetivo infectadas por el VIH-1, y podrían formar un reservorio de VIH-1 en los individuos infectados, lo que podría hacer de los macrófagos el recurso para la producción del VIH después del agotamiento de las células T CD4+. (22)

Se ha mostrado que las células NK (Natural Killer) pueden contribuir al control del VIH a través de reconocimiento viral de los receptores de células NK (KIRs), colocando



así presión inmunológica al VIH, sin embargo, el virus evade este tipo de respuestas mediante la selección de polimorfismos de secuencia en KIRs. (11)

Se ha demostrado la relación entre la genética del huésped y las variaciones en la infección por VIH, variantes de antígeno de tratamiento (HLA), que pueden modificar las respuestas inmunitarias tanto innatas como adaptativas. Varios alelos HLA-B (incluidos HLA-B\*57, HLA-B\*27 y HLA-B\*13) se han asociado sistemáticamente con el control viral, incluso en la interacción con los genotipos KIR.(11)

### 2.2.5. Transmisión e Infección del VIH

El VIH puede ser transmitido de una persona infectada mediante sangre, semen, fluidos vaginales y leche materna, asimismo, la infección puede ser transmitida por un virus activo o uno en estado de latencia que se encuentra en las células infectadas. El virus entra al organismo a través del contacto directo con el torrente sanguíneo o a través de membranas mucosas, de este modo el VIH puede ser transmitido a través de relaciones sexuales, agujas, residuos sanguíneos y de madre a hijo.

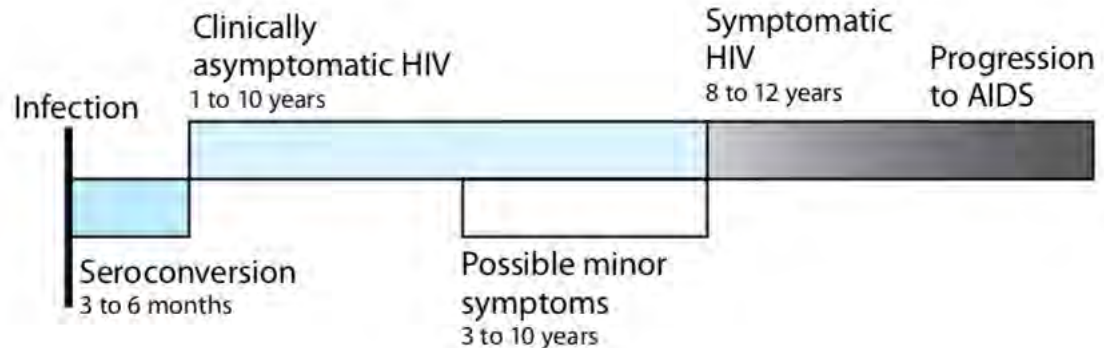
El virus no tiene una larga vida fuera del cuerpo humano, por lo que no puede ser transmitida a través de lágrimas o sudor. Se ha mostrado que la saliva de una persona infectada contiene VIH, sin embargo, el virus se encuentra usualmente en cantidades limitadas y no se ha probado que la saliva sea una ruta directa de infección.(5)

La posibilidad de adquirir VIH-1 a través del contacto sexual, depende de la frecuencia del contacto con parejas infectadas con VIH y la probabilidad de transmisión relacionada con cada tipo de actividad sexual. Se ha probado que la circuncisión masculina reduce el riesgo de transmisión sexual de mujer a hombre. El riesgo de infección por contacto sexual se estima es 300 veces mayor a cuando el contacto es con una pareja con úlceras genitales. El VIH se contagia con facilidad mediante laceraciones en la piel y membranas mucosas producidas por úlceras genitales, de este modo, el virus se puede anclar a los leucocitos expuestos en secreciones genitales.(5)

El sexo oral con una pareja infectada normalmente conlleva un bajo riesgo de infección. En el acto sexual, el VIH infecta inicialmente las células T CD4+ y permanece en la mucosa genital o anal por aproximadamente 10 días, el virus posteriormente se propaga por el torrente sanguíneo de tejido linfóide asociado a la mucosa a otros tejidos linfoides.(9) La carga viral en la sangre del huésped aumenta exponencialmente a millones de copias de virus por mililitro de plasma en 3 a 4 semanas después de la infección.

La infección por VIH ocurre en 4 etapas: (22) Infección primaria, etapa clínicamente asintomática, infección sintomática por VIH y progresión a SIDA (Figuras 2.8 y 2.9).

La primera etapa de infección normalmente dura unas semanas, en la cual una considerable cantidad de virus circula por el torrente sanguíneo de la persona infectada, el sistema inmune responde al virus generando anticuerpos y linfocitos citotóxicos. Este proceso de producción de anticuerpos como respuesta a un antígeno en específico se denomina seroconversión. Posteriormente, una persona dará positivo cuando se realicen pruebas para detectar la presencia de los anticuerpos. Después, un periodo clínicamente



**Figura 2.8:** Etapas del VIH dentro del organismo. (22)

asintomático continúa el periodo de infección con un promedio de 10 años. Los niveles del virus en sangre decrecen, no obstante, la persona mantiene la infección y los anticuerpos contra el VIH son detectables en sangre, por lo cual, los resultados de pruebas de anticuerpos mostrarán resultados positivos. Estudios han mostrado que el virus de inmunodeficiencia humana no se encuentra latente durante esta etapa, sin embargo, funciona altamente en los ganglios linfáticos. (5) Cuando los linfocitos T del organismo infectado decrecen del nivel estándar (500 a 2000 células por microlitro de sangre), se hinchan las glándulas linfáticas y se generan varios problemas de piel como psoriasis (sarpullido escamoso), herpes e infecciones menores. (35) Posterior a un periodo asintomático prolongado, el VIH se vuelve sintomático. El sistema inmune es dañado progresivamente por la infección, desarrollando y empeorando los síntomas a medida que el sistema inmune se deteriora. Una reducción sustancial en el número de linfocitos T debilita seriamente al sistema inmune (Figura 2.10). A medida que el conteo de células T decrece más de 200 células/ $\mu\text{L}$  de sangre, la infección sintomática por VIH puede ser desencadenada por la aparición de ciertas infecciones oportunistas que el sistema inmune normalmente podría prevenir. Teniendo debilitado seriamente al sistema inmune, se aumenta exponencialmente el riesgo de diversos tipos de cáncer. (36)

Un sistema inmunitario comprometido muestra evidencia de deficiencias agudas en los conjuntos de linfocitos T, inmunidades mediadas por células y diversas funciones de eliminación de las células.

El sistema de la OMS para el tratamiento, soporte y prevención del VIH/SIDA (36) también se basa en la confirmación por laboratorio de la infección por VIH, sin embargo, éste consta de 4 etapas clínicas que corresponden a las pautas de tratamiento antiretroviral de la OMS:

- Infección por VIH (etapa 1) - Sin síntomas
- Infección por VIH (etapa 2) - Síntomas leves
- Enfermedad avanzada (etapa 3) - Síntomas avanzados



## 2. ANTECEDENTES

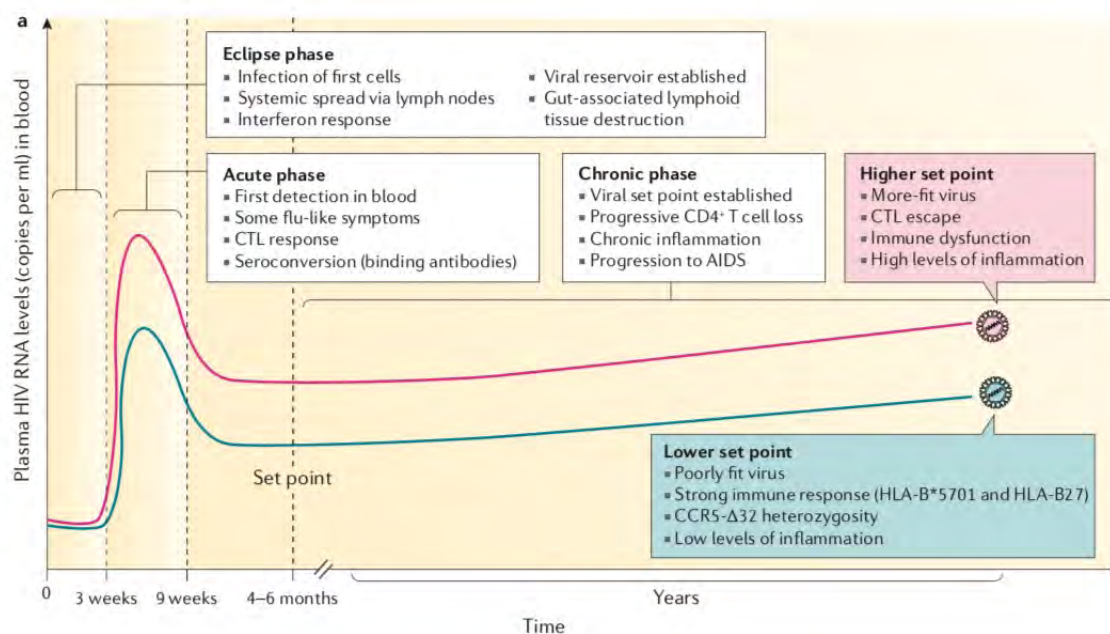


Figura 2.9: Infección prototípica del VIH en fases patológicas.(28)

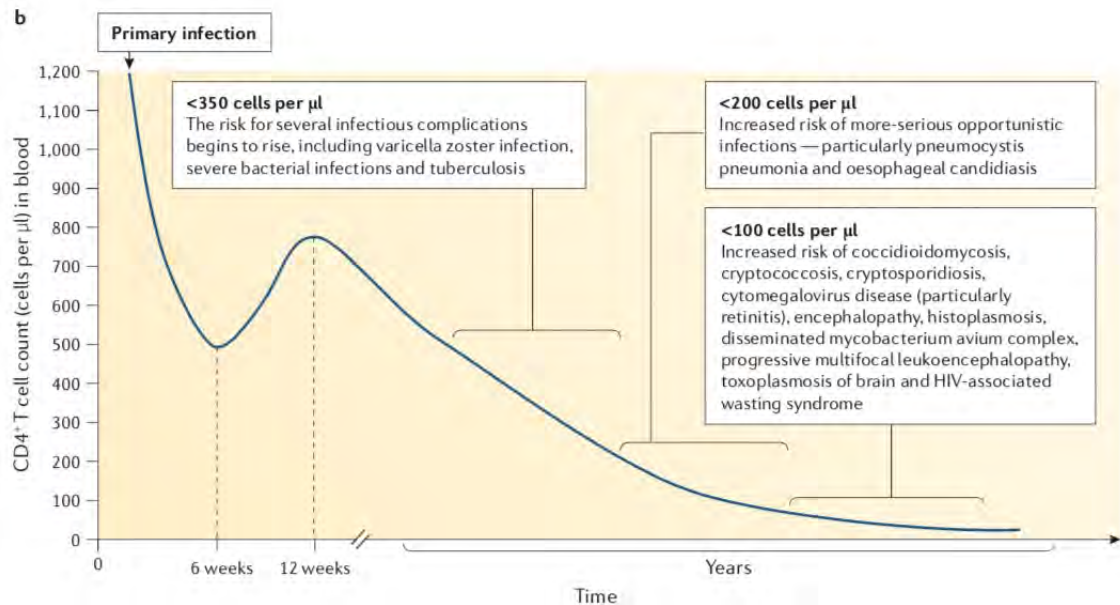
- Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (etapa 4) - Síntomas severos

### 2.2.6. Ensayos clínicos

Los ensayos clínicos están diseñados para detectar antígenos, anticuerpos o RNA. El ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas o ELISA fue el primer test realizado para determinar la presencia del virus de inmunodeficiencia humana.

#### 2.2.6.1. Pruebas de detección de anticuerpos

El ensayo ELISA es un proceso de dos pasos que usa los antígenos del VIH para detectar la presencia de anticuerpos del virus en un suero de sangre diluida del paciente. Esta prueba mide la presencia de anticuerpos estimulados por el VIH mediante la catálisis ligada a enzimas para la visualización de anticuerpos. La muestra de sangre es diluida varios cientos de veces y aplicado a un sustrato en el cual antígenos de VIH han sido colocados previamente. Si los anticuerpos que combaten el VIH están presentes en la muestra sanguínea, éstos se unirán a los antígenos de VIH. El sustrato es posteriormente limpiado para remover todos los compuestos que no se enlazaron al suero y finalmente se aplica un anticuerpo secundario que está unido a una enzima fluorescente. La catálisis realizada por esta enzima causa que el anticuerpo fluoresca o cambie de color. Si el resultado del ensayo es positivo, entonces un test de confirmación



**Figura 2.10:** Recuento de linfocitos T CD4+ en adultos.(28)

es normalmente realizado.

La prueba ELISA, no es usada generalmente para confirmar un diagnóstico, para esto se prefiere el uso de una metodología más costosa: Western blot. La técnica Western blot es también una prueba de detección de anticuerpos, sin embargo, las proteínas virales primero son separadas y después inmovilizadas. Esta prueba identifica anticuerpos para proteínas con un peso molecular específico, lo cual ayuda a eliminar resultados con falso-positivos.

Las células que podrían estar infectadas con el VIH se lisan o se desintegran, lo que permite extraer las proteínas y colocarlas en electroforesis (suspendidas en un fluido o gel y sometido a corriente eléctrica). Las proteínas se mueven a diferentes velocidades en este campo, dependiendo de su tamaño y morfología. Su carga eléctrica está nivelada por la presencia de un surfactante llamado lauril sulfato de sodio.

El test de reacción en cadena de la transcriptasa-polimerasa reversa (RT-PCR) extrae el RNA viral y lo convierte en cDNA a través de la transcriptasa reversa usando métodos moleculares (PCR, qPCR) en los que se puede cuantificar la presencia y cantidad relativa del virus.

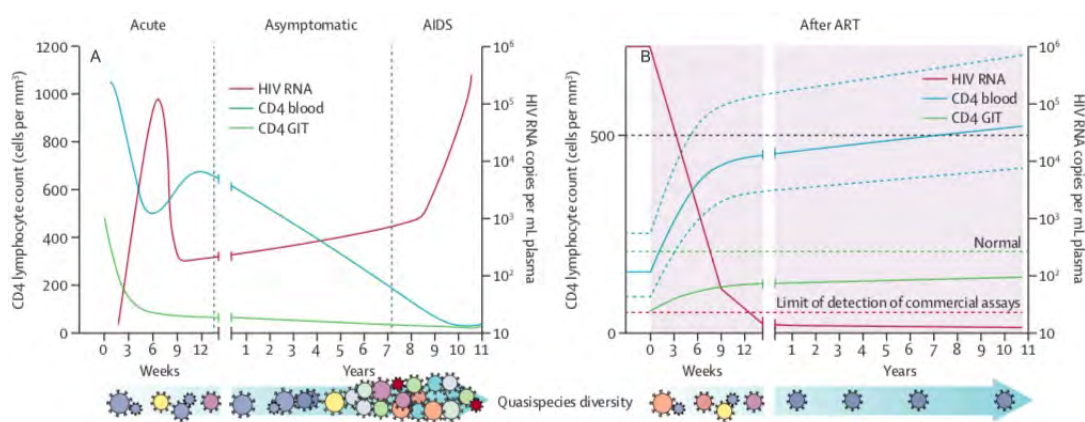
El umbral de detección promedio para pruebas de anticuerpos de VIH es de 25 a 30 días después de la infección, no obstante, la seroconversión puede ocurrir después. La mayor parte de la gente infectada con el virus (95%-97%) tiene anticuerpos detectables aproximadamente 9 a 12 semanas después de la infección; sin embargo en raras ocasiones, una persona infectada por VIH puede tomar hasta 6 meses en desarrollar anticuerpos contra el VIH. (36)

### 2.3. Terapia Antirretroviral contra el VIH-1

Se han realizado muchos avances en la prevención de la transmisión del VIH y la gestión del VIH/SIDA desde que se descubrió el virus a principios de los años ochenta. Uno de los descubrimientos más importantes ha sido el tratamiento antirretroviral, que puede detener la replicación del VIH y aliviar los síntomas, convirtiendo el SIDA en una condición crónica en lugar de una enfermedad rápidamente terminal.

El campo de investigación del VIH ha pasado a través de tres grandes revoluciones terapéuticas. La primera revolución fue la introducción de inhibidores de proteasa en 1996, los cuales, en combinación con dos inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos (NRTIs) producen una terapia antirretroviral altamente efectiva (HAART). La segunda revolución fue el uso de estos tratamientos como prevención. Finalmente, la tercera revolución ocurrió con los primeros estudios que mostraron el beneficio clínico individual significativo de la terapia antirretroviral combinada (cART), incluso con un conteo de linfocitos T superior a 500 células por  $\mu\text{L}$ .(17)

La terapia antirretroviral combinada suprime dramáticamente la replicación viral y reduce la carga viral por debajo de los límites de detección de los ensayos clínicos más sensibles (menor a 50 copias de RNA/mL) resultando en una reconstitución significativa del sistema inmune (Figura 2.11).(8)



**Figura 2.11: Infección por VIH sin tratamiento y cambios después de la terapia antirretroviral.** (A) Conteo de células CD4 y RNA viral en infecciones sin tratamiento (B) Conteo de células CD4 y RNA viral después de tratamiento antirretroviral.(14)

Cuando solo se administra un medicamento, el VIH se vuelve rápidamente resistente a él, haciendo que el tratamiento sea inútil para la persona infectada. La combinación de dos o más antirretrovirales (cART) reduce la posibilidad de resistencia y prolonga el período en el que se puede usar el tratamiento en un paciente al suprimir la replicación viral, lo que aumenta el recuento de linfocitos T CD4. Para evitar la reactivación de los síntomas, el paciente debe recibir el tratamiento de por vida.(22) El éxito general

de un régimen de cART se puede ver en términos de su capacidad para suprimir la replicación viral sin resistencia, menos los costos asociados, que incluyen la toxicidad, los efectos adversos a largo plazo, el riesgo de interacción farmacológica y el impacto en la calidad de vida.(17)

El VIH-1 tiene un gran potencial para generar diversidad genética debido al proceso de transcripción inversa. Este proceso es propenso a errores, una mutación es introducida cada 1000-10000 nucleótidos sintetizados (una a diez mutaciones son generadas por cada ciclo de replicación viral). De este modo, incluso en regímenes de tres medicamentos, todavía se necesitan nuevos tratamientos contra el VIH-1.(8)

Mientras que el ciclo de vida del VIH-1 presenta muchas oportunidades potenciales para la intervención terapéutica, solo unas pocas han sido explotadas, las cuales se distribuyen en seis clases diferentes:(8)

- **Nucleósidos/Nucleótidos Inhibidores de la Transcriptasa Reversa (NRTIs).** Antes de mostrar cualquier actividad antiviral, estos compuestos requieren ingresar a la célula huésped y la fosforilación por las quinasas celulares. Los NRTIs contienen un fragmento 2'-desoxirribosilo y la falta de un grupo 3'-hidroxilo, lo cual evita la formación de un enlace 3'-5'-fosfodiéster entre el NRTI y un trifosfato 5'-nucleósido. Inhibe la producción de una de las hebras del ADN pro viral del VIH. Algunos de los NRTIs aprobados son: abacavir, didanosine, emtricitabine entre otros.
- **Inhibidores de la Transcriptasa Reversa No Nucleósidos (NNRTIs).** Estos compuestos inhiben la transcripción reversa del VIH-1 uniéndose e induciendo la formación de una 'bolsa' hidrofóbica cerca del sitio activo de la proteína, lo cual cambia la conformación espacial, reduciendo la actividad de la polimerasa. Algunos NNRTIs aprobados son: etravirine, delavirine, efavirenz y nevirapine.
- **Inhibidores de la Integrasa (InSTIs).** Los inhibidores de la transferencia de la cadena de la integrasa se dirigen al procesamiento del extremo 3' y al ADN viral y la transferencia de la cadena catalizada por la enzima de la integrasa, por lo tanto, se los denomina INI o, más específicamente, inhibidores de la transferencia de cadenas de integrasa (InSTIs). Estos inhibidores se unen al complejo entre la integrasa y el ADN viral, para interactuar con los dos co-factores de iones de magnesio en el sitio activo de la integrasa posteriormente. Las ITS son la única clase de medicamentos antirretrovirales que interactúan con dos elementos importantes del virus, al incluir dos componentes principales en su estructura: un farmacóforo que se une al metal y un grupo hidrofóbico. Algunos InSTIs aprobados son: dolutegravir, elvitegravir y raltegravir.
- **Inhibidores de la Proteasa (PIs).** La proteasa del VIH-1 es la enzima responsable de la escisión de los precursores de la poliproteína gag y gag-pol durante la maduración del virión. Debido a su papel vital en el ciclo de vida del VIH-1 y el

## 2. ANTECEDENTES

---

tamaño relativamente pequeño (11 kDa), inicialmente se esperaba que la resistencia a los inhibidores de la proteasa sería rara. Sin embargo, el gen de la proteasa tiene una gran plasticidad, con polimorfismos observados en 49 de los 99 codones y más de 20 sustituciones que se sabe están asociadas con la resistencia. Algunos compuestos aprobados son: amprenavir, atazanir, darunavir entre otros.

- Inhibidores de Entrada (EIs).** Los inhibidores de entrada del VIH evitan la fusión de la membrana del virus con la célula para la liberación de proteínas y enzimas virales. Pueden ser divididos en distintas clases según la interrupción/inhibición de distintos objetivos o pasos en el proceso, como la unión (gp120), fusión (gp41) o antagonistas de los receptores de quimiocina (CCR5), que disminuyen la cinética de fusión. En la Figura 2.12 se aprecian ejemplos de varios inhibidores de entrada, siendo (A) el enfoque de este proyecto.

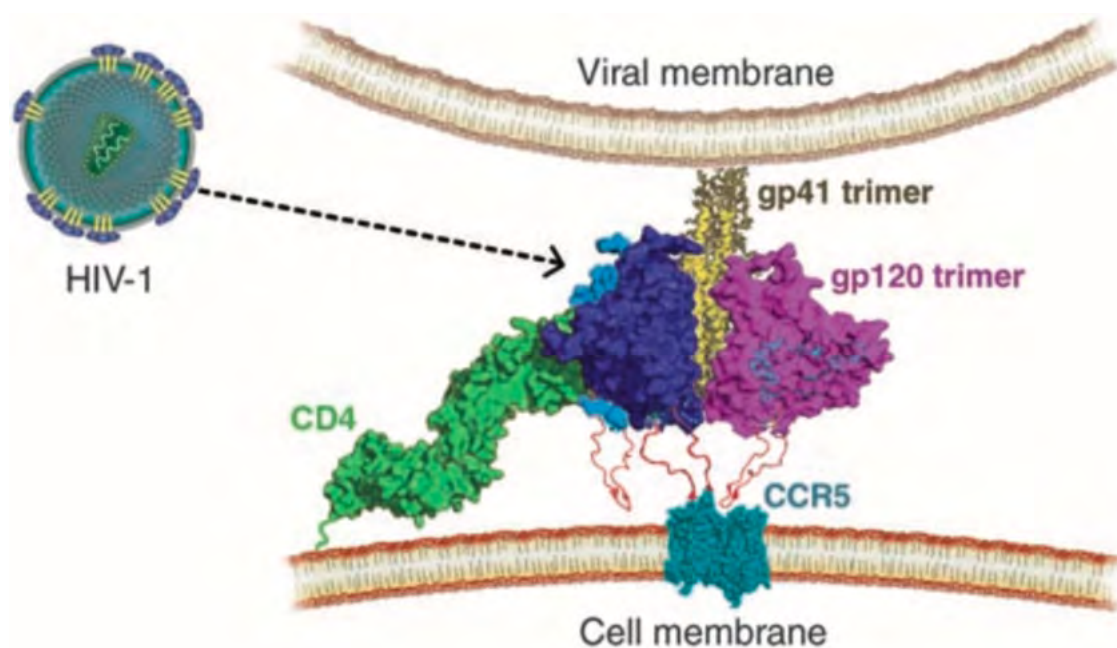
Drug	Developer	Stage
<b>(A) Targeting gp120</b>		
NBD-556, -557	–	Preclinical
BMS-378806	Bristol-Myers Squibb,	Phase I, discontinued
BMS-488043	USA	
A43D	–	Preclinical
<b>(B) Targeting gp41</b>		
Enfuvirtide (Fuzeon, T-20)	Trimeris/Roche, USA	US FDA approved (2003.3)
T-1249		Phase II, discontinued
RPR103611	–	Preclinical
A12	–	Preclinical
<b>(C) CCR5 antagonists</b>		
Maraviroc (UK-427, 857)	Pfizer, UK	US FDA approved (2007.8)
Aplaviroc (GW-873, 140)	GlaxoSmithKline, UK	Phase II/III, discontinued
Vicriviroc (SCH-D)	Schering-Plough, USA	Phase III (2009)
Ancriviroc (SCH-C)		Phase II, discontinued
AD101		Preclinical
TAK-779	Takeda, Japan	Phase I, discontinued
TAK-220		
TAK-652		
<b>(D) CXCR4 antagonists</b>		
AMD3100	Genzyme, USA	Phase II, terminated
AMD11070		Phase I/II (2009), suspended
KRH-1636	Kureha, Japan	
KRH-2731		

**Figura 2.12:** Moléculas pequeñas como inhibidores de entrada del VIH-1.(32)



## 2.4. Proteína superficial gp120

La entrada del VIH en las células huésped está mediada por las glicoproteínas de la envoltura viral. Estos complejos triméricos (figura 2.13) se encuentran anclados en la membrana viral por la glicoproteína gp41, la glicoproteína gp120 se encuentra asociada a gp41 por interacciones no covalentes con cada sub unidad del trímero (Figura 2.13).(26)



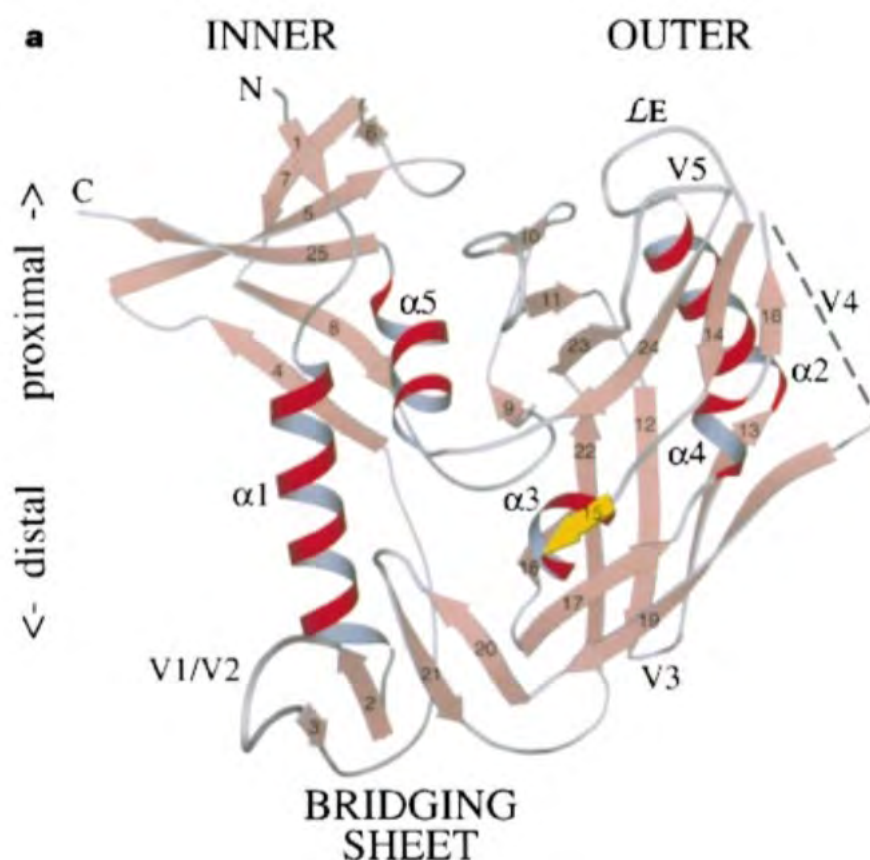
**Figura 2.13:** Interacción inicial entre la membrana celular y el complejo trimérico de glicoproteínas del VIH-1.(33)

La glicoproteína gp120 de dimensiones  $50 \times 50 \times 25 \text{ \AA}$  está formada por 25 láminas beta, 5 hélices alfa y diez segmentos loop definidos, agrupados en cinco regiones conservadas (C1-C5) y cinco regiones variables (V1-V5). Las primeras cuatro regiones variables forman loops expuestos en la superficie que contienen enlaces disulfuro en sus bases. Las regiones conservadas de gp120 forman estructuras discontinuas importantes para la interacción con el ectodominio gp41 y con los receptores virales en las células infectadas. Tanto las regiones conservadas como las variables de gp120 están altamente glicosiladas. Estos glucósidos son componentes vitales del VIH para la evasión de la respuesta (Zhang, 2017)(37).

gp120 se une a la mayoría de los cuatro dominios de CD4, pero la mutagénesis indica que la estructura de CD4 análoga a la segunda región determinante de la complementariedad (CDR2) de las inmunoglobulinas es crítica para la unión con gp120. CCR5 y CXCR4 para VIH-1, sirven como segundos receptores obligatorios para la entrada del virus. El loop de la tercera región variable de gp120 (V3) es el principal determinante

de la especificidad del receptor de quimiocinas a CCR5 o CXCR4.

La cadena polipeptídica de gp120 está plegada en dos principales dominios (Figura 2.14). El dominio interno cuenta con dos hélices alfa y dos cadenas con un pequeño 'sándwich' en forma de 5 láminas plegada beta en su extremo proximal y una proyección en el extremo distal del cual proceden las regiones variables uno y dos (V1/V2). El dominio externo es un doble barril apilado que se encuentra a lo largo del dominio interno, de modo que el eje externo y los ejes del eje interno son aproximadamente paralelos. El dominio externo produce la lámina  $\beta_{15}$  y la hélice  $\alpha_3$  las cuales son importantes para la interacción con CD4.(26)



**Figura 2.14:** Diagrama de cintas de gp120 y los componentes de su estructura secundaria.(26)

### 2.4.1. Interacción de CD4 con gp120

CD4 está ligado a una depresión formada en la interfase del dominio exterior con el dominio interior y el puente (bridging sheet). Esta interacción tiene un área total de

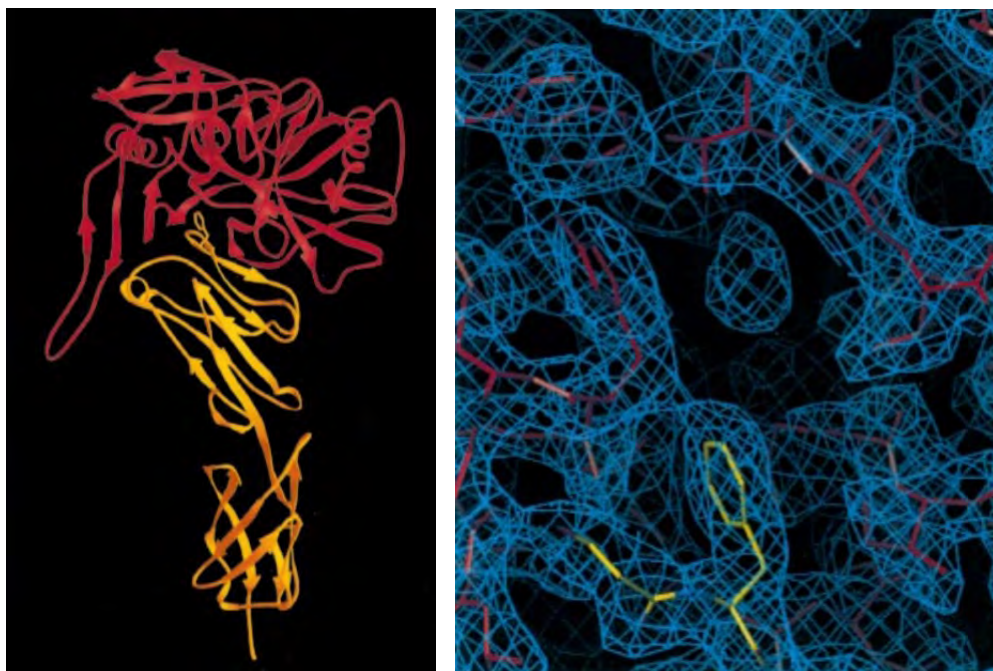
742 Å<sup>2</sup> de CD4 y 802 Å<sup>2</sup> de gp120. Se realizan contactos interatómicos directos entre 22 residuos de CD4 y 26 de gp120, los cuales incluyen **219** interacciones de van der Waals y **12** puentes de hidrógeno, distribuidos entre seis segmentos de gp120: Un residuo de la unión entre las regiones variables V1/V2, el loop LD, la unión entre  $\beta$ 15- $\alpha$ 3, la curva  $\beta$ 20- $\beta$ 21, la lámina  $\beta$ 23 y la conexión  $\beta$ 24- $\alpha$ 5. Los residuos Phe43 y Arg59 de CD4 hacen múltiples contactos con los residuos Asp368, Glu370 y Trp427 de gp120, siendo 23 % de los contactos interatómicos por Phe43. De este modo. Las interacciones atómicas específicas de Arg59 son con Asp368 y Val430, donde el grupo carboxilo de Asp368 hace puentes de hidrógeno dobles con los átomos nitrógeno de Arg59. Asimismo Phe43 interactúa con Glu370, Ile371, Asn425, Met426, Trp427 y Gly473, sin embargo, los contactos con Ile371 son de carácter hidrofóbico. La mayoría de los contactos realizados de Phe43 son con átomos polares (28 %). El grupo fenilo de fenilalanina 43 está apilado en el grupo carboxilo de Glu370 y hay contactos con los átomos de oxígeno del carbonilo de los residuos 425, 426 y 473 y el grupo NH de Trp 427.(26).

La cavidad más grande está compuesta principalmente por residuos hidrofílicos, ésta tiene accesibilidad de disolvente (ocho moléculas de agua en la cavidad). Esta cavidad sirve como buffer de agua entre gp120 y CD4. La tolerancia a la variación en la superficie de gp120 asociada con esta cavidad produce una isla variacional llamada 'anti-hotspot' que está ubicada en el centro entre las regiones requeridas para la unión a CD4, y puede ayudar al virus a escapar de los anticuerpos dirigidos contra el sitio de unión a CD4. (26)

La cavidad Phe43 (Figuras 2.15 y 2.16) es ligeramente esférica con un diámetro de aproximadamente 8 Å. Está profundamente enterrada, extendiéndose hacia el interior hidrofóbico de gp120. El anillo de fenilo de Phe43 es el único residuo (que no es parte de gp120) que entra en contacto con esta cavidad, formando un tapón que cubre el fondo de la cavidad, por lo que dentro de la cavidad misma sólo hay unas cuantas moléculas de agua. Los residuos que forman esta cavidad son primariamente hidrofóbicos y están altamente conservados. Tal conservación implica una gran funcionalidad, aunque los residuos que recubren esa cavidad proporcionan poco contacto directo con CD4, sí afectan la interacción gp120-CD4, de este modo las mutaciones en Thr257 (no presenta contactos) y Trp427 (sólo contactos de cadena principal) pueden reducir sustancialmente la unión. Los cambios en los residuos de la cavidad también afectan a la unión de anticuerpos dirigidos contra el sitio de unión a CD4.

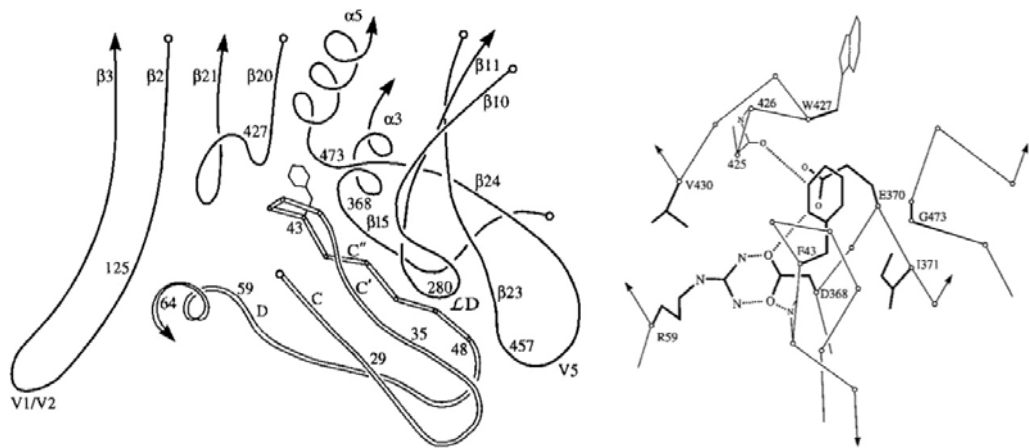
La mayor parte de la superficie de la proteína de envoltura gp120 está oculta de las respuestas inmunes humorales por medio de glicosilación y oclusión oligomérica. Los anticuerpos más neutralizantes en general acceden solo a dos superficies: una que se superpone al sitio de unión a CD4 (protegido por el loop V1/V2), y otra que se superpone al sitio de unión del receptor de quimiocinas (protegida por los loops V2 y V3). Los cambios conformacionales en gp120 proporcionan mecanismos adicionales para la evasión de la vigilancia inmune. En el caso de la superficie de unión a CD4, la conformación sin unión puede exponer la variabilidad de la cadena lateral subyacente. El escape también puede ser provisto por la oclusión estérica y por un desajuste de la superficie topográfica. Los mecanismos pueden ser similares en la región del receptor de





**Figura 2.15:** **Izquierda** Diagrama de cintas de la interacción entre gp120 (rojo) y la segunda región de CD4 (amarillo) donde se aprecia la cavidad Phe43 **Derecha** Mapa de densidad electrónica de la cavidad Phe43. (26)

quimiocinas: el cambio conformacional puede ocultar el epítipo conservado, camuflando los residuos de unión del receptor de quimiocinas en el loop V3 en la variabilidad circundante. Algunos de estos medios utilizados para eludir las defensas basadas en anticuerpos también pueden ayudar al VIH a evitar la inmunidad celular.(26)



**Figura 2.16:** **Izquierda** Interfase de la interacción gp120 (línea simple) - CD4 (doble línea) **Derecha** Contactos de los residuos de gp120 al rededor de Phe43 y Arg49 de CD4.(26)



## Marco teórico

---

### 3.1. Estudios previos

La Química Medicinal es un campo en constante evolución que se beneficia de todas las nuevas herramientas y técnicas desarrolladas por otras áreas, como la biología estructural, genética, química sintética y biología, química analítica, entre muchas otras, por lo que es necesario el uso de software especializado, empleado para manipular estructuras virtuales en dos y tres dimensiones, administrar bases de datos, visualizar y diseñar nuevas especies, realizar estudios de mecánica molecular y búsquedas conformacionales, dando inicio al proceso de diseño de fármacos.(4)

#### 3.1.1. Docking Molecular

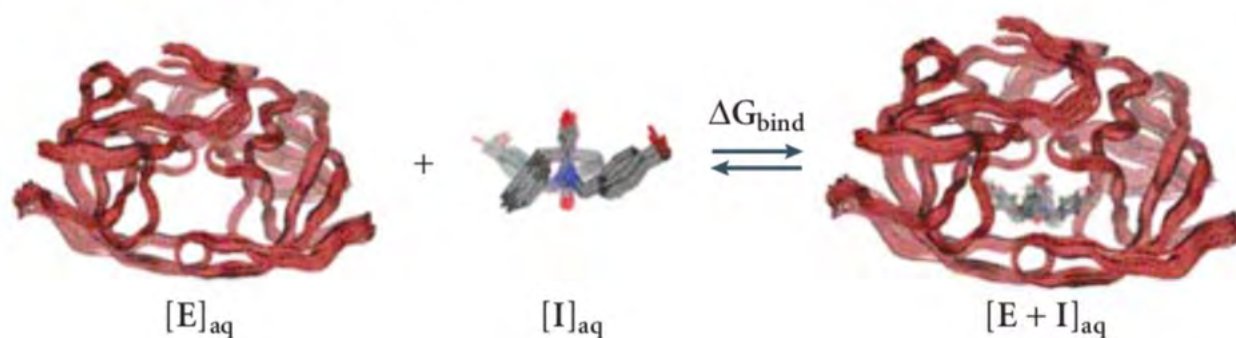
El proceso de docking molecular implica la predicción de la conformación y orientación de ligandos dentro de un sitio de unión. Este proceso tiene dos objetivos: el modelado estructural y preciso de las moléculas implicadas y la predicción correcta de la actividad. De este modo, el docking molecular se diseña generalmente como un proceso de múltiples pasos en el que cada paso introduce uno o más grados adicionales de complejidad. El proceso comienza con la aplicación de algoritmos de acoplamiento que colocan moléculas pequeñas en el sitio activo. Sin embargo, hasta las moléculas orgánicas relativamente simples pueden contener muchos grados de libertad conformacionales.(6) El muestreo de estos grados de libertad debe realizarse con la precisión suficiente para identificar la conformación que mejor se adapta a la estructura del receptor, y debe ser lo suficientemente rápido para permitir la evaluación de miles de compuestos en una ejecución de acoplamiento determinada.

El docking analiza el evento de unión entre una proteína y un ligando para formar un complejo, proceso en el cual, hay una combinación de factores entálpicos y entrópicos. Estos cálculos de acoplamiento pretenden predecir la estructura correcta del complejo en condiciones de equilibrio (Figura 3.1). Afortunadamente, la predicción de la conformación correcta para el complejo no requiere la constante de afinidad de

### 3. MARCO TEÓRICO

---

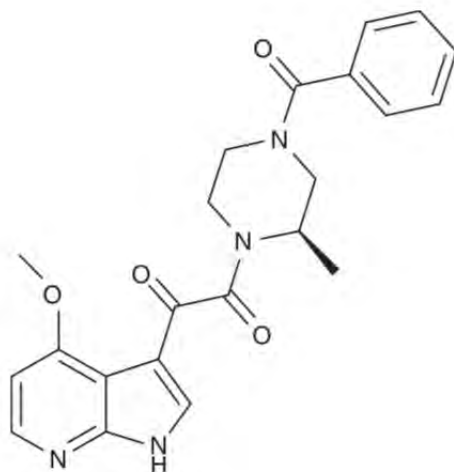
enlace experimental, o su energía libre asociada de valor de enlace.(6)



**Figura 3.1:** Interacción entre la proteína o enzima (E) y un ligando o inhibidor (I) dando como resultado al complejo (E + I) con una energía libre de unión asociada.(6)

#### 3.1.2. BMS-378807

Uno de los inhibidores de entrada más prometedores (figura 2.12) fue BMS-378807 o 4-benzoil-1-[(4-metoxi-1*H*-pirrolo[2,3-*b*]piridin-3-il)oxoacetil]-2-(*R*)-metilpiperazina (Figura 3.2) el cual fue un prototipo de inhibidor de entrada del VIH-1 que fue sintetizado en la compañía Bristol-Myers Squibb y que quedó en etapas clínicas fase II.(38)

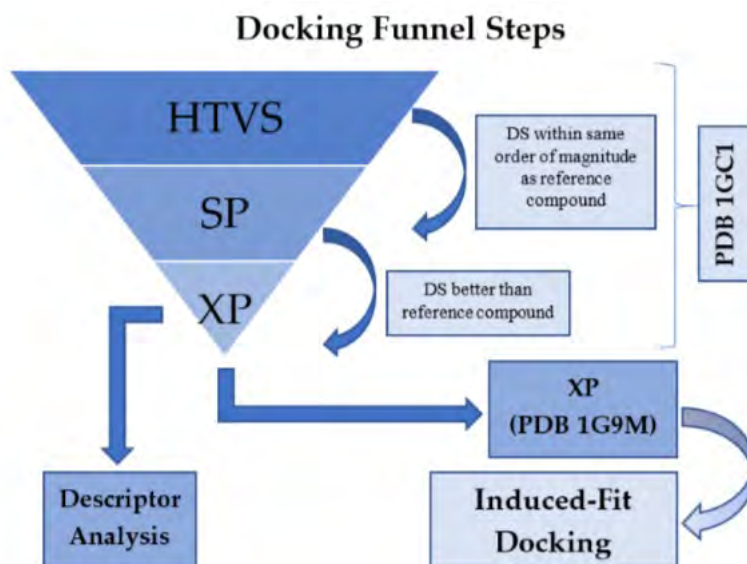


**Figura 3.2:** Compuesto BMS-378806.(38)

Este compuesto mostró una serie de propiedades farmacocinéticas deseables que

incluyen un bajo grado de unión a proteínas y un bajo potencial para interacciones fármaco-fármaco. A pesar de esto, mostró una baja penetración cerebral y una poca absorción oral necesaria para lograr una vida media adecuada para la administración diaria.(38)

Dado que la piperazina fue un componente común entre muchos potenciales inhibidores del VIH-1,(34), en el proyecto realizado por Castillo-Pazos(4) se decidió utilizar esta molécula como el núcleo de una serie de compuestos virtuales generados de manera combinatoria para realizar un escrutinio virtual de alto rendimiento utilizando el programa Glide para obtener posibles hits, mediante la construcción de una colección de 4,041 fragmentos y definiendo un núcleo de piperazina para obtener un total de 16,329,681 compuestos que fueron analizados para elegir los 100 mejores compuestos a partir de un proceso de cuello de botella para el docking molecular.



**Figura 3.3:** Pasos incluidos en el algoritmo de acoplamiento molecular realizado por Castillo-Pazos(4) donde se parte del “High-throughput virtual screening”(HTVS), siguiendo con “GlideScore standard precision”(SP) y “GlideScore extra precision”(XP).

## 3.2. Dinámica molecular

Las simulaciones de dinámica molecular son una técnica computacional dependiente del tiempo para estudiar el equilibrio y propiedades de transporte de un sistema clásico de varios cuerpos.(12) Al obtener y analizar las coordenadas, fuerzas y velocidades de las partículas de estudio, los procesos dinámicos y propiedades de un sistema pueden ser obtenidos y estudiados a detalle. Múltiples métodos de simulación y algoritmos han

### 3. MARCO TEÓRICO

---

sido desarrollados y ampliamente utilizados en biología estructural, diseño de fármacos, toxicología y biotecnología.

Para estudiar una propiedad cuantificable en una simulación de dinámica molecular, es necesario expresar este observable como una función de la posición y momento de las partículas del sistema.

En las dinámicas moleculares, la velocidad no se utiliza explícitamente en el algoritmo para resolver las ecuaciones de movimiento de Newton. En cambio, se utilizan las posiciones de las partículas en el actual ( $x$ ) y previo ( $x_m$ ) paso de tiempo, llamado “time step”, que, combinado con la fuerza que actúa sobre las partículas, se utilizan para predecir la siguiente posición en el siguiente time step.(27)

Las funciones de potencial son utilizadas debido a que describen las interacciones entre un par atómico de una manera sencilla, definidas principalmente por las dos fuerzas interatómicas principales, de esta manera, generando modelos útiles para sustancias reales.(27) El mejor potencial para la implementación de estos algoritmos es el potencial de Lennard-Jones (LJ) para un par atómico  $i$  y  $j$  localizados en  $r_i$  y  $r_j$ . La expresión para la energía potencial

$$U(r_{ij}) = 4\epsilon\left[\left(\frac{\sigma}{r_{ij}}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r_{ij}}\right)^6\right] \quad (3.1)$$
$$r_{ij} < r_c, r_{ij} \geq r_c$$

Donde  $\epsilon$  describe la fuerza de interacción y  $\sigma$  define el tamaño de la escala; la interacción es de repulsión en un rango corto y a un mayor rango de atracción con un límite de separación en  $r_c$ . Estas interacciones involucran pares de átomos individuales tratados de manera independiente, con átomos vecinos sin efecto en la interacción. Al construir un modelo con este potencial simplificado se obtiene un conjunto de esferas colisionando, al cual es necesario darle condiciones de frontera periódicas para evitar efectos de borde en el sistema. Una vez que se obtienen las fuerzas entre partículas, se integran las ecuaciones de movimiento de Newton(12) a través de algoritmos como Verlet o Leapfrog, siendo estos los más simples y con una amplia aplicabilidad. Estos algoritmos derivan las ecuaciones de Newton a través de una expansión de Taylor de la coordenada de una partícula a través del tiempo, obteniendo una nueva posición, con la cual se puede obtener la energía cinética del sistema siendo esta el método básico de la dinámica molecular.

La dinámica molecular es un método directo para explorar espacios configuracionales de proteínas, las cuales pueden ser realizadas en diferentes ensambles (canónico, isotérmico-isobárico, gran canónico), donde el resultado de la simulación es una trayectoria que contiene las coordenadas atómicas y velocidades en cada punto, los cuales se usan para calcular propiedades termodinámicas.

Para describir una macromolécula con un modelo físico es necesario construir una función energética, la cual asigna un valor de energía potencial de las diferentes configuraciones de cada partícula.(13)Elobjetivodelasminimizacionesenergéticasesencontrarpuntosestacionariosdelasuperficiedeenergíap

### 3.2.1. Dinámica Molecular mediante la repartición de masas de hidrógeno

La mayoría de los procesos biológicos toman importancia en escalas de tiempo de microsegundos. (15) El tamaño de una simulación está definido por time steps siendo estos delimitados por la escala de tiempo de la más alta frecuencia de movimiento del sistema como son las vibraciones de enlace que implican a los átomos de hidrógeno. El incrementar el time step más allá del tiempo de estas vibraciones (1 fs) hace a la dinámica potencialmente inestable a medida que se aumenta la duración de la simulación. (15) Este límite de 1 fs es combatido a través de la implementación de restricciones como el algoritmo SHAKE para enlaces que implican hidrógenos a excepción del agua aumentando el límite a 2 fs.

El método de repartición de masas de hidrógeno (HMR) es un enfoque en dinámica molecular que alcanza time steps mayores con una estabilidad de simulación razonable. La implementación de este método permite el aumento de time step a 4 fs con poco error de discretización formal. La idea de utilizar este método es que los promedios de equilibrio termodinámico de observables no son dependientes de la distribución exacta de las masas en el sistema

$$\langle A \rangle = \frac{\int A \exp^{-\beta H} dp dx}{\int \exp^{-\beta H} dp dx} \quad (3.2)$$

Si  $A = A(x)$  y el hamiltoniano es separable en posición y momento (como el caso de las dinámicas moleculares con campos de fuerza clásicos sin términos magnéticos), las partes dependientes del momento de la integral pueden ser separadas y posteriormente canceladas.

El aumento de time step usando HMR no introduce errores significantes en simulaciones largas.

## 3.3. Energías de unión MM-PB(GB)SA

Los cálculos de energía libre han probado ser útiles en diferentes tópicos de la biología, como el diseño de fármacos y la determinación estructural de una proteína. El método que combina las energías de mecánica molecular con los modelos de Poisson-Boltzmann/Generalized Born de solvatación continua de área superficial o MM-PB(GB)SA es un enfoque robusto para estimar la energía libre de unión de ligandos pequeños a macromoléculas biológicas. Los métodos de energía libre del estado final como MM-PB(GB)SA reducen el costo computacional de métodos como perturbación de energía libre (FEP) e integración termodinámica (TI) al eliminar la necesidad de simular estados intermedios. (21)

Los cálculos de energía libre de estado final calculan la energía libre de unión en interacciones no covalentes de complejos receptor-ligando como se muestra en la siguiente ecuación:



### 3. MARCO TEÓRICO

---

$$\Delta G_{\text{unión,solvado}} = \Delta G_{\text{complejo,solvado}} - [\Delta G_{\text{receptor,solvado}} + \Delta G_{\text{ligando,solvado}}] \quad (3.3)$$

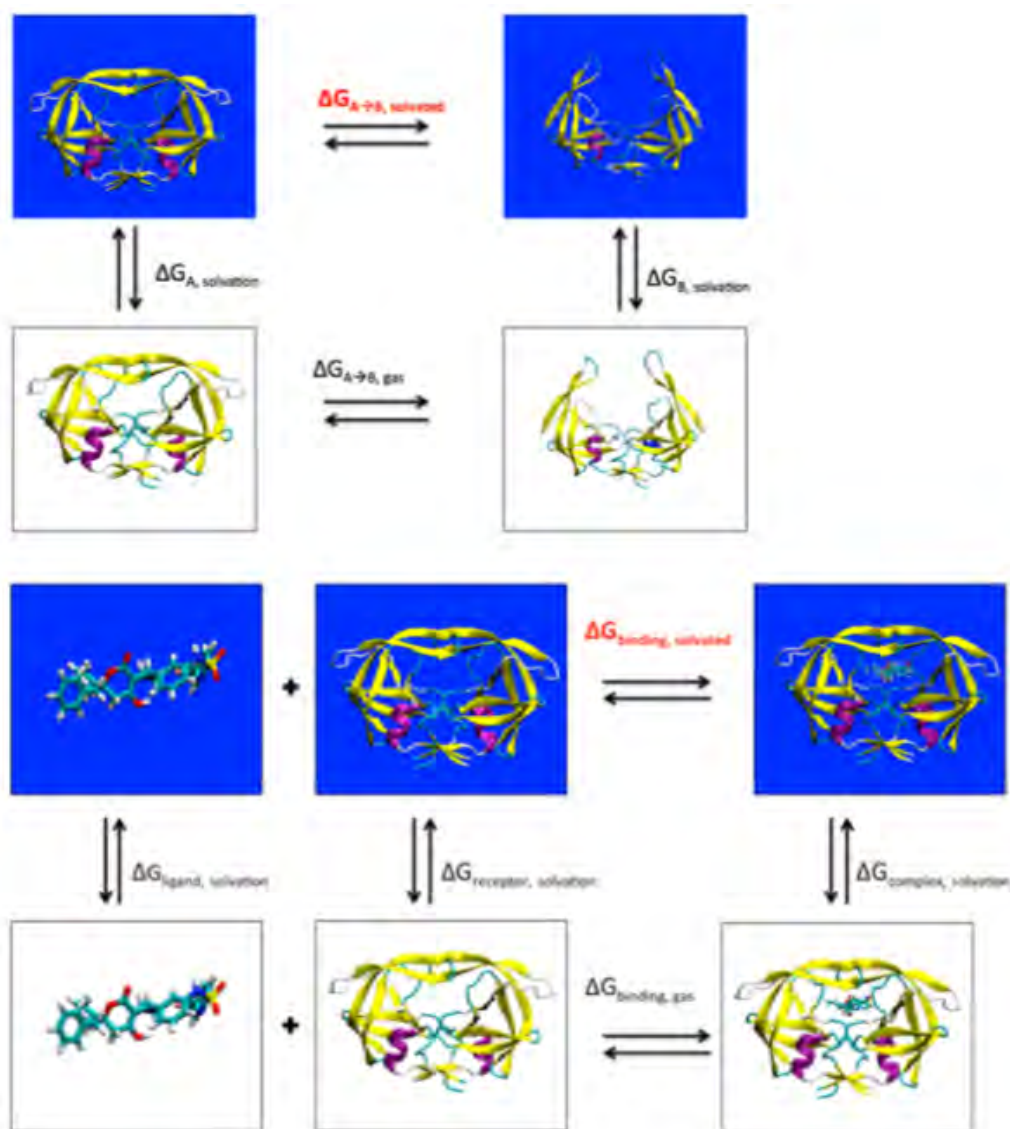
Donde la energía libre asociada a cada término es estimada mediante

$$\Delta G_{\text{solvado}} = E_{\text{gas}} + \Delta G_{\text{solvatación}} - TS_{\text{soluto}} \quad (3.4)$$

$\Delta G_{\text{solvatación}}$  de la ecuación 3.4 representa una energía libre verdadera debido a que el solvente se promedia debido al uso de un modelo de solvatación.

En MM-PB(GB)SA la energía de la fase gaseosa es aproximada a través de la energía de mecánica molecular de la molécula, determinada por un campo de fuerza que contiene términos energéticos para ángulos, enlaces y torsiones, al igual que interacciones electrostáticas y de Van der Waals. En los cálculos de energía libre de solvatación, dos contribuciones son consideradas: una polar y una no polar. Para la contribución polar el cambio en la energía libre por transferencia de una molécula cargada en estado gaseoso a líquido estimado mediante un modelo de solvente implícito. La contribución no polar de la energía libre de solvatación surge principalmente de la energía libre requerida para la formación de una cavidad para el soluto en el solvente, siendo específicamente la contribución debido al área superficial accesible del soluto en el solvente (SASA). Finalmente, la contribución entrópica del soluto es estimada usando una aproximación del oscilador armónico de rotor rígido, aplicando un análisis normal o un análisis cuasi armónico. (24)

Este cálculo de energía libre de unión puede ser simplificado aplicando un ciclo termodinámico de todos los componentes (Figura 3.4).



**Figura 3.4:** Ciclo termodinámico para la obtención de energías libres de unión implementado por el método MM-PB(GB)SA. (21)



# Metodología

---

Con base en el proceso general del diseño de fármacos descrito anteriormente en la sección 2.1, se dividió este proyecto en tres etapas principales:

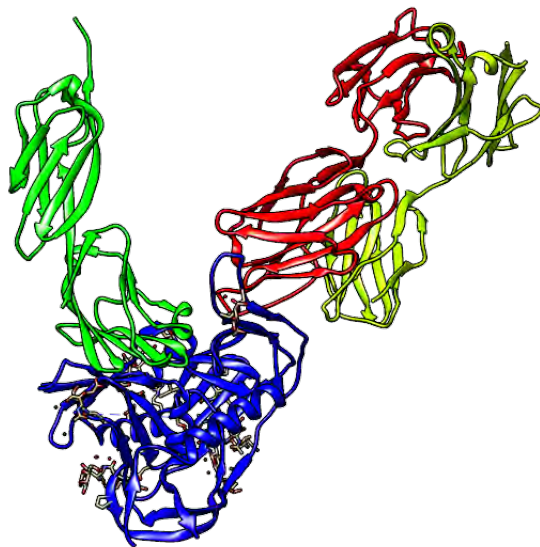
1. Selección de sistemas de estudio
2. Realización de dinámicas moleculares y energías de unión
3. Obtención de análisis

## 4.1. Selección de sistemas de estudio

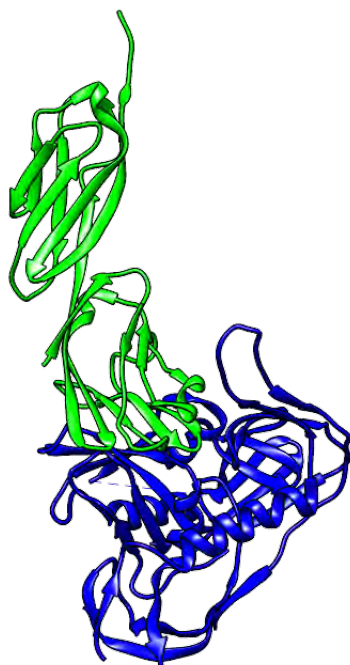
A partir del pdb 1gc1 (Figura 4.1) se realizó en UCSF Chimera 1.12 la edición de este archivo para obtener la estructura de las proteínas gp120 y CD4, eliminando al antígeno debido a que no muestra un efecto inductivo ni contribución a la interacción entre gp120 y la segunda región de CD4 y a las cadenas glicosídicas, pues estas muestran gran variabilidad en cada especie del virus, disminuyendo grandes gastos computacionales (Figura 4.2).

Se definieron cuatro sistemas. Primero un sistema de referencia (SB) de la interacción gp120-CD4 (Figura 4.2), posteriormente un sistema (S2) para la interacción de cada uno de los ligandos bajo consideración con la cavidad Phe43 con las posiciones iniciales del acoplamiento molecular mencionado en la sección 4.1 (Figura 4.3), también un sistema (S3) para la interacción gp120-CD4 con un ligando cerca del sitio de unión (Figura 4.4) y finalmente un sistema (S4) para la interacción gp120-CD4 con 5 ligandos rodeando el sitio de unión (Figura 4.5). De esta manera, se pretende estudiar las interacciones de la cavidad Phe43 desde todas las perspectivas posibles.

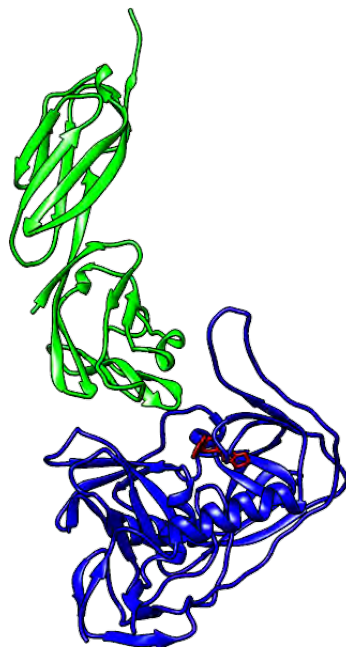
Del proyecto realizado por Castillo-Pazos(4) se eligieron los 5 mejores ligandos (Figura 4.6) respecto al algoritmo de acoplamiento molecular y scoring (Figura 3.3) y al análisis ADME realizado, buscando una adecuada actividad en el sistema nervioso central, coeficiente de partición ( $\log Q$ ), solubilidad, reacción metabólica, entre otras propiedades, siendo éstos denominados como L255 (Figura 4.7), L141 (Figura 4.8), L002 (Figura 4.9), L009 (Figura 4.10) y L022 (Figura 4.11).



**Figura 4.1:** PDB 1gc1. gp120 (azul) interactuando con CD4 (turquesa) y el antígeno 17b (rojo y amarillo). (26)



**Figura 4.2:** 1gc1 modificado. gp120 (azul) unido a CD4 (verde)



**Figura 4.3:** Sistema S2. gp120 (azul) interactuando con un ligando (rojo), CD4 (verde) cerca del sitio de unión



**Figura 4.4:** Sistema S3. gp120 (azul) unido a CD4 (verde) con un ligando (rojo) cerca del sitio de unión



**Figura 4.5:** Sistema S4. gp120 (azul) interactuando con CD4 (verde) con 5 ligandos (rojo) cerca del sitio de unión

Ligand	IFD ABS	Ranking
<b>255</b>	646.08	<b>1</b>
<b>141</b>	644.33	<b>2</b>
<b>2</b>	644.28	<b>3</b>
<b>81</b>	644.11	<b>4</b>
<b>9</b>	643.97	<b>5</b>
<b>22</b>	643.67	<b>6</b>
<b>59</b>	643.64	<b>7</b>
<b>177</b>	643.58	<b>8</b>
<b>85</b>	643.31	<b>9</b>
<b>44</b>	643.00	<b>10</b>

**Figura 4.6:** Top score de los 10 mejores ligandos con núcleo de piperazina con base en el “Induced-fit docking” (IFD). (4)

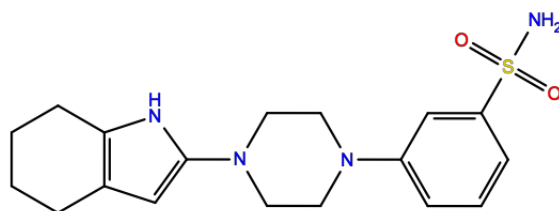


Figura 4.7: Ligando 255.(4)

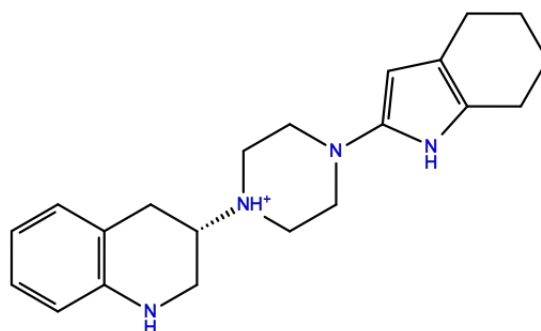


Figura 4.8: Ligando 141.(4)

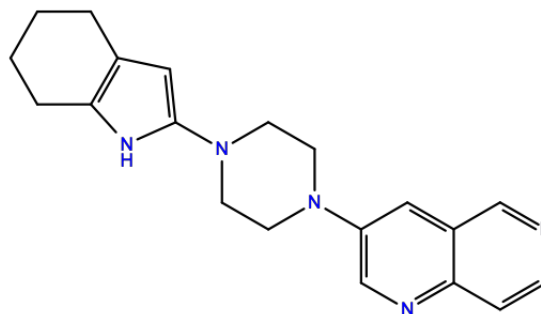


Figura 4.9: Ligando 002.(4)

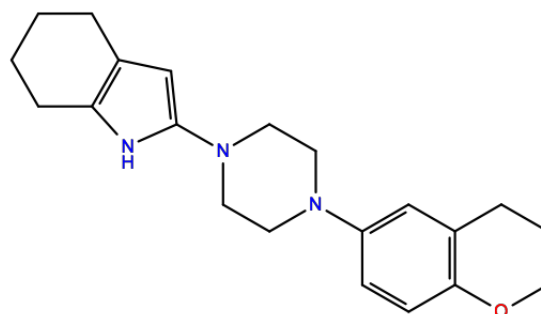
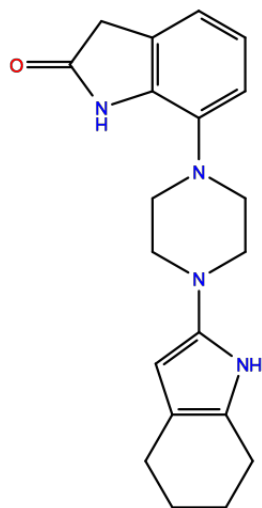


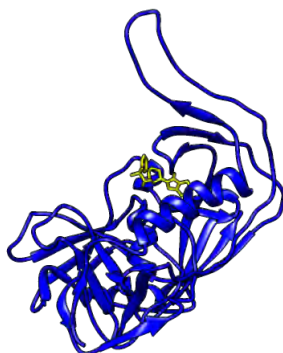
Figura 4.10: Ligando 009.(4)





**Figura 4.11:** Ligando 022.(4)

Asimismo, para los análisis MM-PB(GB)SA de energías de unión se generaron sistemas con la interacción de cada ligando con gp120, de esta manera, se obtenía un enfoque total en la cavidad Phe43 (Figura 4.12). El sistema de referencia es similar al de la figura 4.2, sin embargo, para realizar éstos cálculos se eliminó a la proteína CD4 para obtener exclusivamente la energía de unión del complejo gp120-ligando.



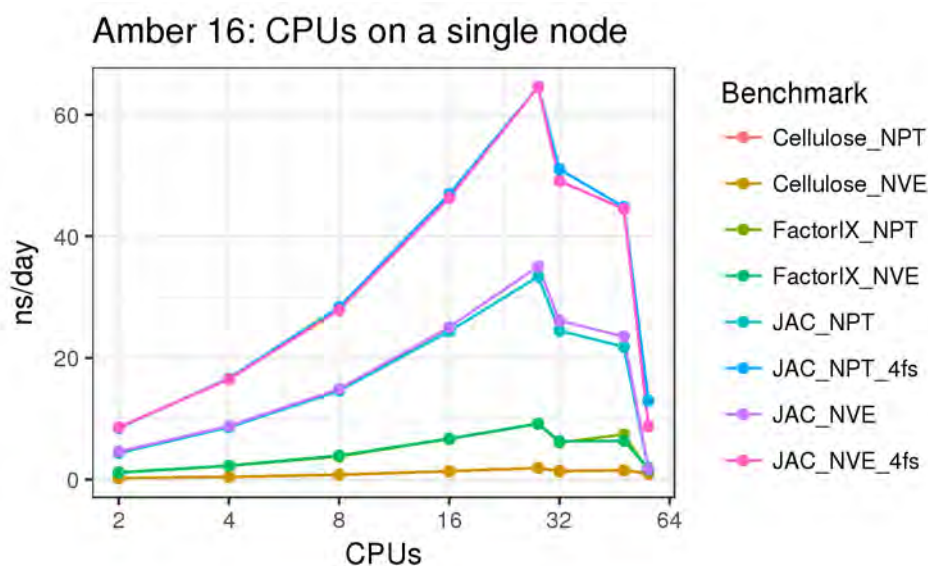
**Figura 4.12:** Sistema generado para estudiar la energía de unión entre ligandos y la cavidad Phe43

Cada uno de estos sistemas se introdujo a la rutina `tLeap` de AmberTools17 y Amber16 para su parametrización. Se añadieron los campos de fuerza `ff14SB` para proteínas y `gaff` para moléculas orgánicas y ligandos. Posteriormente, se generó una caja ortorrómbica con un volumen de  $1,965,713.61 \text{ \AA}^3$  debido a las dimensiones del sistema y evitar auto interacciones por condiciones periódicas, se añadieron 55,068 residuos de agua con el modelo de potencial intermolecular transferible de tres puntos TIP3P y

finalmente se añadieron iones y contra iones para neutralizar el sistema. Finalmente se obtuvieron 22 sistemas siendo 16 de dinámica molecular y 6 de energías de unión.

## 4.2. Realización de dinámicas moleculares

Para todos los sistemas (incluyendo los de energía de unión) se realizó una etapa de minimización, una etapa de calentamiento y dos etapas de equilibrio antes de la dinámica molecular. Cada uno de estos cálculos se realizaron en AmberTools17 y amber16 mediante el programa `pmemd` en 24 procesadores para mayor eficiencia (Figura 4.13) en procesadores Intel Xeon 2670 v1 con 64 GB de RAM e Intel 2660 v3 con 128 GB de RAM y en clústers para GPU Intel E5-2670 v1 a 2.6 GHz con 32 GB de RAM y 2 tarjetas NVIDIA Tesla M2090 de la supercomputadora “*Miztli*” de la UNAM.



**Figura 4.13:** Benchmark del performance de los CPUs en Amber16 ([ambermd.org](http://ambermd.org))

### 4.2.1. Minimización

Se realizó una etapa de minimización de 2000 pasos, siendo los primeros 1000 de minimización por “`conjugate gradient`” posteriormente por “`steepest descent`” con lectura de coordenadas pero no velocidades debido a ser un proceso de minimización y así evitar contactos erróneos durante la producción mediante la relajación del sistema.

### 4.2.2. Calentamiento

Se realizó una etapa de calentamiento de 500 ps (250,000 pasos con time step  $dt=0.002$  ps), usando el termostato de Langevin con frecuencia de colisiones de  $2.0 \text{ ps}^{-1}$  desde una temperatura inicial de 0 K a una temperatura final de 310.2 K elevando la temperatura lenta y progresivamente buscando simular la temperatura fisiológica. Esta frecuencia de colisiones se determina mediante un integrador `leapfrog` para la propagación de la dinámica con un ajuste en la energía cinética para el modelo del oscilador armónico.

### 4.2.3. Equilibrio

Se realizó una primera etapa de equilibrio de densidad NPT del sistema de 500 ps (250,000 pasos con time step  $dt=0.002$  ps) con lectura de coordenadas y velocidades, termostato de Langevin con frecuencia de colisiones de  $2.0 \text{ ps}^{-1}$ , barostato de Berendsen con un tiempo de relajación de presión ( $\tau_p$ ) de 1 ps y todos los residuos de proteínas y ligando fijos, de esta manera, se equilibra el disolvente primero.

Posteriormente, se realizó una segunda etapa de equilibrio NPT de 500 ps (250,000 pasos con time step  $dt=0.002$  ps) con lectura de coordenadas y velocidades, termostato de Langevin con frecuencia de colisiones de  $2.0 \text{ ps}^{-1}$ , barostato de Berendsen con un tiempo de relajación de presión ( $\tau_p$ ) de 1 ps sin moléculas fijas para el equilibrio de todo el sistema.

### 4.2.4. Producción

Se realizó una corrida de producción de  $0.5 \mu\text{s}$  con repartición de masas de hidrógeno ( $dt=0.004$ ) en un ensamble isotérmico-isobárico (NPT) para cada sistema con lectura de coordenadas y velocidades, termostato de Langevin con frecuencia de colisiones de  $2.0 \text{ ps}^{-1}$  y barostato de Berendsen con un tiempo de relajación de presión ( $\tau_p$ ) de 2.0 ps.

### 4.2.5. MM-PB(GB)SA

Para la obtención de energías de unión se realizaron dinámicas moleculares de 50 ns (25,000 pasos con time step  $dt=0.002$  ps) en ensamble isotérmico isobárico con termostato de Langevin con frecuencia de colisiones de  $2.0 \text{ ps}^{-1}$  y barostato de Berendsen con un tiempo de relajación de presión ( $\tau_p$ ) de 2.0 ps.

## 4.3. Análisis de las dinámicas moleculares

A través de `mdout analyzer`, un programa de la paquetería de amber16, se obtuvieron gráficas de energía y temperatura entre otros parámetros para verificar que las

simulaciones corrieran adecuadamente.

Mediante el programa `ccptraj` de la paquetería de `amber16`, se obtuvieron análisis de desviaciones (RMSD), perturbaciones (RMSF), dRMSD y energías de interacción (LIE) de cada sistema respecto a el ligando específico. Posteriormente, el tratamiento y graficación de estos resultados se realizó en Plot2 ([apps.micw.org/apps/plot2](http://apps.micw.org/apps/plot2)), un programa de licencia libre.

Para las dinámicas moleculares de energías de unión, se realizaron análisis a través del programa `MMPBSA.py` de la paquetería de `amber16` utilizando topologías de cada proteína y ligando tanto solvatada como aislada y la trayectoria de cada simulación.

#### 4.3.1. Mapas de potencial electrostático

Finalmente, se realizaron optimizaciones de los cinco ligandos en Gaussian 09 con el funcional `m062x` y la base `6-31+g(d,p)`, posteriormente, se generó un potencial electrostático con densidad total SCF de 0.001 y se obtuvo el mapa con ESP, de esta manera, el código de color de los mapas permite conocer las distribuciones electrónicas alrededor de la superficie molecular ayudando a entender la bioactividad de los ligandos dentro de la cavidad.



# Resultados y Discusión

---

Se realizaron 22 dinámicas moleculares de  $0.5 \mu\text{s}$  en ensamblajes isotérmico-isobáricos (NPT) para conocer el comportamiento de cada sistema descrito en la sección 4.1 con la interacción entre gp120-CD4 como referencia (denominado como sistema SB).

## 5.1. Dinámicas moleculares

### 5.1.1. Sistema de referencia SB

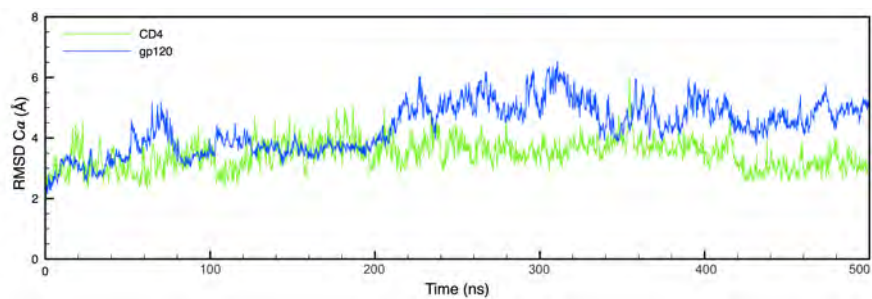
Se asignó el sistema de la interacción entre la glicoproteína 120 y CD4 como referencia o blanco (Figura 4.3).

El RMSD, que permite apreciar las desviaciones promedio del sistema respecto a la posición inicial, (Figura 5.1) muestra una baja desviación de ambos sistemas, siendo  $3.5 \text{ \AA}$  la desviación promedio de CD4 manteniéndose constante con un pico en 338 ns por una torsión infrecuente de Val97, mientras que las desviaciones de gp120 promedio son de  $3.8 \text{ \AA}$  hasta 230 ns, cambiando a  $4.4 \text{ \AA}$  debido a la gran movilidad del loop V1/V2 y la región  $\beta 2$ .

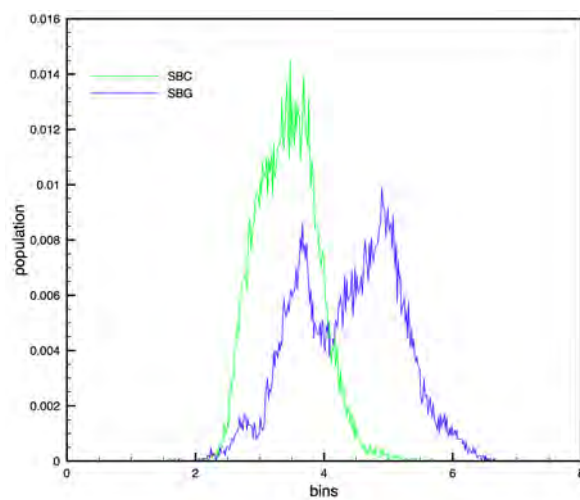
El RMSF, que permite apreciar las fluctuaciones de cada residuo debido a sus interacciones, (Figura 5.3) muestra bajas fluctuaciones en la cavidad de interacción (sombreada en gris) debido a la interacción que mantiene con Phe43 de CD4, asimismo, se muestra un pico de fluctuación alto ( $13 \text{ \AA}$ ) debido de igual manera a la gran movilidad del loop V1/V2 y la región  $\beta 2$ . Se editó un RMSF (Figura A.1) con la estructura secundaria de gp120 para un mayor entendimiento de los resultados.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

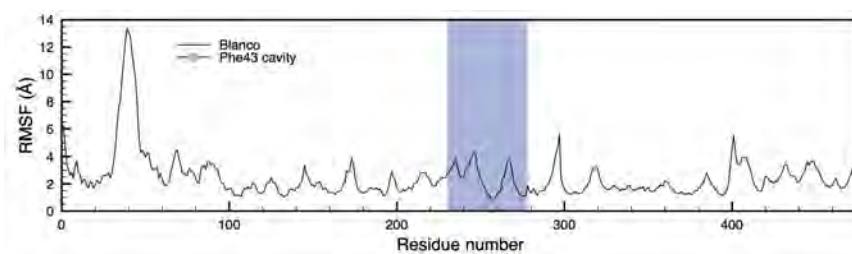
---



**Figura 5.1:** RMSD del sistema de referencia (Figura 4.2)



**Figura 5.2:** histograma del RMSD



**Figura 5.3:** RMSF del sistema de referencia

### 5.1.2. Ligando L255

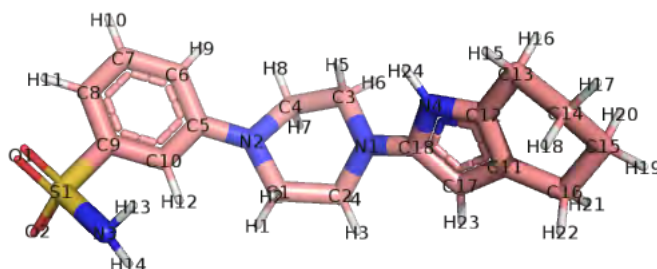


Figura 5.4: Ligando L255

#### 5.1.2.1. Sistema S2 (figura 4.3)

El RMSD del sistema S2 (figura 5.5) muestra variaciones de gp120 mayores a las que presenta el sistema de referencia ( $1 \text{ \AA}$ ) debido al movimiento del loop V1/V2, la región  $\beta 2$  y a los cambios conformacionales de 255 por la rotación del enlace C5-N2 (Figura 5.4) provocando gran movilidad de la bencilsulfonamida, sin embargo, a 320 ns esta rotación cesa dando lugar a una mayor estabilidad mostrada en el RMSD. Al no estar interactuando CD4 con la glicoproteína 120, se aprecian desviaciones ligeramente menores a la de la referencia ( $3 \text{ \AA}$ , apreciables en la (Figura 5.6) causadas por el movimiento normal de la proteína.

El RMSF muestra a mayor detalle la similitud de interacciones gp120-L255 gp120 CD4, siendo menores las fluctuaciones de Val255, Ser256 y Thr257 con el ligando debido a una mejor interacción con el 4,5,6,7-tetrahidroindol. La zona entre  $\beta 4$  y  $\beta 5$  de gp120 muestra un aumento de fluctuaciones de  $7 \text{ \AA}$  debido a la interacción con la gran densidad electrónica de la sulfonamida. Ser104 sufre un cambio conformacional permitiendo una mayor interacción con Leu114 disminuyendo las fluctuaciones que presentan esa zona (Figura 5.7)

Las interacciones electrostáticas de L255 respecto a la cavidad (Figura 5.8) son menores de 0 a 320 ns debido a la densidad electrónica de la sulfonamida, sin embargo,



## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

a 380 ns hay un decremento de energía debido al acomodo del ligando dando la mejor conformación posible, mientras que las interacciones de vdW son mayores a las del sistema de referencia, esto debido a un puente de hidrógeno formado por Asn424 y H24 del 4,5,6,7-tetrahidroindol y a un apilamiento  $\pi - \pi$  de Trp427 con el mismo tetrahidroindol.

El dRMSD del ligando (Figura 5.9) muestra una variación de 1 Å, mostrando que durante toda la dinámica, el ligando se mantuvo dentro de la cavidad.

Una inspección general del sistema muestra interacciones similares del ligando 255 con la glicoproteína 120 a las de Phe43 del sistema de referencia CD4-gp120, con menores energías de vdW debido a mayores interacciones por puentes de hidrógeno y apilamientos  $\pi - \pi$  del tetrahidroindol, siendo este un grupo que mimetiza adecuadamente a Phe43, no obstante, el grupo bencilsulfonamida muestra bastantes movimientos conformacionales que no permiten que las interacciones electrostáticas con la cavidad se mantengan durante la dinámica.

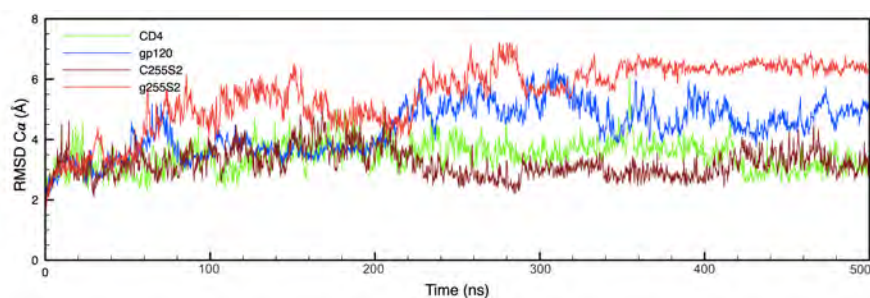


Figura 5.5: RMSD del sistema S2 (Figura 4.3)

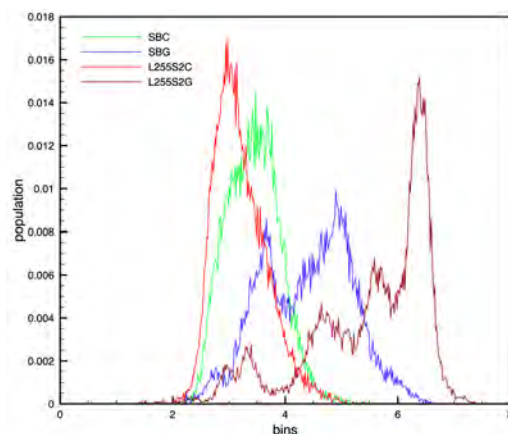


Figura 5.6: histograma del RMSD

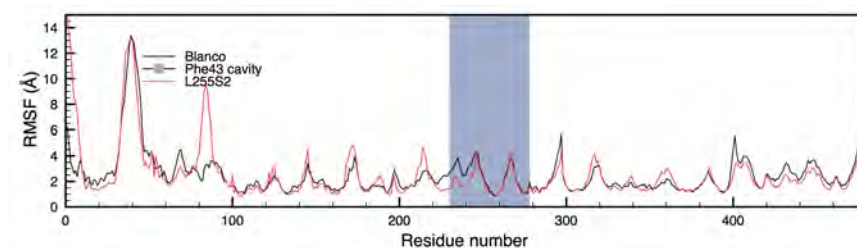


Figura 5.7: RMSF del sistema S2

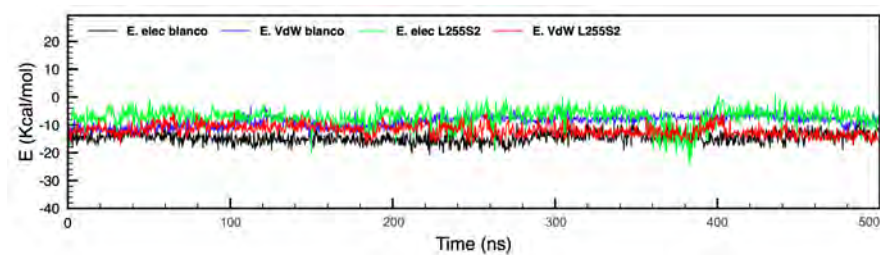


Figura 5.8: Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema

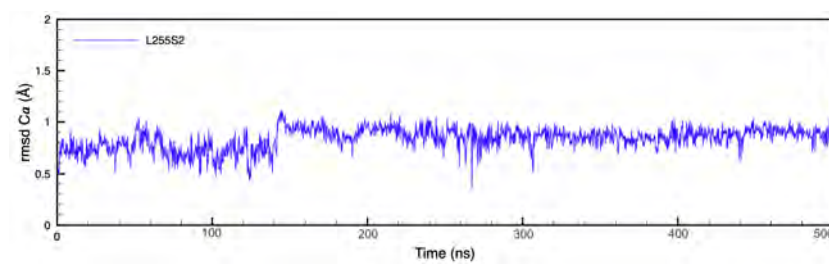


Figura 5.9: dRMSD del ligando

### 5.1.2.2. Sistema S3 (Figura 4.4)

El RMSD de este sistema (Figura 5.10) muestra un aumento de desviaciones  $1 \text{ \AA}$  de 0 a 200 ns, posteriormente estas desviaciones aumentan  $1.5 \text{ \AA}$  (Figura 5.11) debido a las interacciones que tiene el ligando con la glicoproteína. De manera contraria, CD4 muestra grandes ( $8 \text{ \AA}$ ) desviaciones de 0 a 200 ns y posteriormente un decremento para mantenerse entre  $5$  y  $6 \text{ \AA}$  (Figura 5.11).

El RMSF (Figura 5.12) muestra menores fluctuaciones en los residuos 90-190 debido a las interacciones que tiene L255 con una pequeña cavidad formada por  $\beta 1, \beta 4, \beta 5, \beta 7$  y  $\beta 25$  (Figura 5.12), también muestra interacciones con el loop variable V1/V2,  $\beta 2$  y la hélice  $\alpha 1$ . Algunos residuos de la cavidad Phe43 como Glu370 e Ile371, muestran una disminución de fluctuaciones debido a la cercanía de la hélice  $\alpha 5$  con los sitios de interacción mencionados anteriormente.  $\beta 7$  y  $\beta 8$  de CD4 muestran una disminución de fluctuaciones ( $0.5-1 \text{ \AA}$ ) debido a la interacción de L255 con ambas láminas beta (residuos 400 a 500 en la Figura 5.12)

Las interacciones electrostáticas y de vdW respecto a la cavidad Phe43 se hacen presentes de 200 a 300 ns (Figura 5.13), sin embargo, estas son energías pequeñas debido a que en esta parte de la dinámica molecular es donde L255 interactúa con el loop variable V1/V2,  $\beta 2$ , la hélice  $\alpha 1$  y la pequeña cavidad mencionada anteriormente las cuales son bastante cercanas a la cavidad Phe43.

El dRMSD (Figura 5.14) muestra variaciones máximas de  $2 \text{ \AA}$  debido a los movimientos de rotación y torsión por las diferentes conformaciones que tiene el ligando (C5-N2 y N1-C18 las torsiones principales) mostrando interacciones de hasta 10 ns con diferentes sitios de ambas proteínas.

La inspección general del sistema muestra que el ligando empieza la dinámica interactuando con varios sitios de CD4 alejados a Phe43 hasta los 200 ns, donde se encuentra con la glicoproteína 120, no obstante, muestra una mayor interacción con el sitio de unión más grande ubicado entre el loop variable V1/V2,  $\beta 2$  y la hélice  $\alpha 1$ , sin llegar a entrar a la cavidad Phe43.

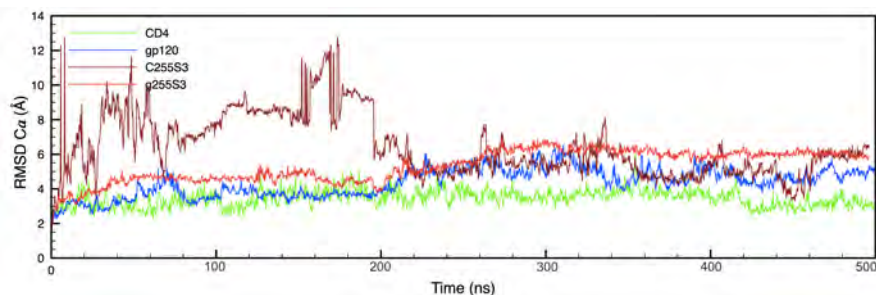


Figura 5.10: RMSD del sistema S3 (Figura 4.4)

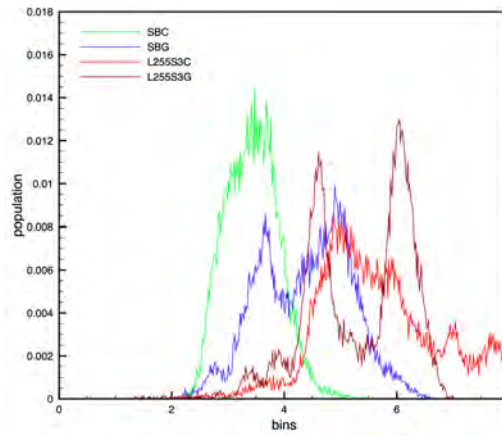


Figura 5.11: histograma del RMSD

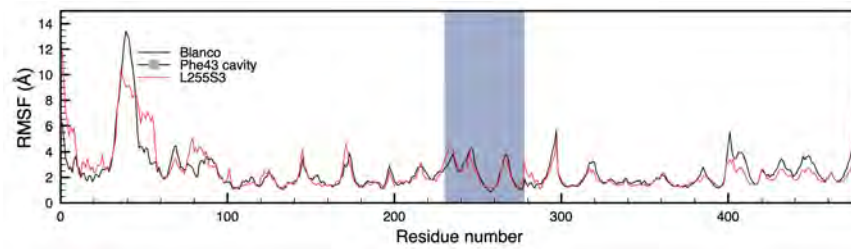


Figura 5.12: RMSF del sistema S3

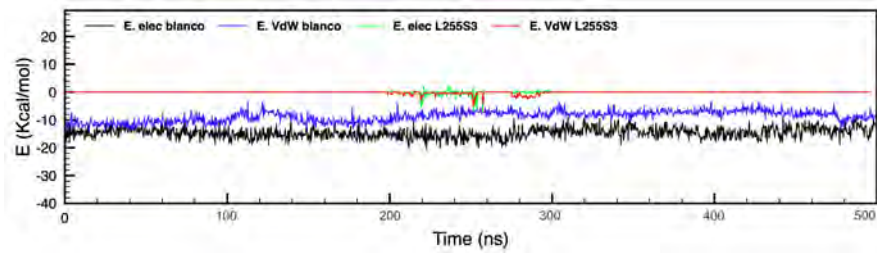


Figura 5.13: Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema

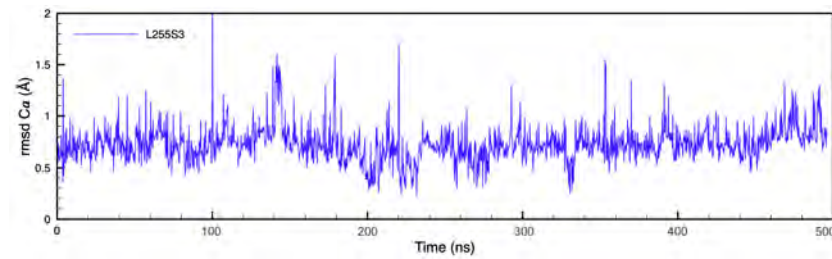


Figura 5.14: dRMSD del ligando

### 5.1.2.3. Sistema S4 (Figura 4.5)

El RMSD (Figura 5.15) muestra un aumento de 2 Å de la glicoproteína 120 (Figura 5.16) a partir de los 100 ns y posteriormente a 200 ns presenta otro aumento de 2 Å donde se mantiene oscilando 1 Å. Las desviaciones que presenta CD4 se mantienen variando hasta 2 Å sin presentarse constante en ningún momento de la dinámica.

El RMSF (Figura 5.17) muestra fluctuaciones similares a la referencia en los residuos de CD4 exceptuando los residuos 99-119 pertenecientes a  $\beta 8$  y  $\beta 9$  siendo estas ligeramente menores debido a interacciones cortas con L255, Phe43 presenta un aumento de fluctuación de 0.5 Å (residuo 340 en la Figura 5.17). En los residuos de gp120,  $\beta 7$  y  $\beta 8$  muestran una disminución de fluctuaciones debido a la interacción de L255 mientras que dentro de la cavidad Phe43, los residuos presentan aumento de fluctuaciones de 0.5 Å. También se aprecia un aumento de fluctuaciones en el loop variable V1/V2 y en la cavidad formada por las láminas  $\beta 1$ ,  $\beta 4$ ,  $\beta 5$ ,  $\beta 7$  y  $\beta 25$  mencionada anteriormente, también se aprecian disminuciones de fluctuaciones en una cavidad formada por la hélice  $\alpha 4$  y las láminas  $\beta 18$  y  $\beta 19$ .

Las interacciones electrostáticas son débiles de 0 a 200 ns (Figura 5.18), aumentando después de ese tiempo ligeramente con tiempos donde la energía de interacción electrostáticas son similares a las del sistema de referencia, indicando pocas interacciones del ligando con algunos residuos de la cavidad debido a la cercanía que tienen con los residuos que interactúan.

La inspección general del sistema muestra la afinidad del ligando por la glicoproteína 120, interactuando con cavidades exteriores de esta proteína, siendo la formada por la hélice  $\alpha 4$  y las láminas  $\beta 18$  y  $\beta 19$  una de las más concurridas. Esta presenta características de modulación del tipo de sistemas R, mostrándose como un posible sitio alostérico pues como se muestra en la Figura 5.17 aumenta la variabilidad de sitios como el loop V1/V2 y las interacciones de Phe43 dentro de la cavidad disminuyen 0.5 Å.

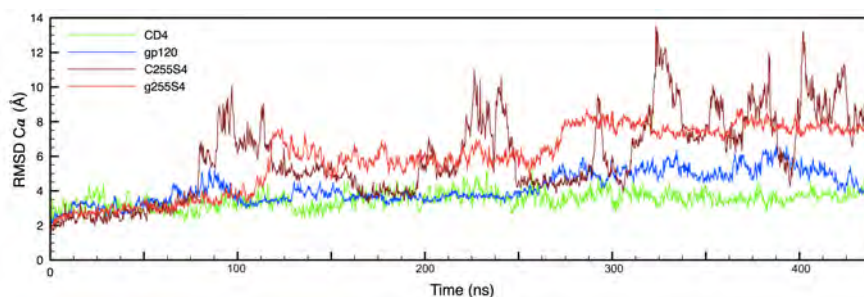


Figura 5.15: RMSD del sistema S4 (Figura 4.5)

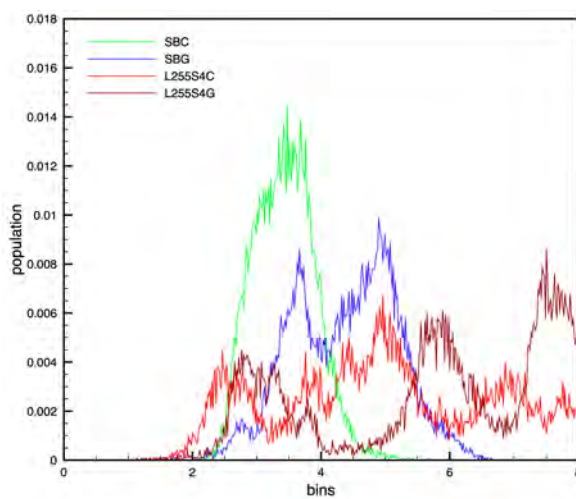


Figura 5.16: histograma del RMSD

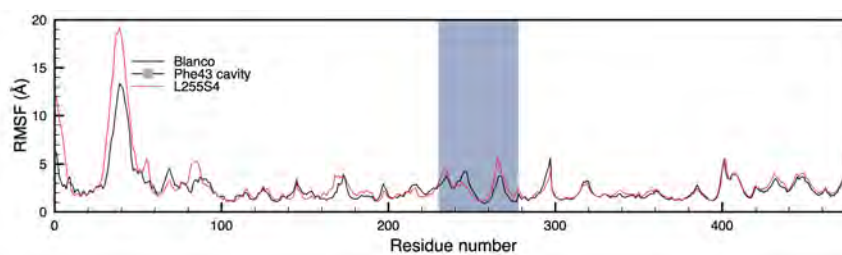


Figura 5.17: RMSF del sistema S4

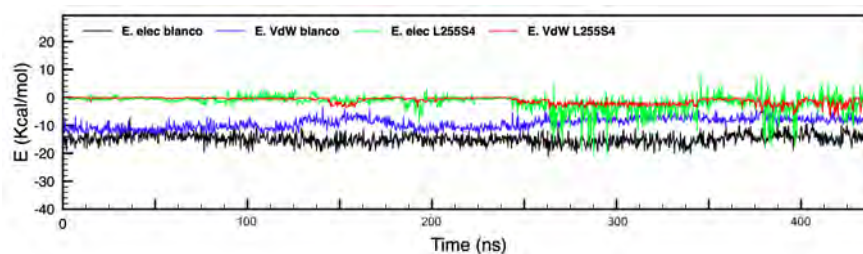


Figura 5.18: Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema



## 5.1.3. Ligando L141

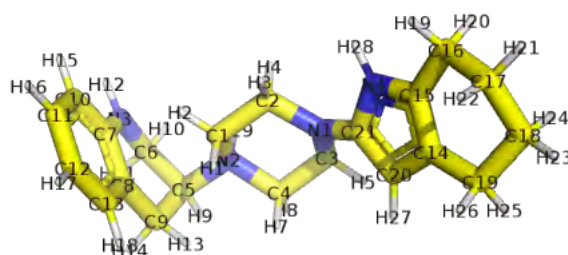


Figura 5.19: Ligando L141

## 5.1.3.1. Sistema S2 (Figura 4.3)

El RMSD del sistema (Figura 5.20) muestra un aumento de movilidad de 1 Å de la glicoproteína 120 de 0 a 200 ns respecto a la referencia (Figura 5.21), sin embargo, este se mantiene constante en 4 Å (Figura 4.4), presentando menor movilidad a la referencia con Phe43 interactuando con el sitio activo. Esta baja movilidad es debida a la gran interacción del tetrahidroindol, que al igual que L255 muestra un puente de hidrógeno (H28) con Asn425 y un apilamiento  $\pi - \pi$  con Trp427 (Figura 5.19), además de esto, se genera un puente salino por un puente de hidrógeno y un enlace iónico de N2 con Asp368. CD4 se mantiene variando 0.5 Å hasta 270 ns, posteriormente el RMSD aumenta hasta 20 Å y a 380 ns aumenta nuevamente hasta 40 Å. Esto es debido a una completa separación de CD4, distanciándose hasta el límite de la celda del sistema.

El RMSF (Figura 5.22) no muestra cambio de fluctuaciones por parte de CD4 debido al distanciamiento de gp120, los residuos 230-243 de la glicoproteína 120 muestran un ligero aumento de fluctuaciones debido a la densidad electrónica y al tamaño de la 1,2,3,4-tetrahidroquinolina, mientras que los residuos de la cavidad muestran fluctuaciones similares a las de la referencia, siendo las interacciones de L141 menores dentro del sitio activo. La región variable V1/V2 muestra grandes fluctuaciones durante la dinámica.

Las interacciones electrostáticas (Figura 5.23) aumentan considerablemente debido a la carga positiva que tiene N2 en la amina de la tetrahydroquinolina con Asp368, siendo esta interacción bastante fuerte. Las energías de interacción de vdW disminuyen ligeramente (0.5 kcal/mol) debido a las interacciones del tetrahydroindol con Asn425 y Trp427 mencionadas anteriormente.

El dRMSD (Figura 5.24) muestra variaciones de 1.5 armstrong, generadas por la torsión de N2-C5 dando mayor movimiento al grupo tetrahydroquinolina debido a su tamaño, estas desviaciones no son tan grandes, mostrando que el ligando L141 se mantiene dentro de la cavidad Phe43 durante toda la dinámica.

La inspección general del sistema muestra que el ligando L141 al tener el mismo grupo tetrahydroindol que 255 presenta buenas interacciones con la cavidad Phe43, el puente salino generado por N2 de la piperazina aumenta las interacciones electrostáticas del ligando. A pesar de esto, el gran tamaño de la tetrahydroquinolina y la movilidad que presenta el enlace C5-N2 dificulta la estabilidad de las interacciones, disminuyendo la fuerza de interacción con los residuos de la cavidad.

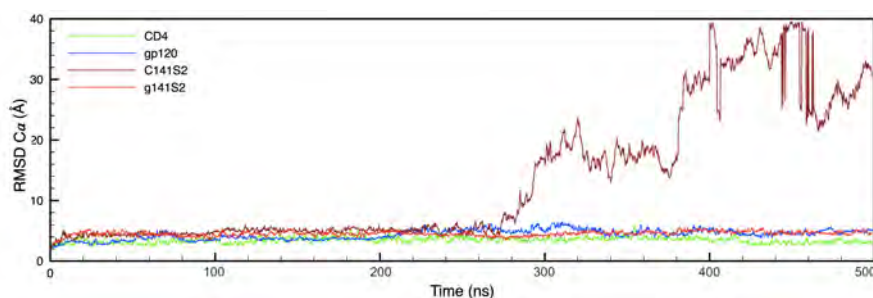


Figura 5.20: RMSD del sistema S2 (Figura 4.3)

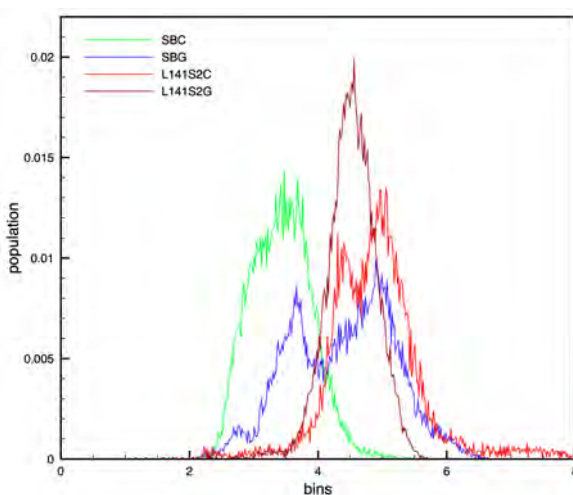
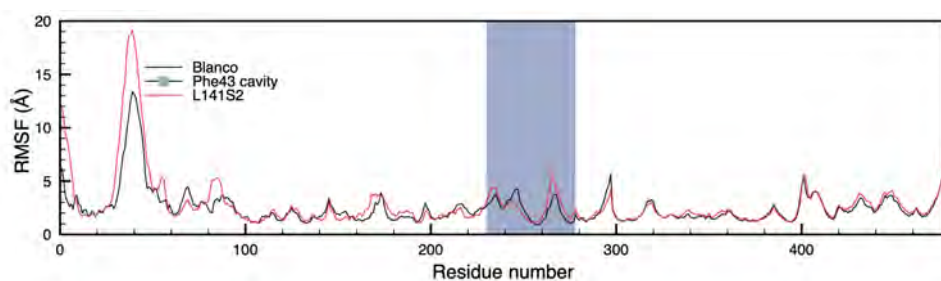


Figura 5.21: histograma del RMSD

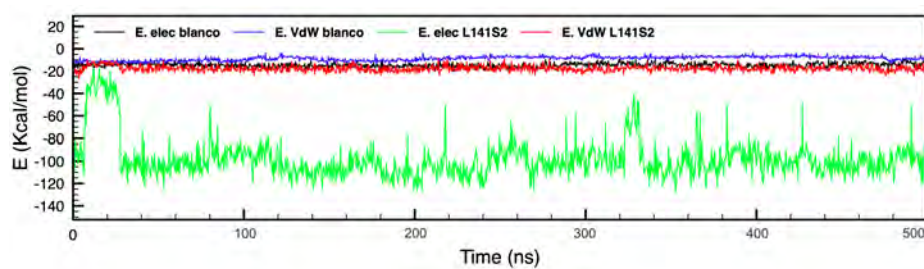


## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

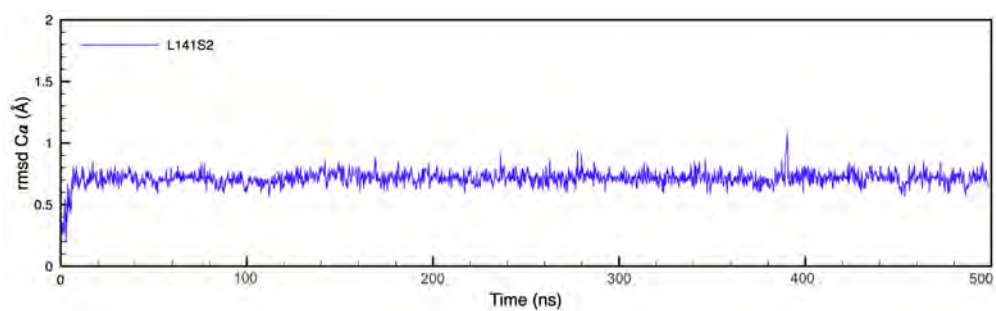
---



**Figura 5.22:** RMSF del sistema S2



**Figura 5.23:** Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema



**Figura 5.24:** dRMSD del ligando

### 5.1.3.2. Sistema S3 (Figura 4.4)

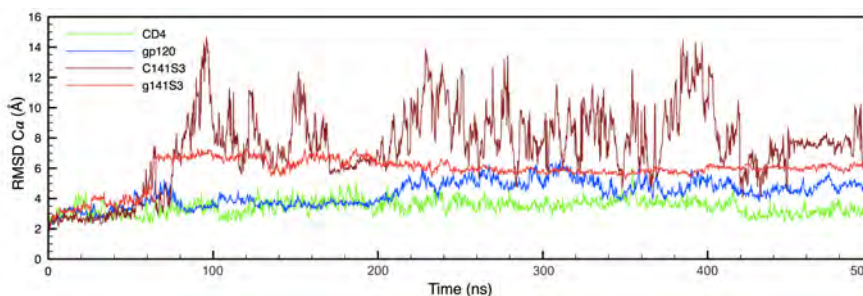
El RMSD de este sistema (Figura 5.25) muestra a CD4 de 0 a 60 ns con la movilidad normal de la proteína similar a la referencia, posterior a esto mantiene una media de 6 Å con oscilaciones de hasta 8 Å (Figura 5.26) esto debido a la interacción de L141 con el dominio C2 de CD4 ( $\beta 8$  a  $\beta 13$ ), durando 10 ns aproximadamente. Para gp120 q 60 ns hay un cambio de 3.5 Å a 7.5 Å manteniéndose oscilando 0.5 Å durante la dinámica (Figuras 5.25 y 5.26). Este aumento de movilidad respecto a la referencia es debido al efecto de CD4 sobre gp120 (al tener un aumento de movilidad se ve afectada la zona donde estas dos interactúan).

El RMSF muestra disminución de fluctuaciones en CD4 de 0.5 Å debido a las interacciones que tiene L141 con esta proteína durante la dinámica (Figura 5.27). La cavidad Phe43 de gp120 se mantiene sin cambios apreciables. La región variable F, la región V1/V2,  $\beta 5 - \beta 12$  y la hélice  $\alpha 2$  muestran una disminución de fluctuaciones debido a una interacción de L141 al inicio de la dinámica, las región variable V3 y V5 tienen un aumento de fluctuaciones consecuencia de la interacción del ligando con la zona interior proximal mencionada anteriormente y con la zona exterior distal.

Las interacciones de vdW son nulas dentro de la cavidad Phe43 debido a que L141 no entra en contacto en ningún momento con esta zona (Figura 5.28), mientras que de 0 a 60 ns, se aprecian pequeñas interacciones electrostáticas debido a un efecto inductivo del nitrógeno N2 con carga positiva de la amina al interactuar con la glicoproteína 120.

El dRMSD (Figura 5.29) muestra variaciones de 2 Å debido al movimiento que tiene L141 al interactuar con distintas zonas del dominio C2 de CD4, disminuyendo estas desviaciones a 1 Å en 440 ns debido a solo movimientos conformacionales, pues en esta parte de la dinámica mantiene las interacciones con la zona exterior distal de gp120 (región variable F).

La inspección general del sistema muestra que en un principio, el ligando L141 interactúa con una cavidad formada por la región variable V1/V2 y las láminas  $\beta 5 - \beta 12$  en la zona interior proximal hasta 60 ns, moviéndose hacia el dominio C2 de CD4, donde se mantiene interactuando con distintas zonas de este dominio. En los últimos 60 ns, L141 interactúa nuevamente con gp120, pero esta vez entre la zona variable F y la hélice  $\alpha 2$  de la región exterior distal.



**Figura 5.25:** RMSD del sistema S3 (Figura 4.4)

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

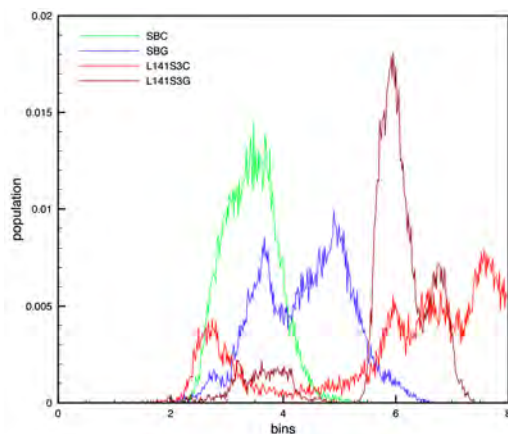


Figura 5.26: histograma del RMSD

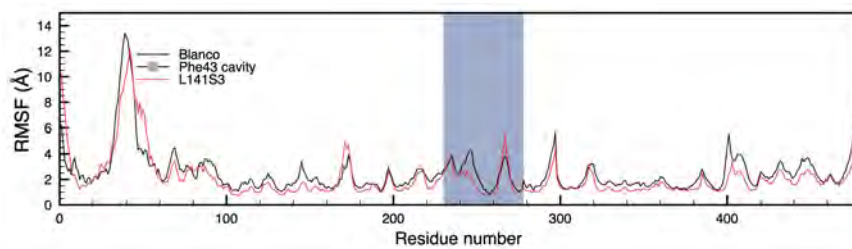


Figura 5.27: RMSF del sistema S3

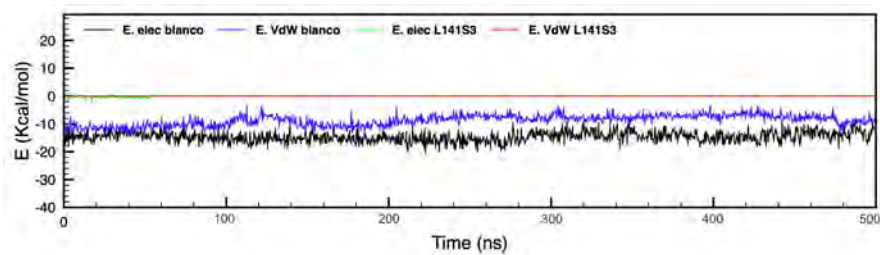


Figura 5.28: Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema

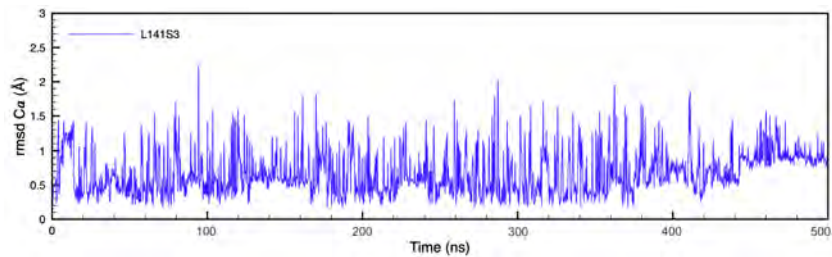


Figura 5.29: dRMSD del ligando

### 5.1.3.3. Sistema S4 (Figura 4.5)

El RMSD (Figura 5.30) de CD4 muestra variaciones de 1.5 Å de 0 a 60 ns, variaciones de 6 Å de 60 a 100 ns, variaciones de 0.5 Å de 100 a 170 ns con un pico de 14 Å en 160 ns y de 160 a 500 ns muestra nuevamente variaciones de 6 Å manteniendo irregularidades durante el resto de la dinámica. Esta diferencia de mínimo 2 Å respecto a la referencia es debido a que aparece nuevamente la torsión infrecuente de Val97, propiciando una interacción de la lámina  $\beta 3$  con la región variable V1/V2, el ligando L141 interactúa con el dominio C2 de CD4 breves momentos de la dinámica, pues al ser 5 ligandos, se mantienen estas variaciones grandes en el RMSD sin llegar a una convergencia (en la figura 5.31 se pueden apreciar estas variaciones). Por otro lado, gp120 se mantiene constante en 4 Ås (Figuras 5.30 y 5.31) siendo menor a la referencia, debido a las restricciones de movimiento que tiene causadas por las constantes interacciones de los ligandos L141 durante la dinámica y a la interacción de su región más variable con CD4 como se menciona anteriormente.

El RMSF (Figura 5.32) muestra una disminución de fluctuaciones respecto a la referencia de  $\beta 8$  y  $\beta 9$  del dominio C2 de CD4 debido a la breve interacción de L141 con esta zona, también se aprecia una pequeña disminución de fluctuaciones en la lámina  $\beta 3$ . Algunos residuos de la cavidad Phe43 muestran una disminución de fluctuaciones. La región variable V1/V2 muestra una disminución de 6 Å respecto a la referencia debido a su interacción con CD4, la zona entre la región variable V1/V2 y las láminas  $\beta 5 - \beta 12$  y  $\beta 15 - \beta 16$  de la zona exterior distal también muestra una disminución de fluctuaciones de 0.5 Å respecto a la referencia debido a las interacciones que tiene con los ligandos L141.

De 300 a 320 ns se aprecian pequeñas interacciones de vdW menores a 1 kcal/mol, de 300 a 500 ns se aprecian interacciones electrostáticas del mismo valor debido a N2 de la amina del ligando (Figura 5.33).

La inspección general del sistema muestra que la torsión infrecuente de Val97 de CD4 propicia la interacción de  $\beta 3$  con la región variable V1/V2 disminuyendo su movilidad. Debido a la carga positiva del ligando L141, este muestra efectos inductivos pequeños sobre la cavidad Phe43 y otras zonas de gp120. Este ligando muestra afinidad por la zona entre la región variable V1/V2 y las láminas  $\beta 5 - \beta 12$  y  $\beta 15 - \beta 16$  de la zona exterior distal debido al tamaño de esta cavidad, pues el grupo tetrahydroquinona y los movimientos conformacionales que tiene, no permiten su entrada a la cavidad Phe43 o a la cavidad R (posible sitio alostérico mencionado en el apartado 5.1.2.3).

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

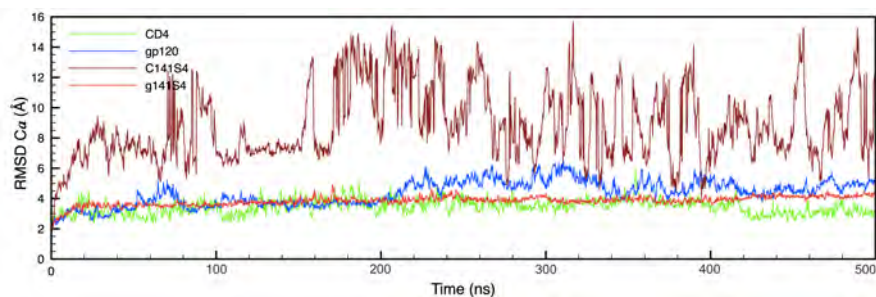


Figura 5.30: RMSD del sistema 4 (Figura 4.5)

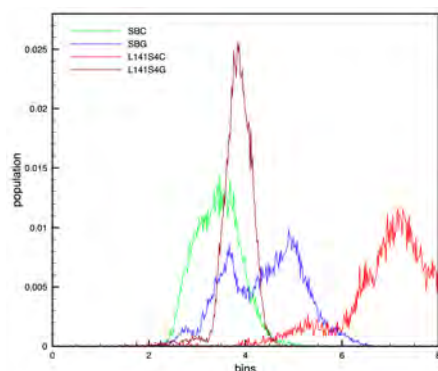


Figura 5.31: histograma del RMSD

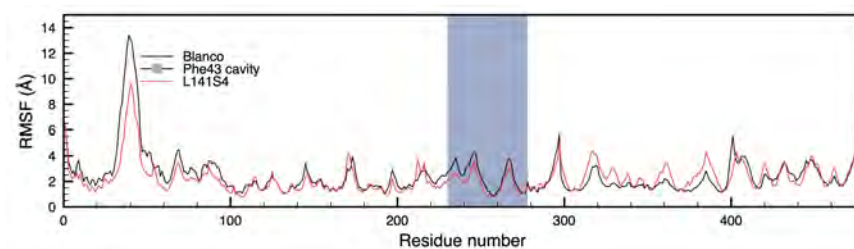


Figura 5.32: RMSF del sistema 2

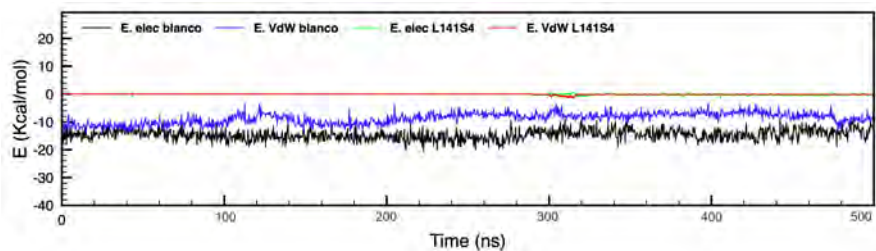


Figura 5.33: Interacciones electrostáticas y de Van der Waals del sistema

#### 5.1.4. Ligando L002

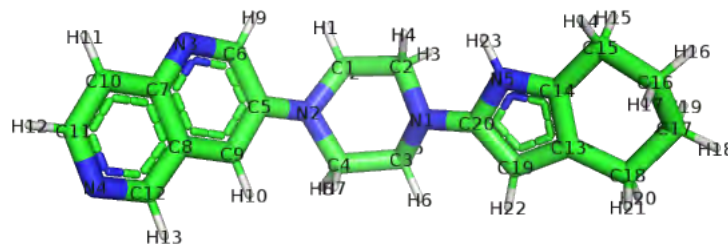


Figura 5.34: Ligando L002

##### 5.1.4.1. Sistema S2 (Figura 4.3)

El RMSD del sistema (Figura 5.35) muestra desviaciones de CD4 similares al sistema de referencia con variaciones máximas de  $0.5 \text{ \AA}$  (Figura 5.36) respecto a este, esto es debido a que Phe43 se ve impedido estéricamente por el ligando L002. Las desviaciones de gp120 a 80 ns aumentan  $2 \text{ \AA}$  hasta 260 ns donde estas desviaciones decrecen nuevamente a  $3.5 \text{ \AA}$ . A 300 ns aumentan nuevamente a  $4.5 \text{ \AA}$  (Figura 5.36) manteniéndose durante el resto de la dinámica. La disminución de desviaciones de 80 a 300 ns es debido a una interacción del loop variable V1/V2 con alguna región de CD4 o el ligando L002.

El RMSF de CD4 (Figura 5.37) muestra la zona cercana a Phe43 con el aumento de fluctuaciones esperadas debido a que no está interaccionando con gp120 en este sistema.  $\beta 8$  muestra una disminución de fluctuaciones debido a interacciones intramoleculares con  $\beta 12$ . Del lado de gp120, la cavidad Phe43 muestra una disminución de fluctuaciones de  $0.5 \text{ \AA}$  por la interacción de Asn425 con H23 del tetrahidroindol el ligando L002. Las regiones variables V3 y V4 tiene un aumento de fluctuaciones aumentando su movilidad.  $\beta 6$  y la región entre  $\beta 4$  y  $\beta 5$  muestran una disminución de fluctuaciones debido a su interacción. El loop variable V1/V2 muestra una disminución de fluctuaciones de  $1.5 \text{ \AA}$  debido a su interacción con el 1,6-diazanafthaleno del ligando L002.

Las interacciones electrostáticas del sistema (Figura 5.38) se mantienen similares a



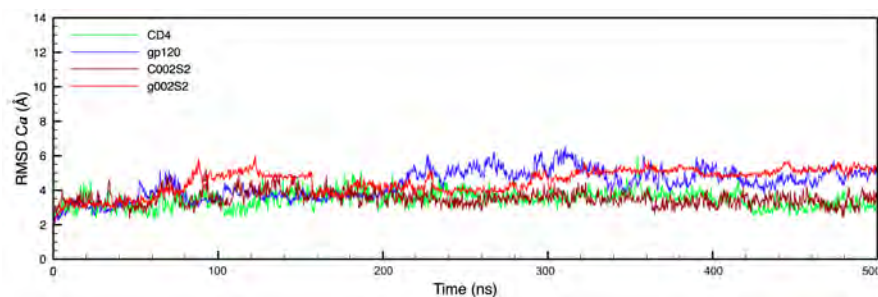
## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

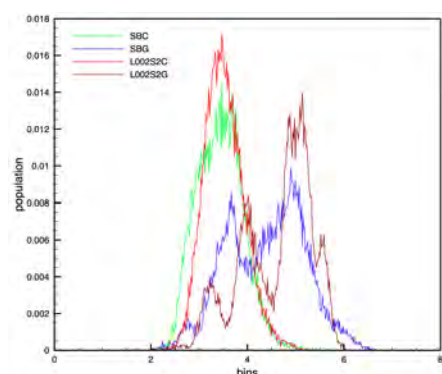
las de la referencia, manteniéndose constantes a partir de 240 ns. Las interacciones de vdW son mayores respecto a la referencia debido al puente de hidrógeno con la amina de la tetrahydroquinona de L002 mencionada anteriormente.

El dRMSD (Figura 5.39) muestra desviaciones de 3 Å del ligando con variaciones de 0.5 Å hasta 60 ns, donde aumentan las desviaciones hasta 5 ns con variaciones de 1 Å hasta 60 ns debido a los movimientos conformacionales del grupo 1,6-diazanaftaleno. Posteriormente, estas variaciones disminuyen a 0.5 Å debido a la interacción del mismo grupo con el loop variable V1/V2 de gp120.

La inspección general del sistema muestra que el ligando L002 mantiene el puente de hidrógeno visto en ligandos anteriores por el grupo tetrahydroindol, sin embargo, este grupo pierde las interacciones del apilamiento  $\pi - \pi$  debido al tamaño y ubicación espacial del grupo 1,6-diazanaftaleno, el cual interactúa con el loop V1/V2 de gp120 a partir de 140 ns durante toda la dinámica.



**Figura 5.35:** RMSD del sistema S2 (Figura 4.3)



**Figura 5.36:** histograma del RMSD

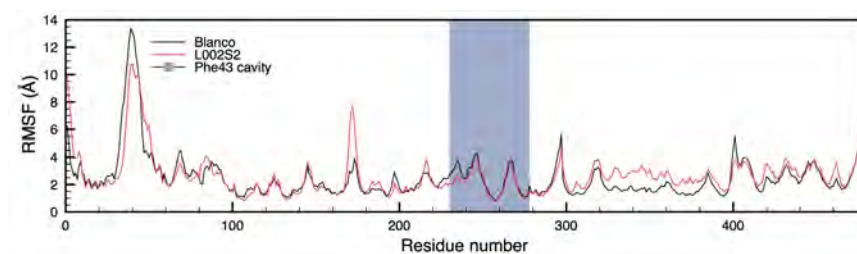


Figura 5.37: RMSF del sistema S2

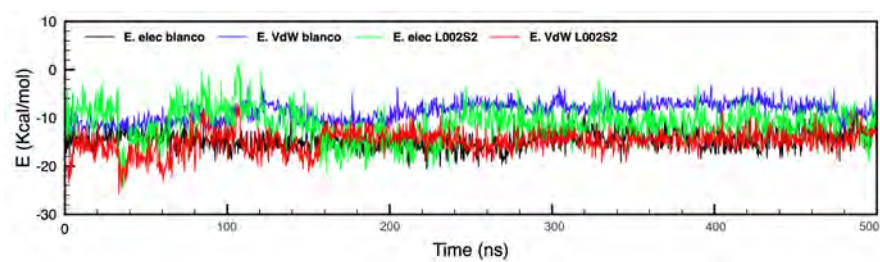


Figura 5.38: Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema

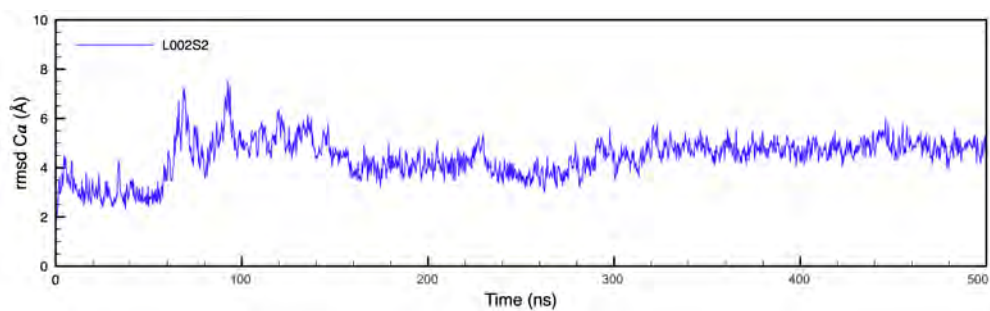


Figura 5.39: dRMSD del ligando



### 5.1.4.2. Sistema S3 (Figura 4.4)

El RMSD de CD4 (Figura 5.40) muestra desviaciones de 5 Å manteniéndose con variabilidades máximas de 0.5 Å y una diferencia de 2 Å respecto a la referencia (Figura 5.41) debido a la torsión infrecuente de Val97, que modifica estructuralmente a la región C2 de CD4 impidiendo los contactos entre  $\beta 18$  y  $\beta 20$ . Las desviaciones de la glicoproteína 120 de hasta 12 Å de 0 a 100 ns, son debido a la interacción de L002 con cavidades expuestas de gp120 modificandola estructuralmente al permitir una mayor variabilidad de zonas como la región V4. Posterior a este tiempo, se mantiene 0.5 Å más variable que la referencia hasta 220 ns, donde se mantiene con una media de 6 Å similar al movimiento de gp120 interactuando con CD4 al dejar de interactuar con el ligando.

El RMSF (Figura 5.42) de CD4 muestra una disminución de fluctuaciones de 0.5 Å debido a interacciones en los primeros momentos de la dinámica del ligando con el dominio C2, Phe43 se mantiene con las mismas fluctuaciones. Para gp120 la zona cercana a CD4 de la cavidad Phe43 tiene una disminución de fluctuaciones. La zona entre la región variable V1/V2 y  $\beta 21$  muestra disminución de fluctuaciones debido a la interacción con L002 aumentando la variabilidad de V4, mientras que la región variable C y la zona entre  $\beta 4$  y  $\beta 5$  muestra gran un aumento de fluctuaciones como se menciona anteriormente.

Las interacciones de vdW al igual que las electrostáticas no se hacen presentes en la cavidad Phe43 (Figura 5.43) debido a que el ligando no entra a esta cavidad durante la dinámica.

El dRMSD (Figura 5.44) muestra una media de 4 Å con variaciones de hasta 1 Å debido al movimiento que tiene el ligando por la caja de simulación y las conformaciones causadas por la rotación de C5-N2 y C20-N1 durante la simulación.

Como inspección general del sistema, el ligando 002 interacciona con cavidades expuestas de gp120, lo que permite una mayor movilidad de zonas variables cercanas, estas cavidades de interacción tienen que ser grandes debido al tamaño del grupo 1,6-diazanaftaleno, mismo grupo que condiciona la entrada del ligando a la cavidad Phe43 o la cavidad R.

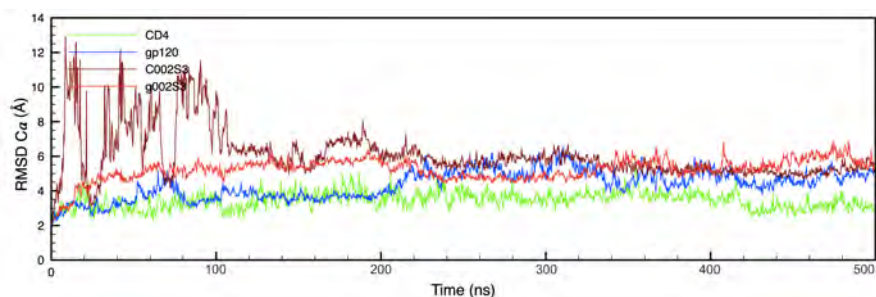


Figura 5.40: RMSD del sistema S3 (Figura 4.4)

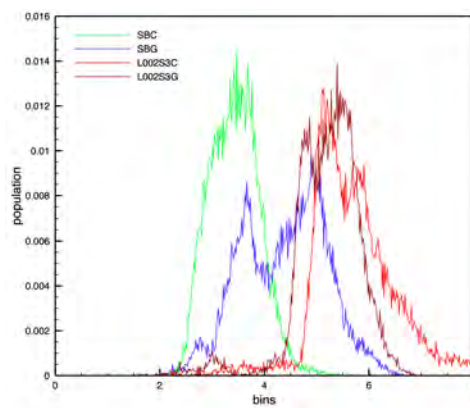


Figura 5.41: histograma del RMSD

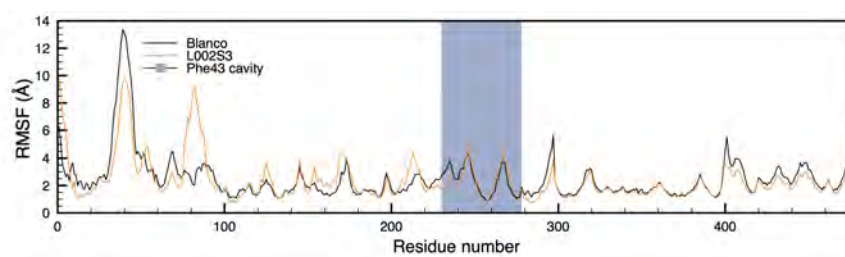


Figura 5.42: RMSF del sistema S3

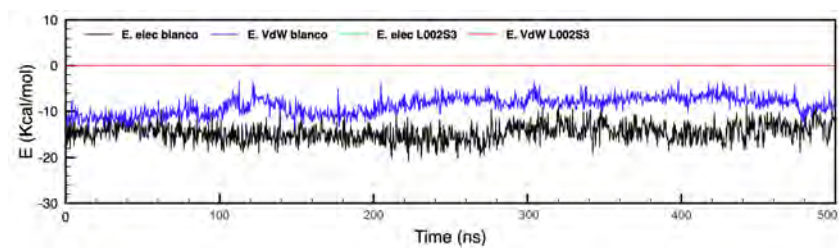


Figura 5.43: Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema

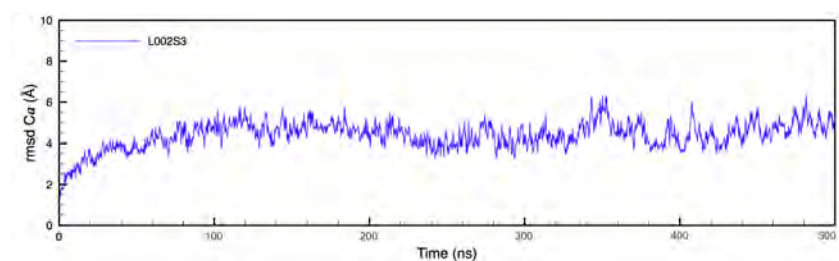


Figura 5.44: dRMSD del ligando

### 5.1.4.3. Sistema S4 (Figura 4.5)

El RMSD de este sistema (figura 5.45) muestra de 20 a 180 ns desviaciones de 4 ns para CD4 (figura 5.46), posteriormente muestra grandes variaciones con tiempos estables de 280 a 305 ns, 320 a 340 ns y 440 a 450 ns. Estas desviaciones de hasta 16 Å son debido a la interacción de los ligandos con la región entre  $\beta 8$  y  $\beta 9$  y con la cavidad formada entre  $\beta 5$  de CD4 y  $\beta 23$  y  $\beta 24$  de gp120, generando cambios estructurales debido a la pérdida de interacciones intraprotéicas en CD4 permitiéndoles mayor movilidad. En gp120 las desviaciones se mantienen en 4 Å similares a las de la referencia con una menor variación, debido a la interacción de los ligandos con varias zonas distales y proximales de la glicoproteína.

El RMSF de este sistema muestra una disminución de 0.5 Å en el dominio C2 de CD4 (Figura 5.47) debido a la breve interacción de los ligandos en este dominio, en el dominio V también se muestra una disminución de fluctuaciones debido a la interacción de los ligandos con  $\beta 5$  mencionada anteriormente. Los residuos de la cavidad también muestran una pequeña variación de fluctuaciones. La cavidad R de gp120, la zona entre la región variable V1/V2 y  $\beta 21$  y la zona entre la región variable V1/V2 y las láminas  $\beta 5 - \beta 12$  y  $\beta 15 - \beta 16$  de la región exterior distal también muestran disminución de fluctuaciones debido a la interacción con los ligandos L002.

Las interacciones electrostáticas (Figura 5.48) muestran repulsión del ligando L002 dentro de la cavidad Phe43 a 40 a 110 ns, atracción de 110 a 160 ns y nuevamente repulsión de 260 a 310 ns y de 370 a 500 ns, debido a un efecto inductivo del 1,6-diazonaftaleno del ligando con la cavidad formada entre  $\beta 5$  de CD4 y  $\beta 23$  y  $\beta 24$  de gp120 y su cercanía con la cavidad Phe43. Las interacciones de vdW se aprecian de 40 a 80 ns, de 100 a 170 ns, de 260 a 300 ns y de 370 a 500 ns debido a la gran afinidad del grupo tetrahidroindol con la cavidad y la cercanía que presenta al interactuar con la cavidad entre CD4 y gp120 mencionada anteriormente.

Como inspección general, los ligandos interactúan con ambas proteínas y debido a su tamaño, generan cambios estructurales en CD4 deformando esta proteína. Así mismo, la interacción con la zona entre gp120 y CD4 y la entrada del ligando a esta zona, genera un acercamiento a la cavidad Phe43 donde se aprecia la afinidad del grupo tetrahidroindol por los residuos Asn425 y Trp427 de la cavidad.

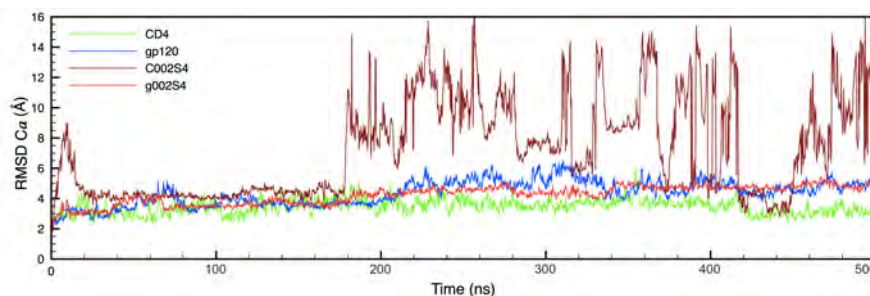


Figura 5.45: RMSD del sistema S4 (Figura 4.5)

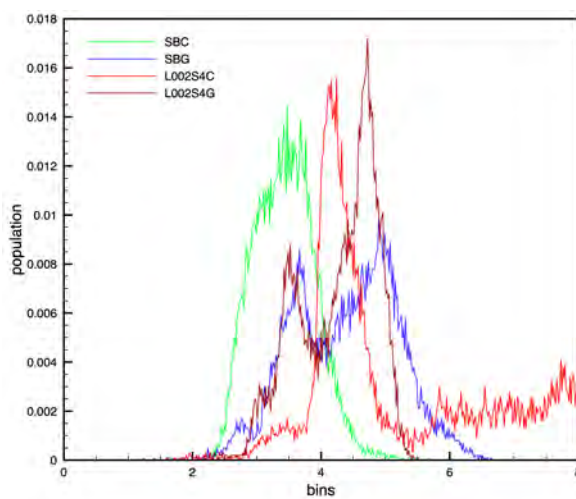


Figura 5.46: histograma del RMSD

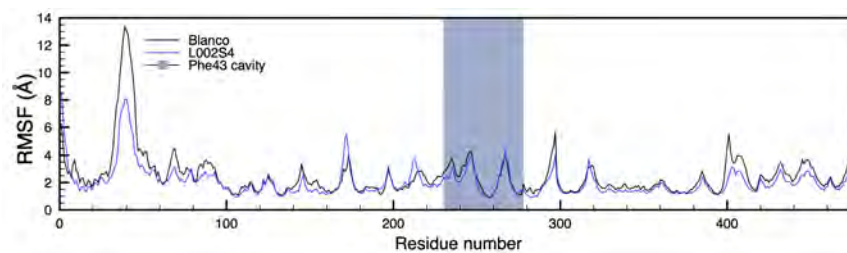


Figura 5.47: RMSF del sistema S2

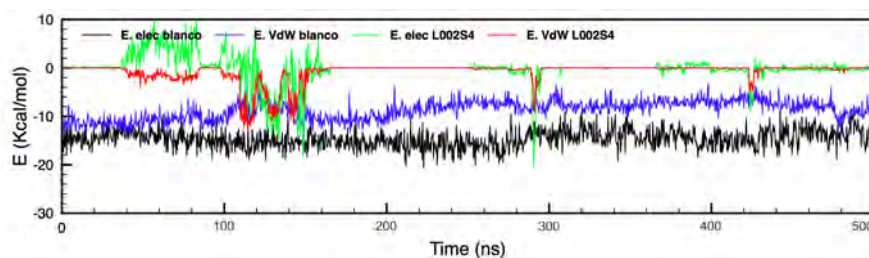
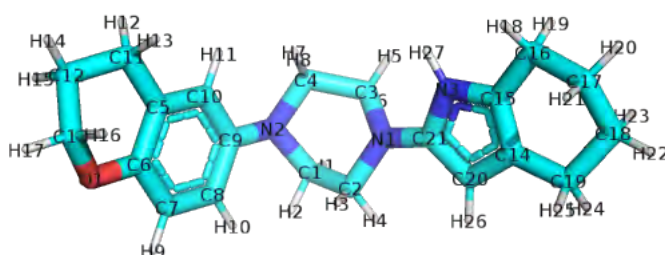


Figura 5.48: Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema

### 5.1.5. Ligando 009



**Figura 5.49:** Ligando L009

#### 5.1.5.1. Sistema 2 (Figura 4.3)

El RMSD de este sistema (Figura 5.50) muestra un aumento de desviaciones de 40 a 120 ns, de 140 a 220 ns y de 320 a 400 ns de CD4 respecto a la referencia debido a el impedimento estérico formado por el ligando L009. De 220 a 320 ns CD4 muestra desviaciones de 5 Å (figura 5.41) similares a la referencia debido a una posible interacción de Phe43 con el ligando. Para gp120, las desviaciones se mantienen en aumento desde el inicio de la dinámica (2 Å) hasta el final de la dinámica (10 Å) debido a las conformaciones del grupo dihidrobenzopirano, pues al estar C12 y C13 fuera de la cavidad, permiten una mayor movilidad de la región variable V1/V2 aumentando considerablemente las desviaciones de gp120, como se muestra en las Figuras 5.50 y 5.51.

El RMSF muestra un aumento fluctuacional de gp120 y CD4 debido al ligando L009 (Figura 5.52). Este ligando debido a su tamaño y a O1 del grupo dihidrobenzopirano provoca cambios estructurales en ambas proteínas disminuyendo los contactos entre L009 y la cavidad, aumentando la movilidad de distintas zonas variables como el loop V1/V2.

Las interacciones electrostáticas muestran una disminución de hasta 10 kcal/mol respecto a la referencia con una gran variabilidad, volviéndose nulas en varios momentos

de la dinámica (Figura 5.53), mientras que las interacciones de vdW también muestran una disminución de energía, siendo sólo similares a la referencia de 220 a 280 ns y de 370 a 410 ns, debido a los movimientos conformacionales de C9-N2 y C21-N1 como se menciona anteriormente.

El dRMSD (Figura 5.54) muestra un aumento de desviaciones debido a las conformaciones del ligando hasta 400 ns, donde disminuye a 10 Å manteniéndose constante.

La inspección general del sistema muestra como el grupo dihidrobenzopirano afecta estructuralmente a ambas proteínas debido a O1 y al tamaño de este grupo, provocando una intermitencia y disminución de interacciones y un aumento de movilidad de las zonas variables de ambas proteínas.

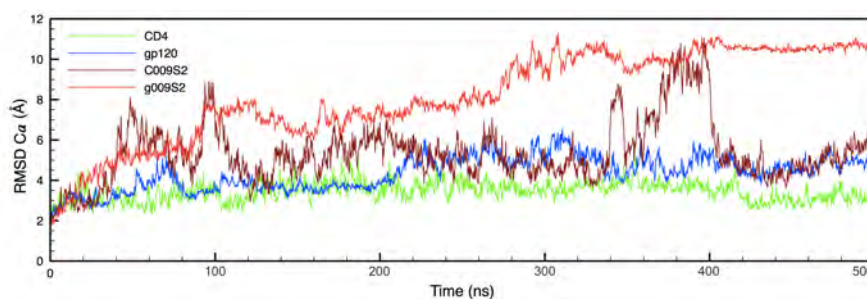


Figura 5.50: RMSD del sistema S2 (Figura 4.3)

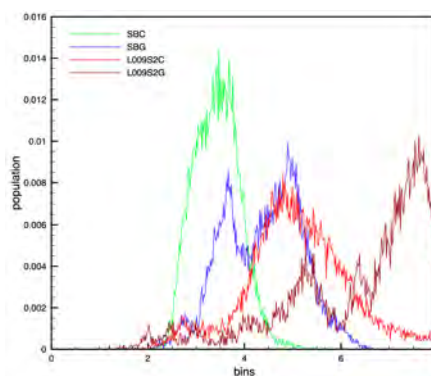
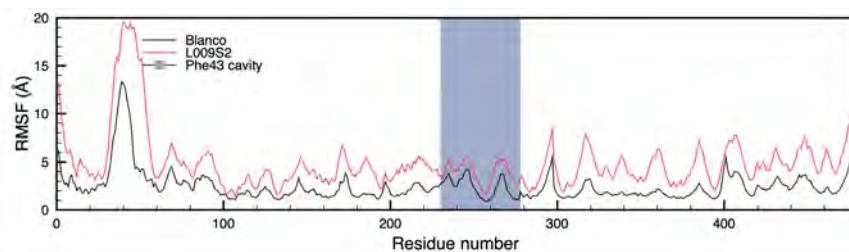


Figura 5.51: histograma del RMSD

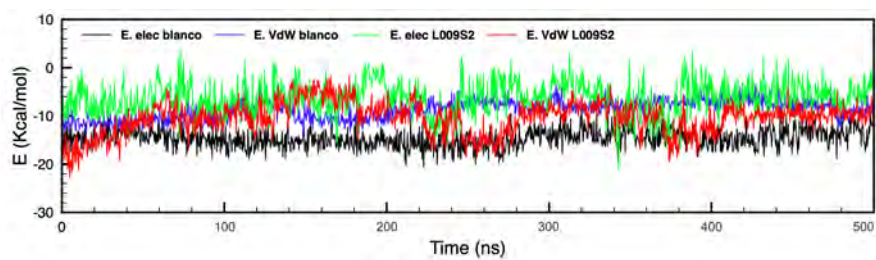


## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

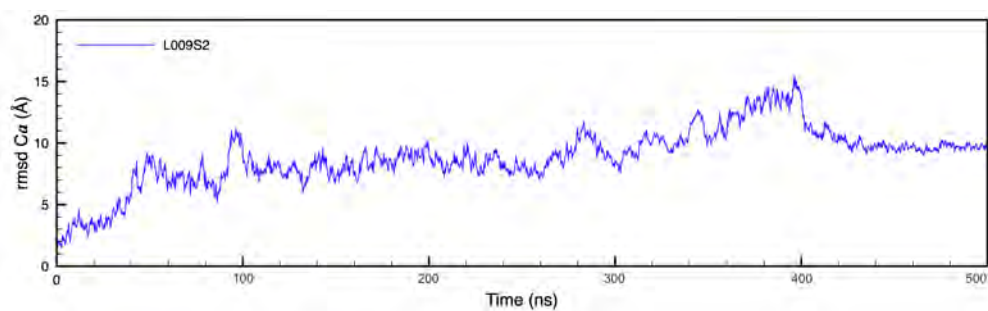
---



**Figura 5.52:** RMSF del sistema S2



**Figura 5.53:** Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema



**Figura 5.54:** dRMSD del ligando

### 5.1.5.2. Sistema S3 (Figura 4.4)

El RMSD de CD4 (Figura 5.55) muestra un aumento de desviaciones respecto a la referencia con una media de 8 Å y variaciones de 2 Å (Figura 5.56) hasta 280 ns donde decrece a 4 Å al igual que la referencia, a 410 ns aumenta nuevamente con una media de 8 Å y variaciones de 2 Å. Para gp120 a partir de 80 ns hay un aumento de desviaciones hasta una media de 6.5 Å manteniendo variaciones de 0.5 Å.

El RMSF (Figura 5.57) muestra una disminución fluctuacional de 0.5 Å en la región C2 de CD4 causada por la interacción del ligando con  $\beta 8$  y  $\beta 9$ . Las regiones variables V3, V5 y la zona entre  $\beta 4$  y  $\beta 5$  muestran un aumento de fluctuaciones por la interacción del ligando con zonas cercanas aumentando su movilidad. El loop variable V1/V2 muestra una disminución de fluctuaciones de 1 armstrong debido a su interacción con el grupo dihidrobenzopirano de L009.

Las interacciones electrostáticas y de vdW (Figura 5.58) se aprecian al inicio de la dinámica hasta 30 ns y de 237 a 280 ns, sin embargo son muy pequeñas debido a que el ligando no tiene interacción con la cavidad Phe43.

El dRMSD (Figura 5.59) muestra una variación desviacional del ligando de 2 a 6 Å debido al movimiento que tiene dentro de la caja y los movimientos conformacionales que presenta.

Una inspección general del sistema muestra que el ligando no tiene interacción con la cavidad Phe43 de gp120 debido a su gran tamaño y movilidad, los cuales al interactuar con zonas externas de la glicoproteína o de CD4 generan cambios estructurales visibles.

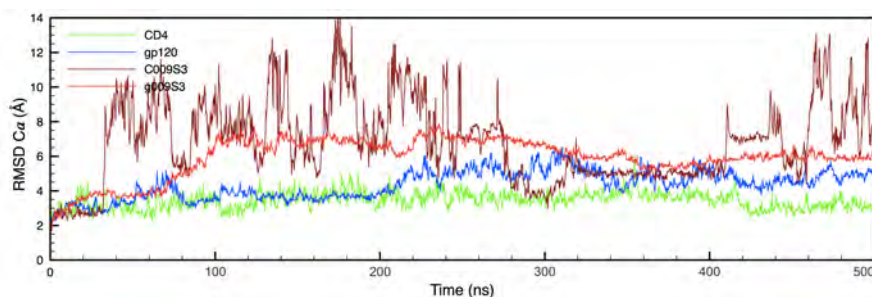


Figura 5.55: RMSD del sistema S3 (Figura 4.4)

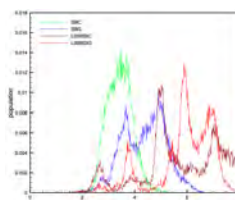


Figura 5.56: histograma del RMSD



## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

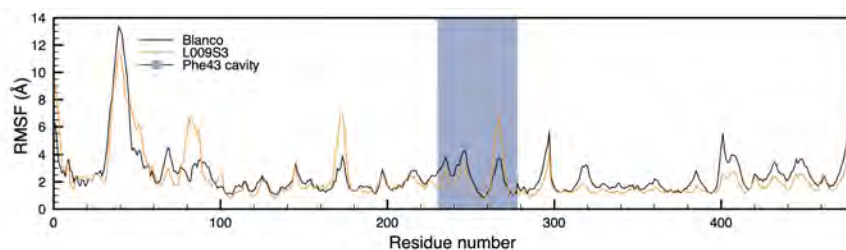


Figura 5.57: RMSF del sistema S3

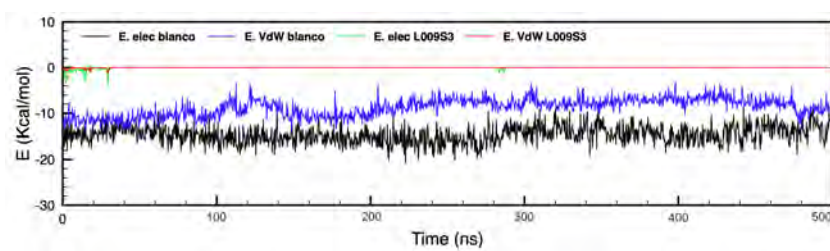


Figura 5.58: Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema

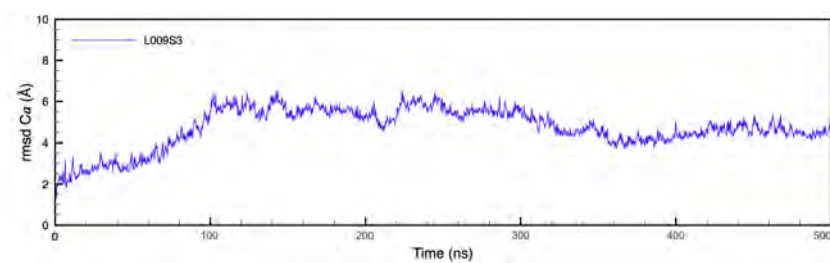


Figura 5.59: dRMSD del ligando

### 5.1.5.3. Sistema S4 (Figura 4.5)

El RMSD de CD4 muestra gran variación de desviaciones (Figuras 5.60 y 5.61). De 60 a 160 ns, 80 a 230 ns, 300 a 350 ns y 450 a 500 ns con una media de 8 Å y variaciones de 4 Å (figura 5.61), mientras que de 230 a 260 ns y de 350 a 450 ns manteniéndose en 6 Å, esto debido a la breve interacción del ligando con  $\beta 8$  y  $\beta 9$  restringiendo la movilidad del dominio C2 de CD4. Para gp120 las desviaciones se mantienen en 4 Å con variaciones de 0.5 Å, debido a la interacción del ligando con zonas de la glicoproteína que restringen la movilidad de las zonas variables.

El RMSF (Figura 5.62) muestra una disminución de fluctuaciones debido a la interacción de  $\beta 8$  y  $\beta 9$  con el ligando como se menciona anteriormente. De igual manera el dominio V de CD4 presenta disminución de fluctuaciones debido a la interacción del ligando con la región entre gp120 y CD4 cercana a la cavidad Phe43. Para gp120 la zona entre la región variable V1/V2 y las láminas  $\beta 5 - \beta 12$  y  $\beta 15 - \beta 16$  de la zona exterior distal muestran una disminución de fluctuaciones al igual que la cavidad R y la zona interior proximal debido a la interacción de los ligandos.

Se aprecian interacciones electrostáticas (Figura 5.63) de hasta 4 Kcal/mol en la cavidad Phe43 e interacciones de VdW de 2 Kcal/mol debido a la cercanía de esta cavidad con la región exterior distal de gp120 y al tamaño del grupo dihidrobenzopirano cuando interactúa con esta región.

La inspección general del sistema muestra que el grupo dihidrobenzopirano al ser de tamaño grande no permite la entrada del ligando a alguna de las cavidades, no obstante interactúa con las regiones exteriores de la glicoproteína, donde la densidad electrónica del ligando genera efectos inductivos en los residuos de gp120.

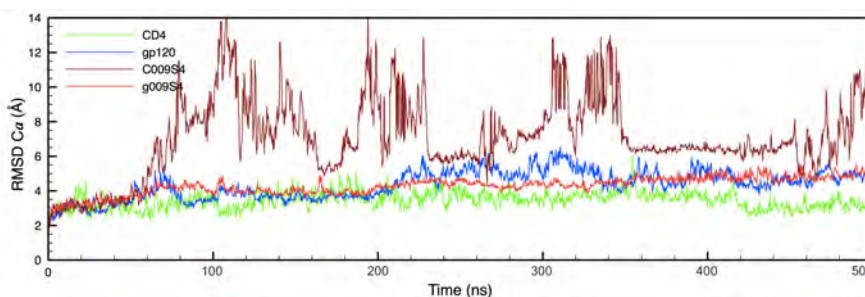


Figura 5.60: RMSD del sistema S4 (Figura 4.5)

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

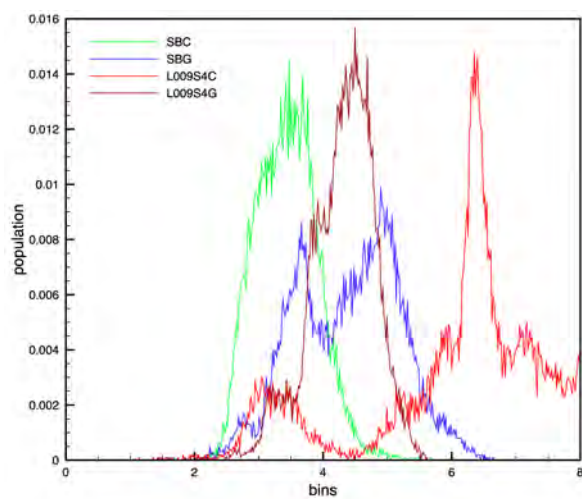


Figura 5.61: histograma del RMSD

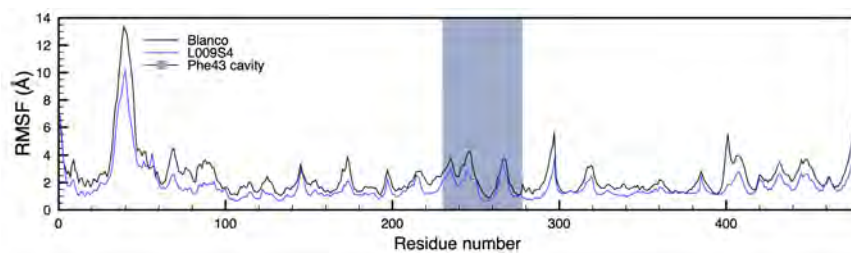


Figura 5.62: RMSF del sistema S4

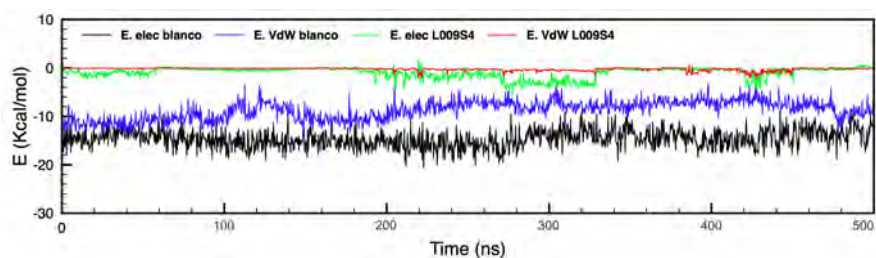


Figura 5.63: Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema

### 5.1.6. Ligando L022

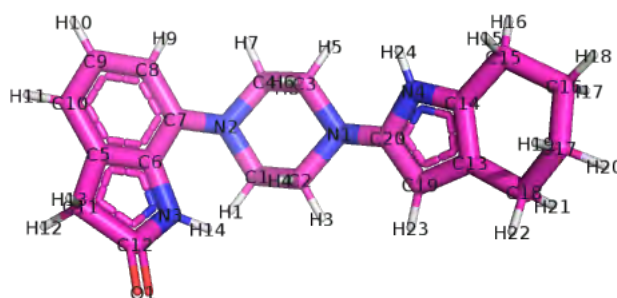


Figura 5.64: Ligando L022

#### 5.1.6.1. Sistema S2 (Figura 4.3)

El RMSD (Figura 5.65) muestra un aumento de desviaciones de CD4 a partir de 120 ns donde el ligando 022 sale de la cavidad y empieza a interactuar con Phe43 y los residuos cercanos hasta 310 ns, donde se aprecia un nuevo aumento progresivo de desviaciones (figura 5.66) hasta 35 Å debido a la separación de CD4 alejándose hasta el extremo superior de la caja de simulación. Para gp120 se muestra un RMSD similar a la referencia debido a la interacción con la cavidad Phe43 hasta 310 ns donde también se aprecia un aumento de desviaciones de 2 Å debido a la salida de L022 de la cavidad.

El RMSF muestra cambios fluctuacionales bastante grandes, los cuales no se pueden comparar con la referencia debido a la salida del ligando de la cavidad y la separación de CD4 como se menciona en el punto anterior (Figura 5.67).

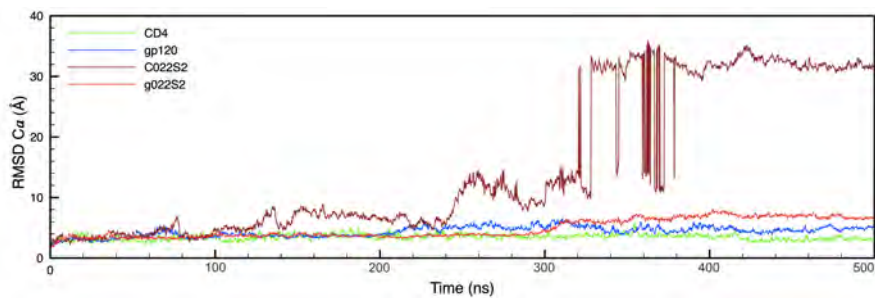
El diagrama de interacciones electrostáticas y de vdW (Figura 5.68) muestra grandes variaciones energéticas dentro de la cavidad debido a que la intermitencia de interacciones por el movimiento que tiene el ligando en la cavidad, propiciando que a 250 ns, se salga completamente de esta cavidad.

De igual manera el dRMSD (Figura 5.69) muestra un aumento progresivo de 2 a 28 Å durante la dinámica iniciando un cambio en 120 ns y otro en 320 ns por el ligando como se menciona anteriormente.

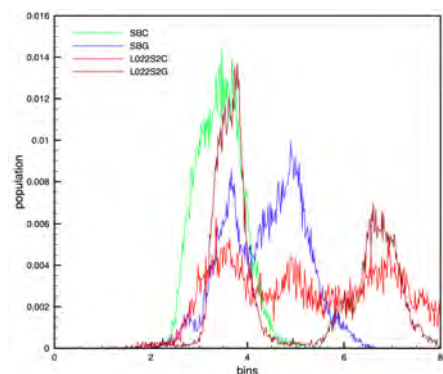
## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

La inspección general del sistema muestra que el gran tamaño de 022 no permite las interacciones usuales del tetrahidroindol (apilamiento  $\pi - \pi$  y puente de hidrógeno con Asn425) debido a la rotación de C20-N1 propiciando que a 120 ns empiece a salirse de la cavidad hasta 250 ns donde sale completamente, provocando a 310 ns el alejamiento de CD4 al extremo superior de la caja de simulación.



**Figura 5.65:** RMSD del sistema S2 (Figura 4.3)



**Figura 5.66:** histograma del RMSD

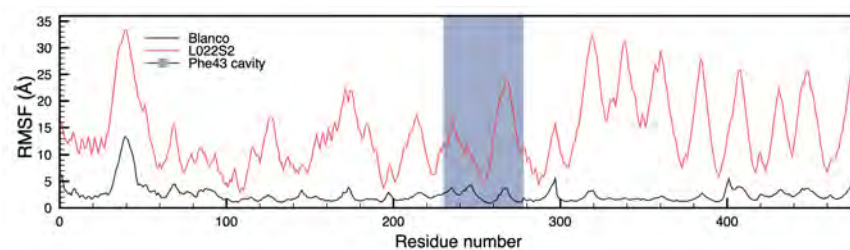


Figura 5.67: RMSF del sistema S2

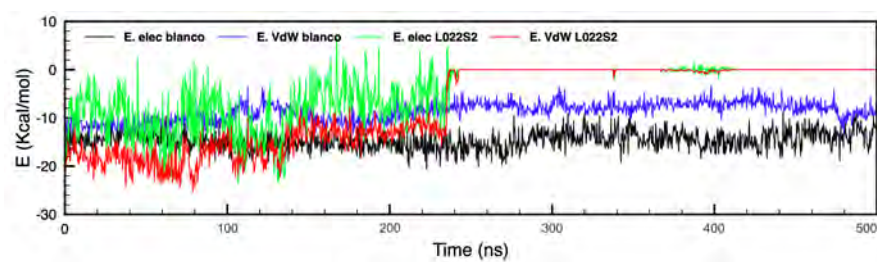


Figura 5.68: Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema

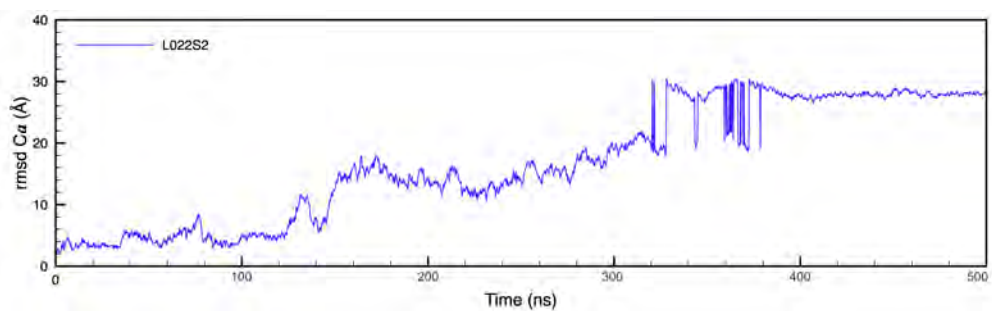


Figura 5.69: dRMSD del ligando

### 5.1.6.2. Sistema S3 (Figura 4.4)

El RMSD (Figura 5.70) muestra desviaciones similares de CD4 a la referencia, lo cual indica la interacción de 022 únicamente con la glicoproteína 120, que presenta desviaciones mayores entre 0.5 y 2 Å teniendo el mismo máximo que la referencia (Figura 5.71).

En el RMSF del sistema se aprecian mejor estas interacciones (Figura 5.72). Para CD4 las fluctuaciones no tienen un cambio significativo, a excepción de un aumento de fluctuaciones de 0.5 Å de Phe43 por efectos inductivos del ligando. Para gp120 la parte superior de la cavidad, que se encuentra cercana a la región variable V5, muestra el mismo aumento de 0.5 Å (al igual que V5). Las regiones variables V3 y C muestran una mayor movilidad (aumento de fluctuaciones de 1 Å). La región que se encuentra entre  $\beta 4$  y  $\beta 5$  muestra mayor movilidad (2 Å).  $\beta 11$  muestra disminución de fluctuaciones debido a la interacción con el ligando.

Las interacciones electrostáticas (Figura 5.73) son tanto atractivas como repulsivas debido a la cercanía de  $\beta 11$ , que interactúa con el ligando, con la cavidad Phe43, por lo que también son apreciables interacciones de VdW de baja energía.

El dRMSD (Figura 5.74) muestra un aumento progresivo de 2 a 7 Å debido al breve movimiento traslacional y conformacional del ligando durante la dinámica.

La inspección general del sistema muestra que el ligando 022 interactúa con  $\beta 11$  de gp120 durante parte de la dinámica, mostrando efectos inductivos atractivos y repulsivos en la cavidad debido a la cercanía con O1 y C12.

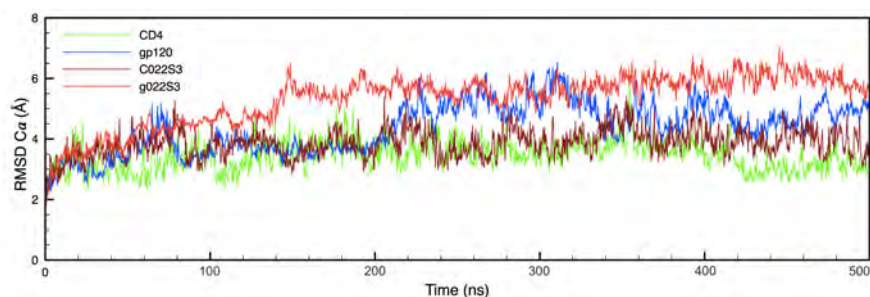


Figura 5.70: RMSD del sistema S3 (Figura 4.4)



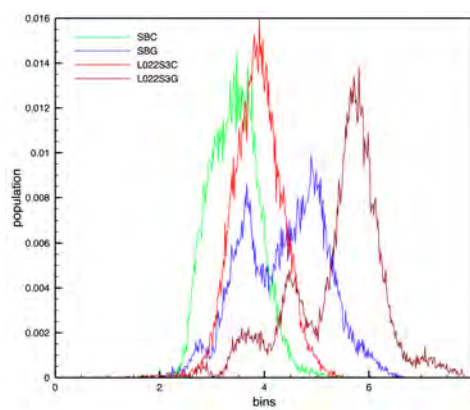


Figura 5.71: histograma del RMSD

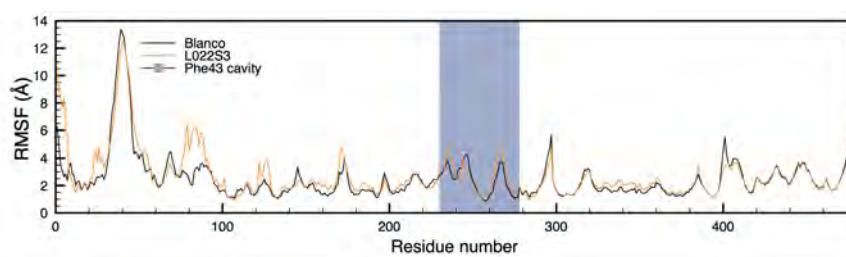


Figura 5.72: RMSF del sistema S3

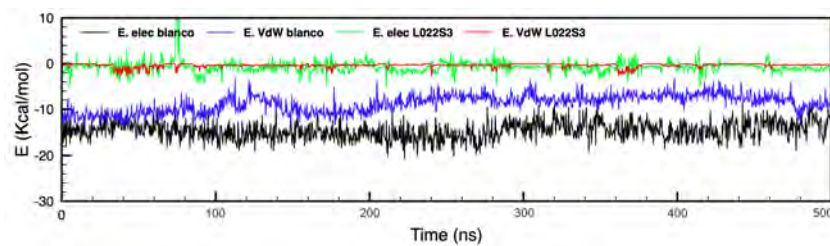


Figura 5.73: Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema

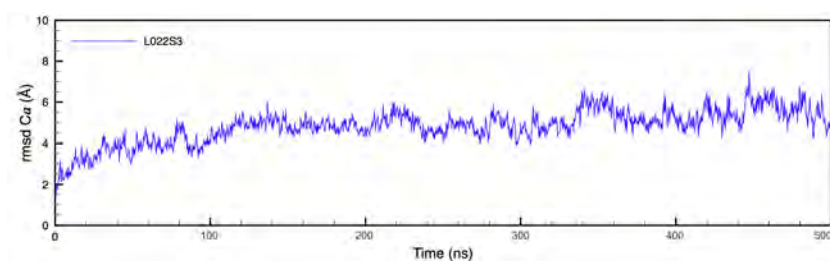


Figura 5.74: dRMSD del ligando



### 5.1.6.3. Sistema S4 (Figura 4.5)

El RMSD de CD4 (Figura 5.75) muestra desviaciones similares a la de la referencia con una disminución clara de desviaciones (Figura 5.76), mientras que para gp120 se presenta el mismo caso, el RMSD es similar al de la referencia con una disminución de variaciones debido a la restricción de movilidad causada por la interacción de los ligandos con la glicoproteína.

El RMSF del sistema (Figura 5.77) muestra una interacción breve del ligando con  $\beta 8$  y  $\beta 9$  del dominio C2 de CD4. Los residuos de la cavidad Phe43 muestran una disminución de fluctuaciones debido a un efecto inductivo causado por el ligando al interactuar con la zona entre la región variable V1/V2 y  $\alpha 1$  que muestra también una disminución de fluctuaciones. Así mismo, L022 interactúa con la región entre  $\beta 4$  y  $\beta 5$ ,  $\beta 5$ - $\beta 9$  aumentando la movilidad de la región variable C. El ligando también interactúa con la región formada entre  $\beta 11$  y  $\beta 12$  y la hélice  $\alpha 2$ .

Las interacciones electrostáticas (Figura 5.78) de atracción y repulsión y las interacciones de vdW son mostradas debido a la interacción de los ligandos con zonas como la región entre el loop variable V1/V2 y  $\alpha 1$  debido a la cercanía que tienen con la cavidad Phe43.

La inspección general del sistema muestra que ninguno de los 5 ligandos 022 entra a la cavidad Phe43 debido al tamaño de la molécula, sin embargo interactúan con zonas cercanas mostrando efectos inductivos debido al grupo carbonilo de 022. Este grupo mejora la interacción de Phe43 con la cavidad, disminuyendo la competitividad del ligando por el sitio de unión.

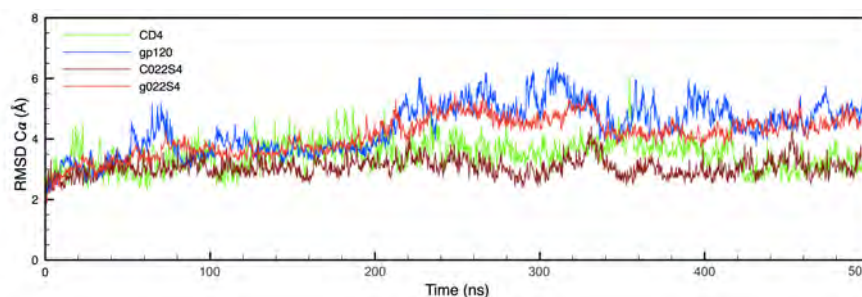


Figura 5.75: RMSD del sistema S4 (Figura 4.5)

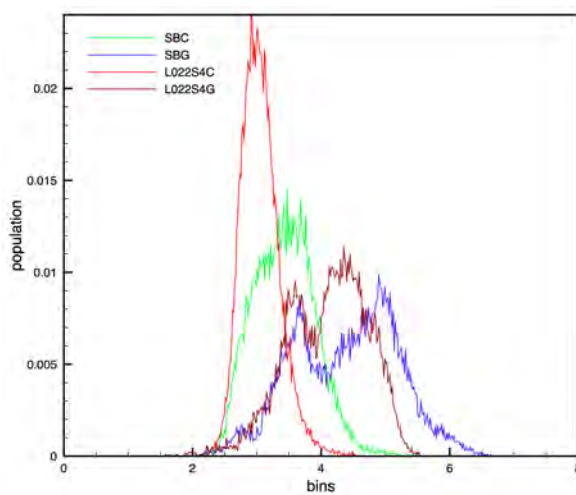


Figura 5.76: histograma del RMSD

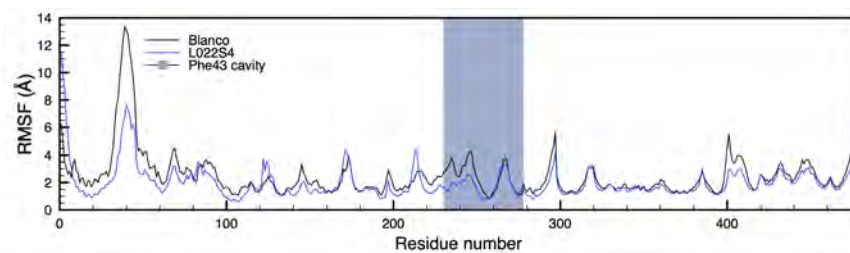


Figura 5.77: RMSF del sistema S2

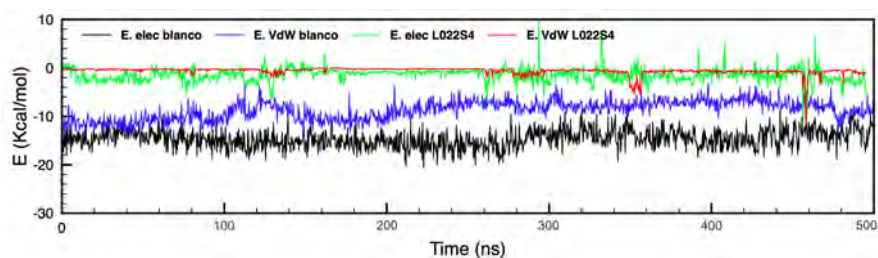


Figura 5.78: Interacciones electrostáticas y de van der Waals del sistema

## 5.2. MM-PB(GB)SA

Se realizaron 6 dinámicas moleculares en ensambles isotérmico-isobáricos (NPT) con una concentración de NaCl 0.1 M de los ligandos con la glicoproteína 120 (Figura 4.12) para realizar cálculos generalized born utilizando áreas de superficie con el método de combinaciones lineales de superposiciones de pares de átomos o 'LCPO' y así obtener la energía de unión de cada uno.

La energía de unión obtenida para el sistema referencia (Figura 5.79) es de  $-27.32 \pm 7.71$  kcal/mol siendo espontánea la interacción de Phe43 de CD4 con la cavidad del mismo nombre de la glicoproteína 120. Todos los ligandos mostraron mejores energías de unión como se muestra en la siguiente tabla:

<b>Ligand</b>	<b><math>\Delta G</math> kcal/mol</b>
L255	$-34.04 \pm 7.52$
L141	$-41.65 \pm 4.82$
L002	$-41.41 \pm 4.40$
L009	$-38.57 \pm 5.65$
L022	$-40.85 \pm 5.01$

**Tabla 5.1:** Energías de unión de los ligandos

siendo estas interacciones más estables, sin embargo, la diferencia de energía entre ligandos es muy baja por lo que no es apreciable la diferencia entre ellos, lo cual indica que en una competitividad por el sitio de unión cualquiera de las moléculas estudiadas podría inhibir adecuadamente la entrada del VIH a la célula CD4.

Para conocer las energías de cada componente ver los anexos (A.1-A.6)

### 5.3. Mapas de Potencial Electrostático MESP

Se realizaron optimizaciones de los cinco ligandos con el funcional m062x y la base 6-31+g(d,p) en vacío, posteriormente, se mapeo el potencial electrostático molecular (MESP). Asimismo, se generó el mapa de potencial electrostático molecular de BMS-378806 (Figura 3.2) como referencia inicial.

El compuesto BMS-378806 (Figura 5.86) muestra gran densidad electrónica en los oxígenos de los grupos carbonilo y una ausencia de densidad electrónica positiva en la amina del tetrahidroindol, siendo una molécula con capacidad de interacción de los carbonilos con Lys429 y de el grupo amino con Glu370 o Asp368 o mediante puentes de hidrógeno con Asn425, manteniéndose el fenilo fuera de la cavidad, el cual puede interaccionar con Phe43 manteniendo a CD4 cerca del sitio activo.

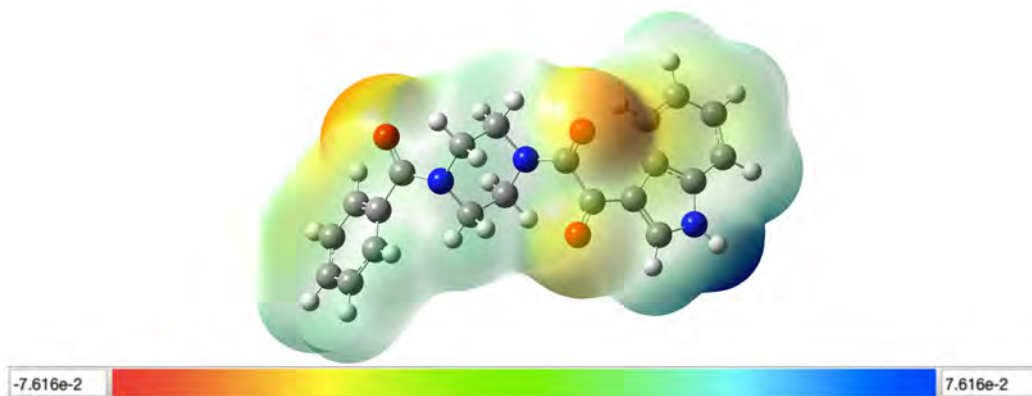
L255 (Figura 5.87) presenta gran densidad electrónica debido a los oxígenos de la sulfonamida, orientando este grupo al exterior de la cavidad Phe43 impidiendo el acercamiento de CD4. Además, la densidad electrónica que se aprecia en el indol muestra la interacción con Trp427 por medio de un apilamiento  $\pi - \pi$  y un puente de hidrógeno de la amina con Asn425, lo que lo convierte en un buen grupo para la interacción con la cavidad.

L141 (Figura 5.88) muestra una gran densidad electrónica al centro de la molécula, la cual puede tener interacciones con Asp368 y Glu370 debido a carga negativa y a su posición en la cavidad. Esta distribución electrónica disminuye considerablemente la capacidad del apilamiento  $\pi - \pi$  del indol con Trp427.

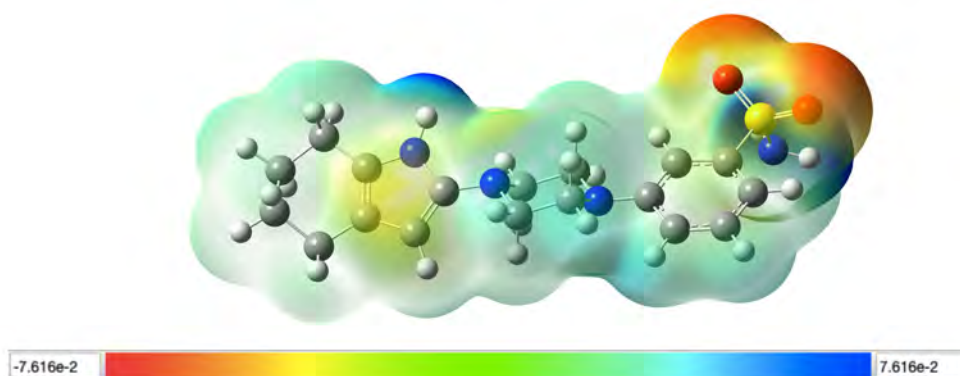
L002 (Figura 5.89) también muestra mayor densidad electrónica en los nitrógenos del grupo 1,6-diazanaftaleno, orientándolo fuera de la cavidad. Se presenta la densidad electrónica negativa en la amina del indol capaz de generar puentes de hidrógeno con Asn425, sin embargo, al ser menor la densidad electrónica del indol, se debilita la interacción con Trp427 en la cavidad.

L009 (Figura 5.90) presenta poca densidad electrónica en el oxígeno y benceno del dihidrobenzopirano y en el nitrógeno de la piperazina unido a este grupo, lo cual muestra efectos inductivos dentro de la cavidad. Una mayor densidad electrónica negativa del indol permite una interacción por apilamiento  $\pi - \pi$  con Trp427 más fuerte, que en conjunto con el puente de hidrógeno de la amina con Asn425 hacen a este, un buen compuesto para la interacción con la cavidad.

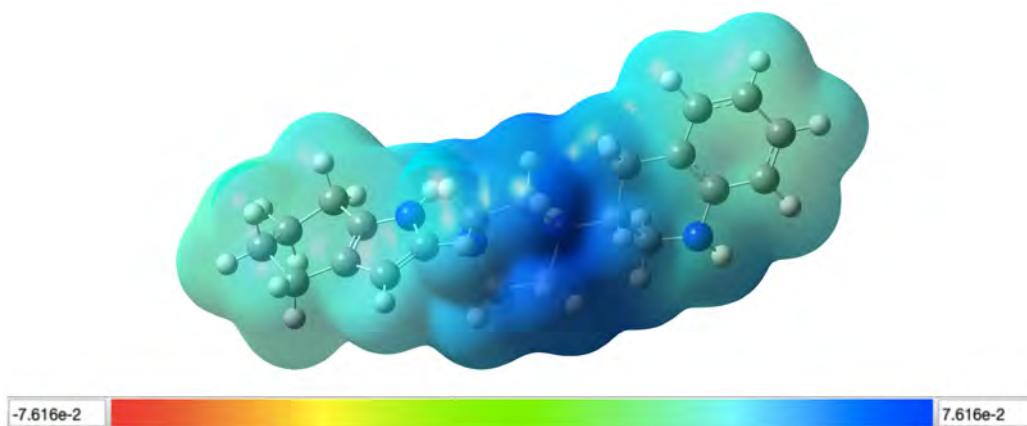
L022 (Figura 5.91) muestra un gran densidad electrónica en el oxígeno del grupo oxindol, el cual, debido a las interacciones dipolo instantáneo-dipolo inducido, permitirían una gran movilidad de este grupo disminuyendo las interacciones de van der Waals que presente dentro de la cavidad. La amina del indol presenta la densidad electrónica positiva esperada, manteniendo interacciones por puente de hidrógeno con Asn425, sin embargo la densidad electrónica no se presenta al centro del indol, siendo esta distribuida por el anillo, evitando un apilamiento  $\pi - \pi$  con Trp427.



**Figura 5.79:** MESP de BMS-378806



**Figura 5.80:** MESP del ligando L255



**Figura 5.81:** MESP del ligando 141

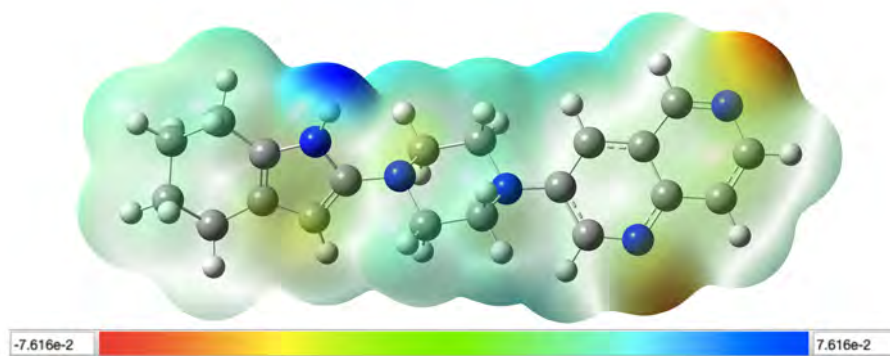


Figura 5.82: MESP del ligando 002

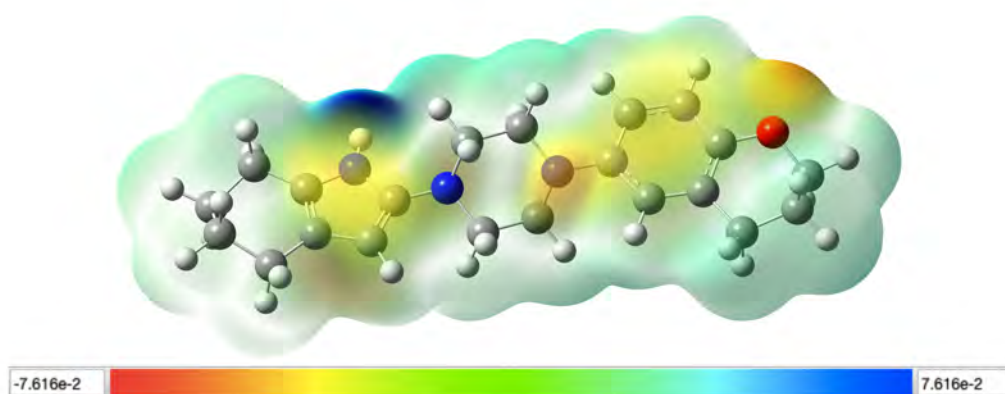


Figura 5.83: MESP del ligando 009

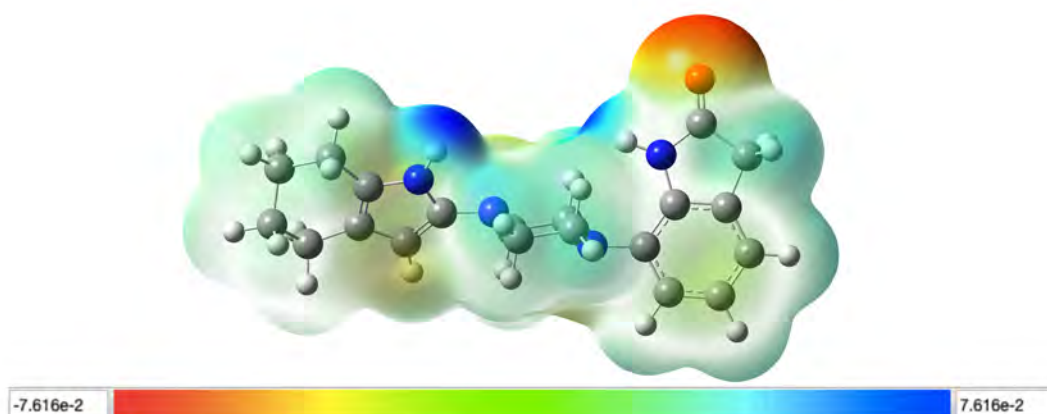


Figura 5.84: MESP del ligando 022



## Conclusiones

---

El desarrollo de un fármaco para el tratamiento de la infección por VIH es una prioridad global debido a la gran necesidad de salud pública y a la falta de un acercamiento alternativo para prevenir o controlar la infección adecuadamente. El VIH es una epidemia global con efectos en los costos económicos y sociales, siendo el desarrollo de inhibidores una de las partes de estudio más desafiantes a la fecha.

En este estudio se obtuvo una mayor información sobre los ligandos seleccionados, los cuales presentan una mejor energía libre de unión con diferencia de más de 10 kcal/mol respecto a la unión con la segunda región de CD4, siendo L141 el más prometedor de los cinco. El grupo 4,5,6,7-tetrahidroindol mimetiza adecuadamente las interacciones que presenta Phe43 de CD4, el cual, al estar unido al grupo piperazina y un grupo electroattractor, siendo la piperazina un amortiguador para la densidad electrónica, permite una mayor interacción del 4,5,6,7-tetrahidroindol con Trp427, uno de los principales residuos de la cavidad Phe43 de gp120.

A pesar de que los estudios de energías de unión indican que el ligando L255 es el de un  $\Delta G$  menos negativo siendo posicionado como el peor de los 5 ligandos, es necesario un análisis de la dinámica molecular del sistema completo para obtener un mejor entendimiento sobre las interacciones del ligando con las proteínas.

Asimismo, se obtuvo una mayor información sobre la glicoproteína 120, que es parte importante en la entrada del virus a los linfocitos T. Esta glicoproteína trimérica es flexible, lo que permite una adaptación de la estructura (como se muestra en la sección 5.1), obteniendo una mayor o menor movilidad de los loops variables, las hélices  $\alpha$  o las láminas  $\beta$  formando depresiones entre estas estructuras para posibilitar una mejor interacción del ligando en esa zona según sea el caso y en conjunto con las cavidades cercanas al sitio de unión, hacen a la cavidad Phe43 una diana difícil para la acción de inhibidores. Esta proteína tiene una cavidad formada por la hélice  $\alpha 4$  y las láminas  $\beta 18$  y  $\beta 19$  de la región distal del dominio exterior, que muestra características de modulación del tipo de sistemas R, siendo este un posible sitio alostérico debido a que tiene un efecto en la cavidad Phe43 disminuyendo las interacciones del sitio de unión con Phe43 de CD4.

El sistema de interacción gp120-ligando (sistema 2) muestra a los ligandos 255, 141



## 6. CONCLUSIONES

---

y 002 como potenciales inhibidores de la interacción VIH-linfocito T, al mantener su estabilidad en la cavidad Phe43 durante toda la dinámica. L009 mantiene interacciones inestables dentro de la cavidad lo cual hace posible su salida de esta en mayores tiempos de simulación, mientras que 022 muestra una salida de la cavidad en el tiempo de dinámica realizado. El tamaño del grupo unido a la piperazina que diferencia a cada ligando influye de manera significativa en las interacciones del ligando con la cavidad.

De otra manera, el sistema de interacción gp120-CD4 con un ligando cerca de la cavidad (sistema 3) muestra la importancia de las cavidades cercanas al sitio de unión y la adaptación de la estructura de gp120 para evitar la interacción de otras moléculas con la cavidad Phe43, que en conjunto con la los distintos glucósidos que tiene la glicoproteína debido a la variabilidad del VIH, hacen a este virus un objetivo difícil de erradicar, mostrando una gran superioridad evolutiva.

El sistema de interacción gp120-CD4 con 5 ligandos cerca de la cavidad (sistema 4) muestra que en los tiempos de dinámica realizados, los ligandos no desplazan a Phe43 de la cavidad al tener una menor afinidad por el sitio activo, sin embargo, el ligando 255 muestra interacción con el posible sitio alostérico disminuyendo la afinidad de Phe43 por el sitio de unión.

Finalmente, los ligandos 255, 141 y 002 son la mejor opción propuesta para continuar con el proceso de diseño de fármacos, siendo potenciales inhibidores de la entrada del VIH al linfocito T en etapas tempranas de descubrimiento del virus, siendo 255 un objeto de mayor estudio debido a que tiene la capacidad de presentar un efecto alostérico dando la posibilidad de revertir la unión del virus al linfocito T dando como resultado un posible inhibidor aún en etapas medias o tardías de descubrimiento del virus en el organismo.

Se espera que los resultados obtenidos en este trabajo sean un parteaguas en el estudio de la cavidad R para la inhibición de entrada y ayuden al entendimiento del VIH dando paso a un gran número de inhibidores que cumplan con las características mencionadas para el control de la infección disminuyendo los costos de tratamiento dando un gran paso en la lucha contra el virus. La dirección futura del trabajo incluye un mayor estudio a 255 y a la cavidad R, así como la generación de mejores potenciales inhibidores para el tratamiento del virus.

---

Apéndice A

Anexos

---

A. ANEXOS

---

GENERALIZED BORN:

Complex: Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-3501.3606	35.9262	0.4460
EEL	-33990.4797	163.8140	2.0337
EGB	-5080.3790	137.1050	1.7022
ESURF	173.5148	4.9884	0.0619
G gas	-37491.8403	167.9562	2.0852
G solv	-4906.8642	134.1352	1.6653
TOTAL	-42398.7044	81.7497	1.0149

Receptor: Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-2120.8891	28.9382	0.3593
EEL	-20824.1098	121.0085	1.5023
EGB	-2881.4301	96.1540	1.1937
ESURF	116.9379	3.9773	0.0494
G gas	-22944.9989	120.4363	1.4952
G solv	-2764.4922	94.0966	1.1682
TOTAL	-25709.4911	67.6639	0.8400

Ligand: Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-1308.2142	18.0515	0.2241
EEL	-13131.5461	100.1999	1.2440
EGB	-2288.8565	78.9523	0.9802
ESURF	66.7247	1.6275	0.0202
G gas	-14439.7603	99.6801	1.2375
G solv	-2222.1318	78.1264	0.9699
TOTAL	-16661.8921	47.2732	0.5869

Differences (Complex - Receptor - Ligand): Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-72.2572	10.1637	0.1262
EEL	-34.8238	44.3120	0.5501
EGB	89.9076	43.7188	0.5428
ESURF	-10.1478	1.2833	0.0159
DELTA G gas	-107.0810	46.3110	0.5749
DELTA G solv	79.7598	43.0114	0.5340
DELTA TOTAL	-27.3212	7.7103	0.0957

Figura A.1: Energías de unión del complejo gp120-CD4

GENERALIZED BORN:

Complex: Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-2155.5878	25.8607	0.4490
EEL	-20948.7461	139.0015	2.4131
EGB	-2849.1544	110.1923	1.9130
ESURF	115.5349	2.5899	0.0450
G gas	-23104.3339	141.6960	2.4599
G solv	-2733.6195	109.0325	1.8929
TOTAL	-25837.9534	68.8321	1.1950

Receptor: Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-2113.8994	24.0359	0.4173
EEL	-20883.4158	140.0072	2.4306
EGB	-2854.9806	110.8255	1.9240
ESURF	117.1899	2.3699	0.0411
G gas	-22997.3152	141.7243	2.4604
G solv	-2737.7908	109.6366	1.9033
TOTAL	-25735.1060	66.0988	1.1475

Ligand: Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-3.3470	1.0394	0.0180
EEL	-50.6659	1.4001	0.0243
EGB	-17.8176	1.9171	0.0333
ESURF	3.0253	0.0245	0.0004
G gas	-54.0129	1.8916	0.0328
G solv	-14.7923	1.9105	0.0332
TOTAL	-68.8052	2.2825	0.0396

Differences (Complex - Receptor - Ligand): Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-38.3414	5.3260	0.0925
EEL	-14.6644	7.4445	0.1292
EGB	23.6438	5.6843	0.0987
ESURF	-4.6803	0.6466	0.0112
DELTA G gas	-53.0058	10.9935	0.1909
DELTA G solv	18.9635	5.2605	0.0913
DELTA TOTAL	-34.0422	7.5209	0.1306

Figura A.2: Energías de unión del complejo gp120-L255

## A. ANEXOS

### GENERALIZED BORN:

Complex:			
Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-2183.8014	26.3956	0.4139
EEL	-20729.7480	117.6039	1.8443
EGB	-3010.4383	89.0042	1.3958
ESURF	114.9604	2.6960	0.0423
G gas	-22913.5494	116.0220	1.8195
G solv	-2895.4779	88.8305	1.3931
TOTAL	-25809.0273	64.6810	1.0144
Receptor:			
Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-2137.1051	25.8610	0.4056
EEL	-20745.3117	117.9537	1.8498
EGB	-2959.2284	86.7243	1.3601
ESURF	116.7250	2.6858	0.0421
G gas	-22882.4168	117.1516	1.8372
G solv	-2842.5034	86.4202	1.3553
TOTAL	-25724.9202	65.6744	1.0299
Ligand:			
Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-4.4555	0.7384	0.0116
EEL	14.6394	7.1816	0.1126
EGB	-55.7671	1.7307	0.0271
ESURF	3.1273	0.0364	0.0006
G gas	10.1840	7.3161	0.1147
G solv	-52.6398	1.7048	0.0267
TOTAL	-42.4558	5.8520	0.0918
Differences (Complex - Receptor - Ligand):			
Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-42.2408	3.1175	0.0489
EEL	0.9243	19.9897	0.3135
EGB	4.5572	18.3190	0.2873
ESURF	-4.8919	0.3237	0.0051
DELTA G gas	-41.3166	20.3303	0.3188
DELTA G solv	-0.3347	18.1403	0.2845
DELTA TOTAL	-41.6512	4.8160	0.0755

Figura A.3: Energías de unión del complejo gp120-L141

GENERALIZED BORN:

Complex: Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-2211.2220	25.0353	0.3570
EEL	-20674.8570	115.2478	1.6434
EGB	-2986.9190	94.2691	1.3442
ESURF	110.9647	2.3851	0.0340
G gas	-22886.0790	117.0851	1.6696
G solv	-2875.9543	93.2960	1.3304
TOTAL	-25762.0333	69.9704	0.9977
Receptor:			
Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-2161.9166	24.9112	0.3552
EEL	-20690.3150	115.0285	1.6403
EGB	-2993.3721	95.1024	1.3561
ESURF	112.9337	2.3876	0.0340
G gas	-22852.2316	116.3301	1.6588
G solv	-2880.4383	94.1336	1.3423
TOTAL	-25732.6699	69.2889	0.9880
Ligand:			
Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-2.9914	1.0137	0.0145
EEL	26.0726	0.8162	0.0116
EGB	-14.0534	0.5891	0.0084
ESURF	3.0187	0.0168	0.0002
G gas	23.0812	1.4361	0.0205
G solv	-11.0348	0.5831	0.0083
TOTAL	12.0464	1.5326	0.0219
Differences (Complex - Receptor - Ligand):			
Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-46.3140	3.4589	0.0493
EEL	-10.6145	3.8577	0.0550
EGB	20.5065	4.2093	0.0600
ESURF	-4.9877	0.3158	0.0045
DELTA G gas	-56.9285	5.7253	0.0816
DELTA G solv	15.5188	4.1451	0.0591
DELTA TOTAL	-41.4098	4.4001	0.0627

Figura A.4: Energías de unión del complejo gp120-L002

A. ANEXOS

GENERALIZED BORN:

Complex: Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-2191.0910	25.1312	0.3992
EEL	-20782.9056	134.0374	2.1289
EGB	-2888.9729	105.7381	1.6794
ESURF	112.4170	2.6202	0.0416
G gas	-22973.9966	141.8239	2.2526
G solv	-2776.5559	103.9817	1.6515
TOTAL	-25750.5524	64.2052	1.0198

Receptor: Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-2144.6324	26.0682	0.4140
EEL	-20784.1412	133.5316	2.1209
EGB	-2896.3200	105.6566	1.6781
ESURF	114.1304	2.7319	0.0434
G gas	-22928.7737	143.3723	2.2772
G solv	-2782.1895	103.7111	1.6472
TOTAL	-25710.9632	65.1000	1.0340

Ligand: Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-3.3327	1.0412	0.0165
EEL	7.0173	0.6018	0.0096
EGB	-7.8348	0.6395	0.0102
ESURF	3.1300	0.0177	0.0003
G gas	3.6846	1.4143	0.0225
G solv	-4.7048	0.6325	0.0100
TOTAL	-1.0203	1.4610	0.0232

Differences (Complex - Receptor - Ligand): Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-43.1258	5.2250	0.0830
EEL	-5.7817	2.8563	0.0454
EGB	15.1819	2.9014	0.0461
ESURF	-4.8434	0.5061	0.0080
DELTA G gas	-48.9075	5.5312	0.0879
DELTA G solv	10.3385	2.8522	0.0453
DELTA TOTAL	-38.5690	5.6456	0.0897

Figura A.5: Energías de unión del complejo gp120-L009

GENERALIZED BORN:

Complex: Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-2188.2218	24.8975	0.3770
EEL	-20793.2047	113.1137	1.7129
EGB	-2928.1869	82.3994	1.2478
ESURF	111.4716	2.0043	0.0304
G gas	-22981.4265	112.8892	1.7095
G solv	-2816.7152	81.6244	1.2360
TOTAL	-25798.1417	61.8412	0.9365

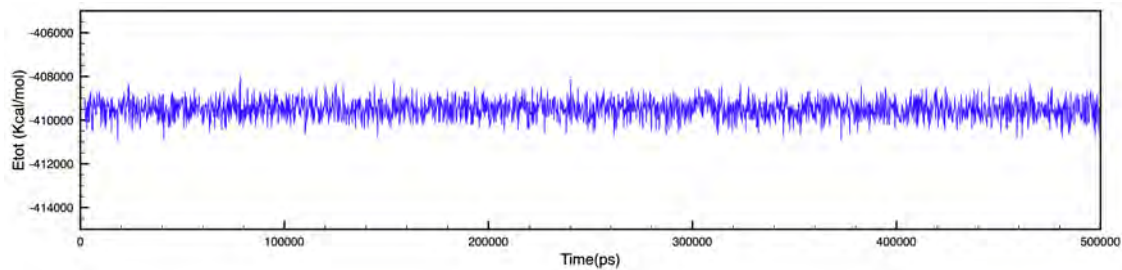
Receptor: Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-2139.6860	25.3624	0.3841
EEL	-20762.9901	112.3213	1.7009
EGB	-2933.6233	82.2749	1.2459
ESURF	113.3813	2.0483	0.0310
G gas	-22902.6761	112.4364	1.7026
G solv	-2820.2419	81.4568	1.2335
TOTAL	-25722.9180	61.1711	0.9263

Ligand: Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-3.9115	1.1219	0.0170
EEL	-19.3505	1.5612	0.0236
EGB	-14.1766	0.7439	0.0113
ESURF	3.0683	0.0170	0.0003
G gas	-23.2620	2.3036	0.0349
G solv	-11.1083	0.7361	0.0111
TOTAL	-34.3703	2.1689	0.0328

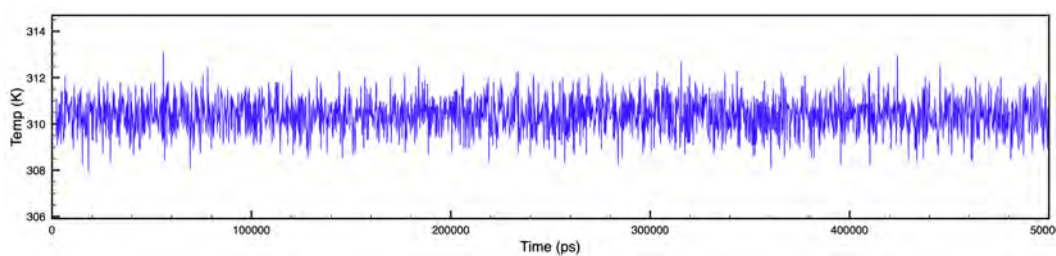
Differences (Complex - Receptor - Ligand): Energy Component	Average	Std. Dev.	Std. Err. of Mean
VDWAALS	-44.6244	3.4720	0.0526
EEL	-10.8640	4.9749	0.0753
EGB	19.6129	3.8567	0.0584
ESURF	-4.9780	0.2598	0.0039
DELTA G gas	-55.4884	6.5578	0.0993
DELTA G solv	14.6350	3.7930	0.0574
DELTA TOTAL	-40.8534	5.0117	0.0759

Figura A.6: Energías de unión del complejo gp120-L022

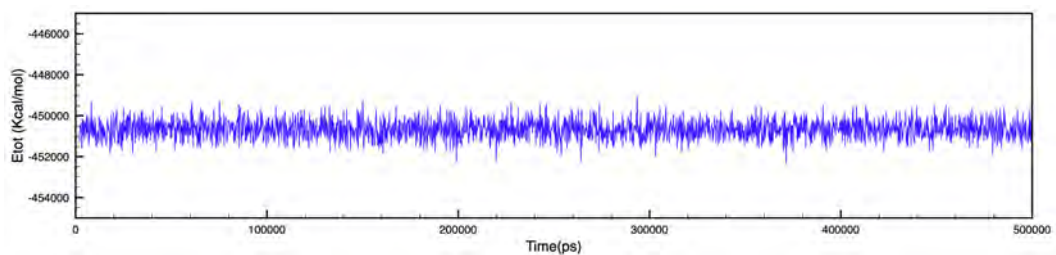




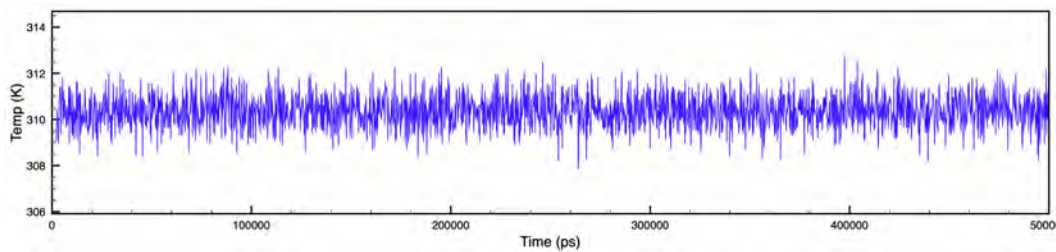
**Figura A.7:** Energía total sistema de referencia



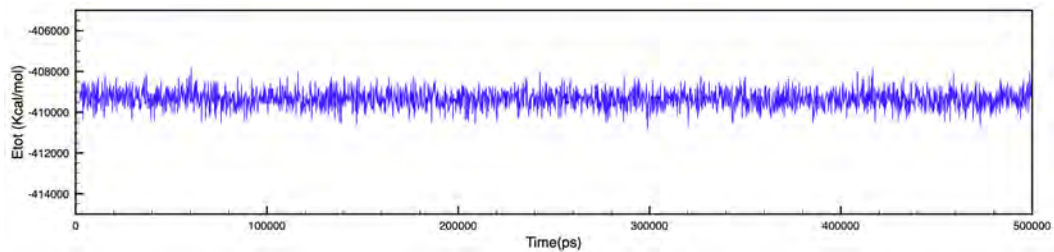
**Figura A.8:** Temperatura del sistema de referencia



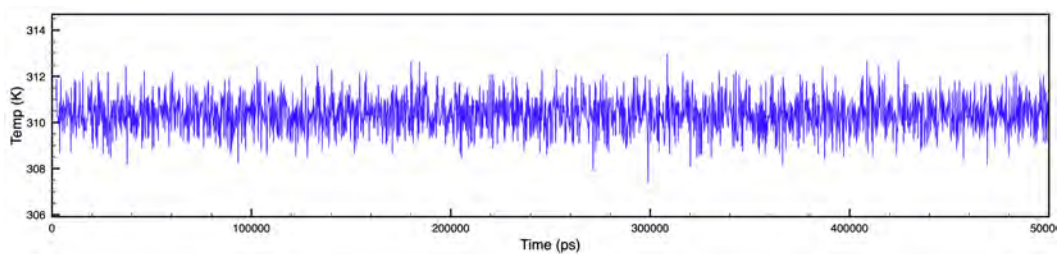
**Figura A.9:** Energía total L255 sistema 2



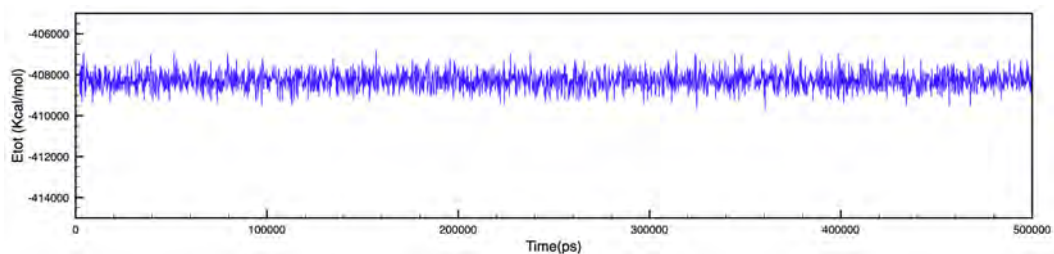
**Figura A.10:** Temperatura L255 sistema 2



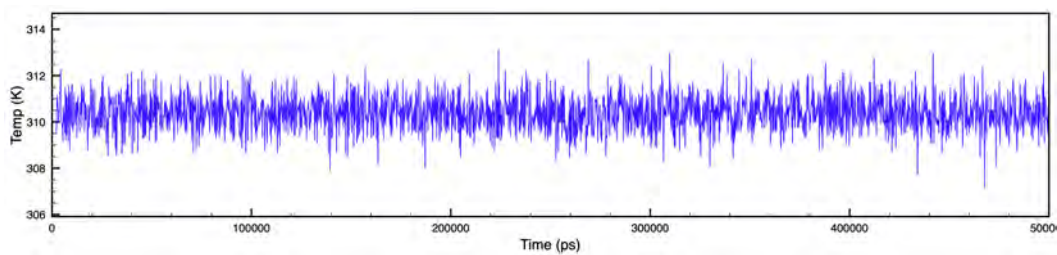
**Figura A.11:** Energía total L255 sistema 3



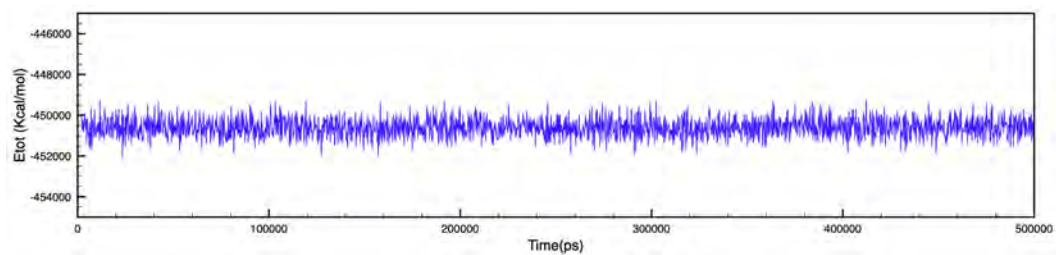
**Figura A.12:** Temperatura L255 sistema 3



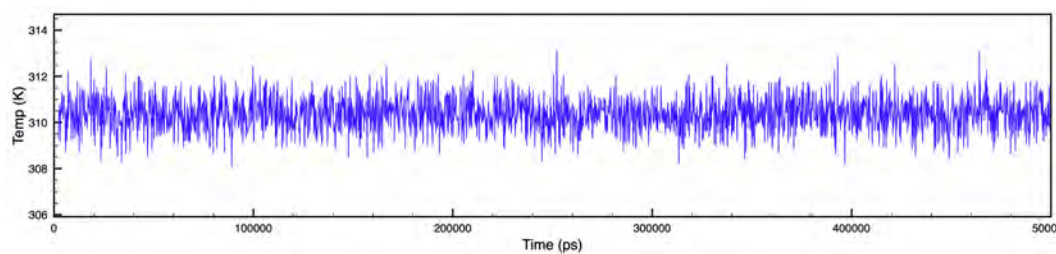
**Figura A.13:** Energía total L255 sistema 4



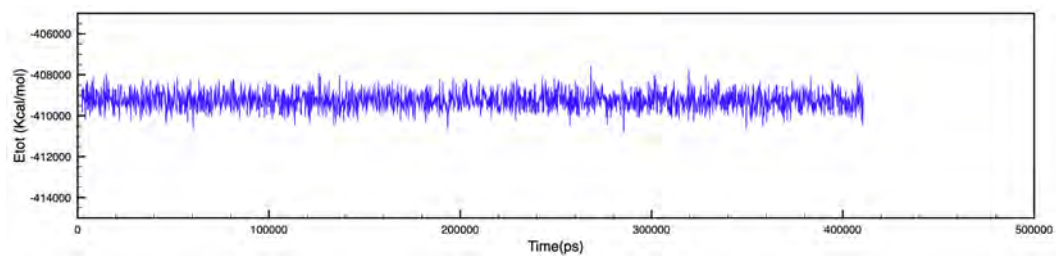
**Figura A.14:** Temperatura L255 sistema 4



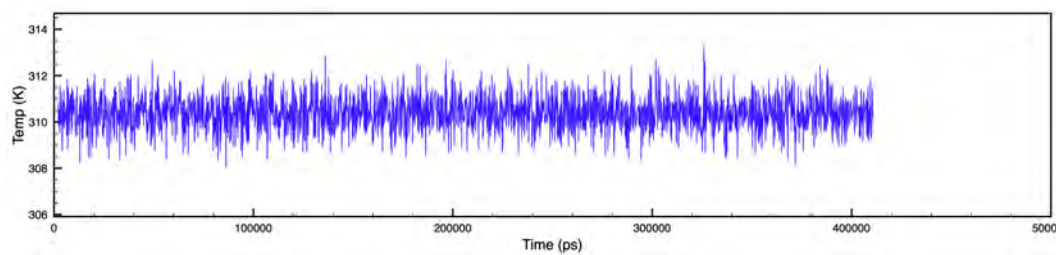
**Figura A.15:** Energía total L141 sistema 2



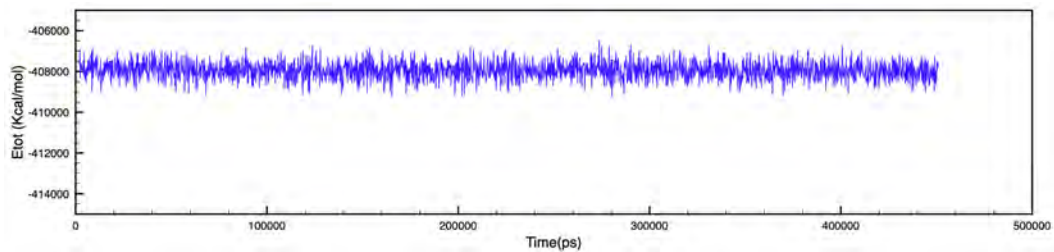
**Figura A.16:** Temperatura L141 sistema 2



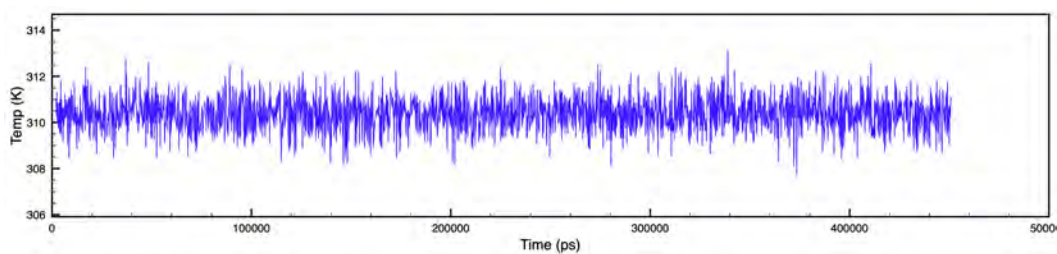
**Figura A.17:** Energía total L141 sistema 3



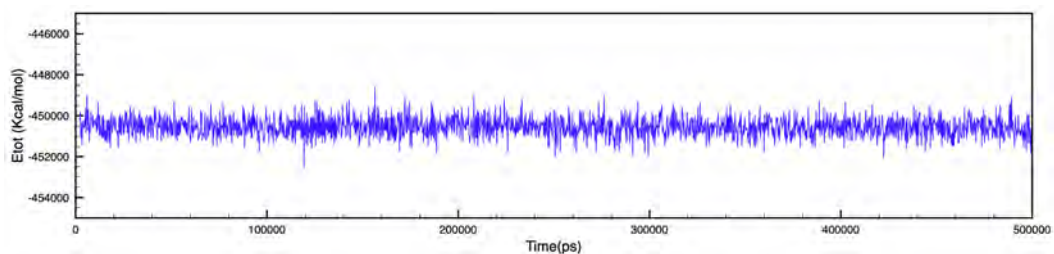
**Figura A.18:** Temperatura L141 sistema 3



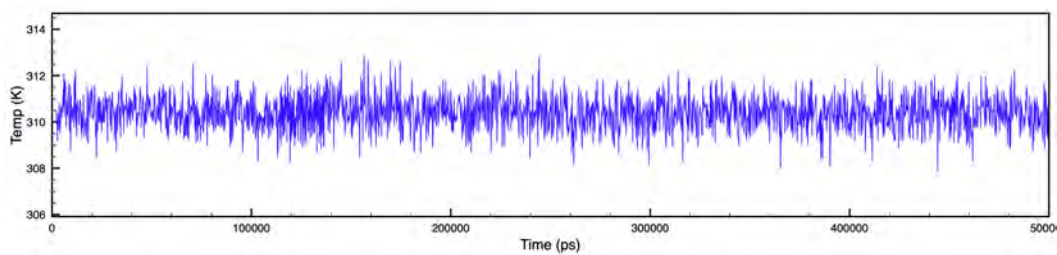
**Figura A.19:** Energía total L141 sistema 4



**Figura A.20:** Temperatura L141 sistema 4

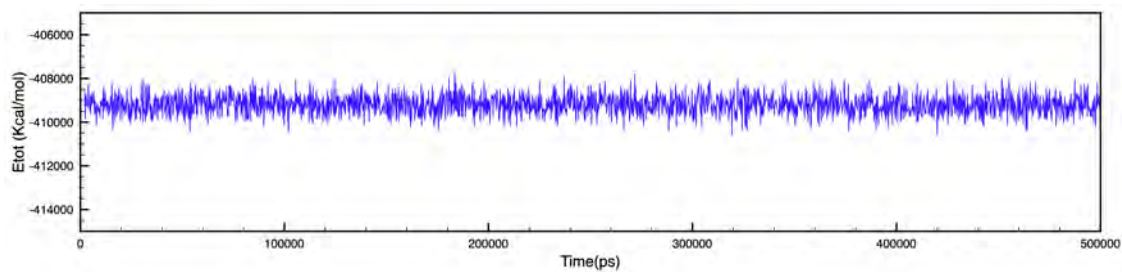


**Figura A.21:** Energía total L002 sistema 2

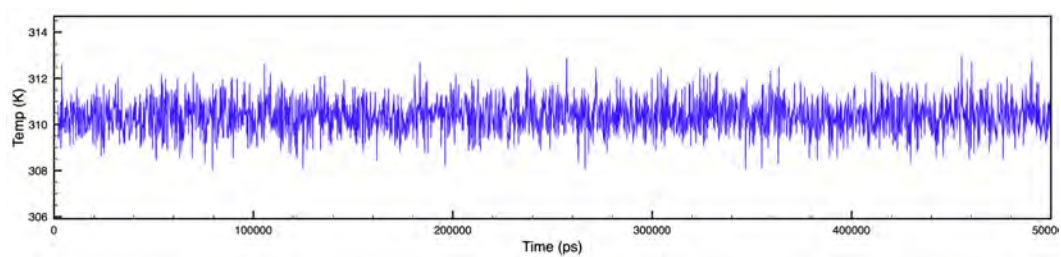


**Figura A.22:** Temperatura L002 sistema 2

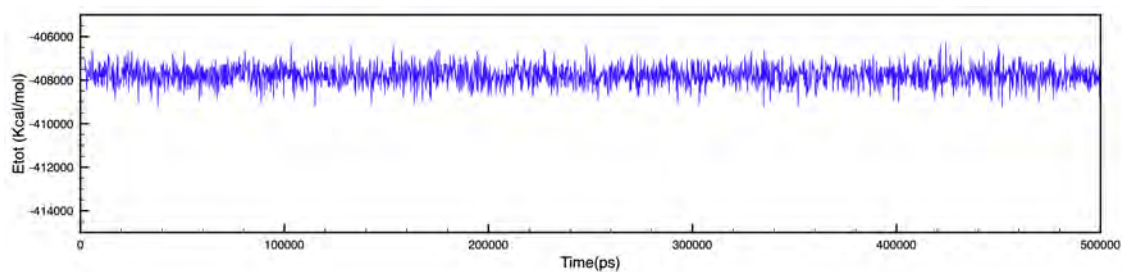




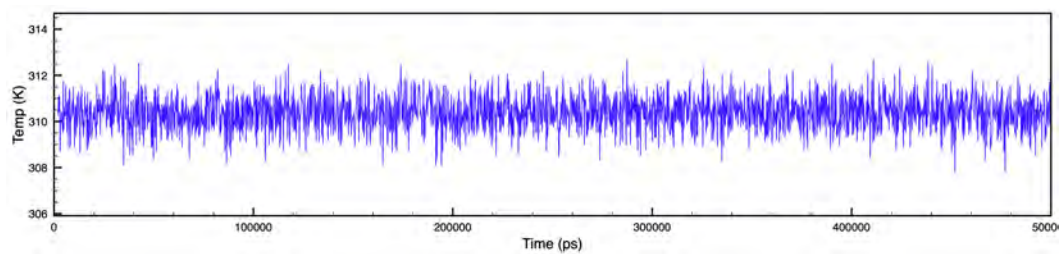
**Figura A.23:** Energía total L002 sistema 3



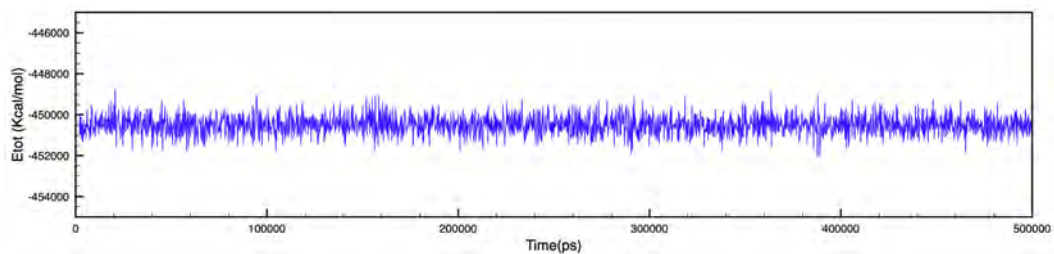
**Figura A.24:** Temperatura L002 sistema 3



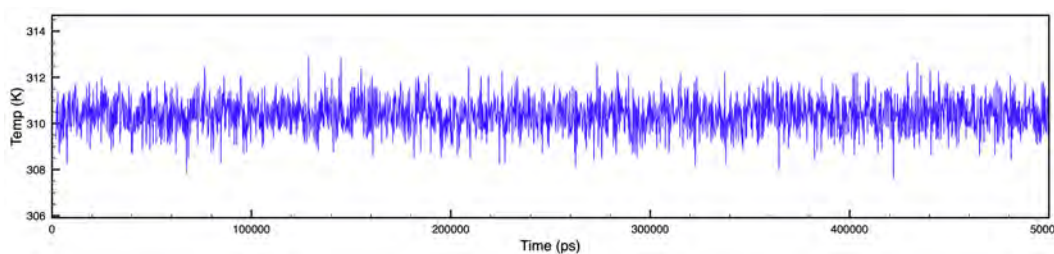
**Figura A.25:** Energía total L002 sistema 4



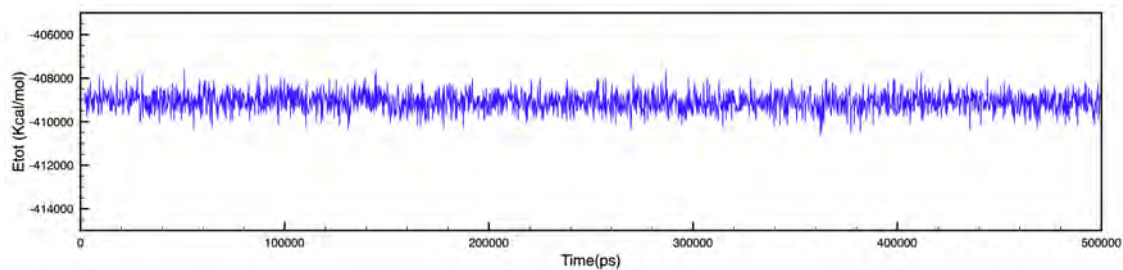
**Figura A.26:** Temperatura L002 sistema 4



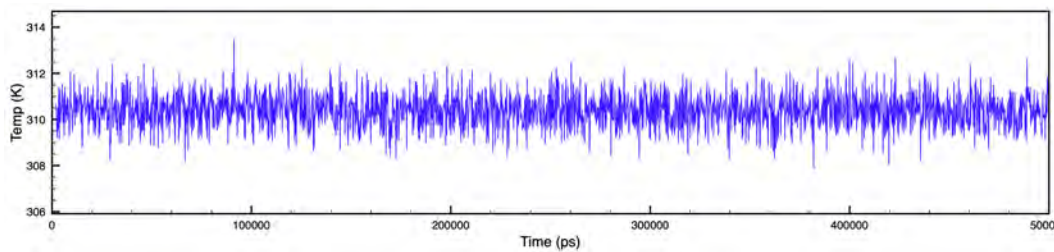
**Figura A.27:** Energía total L009 sistema 2



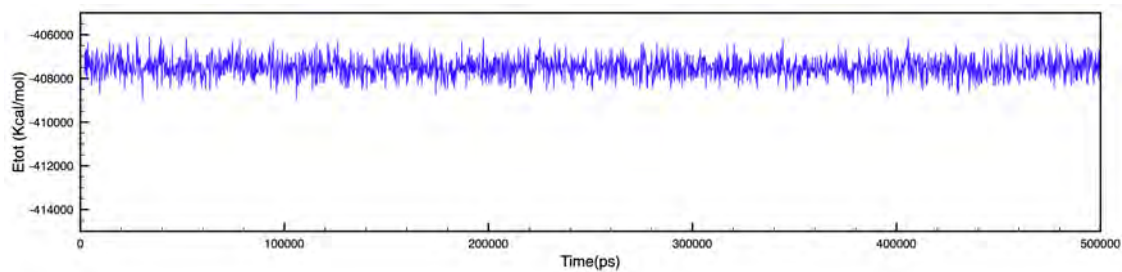
**Figura A.28:** Temperatura L009 sistema 2



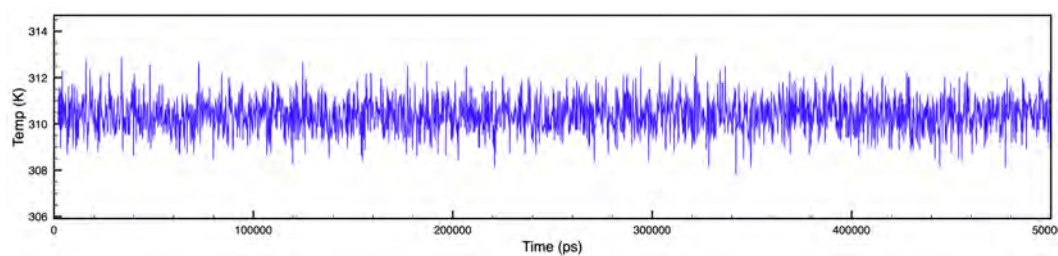
**Figura A.29:** Energía total L009 sistema 3



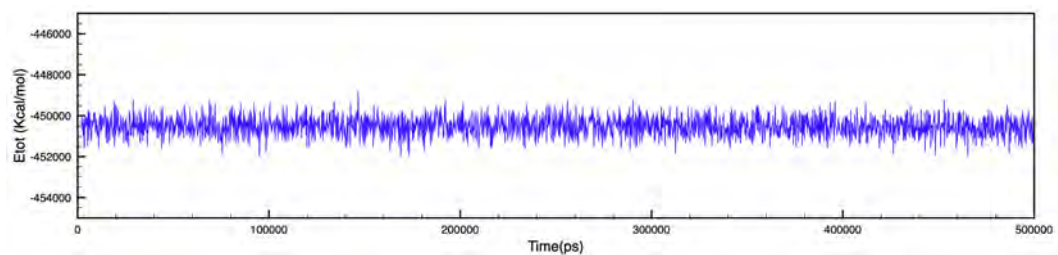
**Figura A.30:** Temperatura L009 sistema 3



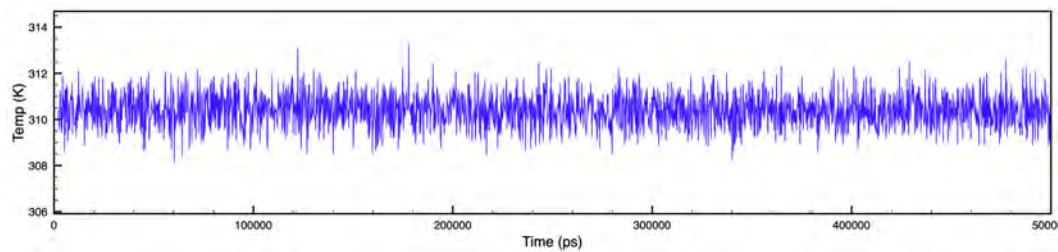
**Figura A.31:** Energía total L09 sistema 4



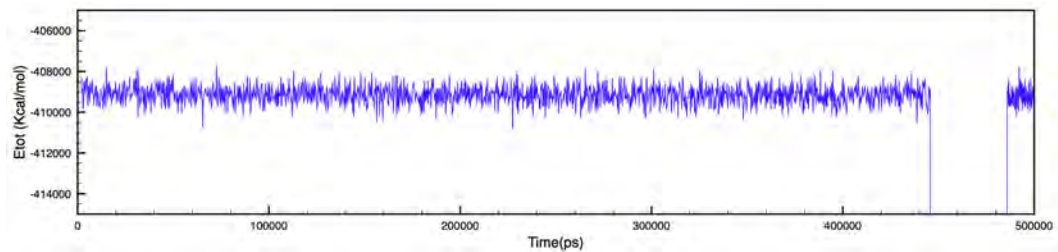
**Figura A.32:** Temperatura L09 sistema 4



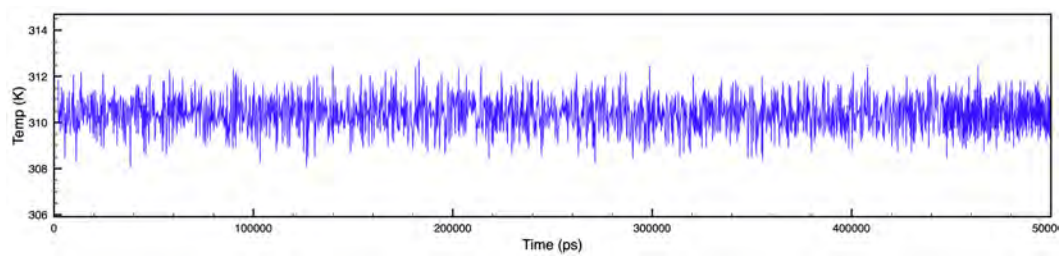
**Figura A.33:** Energía total L022 sistema 2



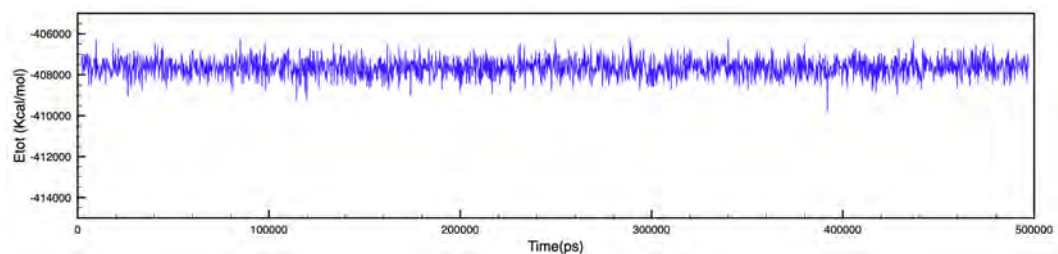
**Figura A.34:** Temperatura L022 sistema 2



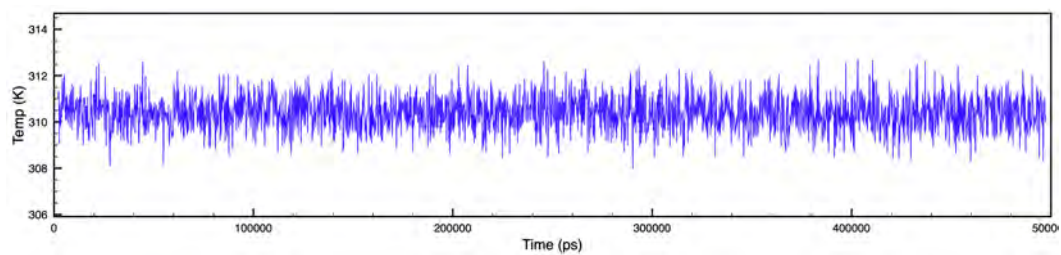
**Figura A.35:** Energía total L022 sistema 3



**Figura A.36:** Temperatura L022 sistema 3

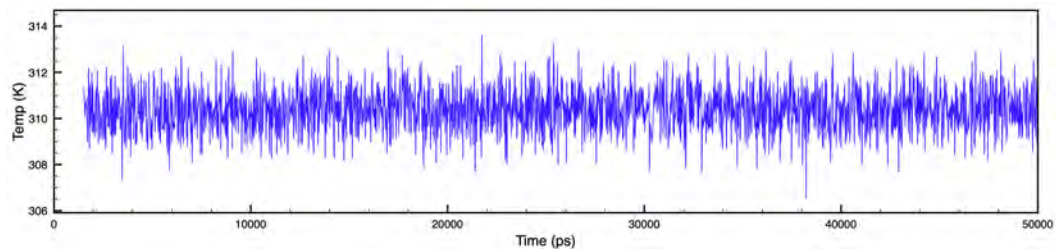


**Figura A.37:** Energía total L022 sistema 4

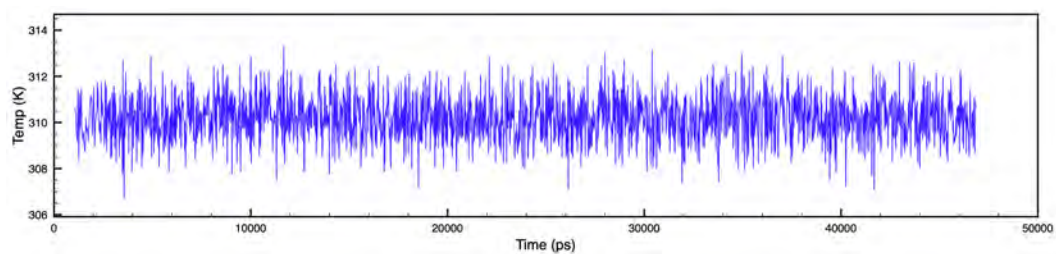


**Figura A.38:** Temperatura L022 sistema 4

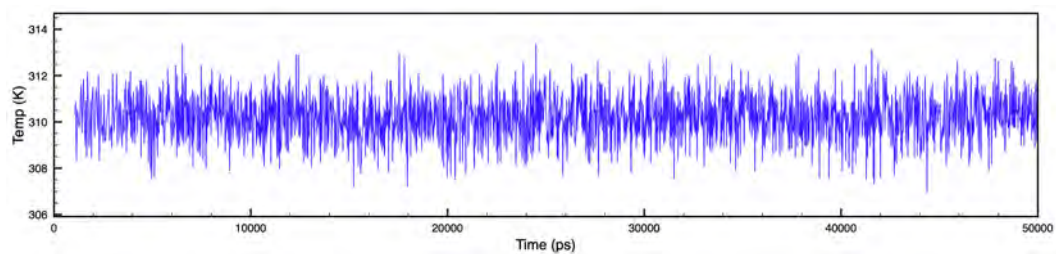




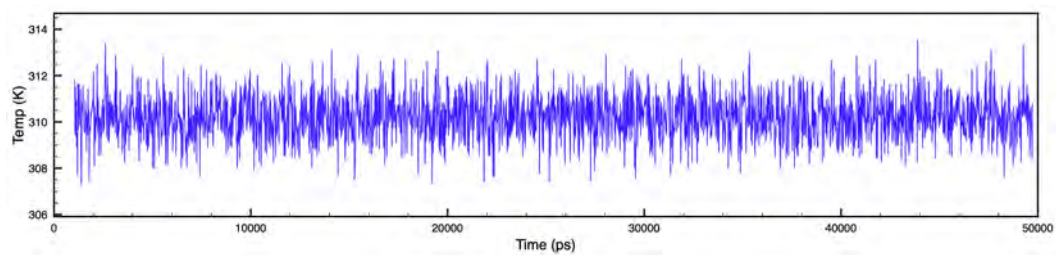
**Figura A.39:** Temperatura L255 GB



**Figura A.40:** Temperatura L141 GB



**Figura A.41:** Temperatura L002 GB



**Figura A.42:** Temperatura L009 GB





## Bibliografía

---

- [1] A. T. Plowright, A. C. J. (2012). Hypothesis driven drug design: Improving quality and effectiveness of the design-make-test-analyse cycle. *Drug Discovery Today*, 17:56–62. [3](#), [4](#)
- [2] B. S. Taylor, M. E. Sobieszczyk, F. E. M. (2008). The challenge of hiv-1 subtype diversity. *New England Journal of Medicine*, 15:1590–1602. [10](#)
- [3] Bajorath, J. (2015). Computer-aided drug discovery. *F1000 Faculty Rev*, 4:630. [3](#), [5](#)
- [4] Castillo-Pazos, D. J. (2017). Computer-aided design of heterocyclic entry-inhibitors against human immunodeficiency virus type 1 gp120 envelope glycoprotein. Master's thesis, Universidad Autónoma del Estado de México. [XIII](#), [XIV](#), [XIV](#), [XIV](#), [XIV](#), [XIV](#), [XIV](#), [2](#), [4](#), [27](#), [29](#), [35](#), [38](#), [39](#), [40](#)
- [5] CentersforDiseaseControlandPrevention (2019). Hiv basics. url:<https://www.cdc.gov/hiv/basics/transmission.html> 06/06/2019. [14](#), [15](#)
- [6] D. B. Kitchen, H. Decornez, J. R. F. and Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3:935–949. [XIII](#), [27](#), [28](#)
- [7] D. L. Robertson, P. M. Sharp, F. E. M. (1995). Recombination in hiv. *Nature*, 374:124–126. [10](#)
- [8] E. J. Arts, D. J. H. (2012). Hiv-1 antiretroviral therapy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, pages 1–23. [XIII](#), [13](#), [18](#), [19](#)
- [9] E. W. Fiebig, D. J. Wright, B. D. R. (2003). Dynamics of hiv viremia and antibody seroconversion in plasma donors: Implications for diagnosis and staging of primary hiv infection. *AIDS*, 17:1871–1789. [14](#)
- [10] F. Ban, K. Dalal, H. L. (2017). Best practices of computer-aided drug discovery: Lessons learned from the development of a preclinical candidate for prostate cancer with a new mechanism of action. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 57:1018–1028. [3](#)

## BIBLIOGRAFÍA

---

- [11] F. Barré-Sinoussi, A. L. Ross, J. D. (2013). Hiv/aids review. *Nature Reviews Microbiology*, 11:877–883. [xiii](#), [6](#), [13](#), [14](#)
- [12] Frenkel, D. (1995). *Understanding Molecular Simulation*. Academic Press, New York. [29](#), [30](#)
- [13] Fuxreiter, M. (2015). *Computational Approaches to Protein Dynamics*. CRC Press, New York. [30](#)
- [14] G. Maartens, C. Celum, S. R. L. (2014). Hiv infection: Epidemiology, pathogenesis, treatment and prevention. *Lancet*, 384:258–271. [xiii](#), [18](#)
- [15] Hopkins, C. W. (2015). Long-time-step molecular dynamics through hydrogen mass repartition. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 11:1864–1874. [31](#)
- [16] INEGI (2018). Información de vigilancia epidemiológica para tabla de resumen al cuarto trimestre de 2018. url:<https://www.gob.mx/censida> 01/03/19. [1](#), [8](#), [9](#)
- [17] J. Ghosn, B. Taiwo, S. S. (2018). Hiv. *Lancet*, 392:685–697. [18](#), [19](#)
- [18] Jain, A. (2017). Computer aided drug design. *Journal of Physics*, 884:1–17. [4](#)
- [19] Jorgensen, W. L. (2004). The many roles of computation in drug discovery. *Science*, 303:1813–1818. [3](#), [4](#)
- [20] Keele, B. F. (2006). Chimpanzee reservoirs of pandemic and nonpandemic hiv.1. *Science*, 313:523–526. [10](#)
- [21] Miller, B. (2012). Mmpbsa.py: And efficient program for end-state free energy calculations. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 8:3314–3321. [xiv](#), [31](#), [33](#)
- [22] Moss, J. A. (2013). Hiv/aids review. *Radiologic Technology*, 84:247–270. [xiii](#), [6](#), [9](#), [10](#), [11](#), [12](#), [13](#), [14](#), [15](#), [18](#)
- [23] Mullard, A. (2014). New drugs cost us \$ 2.6 billion to develop. *Nature Reviews Drug Discovery*, 13:877. [3](#)
- [24] N. Homeyer, H. (2012). Free energy calculations by the molecular mechanics poisson-boltzmann surface area method. *Methods Corner*, 31:114–22. [32](#)
- [25] O. Narayan, J. E. C. (1989). Biology and pathogenesis of lentiviruses. *Journal of General Virology*, 70:1617–1639. [9](#)
- [26] P. D. Kwong, R. Wyatt, J. R. (1998). Structure of an hiv gp120 envelope glycoprotein in complex with the cd4 receptor and a neutralizing human antibody. *Nature*, 393:648–658. [xiii](#), [xiii](#), [xiii](#), [xiv](#), [21](#), [22](#), [23](#), [24](#), [25](#), [36](#)
- [27] Rapaport, D. C. (2004). *The Art of Molecular Dynamics Simulation*. Cambridge University Press, Cambridge. [30](#)

- 
- [28] S. G. Deeks, J. Overbaugh, A. P. and Buchbinder, S. (2015). Hiv infection. *Nature Reviews*, pages 1–22. [XIII](#), [XIII](#), [16](#), [17](#)
- [29] UNAIDS (2018). Datos informativos sobre el vih y sida. url:<http://aidsinfo.unaids.org> 01/06/19. [XIII](#), [XIII](#), [XIII](#), [XIII](#), [XIII](#), [6](#), [7](#), [8](#), [9](#), [10](#)
- [30] Usman, A. B. B. N. and Kandi, V. (2016). Current scenario of hiv/aids, treatment options, and major challenges with compliance to antiretroviral therapy. *Cureus*, 8:1–12. [11](#)
- [31] Veselovsky, A. V. and Ivanov, A. S. (2003). Strategy of computer-aided drug design. *Current Drug Targets-Infectious Disorders*, 3:33–40. [4](#)
- [32] W. Lai, L. Huang, C. C. (2010). Hiv entry inhibitors: Progress in development and application. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 45:131–140. [XIII](#), [20](#)
- [33] Walker, B. D. and Burton, D. R. (1998). Toward an aids vaccine. *Science*, 320:760–764. [XIII](#), [21](#)
- [34] Wang, T. (2009). Inhibitors of hiv-1 attachment. part 4: A study of the effect of piperazine substitution patterns on antiviral potency in the context of indole-based derivatives. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters*, 19:5140–5145. [29](#)
- [35] WorldHealthOrganization (2005). Interim who clinical staging of hiv/aids and hiv/aids case definitions for surveillance. url:<https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/casedefinitions/en/> 08/06/2019. [15](#)
- [36] WorldHealthOrganization (2006). Who case definitions of hiv for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of hiv-related disease in adults and children. url:<https://www.who.int/hiv/pub/vct/hivstaging/en/> 08/06/2019. [15](#), [17](#)
- [37] Y. Zhang, Y. Niu, J. T. (2017). The glucan-mediated mechanism on the interactions of gp120 with cd4 and antibody: Insights from molecular dynamics simulation. *Chemical Biology Drug Design*, 90:1237–1246. [21](#)
- [38] Yang, Z. (2005). Preclinical pharmacokinetics of a novel hiv-1 attachment inhibitor bms-378806 and prediction of its human pharmacokinetics. *Biopharmaceutics Drug Disposition*, 26:387–402. [XIII](#), [28](#), [29](#)