REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica

EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN FÁRMACO RECEPTOR ENTRE LA "(3S) -3-AMINO-1-HIDROXI-3,4-DIHIDROQUINOLIN-2-(1H)-ONA" Y LA QUINURENINA AMINO TRANSFERASA II (KAT II), MEDIANTE MÉTODOS COMPUTACIONALES

Tesis presentada por la **Bachiller**:

Quispe Lipa, Miriam Bricela

para optar el Título Profesional de:

Ingeniera Biotecnóloga.

Asesor: Dr. Gómez Valdez Badhin

Arequipa – Perú

2018

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

UNIVERSIDAD CATOLICA SANTA MARIA
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas
Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica

Expediente N°. **15051151**
N° Trámite en Fac. **262-2015**
Fecha Recep. Fac. **14-12-2015**

FORMATO UNICO PARA TRAMITACIÓN DE TÍTULO PROFESIONAL

DE: ***QUISPE LIPA, Miriam Bricela***

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE **INGENIERO BIOTECNOLOGO**

"EVALUACION DE LA INTERACCION FARMACO RECEPTOR ENTRE LA (3S) -3-AMINO-1-HIDROXI-3,4-DIHIDROQUINOLIN-2-(1H)-ONA Y LA QUINURENINA AMINO TRANSFERASA II (KAT II), PARA ELUCIDAR EL MECANISMO DE REACCION EN EL TRATAMIENTO DE LA ESQUIZOFRENIA"

DICTAMINADORES: *1) Dr. Jaime Cárdenas García* *2) Dr. José Villanueva Salas*

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, el Jurado Dictaminador del Plan de Tesis informa que, hechas las observaciones y subsanadas las correcciones, sugerimos que el título debe cambiar a: ***"EVALUACION DE LA INTERACCION FARMACO RECEPTOR ENTRE LA (3s)– 3-AMINO-1-HIDROXI-3,4-DIHIDROQUINOLIN-2-(1H)-ONE Y LA QUINURENINA AMINO TRANSFERASA II (KAT II),PARA ELUCIDAR EL MECANISMO DE REACCION EN EL TRATAMIENTO DE LA ESQUIZOFRENIA"*** después de lo cual consideramos se encuentra APTO para continuar con el trámite de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.

Atentamente

FIRMAS: (Devolver antes de 8 días hábiles) FECHA 8/1/16

ASESOR: ***Dra. Badhin Gómez Valdez***

DICTAMEN ASESORÍA:

Habiendo realizado el manuscrito y culminado la investigación, pongo a disposición de los jurados el borrador de tesis: EVALUACIÓN DE LA INTERACCIÓN FÁRMACO RECEPTOR ENTRE LA "(3S)-3 AMINO-1-HIDROXI-3,4-DIHIDROQUINOLIN-2-(1H)-ONA" Y LA QUINURENINA AMINO TRANSFERASA II (KAT II), PARA DILUCIDAR EL MECANISMO DE REACCIÓN EN EL TRATAMIENTO DE ESQUIZOFRENIA MEDIANTE MÉTODOS COMPUTACIONALES; ante su despacho.

FIRMA FECHA 11/01/2018

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

1) ***Dr. José Villanueva Salas***
2) ***Dr. Jaime Cárdenas García***
3) ***Mgter. Jaime Barreda del Carpio***

DICTAMEN FINAL: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, atendiendo a su designación como Dictaminadores del presente Borrador de Tesis y luego de hechas las observaciones y correcciones pertinentes, cumpliendo con las exigencias mínimas establecidas para un trabajo de investigación de Tesis profesional, es que consideramos APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.

Atentamente

FIRMA (Devolver antes de 15 días hábiles) FECHA 21/3/18

JURADOS: PRESIDENTE
VOCAL
SECRETARIO

FECHA 02/04/18 HORA 19.00 LOCAL SUM C-402

FIRMA DEL DECANO FECHA 23/03/18

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Dedicatoria

La presente tesis, se la dedico en primer lugar a Dios por cambiar mi vida y por ser Él quien guía mi camino, también quiero dedicársela y agradecer a mis seres queridos que siempre han estado presentes y apoyándome, en especial a mi familia: A mi madre que se encuentra en el cielo, a mi padre Antonio, a mis hermanos Rocío y John; por que frente a las adversidades me han demostrado su compresión y amor, y sin su apoyo incondicional en cada momento de mi vida nada sería posible.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Agradecimientos

Quiero agradecerle a toda mi familia en especial: a mi madre, a mi padre y a mis hermanos, también quiero agradecerle al Dr. Badhín G., investigador principal del Centro de investigación en Ingeniería Molecular (CIIM) por ser mi asesor e impartirme sus conocimientos, agradezco a los tesistas del CIIM (2016-2017), y a mis amigos en especial a Marizeth,, Lili, Ángela, Dante, Rosa y Carla, por brindarme su apoyo incondicional, consejos e incentivarme a seguir adelante.

Agradezco también, al Vicerrectorado de Investigación, al Programa FONDECyT (Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico) que financió la presente tesis mediante el proyecto 140-2015-FONDECyT, agradezco al CIIM por haberme brindado la oportunidad de desarrollar la presente Tesis que forma parte del trabajo de investigación del área de Diseño de Fármacos para la Esquizofrenia y por haberme permitido formar parte de ésta gran familia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades mentales producen un declive significativo en las relaciones sociales, familiares y otros aspectos ocupacionales en las personas afectadas. Además, el incremento substancial de los problemas de salud mental se relaciona al nivel socioeconómico, lo cual repercute en la economía de la población vulnerable a nivel mundial. Dentro de las enfermedades mentales se encuentran los trastornos psicóticos, los cuales se caracterizan porque los individuos afectados sufren severas pérdidas cognitivas en relación con la realidad, presentando síntomas frecuentes como delirios y alucinaciones que deterioran notablemente el comportamiento y pensamiento de las personas, Entre estos trastornos se encuentran la esquizofrenia.

La esquizofrenia, es un trastorno psicótico grave, complejo y devastador, que afecta a la salud mental del individuo, este trastorno está formado por un conjunto heterogéneo de síntomas que se dividen en positivos, negativos y cognitivos. Los síntomas positivos son conductas o pensamientos que se encuentran fuera de la realidad como ideas delirantes y alucinaciones. Los síntomas negativos se caracterizan por apatía, afecto plano, déficit de energía. Por último, los síntomas cognitivos se manifiestan como un declive de las funciones cognitivas, sociales, deterioro de la atención y la memoria. Los pacientes que padecen esta enfermedad por lo general experimentan graves deficiencias en varios ámbitos de la vida, que incluyen la inhabilitación de mantener vínculos sociales, mantener el empleo y vivir de manera autosuficiente.

A pesar de los síntomas presentes en este trastorno la etiología de la esquizofrenia sigue siendo poco clara, sin embargo, existe evidencia sustancial que sugiere ciertos cambios en varios sistemas de neurotransmisores que conducen a la formación de la enfermedad como la vía de la neurotransmisión dopaminérgica que se relaciona con los receptores D1 y D2 de la dopamina, la mayoría de los fármacos antipsicóticos que han sido desarrollados se han basado en ésta vía, sin embargo, muchos de estos fármacos producen efectos secundarios adversos para el paciente, es por esto que actualmente se estudian nuevas vías para el tratamiento de la enfermedad. Un nuevo objetivo de estudio

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

es la vía de la desregulación glutamatérgica, que revela niveles elevados de Ácido Quinurénico (KYNA) a nivel cerebral. Actualmente viene siendo estudiado porque a niveles elevados KYNA actúa como un antagonista de los receptores ionotrópicos del Glutamato (NMDA, AMPA y Kainato).

Por otro lado, las isoenzimas responsables de la formación de Ácido quinurénico son las Quinureninas Aminotransferasas (KAT I, II, III, IV) debido a que convierten irreversiblemente la Quinurenina en KYNA, no obstante, la Quinurenina Aminotransferasa II (KAT II), produce más del 50% de KYNA en el cerebro humano; por ende, la inhibición de la KAT II es un objetivo principal para la disminución de KYNA a nivel cerebral, por ello se han realizado varios estudios de modulación farmacológica de la vía de KYNA, en donde se descubrió el fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona como un potencial inhibidor activo de la KAT II, el cual forma un enlace covalente con el cofactor de la enzima Piridoxal-5-fosfato (PLP), lo cual permite regular los niveles de KYNA a nivel cerebral, siendo esta una vía alternativa para el tratamiento de la esquizofrenia y otras enfermedades del SNC.

La Bioinformática estructural es una herramienta que usa la abundante información estructural para identificar, diseñar y optimizar estructuras macromoleculares y sus posibles interacciones, de tal forma que se generen modelos que se puedan simular *in silico*. El presente estudio tuvo como objetivo general evaluar la interacción fármaco receptor entre la (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona y la quinurenina amino transferasa II (KAT II) en el tratamiento de la esquizofrenia, mediante herramientas bioinformática que emplea métodos de mecánica cuántica y molecular.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

RESÚMEN

La esquizofrenia es un trastorno mental grave que produce el deteriodo cognitivo de la mente de manera progresiva. Una vía para el tratamiento de la esquizofrenia es la reducción de Ácido Quinurénico (KYNA), mediante la inhibición de la enzima quinurenina Amino Transferasa II (KAT II), debido a que a niveles elevados KYNA actúa como antagonista de la neurotransmisión glutamatérgica. En este estudio se empleó métodos clásicos de mecánica molecular (MM) con el colectivo canónico NVT a temperatura constante, para la optimización estructural de la enzima KAT II y con el uso de la teoría funcional de la densidad (TFD) se optimizaron las estructuras del cofactor Piridoxal-5-fosfato (PLP) y el fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2(1H)-ona (PF-04859989). Así mismo, se evaluó el acoplamiento (docking) receptor-ligando de dos sistemas, cuando la apoenzima de la KAT II se une al cofactor PLP y cuando la enzima KAT II interactúa con el fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2(1H)-ona, con ello se encontró que ambos sistemas interactuantes presentaron una estabilidad estructural a partir de 5ns hasta culminar la trayectoria. Finalmente, las energías de interacción obtenidas en el proceso de docking en ambos casos, fueron de -34.7923 kJ/mol y de -28.3446 kJ/mol respectivamente, siendo esta reacción altamente favorable para la inhibición de la enzima KAT II.

Palabras claves: Esquizofrenia, KAT II.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ABSTRACT

Schizophrenia is a serious mental disorder that progressively produces cognitive deterioration of the mind. One way for the treatment of schizophrenia is the reduction of Quinurenic Acid (KYNA), by inhibiting the enzyme kynurenine Amino Transferase II (KAT II), because at high levels KYNA acts as an antagonist of glutamatergic neurotransmission. In this study, classical methods of molecular mechanics (MM) were used with the canonical collective NVT at constant temperature, for the structural optimization of the KAT II enzyme and with the use of functional density theory (FDT) the structures of the cofactor Pyridoxal-5-phosphate (PLP) and the drug (3S) -3-amino-1-hydroxy-3,4-dihydroquinolin-2 (1H) -one (PF-04859989). Likewise, the receptor-ligand docking of two systems was evaluated when the KAT II apoenzyme joins the PLP cofactor and when the KAT II enzyme interacts with the drug (3S) -3-amino-1-hydroxy -3,4-dihydroquinolin-2 (1H)-one, with this it was found that both interacting systems presented a structural stability from 5ns until the trajectory was completed. Finally, the interaction energies obtained in the docking process in both cases were -34.7923 kJ / mol and -28.3446 kJ / mol respectively, this reaction being highly favorable for the inhibition of the KAT II enzyme.

Key words: Schizophrenia, KAT II.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CONTENIDO

Dedicatoria I

Agradecimientos II

Introducción III

Resúmen V

Abstract VI

Contenido VII

Índice de Figuras XI

Índice de Tablas XV

Glosario XVI

1. Marco Teórico 01

1.1. Enfermedades Mentales 01

1.1.1. Trastornos psicóticos 01

1.2. La esquizofrenia 02

1.2.1. Epidemiología 02

1.2.1.1. Morbilidad y mortalidad 02

1.2.2. Factores de riesgo 03

1.2.3. Mecanismos Fisiopatológicos 05

1.2.3.1. Mecanismos genéticos 06

1.2.3.2. Factores del neurodesarrollo 06

1.2.3.3. Neuroimagen estructural de cerebros post-mortem 07

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1.2.3.4. Bases moleculares de la esquizofrenia 09

1.2.3.4.1. Hipótesis dopaminérgica..... 09

1.2.3.4.2. Vía de desregulación de la neurotransmisión glutamatérgica 10

1.3. Vía de la Quinurenina (VQ) 11

1.3.1. Propiedades de quinureninas neuroactivas 12

1.3.2. Quinurenina 12

1.3.3. Quinurenina aminotransferasa 12

1.3.3.1. Quinurenina Aminotransferasa II (KAT II)..... 14

1.3.3.2. Ácido Quinurénico (KYNA) 16

1.3.3.3. Inhibidores de Kat II..... 17

1.3.4. Tratamiento 18

1.3.4.1. Tratamientos farmacológicos 18

1.3.4.2. Tratamientos psicosociales 20

1.4. La Bioinformática Estructural 20

1.4.1. Mecánica cuántica..... 21

1.4.1.1. La ecuación de Schrödinger 21

1.4.1.2. Teoría funcional de la densidad..... 22

1.4.1.3. Teorema de Hohnberg y Kohn..... 22

1.4.1.4. Modelo de Kohn y Sham 23

1.4.1.5. Funcional de Intercambio y Correlación 23

1.4.1.6. Funcionales corregidos a largo alcance 23

1.4.1.6.1. CAM-B3LYP 24

1.4.1.7. Funciones Base 24

1.4.1.7.1. Funciones tipo Gaussianas (FTG) 25

1.4.1.7.2. Conjunto base TZVP 25

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1.4.1.8. Cálculo de Frecuencias 25

1.4.1.9. Cargas de Mulliken 26

1.4.1.10. Cargas de Hirshfeld 26

1.5. Mecánica molecular 26

1.5.1. Campos de Fuerza (CF) 27

1.5.2. Campo de Fuerza OPLS-AA 28

1.6. Dinámica Molecular 29

1.6.1. Algoritmo de Integración 30

1.6.2. Algoritmo de Verlet 30

1.6.3. Optimización geométrica 32

1.6.3.1. Gradiente descendiente 32

1.7. Colectivo Canónico 33

1.8. Acoplamiento Molecular 34

1.8.1. Función de Puntuación 35

1.8.2. Potencial electrostático 35

2. Detalles computacionales y metodología 38

2.1. Equipos y Software 38

2.2. Metodología 41

2.2.1. Optimización de la estructura del fármaco y el cofactor a nivel de Teoría Funcional de la Densidad 41

2.2.2. Optimización de ligandos mediante mecánica clásica 42

2.2.3. Selección de la estructura KAT II 43

2.2.4. Minimización de la energía de las estructuras de la KAT II a nivel de Mecánica Molecular usando solvente explícito 43

2.2.5. Simulaciones de Dinámica Molecular de las estructuras terciarias 43

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

2.2.6. Ensamblaje Molecular "Docking" de las estructuras cuaternarias 44

2.2.7. Simulación de dinámica molecular de sistemas interactuantes 44

2.2.8. Evaluación de las propiedades del potencial electrostático 45

2.2.9. Función de distribución radial 45

3. Resultados y discusión **46**

3.1. Optimización molecular de ligandos 46

3.1.1. Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona 47

3.1.2. Cofactor (Piridoxal-5-fosfato 49

3.2. Selección de la estructura KAT II 50

3.3. Minimización de la estructura de la Apoenzima 51

3.4. Optimización estructural de proteínas terciarias 52

3.4.1. Estructura molecular de la Apoenzima 52

3.4.2. Estructura molecular de la enzima KAT 56

3.5. Acoplamiento Molecular 61

3.5.1. Acoplamiento Molecular Apoenzima - cofactor 61

3.5.2. Acoplamiento Molecular Enzima - fármaco 64

3.6. Evaluación de las propiedades del potencial electrostático y función de distribución radia …… 67

3.6.1. Potencial electrostático Apoenzima - cofactor 67

3.6.2. Potencial electrostático de la Enzima - fármaco 69

3.6.3. Función de distribución radial (RDF) de la interacción Apoenzima - cofactor .. 69

3.6.4. Función de distribución radial (RDF) de la interacción Enzima - cofactor 70

Conclusiones **71**

Bibliografía **72**

Anexos **87**

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Índice de figuras

Figura N° 01	Cambios en el volumen cerebral en la esquizofrenia.	08
Figura N° 02	Cambios en el volumen anual de todo el cerebro de un estudio longitudinal	08
Figura N° 03	Vía de la neurotransmisión glutamatérgica	11
Figura N° 04	Ciclo catalítico de la KAT II, que utiliza la quinurenina para producir Ácido quinurénico (KYNA).	13
Figura N° 05	Estructura de Quinurenina aminotransferasa II (KAT II).	14
Figura N° 06	Biosíntesis de KYNA.	17
Figura N° 07	Gradiente descendiente.	33
Figura N° 08	Formato final del archivo .gjf visto en el editor de texto medit.	42
Figura N° 09	Optimización de la estructura del Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona y Cofactor Piridoxal-5-fosfato.	46
Figura N° 10	Representación molecular de la estructura del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona, a) Estructura en 2D y b) En forma de bolas y varillas.	47
Figura N° 11	Desviación media cuadrática de la estructura del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	48
Figura N° 12	Diagrama de la energía Total del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona en 500ns.	48
Figura N° 13	Representación molecular de la estructura del cofactor Piridoxal-5-fosfato (PLP), a) Estructura en 2D y b) En	49

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

forma de bolas y varillas.

Figura N° 14 Desviación media cuadrática del Piridoxal-5-fosfato. 49

Figura N° 15 Diagrama de la energía total del cofactor Piridoxal-5-fosfato (PLP). 50

Figura N° 16 Alineamiento múltiple de las estructuras de las KAT II reportadas. 51

Figura N° 17 Estructura inicial de la enzima Quinurenina aminotransferasa (KAT II), que corresponde al modelo de estudio elegido archivo 5EUN.pdb. 51

Figura N° 18 Minimización de energía de la KATII sin cofactor o también denominada “apoenzima”. 52

Figura N° 19 Estructura inicial y final terminada la dinámica molecular de la apoenzima. 52

Figura N° 20 Puentes de hidrógeno (color amarillo) presentes en la estructura de la Apoenzima 53

Figura N° 21 Desviación Media Cuadrática (RMSD) de la Apoenzima. 53

Figura N° 22 Fluctuación de la Desviación Media Cuadrática (RMSF) de la Apoenzima. 54

Figura N° 23 Energía total obtenida en la Dinámica Molecular de la apoenzima. 55

Figura N° 24 Estructura Promedio de la apoenzima, empleada para la realización del Docking. 55

Figura N° 25 Análisis del Diagrama de Ramachandran de la estructura de la Apoenzima. 56

Figura N° 26 Estructura inicial y final obtenida luego de la dinámica molecular de la Quinurenina Aminotransferasa II. 67

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Figura N° 27	RMSD de la enzima KAT II.	67
Figura N° 28	RMSF de la KAT II unida al PLP	58
Figura N° 29	Energía Total de la enzima KAT II	59
Figura N° 30	Estructura Promedio de la enzima Quinurenina Amino Transferasa II , empleada para la realización del Docking	59
Figura N° 31	Análisis del Diagrama de Ramachandran de la estructura promedio de la enzima KAT II..	60
Figura N° 32	Acoplamiento molecular realizado con el servidor Hex para la estructura de la apoenzima unida al cofactor Piridoxal-5-fosfato	61
Figura N° 33	Desviación media cuadrática (RMSD) de la interacción Apoenzima – Cofactor (PLP).	62
Figura N° 34	Fluctuación de la desviación media cuadrática entre la interacción de la apoenzima con el cofactor	62
Figura N° 35	Número de puentes de hidrógeno del Docking de la apoenzima con el cofactor PLP.	63
Figura N° 36	Acoplamiento molecular de la enzima KATII con el fármaco 3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	64
Figura N° 37	Desviación media cuadrática (RMSD) de la interacción de la KAT II con el Fármaco 3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.	64
Figura N° 38	Fluctuación de la desviación media cuadrática entre la interacción enzima KATII con el fármaco 3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona	65

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Figura N° 39	Energía total de la interacción de la KAT II con el fármaco.	66
Figura N° 40	Formación de los puentes de hidrógeno del Docking de la KAT II con el Fármaco.	66
Figura N° 41	Estructura interactuante del cofactor (PLP) - enzima KAT II antes de la evaluación del potencial electrostático.	68
Figura N° 42	Potencial electrostático de la interacción del cofactor (PLP) - apoenzima.	68
Figura N° 43	Potencial electrostático de la interacción de la enzima con el fármaco luego del Docking.	69
Figura N° 44	Función de distribución radial de la interacción cofactor-Apoenzima	70
Figura N° 45	Función de distribución radial de la interacción de la enzima KAT II con el fármaco.	70

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Índice de tablas

Tabla N° 01	Disposición para la realización del dockeo de proteínas terciarias.	44
Tabla N° 02	Valores de la energía de interacción:	67

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Glosario

1. OMS (Organización Mundial de la Salud)
2. mGluR = Receptores metabotrópicos del glutamato.
3. NMDA = (N-Metil-D-Aspartato)
4. In Sílico = Simulación hecha, empleando herramientas computacionales.
5. Neurotransmisores = Es un neuromediador, biomolécula que transmite señales de una neurona presináptica a otra post sináptica, unidas mediante una sinapsis.
6. DA = Dopamina
7. Glu = Glutamato
8. CPF = Corteza Pre-Frontal.
9. iGluR = Receptores Ionotrópicos del Glutamato.
10. AMPA = Ácido alfa-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico.
11. KYNA = Ácido Kinurénico.
12. KAT = Quinurenina Aminotransferasa.
13. TRT = Triptófano.
14. LCR =Líquido Cefalorraquídeo.
15. PLP = Piridoxal-5-fosfato.
16. MM = Mecánica Molecular.
17. MQ = Mecánica Cuántica.
18. Slater type orbital (STO) = Un orbital tipo slater es un orbital atómico aproximado, donde se tiene en cuenta proceso de repulsión de las interacciones electrón-electrón. Basándose en el principio de exclusión de Pauli.
19. Ab Initio = A primeros principios, cuando se realiza un cálculo considerando todos los términos de la función de onda.
20. Agonista alostérico = Son moduladores alostéricos que producen un efecto de activación o positivo.
21. Conjunto Base = Conjunto de funciones que generan una representación inicial para comenzar los cálculos, generalmente presentan formas exponenciales, potencias o gaussianas.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

22. Matriz de Hessianos = Es una matriz cuyos elementos que lo conforman no son más que las constantes de fuerza generada por una segunda derivada de la energía con respecto a la posición.
23. Semi - empírico = Método de cálculo a primeros principios, con la variante del uso de introducción de aproximaciones de las integrales de dos electrones y tres centros, y los de tres electrones y tres centros.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO I

Marco teórico

1.1. Enfermedades Mentales

Las enfermedades mentales se caracterizan por un cambio clínico y significativo de la cognición del individuo, su estado emocional y conductual, que refleja una desregulación de los procesos psicológicos, biológicos y del desarrollo, que se hallan implicados en el funcionamiento mental. Estos trastornos se asocian con elementos particulares que producen un declive significativo en las relaciones sociales, familiares u otros aspectos ocupacionales.[1] Estudios epidemiológicos revelan que el inicio de algunos trastornos mentales se da en la etapa de la infancia y que en la población adolescente existe una estimación muy marcada de la presencia de diversos tipos de estos trastornos que se relacionan con ansiedad, conducta, estado de ánimo y por abuso de algunas drogas.[2,3] También se informa que la incidencia de estas enfermedades es mayor en mujeres que en varones.[4] Otros estudios evidenciaron que existe una alta prevalencia de las enfermedades mentales en personas que se encuentran recluidas en comparación con la población en general.[5] Los problemas de salud mental tienen un impacto sustancial a nivel socioeconómico que afecta a la población mundial.[6]

1.1.1. Trastornos psicóticos

La psicosis es un estado en el que el individuo sufre severas pérdidas de relación con la realidad, donde los síntomas más comunes son los delirios y alucinaciones, además el pensamiento y el comportamiento de la persona se deterioran notablemente. [7]

Según el DSM-5 (*Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales*) las psicosis se agrupan en una sección definida como “La esquizofrenia y otros trastornos psicóticos primarios”, que incluyen: esquizofrenia, trastorno esquizoafectivo, trastorno esquizo-freniforme, trastorno psicótico breve, trastorno delirante, trastorno psicótico inducido por sustancias, trastorno psicótico secundario a una enfermedad médica, catatonia asociada a una enfermedad médica y trastorno psicótico no especificado.[1]

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Los trastornos psicóticos se relacionan con la mala articulación cognitiva, larga duración de los síntomas, altos niveles de depresión y la reducción de la atención, por otro lado, también se considera que la psicosis puede ser generada por un estado médico como la demencia de tipo alzhéimer, un daño traumático cerebral o por consumo de sustancias psicoactivas como anfetaminas y cannabis. [8]

1.2. La esquizofrenia

Es un trastorno mental grave, complejo y devastador que produce el deterioro cognitivo de la mente de manera progresiva, de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) esta enfermedad afecta a más de 21 millones de personas alrededor del mundo.[9] Este trastorno mental está formado por un conjunto heterogéneo de síntomas que se dividen en distintas categorías positivos, negativos y cognitivos. Los síntomas positivos son conductas o pensamientos que se encuentran fuera de la realidad, consisten en ideas delirantes, alucinaciones, lenguaje y comportamiento desorganizado. Los síntomas negativos se relacionan con el "síndrome de desmotivación" que se caracteriza por apatía, afecto plano, déficit de energía y anhedonia (incapacidad de sentir placer).[10] Por último, están los síntomas cognitivos que se muestran como una agrupación de disfunciones cognitivas. Estos síntomas se dan al inicio de la enfermedad, sin embargo, no se conocen como tal sino como una fase prodrómica (que se expresa antes de un episodio psicótico), se manifiesta como un declive de las funciones cognitivas, sociales, deterioro de la atención, memoria y funciones ejecutivas; estos signos por lo general se dan al comienzo de la adolescencia y se encuentran presentes antes y después de la aparición de los episodios psicóticos.[11]

Los pacientes con esta enfermedad por lo general experimentan graves deficiencias en varios ámbitos de la vida, que incluyen la inhabilitación de mantener vínculos sociales, mantener el empleo y vivir de manera auto insuficiente. Estos déficits normalmente persisten luego de que las personas alcanzan la remisión de los síntomas psicóticos.[12]

1.2.1. Epidemiología

1.2.1.1. Morbilidad y mortalidad

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

En un estudio realizado en América del Norte, se demostró que la prevalencia puntual de la esquizofrenia es de 5 de cada 1000 personas en la población, su estimación, también depende de la distribución por edades de la población y ésta oscila generalmente entre 2,7/1000 a 8,3/1000, si en éste rango se hallan personas muy jóvenes con bajo riesgo de adquirir la enfermedad la estimación va a ser menor.[13] Otro estudio epidemiológico donde la muestra final fue de 6424 sujetos, de los cuales 1362 eran latinos. Se encontró que los afro-americanos presentaron la mayor prevalencia (25%), seguido por los europeo-americanos (22%) y por último los latinos (19%).[14, 15] En el Perú se estima un 5% de casos reportados de personas que presentan esta enfermedad.

El rango de incidencia anual de la esquizofrenia es de 0,11/ 1000/ año a 0,70/ 1000/ año. Estudios realizados sobre las cifras de prevalencia e incidencia de la esquizofrenia sobre las mismas áreas muestran que la prevalencia puntual es más de 10 veces la incidencia anual, lo que indica la naturaleza crónica del trastorno.[16, 17]

Diferentes estudios de mortalidad reportaron una tasa elevada en personas que padecían esta enfermedad, la tasa de mortalidad promedio en varones fue de 3,05 % y en damas se registró una tasa de 2,35 %.[18, 19] Una revisión que consideró estos estudios mostró un promedio general 2,6 % y en un estudio reciente que sólo incluían personas mayores de 65 años de edad que padecían la enfermedad se reportó un promedio de 2,69 en comparación con la población en general. [20,21]

Se considera como causas principales de esta elevada tasa de mortalidad de los pacientes; al alto riesgo de suicidio como principal contribuyente al inicio del curso de la enfermedad, [22] a la enfermedad cardiovascular como principal contribuyente en los últimos años.[23] La persistencia de una elevada tasa de tabaquismo al igual que el consumo de alcohol y otras sustancias, [24] el aumento de la probabilidad de tener un estilo de vida poco saludable y los efectos promotores de la obesidad de los fármacos antipsicóticos que poseen efectos secundarios y en algunos casos contribuyen al síndrome metabólico, la diabetes y la mortalidad respiratoria entre estos pacientes. Las enfermedades físicas en las personas con esquizofrenia son comunes, pero se diagnostican tarde y son tratadas de manera insuficiente.[25]

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

1.2.2. Factores de riesgo

Diversos grupos presentan factores de riesgo que influyen en el desarrollo de la enfermedad, entre estos factores se encuentran. Los eventos prenatal y perinatal, se dan en personas que experimentan un exceso de complicaciones en la vida fetal y al nacer tienen un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad; también se ha encontrado una mayor sobreexpresión de la enfermedad en personas que nacieron a finales de las estaciones de invierno y primavera, este exceso puede deberse a una mayor probabilidad de que el cerebro del feto está expuesto a infecciones respiratorias o a una desnutrición materna. Se presume que estos factores de riesgo de vida temprana tienen un efecto sobre el desarrollo de la conectividad neuronal del cerebro. [26]

-La edad paterna. Los hombres que llegan a la paternidad con una edad avanzada tienen mayor probabilidad de tener un hijo que desarrolle la esquizofrenia. Sin embargo, no se sabe si esta hipótesis se debe a factores psicológicos o biológicos. Los hombres que poseen una personalidad esquizotípica pueden ser más propensos a casarse más tarde, y alternativamente, los hombres mayores pueden albergar más mutaciones que incrementan el riesgo. La evidencia actual favorece la idea de que la asociación entre finales de la paternidad y tipo esquizotípico de la personalidad pueden ser conductores predominantes de este efecto.[27]

-Sexo. Esta enfermedad ha resultado ser más frecuente y grave en hombres que en mujeres, el trastorno y el pico de edad de aparición de los síntomas psicóticos es de 20-24 años en los hombres, pero 5 o más años más tarde en las mujeres[28,29].

-Ambiente urbano. Diversos estudios han demostrado una mayor incidencia de la enfermedad en personas nacidas o criados en zonas urbanas, exclusivamente grandes ciudades y en comparación con los nacidos o criados en las zonas rurales o menos urbanizadas [30].

-Estado de la migración. Se ha demostrado un aumento en la incidencia de la esquizofrenia en muchos grupos de migrantes en comparación con aquellas personas que no

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

tienen una historia personal o familiar en la migración. Esta incidencia es mayor en migrantes negros a países europeos. Tales hallazgos sugieren que la influencia del factor ambiental, la falta de apoyo social o el aumento de la exposición a la discriminación pueden operar aumentando el riesgo de desarrollo de la enfermedad.[31]

-El abuso de drogas, ha demostrado que personas jóvenes que consumen *Cannabis sativa* (conocida como marihuana) tienen un mayor riesgo de tener esquizofrenia a futuro, y esta relación es dependiente de la dosis de consumo.[32] Además, la administración experimental de *Cannabis sativa* o su ingrediente activo *tetra-hydrocannabinol* pueden asentar los síntomas psicóticos transitorios.[33] El abuso persistente de sustancias como la anfetamina, la metanfetamina y cocaína, pueden producir un estado que se asemeja a la esquizofrenia paranoide.[34] El riesgo es mayor en individuos que comienzan el consumo de *Cannabis sativa* en la adolescencia temprana en comparación de los que empiezan en etapas posteriores.

-Adversidad social, una serie de adversidades que se presentan en la infancia, incluyendo el abuso físico, el abuso sexual, el maltrato y la intimidación están asociadas con un mayor riesgo de desarrollo de una esquizofrenia tardía.[35] Sin embargo, las personas que están genéticamente predispuestos a la enfermedad pueden ser más propensos a estar expuestos a factores de riesgo sociales que pueden ser desencadenantes para la manifestación de la esquizofrenia.

1.2.3. Mecanismos Fisiopatológicos

La esquizofrenia se da como resultado de una compleja interacción entre factores de riesgos genéticos y ambientales que intervienen en el desarrollo temprano del cerebro y en el camino de la adaptación biológica del individuo a experiencias de la vida.[36]

Diversos archivos de estudios post-mortem de pacientes que habían sido diagnosticados con esquizofrenia indican que los cerebros de estos individuos tienen graves anormalidades celulares, pero estos hallazgos no han sido confirmados por investigaciones que hayan sido rigurosamente controladas en las últimas dos décadas, lo que muestra que la patología cerebral grave no es una característica de la esquizofrenia; se infiere que las diferencias

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

macroscópicas, y las anormalidades histológicas son precedidas, por la alteración molecular y la influencia genética de los circuitos neurales que transmiten estímulos nerviosos a diversos dominios neurofuncionales.[37]

1.2.3.1. Mecanismos genéticos

La esquizofrenia es altamente heredable, así lo han demostrado estudios con gemelos.[38, 39] En la medida en que los descubrimientos genéticos identifican los mecanismos moleculares de riesgo, los estudios genéticos contemporáneos han proporcionado evidencia de muchos de los factores anteriores que intervienen en la arquitectura de riesgo de la esquizofrenia a través de diversas poblaciones. Se incluyen los loci que contienen variantes comunes que han alcanzado todo el genoma los que poseen gran importancia son los que contienen el Receptor de dopamina D2 (DRD2), los componentes de los receptores de glutamato, el Receptor metabotrópico de Glutamato (GRM3), el gen GRIN2A que codifica el receptor de glutamato de tipo AMPA y el gen GRIA1, que llevan a cabo la codificación de los mGluR3, GluN2A y Glu-A1, respectivamente, el gen Serina racemasa (SRR que codifica la racemasa de la serina, una enzima para la biosíntesis de un receptor de N-metil-D-aspartato ligando del sitio alostérico) y una gran región del cromosoma 6. Cada uno de estos loci por sí mismos representan un pequeño incremento en el riesgo individual de la persona, y las diferencias en el riesgo asociado a los alelos de frecuencia entre los casos y controles típicamente menores al 2%.[39] Por otra parte, no está claro cómo las señales genéticas se traducen en mecanismos moleculares. Sin embargo, las asociaciones genéticas nos dan pistas sobre los mecanismos moleculares subyacentes que se están explorando activamente con diversas estrategias biológicas y bioinformáticas. Un ejemplo importante es el análisis multidimensional *in silico* de los conjuntos de genes y vías genéticas vinculadas a las dos variantes comunes y raras los que sugieren que los loci de riesgo de la esquizofrenia convergen en aspectos de la biología neuronal, la función sináptica, la señalización de glutamato, las vías de desarrollo y los genes implicados en la respuesta inmune. [40-42]

1.2.3.2. Factores del neurodesarrollo

Muchos de los genes que han sido asociados con la esquizofrenia muestran una expresión preferencial durante el desarrollo fetal [43-44], lo que sugiere que la genética de la

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

esquizofrenia está ligada en parte a la genética del desarrollo del cerebro. Esta observación apoya la hipótesis de que la esquizofrenia tiene sus orígenes en la vida temprana [36]. Esta hipótesis también posee una gran cantidad de datos epidemiológicos que revelan un vínculo entre las complicaciones obstétricas y un mayor riesgo de desarrollar el trastorno, con esto se evidencia de que los individuos que manifiestan la esquizofrenia como adultos tienen comprometidos primeras etapas del desarrollo neurológico [45]. No está claro por qué estos antecedentes de desarrollo temprano se manifestarán luego como dificultades cognitivas y sociales para las dos primeras décadas de la vida y luego emergen como una profunda enfermedad psicótica en la edad adulta temprana, pero el panorama cambiante de la biología cortical en la vida adulta temprana, que incluye alteraciones en la organización sináptica cortical, podría ser un factor importante que interactúa con la disposición del desarrollo anterior [46].

1.2.3.3. Neuroimagen estructural de cerebros post-mortem

Los volúmenes cerebrales, medidos en imágenes por resonancia magnética, son anormales tanto en pacientes con primer episodio y esquizofrenia crónica, en comparación con los individuos no afectados [47]. Las reducciones se encuentran en la materia blanca y la materia gris total, así como el volumen de todo el cerebro en comparación con los controles sanos. El volumen ventricular es incrementado correspondientemente. Estas reducciones en el volumen del cerebro son más pronunciadas en los pacientes con una mala evolución [48]. Además, los cambios en el grosor cortical se ven en su alta disminución, las formas subcorticales han sido reportados en estos pacientes. Hay evidencia de la progresión: inicialmente, los volúmenes disminuidos se localizan en la ínsula bilateral y la corteza cingulada anterior, así como el hipocampo, el tálamo y uncus a la izquierda y/o amígdala [49]. A medida que la enfermedad progresa, las reducciones de volumen cortical se generalizan [50,51] y se asocian con el deterioro de la función cognitiva [52]. El volumen aumenta al inicio de la enfermedad y se limitan a los putamen, pero más tarde se extienden a todo el cuerpo estriado dorsal [53,54] como se observa en la *figura N° 01*. Aunque esto es probablemente en parte, una consecuencia del tratamiento antipsicótico[55]. Las comorbilidades pueden complicar la interpretación de los resultados de las imágenes de resonancia magnética como los cambios de volumen, especialmente en estudios longitudinales[53], mostrado en la *figura*

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

N° 02. Sin embargo, algunos de estos cambios pueden ser de origen genético, lo que sugiere que al menos algunas de las pérdidas progresivas de tejido cerebral en pacientes con esquizofrenia no se pueden atribuir a los efectos de la enfermedad o a factores de confusión relacionados con la enfermedad, tales como la medicación[55].

Figura N° 01: En esta figura se observa los cambios en el volumen cerebral en la esquizofrenia. a. Secciones coronales del cerebro de un paciente con esquizofrenia con un mal resultado, un paciente con un buen resultado y una comparación con un sujeto sano, como se indica en la imagen original publicado en el respectivo artículo en *The Journal of the American Psychiatry* [51].

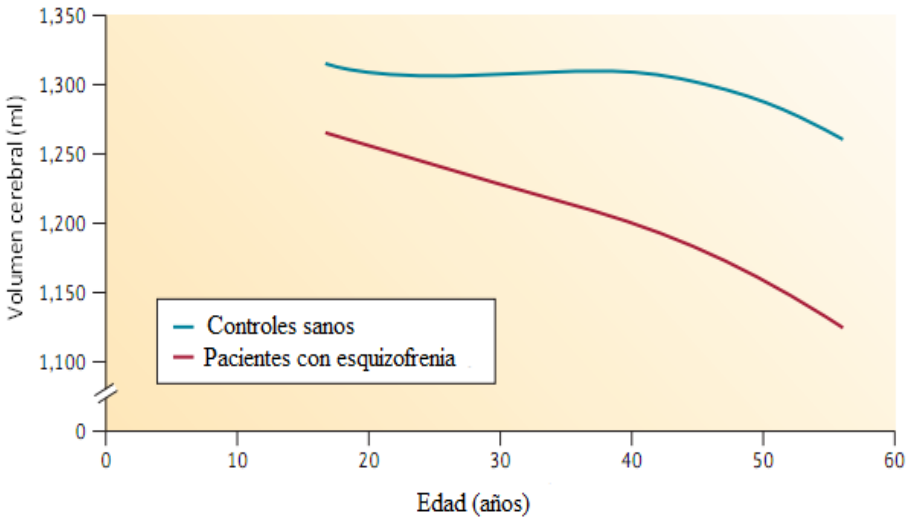

Figura N° 02: Cambios en el volumen anual de todo el cerebro de un estudio longitudinal, en el que se modelaron como derivadas de tiempo la función del volumen cerebral, el volumen del cerebro está en función a la edad de los individuos de control, sanos y los pacientes con esquizofrenia[51].

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

1.2.3.4. Bases moleculares de la esquizofrenia

La etiología de la esquizofrenia sigue siendo poco clara, sin embargo, existe evidencia sustancial que sugiere que hay cambios en varios sistemas de neurotransmisores en los procesos fisiopatológicos que conducen a la formación de la enfermedad. Diversos estudios post-mortem de pacientes con esquizofrenia han presentado pruebas que apoyan la existencia de la alteración de los sistemas de neurotransmisores en el desarrollo de la enfermedad. Inicialmente, la dopamina y dos de sus receptores específicos en diferentes áreas del cerebro recibieron mayor atención. Posteriormente, el glutamato (GLU) y uno de sus receptores (N-metil-D-aspartato NMDA) están siendo ampliamente investigados [56].

1.2.3.4.1. Hipótesis dopaminérgica

Esta hipótesis, sugiere que la esquizofrenia se desarrolla por una desregulación de la transmisión de dopamina en diferentes áreas del cerebro; que implican un aumento de la transmisión de dopamina en los receptores D2 que se hallan en las regiones subcorticales del cerebro (el cuerpo estriado y el núcleo acummbens) que se encuentran implicados en el desarrollo de los síntomas positivos de la enfermedad. La evidencia de la hipótesis de dopamina ha venido principalmente de dos fuentes: el hallazgo de una correlación entre las dosis clínicas de los fármacos antipsicóticos y su eficacia para bloquear los receptores D2 de dopamina y el hecho de que las moléculas que mejoran la desregulación de dopamina son psicogénicas[57-59]. La resistencia a los antagonistas de los receptores D2 de los síntomas negativos y cognitivos de la esquizofrenia ha llevado a la reformulación de la hipótesis dopaminérgica. El uso de imágenes funcionales del cerebro ha sugerido que la corteza pre frontal (CPF) podría ser responsable de estos síntomas[57]. Los estudios preclínicos han demostrado la importancia de la transmisión de dopamina pre frontal en los receptores D1 que es el principal receptor de dopamina en el neocórtex[60]. Esto ha creado la hipótesis de que un déficit en la transmisión de dopamina en los receptores D1 a nivel de la (CPF) podría estar implicado en los deterioros cognitivos y síntomas negativos de la esquizofrenia [61,62].

En cerebros de pacientes *post-morten* los estudios de marcadores moleculares de la función dopaminérgica no han sido concluyentes y han generado diversas discusiones [63,64].

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Las drogas dopaminérgicas son los únicos agentes antipsicóticos actualmente disponibles, sin embargo, estos pueden llegar a producir efectos secundarios, estos efectos se reflejan en cierto grado por los estudios de marcadores sinápticos de dopamina en el cuerpo estriado como los receptores de dopamina[65].

1.2.3.4.2. Vía de desregulación de la neurotransmisión glutamatérgica

El glutamato es el neurotransmisor excitatorio más importante en el SNC, activa dos diferentes tipos de receptores: de acción rápida ionotrópicos (iGluR), que son canales de cationes como (Ca^{+2}, Na^{+}, K^{+}) responsables de la transmisión iónica neurológica[66] y los de acción lenta metabotrópicos (mGluR) que son receptores acoplados a la proteína G (RsAPG), responsables de la modulación más sostenida de la actividad neuronal pre y post-sináptica[67,68]. La vía de desregulación de la neurotransmisión glutamatérgica es una vía que viene siendo investigada en la actualidad, se basa en los resultados obtenidos en diversos estudios post mortem sobre el líquido cefalorraquídeo (LCR) de pacientes con esquizofrenia, los que revelaron niveles elevados de Ácido Quinurénico (KYNA) a nivel cerebral [69,70]. KYNA es un metabolito activo de la vía de la quinurenina (KYN), que posee actividades biológicas específicas y actualmente viene siendo estudiado porque a niveles elevados actúa como un antagonista de los receptores ionotrópicos del Glutamato (NMDA, AMPA y Kainato) [71]. La antagonización más conocida es del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) se produce mediante la unión de KYNA en el sitio de unión de la glicina[72], como se observa en la *figura N° 03*. A concentraciones más elevadas inhibe el receptor del ácido α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA) y kainato [71].

En el SNC de mamíferos las isoenzimas Quinurenina Aminotransferasa (KAT) son responsables de la formación de Ácido quinurénico debido a que convierten irreversiblemente L-Quinurenina en KYNA, un agente neuroactivo endógeno a nivel cerebral. Nuestra atención se centra en la Quinurenina Aminotransferasa II (KAT-II), que produce más del 50% de KYNA en el cerebro humano [73,74].

Las últimas observaciones indican que varias enfermedades neurodegenerativas están vinculadas con la vía metabólica de la quinurenina y los niveles de KYNA del cerebro. Además del deterioro cognitivo cerebral los niveles de KYNA han demostrado desempeñar

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

un papel clave en otras enfermedades del SNC tales como la enfermedad de Huntington [75], la enfermedad de Alzheimer y la esquizofrenia [76].

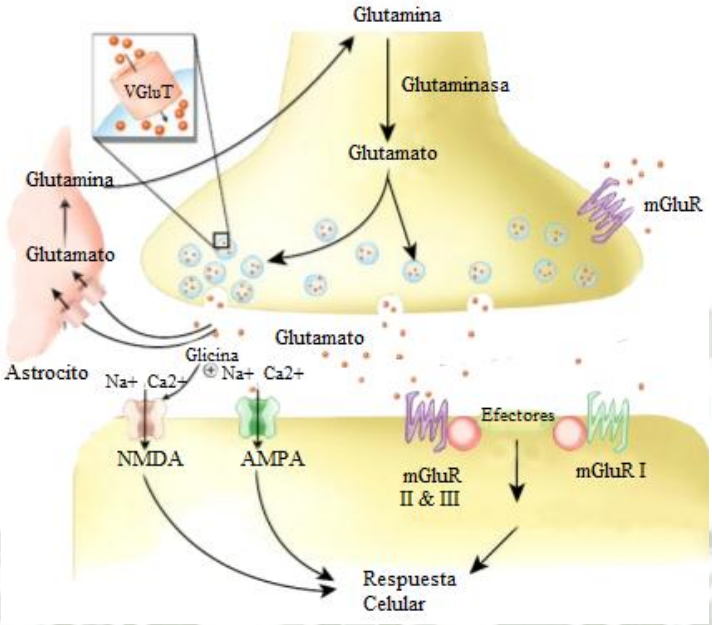

Figura N° 03. Vía de la neurotransmisión glutamatérgica; en esta vía el glutamato se produce por la desaminación de la glutamina, luego es transportado por su transportador vesicular (VgluT), el que a su vez libera (Glu) al espacio sináptico, a este nivel el glutamato se une y activa la función de sus receptores. La activación del receptor NMDA no solo requiere la unión del Glutamato sino también de su coagonista glicina, es ahí donde KYNA actúa como un antagonista del sitio de la glicina y a niveles más elevados actúa inhibiendo la función de los receptores (AMPA) y Kainato [77].

1.3. Vía de la Quinurenina (VQ)

La mayor parte del triptófano (Trp) de la dieta se metaboliza por medio de la vía de la Quinurenina. La VQ es responsable de la degradación Trp en un número de metabolitos neuroactivos, conocidos como quinureninas y representa una fuente de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+) [78]. El Trp es también el principal precursor para la síntesis de serotonina en el cerebro y la conversión de melatonina; sin embargo, en la mayoría de los tejidos de mamíferos se metaboliza más del 95% del Trp de la dieta, a través de la VQ [79,80]. El paso metabólico inicial de la VQ es la escisión oxidativa del Trp por una de las tres enzimas limitantes de la velocidad, es decir, triptófano 2,3-dioxigenasa (TDO), indolamina 2,3-dioxigenasa 1 (IDO1), o indolamina 2,3-dioxigenasa 2 (IDO2), que convierten el Trp a N-formilquinurenina[81]. La N-formilquinurenine es convertido rápidamente a L-quinurenina (KYN) por la quinurenina formamidasa (formilasa). La quinurenina se convierte en ácido

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

quinurénico (KYNA) a través de la rama quinurenina aminotransferasa (KAT) en las que actúan cuatro isoenzimas KAT (I, II, III, y IV), los cuales han sido considerados de estar involucrados en la síntesis de KYNA en el sistema nervioso central de los mamíferos (SNC) [82,83], sin embargo, KAT II se considera como responsable de la mayoría de la síntesis de KYNA cerebral [84,85].

1.3.1. Propiedades de quinureninas neuroactivas

En los últimos años, la regulación de la vía de la quinurenina en el cerebro ha sido ampliamente investigada, sobre todo lo relacionado con las enfermedades neurológicas.

La desregulación del metabolismo de la VQ se asocia con enfermedades neurológicas debido al incremento de la concentración de metabolitos producidos en la VQ [86].

1.3.2. Quinurenina

La quinurenina es un metabolito central de la VQ, se transporta a través de la barrera hematoencefálica por el gran transportador de aminoácidos neutros [87]. Además de sus propiedades neuroactivas, un aumento de la concentración de quinurenina en la sangre y SNC refleja un mayor metabolismo del Trp a lo largo de la VQ. Por consiguiente, la quinurenina ha sido empleada como un biomarcador para varias enfermedades neurológicas. La elevación de la concentración de quinurenina en el suero y/o líquido cefalorraquídeo (LCR) en diversas enfermedades relacionadas con la inflamación se ha descrito en gran parte porque la inflamación induce a la sobreproducción de enzimas que actúan en la VQ. Diversas investigaciones han informado de que la propia quinurenina tiene funciones fisiológicas en el sistema nervioso central, incluyendo las propiedades pro y antioxidantes [88-92]. Sin embargo, aún se desconoce su actividad in vivo en el SNC. El compuesto se convierte en KYNA por quinureninas aminotransferasas (KATs). Diversos grupos de investigación han empleado como base para el diseño de inhibidores de la enzima, la estructura química de la Quinurenina.

1.3.3. Quinurenina aminotransferasa

La Quinurenina aminotransferasa (KAT) es la enzima que transforma la quinurenina intermedia clave en ácido quinurénico (KYNA). La KAT es una enzima dependiente de

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Piridoxal-5-fosfato (PLP). Es un homodímero funcional, con dos sitios catalíticos en la interfase dimérica. El ciclo catalítico, que se muestra en la *Figura 4*, requiere de la coenzima PLP, el sustrato (la quinurenina) y un alfa-cetoácido (cosustrato) [93].

En primer lugar, el PLP se une a un residuo de lisina conservado en el sitio activo por un enlace aldimina. Cuando la quinurenina se une al sitio de unión, la unión entre la coenzima y el residuo de lisina se rompe y la coenzima se une al grupo alfa-amino del sustrato. Este grupo alfa-amino se transfiere a la coenzima, dejando el alfa-cetoácido análogo de quinurenina como el producto enzimático. El cierre del anillo espontáneo del cetoácido produce el ácido quinurénico [94]. La forma PLP se regenera de la forma fosfato de piridoxamina (PPM) por transferencia del grupo amino al alfa-cetoácido, como se muestra en la *figura N° 04*.

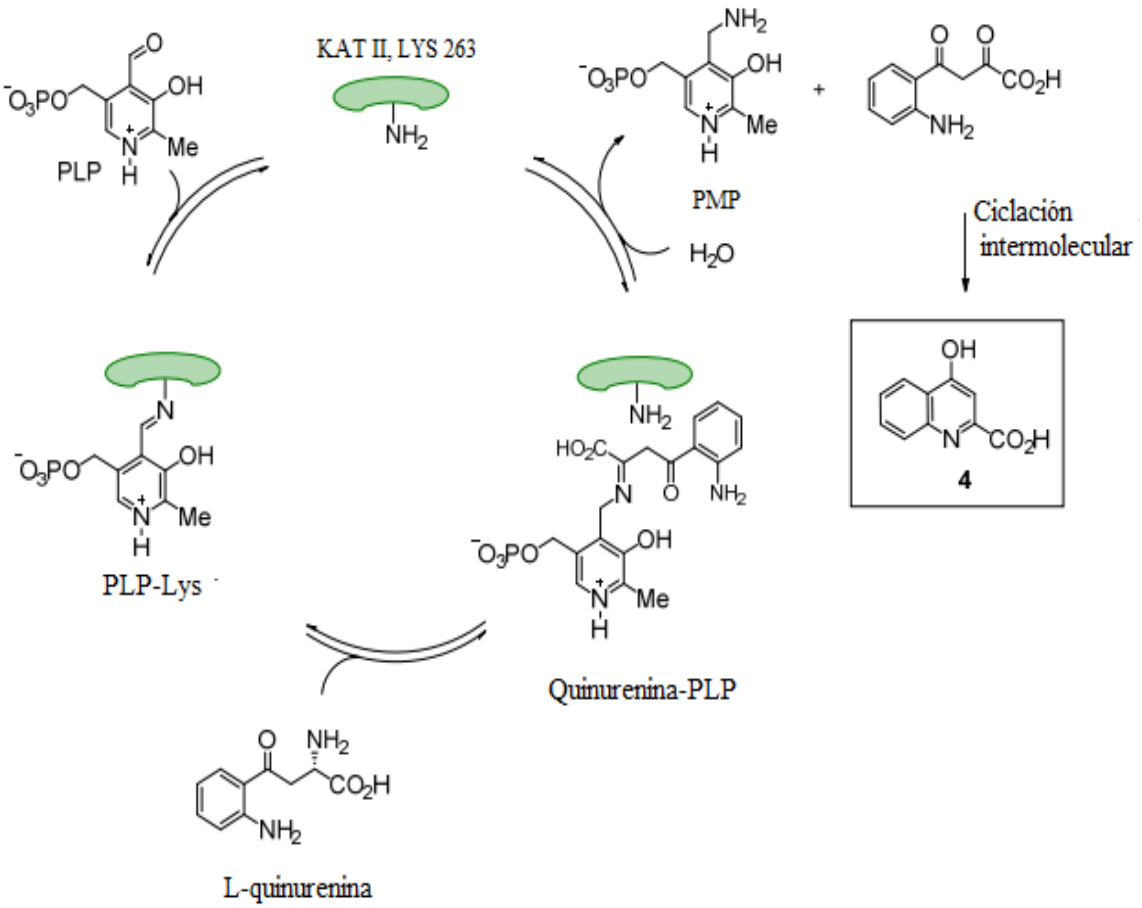

Figura N° 04: Ciclo catalítico de la KAT II, que utiliza la quinurenina para producir Ácido quinurénico (KYNA) [95].

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Cuatro proteínas nombradas arbitrariamente KAT I, II, III, y IV, se han demostrado estar involucrados en la síntesis de KYNA en el SNC del ser humano, rata y ratón [96]. KAT II se considera que es responsable de la mayoría de la síntesis KYNA cerebral [97].

1.3.3.1. Quinurenina Aminotransferasa II (KAT II)

La KAT II es la segunda isoforma del grupo de las quinureninas, es una aminotransferasa multifuncional, inicialmente, la enzima se llamó Aminoadipato aminotransferasa (AADAT) cuando fué purificada del hígado de rata en 1969 [98]. Tobes y Mason confirmaron luego que la AADAT era similar a la enzima KAT II de rata [99, 100].

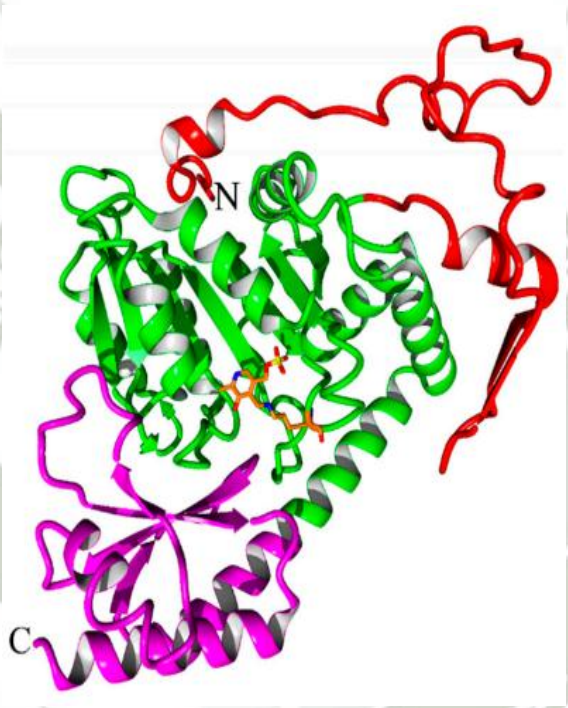

Figura N° 05: Estructura de Quinurenina aminotransferasa II (KAT II). Los elementos de la estructura secundaria son mostrados con el cofactor, PLP. El brazo N-terminal es mostrado en rojo, El dominio largo en verde, el brazo C-terminal se muestra en morado y el LLP-263 es mostrado en anaranjado.

La KAT II – Humana fue obtenida por medio de alineamiento múltiple de secuencias[101]. La enzima tiene 425 residuos de aminoácidos por monómero, tiene como cosustrato al Piridoxal-5-fosfato (PLP), y la actividad enzimática tiene un pH óptimo de 7,0 a 7,5. Se cree que la KAT II es responsable de la producción de más del 50 % de KYNA en el cerebro de los mamíferos[102]. Se han creado anticuerpos específicos de KAT II en ratas.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Estos anticuerpos mostraron que la KAT II se localiza principalmente en los astrocitos de rata y tienen especificidad amplia de sustrato. La KAT II cataliza la transaminación de KYN, 3-OH-KYN, Trp, Phe, Asn, Asp y varios otros aminoácidos. Una variedad de alfa-cetoácidos pueden ser acomodados como co-sustratos[103]. La eficiencia catalítica de KAT II humana es más alto para aminoadipato y quinurenina. Recientemente, las estructuras cristalinas de KAT II humana en complejo con PLP, como se muestra en la *figura N° 05*, se encuentran disponibles en la base de datos del NCBI (*National Center of Biotechnology Information*) y PDB (*Protein Data Bank*) [103-104].

En el SNC, los astrocitos predominantemente expresan la KAT II en comparación con otros tipos de células del SNC[105]. Los cambios en la actividad de la KAT II pueden ser importantes para la patogénesis de la enfermedad de la esquizofrenia, debido a que la producción de KYNA por KAT II puede tener un papel neuroprotector, pero en cantidades excesivas puede dañar potencialmente la función cognitiva. Las concentraciones elevadas de KYNA han sido reportadas en el tejido cerebral y el LCR de pacientes con esquizofrenia [106,107]. Las cantidades elevadas de KYNA pueden contribuir a la hipofunción del receptor NMDA, los déficits cognitivos y síntomas negativos asociados con esta enfermedad [60,65]. Los estudios preclínicos han demostrado también que el aumento de las concentraciones de KYNA produce efectos que son consistentes con las contribuciones a la etiología de los síntomas de la esquizofrenia, tales como déficit en la memoria espacial, de trabajo y la reducción de la neurotransmisión dopaminérgica y glutamatérgica [108, 109].

La KAT II se considera que es responsable de la mayoría de la síntesis de KYNA cerebral [65,72]. Por lo tanto, la inhibición de la actividad KAT II puede representar un objetivo terapéutico potencial para el tratamiento de los síntomas de la esquizofrenia. Un estudio preclínico reciente del inhibidor de KAT II penetrante cerebral, PF-04859989, mostró que la administración sistémica del inhibidor de KAT II invierte la elevación inducida por quinurenina del cerebro a concentraciones de Ácido quinurénico KYNA restaurando eventos de liberación de glutamato producidas por eyecciones de presión de la nicotina en la corteza pre-frontal de ratas con elevadas concentraciones cerebrales de KYNA [103]. Un estudio más reciente también ha indicado que el mismo inhibidor de KAT II penetra y

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

reduce eficazmente los niveles cerebrales de KYNA, disminuyendo así la actividad de descarga de las neuronas dopaminérgicas del cerebro medio [104]. Este informe sugiere que una reducción en los niveles de KYNA del cerebro tiene un potencial para el tratamiento de condiciones hiperdopaminérgicas que están asociados con la esquizofrenia. Estos resultados apoyan la hipótesis de que la inhibición de la KAT II puede mejorar el rendimiento cognitivo de los pacientes con esquizofrenia.

1.3.3.2. Ácido Quinurénico (KYNA)

El ácido quinurénico es el producto de la transaminación de la KAT (*figura N° 06*), que pertenece a la vía de la quinurenina; la cual posee varias actividades biológicas específicas, se conoce que a concentraciones elevadas actúa como un antagonista de los iGluR como: el N-metil-D-aspartato (NMDA), el receptor del ácido α-amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropiónico (AMPA) y el receptor de Kainato. El papel fisiológico descrito para KYNA previene que los receptores de glutamato lleguen a estar excesivamente excitados, ya que establece como importante para la estabilidad cerebral bajo condiciones fisiológicas normales [110]. Además, se evidencia que el aumento de los niveles de KYNA protege a las neuronas contra el daño cerebral isquémico, y también se conoce la actividad anti-convulsiva [111,112].

Fuera de la evidencia de la participación de KYNA en la neuroprotección, el potencial de daño cognitivo en el sistema nervioso central (SNC) resultante de la participación de la neurotransmisión glutamatérgica y colinérgica necesita ser considerada apropiadamente [113], especialmente en el contexto de los síntomas negativos de la esquizofrenia. Los estudios sobre el líquido céfalo raquídeo (LCR) de los pacientes afectados por la esquizofrenia revelaron que los niveles de KYNA estaban incrementados [114,115]. Por consiguiente, KYNA puede tener ambos efectos el neuroprotector y el deteriodo cognitivo.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

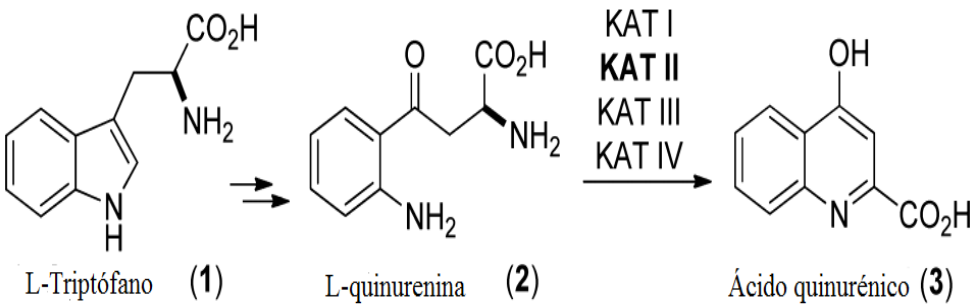

Figura N° 06: Biosíntesis de KYNA.

1.3.3.3. Inhibidores de Kat II

Los inhibidores de KAT II están dirigidos a la disminución de los niveles de KYNA en el cerebro a través de la modulación de la vía de quinurenina puede ser una nueva vía para el tratamiento de la esquizofrenia y otras enfermedades del SNC [116].

Se han desarrollado varios inhibidores tanto reversibles como irreversibles de la enzima KAT II, los cuales han sido reportados en la literatura [117,118]. Un inhibidor desarrollado tempranamente fue la, (S)-(4)-(etilsulfonil) benzoylalanine ((S)-ESBA) el cual fué mostrado para inhibir la función de la KAT II en ratas, sin embargo, la inhibición falló en su ortóloga humana [116].

Se identificó el BFF-816 en una pantalla de alto rendimiento y se muestra para inhibir la actividad de la KAT II con una IC 50 de 13.4 M, los datos de selectividad adicional no fueron informados [119]. Sin embargo, estos compuestos fueron útiles porque proporcionan una oportunidad para la optimización y obtención de nuevos compuestos.

En un esfuerzo para identificar compuestos más potentes, Pfizer desarrolló una serie de análogos de hidroxamatos como el PF-04859989, que es un penetrante cerebral y un inhibidor irreversible de la KAT II [120]. Es altamente selectivo para la enzima Kat II frente a las isoformas KAT I, III, y IV. El compuesto forma un enlace covalente con su cofactor Piridoxal-5-fosfato (PLP), lo que lleva a un muy potente complejo que tiene un efecto farmacodinámico robusto en los niveles de KYNA a nivel cerebral. Los experimentos farmacocinéticos se llevaron a cabo in vivo en ratas, para evaluar la utilidad de la (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona como un compuesto sistémicamente dosificado [121]. El tratamiento condujo a una disminución de KYNA en la corteza prefrontal de la rata que se extendió hasta las 24 horas. Se observó un efecto similar cuando los (3S)-

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona primates no humanos fueron tratados con 3,2 mg/kg y 10 mg/kg de dosis, s.c. Estos tratamientos produjeron una dosis dependiente de la reducción de KYNA hasta en un 50% respecto al valor basal durante un período sostenido de cinco días.

Habiendo demostrado un sólido descenso de KYNA y un efecto farmacodinámico interesante en circuitos implicados en la cognición, se progresó en un número de estudios de comportamiento. En los roedores, el tratamiento reduce al mínimo el número de errores en una tarea de atención sostenida utilizando un disruptor ambiental y redujo el número de errores inducidos por la ketamina en un experimento de brazo laberinto radial. Del mismo modo, en un primate no humano retrasado tarea respuesta, inducida por déficit de memoria de trabajo impedido de ketamina a 3,2 mg/kg, s.c. Además, los animales tratados con ketamina muestran un comportamiento que imitaba los síntomas positivos en la esquizofrenia que fueron atenuados en el grupo tratado con fármacos[122]. Estos resultados preclínicos indican intrigantes que KYNA juega un papel central en la cognición y demuestran que es una herramienta poderosa que se puede utilizar para estudiar los puntos finales bioquímicos y de comportamiento inducidos por la reducción de KYNA en el cerebro.

1.3.4 Tratamiento

Como aún no se conocen con exactitud las causas de la esquizofrenia, los tratamientos se concentran en tratar de disminuir o eliminar los síntomas de la enfermedad, y ellos se dirigen a varios dominios, incluyendo los síntomas positivos, síntomas negativos y disfunción cognitiva, las tendencias suicidas, la calidad de vida y el funcionamiento social, académico y profesional.

1.3.4.1 Tratamientos farmacológicos

Los antipsicóticos continúan siendo la piedra angular del tratamiento para la esquizofrenia [123]. A pesar de que todos los antipsicóticos actúan para bloquear los receptores de la vía de la dopamina, distintos antipsicóticos han sido desarrollados y se han clasificado en 'típicos' o antipsicóticos de primera generación (APGs) y "atípicos" o antipsicóticos de segunda generación (ASGs) [124]. Los antipsicóticos típicos (AT), son los más antiguos, cuya acción

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

fundamental es antidopaminérgica (antagonistas de los receptores D2) y se caracterizan por su eficacia en el control de síntomas positivos (delirios, alucinaciones) y son poco eficaces sobre los síntomas negativos, entre los comúnmente usados se encuentran la Clorpromazina, Haloperidol, Perfenazina, Flufenazina, Pipotiazina, Tioproperazina, y la trifluoperazina. Los neurolépticos atípicos, bloquean simultáneamente los receptores D2 de dopamina y los receptores 5-HT2 de serotonina; son eficaces para tratar los síntomas positivos y negativos de la esquizofrenia, entre estos antipsicóticos se encuentran la Clozapina, Sertindol, Risperidona, Olanzapina, Quetiapina, Ziprasidona, Aripiprazol, Paliperidona. Ambas clases son heterogéneas en su estructura molecular, los objetivos extra-dopaminérgicos y los efectos adversos [125].

Los efectos adversos extrapiramidales relacionados con estos medicamentos incluyen hiperprolactinemia, distonía, parkinsonismo, acatisia y discinesia tardía. Los ASG, se asocian con menos parkinsonismo, acatisia y discinesia tardía a dosis terapéuticas. Se cree que todos los antipsicóticos disponibles actualmente trabajan a través del bloqueo de los receptores D2 de dopamina[126]. Por otra parte, la mayoría de los ASG se asocian con otros efectos adversos, tales como aumento de peso, diabetes y en consecuencia aumento del riesgo de complicaciones cardiovasculares. Debido a que los tratamientos farmacológicos disponibles en la actualidad para la esquizofrenia son limitados y a veces mal tolerados por los pacientes[127], ya que la mayoría de los pacientes continúan mostrando déficits en el funcionamiento social, cognitivo y ocupacional durante toda su vida. Existe un considerable interés en producir nuevos compuestos con más eficacia paliativa, es decir, fármacos que sean capaces de prevenir o mitigar los cambios en la estructura y función del cerebro que subyacen a la disminución funcional y la aparición de los síntomas completos en pacientes con esquizofrenia[128]. Algunos datos preclínicos indican claramente la implicación de la vía glutamatérgica y los sistemas colinérgicos, especialmente en relación con los síntomas negativos y cognitivos de la enfermedad. En la actualidad nuevas investigaciones han propuesto el desarrollo de nuevos agentes antipsicóticos los cuales vienen evaluando y la vía de la neurotransmisión glutamatérgica.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

1.3.4.2 Tratamientos psicosociales

Los tratamientos de la familia tienen el mayor apoyo empírico para mejorar los síntomas y reducir las hospitalizaciones. Múltiples estudios han demostrado que las intervenciones familiares reducen las tasas de recaídas y ayudan a mejorar síntomas, la adherencia a los medicamentos y la vida de la persona [129].

1.4. La Bioinformática Estructural

La bioinformática estructural es una disciplina de la ciencia dedicada a analizar, caracterizar y visualizar las estructuras macromoleculares como los ácidos nucleicos, las proteínas y sus diversas interacciones mediante técnicas computacionales. Esta disciplina, ha contribuido en gran medida al desarrollo de la biología molecular mediante el empleo de algoritmos para el análisis, la clasificación y determinación de secuencias de ADN y proteínas[130]. También, ha tenido un aporte significativo en el desarrollo de la biología estructural [131]. El gran avance en la secuenciación de genomas, expresión de proteínas y la cristalografía, brindan grandes oportunidades para el uso de las estructuras tridimensionales de proteínas en la búsqueda del desarrollo de nuevos fármacos. Esta herramienta tiene entonces un rol fundamental, usar la abundante información estructural para identificar, diseñar y optimizar nuevas drogas, que sean específicas y potentes. Para comprender las estructuras macromoleculares y sus posibles interacciones, es importante conocer las bases fisicoquímicas, de tal forma que se generen modelos que se puedan simular *in silico* [132].

El desarrollo de computadoras cada vez más eficientes durante las últimas décadas, condujo al desarrollo de algoritmos computacionales que se basan en la mecánica cuántica los cuales permiten el estudio detallado de las propiedades de pequeñas moléculas. Sin embargo, debido al costo elevado de estos algoritmos computacionales, su aplicación se limita a moléculas formadas por no más de 1000 átomos. A medida que el tamaño de la molécula crece, como en el caso de las proteínas que van de cientos a miles de átomos, aumenta también el número de conformaciones que estas pueden adoptar. De esta forma, al estudiar la interacción de una droga con una proteína se deben evaluar la ubicación y orientación de la droga a lo largo de la superficie de la proteína teniendo en cuenta los posibles cambios conformacionales de ambas estructuras. Para trabajar con las macromoléculas de manera eficiente se han desarrollado diferentes potenciales, que

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

modelan las interacciones moleculares y se ajustan bien a los resultados experimentales. Los potenciales más detallados, son los llamados de *all-atom* (todos los átomos) que corresponden a diversos campos de fuerza como el AMBER [133] o el OPLS-AA [134], estos son aplicados para predecir cambios conformacionales pequeños en la estructura de proteínas, lo que permite evaluar los efectos de mutaciones y predecir la interacción droga-proteína, proteína-proteína[135].

1.4.1 Mecánica cuántica (MC)

La mecánica cuántica considera explícitamente los núcleos y los electrones como constituyentes de los átomos de una molécula, para poder describir los fenómenos electrónicos como la formación y ruptura de enlaces (reacciones) por medio de sistemas pequeños que influyen en las propiedades fisicoquímicas del sistema, motivo por el cual este método de cálculo requiere de un alto consumo de recursos computacionales. La MC describe el comportamiento del sistema a nivel subatómico[136]. El método MC establece que las propiedades moleculares quedan descritas en su totalidad por la ecuación de Schrödinger para cada estructura molecular considerada.

1.4.1.1 La Ecuación de Schrödinger.

Esta complicada ecuación nos explica cómo evoluciona la función de onda de un sistema en el tiempo, a partir de la energía del sistema y de las condiciones externas que lo rodean, esta se expresa en la ecuación (2.1).

$$H\Psi = E\Psi \qquad (2.1)$$

El hamiltoniano *H*, contiene la física (núcleo y electrones) del sistema. La función de onda *Ψ*, indica la ubicación y la velocidad de la partícula. *E* es el valor energético propio para el sistema. La ecuación de Schrödinger independiente del tiempo, puede ser resuelta de manera exacta en el caso de moléculas simples. Para moléculas más complejas es necesario recurrir a aproximaciones para su resolución [137].

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

1.4.1.2 Teoría funcional de la densidad (TFD)

La TFD es un método de cálculo variacional alternativo a la ecuación de Schrödinger, donde la energía del estado electrónico es minimizada con respecto a la densidad electrónica. Por medio de este método podemos obtener el cálculo de estructuras moleculares, la energía de las reacciones químicas, las frecuencias de vibración y la distribución electrónica del estado fundamental de un sistema, empleando únicamente la densidad electrónica que es una magnitud más sencilla de resolver y facilita el cálculo de sistemas mucho más complejos en comparación a la función de ondas[138].

Considera que la energía es un funcional de la densidad y se expresa de la siguiente forma:

$$E = E^T + E^V + E^J + E^{XC} \qquad (2.2)$$

- Ev: es el término de la energía potencial que considera interacciones núcleo-electrón y núcleo-núcleo.
- Ej: establece la atracción electrón-electrón.
- Exc: tiene en cuenta la correlación de intercambio electrónica.

Los primeros tres términos de la ecuación representan la energía clásica de la distribución electrónica, mientras que el último representa la energía de intercambio mecánico-cuántico, que implica el espín electrónico y la energía de correlación dinámica.

El método TFD emplea diferentes tipos de funcionales, que se emplean de acuerdo a las aproximaciones que se quieran realizar para estimar Exc (d).

1.4.1.3 Teorema de Hohenberg y Kohn

Hohenberg y Kohn nos indican que para el estado fundamental de un sistema existe una correlación uno a uno entre la densidad electrónica y el potencial externo V(r). Lo que nos indica que la información de un sistema electrónico es cavida por la densidad electrónica en el estado fundamental [139].

Estos autores mostraron que la energía es un funcional de la densidad. En un segundo teorema ellos demostraron que la densidad electrónica del estado basal es la que minimiza al funcional de energía E (d). La densidad electrónica es más sencilla de manejar ya que

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

generalmente considera 3 variables para su resolución excluyendo el número de partículas. Sin embargo, no se conoce la forma precisa de la funcional.

1.4.1.4 Modelo de Kohn y Sham

Kohn y Sham muestran una forma de aproximar al funcional universal. Para conseguir este logro, los autores emplearon un sistema irreal formado por electrones no interactuantes. Esto significa que tal sistema puede estar representado por un determinante (determinante de Slater) cuyos elementos pertenecen a funciones que representan a cada uno de los electrones del sistema (orbitales). Con esta premisa, la energía cinética se forma por la suma de todas las energías cinéticas individuales y la densidad electrónica corresponde a la suma de densidades orbitales [140]

Un elemento adicional en el modelo de Kohn y Sham es la aproximación a la interacción (electrón-electrón) debido a que proponen como parte principal de ésta a la interacción coulómbica y al intercambio de correlación.

1.4.1.5 Funcional de Intercambio y Correlación

Para el uso de las ecuaciones de Kohn y Sham se debe saber cuál es la forma del funcional de intercambio y correlación (Exc). Sin embargo, la forma exacta de Exc es aún desconocida. Es así que, desde el empleo de la TFD han sido necesarias el uso de algunas aproximaciones a este funcional. Por ahora existe una gran cantidad de funcionales aproximados con diferentes niveles de complejidad. Perdew, propuso una forma de dividir la gran variedad de funcionales de Exc que existen, la cual es conocida como "la escalera de Jacob" [141]. En el esquema las funcionales son agrupadas de acuerdo a su complejidad que conducen de la aproximación de Hartree en la "base" y a la funcional de intercambio de correlación exacta en el "cima". Las funcionales también se pueden clasificar en no empíricos (formulados sólo por la satisfacción de algunas reglas físicas) y empíricos (que se ajustan a los resultados conocidos de las propiedades atómicas o moleculares).

1.4.1.6 Funcionales corregidos a largo alcance

La parte no-coulómbica de las funcional de intercambio decae rápidamente y, se vuelve muy imprecisa a grandes distancias, haciéndolos inadecuados para procesos de modelado

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

tales como excitaciones electrónicas a orbitales altos. Motivo por el cual se han creado algunas funcionales híbridas para manejar los casos que incluyen correcciones de largo alcance.

1.4.1.6.1 CAM-B3LYP

Este nuevo funcional de correlación de intercambio híbrido denominado CAM-B3LYP, se forma por la combinación del funcional de intercambio propuesto por Becke (B3) en 1993 con el funcional de correlación desarrollado por Lee, Yang y Parr (LYP). A su vez, esta funcional emplea como base de cálculo el CAM que es el Método de Corrección de Largo Alcance presentada por Tawada et-al. que posee la atenuación coulómbica. El funcional híbrido CAM-B3LYP comprende 0,19 de Hartree-Fock (HF) más 0,81 de Becke 1988 (B88) interacción de intercambio a corto rango, y 0,65 HF más 0,35 B88 interacción de intercambio a largo rango. La expresión de la energía de intercambio mecánico-cuántico tiene la forma señalada en expresión (2.3)[142].

$$E_{XC} = E_{XC}^{LSDA} + a_0(E_X^{exact} - E_X^{LSDA}) + a_x\Delta E_X^{B88} + a_c\Delta E_C^{PW91} \qquad (2.3)$$

Donde:

E_{XC} = es la energía de intercambio

ΔE_X (B88) = Es la corrección de gradiente para el intercambio de Becke de 1988.

ΔE_C (PW91) = es la corrección de gradiente para la correlación de Perdew y Wang de 1991.

Los valores óptimos de los coeficientes semiempíricos determinados son a_0 = 0.02, a_x = 0.72 y a_c=0.81.

1.4.1.7 Funciones Base

Las funciones base son funciones matemáticas cuyas combinaciones lineales producen orbitales moleculares. Las funciones no son invariables y son centradas en núcleos atómicos. La aproximación de orbitales moleculares como combinaciones lineales de funciones base se denomina generalmente Combinación Lineal de Orbitales Atómicos Aproximados, aunque las funciones no son necesariamente orbitales atómicos

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

convencionales, éstas pueden ser cualquier conjunto de funciones matemáticas que son convenientes a manipular y que en combinación lineal dan representaciones útiles de MOs. Físicamente, varias funciones base describeLn la distribución de electrones alrededor de un átomo y la combinación de funciones de base atómica produce la distribución de electrones alrededor de la molécula. Los conjuntos de base más simples son los utilizados en el SHM y EHM. Aplicado a los compuestos orgánicos conjugados, el conjunto simple de la base de Hückel consiste sólo en orbitales atómicos p. La base extendida de Hückel consiste sólo en orbitales atómicos de valencia.

1.4.1.7.1 Funciones tipo Gaussianas (FTG)

Las FTG pueden elegirse para formar una base completa, sin embargo, se necesita más FTG para lograr una buena exactitud en comparación con orbitales tipo slater. El aumento del número de funciones de base facilita que se pueden calcular las integrales requeridas. Por lo tanto, en términos de eficiencia computacional, las FTG son preferidas y se usan casi universalmente como funciones de base en los cálculos de la estructura electrónica[143].

1.4.1.7.2 Conjunto base TZVP (Triple zeta valence with Polarization)

Es un conjunto de bases orbitales de tipo Gauss Contratadas (OTGC) diseñadas para una descripción eficiente y precisa de las propiedades moleculares y efectos de la unión química.

Las bases de TZV se caracterizan por incluir típicamente una contracción sencilla para describir las carcasas internas y tres funciones de base para las carcasas de valencia [144].

Una base de TZV es extendida por funciones de polarización en los cálculos moleculares. La elección de las funciones de polarización no está estrechamente unida a la de la base restante, sino que depende fundamentalmente del método a utilizar (con o sin inclusión de correlación de electrones) y de las propiedades a calcular (energías u otras propiedades).

1.4.1.8 Cálculo de Frecuencias

Las frecuencias de vibración se calculan determinando las segundas derivadas de la energía con respecto a las coordenadas cartesianas nucleares y luego se transforman a coordenadas ponderadas en masa. Esta transformación sólo es válida en un punto estacionario. Lo que se

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

recomienda es calcular las frecuencias siguiendo una optimización de geometría previa. Esto se puede lograr especificando tanto Opt como Freq dentro de la sección de ruta para un trabajo[145]

1.4.1.9. Cargas de Mulliken

Las cargas de Mulliken, proporcionan un medio para estimar las cargas atómicas parciales de estructuras moleculares, que han sido analizadas por medio de cálculos realizados empleando métodos de mecánica cuántica. Para la obtención de las cargas, los términos se suman y luego se dividen en el número total de electrones entre las funciones básicas. Queda resumir estos términos sobre todas las funciones básicas de un átomo para obtener la población atómica en bruto. El problema con este método es la distribución igual de términos no diagonales entre las dos funciones básicas. Esto conduce a que la carga de separación entre las moléculas sea exagerada.

1.4.1.10. Cargas de Hirshfeld

Las cargas de Hirshfeld se forman con respecto a la densidad de deformación, esta es la diferencia entre las densidades de carga atómica moleculares y las no relacionadas. Para la distribución cuantitativa de las cargas en una molécula, se divide un sistema en fragmentos atómicos bien definidos. Para su cálculo generalmente se comparte la densidad de carga en cada punto entre los átomos, en proporción a sus densidades de átomos libres a las distancias correspondientes de los núcleos. Estas cargas proveen los mejores valores obtenidos a nivel de MC para cada átomo del sistema en estudio[146].

1.5. Mecánica molecular

La mecánica molecular (MM) calcula la estructura y energía de las moléculas basado únicamente en la posición y los movimientos nucleares de los átomos y asume que los electrones se distribuirán óptimamente alrededor de ellos. En sentido general en la MM las moléculas son tratadas como un conjunto de bolas con masa (que representan los átomos) unidos por enlaces donde las masas corresponden al peso del núcleo de los átomos y los enlaces representan a las fuerzas armónicas o elásticas. Estas fuerzas se pueden describir como funciones de energía potencial de los parámetros estructurales de un sistema.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Este método es empleado para:

- El estudio de moléculas grandes y complejas.
- Obtención de la energía entre dos compuestos y la energía total del sistema.
- Conocer la información estructural de una proteína.
- Realizar el análisis conformacional del sistema.

1.5.1. Campos de Fuerza (CF)

Los métodos de mecánica molecular utilizan un (conjunto de ecuaciones obtenidas empíricamente y variables) empleados para reproducir las funciones de energía potencial de un sistema molecular. El CF de una molécula está formado por átomos unidos por enlaces. Las interacciones entre las partículas constituyentes son tratadas usando diferentes funciones potenciales derivadas de la mecánica molecular. Estas funciones potenciales dependen de parámetros que describen los diferentes tipos de interacciones que se dan entre los átomos como las interacciones enlazantes y no enlazantes, en las enlazantes se encuentran los enlaces, ángulos y fuerzas de torsión y en las no enlazantes están las fuerzas de vander-waals e interacciones electrostáticas[147].

La combinación de las funciones de energía potencial y parámetros usados para evaluar estas interacciones son llamados Campos de Fuerza y la energía E del sistema surge por la desviación de estos parámetros de los valores ideales. La energía total del sistema se obtiene por la suma de todos los términos energéticos que representan todos los tipos de interacciones que se dan entre los átomos de la molécula: deformaciones de los enlaces por elongación, plegamiento o rotación y variación de las interacciones de las partículas.

La suma de todos los términos energéticos correspondiente a todos los átomos que componen la molécula, conducen a la energía total de la molécula que a veces se denomina energía estérica. Este valor no tiene sentido físico por sí mismo, es solamente una medida de las tensiones intra-moleculares con respecto a una situación hipotética. Sin embargo, las diferencias de energía para distintas geometrías de la misma molécula proporcionan la estabilidad relativa de las mismas y constituye una magnitud apropiada para la comparación con propiedades observables experimentales [148].

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Tipos de campos de fuerza

Difieren en:

- El número de términos energéticos.
- La forma de expresión de la energía.
- La complejidad de cada tipo de campo de fuerza.
- La forma de obtención de los parámetros (métodos teóricos o experimentales).

1.5.2. Campo de Fuerza OPLS_AA (Potenciales optimizados para simulaciones de líquidos de todos los átomos)

El formalismo del campo de fuerza OPLS-AA, fué elegido para representar los líquidos iónicos, simulación de proteínas, DNA y soluciones. Fué desarrollado por el profesor William L. Jorgensen en la Universidad de Purdue.

Como resumen general, la energía total de los sistemas iónicos se evalúa como una suma de energías individuales para el estiramiento del enlace armónico y los términos de flexión angular, una serie de Fourier para la energética torsional y Coulomb y Lennard Jones para las interacciones no enlazantes, como se observa en las ecuaciones (2.4-2.7):

Forma del Campo de Fuerza OPLS

Enlace de estiramiento: $$E_{bond} = \sum_{bonds} K_r(r - r_{eq})^2 \quad (2.4)$$

Enlace angular: $$E_{angle} = \sum_{angels} K_\theta(\theta - \theta_{eq})^2 \quad (2.5)$$

No enlazante: $$E_{ab} = \sum_i^{on\ a} \sum_j^{on\ b} [q_i q_j e^2 / r_{ij} + 4\varepsilon_{ij}(\sigma_{ij}^{12} / r_{ij}^{12} - \sigma_{ij}^6 / \sigma_{ij}^6)] f_{ij} \quad (2.6)$$

Enlace torsional:

$$E(\emptyset) = \frac{V_1}{2}[1 + \cos(\emptyset + f1)] + \frac{V_2}{2}[1 - \cos(2\emptyset + f2)] + \frac{V_3}{2}[1 + \cos(3\emptyset + f3)] \quad (2.7)$$

Términos energéticos:

E enlace, tiene en cuenta las deformaciones de las longitudes de enlace -alargamiento o acortamiento del enlace; *Kr,* corresponde a la constante de fuerza de enlace*; r,* representa al valor real de la longitud*; req,* termino de enlace variable corresponde al valor en equilibrio.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

E angular, está asociada con las distorsiones de los ángulos de enlace; $K\theta$, corresponde a la constante de fuerza angular; θ, representa al valor real de la longitud angular; θeq, término angular variable.

E torsional, es la energía de torsión debida a la modificación de los ángulos diedros por rotación de los enlaces; este término energético generalmente se expresa como funciones trigonométricas que corresponden a los coeficientes de Fourier. *V*, es la altura de la barrera; *w*, es el valor del ángulo de torsión.

E no-enlazante, correspondiente a los términos no enlazantes, formado por las interacciones coulómbicas que tiene como coeficiente a *q*, representa a las cargas atómicas parciales; también se encuentra las interacciones de Lennard Jones formado por épsilon y sigma que corresponden a los coeficientes de Lennard Jones.

1.6. Dinámica Molecular

La dinámica molecular es el método empleado para estudiar las propiedades dinámicas en detalle de un sistema atómico completo, siempre que las propiedades sean observables dentro de la escala de tiempo empleado en las simulaciones. La escala de tiempo es una de las dos principales limitaciones del método. La dinámica del sistema hace referencia a la posición de cada átomo en función del tiempo, y obedece a la ecuación clásica del movimiento de Newton (2.8) que se resuelve para cada átomo del sistema:

$$F_i = m_i a_i = m_i \frac{d^2 r_i}{dt^2} \tag{2.8}$$

La fuerza sobre cada átomo es el negativo de la derivada de la energía potencial con respecto a la posición del átomo vista en la ecuación (2.9):

$$F_i = \frac{-\partial V}{\partial r_i} \tag{2.9}$$

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Si la energía potencial del sistema es conocida, dada las coordenadas de una estructura inicial y un conjunto de velocidades, la fuerza que actúa sobre cada átomo puede ser calculada y se puede generar un nuevo conjunto de coordenadas, a partir de las cuales se pueden calcular nuevas fuerzas. La repetición del procedimiento va a generar una trayectoria correspondiente a la evolución del sistema en el tiempo.

La precisión de las simulaciones está directamente relacionada con la función de energía potencial utilizada para describir las interacciones entre partículas. En la dinámica molecular, se utiliza una función de energía potencial clásica que se define como una función de las coordenadas de cada uno de los átomos. La función de energía potencial se separa en términos que representan interacciones enlazantes y no enlazantes que conforman los campos de fuerza [150].

1.6.1. Algoritmo de Integración

Los algoritmos de integración asumen que las posiciones, velocidades y aceleraciones de un sistema pueden ser aproximadas por una expansión de series de Taylor. Como se observa en las ecuaciones (2.10-2.12).

$$r(t+\delta t) = r(t) + v(t)\delta t + \frac{1}{2}a(t)\delta t^2 + \ldots \quad (2.10)$$

$$v(t+\delta t) = v(t) + a(t)\delta t + \frac{1}{2}b(t)\delta t^2 + \ldots \quad (2.11)$$

$$a(t+\delta t) = a(t) + b(t)\delta t + \ldots \quad (2.12)$$

Los valores representativos son: r es la posición, v es la velocidad (la primera derivada con respecto al tiempo), a es la aceleración (la segunda derivada con respecto al tiempo) [151].

1.6.2. Algoritmo de Verlet

En dinámica molecular el algoritmo de integración del tiempo comúnmente usado es el algoritmo de Verlet. La idea fundamental es escribir dos expansiones de Taylor de tercer orden para las posiciones r(t), una hacia delante y otra hacia atrás en el tiempo, que

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

representan a las velocidades, las aceleraciones, y la tercera derivada con respecto a t, con el cual se tiene las expresiones (2.13-2.14):

$$r(t+\delta t) = r(t) + v(t)\delta t + \frac{1}{2}a(t)\delta t^2 + \frac{1}{6}b(t)\delta t^3 \quad (2.13)$$

$$r(t+\delta t) = r(t) - v(t)\delta t + \frac{1}{2}a(t)\delta t^2 - \frac{1}{6}b(t)\delta t^3 \quad (2.14)$$

Sumando las dos ecuaciones, se obtiene:

$$r(t+\delta t) = 2r(t) - r(t-\delta t) + a(t)\delta t^2 + \frac{1}{2}a(t)\delta t^2 - \frac{1}{3}b(t)\delta t^3 \quad (2.15)$$

Esta es la forma básica del algoritmo de Verlet. debido a que se integra las ecuaciones de Newton a(t), que es sólo la fuerza dividida por la masa, y la fuerza es a su vez una función de las posiciones r(t).

$$\boldsymbol{a(t) = -(\frac{1}{m})\delta V(r(t))} \quad (2.16)$$

El algoritmo de Verlet utiliza posiciones y aceleraciones en el tiempo t y las posiciones desde el tiempo t-δt para calcular nuevas posiciones en el tiempo t+δt. Las ventajas de este algoritmo son: i) Sencillo. ii) los requisitos de almacenamiento son modestos. La desventaja es que el algoritmo es de una precisión moderada [151].

- **Solvatación explícita**

  En la solvatación explícita, la región de interés es solvatada por una cantidad determinada de moléculas de solvente que se encuentran contenidas en una caja cúbica. Los solventes son empleados por un campo de fuerza adicional que los limita a ellos de la esfera mientras mantiene una buena apariencia para el volumen de agua

1.6.3. Optimización Geométrica

La optimización geométrica es un método empleado para predecir o encontrar el orden tridimensional de los átomos en una molécula por medio de la minimización de un modelo

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

energético. El fenómeno de enlace, predice la tendencia de átomos y moléculas para conglomerarse dentro de una estructura larga y estable esta especificación de las estructuras dependen de los elementos constituyentes, pueden ser explicados en principio como un mínimo como resultado de la optimización geométrica[152].

La optimización geométrica, emplea la geometría inicial de la molécula y sigue el siguiente proceso:

1. Se emplea un campo de fuerza, para el cálculo de la energía potencial de la molécula.

2. Se cambia la geometría molecular en la dirección indicada.

3. Posteriormente se determina la energía y sus derivadas y el proceso continúa hasta que se alcanza la convergencia geométrica que se fija, culminando así el proceso de minimización y obteniéndose una estructura estable de mínima energía.

1.6.3.1. Gradiente descendiente (Steepest descent)

El gradiente descendiente, es un método empleado para realizar una primera aproximación del mínimo de la conformación inicial de la estructura molecular. Por lo general, el método es robusto cuando el punto inicial de la estructura está muy lejos del mínimo, donde la aproximación armónica de la superficie energética es baja, también, se da en superficies donde se realizan pasos pequeños cuando el procedimiento es a través de una pendiente reducida. Éste método a su vez ayuda a eliminar perturbaciones estéricas de la conformación inicial. Cada búsqueda del mínimo por medio de éste método es perpendicular al anterior, repitiendo éste paso es como se llega a encontrar el mínimo como se muestra en la figura N° 07 [153].

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

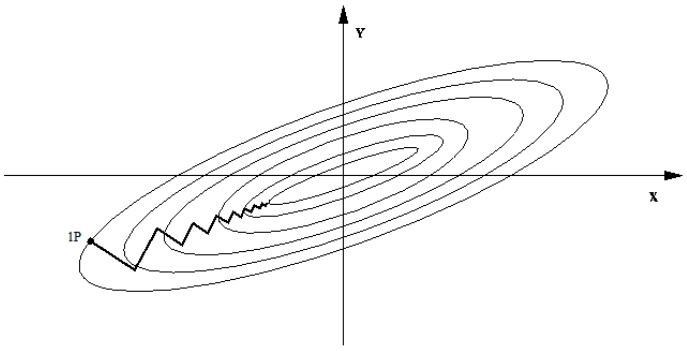

Figura N° 07: Gradiente descendiente

1.7. Colectivo Canónico (NVT)

Tipos de colectivos:

1. Colectivo Microcanónico:

Es un modelo empleado para describir un sistema aislado, es decir que no interacciona con el medio y se caracteriza por una energía constante.

Posee constante (N, V, E). La muestra es obtenida por integración simple de la dinámica Newtoniana. (verlet, leap-Frog, Velocity Verlet, Gear).

2. Colectivo Canónico

El ensamble canónico, hace referencia a un sistema que contiene un número fijo de partículas y volúmen, sin embargo, la energía es fluctuante, es decir, esta puede pasar de un sistema a sus vecinos de modo que la energía de cada sistema varía. Por lo tanto, cada sistema está en contacto térmico con el resto de sistemas y pueden intercambiar calor entre sí (T). Con esta premisa podemos decir que todo el sistema puede ser tratado como un sistema NVE, pero cada partícula está en NVT constante, y la energía de cada partícula fluctúa.

El nombre de colectivo canónico viene del hecho de que un sistema en contacto con un baño de calor, se dice que está en su estado canónico. Esta palabra significa conformarse a una regla general o estándar. La mayoría de los sistemas experimentales están en contacto con los baños de calor, por lo que este es un conjunto más natural que el conjunto microcanónico[153].

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

- Termostato de Nóse-Hoover: Posee grados adicionales de libertad de acoplamiento para que el sistema físico actúe como un baño de calor mencionados anteriormente. La dinámica de Nóse-Hoover permite fluctuaciones en las variables de estado y hasta la fecha, todo el análisis de las ecuaciones de NH se ha limitado a sus propiedades de equilibrio[154].

3. Colectivo Isotérmico-isobárico:

Posee constante (N, P, T), En adición al termostato, el volumen del sistema es permitido para fluctuar, y es regulado por algoritmos del barostato. El sistema se halla en contacto con un foco térmico, a su vez también actúa como un foco de presión. En éste sistema el volumen del sistema *(V)*, es el que varía en vez, del número de partículas *(N)* que se mantiene fijo.

1.8. Acoplamiento Molecular (*Docking*)

El docking molecular o acoplamiento molecular se refiere a la predicción computacional de la pose (posición relativa y rotación) entre dos proteínas que interactúan y tienen la menor energía total. Este proceso es bastante exigente debido a la complejidad del cálculo computacional y al gran tamaño del complejo de proteínas. Por lo tanto, la mayoría de los sistemas de acoplamiento pueden adoptar uno de los dos pasos.

El primer paso es encontrar el mejor ajuste entre dos proteínas, a menudo asumiendo que ambas proteínas son rígidas. Durante el proceso, las puntuaciones se dan de hasta miles de poses entre las dos proteínas y algunas de las poses con mayor puntuación se conservan para una evaluación adicional [155].

Un segundo paso, es reducir al mínimo la energía potencial total de las poses generadas por el primer paso. Este paso se realiza a menudo luego de la minimización empleando un campo de fuerza. Durante el paso, la molécula más grande del par (referido como receptor) generalmente se queda fija, mientras que los átomos de la cadena lateral de la molécula de menor tamaño (denominado ligando) son libres de moverse.

Durante cada interacción, la energía potencial total del complejo es calculado, y un movimiento del ligando a un punto vecino se hace utilizando un estándar de técnica de optimización, por lo general Newton-Raphson o cuasi-newtoniana (L-BFGS). Este

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

procedimiento se repite hasta la convergencia de la energía. Para cada conformación molecular se debe realizar cientos de iteraciones. Debido a que por lo general hay miles de poses para ser minimizadas por par (receptor - ligando), el tiempo total de la fase de minimización puede realizarse en varias horas o también se puede dar una aceleración del tiempo de minimización de la energía. Algunos de los programas de base que utilizan la minimización de energía son: EADock, Hex, Autodock, etc.

1.8.1. Función de Puntuación (Scoring)

Para evaluar y clasificar las estructuras que han sido obtenidas en el acoplamiento molecular (docking), es importante dar una proyección virtual basada en la estructura. Esto se debe, a que los cálculos en última instancia pueden no tener éxito, si no se diferencian las poses correctas de las incorrectas. Por tal motivo, es importante considerar sistemas de puntuación fiables.

Las funciones de puntuación implementadas en los programas de acoplamiento hacen diversas suposiciones y simplificaciones para la evaluación de sistemas modelados. Uno de los sistemas de puntuación más empleados es el que se basa en los campos de fuerza.

El sistema de Puntuación basada en campos de fuerza de la mecánica molecular, cuantifica la suma de dos energías, la energía de la interacción ligando-receptor y la energía interna del ligando.

La mayoría de los sistemas basados en campos de fuerza, sólo consideran una conformación única de proteínas, lo que hace posible omitir el cálculo de la energía interna de la proteína, y simplifica la puntuación. Las diversas funciones de puntuación de campo de fuerza se basan en diferentes conjuntos de parámetros correspondientes a los campos de fuerza. Por ejemplo, el G-Score[156] se basa en el campo de fuerza Tripos [157], el AutoDock [158] en el campo de fuerza AMBER [133] y el hex se basa en el campo de fuerza OPLS [134]. Sin embargo, las formas funcionales de todos son muy similares.

1.8.2. Potencial Electrostático

El potencial electrostático, es una herramienta que proporciona información sobre la asociación intermolecular y las propiedades moleculares de las moléculas. También, permite observar las regiones del espacio hacia donde se sienten atraídas las moléculas

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

cargadas positivamente (regiones electrostáticas negativas) o negativamente (regiones electrostáticas positivas). Los datos obtenidos son empleados para predecir la reactividad de las moléculas [159].

Para realizar el cálculo de los potenciales electrostáticos se puede emplear la ecuación de Poisson y Boltzman para macromoléculas, debido a que esta da una relación del potencial con respecto a la posición y la distribución de carga que lo genera [160]. Las cargas de soluto se localizan de acuerdo al modelo molecular elegido la estructura del banco de datos de proteínas (PDB) o el modelo teórico, es difícil predecir la distribución iónica de las cargas, porque este se debe al efecto combinado de las cargas de solutos, distribución dieléctrica y distribución iónica. La ecuación de Poisson Boltzmann explica esto haciendo algunas suposiciones razonables. En cualquier sistema complejo de partículas que interactúan, la densidad de una partícula en cualquier punto $[\sigma(\vec{r})]$, puede expresarse en relación con la densidad de la misma partícula en ausencia de la interacciones con otras partículas en el sistema.

La ecuación (2.18) puede representarse de ésta manera:

$$\sigma(\vec{r}) = g(\vec{r})\sigma(\vec{r}) \tag{2.17}$$

La relación entre la densidad real y la densidad media de la partícula $[g(\vec{r})]$, es la función de distribución de esa partícula (161). Un concepto útil que puede derivarse de la función de distribución es el potencial de la fuerza media $[w(\vec{r})]$, [161] para la partícula, definida a partir de la ecuación 2.18:

$$g(\vec{r}) = e^{[-w(\vec{r})]/kT} \tag{2.18}$$

En otros términos, describimos la distribución de partículas observada a través de una distribución de Boltzmann donde el potencial de fuerza media condensa el efecto promedio de todo el sistema en un solo potencial de partícula. El nombre “potencial de la fuerza media” proviene del hecho de que el gradiente de este potencial, con respecto a las coordenadas de la partícula, da la fuerza media que actúa sobre la partícula.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

En un sistema iónico, los iones preferentemente residirán en regiones donde el potencial promedio es alto o bajo según el signo de su carga. Esta frase debe tomarse con cierta precaución porque, en un sistema con iones, las interacciones electrostáticas son examinadas y los efectos electrostáticos debidos al soluto suelen estar limitados a una distancia de 10-20 A˚. Por lo tanto, un volumen grande (dependiendo de la concentración del soluto) está disponible para iones donde no hay perturbación relevante en la distribución. En otras palabras, la tendencia hacia las regiones de bajo potencial de energía es equilibrada de manera eficiente por la entropía[162].

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO II

Detalles computacionales y metodología

2.1. Equipos y Software

Los equipos y programas computacionales necesarios para poder realizar los cálculos son los siguientes:

2.1.1. Hardware

Workstation con procesador E7 de 3.0 GH, con 64 GB de memoria RAM, con tres discos duros de 1,4 y 6 GB, 04 Tarjetas Aceleradoras de Video NVidia GTX 980.

2.1.2. Software Computacional

- **Base de Datos del NCBI**

El Centro Nacional para la Información Biotecnológica, es una base de datos biológica, donde se encuentra información relevante para realizar investigaciones empleando herramientas bioinformáticas y software computacionales para el análisis de diversas estructuras moleculares, información de genomas, información biomédica, biotecnológica, bioquímica, etc. Esta base de datos a su vez presenta distintos recursos como bases de datos adosados que le permiten obtener y almacenar toda la información necesaria[163]. Se puede encontrar en la web con este Link: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/all/

- **Base de Datos del PDB**

La Base de datos del Protein Data Bank, en esta base de datos se encuentra almacenada información de estructuras tridimensionales y macromoleculares como: proteínas y ácidos nucléicos. Esta información generalmente es obtenida mediante la técnica de Cristalografía de Rayos X, que son proporcionados por biólogos y bioquímicos a nivel mundial y generalmente pueden ser analizadas empleando

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

herramientas Bioinformáticas[164]. Se puede encontrar en la web con este Link: http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do

- **Unipro UGENE 1.29**

Unipro UGENE es un software multiplataforma de código abierto que integra herramientas de bioinformática ampliamente utilizadas dentro de una interfaz de usuario común. El kit de herramientas admite múltiples formatos de datos biológicos y proporciona módulos de visualización para estos datos tales como secuencias genómicas, alineaciones de secuencias múltiples, árboles filogenéticos y estructuras tridimensionales[165].

- **GaussView 5.0.1**

Este programa es la interfaz gráfica del software *Gaussian 09*, sirve para construir moléculas o sistemas reactivos, permite a su vez visualizar y analizar los archivos generados por el programa Gaussian[166].

- **Molden 5.4**

Es un programa empleado para visualizar y crear nuevas estructuras moleculares, éste a su vez emplea diversas herramientas de edición que permite la creación y modificación de estructuras los cuales pueden ser empleados como archivos de ingreso que posteriormente pueden ser analizados y calculados por el programa *Gaussian*.

- **Gaussian 09**

Es un software de química computacional, que realiza cálculos empleando métodos de la mecánica cuántica, este programa proporciona la capacidad para el modelado de estructuras electrónicas, evaluación de frecuencias vibracionales, propiedades moleculares y también se pueden evaluar una amplia variedad de reacciones químicas en un ambiente determinado [167].

- **Gromacs (v.2016)**

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Es un software empleado para realizar simulaciones de Dinámica Molecular, principalmente de moléculas biológicas como lípidos, proteínas, ácidos nucléicos y moléculas no biológicas como los polímeros, una vez ejecutada la corrida el programa nos indica a que día y hora finaliza la simulación de la estructura[168].

- **Chimera (2017)**

Es un programa empleado para la visualización y análisis de estructuras moleculares, emplea varias herramientas para la evaluación de las moléculas como imágenes de alta calidad, animaciones, trayectorias, conjuntos conformacionales[169].

- **Hex**

El servidor Hex es un programa interactivo de gráficos, empleado para calcular y evaluar los modos de acoplamiento molecular y superposición de estructuras entre receptores y ligandos, empleando solamente el conocimiento de sus formas en 3D. Para lo cual usa las correlaciones esféricas polares de Fourier (SPF) y a su vez también emplea unidades procesadoras gráficas (GPUs) para acelerar los tiempos de cálculo. En los cálculos de acoplamiento realizados por el programa Hex, cada molécula es modelada usando expansiones 3D para codificar la forma superficial, la carga electrostática y sus distribuciones potenciales [170].

- **RAMPAGE: Ramachandran Plot Assessment**

El diagrama de Ramachandran (también conocido como un diagrama de [φ, ψ]), es un servidor que procesa la información que es ingresada en un archivo en formato *.pdb* por medio de este servidor se puede visualizar las regiones que son energéticamente permitidas para el segmento principal ángulos y diedros en (ψ) frente a (φ) que corresponden a los residuos de aminoácidos en la estructura proteica. El resultado gráfico obtenido en este servidor, nos permite validar la existencia de nuestra estructura en la naturaleza. Se puede encontrar en la web con este Link: http://mordred.bioc.cam.ac.uk/~rapper/rampage.php

- **PDB2PQR**

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Esta herramienta prepara las estructuras para realizar cálculos adicionales reconstruye átomos faltantes, agrega hidrógenos, asigna cargas atómicas. Toma los archivos *.pdb* para luego generar archivos *.pqr* el cual será posteriormente descifrado por el programa APBS. Se puede encontrar en la web con este Link: http://nbcr-222.ucsd.edu/pdb2pqr_2.1.1/

- **APBS**

Cálculo de la electrostática Adaptativa de Poisson-Boltzmann Solver (APBS), es un paquete de software para modelar la solvatación biomolecular mediante la solución de la ecuación de Poisson Boltzman, este es un modelo continuo usado para describir las interacciones electrostáticas de las simulaciones en una amplia gama de escalas de longitud, que permite la investigación de moléculas que posean gran cantidad de átomos. http://nbcr-222.ucsd.edu/pdb2pqr_2.0.0/

2.2. Metodología

2.2.1. Optimización de las estructuras moleculares a nivel de Teoría Funcional de la Densidad.

Las estructuras elegidas fueron de un fármaco patentado (PF-04859989) y el cofactor Piridoxal-5-fosfato (PLP) debido a que la enzima KAT II necesita de ello para ser funcional. La estructura del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihiroquinolin-2-(1H)-ona y el cofactor Piridoxal-5-fosfato (PLP), fué construida mediante el programa GaussView, se guardó con la extensión: *.gjf*. Este archivo contiene información de las coordenadas XYZ, así mismo en la cabecera se determinó la memoria y el número de procesadores que fueron empleados para el cálculo, con la opción de salida de extensión *.chk*, la funcional híbrida B3LYP que corresponde a la funcional de intercambio de Beck (B3) y la funcional de correlación de Lee, Yang y Parr (LYP), conteniendo la corrección de largo alcance (CAM). El conjunto base a ser utilizado es el UGBS (Universal Gaussian Bases Set). Así mismo se indicó una carga neutra y la multiplicidad del sistema. Terminando el cálculo, el programa nos informó de dos archivos finales de extensión .log y .chk, donde el archivo .log nos muestra los cálculos de frecuencia y las cargas para cada uno de los

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

átomos que conforma la estructura del fármaco y del cofactor. En la *figura 08* se muestra el archivo inicial *.gjf* con los criterios de cálculo mencionados anteriormente.

```
%chk=3amino1.chk
%mem=20GB
%nprocshared=20
# CAM-B3LYP/UGBS  Opt  Freq

(3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.

0 1
 C        -3.074777825542      4.041481953182       0.051974230036
 C        -1.779592889929      4.269374795013       0.523470549651
 C        -1.034573761278      5.274402331140      -0.066515208550
 C        -1.565556864738      6.055787916547      -1.083319708695
 C        -2.859443645324      5.826581545694      -1.518675248744
 C        -3.623784989127      4.815946787527      -0.957382113712
 H        -0.025924818948      5.455584330598       0.285358778630
 H        -0.970901385907      6.841966195098      -1.528901305040
 H        -3.282587280197      6.434758741572      -2.307417329014
 H        -4.632552614479      4.622457649068      -1.289695565721
 C        -1.784243897027      1.983303496775       1.537458277953
 N        -3.798338787849      3.004692455465       0.651300232387
 O        -5.149865052893      2.933951065278       0.357441231266
 H        -5.394457261420      2.099511655616       0.809561026800
 C        -1.293452220598      3.427967165383       1.670085395263
 C        -3.294850716334      1.966915239623       1.365727839381
 O        -4.047236491676      1.101035929182       1.779036467441
 H        -1.673739139172      3.848296806919       2.608087411529
 N        -1.204842702164      1.228739782282       0.435576260775
 H        -1.172453739757      1.771282688284      -0.418736094763
 H        -0.270000006044      0.914262294536       0.654394140182
 H        -1.591131190826      1.432062420574       2.456173192388
 H        -0.204385798773      3.443287094643       1.727350490558
```

Figura N° 08: Formato final del archivo *.gjf* visto en el editor de texto *medit.*

2.2.2. Optimización molecular de ligandos mediante mecánica clásica

Se realizó la optimización de la geometría mediante un ensayo de mecánica cuántica con el programa Gaussian bajo la licencia de la UAM-México. Finalmente, con los archivos de salidas se obtuvo las cargas de Hirshfeld para cada átomo que conforma los ligandos, estos fueron usados para generar nuevos campos de fuerza en el esquema OPLS_AA. Para ello, se modificó la base de datos del campo de fuerza OPLS_AA de la raíz de Gromacs, para que las estructuras sean reconocidas por el programa. Teniendo la información de las distancias de equilibrios, ángulos y diedros, así como las cargas para calcular los términos

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

de largo alcance, son declarados en el esquema de campos de fuerza tipo OPLS-AA, la definición para nuestro fármaco y nuestro cofactor Piridoxal-5-fosfato, véase en los ANEXOS A1-A2.

2.2.3. Selección de la estructura KAT II

Se hizo una búsqueda en la base de datos del NCBI y del PDB, para obtener todas las secuencias de la KAT II reportadas hasta el momento, de los cuales se encontraron 4 archivos bajo la extensión *.pdb* (5EFS.*pdb*, 2QLR.*pdb*, 2VGZ.*pdb* y el 5EUN.*pdb*) y 2 archivos en formato fasta (2VGZ_A / 2VGZ_B) los cuales contenían la información de la enzima KAT II, posteriormente, se hizo un alineamiento de secuencias múltiples de los diferentes archivos reportados, usando el paquete computacional UGENE, para identificar si existe alguna diferencia secuencial entre las estructuras, ver ANEXO A3 .

2.2.4. Minimización de la energía de las estructuras de la KAT II, a nivel de Mecánica Molecular usando solvente explícito.

Luego de haber realizado el alineamiento de secuencias múltiples, se escogió el archivo 5EUN.*pdb* correspondiente a la estructura de la KAT II, con la estructura obtenida se realizó la minimización de las energías con el integrador steep descendent a 200000ps, teniendo en cuenta el campo de fuerza OPLS_AA, considerando una caja cúbica, la condiciones de la minimización se encuentran en el Anexo A4.

2.2.5 Simulaciones de Dinámica Molecular de las estructuras terciarias.

La simulación de dinámica molecular fué realizada por un tiempo de 200-500ns para la estructura proteica. Para controlar la temperatura, se hizo uso del termostato de Nosé-Hoover, el tamaño de la caja de prueba que contiene las condiciones experimentales es tres veces la distancia más larga de cada molécula para evitar efectos de borde, todo ello bajo el colectivo canónico NVT (número de moléculas, volumen y temperatura constante), ver Anexo A5.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Posteriormente, también se evalúa la desviación media cuadrática (***RMSD***) de los sistemas interactuantes; la fluctuación de la desviación media cuadrática (***RMSF***), analizadores de los puentes de hidrógeno; comandos que vienen incluidos en el paquete computacional Gromac's. Los archivos analizados son evaluados por el programa ***Gnuplot.***

2.2.6. Ensamblaje Molecular "Docking" de las estructuras cuaternarias.

El programa computacional empleado en esta parte es el Hex, el cual nos va a permitir determinar todos los sitios posibles de unión que existen entre el receptor Kat II con los distintos ligandos. Este paso se hace luego de obtener la estructura final de la enzima y la de los ligandos fármaco y cofactor previamente evaluados, estos fueron ingresados al programa Hex en el orden Receptor – Ligando.

Se realizó un previo docking del cofactor con la proteína KAT II para comprobar si el sitio de unión es el mismo que se muestra en la base de datos del PDB. Posteriormente el siguiente acoplamiento se hizo con la enzima + fármaco (Kat II con el fármaco).

Para el control del Docking las opciones elegidas fueron: Tipo de correlación SHAPE + DARS, GPUs, para que el cálculo sea más rápido, se pidió al programa de ensamble un total de 50000 estructuras probables y luego se dió inicio al cálculo de predicción. Para el docking se realizaron tres interacciones, como se observa en la tabla 1.

Tabla 1: Disposición para la realización del dockeo de proteínas terciarias.

Receptor	Ligando
Kinurenina Aminotranferasa II	Piridoxal-5-Fosfato (PLP)
Kinurenina Aminotranferasa II activa	fármaco: (3S) -3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)

2.2.7. Simulación de dinámica molecular de sistemas interactuantes.

Del total de estructuras evaluadas se seleccionó la mejor estructura por medio de criterios energéticos, las estructuras seleccionadas fueron las de menor energía y se procedió a su

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

estabilización mediante minimización de las fuerzas, así como cálculos de simulación de dinámica molecular en un ensamble Canónico (NVT), durante 100ns.

2.2.8. Evaluación de las propiedades del potencial electrostático

Los potenciales electrostáticos de las estructuras terciarias fueron calculados empleando el servidor online PDB2PQR, así mismo para los cálculos se usó las ecuaciones de Poisson y Boltzman mediante el programa APBS y también se empleó el programa UCSF Chimera, para obtener las imágenes de las superficies del potencial electrostático.

2.2.9 Función de distribución radial

La función de distribución radial, g(r). Es una función que con respecto a la distancia él ve a una población, a esa población se le llama RDF, el cual con respecto a un radio él ve la distancia a la que se encuentra lo que se está analizando. A su vez describe cómo la densidad varía como una función de la distancia a partir de una partícula de referencia. Para el cálculo del RDF se usó el programa Gromac´s.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO III

Resultados y discusión

3.1. Optimización molecular de ligandos: Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H) y cofactor (PLP)

Las estructuras del fármaco y el cofactor mostradas en 2D *figura N° 09* (a y b) se construyeron con el programa Gaussview, estas estructuras fueron guardadas bajo la extensión:.xyz, la optimización de la geometría molecular se realizó mediante el programa Gaussian y con ello se determinó la posición final de cada átomo.

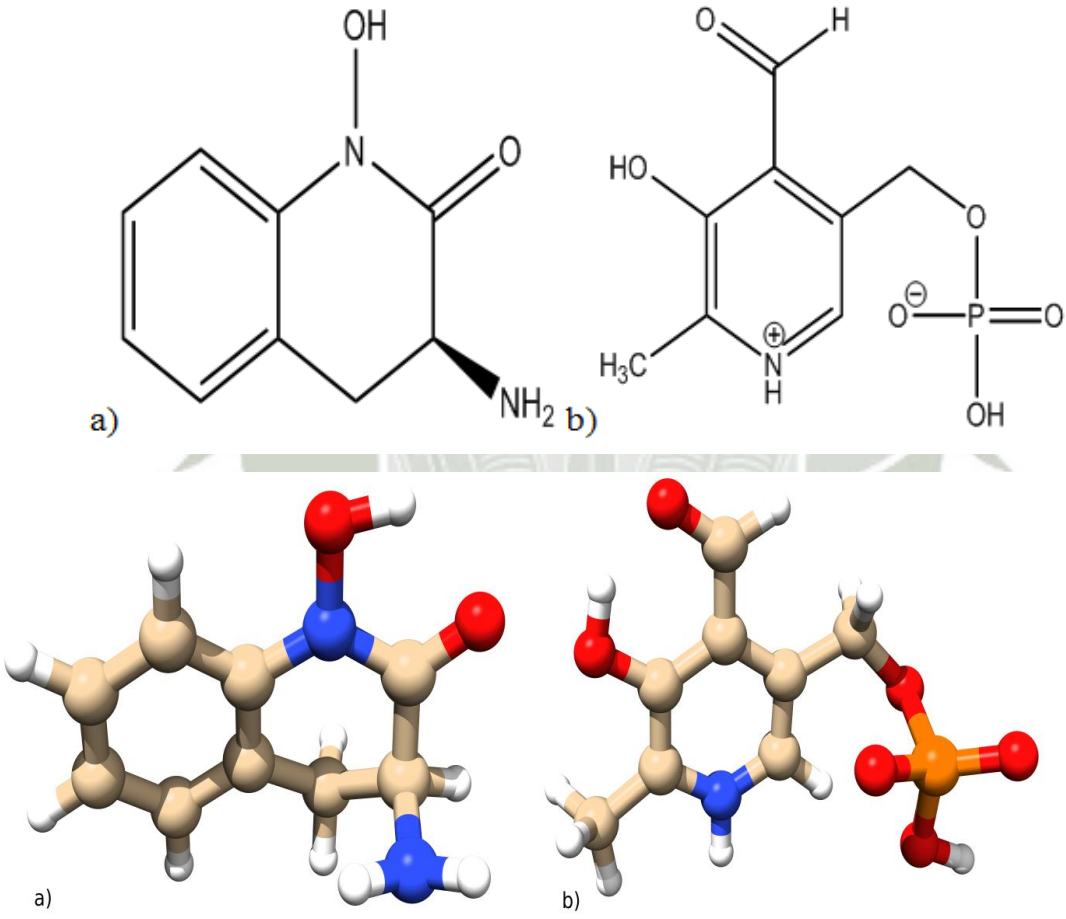

Figura N° 09: Optimización de la estructura a) Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona y b) Cofactor Piridoxal-5-fosfato

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Luego de la optimización de las estructuras evaluadas, se construyó los campos de fuerza para el fármaco y el cofactor *figura N° 09*, para lo cual se utilizó los cálculos de las cargas de Hirshfeld obtenidas por el programa Gaussian que corresponden a las cargas electrostáticas de los átomos que componen las estructuras moleculares. Posteriormente se editaron los archivos de la base de datos de Gromacs como: aminoacid.rtp (en éste archivo se agregó la estructura de cada aminoácido), atomtype.atp (se agregó las entradas correspondientes a cada uno de los átomos), ff-bonded.itp (se agregó los datos correspondientes a los valores de las distancias, ángulos y diedros de cada estructura), ff-nonbonded.itp (se agregó el nombre de cada uno de los átomos correspondiente a las estructuras con sus respectivas cargas). Finalmente se logró generar datos importantes sobre el fármaco y el cofactor en la raíz de Gromacs, en el Anexo 1 se muestra el archivo .pdb del fármaco y el cofactor.

3.1.1 Fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona

El modelo molecular que se observa en la *figura N° 10b* es el fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona optimizado, el cual presenta sus átomos y enlaces en el espacio XYZ. Este compuesto está formado por un núcleo de quinolinona compuesto por (dos grupos amino, un grupo alcohol y un oxigeno) éste a su vez se encuentra unido a un anillo bencénico.

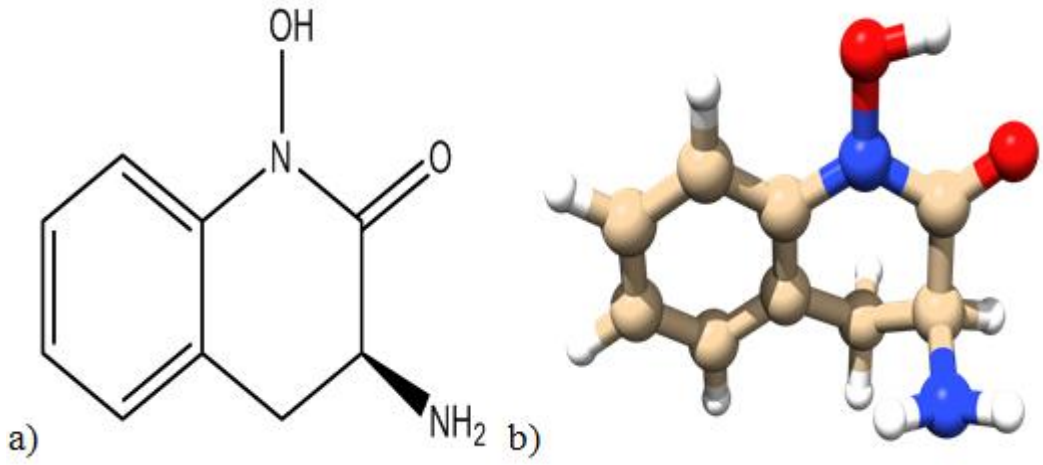

Figura N° 10 Representación molecular de la estructura del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona, a) En 2D y b) En forma de bolas y varillas.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

La desviación media cuadrática o RMSD (Root Mean Squar Desviation) nos muestra el tiempo de estabilidad alcanzado, correspondiente a los 0,5ns y se mantuvo a lo largo de la simulación de dinámica molecular con una altura de 3.5nm que se muestra en la *figura N° 11*.

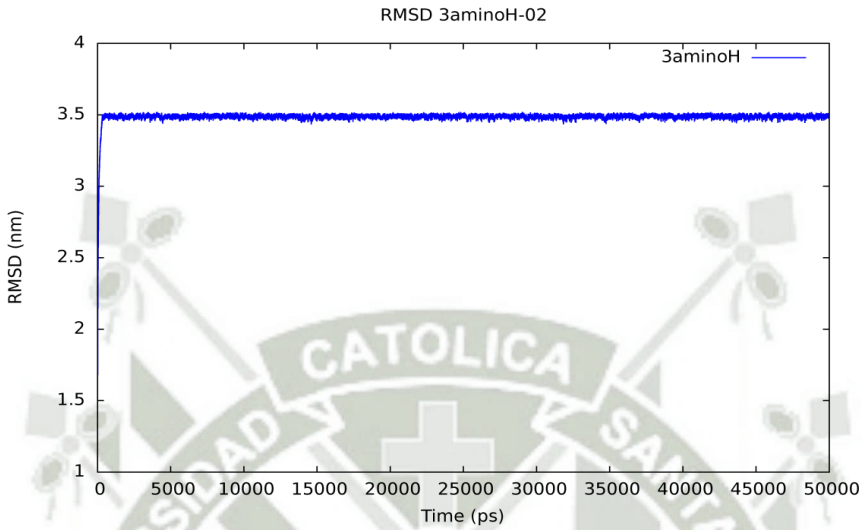

Figura N° 11: Desviación media cuadrática de la estructura del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.

En la *figura N°12* se muestra el diagrama de la energía total de la molécula, donde la estructura del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona presenta una energía negativa y estable que se aproxima a los -135000 (KJ/mol), siendo su valor real (-132949 KJ/mol).

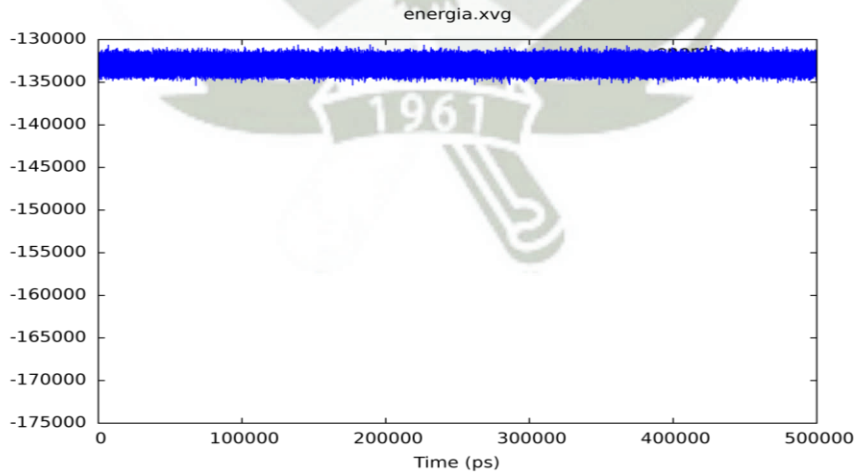

Figura N° 12: Diagrama de la energía Total del fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona em 500ns.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

3.1.2 Cofactor (Piridoxal-5-fosfato)

El modelo molecular que se observa en la *figura N° 13b*, corresponde a la estructura del cofactor Piridoxal-5-fosfato (PLP) optimizado, el cual presenta un átomo de fósforo. Así mismo se observa que la reactividad del PLP se basa en la formación de una imina, siendo el resultado de la unión del grupo aldehído del PLP con el grupo ε-amino de un residuo de Lys.

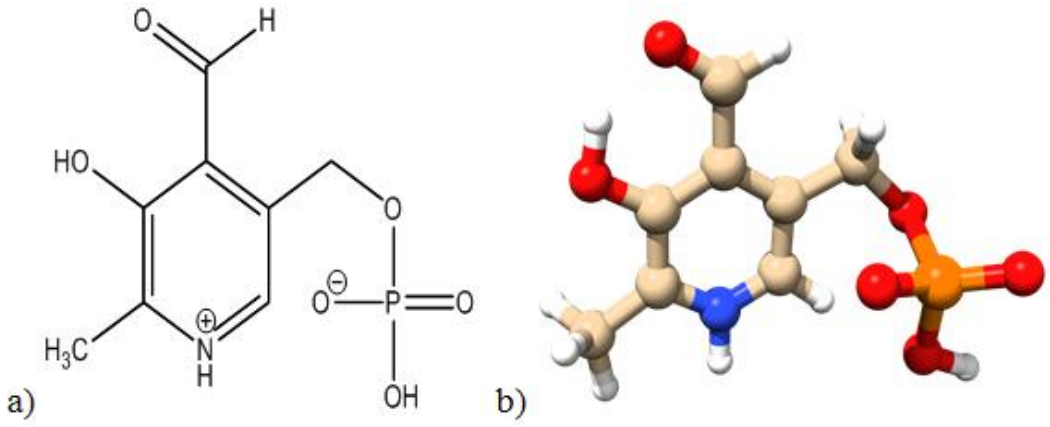

Figura N° 13: Representación molecular de la estructura del cofactor Piridoxal-5-fosfato (PLP), a) En 2D y b) En forma de bolas y varillas.

La desviación media cuadrática o RMSD (Root Mean Squar Desviation) donde el tiempo de estabilidad alcanzado corresponde a los 0,5ns y se mantiene hasta finalizar la simulación de dinámica molecular con una altura alcanzada de 2.1 nm el cual se puede observar en la *figura N° 14.*

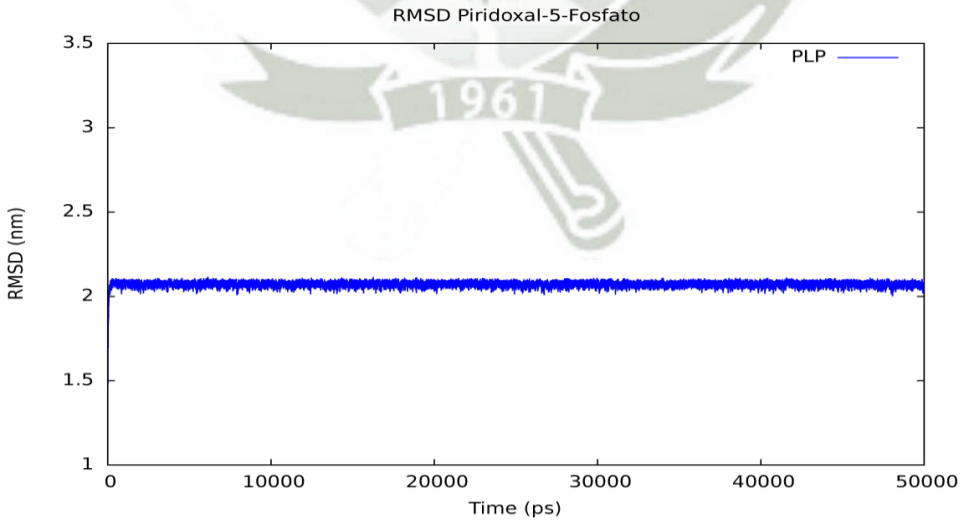

Figura N° 14: Desviación media cuadrática del Piridoxal-5-fosfato.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

En la *figura N° 15* se muestra el diagrama de la energía total de la molécula, donde se obtuvo la energía total correspondiente a -29032.6 (KJ/mol) que se mantiene estable a lo largo del tiempo.

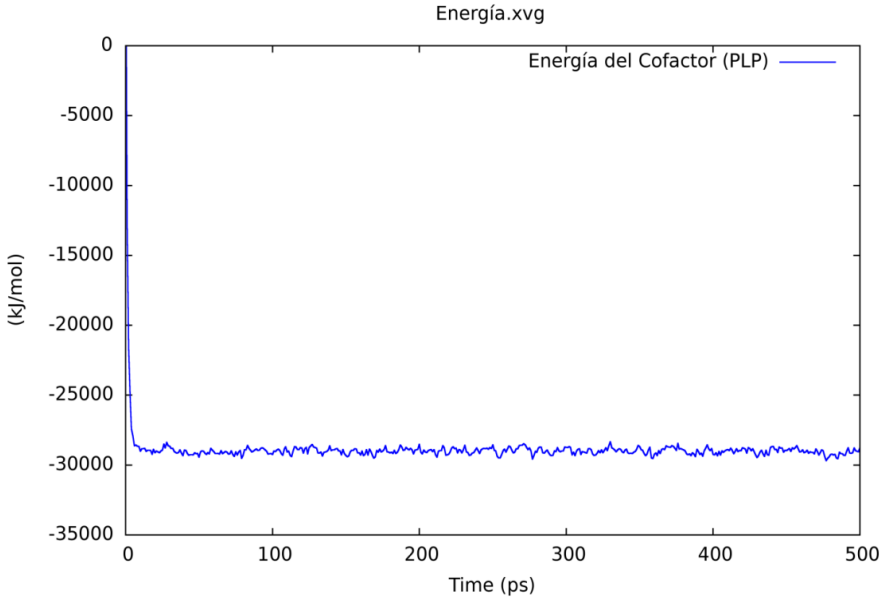

Figura N° 15: Diagrama de la energía total del cofactor Piridoxal-5-fosfato (PLP).

3.2. Selección de la estructura KAT II.

De las estructuras obtenidas de las bases de datos confiables, se hizo el alineamiento múltiple de las secuencias empleando la herramienta de alineación del programa *Ugene*, para verificar la presencia o ausencia de residuos en las estructuras obtenidas por cristalografía de rayos X, en la *figura N° 16* se muestran seis modelos de secuencias, de las cuales se observa que el modelo 2VGZ muestra una pérdida de los residuos "IRTMTDILSRGPK", así mismo al inicio de las secuencias se muestra como residuo inicial el aminoácido Metionina el cual nos indica que son secuencias provenientes de un cDNA. Con todo ello se pudo elegir como modelo de estudio la secuencia correspondiente a la KAT II encontrada bajo el código de acceso 5EUN.pdb (*figura N° 17*) el cual se caracteriza por ser la última estructura de la KAT II reportada en la base de datos, también presenta el cofactor PLP unido al residuo de LYS 263, al igual que los residuos de aminoácidos completos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

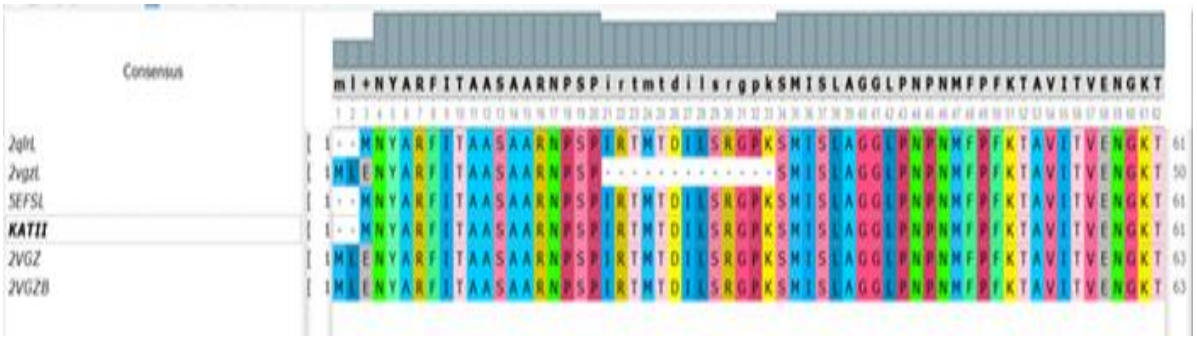

Figura N° 16: Alineamiento múltiple de las estructuras de las KAT II reportadas hasta el momento en las bases de datos del PDB y NCBI. Éste alineamiento nos muestra que no existe mayor diferencia secuencial de los residuos correspondientes a las estructuras de las KAT II.

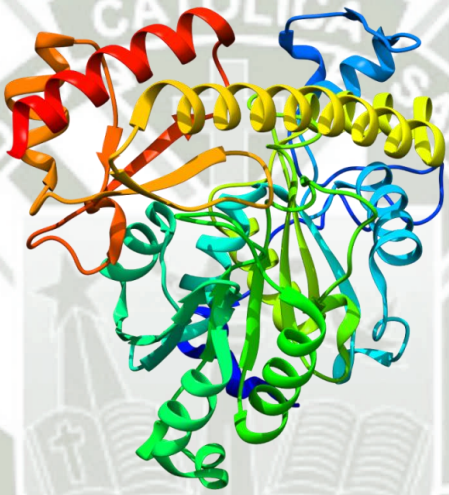

Figura N° 17: Estructura inicial de la enzima Quinurenina aminotransferasa (KAT II), que corresponde al modelo de estudio elegido archivo 5EUN.pdb

3.3. Minimización de energía de la estructura de la Apoenzima

Una vez obtenida la estructura de la KAT II sin cofactor (también denominada "apoenzima"), ésta fue minimizada empleando el integrador *steep*, la minimización se hizo a 200ns, usando solvente explícito modelo de agua SPC216, la *figura N° 18* nos indica como la proteína llega a su mínimo de energía, lo cual es indicador de que la estructura se encuentra en un estado relajado.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

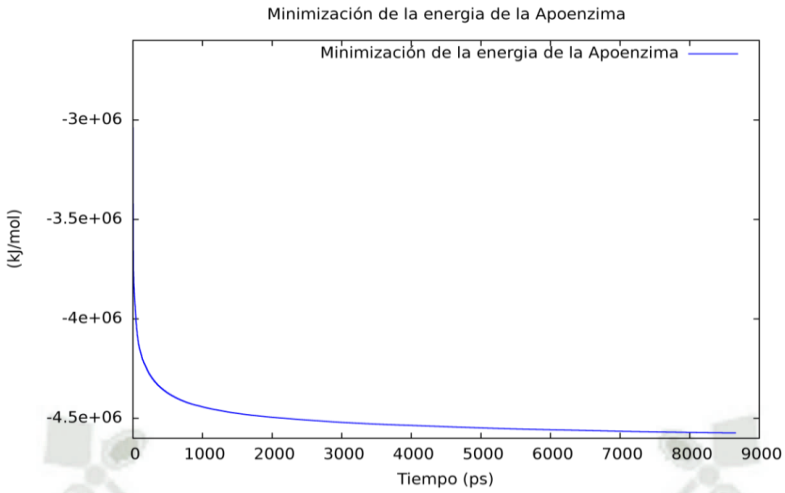

Figura N° 18: Minimización de energía de la KAT II sin cofactor o también denominada "apoenzima".

3.4. Optimización estructural de proteínas terciarias

3.4.1 Estructura molecular de la Apoenzima

En la *figura N° 19a* se muestra la estructura inicial de la apoenzima, que se halla formada por 21 hélices alfa y 12 láminas beta, mientras en la *figura N° 19b* se muestra la estructura de la apoenzima obtenida luego de la simulación de dinámica molecular, donde esta termina conformada por 14 hélices alfa y 12 láminas beta.

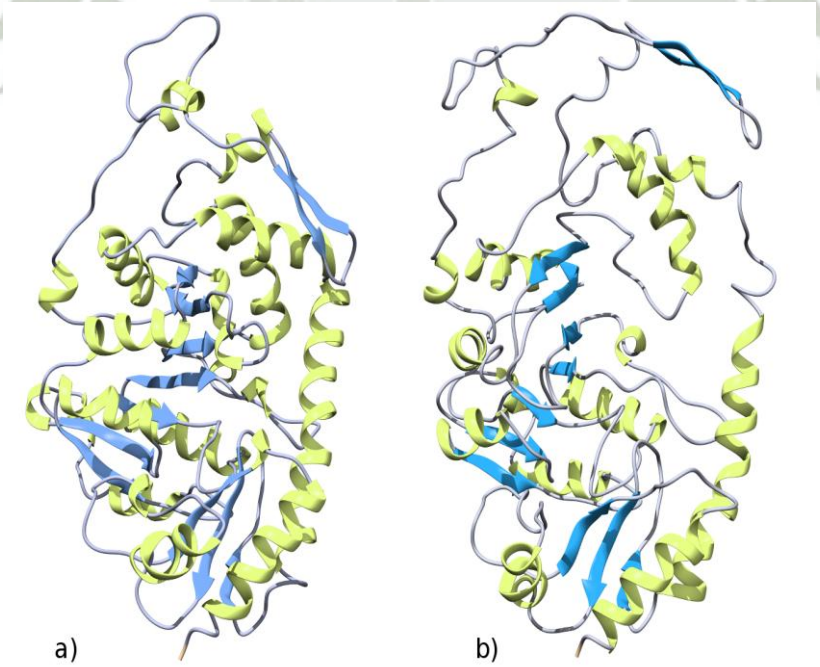

Figura N° 19: Estructura inicial y final terminada la dinámica molecular de la apoenzima. (a) Estructura inicial (b) Estructura final.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

La diferencia entre ambas estructuras radica en que en la estructura final se observa menor cantidad de hélices alfa y se conserva la cantidad de láminas beta, estas diferencias se dieron por que las láminas beta al estar ubicadas en forma paralela, los puentes de hidrógeno presentes en ésta le brindan mayor estabilidad a la estructura como se observa en la *figura N° 20*.

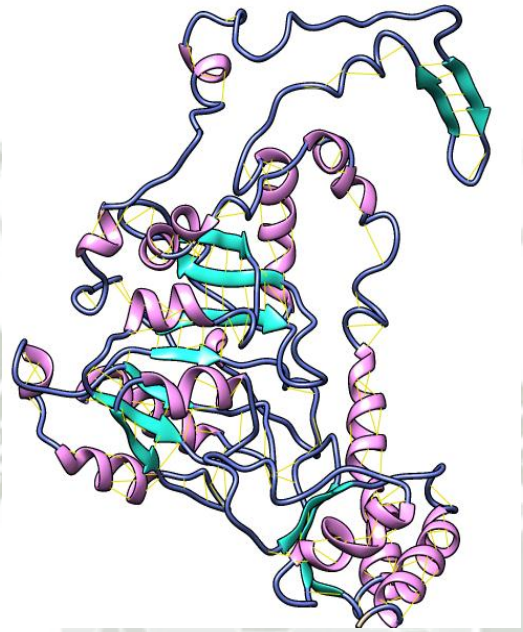

Figura N° 20: Puentes de hidrógeno (color amarillo) presentes en la estructura de la Apoenzima

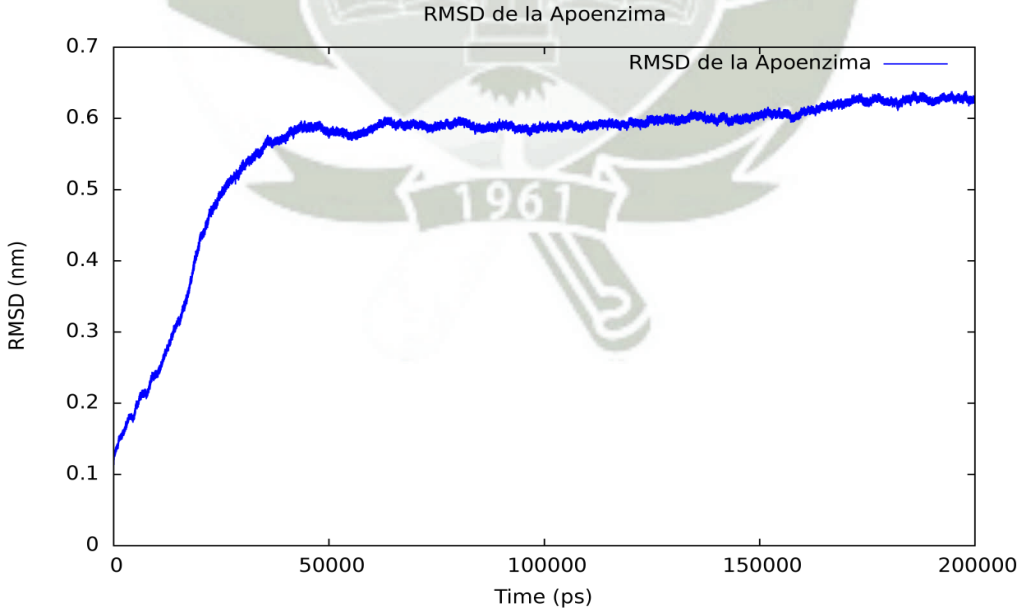

Figura N° 21: Desviación Media Cuadrática (RMSD) de la Apoenzima.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

En la *figura N° 21* se presenta el diagrama de la Desviación Media Cuadrática (RMSD), los datos obtenidos se utilizaron para la generación del mismo gráfico el cual nos indica el tiempo en el que nuestra estructura alcanza la estabilidad, la cual fué a partir de los 200ns manteniéndose constante hasta culminar la trayectoria, este dato fue empleado para la generación de la estructura promedio que se usó para la evaluación del acoplamiento molecular (Docking). También se calculó la Fluctuación de la Desviación Media Cuadrática (RMSF) para así poder obtener la información de que zonas de la estructura de la enzima han variado en su posición, hubo mayor fluctuación entre los aminoácidos 49 y 267 que corresponden a los residuos PRO y ILE, estos residuos son causantes de la fluctuación debido a su naturaleza alifática, que hace que los aminoácidos sean hidrófobos alcanzando una altura de 0.455 y 0.381 nm en su pico más alto respectivamente, como se observa en la *figura N°22*.

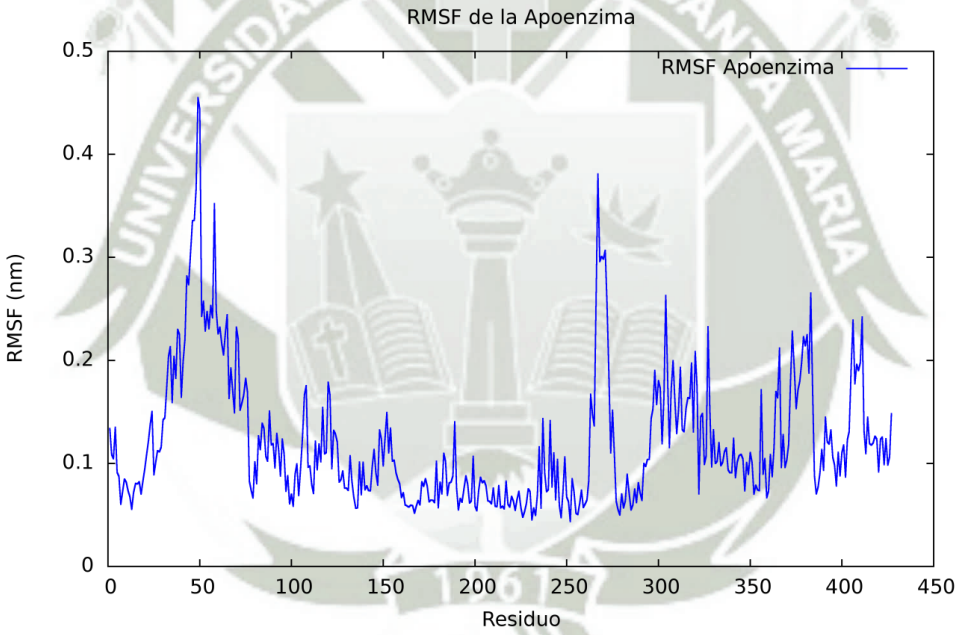

Figura N°22: Fluctuación de la Desviación Media Cuadrática (RMSF) de la Apoenzima.

Se determinó la energía total de la estructura de la apoenzima. En el gráfico de la energía total mostrado en la *figura N° 23*, se observa que la estabilidad de la apoenzima comienza a partir de los 200000ps hasta los 300000ps, manteniendo la energía estable hasta finalizar trayectoria y también es importante dar a conocer que el valor de la energía es negativo y se aproxima a los –200000 (KJ/mol), siendo su valor real (-1.61095 E+06 KJ/mol).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

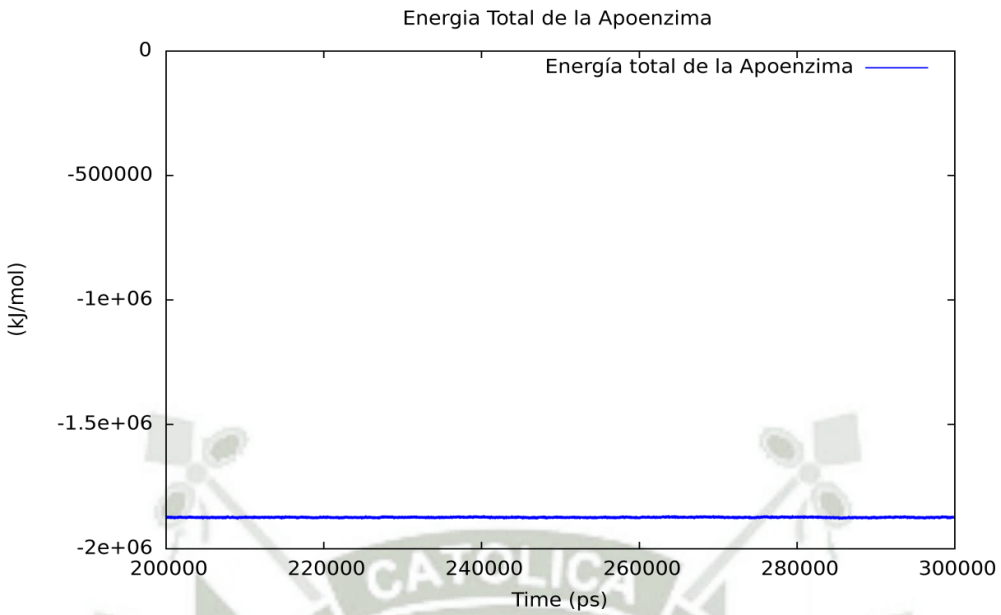

Figura N° 23: Energía total obtenida en la Dinámica Molecular de la apoenzima.

En la *figura N° 24* se muestra la estructura promedio de la apoenzima considerando la región donde ésta comienza a estabilizarse, la cual es a partir de los 200ns hasta los 300ns.

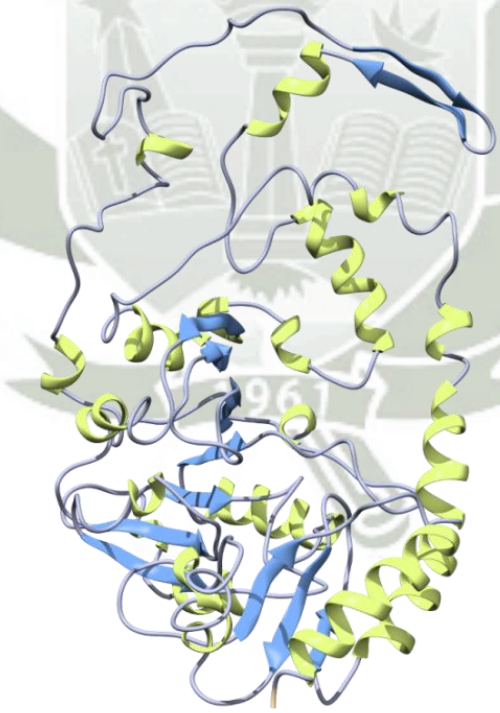

Figura N° 24: Estructura Promedio de la apoenzima, empleada para la realización del Docking.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

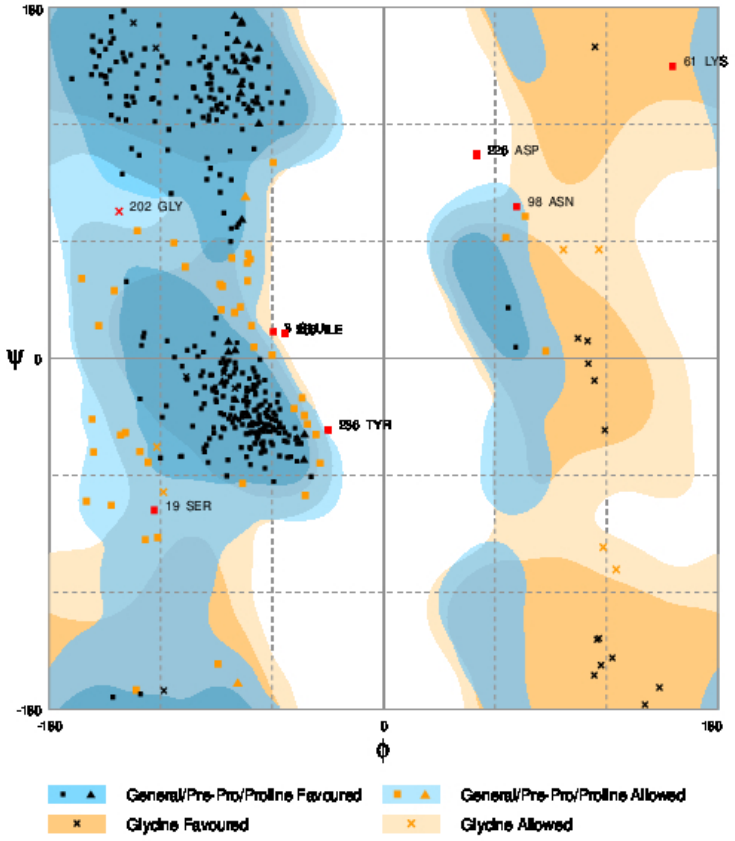

Figura N° 25: Análisis del Diagrama de Ramachandran de la estructura de la Apoenzima.

El análisis del ploteo de Ramachandran de la estructura promedio de la Apoenzima nos muestra un 86.1% de residuos en la región favorecida, 12.0% de residuos en la región permitida y un 1.9% en la región aislada (ver *figura N° 25*).

En el gráfico del diagrama también se observa al aminoácido 266:ILE que se encuentran fuera de la zona permitida, esto puede deberse a la naturaleza alifática de este residuo.

3.4.2. Estructura molecular de la Enzima KAT II

En la *figura N° 26a* se muestra la estructura inicial de la enzima KAT II, que se halla formada por 17 hélices alfa y 11 láminas beta, mientras en la *figura N° 26b* se muestra la estructura de la KAT II obtenida luego de la dinámica molecular formada por 17 hélices alfa y 13 láminas beta. Las estructuras se diferencian por que la cantidad de hélices alfa aumenta en la estructura final debido a que estas se fraccionan, por otro lado, la cantidad de láminas beta también aumenta, haciendo que la estructura de la enzima sea más estable.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

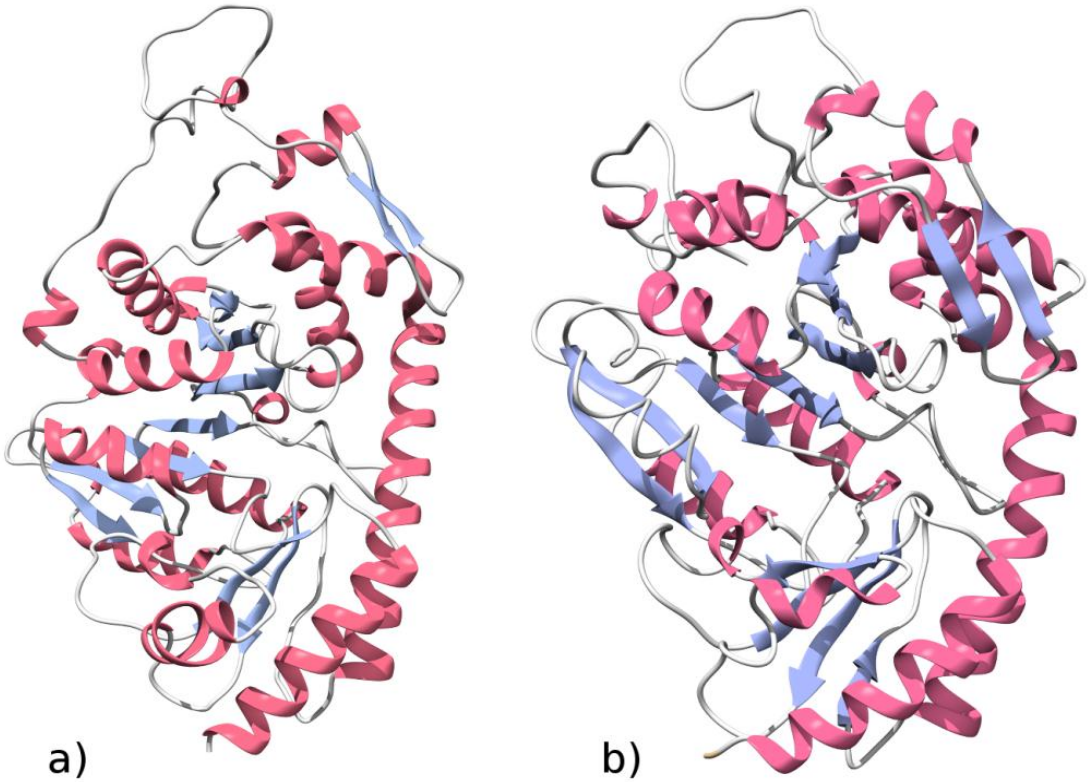

Figura N° 26: Estructura inicial y final obtenida luego de la dinámica molecular de la Quinurenina Aminotransferasa II. (a) Estructura inicial (b) Estructura final.

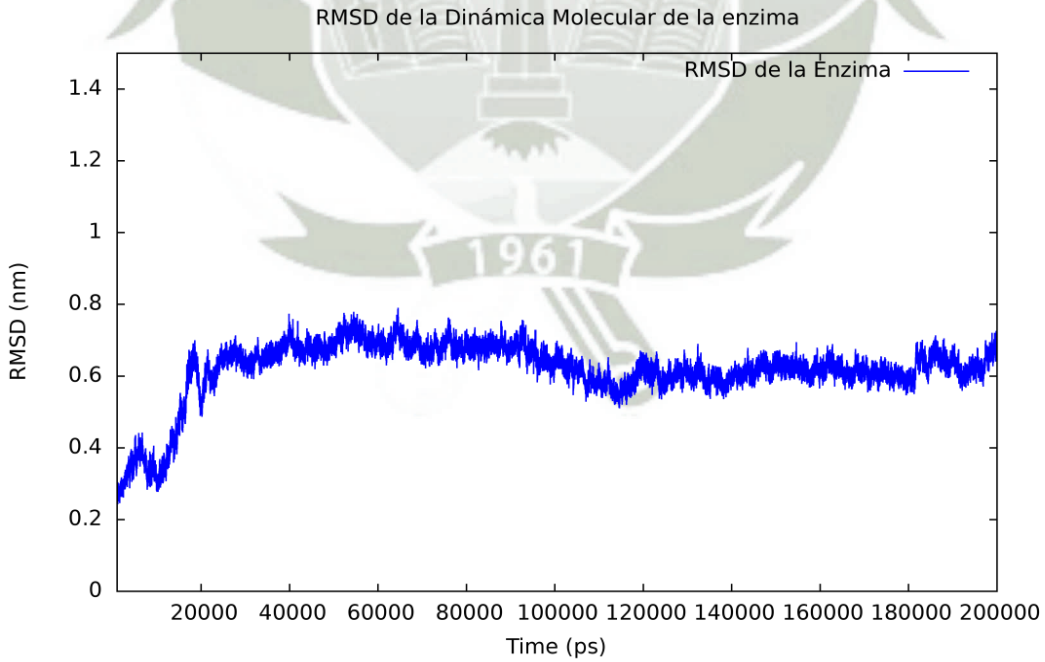

Figura N°27: RMSD de la enzima KAT II.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

En la *figura N° 27* se presenta el diagrama RMSD, los datos obtenidos se utilizaron para la generación del mismo gráfico el cual nos indica el tiempo en el que nuestra estructura alcanza la estabilidad, la cual fue a partir de los 120ns manteniéndose constante hasta los 180ns este dato es importante para la generación de la estructura promedio que fue empleado para la evaluación del acoplamiento molecular (Docking). También se calculó la Fluctuación de la Desviación Media Cuadrática (RMSF) para así poder obtener la información de que zonas de la estructura de la enzima han variado en su posición, hubo mayor fluctuación entre los aminoácidos 40 y 425 estos aminoácidos corresponden a los residuos LEU y LEU estos residuos son causantes de la fluctuación debido a su naturaleza alifática alcanzando una altura de 1.6 nm y 0.7nm respectivamente, como se observa en la *figura N° 28*.

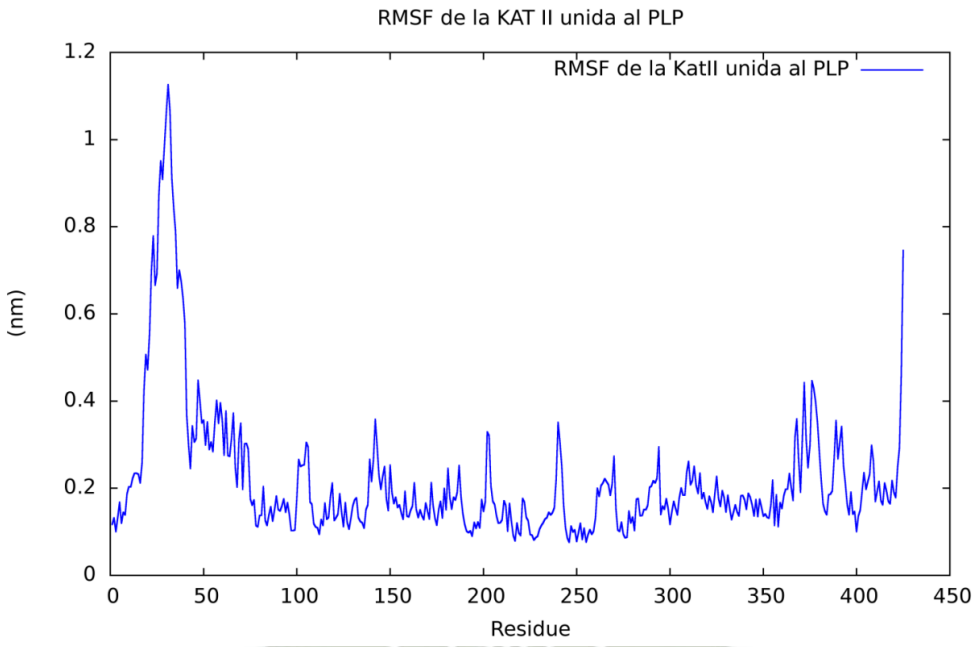

Figura N° 28: RMSF de la KAT II unida al PLP

Se determinó la energía total de la estructura de la enzima que se muestra en la *figura N° 29*, en el cual se observa que la energía de la enzima se mantiene hasta finalizar el cálculo, también es importante dar a conocer que el valor de la energía promedio es -2.9283E+06 (KJ/mol).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

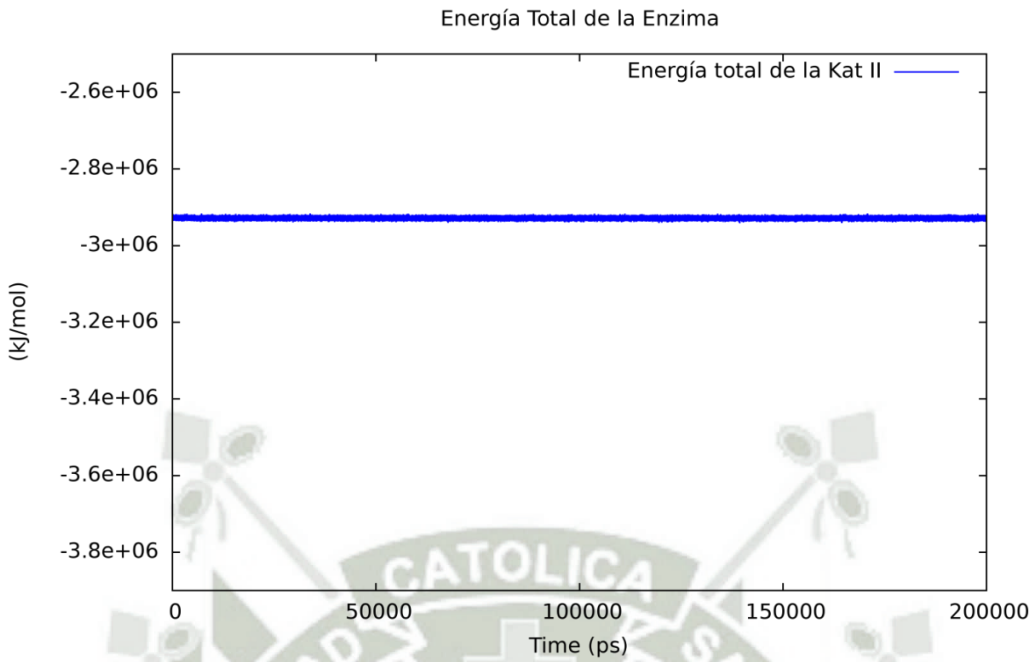

Figura N° 29: Energía Total de la enzima KAT II.

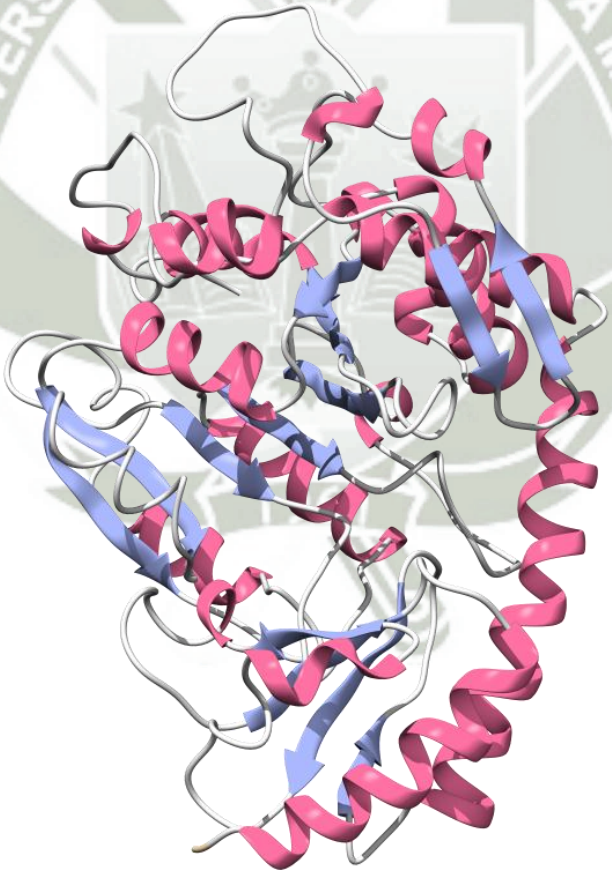

Figura N° 30: Estructura Promedio de la enzima Quinurenina Amino Transferasa II, empleada para la realización del Docking.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Con el resultado obtenido del RMSD de la estructura de la enzima KAT II, se obtuvo la estructura promedio de la enzima, *figura N° 30*, en la que se considera la región en donde la estructura comienza a estabilizarse, que es a partir de los 120ns hasta los 180ns, este dato es importante debido a que la estructura promedio es la que se emplea para la realización del docking.

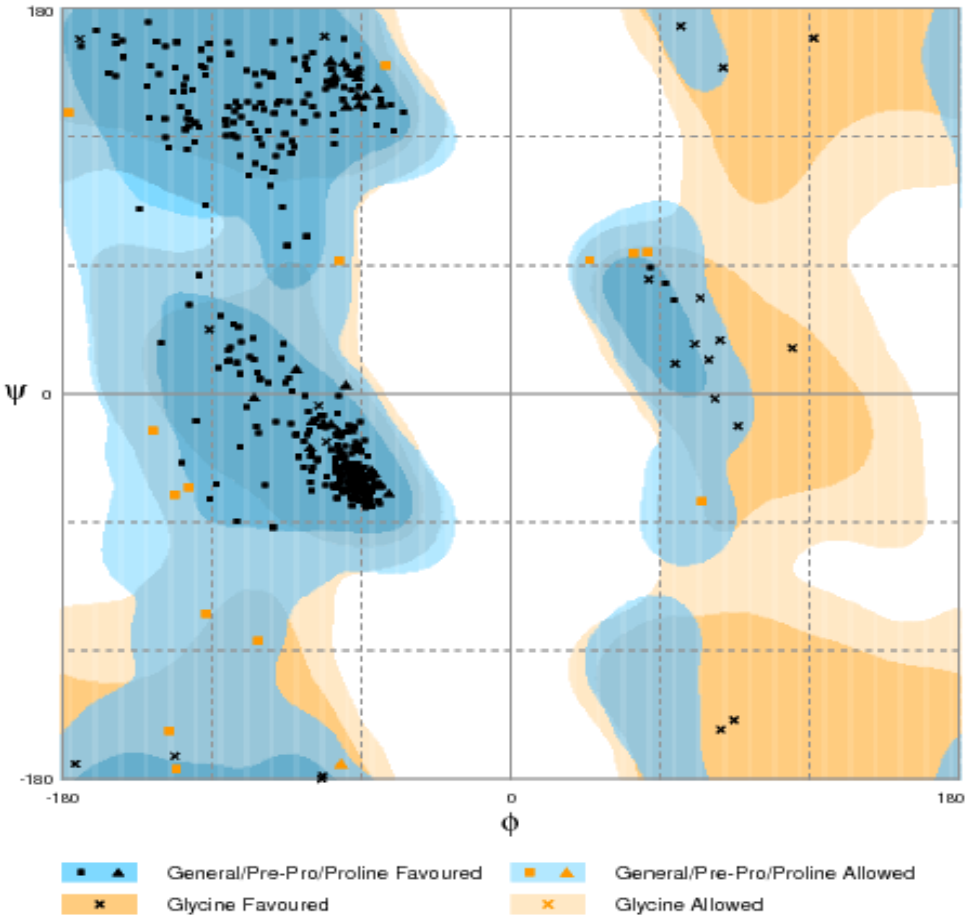

Figura N° 31: Análisis del Diagrama de Ramachandran de la estructura promedio de la enzima KAT II.

Para evaluar la estructura promedio de la enzima a trabajar se hizo el análisis del gráfico de Ramachandran, para ello se empleó el programa online Rampage, en el cual se introdujo el archivo final de la dinámica molecular de la enzima *.gro* que fue convertido en un archivo *.pdb* y posteriormente fué leído y analizado por el servidor online. Al término de la evaluación se obtuvo un archivo final en el cual se observa un 96.4% de residuos en la región favorecida, 3.8% de residuos en la región permitida y un 0% en la región aislada. (*Figura N°31*).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

3.5. Acoplamiento Molecular

3.5.1. Acoplamiento Molecular Apoenzima - cofactor

Empleando el servidor Hex se realizó el Docking de la Apoenzima con el cofactor Piridoxal-5-Fosfato *figura N° 32a*, como resultado se obtuvo que el cofactor Piridoxal-5-Fosfato se une al sitio activo de la apoenzima, el cual está conformado por los siguientes residuos: LYS 263, ARG 270, ARG 118, TYR 233 y TYR 142 *figura N° 32b*.

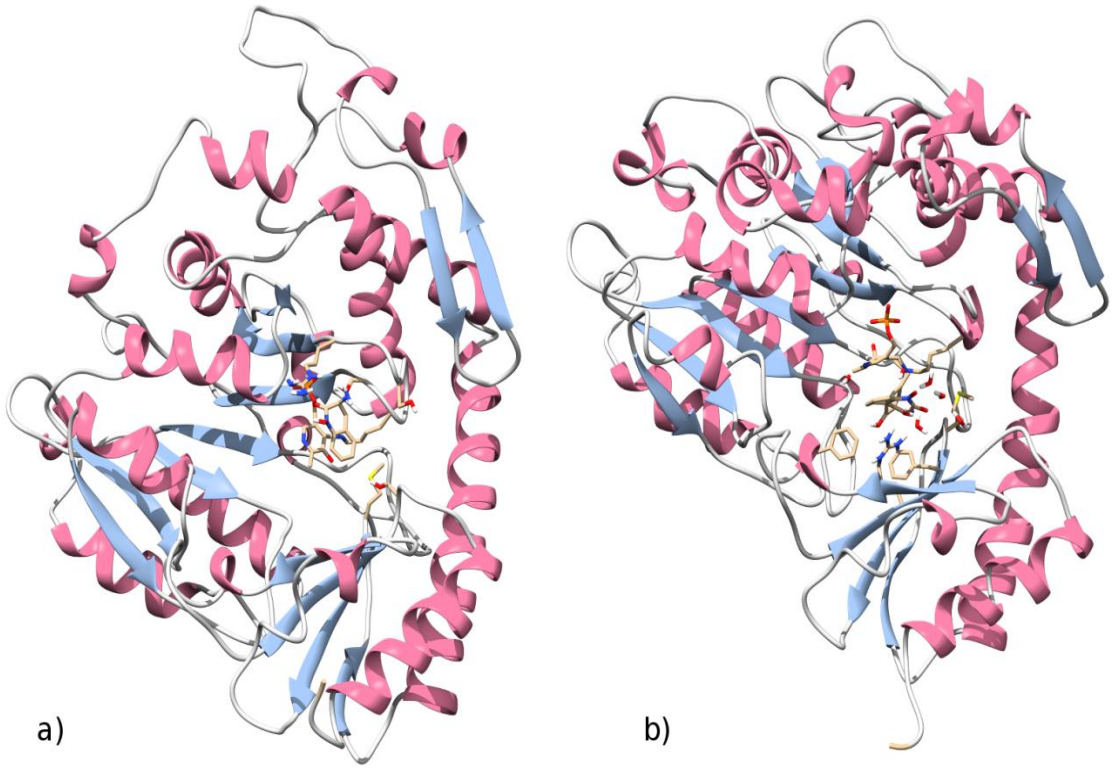

Figura N° 32: Acoplamiento molecular realizado con el servidor Hex para la estructura de la apoenzima unida al cofactor Piridoxal-5-fosfato a) Estructura inicial b) Estructura final.

La minimización de las energías de la estructura se realizó usando el integrador steep descent con 50000ps y seguidamente se hizo la Simulación de dinámica molecular a 100000ps en un ensamble canónico NVT a una temperatura de 309,65 °K. La simulación se realizó con condiciones periódicas de contorno, y la temperatura fué regulada con el Termostato de Nosé-Hoover.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Figura N° 33: Desviación media cuadrática (RMSD) de la interacción Apoenzima – Cofactor (PLP).

Se determinó la Desviación Media Cuadrática (RMSD), mostrada en la *figura N° 33* el cual nos indica el tiempo en el que nuestra estructura alcanza la estabilidad que es a partir de los 5ns con un pico máximo de 9.85nm y se mantiene estable hasta finalizar la Simulación de Dinámica Molecular.

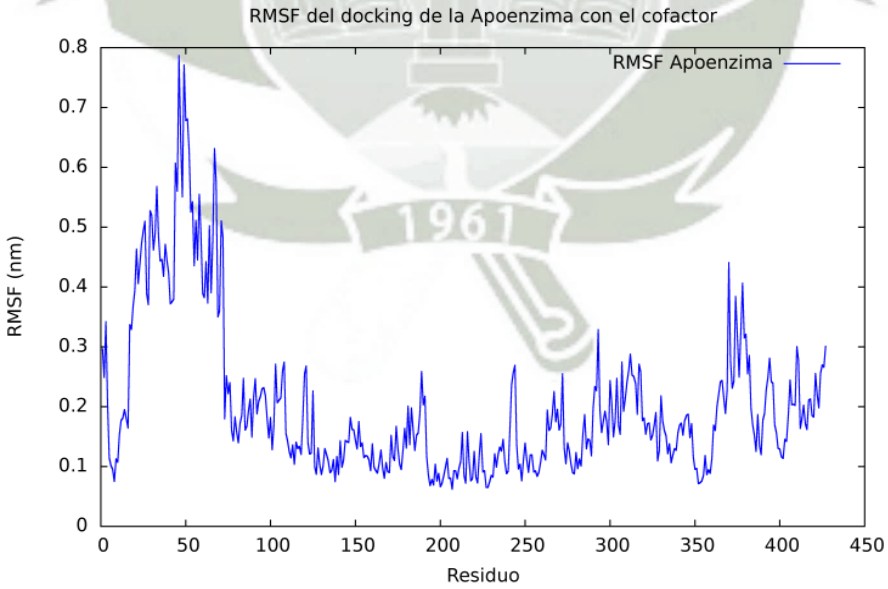

Figura N° 34: Fluctuación de la desviación media cuadrática entre la interacción de la apoenzima con el cofactor.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Luego de haber realizado el RMSD, se hizo el análisis de la fluctuación de la desviación media cuadrática del sistema interactuante (apoenzima - cofactor). En la *figura N° 34* se muestra el RMSF de la estructura interactuante Apoenzima-cofactor, donde se observa mayor fluctuación en los residuos 46 y 49 que corresponden a la ASN y PRO con un pico máximo de 0.7867 y 0.7718 nm. Los cuales poseen una naturaleza apolar y polar sin carga respectivamente.

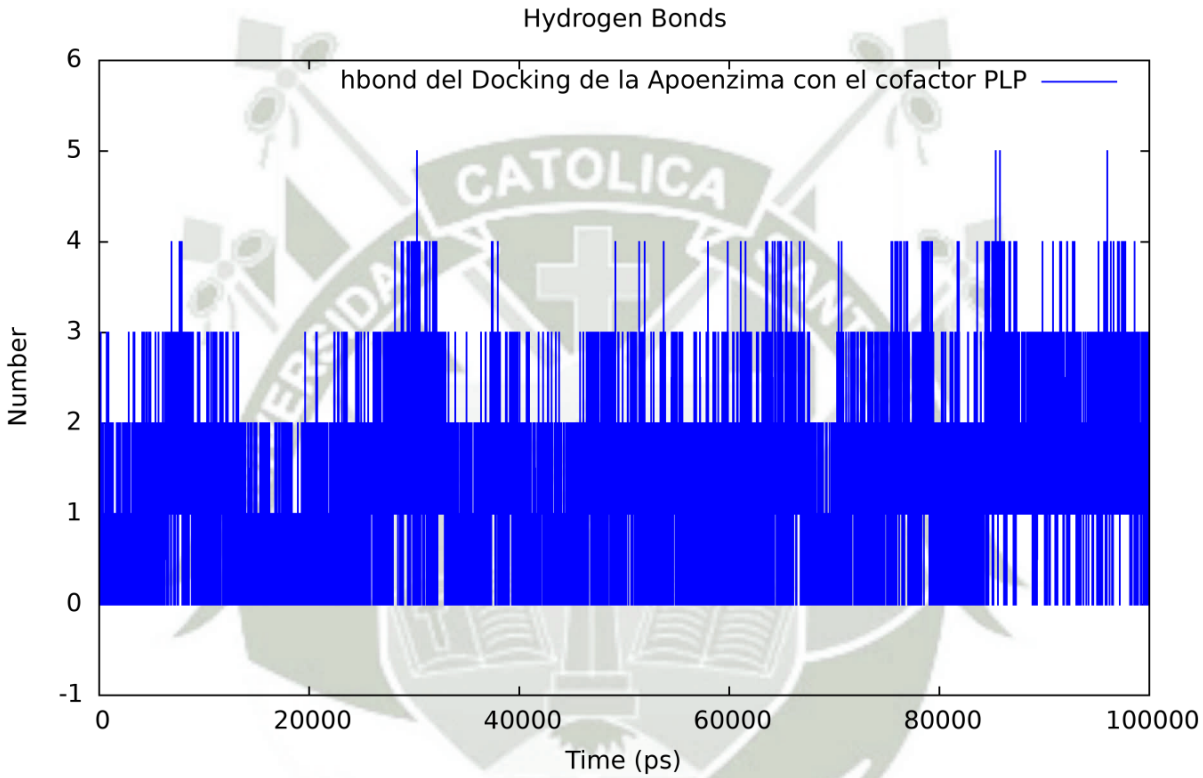

Figura N° 35. Número de puentes de hidrógeno del Docking de la apoenzima con el cofactor PLP.

Luego de obtener nuestra estructura estable se realizó el análisis de los puentes de hidrógeno, generando una gráfica que se observa en la *figura N° 35*, que nos sirve para evaluar la presencia y estabilidad de los puentes de hidrógeno que se encuentran en la estructura durante la Dinámica Molecular. El número de puentes de hidrógeno se mantiene constante durante la trayectoria en un valor entre 1 y 2 enlaces, en la mayoría de los casos y un valor entre 4 y 5 enlaces en algunos casos. El reporte de la formación de estos puentes de hidrógeno es muy importante debido a que su formación ayuda a estabilizar la interacción entre las moléculas.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3.5.2. Acoplamiento Molecular de la Enzima - fármaco

Empleando el servidor Hex se realizó el Docking de la enzima Quinurenina Aminotransferasa II (KAT II) con la estructura del fármaco obteniéndose como resultado las imágenes que se muestran en la *figura N° 36*, se muestra al fármaco (3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona, el cual se une al sitio activo de la enzima (KAT II), conformado por LYS 263, ARG 270, ARG 118, TYR 233 y TYR 142.

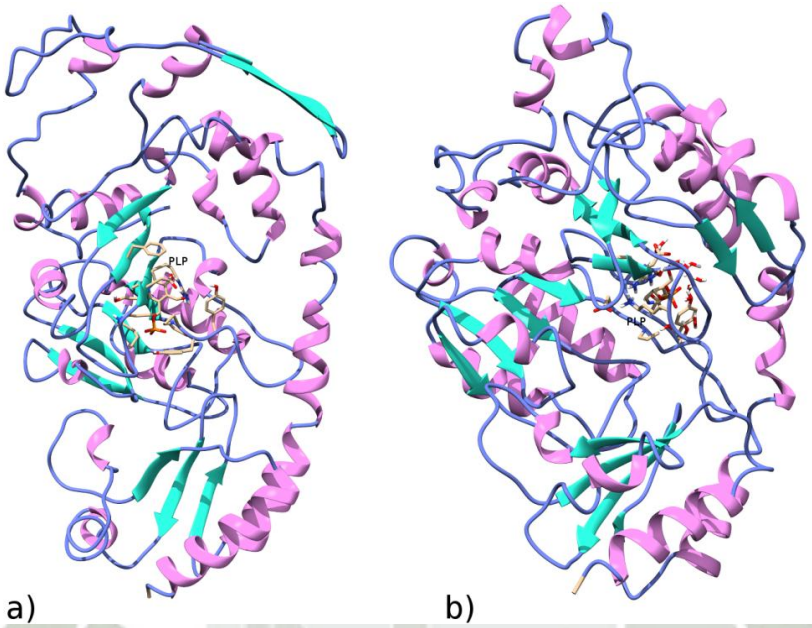

Figura N° 36. Acoplamiento molecular de la enzima KATII con el fármaco 3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.

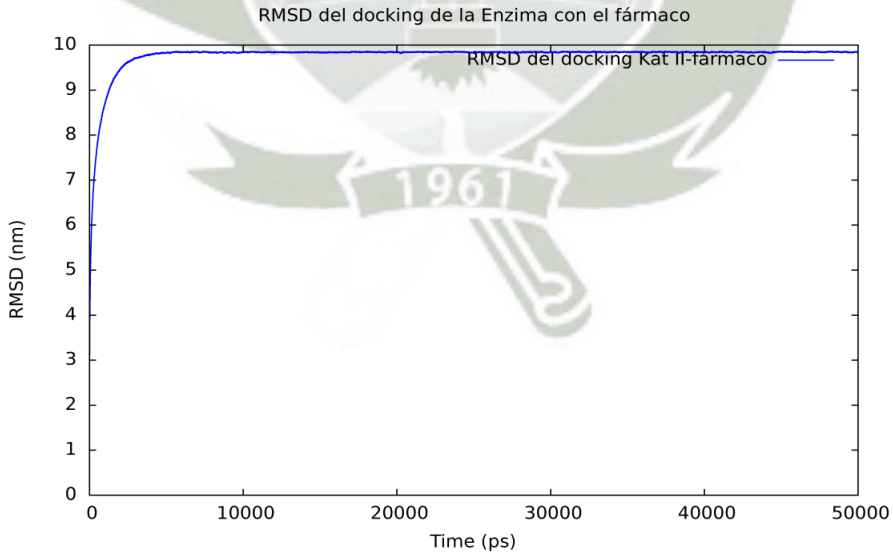

Figura N° 37: Desviación media cuadrática (RMSD) de la interacción de la KAT II con el Fármaco 3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Luego del acoplamiento molecular se hizo una Minimización y Dinámica Molecular a la estructura interactuante, posteriormente se evaluó la estabilidad del sistema interactuante por medio del cálculo de la desviación media cuadrática (RMSD), en la *figura N° 37* se observa que la estructura encuentra su estabilidad a partir de los 5ns con un pico máximo de 9.85nm y se mantiene estable hasta terminar la Dinámica Molecular.

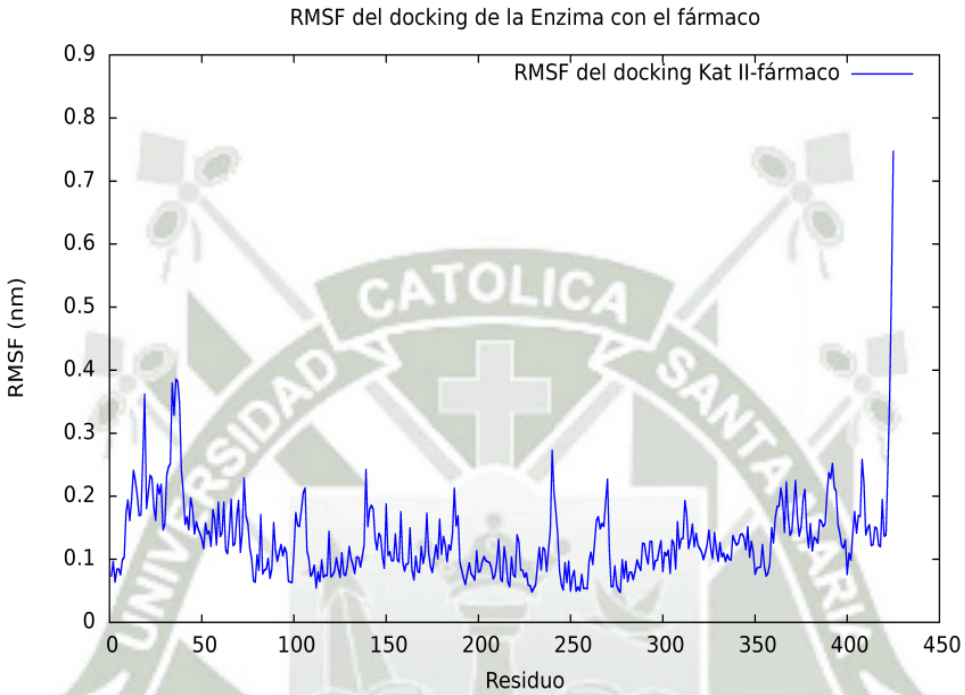

Figura N° 38: Fluctuación de la desviación media cuadrática entre la interacción enzima KATII con el fármaco 3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona

Se hizo el análisis de la fluctuación de la desviación media cuadrática del sistema interactuante (KATII-fármaco) el archivo final obtenido fué ploteado con el programa gnuplot. En la *figura N° 38* se observa el RMSF de la estructura interactuante de la Enzima con el fármaco, donde se observa menor fluctuación de los residuos en comparación con el RMSF de la enzima, Se obtuvo un pico máximo de 0.7475nm en el residuo final 425 correspondiente al aminoácido LEU, que posee una naturaleza apolar.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

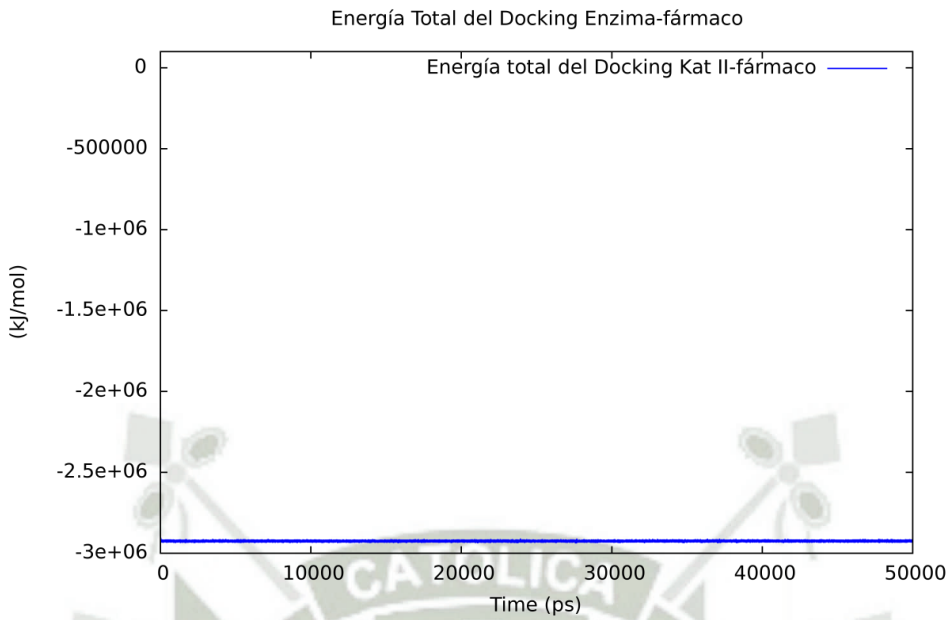

Figura N° 39. Energía total de la interacción de la KAT II con el fármaco.

Se determinó la energía total de la estructura de la enzima con el fármaco, que se muestra en la *figura N° 39*, en el cual se observa que la estabilidad de la estructura interactuante comienza a partir de 5ps y se mantiene la energía estable hasta finalizar la Dinámica molecular también es importante dar a conocer que el valor de la energía es negativo y se aproxima a los -3000000 (KJ/mol).

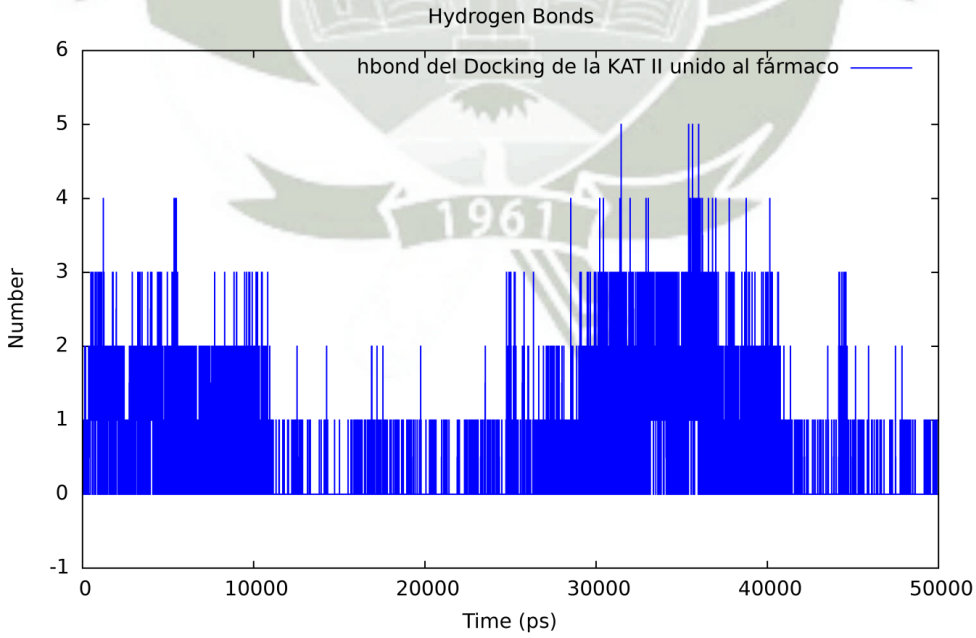

Figura N° 40: Formación de los puentes de hidrógeno del Docking de la KAT II con el Fármaco.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Luego de obtener nuestra estructura estable se realizó el análisis de los puentes de hidrógeno, generando una gráfica que se observa en la *figura N° 40*, que nos sirve para evaluar la presencia y estabilidad de los puentes de hidrógeno que se encuentran en la estructura durante la Dinámica Molecular. El número de puentes de hidrógeno se mantiene constante durante la trayectoria en un valor entre 1 y 2 en la mayoría de los casos y un valor de 4 y 5 en algunos casos. El reporte de la formación de los puentes de hidrógeno es muy importante debido a que su formación ayuda a estabilizar la interacción entre las moléculas.

Energías Libre de Interacción

Para el proceso de docking, se calculo la diferencia de energía libre para el proceso de interación como reportamos en la tabla 2, tanto para la enzima con el fármaco como para la apoenzima con el cofactor.

Tabla 2. Valores de la energía de interacción:

Estructuras Evaluadas	Energía libre de Acoplamiento (KJ/mol)	Energía libre de Acoplamiento (Kcal/mol)
Enzima (KAT II) - Fármaco	-28.344636	- 6.77
Apoenzima – Cofactor	-34.792308	- 8.31

Las energías libres de interacción de los sistemas evaluados nos indican que los procesos de acoplamiento son favorables en ambos casos, lo que nos indica que en codiciones naturales (psiciologicas) estos tipos de interacciones se dan espontaneamente.

3.6. Evaluación de las propiedades del potencial electrostático y función de distribución radial.

3.6.1 Potencial electrostático de la APOENZIMA - COFACTOR

En la *figura N° 41*, el sitio activo conformado por la interacción de la enzima con la posición del cofactor mantiene una carga positiva (azul) y también se puede observar que en las regiones aledañas al sitio activo se observan cargas positivas más débiles (celestes).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

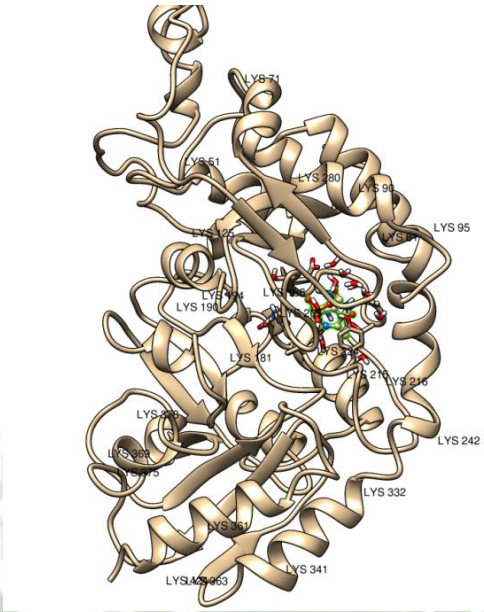

Figura N° 41: Estructura interactuante del cofactor (PLP) - enzima KAT II antes de la evaluación del potencial electrostático.

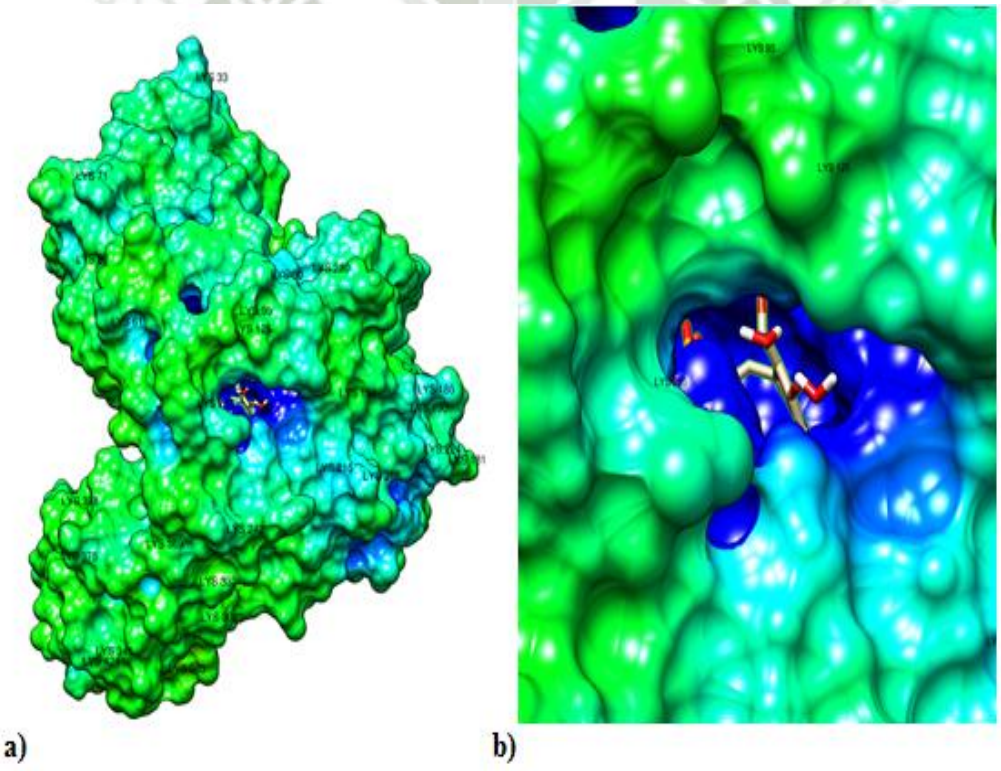

Figura N° 42: Potencial electrostático de la interacción del cofactor (PLP) - apoenzima. a). La superficie del potencial electrostático de la molécula, muestra cargas positivas de color azul y neutro representadas con color verde. b) Potencial electrostático del sitio de interación (cofactor-apoenzima), la zona de interacción de color azul representa una mayor concentración de cargas positivas y cargas positivas más débiles representadas de color (celeste).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

3.6.2. Potencial electrostático de la ENZIMA - FÁRMACO.

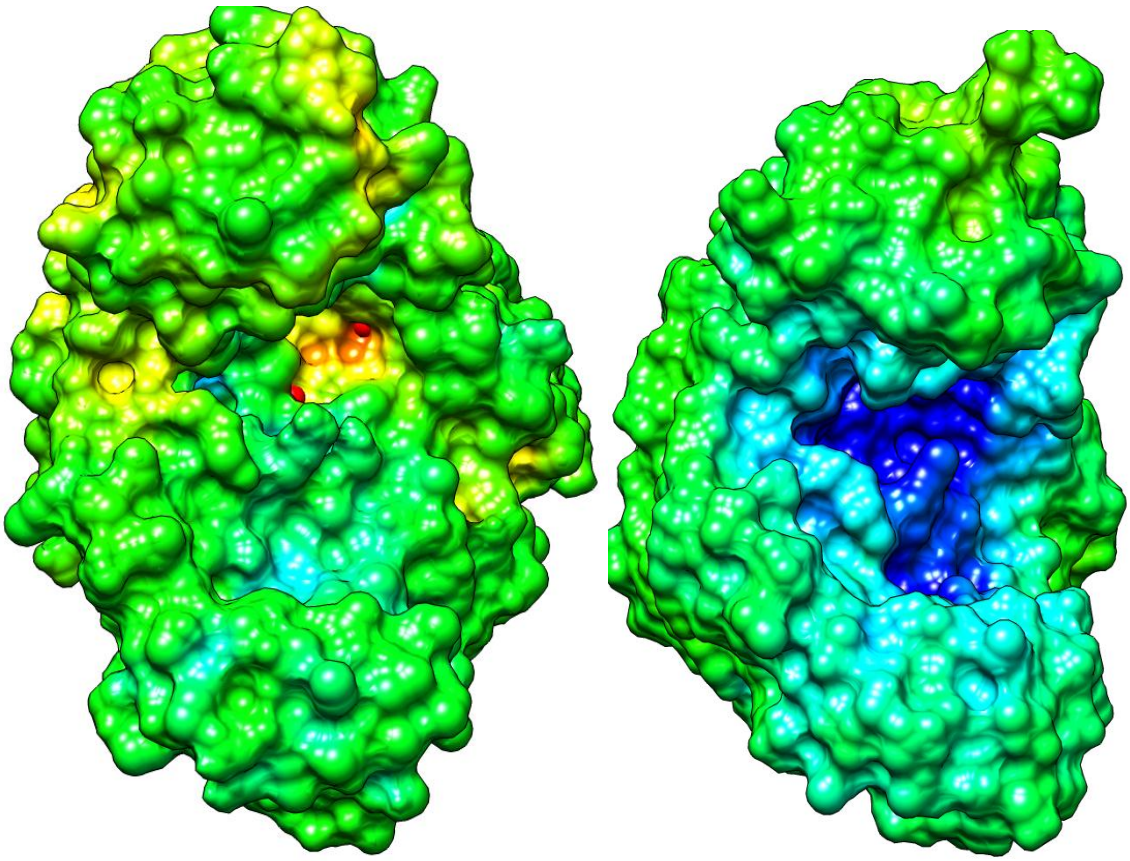

Figura N° 43: Potencial electrostático de la interacción de la enzima con el fármaco luego del Docking. a.) Estructura obtenida luego del docking. b.) Estructura obtenida luego de la dinámica molecular del docking. El sitio activo conformado por la interacción de la enzima con la posición del cofactor mantiene una carga positiva (azul) y también se puede observar que en las regiones aledañas al sitio activo se observan cargas positivas más débiles (celestes).

3.6.3. Función de distribución radial (RDF) de la interacción APOENZIMA-COFACTOR (PLP)

El resultado del RDF que se visualiza en la *figura N° 44*, muestra la distancia promedio a la que se encuentra el centro de masa (estable) del cofactor con respecto a la enzima. El gráfico obtenido indica que la distancia óptima de interaccion entre la apoenzima y el cofactor es de 1.28 nm.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

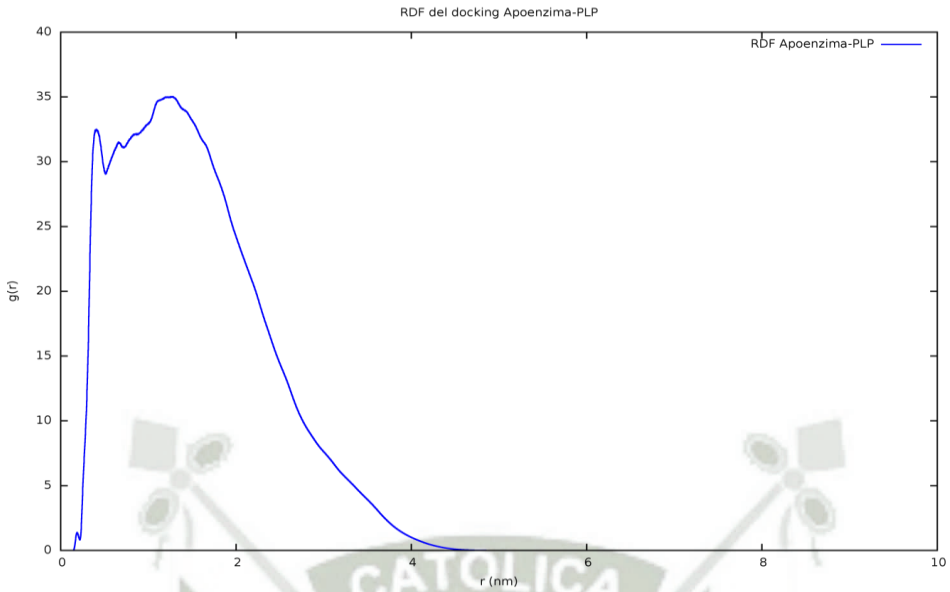

Figura N° 44. Función de distribución radial de la interacción cofactor- Apoenzima.

3.6.4 Función de distribución radial (RDF) de la interacción ENZIMA-FÁRMACO

El resultado del RDF que se visualiza en la *figura N° 45*, muestra la distancia promedio a la que se encuentra el centro de masa (estable) del fármaco con respecto a la KAT II unida a su cofactor (PLP). El gráfico obtenido indica que la distancia óptima de interaccion entre la enzima KAT II y el fármaco es de 1.468 nm.

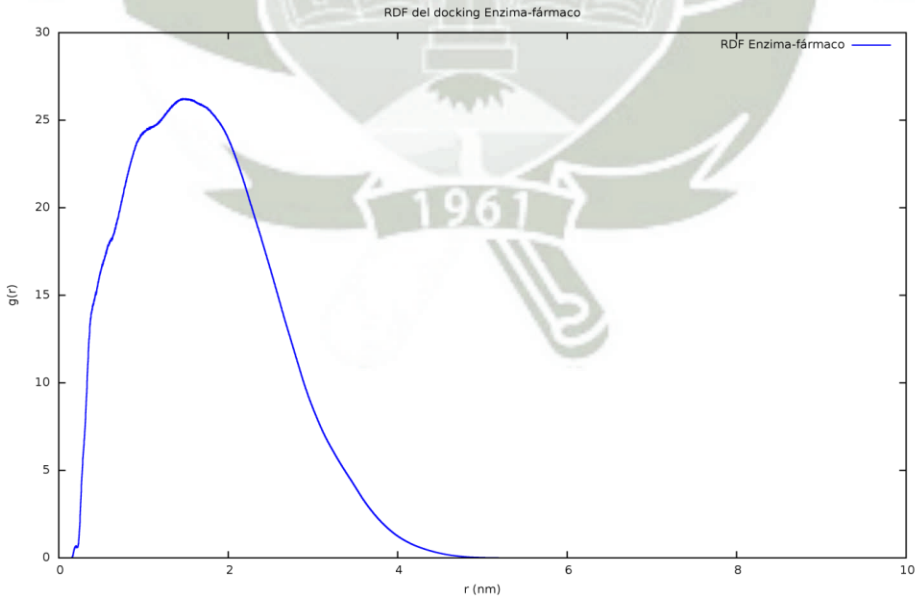

Figura N° 45: Función de distribución radial de la interacción de la enzima KAT II con el fármaco.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Conclusiones

1. Se optimizaron las estructuras del fármaco ((3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona) y el cofactor (piridoxal-5-fosfato), empleando métodos de mecánica cuántica (TFD). Adicionalmente, se construyeron los campos de fuerza para ambas estructuras y se utilizó las cargas de Hirshfeld correspondiente a cada molécula.
2. Obtuvimos la estructura completa de la KAT-II, con la denominación 5EUN.pdb que contenía la estructura de la KAT II unida a su cofactor, la cual fue trabajada de dos formas por métodos de mecánica molecular: en su forma inactiva (apoenzima) y en forma activa (apoenzima unida a su cofactor).
3. Logramos obtener las estructuras moleculares de la apoenzima y la enzima KAT II, en la región de equilibrio, realizando la minimización y simulación de dinámica molecular.
4. A través de técnicas de acoplamiento "Docking", obtuvimos los sitios de unión óptimos entre los ligandos y la enzima, generando dos estructuras cuaternarias Apoenzima-cofactor y Enzima- fármaco, las energías libres de interacción fueron de -34.7923 kJ/mol y de -28.3446 kJ/mol respectivamente.
5. Se estabilizaron los sistemas interactuantes por medio de la Simulación de dinámica molecular, y a su vez fueron evaluados por medio del cálculo de la desviación media cuadrática (RMSD).
6. Mediante aproximaciones de tipo APBS, se calculó el potencial electrostático en la estructura formada luego de la interacción de la apoenzima con el cofactor, así como de la enzima con el fármaco.
7. Mediante la Función de Distribución Radial (FDR), determinamos que la distancia óptima de interaccion entre la apoenzima y el cofactor es de 3.5 Å, mientras que para el caso de la enzima y el fármaco es de 3.0Å. Adicionalmente, en los graficos de Ramachandran, logramos observar, que tenemos una estructura en su fase activa.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Bibliografía

1. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM 5).American Psychiatric Pub. 2013.
2. Merikangas, K. R. Epidemiology of mental disorders in children and adolescents. From Research to Practice in Child and Adolescent Mental Health. 2014;19.
3. Merikangas, K. R., He, J. P., Burstein, M., Swanson, S. A., Avenevoli, S., Cui, L., & Swendsen, J. Lifetime prevalence of mental disorders in U.S. adolescents: results from the National Comorbidity Survey Replication–Adolescent Supplement (NCS-A). Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry. 2010. 49(10): 980-989.
4. Angst, J., Paksarian, D., Cui, L., Merikangas, K. R., Hengartner, M. P., Ajdacic-Gross, V., & Rössler, W. The epidemiology of common mental disorders from age 20 to 50: results from the prospective Zurich cohort study. Epidemiology and psychiatric sciences. 2016; 25(01): 24-32
5. Prins, S. J. Prevalence of mental illnesses in US state prisons: A systematic review. Psychiatric Services. 2014.
6. Knapp, M., McDaid, D., & Parsonage, M. Mental health promotion and mental illness prevention: The economic case. 2011.
7. Daryl Fujii and Iqbal Ahmed.The Spectrum of psychotic.Neurobiology, Etiology and Pathogenesis.Disorders.Published by Cambridge University Press. 2007.
8. Yung, A. R., Phillips, L. J., Yuen, H. P., & McGorry, P. D. Risk factors for psychosis in an ultra high-risk group: psychopathology and clinical features. Schizophrenia research, 2004; 67(2): 131-142.
9. Organización Mundial de la Salud. Schizophrenia.OMS. Ginebra: reviewed. 2016. Abril.
10. Andreasen, N. C., Berrios, G. E., Bogerts, B., Brenner, H. D., Carpenter, W. T., Crow, T. J., & Lewine, R. R. J. Negative versus positive. 2012.
11. Kahn, R. S., & Keefe, R. S. Schizophrenia is a cognitive illness: Time for a change in focus. JAMA psychiatry, 2013; 70(10): 1107-1112.
12. Harvey, P. D. Assessing Disability in Schizophrenia: Tools and Contributors. The Journal of clinical psychiatry, 2014; 75(10): 1-478.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

13. Lieberman, Jeffrey A and Stroup, T Scott and Perkins, Diana O. Epidemiology. The American Psychiatric Publishing.American Psychiatric Publishing.Washington, DC; 2006.
14. Hasin DS, Stinson FS, Ogburn E, Grant BF. Prevalence, Correlates, Disability, and Comorbidi-ty of DSM-IV.Alcohol Abuse and Dependence in the United States.Results from the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions.Arch Gen Psychiatry. 2007;64:830-842.
15. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. 4th ed, text rev. Washington, DC: Am Psychiatr Assoc. 2000.
16. Messias, E. L., Chen, C. Y., & Eaton, W. W. Epidemiology of schizophrenia: review of findings and myths. Psychiatric Clinics of North America. 2007; 30(3): 323-338.
17. Eaton W. Evidence for universality and uniformity of schizophrenia around the world: Assessment and implications. Darmstadt (Germany): Steinkopf; 1999: 21-33
18. Joukamaa M, Heliovaara M, Knekt P, Aromaa A, Raitasalo R, Lehtinen V. Mental disorders and cause specific mortality. Br. J. Psychiatry; 2001; 179: 498–502.
19. Osby U, Correia N, Brandt L, Ekbom A, Sparen P. Mortality and causes of death in schizophrenia in Stockholm county, Sweden. Schizophr. Res. 2000; 45(1–2):21–28.
20. Talaslahti T, Alanen H. M, Hakko H, Isohanni M, Hakkinen U, Leinonen E. Mortality and causes of death in older patients with schizophrenia. Int. J. Geriatr. Psychiatry. 2012; 27(11):1131–37.
21. McGrath, J., Saha, S., Chant, D., & Welham, J. Schizophrenia: a concise overview of incidence, prevalence, and mortality. epidemiologic reviews. 2008; 30(1): 67-76.
22. Kasckow, J., Felmet, K., & Zisook, S. Managing suicide risk in patients with schizophrenia. CNS drugs: 2011; 25(2): 129-143.
23. Kelly, D. L., McMahon, R. P., Wehring, H. J., Liu, F., Mackowick, K. M., Boggs, D. L., & Dixon, L. Cigarette smoking and mortality risk in people with schizophrenia. Schizophrenia Bulletin. 2011; 37(4): 832-838.
24. Laursen, T. M., Munk-Olsen, T., & Vestergaard, M. Life expectancy and cardiovascular mortality in persons with schizophrenia. Current opinion in psychiatry. 2012; 25(2): 83-88.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

25. Hoang, U., Stewart, R., & Goldacre, M. J. Mortality after hospital discharge for people with schizophrenia or bipolar disorder: Retrospective study of linked English hospital episode statistics, 1999-2006. BMJ. 2011; 343: d5422.

26. Cannon, M., Jones, P. B. & Murray, R. M. Obstetric complications and schizophrenia: Historical and meta-analytic review. Am. J. Psychiatry. 2002; 159: 1080 – 1092.

27. Petersen, L., Mortensen, P. B. & Pedersen, C. B. Paternal age at birth of first child and risk of schizophrenia. Am. J. Psychiatry. 2011; 168: 82 – 88.

28. Eranti, S. V., MacCabe, J. H., Bundy, H. & Murray, R. M. Gender difference in age at onset of schizophrenia: a meta-analysis. Psychol. Med. 2013; 43: 155–167.

29. Aleman, A., Kahn, R. S. & Selten, J.P. Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta-analysis. Arch. Gen. Psychiatry. 2003; 60: 565–571.

30. Pedersen, C. B. & Mortensen, P. B. Evidence of a dose response relationship between urbanicity during upbringing and schizophrenia risk. Arch. Gen. Psychiatry. 2001; 58: 1039-1046.

31. Boydell, J. et al. Incidence of schizophrenia in ethnic minorities in London: ecological study into interactions with environment. BMJ.2001; 323: 1336-1338.

32. Malaspina, D. et al. Advancing paternal age and the risk of schizophrenia. Arch. Gen. Psychiatry 2001; 58: 361-367.

33. Morrison, P. D. et al. The acute effects of synthetic intravenous Δ 9 - tetrahydrocannabinol on psychosis, mood and cognitive functioning. Psychol. Med. 2009;39: 1607-1616.

34. Murray, R. M., Paparelli, A., Morrison, P. D., Marconi, A. & Di Forti, M. What can we learn about schizophrenia from studying the human model, drug-induced psychosis? Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr.Genet.2013; 162: 66-670.

35. Stilo, S. A. & Murray, R. M. The epidemiology of schizophrenia: replacing dogma with knowledge. Dialogues Clin. Neurosci.2010; 12: 305-315.

36. Howes, O. D. & Murray, R. M. Schizophrenia: an integrated sociodevelopmental-cognitive model. Lancet.2014; 383: 1677-1687.

37. Harrison, P. J. & Weinberger, D. R. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: On the matter of their convergence. Mol. Psychiatry; 2005: 10, 40-68.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

38. Ripke, S. et al. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. Nature.2014; 511: 421–427.

39. Peper, J. S., Brouwer, R. M., Boomsma, D. I., Kahn, R. S., Pol, H., & Hilleke, E. Genetic influences on human brain structure: a review of brain imaging studies in twins. Human brain mapping, 2007; 28(6): 464-473.

40. Kenny, E. M. et al. Excess of rare novel loss of function variants in synaptic genes in schizophrenia and autism spectrum disorders. Mol. Psychiatry. 2014; 19: 872–879.

41. Lips, E. S. et al. Functional gene group analysis identifies synaptic gene groups as risk factor for schizophrenia. Mol. Psychiatry. 2012; 17: 996–1006.

42. Fromer, M. et al. De novo mutations in schizophrenia implicate synaptic networks. Nature.2014; 506: 179–184.

43. Gulsuner, S. et al. Spatial and temporal mapping of de novo mutations in schizophrenia to a fetal prefrontal cortical network. Cell.2013; 154: 518-529.

44. Birnbaum, R., Jaffe, A. E., Hyde, T. M., Kleinman, J. E. & Weinberger, D. R. Prenatal expression patterns of genes associated with neuropsychiatric disorders. Am. J. Psychiatry. 2014; 171: 758–767.

45. Sørensen, H. J. et al. Early developmental milestones and risk of schizophrenia: A 45 year follow up of the Copenhagen Perinatal Cohort. Schizophrenia.Res. 2010; 118: 41–47.

46. Paus, T., Keshavan, M. & Giedd, J. N. Why do many psychiatric disorders emerge during adolescence? Nat. Rev. Neurosci. 2008; 9: 947–957.

47. Haijma, S. V. et al. Brain volumes in schizophrenia: a meta-analysis in over 18 000 subjects. Schizophr. Bull.2013; 39: 1129–1138.

48. Staal, W. G., Hulshoff Pol, H. E., Schnack, H., van der Schot, A. C. & Kahn, R. S. Partial volume decrease of the thalamus in relatives of patients with schizophrenia. Am. J. Psychiatry. 1998; 155: 1784-1786.

49. Crossley, N. A. et al. Superior temporal lobe dysfunction and frontotemporal dysconnectivity in subjects at risk of psychosis and in first-episode psychosis. Hum. Brain Mapp.2009; 30: 4129-4137.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

50. Ellison-Wright, I., Glahn, D. C., Laird, A. R., Thelen, S. M. & Bullmore, E. The anatomy of first-episode and chronic schizophrenia: an anatomical likelihood estimation meta-analysis. Am. J. Psychiatry. 2008; 165: 1015-1023.

51. Van Haren, N. E. M. et al. Changes in cortical thickness during the course of illness in schizophrenia. Arch. Gen. Psychiatry. 2011; 68: 871–880.

52. Kubota, M. et al. Association of IQ changes and progressive brain changes in patients with schizophrenia. JAMA Psychiatry.2015; 72: 803–812.

53. Ho, B.C., Andreasen, N. C., Ziebell, S., Pierson, R. & Magnotta, V. Long-term antipsychotic treatment and brain volumes: a longitudinal study of first-episode schizophrenia. Arch. Gen.Psychiatry. 2011; 68: 128-137.

54. Weinberger, D. R. & McClure, R. K. Neurotoxicity, neuroplasticity, and magnetic resonance imaging morphometry: what is happening in the schizophrenic brain? Arch. Gen. Psychiatry. 2012; 59: 553-558.

55. Brans, R. G. H. et al. Heritability of changes in brain volume over time in twin pairs discordant for schizophrenia. Arch. Gen. Psychiatry. 2008; 65: 1259–1268.

56. Laruelle, M. Schizophrenia: from dopaminergic to glutamatergic interventions. Current opinion in pharmacology.2014; 14: 97-102.

57. Knable MB, Weinberger DR: Dopamine, the prefrontal cortex and schizophrenia. J Psychopharmacol.1997; 11:123-131.

58. Sørensen HJ, Mortensen EL, Schiffman J, Reinisch JM, Maeda J, Mednick SA: Early developmental milestones and risk of schizophrenia: a 45-year follow-up of the Copenhagen Perinatal Cohort. Schizophrenia Res. 2010; 118: 41-47.

59. Thompson BL, Levitt P: Now you see it, now you don't closing in on allostasis and developmental basis of psychiatric disorders. Neuron 2010; 65:437-439.

60. Goldman-Rakic PS, Muly EC III, Williams GV: D(1) receptors in prefrontal cells and circuits. Brain Res Brain Res Rev 2000; 31:295-301.

61. Davis KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M: Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. Am J. Psychiatry 1991; 148:1474-1486.

62. Weinberger DR: Implications of the normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. Arch Gen Psychiatry.1987; 44: 660-669.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

63. Howes, O. D. et al. Midbrain dopamine function in schizophrenia and depression: A post-mortem and positron emission tomographic imaging study. Brain.2013; 136: 3242–3251.

64. Akil, M. et-al. Catechol-O methyltransferase genotype and dopamine regulation in the human brain. J. Neurosci. 2003; 23: 2008–2013.

65. Kaalund, S. S. et al. Contrasting changes in DRD1 and DRD2 splice variant expression in schizophrenia and affective disorders, and associations with SNPs in postmortem brain. Mol. Psychiatry. 2014; 19: 1258–1266.

66. Dingledine, R.; Borges, K.; Bowie, D.; Traynelis, S. F. The glutamate receptor ion channels.Pharmacol. Rev. 1999; 51: 7−61.

67. Sugiyama, H.; Ito, I.; Hirono, C. A new type of glutamate receptor linked to inositol phospholipid metabolism. Nature 1987; 325: 531−533.

68. Schoepp, D. D.; Jane, D. E.; Monn, J. A. Pharmacological agents acting at subtypes of metabotropic glutamate receptors. Neuropharmacology 1999; 38: 1431−1476.

69. Erhardt, S.; Blennow, K.; Nordin, C.; Skogh, E.; Lindstrom, L.H.; Engberg, G. Kynurenic acid levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. Neurosci.Lett.2001; 313: 96–98.

70. Nematollahi, A.; Aminimoghadamfarouj, N.; Church, W.B. Essential structural features of novel antischizophrenic drugs: A review. Med. Chem. 2014; 10: 541–549.

71. Palmada, M.; Centelles, J.J. Excitatory amino acid neurotransmission. Pathways for metabolism, storage and reuptake of glutamate in brain. Front. Biosci. 1998; 3: d701–d718.

72. Battaglia, G.; Rassoulpour, A.; Wu, H.Q.; Hodgkins, P.S.; Kiss, C.; Nicoletti, F.; Schwarcz, R. Some metabotropic glutamate receptor ligands reduce kynurenate synthesis in rats by intracellular inhibition of kynurenine aminotransferase II. J. Neurochem.2000; 75: 2051–2060.

73. Han, Q.; Cai, T.; Tagle, D.A.; Li, J. Structure, expression, and function of kynurenine aminotransferases in human and rodent brains. Cell.Mol. Life Sci. 2010; 67: 353-68.

74. Reyes Ocampo, J.; Lugo Huitron, R.; Gonzalez-Esquivel, D.; Ugalde-Muniz, P.; Jimenez-Anguiano, A.; Pineda, B.; Pedraza Chaverri, J.; Rios, C.; Perez de la Cruz, V.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Kynurenines with neuroactive and redox properties: Relevance to aging and brain diseases. Oxid. Med. Cell. Longev.2014; (2014).

75. Nematollahi, A.; Church, W.B.; Nadvi, N.A.; Gorrell, M.D.; Sun, G. Homology modeling of human kynurenine aminotransferase III and observations on inhibitor binding using molecular docking. Cent.Nerv. Syst. Agents Med. Chem. 2014;14: 2-9.
76. Jayawickrama, G.S.; Sadig, R.R.; Sun, G.; Nematollahi, A.; Nadvi, N.A.; Hanrahan, J.R.; Gorrell, M.D.; Church, W.B. Kynurenine aminotransferases and the prospects of inhibitors for the treatment of schizophrenia. Curr. Med. Chem. 2015; 22: 2902-2918.
77. Facultad de Medicina, UBA. [Internet]. Fisiología Neurológica. [Citado 24 Febrero 2017]. Disponible en: www.slideshare.net/CarolinaSoledadAguil/03-neurotransmisin?nomobile=true_smtNoRedir=1
78. Gal, E.M., Sherman, A.D., 1980. L-kynurenine: its synthesis and possible regulatory function in brain. Neurochem.Res. 1980; 5: 223-239.
79. Stone, T.W., Darlington, L.G., 2002. Endogenous kynurenines as targets for drug discovery and development. Nat. Rev. Drug Discov.2002; 1: 609-620.
80. Takikawa, O., Biochemical and medical aspects of the indoleamine 2,3- dioxygenase-initiated L-tryptophan metabolism. Biochem.Biophys. Res. Commun. 2005; 338: 12-19.
81. Metz, R., Duhadaway, J.B., Kamasani, U., Laury-Kleintop, L., Muller, A.J., Prendergast, G.C. Novel tryptophan catabolic enzyme IDO2 is the preferred biochemical target of the antitumor indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitory compound D-1-methyl-tryptophan. Cancer Res. 2007; 67: 7082 – 7087.
82. Guidetti, P., Amori, L., Sapko, M.T., Okuno, E., Schwarcz, R., 2007. Mitochondrial aspartate aminotransferase: a third kynurenate-producing enzyme in the mammalian brain. J. Neurochem. 2007; 102: 103-111.
83. Han, Q., Cai, T., Tagle, D.A., Li, J., 2010. Structure, expression, and function of kynurenine aminotransferases in human and rodent brains.Cell.Mol. Life Sci. 2010; 67: 353-368.
84. Kozak, R., Campbell, B.M., Strick, C.A., Horner, W., Hoffmann, W.E., Kiss, T., Chapin, D.S., McGinnis, D., Abbott, A.L., Roberts, B.M., Fonseca, K., Guanowsky, V., Young, D.A., Seymour, P.A., Dounay, A., Hajos, M., Williams, G.V., Castner, S.A.,

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

2014. Reduction of brain kynurenic acid improves cognitive function. J. Neurosci. 2014; 34: 10592-10602.

85. Schwarcz, R., Bruno, J.P., Muchowski, P.J., Wu, H.Q. Kynurenines in the mammalian brain: when physiology meets pathology. Nat. Rev. Neurosci. 2012; 13: 465-477.

86. Fujigaki, H., Yamamoto, Y., & Saito, K. L-Tryptophan-kynurenine pathway enzymes are therapeutic target for neuropsychiatric diseases: focus on cell type differences. Neuropharmacology. 2016.

87. Fukui, S.; Schwarcz, R.; Rapoport, S. I.; Takada, Y.; Smith, Q. R. Blood-brain barrier transport of kynurenines: implications for brain synthesis and metabolism. J. Neurochem. 1991; 56: 2007- 2017.

88. Goda, K., Hisaoka, M., Ueda, T. Photoinduced electron transfer reaction from N-formyl-L-kynurenine and L-kynurenine to cytochrome C. Biochem. Int. 1987; 15: 635-643.

89. Peyrot, F., Ducrocq, C. Potential role of tryptophan derivatives in stress responses characterized by the generation of reactive oxygen and nitrogen species. J. Pineal Res. 2008; 45: 235-246.

90. Reyes Ocampo, J., Lugo Huitron, R., Gonzalez-Esquivel, D., Ugalde-Muniz, P., Jimenez-Anguiano, A., Pineda, B., Pedraza-Chaverri, J., Rios, C., Perez de la Cruz, V., 2014. Kynurenines with neuroactive and redox properties: relevance to aging and brain diseases. Oxid. Med. Cell. Longev. 2014; 2014: 646909.

91. Song, H., Park, H., Kim, Y.S., Kim, K.D., Lee, H.K., Cho, D.H., Yang, J.W., Hur, D.Y. L-kynurenine-induced apoptosis in human NK cells is mediated by reactive oxygen species. Int. Immunopharmacol. 2011; 11: 932-938.

92. Tsopmo, A., Diehl-Jones, B.W., Aluko, R.E., Kitts, D.D., Elisia, I., Friel, J.K. Tryptophan released from mother's milk has antioxidant properties. Pediatr.Res. 2009; 66: 614-618.

93. U. Dijkman. Inhibition of Kynurenine Aminotransferase.A Potential New Drug Target for the Treatment of Schizophrenia. 2010.

94. Jansonius, J. N. Structure, evolution and action of vitamin B6-dependent enzymes. Curr.Opin.Struct.Biol. 1998; 8: 759-769.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

95. Dounay, A. B., Tuttle, J. B., & Verhoest, P. R. Challenges and opportunities in the discovery of new therapeutics targeting the kynurenine pathway. *Journal of medicinal chemistry*. 2015; *58*(22): 8762-8782.

96. Walsh, H. A.; Leslie, P. L.; O'Shea, K. C.; Botting, N. P. 2-Amino-4-[3'-hydroxyphenyl]-4-hydroxybutanoic acid; a potent inhibitor of rat and recombinant human kynureninase. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2002; 12: 361-363.

97. Rossi, F., Schwarcz, R., Rizzi, M., 2008. Curiosity to kill the KAT (kynurenine aminotransferase): structural insights into brain kynurenic acid synthesis. Curr.Opin.Struct.Biol. 2008; 18: 748-755.

98. Matsuda M, Ogur M. Enzymatic and physiological properties of the yeast glutamate-alpha-ketoadipate transaminase. J Biol Chem 1969; 244:5153-5158

99. Tobes MC, Mason M. L-kynurenine aminotransferase and L-alpha-aminoadipate aminotransferase. I. Evidence for identity. Biochem Biophys Res. Commun. 1975; 62: 390-397.

100. Tobes MC, Mason M. Alpha-Aminoadipate aminotransferase and kynurenine aminotransferase. Purification, characterization, and further evidence for identity.J Biol Chem. 1977; 252:4591–4599.

101. Prasad, J. C.; Comeau, S. R.; Vajda, S.; Camacho, C. J. Consensus alignment for reliable framework prediction in homology modeling. Bioinformatics.2003; 19: 1682-1691.

102. Guidetti, P., Amori, L., Sapko, M.T., Okuno, E., Schwarcz, R. Mitochondrial aspartate aminotransferase: a third kynurenate-producing enzyme in the mammalian brain. J. Neurochem.2007; 102: 103-111.

103. Han, Q.; Cai, T.; Tagle, D. A.; Robinson, H.; Li, J. Substrate specificity and structure of human aminoadipate aminotransferase/kynurenine aminotransferase II. Biosci.Rep. 2008; 28: 205-215.

104. Han, Q.; Robinson, H.; Li, J. Crystal structure of human kynurenine aminotransferase II. J. Biol. Chem. 2008; 283: 3567-3573.

105. Guillemin, G.J., Kerr, S.J., Smythe, G.A., Armati, P.J., Brew, B.J. Kynureninepathway metabolism in human astrocytes. Adv. Exp. Med. Biol.1999; 467: 125-131.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

106. Linderholm, K.R., Skogh, E., Olsson, S.K., Dahl, M.L., Holtze, M., Engberg, G., Samuelsson, M., Erhardt, S. Increased levels of kynurenine and kynurenic acid in the CSF of patients with schizophrenia. Schizophr. Bull. 2010; 38: 426-432.

107. Nilsson, L.K., Linderholm, K.R., Engberg, G., Paulson, L., Blennow, K., Lindstrom, L.H., Nordin, C., Karanti, A., Persson, P., Erhardt, S. Elevated levels of kynurenic acid in the cerebrospinal fluid of male patients with schizophrenia. Schizophr.Res. 2005; 80: 315-322.

108. Amori, L., Wu, H.Q., Marinozzi, M., Pellicciari, R., Guidetti, P., Schwarcz, R., 2009. Specific inhibition of kynurenate synthesis enhances extracellular dopamine levels in the rodent striatum. Neuroscience.2009; 159: 196-203.

109. Rassoulpour, A., Wu, H.Q., Ferre, S., Schwarcz, R., 2005. Nanomolar concentrations of kynurenic acid reduce extracellular dopamine levels in the striatum. J. Neurochem.2005; 93: 762-765.

110. Chon, H.; Matsumura, H.; Koga, Y.; Takano, K.; Kanaya, S. Crystal structure of a human kynurenine aminotransferase II homologue from Pyrococcus horikoshii OT3 at 2.20 Å resolution. Proteins 2005; 61: 685–688.

111. Andine, P.; Lehmann, A.; Ellren, K.; Wennberg, E.; Kjellmer, I.; Nielsen, T.; Hagberg, H. The excitatory amino acid antagonist kynurenic acid administered after hypoxic-ischemia in neonatal rats offers neuroprotection. Neurosci.Lett.1988; 90: 208–212.

112. Foster, A.C.; Vezzani, A.; French, E.D.; Schwarcz, R. Kynurenic acid blocks neurotoxicity and seizures induced in rats by the related brain metabolite quinolinic acid. Neurosci.Lett.1984; 48: 273–278.

113. Szalardy, L.; Zadori, D.; Toldi, J.; Fulop, F.; Klivenyi, P.; Vecsei, L. Manipulating kynurenic acid levels in the brain On the edge between neuroprotection and cognitive dysfunction. Curr.Top.Med. Chem. 2012; 12: 1797–1806.

114. Erhardt, S.; Blennow, K.; Nordin, C.; Skogh, E.; Lindstrom, L.H.; Engberg, G. Kynurenic acid levels are elevated in the cerebrospinal fluid of patients with schizophrenia. Neurosci.Lett.2001; 313: 96–98.

115. Nematollahi, A.; Aminimoghadamfarouj, N.; Church, W.B. Essential structural features of novel antischizophrenic drugs: A review. Med. Chem. 2014; 10: 541–549.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

116. Pellicciari, R.; Rizzo, R. C.; Costantino, G.; Marinozzi, M.; Amori, L.; Guidetti, P.; Wu, H. Q.; Schwarcz, R. Modulators of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism: synthesis and preliminary biological evaluation of (S)-4-(ethylsulfonyl) benzoylalanine, a potent and selective kynurenine aminotransferase II (KAT II) inhibitor. ChemMedChem 2006; 1: 528-531.

117. Passera, E.; Campanini, B.; Rossi, F.; Casazza, V.; Rizzi, M.; Pellicciari, R.; Mozzarelli, A. Human kynurenine aminotransferase II –reactivity with substrates and inhibitors. FEBS Journal 2011; 278: 1882-1900.

118. Rossi, F.; Valentina, C.; Garavaglia, S.; Sathyasaikumar, K. V.; Schwarcz, R.; Kojima, S.-i.; Okuwaki, K.; Ono, S.-i.; Kajii, Y.; Rizzi, M. Crystal structure-based selective targeting of the pyridoxal 5′-phosphate dependent enzyme kynurenine aminotransferase II for cognitive enhancement. J. Med. Chem. 2010; 53: 5684 - 5689.

119. Wu, H. Q.; Okuyama, M.; Kajii, Y.; Pocivavsek, A.; Bruno, J. P.; Schwarcz, R. Targeting kynurenine aminotransferase II in psychiatric diseases: promising effects of an orally active enzyme inhibitor. Schizophrenia Bull.2014; 40:152-158.

120. Dounay, A. B.; Anderson, M.; Bechle, B. M.; Campbell, B. M.; Claffey, M. M.; Evdokimov, A.; Evrard, E.; Fonseca, K. R.; Gan, X.; Ghosh, S.; Hayward, M. M.; Horner, W.; Kim, J. Y.; McAllister, L. A.;Pandit, J.; Paradis, V.; Parikh, V. D.; Reese, M. R.; Rong, S.; Salafia, M. A.; Schuyten, K.; Strick, C. A.; Tuttle, J. B.; Valentine, J.; Wang, H.; Zawadzke, L. E.; Verhoest, P. R. Discovery of Brain-Penetrant, Irreversible Kynurenine aminotransferase II inhibitors for schizophrenia. ACS Med. Chem. Lett. 2012; 3: 187-192.

121. Rossi, F.; Han, Q.; Li, J.; Li, J.; Rizzi, M. Crystal structure of human kynurenine aminotransferase I. J. Biol. Chem. 2004; 279: 50214-50220.

122. Kozak, R.; Campbell, B. M.; Strick, C. A.; Horner, W.; Hoffmann, W. E.; Kiss, T.; Chapin, D. S.; McGinnis, D.; Abbott, A. L.; Roberts, B. M.; Fonseca, K.; Guanowsky, V.; Young, D. A.; Seymour, P. A.; Dounay, A.; Hajos, M.; Williams, G. V.; Castner, S. A. Reduction of brain kynurenic acid improves cognitive function. J. Neurosci.2014; 34: 10592-10602.

123. Kane, J. M. & Correll, C. U. Past and present progress in the pharmacologic treatment of schizophrenia. J. Clin. Psychiatry.2010; 71: 1115–1124.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

124. Tandon, R., Nasrallah, H. A. & Keshavan, M. S. Schizophrenia, 'just the facts' 5. Treatment and prevention.Past, present, and future.Schizophr.Res. 2010; 122: 1-23.

125. De Hert, M., Detraux, J., van Winkel, R., Yu, W. & Correll, C. U. Metabolic and cardiovascular adverse effects associated with antipsychotic drugs. Nat. Rev. Endocrinol. 2012; 8: 114–126.

126. Correll, C. U. From receptor pharmacology to improved outcomes: individualising the selection, dosing, and switching of antipsychotics. Eur. Psychiatry. 2010; 25: S12–S21.

127. Rassoulpour, A., Wu, H.Q., Ferre, S., Schwarcz, R. Nanomolar concentrations of kynurenic acid reduce extracellular dopamine levels in the striatum. J. Neurochem. 2005; 93: 762-765.

128. Linderholm, K.R., Alm, M.T., Larsson, M.K., Olsson, S.K., Goiny, M., Hajos, M., Erhardt, S., Engberg, G. Inhibition of kynurenine aminotransferase II reduces activity of midbrain dopamine neurons. Neuropharmacology.2015; 102: 42-47.

129. Huxley NA, Rendall M, Sederer L. Psychosocial treatments in schizophrenia: a review of the past 20 years. J Nerv Ment Dis 2000; 188: 187-201.

130. Bairoch, A.; Apweiler, R. Nucleic Acids Research, 2000, 25, 31-36.

131. Chou, K. C.; Cai, Y. D. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277, 45765-45769.

132. Chou, K. C.; Cai, Y. D. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2003, 311, 743-747.

133. Weiner, S. J., Kollman, P. A., Nguyen, D. T. & Case, D. A. An all-atom force field for simulations of proteins and nucleic acids. J. Comput. Chem. 1986; (7):252.

134. Jorgensen, W. L., Maxwell, D. S., & Tirado-Rives, J. Development and testing of the OPLS all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids. Journal of the American Chemical Society, (1996); 118(45): 11225-11236.

135. Revista Química Viva. Número 1. 2009

136. I. N. Levine. Química Cuántica, 5a. Ed., Prentice Hall, 2001, pp. 362.

137. Feit, M. D., Fleck, J. A., & Steiger, A. Solution of the Schrödinger equation by a spectral method. *Journal of Computational Physics*. 1982; *47*(3): 412-433.

138. Wong, M. W. Vibrational frequency prediction using density functional theory. Chemical Physics Letters. 1996; 256(4): 391-399.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

139. Görling, A. Density-functional theory beyond the Hohenberg-Kohn theorem. Physical Review A. 1999; 59(5): 3359.

140. Pople, J. A., Gill, P. M., & Johnson, B. G. Kohn-Sham density-functional theory within a finite basis set. Chemical physics letters, 1992; 199(6): 557-560.

141. Gross, E. K., & Dreizler, R. M. Density functional theory. Eds.Springer Science & Business Media.2013; 337.

142. Areco L.T. Tesis: Estudio Teórico y Experimental de la Energética y Reactividad de algunas especies que contienen bromo de interés ambiental, Facultad De Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional De Asunción, 2013,

143. Bach. R.D., Canepa. C., Glukhovtsev. M. N. J. Chem. Soc. 1999; 121: 6542.

144. Schäfer, A., Huber, C., & Ahlrichs, R. Fully optimized contracted Gaussian basis sets of triple zeta valence quality for atoms Li to Kr. The Journal of Chemical Physics, 1994; 100(8): 5829-5835.

145. Pascale, F., Zicovich-Wilson, C. M., Lopez Gejo, F., Civalleri, B., Orlando, R., & Dovesi, R. The calculation of the vibrational frequencies of crystalline compounds and its implementation in the CRYSTAL code.Journal of computational chemistry. 2004; 25(6): 888-897.

146. Davidson, E. R., & Chakravorty, S. A test of the Hirshfeld definition of atomic charges and moments. Theoretical Chemistry Accounts: Theory, Computation, and Modeling (Theoretica Chimica Acta), 1992; 83(5): 319-330.

147. Burkert, U., & Allinger, N. L. Molecular mechanics. Washington, DC: American Chemical Society. 1982; (177): 339.

148. Merz Jr, K. M., Ferguson, D. M., Spellmeyer, D. C., Fox, T., Caldwell, J. W., & Kollman, P. A. (1995). A second generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids, and organic molecules. J. Am. Chem. Soc, 117, 5179-5197.

149. Sambasivarao, S. V. & Acevedo, O. Development of OPLS-AA force field parameters for 68 unique ionic liquids. Journal of chemical theory and computation. 2009; 5(4): 1038-1050.

150. Rapaport, D. C., Blumberg, R. L., McKay, S. R., & Christian, W. The art of molecular dynamics simulation. Computers in Physics, 1996;10(5):456-456.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

151. Pastor, R. W., Brooks, B. R., & Szabo, A. An analysis of the accuracy of Langevin and molecular dynamics algorithms. Molecular Physics.1988;65(6): 1409-1419.

152. Gero Friesecke, Florian Theil.Geometry optimization, Binding of molecules, Center of Mathematics, TU Munich AFS12. Y. Au Yeung, G. Friesecke, B. Schmidt, Minimizing atomic configurations for short range pair potentials in two dimensions: crystallization in the Wul shape, Calc. Var. PDE 44, 81-100, 2012

153. Leach, A. R. Molecular modeling: principles and applications. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, 2001.

154. Evans, D. J., & Holian, B. L. The nose–hoover thermostat.The Journal of chemical physics. 1985;83(8):4069-4074.

155. Meng, E. C., Gschwend, D. A., Blaney, J. M., & Kuntz, I. D. Orientational sampling and rigid body minimization in molecular docking. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics, 1993; 17(3): 266-278.

156. Ch. L. Carmina, Tesis Microhidratación del flavonoide DHQ por métodos de mecánica molecular, Colegio de física, Puebla Pue, 2015, pp.

157. Kramer, B., Rarey, M., & Lengauer, T. Evaluation of the FLEXX incremental construction algorithm for protein–ligand docking. Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics. 1999; 37(2): 228-241.

158. Morris, G. M., Goodsell, D. S., Halliday, R. S., Huey, R., Hart, W. E., Belew, R. K., & Olson, A. J. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. Journal of computational chemistry, 1998; 19(14): 1639-1662.

159. Weiner, P. K., Langridge, R., Blaney, J. M., Schaefer, R., & Kollman, P. A. (1982). Electrostatic potential molecular surfaces.Proceedings of the National Academy of Sciences. 1982; 79(12): 3754-3758.

160. Tomasi J. In Chemical Applications of Atomic on Molecular Electrostatic Potentials.Eds. Politzer, P. & Truhlar, D. (Plenum, New York).1981; 257-294.

161. Hill, T. L. An introduction to statistical thermodynamics.Courier Corporation.1960.

162. Fogolari, F., Brigo, A., & Molinari, H. The Poisson–Boltzmann equation for biomolecular electrostatics: a tool for structural biology. Journal of Molecular Recognition. 2002; 15(6): 377-392.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

163. NCBI Resource Coordinators. Database resources of the National Center for Biotechnology Information.Nucleic Acids Research. 2016; 44: D7–D19.

164. H.M. Berman, K. Henrick, H. Nakamura. Announcing the worldwide Protein Data Bank Nature Structural Biology. 2003;10 (12): 980.

165. Okonechnikov K, Golosova O, Fursov M, the UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics* 2012 28: 1166-1167.

166. GaussView, Version 5, Dennington, R.; Keith, T.; Millam, J. Semichem Inc., Shawnee Mission KS, 2009.

167. Gaussian 09, Revision A.02, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, et al. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.

168. Páll, et al. Proc. of EASC 2015 LNCS, 2015: 8759 3-27.

169. Hertig S, Goddard T.D., Johnson G.T., Ferrin T.E., Biophys J. 2015;108(9):2097-102.

170. David W. Ritchie. Protein Docking Using Spherical Polar Fourier Correlations Copyright. 1996-2013.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ANEXOS

ANEXO A1: Datos para la estructura del fármaco, ((3S)-3-amino-1-hidroxi-3,4-dihidroquinolin-2-(1H)-ona).

Archivo *aminoacid.rtp*

; New All atom (3S) AHDO model, DvdS, 02/03/2016

; Use at your own risk!

[AHD]

[atoms]

CQ0	opls_966	0.0462	1
CQ1	opls_967	-0.0146	1
CQ2	opls_968	-0.0490	1
CQ3	opls_969	-0.0552	1
CQ4	opls_970	-0.0453	1
CQ5	opls_971	-0.0527	1
HQ	opls_972	0.0542	1
HQ1	opls_973	0.0529	1
HQ2	opls_974	0.0556	1
HQ3	opls_975	0.0569	1
NQ1	opls_976	-0.0074	1
CQ6	opls_977	0.1649	1
CQ7	opls_978	0.0312	1
CQ8	opls_979	-0.0579	1
OQ1	opls_980	-0.1715	1
HQ4	opls_981	0.1677	1
OQ2	opls_982	-0.3262	1
NQ2	opls_983	-0.2456	1
HQ5	opls_984	0.0608	1
HQ6	opls_985	0.1110	1
HQ7	opls_986	0.1208	1
HQ8	opls_987	0.0524	1
HQ9	opls_988	0.0508	1

[bonds]

CQ0	CQ1
CQ1	CQ2

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

```
CQ2     CQ3
CQ3     CQ4
CQ4     CQ5
CQ5     CQ0
CQ2     HQ
CQ3     HQ1
CQ4     HQ2
CQ5     HQ3
CQ0     NQ1
CQ6     NQ1
CQ6     CQ7
CQ7     CQ8
CQ8     CQ1
NQ1     OQ1
OQ1     HQ4
CQ6     OQ2
CQ7     NQ2
CQ7     HQ5
NQ2     HQ6
NQ2     HQ7
CQ8     HQ8
CQ8     HQ9
```

Archivo *ffbonded.itp*

```
[ angle-types ]

  CQ1     CQ0     CQ5     1    121.618    585.760    ; AHD
  CQ1     CQ0     NQ1     1    116.908    313.800    ; AHD
  CQ5     CQ0     NQ1     1    121.474    313.800    ; AHD
  CQ0     CQ1     CQ2     1    118.249    585.760    ; AHD
  CQ0     CQ1     CQ8     1    118.104    585.760    ; AHD
  CQ2     CQ1     CQ8     1    123.615    585.760    ; AHD
  CQ1     CQ2     CQ3     1    120.935    585.760    ; AHD
  CQ1     CQ2     HQ      1    118.972    292.880    ; AHD
  CQ3     CQ2     HQ      1    120.089    292.880    ; AHD
  CQ2     CQ3     CQ4     1    119.734    585.760    ; AHD
  CQ2     CQ3     HQ1     1    119.998    292.880    ; AHD
  CQ4     CQ3     HQ1     1    120.267    292.880    ; AHD
  CQ3     CQ4     CQ5     1    120.478    585.760    ; AHD
  CQ3     CQ4     HQ2     1    120.117    292.880    ; AHD
  CQ5     CQ4     HQ2     1    119.403    292.880    ; AHD
  CQ0     CQ5     CQ4     1    118.970    585.760    ; AHD
  CQ0     CQ5     HQ3     1    119.607    292.880    ; AHD
  CQ4     CQ5     HQ3     1    121.423    292.880    ; AHD
  CQ0     NQ1     CQ6     1    126.763    418.400    ; AHD
  CQ0     NQ1     OQ1     1    116.281    384.928    ; AHD
  CQ6     NQ1     OQ1     1    116.153    384.928    ; AHD
  NQ1     CQ6     CQ7     1    115.853    585.760    ; AHD
  NQ1     CQ6     OQ2     1    119.340    669.440    ; AHD
  CQ7     CQ6     OQ2     1    124.709    669.440    ; AHD
  CQ6     CQ7     CQ8     1    110.216    585.760    ; AHD
```

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

```
CQ6     CQ7     NQ2      1    111.101     313.800    ; AHD
CQ6     CQ7     HQ5      1    106.450     292.880    ; AHD
CQ8     CQ7     NQ2      1    110.732     313.800    ; AHD
CQ8     CQ7     HQ5      1    109.994     292.880    ; AHD
NQ2     CQ7     HQ5      1    108.235     292.880    ; AHD
CQ1     CQ8     CQ7      1    111.730     585.760    ; AHD
CQ1     CQ8     HQ8      1    110.838     292.880    ; AHD
CQ1     CQ8     HQ9      1    109.118     292.880    ; AHD
CQ7     CQ8     HQ8      1    108.870     292.880    ; AHD
CQ7     CQ8     HQ9      1    108.660     292.880    ; AHD
HQ8     CQ8     HQ9      1    107.509     276.144    ; AHD
NQ1     OQ1     HQ4      1    102.073     410.032    ; AHD
CQ7     NQ2     HQ6      1    115.098     251.040    ; AHD
CQ7     NQ2     HQ7      1    115.137     251.040    ; AHD
HQ6     NQ2     HQ7      1    112.610     364.845    ; AHD
```

ANEXO A2: Datos para la estructura del cofactor

Archivo *aminoacid.rtp*

; Use at your own risk!

[COF]

[atoms]

CJ	opls_966	0.080	1
CJ1	opls_967	0.045	1
CJ2	opls_968	-0.004	1
CJ3	opls_969	0.108	1
CJ4	opls_970	0.084	1
NJ0	opls_971	0.007	1
HJ0	opls_972	0.079	1
CJ5	opls_973	-0.082	1
HJ1	opls_974	0.068	1
HJ2	opls_975	0.064	1
HJ3	opls_976	0.056	1
OJ0	opls_977	-0.188	1
HJ4	opls_978	0.152	1
CJ6	opls_979	0.176	1
OJ1	opls_980	-0.199	1
HJ5	opls_981	0.076	1
CJ7	opls_982	0.032	1
HJ6	opls_983	0.053	1

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

HJ7	opls_984	0.055	1
OJ2	opls_985	-0.261	1
PJ0	opls_986	0.516	1
OJ3	opls_987	-0.318	1
OJ4	opls_988	-0.478	1
OJ5	opls_989	-0.487	1
HJ8	opls_990	0.184	1
HJ9	opls_991	0.182	1

```
[ bonds ]
    CJ      CJ1
    CJ1     CJ2
    CJ2     CJ3
    CJ3     CJ4
    CJ4     NJ0
    NJ0      CJ
    CJ      HJ0
    CJ1     CJ7
    CJ2     CJ6
    CJ3     OJ0
    OJ0     HJ4
    CJ4     CJ5
    NJ0     HJ8
    CJ5     HJ1
    CJ5     HJ2
    CJ5     HJ3
    CJ6     OJ1
    CJ6     HJ5
    CJ7     HJ6
    CJ7     HJ7
    CJ7     OJ2
    OJ2     PJ0
    PJ0     OJ4
    PJ0     OJ5
    PJ0     OJ3
    OJ3     HJ9
```

Archivo *ffbonded.itp*

```
[ angle-types ]

  CJ      CJ1     CJ2      1    117.740    292.880    ; COF
  CJ      CJ1     CJ7      1    117.795    292.880    ; COF
  CJ2     CJ1     CJ7      1    124.458    276.144    ; COF
  CJ1     CJ2     CJ3      1    120.371    527.184    ; COF
  CJ1     CJ2     CJ6      1    121.133    292.880    ; COF
  CJ3     CJ2     CJ6      1    118.457    292.880    ; COF
  CJ2     CJ3     CJ4      1    119.806    292.880    ; COF
  CJ2     CJ3     OJ0      1    123.416    292.880    ; COF
  CJ4     CJ3     OJ0      1    116.777    276.144    ; COF
```

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

```
CJ3     CJ4     NJ0     1    116.630    527.184    ; COF
CJ3     CJ4     CJ5     1    122.998    292.880    ; COF
NJ0     CJ4     CJ5     1    120.372    292.880    ; COF
CJ4     NJ0     HJ8     1    117.215    292.880    ; COF
CJ4     CJ5     HJ1     1    110.268    292.880    ; COF
CJ4     CJ5     HJ2     1    110.506    276.144    ; COF
CJ4     CJ5     HJ3     1    111.400    527.184    ; COF
HJ1     CJ5     HJ2     1    107.073    292.880    ; COF
HJ1     CJ5     HJ3     1    108.603    292.880    ; COF
HJ2     CJ5     HJ3     1    108.866    292.880    ; COF
CJ3     OJ0     HJ4     1    108.268    292.880    ; COF
CJ2     CJ6     OJ1     1    122.570    292.880    ; COF
CJ2     CJ6     HJ5     1    117.620    527.184    ; COF
OJ1     CJ6     HJ5     1    119.809    669.440    ; COF
CJ1     CJ7     HJ6     1    109.127    292.880    ; COF
CJ1     CJ7     HJ7     1    108.467    669.440    ; COF
CJ1     CJ7     OJ2     1    112.227    292.880    ; COF
HJ6     CJ7     HJ7     1    108.157    292.880    ; COF
HJ6     CJ7     OJ2     1    114.172    669.440    ; COF
HJ7     CJ7     OJ2     1    111.494    418.400    ; COF
CJ7     OJ2     PJ0     1    116.945    292.880    ; COF
OJ2     PJ0     OJ3     1     96.775    292.880    ; COF
OJ2     PJ0     OJ4     1    108.910    292.880    ; COF
OJ2     PJ0     OJ5     1    103.325    292.880    ; COF
OJ3     PJ0     OJ4     1    109.006    292.880    ; COF
OJ3     PJ0     OJ5     1    106.798    376.560    ; COF
OJ4     PJ0     OJ5     1    127.631    292.880    ; COF
PJ0     OJ3     HJ9     1    108.544    376.560    ; COF
CJ1     CJ      NJ0     1    119.594    527.184    ; COF
CJ1     CJ      HJ0     1    122.818    292.880    ; COF
NJ0     CJ      HJ0     1    117.484    292.880    ; COF
CJ      NJ0     CJ4     1    125.796    585.760    ; COF
CJ      NJ0     HJ8     1    116.915    292.880    ; COF
```

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ANEXO A3: Archivo .pdb de la estructura de la enzima KAT II,

```
TITLE     Average structure
REMARK    THIS IS A SIMULATION BOX          1
MODEL        1
ATOM   4071  N   SER   260      73.915  70.987  69.052  1.00  0.00
ATOM   4072  H   SER   260      74.255  70.827  69.992  1.00  0.00
ATOM   4073  CA  SER   260      73.855  72.357  68.612  1.00  0.00
ATOM   4074  HA  SER   260      73.255  72.477  67.712  1.00  0.00
ATOM   4075  CB  SER   260      73.215  73.087  69.802  1.00  0.00
ATOM   4076  HB1 SER   260      72.145  73.167  69.652  1.00  0.00
ATOM   4077  HB2 SER   260      73.495  72.637  70.752  1.00  0.00
ATOM   4078  OG  SER   260      73.475  74.407  70.092  1.00  0.00
ATOM   4079  HG  SER   260      72.965  74.457  70.892  1.00  0.00
ATOM   4080  C   SER   260      75.265  72.877  68.362  1.00  0.00
ATOM   4081  O   SER   260      76.255  72.387  68.922  1.00  0.00
ATOM   4082  N   PHE   261      75.345  73.897  67.512  1.00  0.00
ATOM   4083  H   PHE   261      74.535  74.177  66.972  1.00  0.00
ATOM   4084  CA  PHE   261      76.575  74.557  67.172  1.00  0.00
ATOM   4085  HA  PHE   261      77.245  74.397  68.002  1.00  0.00
ATOM   4086  CB  PHE   261      77.045  73.957  65.872  1.00  0.00
ATOM   4087  HB1 PHE   261      76.695  72.937  65.762  1.00  0.00
ATOM   4088  HB2 PHE   261      76.675  74.547  65.032  1.00  0.00
ATOM   4089  CG  PHE   261      78.515  73.887  65.682  1.00  0.00
ATOM   4090  CD1 PHE   261      79.445  74.147  66.692  1.00  0.00
ATOM   4091  HD1 PHE   261      79.165  74.427  67.682  1.00  0.00
ATOM   4092  CD2 PHE   261      78.925  73.407  64.452  1.00  0.00
ATOM   4093  HD2 PHE   261      78.175  73.097  63.752  1.00  0.00
ATOM   4094  CE1 PHE   261      80.815  74.057  66.412  1.00  0.00
ATOM   4095  HE1 PHE   261      81.545  74.327  67.162  1.00  0.00
ATOM   4096  CE2 PHE   261      80.285  73.277  64.182  1.00  0.00
ATOM   4097  HE2 PHE   261      80.555  72.857  63.242  1.00  0.00
ATOM   4098  CZ  PHE   261      81.235  73.617  65.172  1.00  0.00
ATOM   4099  HZ  PHE   261      82.285  73.457  65.062  1.00  0.00
ATOM   4100  C   PHE   261      76.395  76.047  67.092  1.00  0.00
ATOM   4101  O   PHE   261      76.725  76.707  66.102  1.00  0.00
ATOM   4102  N   SER   262      75.785  76.567  68.132  1.00  0.00
ATOM   4103  H   SER   262      75.455  75.947  68.862  1.00  0.00
ATOM   4104  CA  SER   262      75.315  77.917  68.132  1.00  0.00
ATOM   4105  HA  SER   262      75.815  78.497  67.342  1.00  0.00
ATOM   4106  CB  SER   262      73.845  77.857  67.682  1.00  0.00
ATOM   4107  HB1 SER   262      73.755  78.587  66.892  1.00  0.00
ATOM   4108  HB2 SER   262      73.565  76.857  67.372  1.00  0.00
ATOM   4109  OG  SER   262      72.715  78.167  68.392  1.00  0.00
ATOM   4110  HG  SER   262      72.085  78.027  67.692  1.00  0.00
ATOM   4111  C   SER   262      75.895  78.587  69.352  1.00  0.00
ATOM   4112  O   SER   262      77.115  78.667  69.402  1.00  0.00
ATOM   4113  N   LLP   263      75.085  79.017  70.322  1.00  0.00
ATOM   4114  H   LLP   263      74.125  78.827  70.102  1.00  0.00
ATOM   4115  CA  LLP   263      75.355  79.627  71.562  1.00  0.00
ATOM   4116  HA  LLP   263      74.685  80.497  71.582  1.00  0.00
```

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ATOM	4117	CB	LLP	263	75.145	78.757	72.682	1.00	0.00
ATOM	4118	HB1	LLP	263	75.835	77.917	72.792	1.00	0.00
ATOM	4119	HB2	LLP	263	75.195	79.367	73.582	1.00	0.00
ATOM	4120	CG	LLP	263	73.835	78.067	72.712	1.00	0.00
ATOM	4121	HG1	LLP	263	73.125	78.757	73.152	1.00	0.00
ATOM	4122	HG2	LLP	263	73.595	77.787	71.692	1.00	0.00
ATOM	4123	CD	LLP	263	73.775	76.767	73.462	1.00	0.00
ATOM	4124	HD1	LLP	263	74.565	76.057	73.192	1.00	0.00
ATOM	4125	HD2	LLP	263	73.745	76.987	74.522	1.00	0.00
ATOM	4126	CE	LLP	263	72.525	76.027	73.192	1.00	0.00
ATOM	4127	HE1	LLP	263	72.705	75.107	72.652	1.00	0.00
ATOM	4128	HE2	LLP	263	71.945	75.907	74.112	1.00	0.00
ATOM	4129	NZ0	LLP	263	71.655	76.777	72.382	1.00	0.00
ATOM	4130	C	LLP	263	76.805	80.067	71.712	1.00	0.00
ATOM	4131	O	LLP	263	77.165	81.207	71.402	1.00	0.00
ATOM	4132	CK0	LLP	263	68.755	77.297	72.622	1.00	0.00
ATOM	4133	CL0	LLP	263	69.585	76.917	71.572	1.00	0.00
ATOM	4134	CN0	LLP	263	69.085	76.507	70.372	1.00	0.00
ATOM	4135	CP0	LLP	263	67.735	76.537	70.162	1.00	0.00
ATOM	4136	HP	LLP	263	67.365	76.277	69.182	1.00	0.00
ATOM	4137	NQ	LLP	263	66.955	77.027	71.132	1.00	0.00
ATOM	4138	CJ0	LLP	263	67.385	77.337	72.372	1.00	0.00
ATOM	4139	CL1	LLP	263	70.625	76.097	71.982	1.00	0.00
ATOM	4140	HL	LLP	263	70.325	75.187	72.482	1.00	0.00
ATOM	4141	CN1	LLP	263	69.905	75.727	69.412	1.00	0.00
ATOM	4142	HN1	LLP	263	69.475	74.707	69.412	1.00	0.00
ATOM	4143	HN2	LLP	263	70.985	75.787	69.582	1.00	0.00
ATOM	4144	OZ4	LLP	263	69.795	76.417	68.262	1.00	0.00
ATOM	4145	CJ1	LLP	263	66.455	77.877	73.372	1.00	0.00
ATOM	4146	OK6	LLP	263	69.225	77.587	73.842	1.00	0.00
ATOM	4147	PZ	LLP	263	70.025	75.327	66.982	1.00	0.00
ATOM	4148	OZ1	LLP	263	68.585	75.317	66.562	1.00	0.00
ATOM	4149	OZ2	LLP	263	70.965	74.217	67.262	1.00	0.00
ATOM	4150	OZ3	LLP	263	70.905	76.497	66.262	1.00	0.00
ATOM	4151	N	ILE	264	77.675	79.187	72.222	1.00	0.00
ATOM	4152	H	ILE	264	77.335	78.257	72.432	1.00	0.00
ATOM	4153	CA	ILE	264	79.025	79.487	72.672	1.00	0.00
ATOM	4154	HA	ILE	264	78.975	80.357	73.322	1.00	0.00
ATOM	4155	CB	ILE	264	79.565	78.237	73.362	1.00	0.00
ATOM	4156	HB	ILE	264	80.615	78.397	73.612	1.00	0.00
ATOM	4157	CG1	ILE	264	79.465	77.067	72.372	1.00	0.00
ATOM	4158	1HG1	ILE	264	78.445	76.937	72.012	1.00	0.00
ATOM	4159	2HG1	ILE	264	80.175	77.247	71.582	1.00	0.00
ATOM	4160	CG2	ILE	264	78.785	78.027	74.652	1.00	0.00
ATOM	4161	1HG2	ILE	264	79.195	77.197	75.222	1.00	0.00
ATOM	4162	2HG2	ILE	264	78.865	78.937	75.252	1.00	0.00
ATOM	4163	3HG2	ILE	264	77.735	77.847	74.452	1.00	0.00
ATOM	4164	CD	ILE	264	79.825	75.707	72.782	1.00	0.00
ATOM	4165	HD1	ILE	264	79.675	75.147	71.852	1.00	0.00
ATOM	4166	HD2	ILE	264	80.865	75.687	73.102	1.00	0.00
ATOM	4167	HD3	ILE	264	79.105	75.407	73.522	1.00	0.00
ATOM	4168	C	ILE	264	79.965	79.817	71.542	1.00	0.00

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ATOM	4169	O	ILE	264	81.125	80.157	71.752	1.00	0.00
ATOM	4170	N	ILE	265	79.505	79.567	70.332	1.00	0.00
ATOM	4171	H	ILE	265	78.575	79.157	70.222	1.00	0.00
ATOM	4172	CA	ILE	265	80.245	79.877	69.162	1.00	0.00
ATOM	4173	HA	ILE	265	81.305	79.907	69.362	1.00	0.00
ATOM	4174	CB	ILE	265	79.975	78.807	68.132	1.00	0.00
ATOM	4175	HB	ILE	265	78.915	78.707	67.882	1.00	0.00
ATOM	4176	CG1	ILE	265	80.485	77.577	68.852	1.00	0.00
ATOM	4177	1HG1	ILE	265	81.485	77.707	69.252	1.00	0.00
ATOM	4178	2HG1	ILE	265	79.755	77.257	69.592	1.00	0.00
ATOM	4179	CG2	ILE	265	80.705	79.077	66.822	1.00	0.00
ATOM	4180	1HG2	ILE	265	80.505	78.277	66.112	1.00	0.00
ATOM	4181	2HG2	ILE	265	80.355	80.007	66.392	1.00	0.00
ATOM	4182	3HG2	ILE	265	81.775	79.137	67.032	1.00	0.00
ATOM	4183	CD	ILE	265	80.585	76.427	68.022	1.00	0.00
ATOM	4184	HD1	ILE	265	80.855	75.627	68.722	1.00	0.00
ATOM	4185	HD2	ILE	265	79.575	76.367	67.622	1.00	0.00
ATOM	4186	HD3	ILE	265	81.325	76.547	67.242	1.00	0.00
ATOM	4187	C	ILE	265	79.795	81.227	68.712	1.00	0.00
ATOM	4188	O	ILE	265	80.615	82.137	68.582	1.00	0.00
ATOM	4189	N	SER	266	78.495	81.347	68.492	1.00	0.00
ATOM	4190	H	SER	266	77.875	80.577	68.682	1.00	0.00
ATOM	4191	CA	SER	266	77.905	82.607	68.152	1.00	0.00
ATOM	4192	HA	SER	266	78.335	83.367	68.802	1.00	0.00
ATOM	4193	CB	SER	266	78.205	82.927	66.682	1.00	0.00
ATOM	4194	HB1	SER	266	79.285	82.957	66.522	1.00	0.00
ATOM	4195	HB2	SER	266	77.805	82.127	66.072	1.00	0.00
ATOM	4196	OG	SER	266	77.595	84.117	66.222	1.00	0.00
ATOM	4197	HG	SER	266	77.955	84.287	65.372	1.00	0.00
ATOM	4198	C	SER	266	76.425	82.477	68.412	1.00	0.00
ATOM	4199	O	SER	266	75.775	81.537	67.932	1.00	0.00
ATOM	4200	N	SER	267	75.885	83.467	69.092	1.00	0.00
ATOM	4201	H	SER	267	76.485	84.197	69.492	1.00	0.00
ATOM	4202	CA	SER	267	74.475	83.567	69.382	1.00	0.00
ATOM	4203	HA	SER	267	74.115	82.577	69.662	1.00	0.00
ATOM	4204	CB	SER	267	74.315	84.547	70.542	1.00	0.00
ATOM	4205	HB1	SER	267	73.275	84.827	70.662	1.00	0.00
ATOM	4206	HB2	SER	267	74.665	84.087	71.472	1.00	0.00
ATOM	4207	OG	SER	267	74.985	85.767	70.362	1.00	0.00
ATOM	4208	HG	SER	267	74.945	86.177	71.222	1.00	0.00
ATOM	4209	C	SER	267	73.605	84.017	68.202	1.00	0.00
ATOM	4210	O	SER	267	72.405	84.227	68.372	1.00	0.00
ATOM	4211	N	GLY	268	74.165	84.137	66.992	1.00	0.00
ATOM	4212	H	GLY	268	75.145	83.897	66.892	1.00	0.00
ATOM	4213	CA	GLY	268	73.395	84.557	65.822	1.00	0.00
ATOM	4214	HA1	GLY	268	72.355	84.777	66.062	1.00	0.00
ATOM	4215	HA2	GLY	268	73.845	85.477	65.432	1.00	0.00
ATOM	4216	C	GLY	268	73.375	83.487	64.742	1.00	0.00
ATOM	4217	O	GLY	268	72.695	83.647	63.732	1.00	0.00
ATOM	4218	N	LEU	269	74.095	82.397	64.972	1.00	0.00
ATOM	4219	H	LEU	269	74.545	82.297	65.872	1.00	0.00
ATOM	4220	CA	LEU	269	74.045	81.227	64.132	1.00	0.00

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

```
ATOM   4221  HA  LEU   269      73.825  81.497  63.102  1.00  0.00
ATOM   4222  CB  LEU   269      75.345  80.447  64.292  1.00  0.00
ATOM   4223  HB1 LEU   269      75.675  80.527  65.332  1.00  0.00
ATOM   4224  HB2 LEU   269      75.235  79.377  64.072  1.00  0.00
ATOM   4225  CG  LEU   269      76.435  81.057  63.452  1.00  0.00
ATOM   4226  HG  LEU   269      76.445  82.107  63.722  1.00  0.00
ATOM   4227  CD1 LEU   269      77.745  80.367  63.732  1.00  0.00
ATOM   4228 1HD1 LEU   269      78.525  80.787  63.102  1.00  0.00
ATOM   4229 2HD1 LEU   269      78.025  80.537  64.762  1.00  0.00
ATOM   4230 3HD1 LEU   269      77.655  79.297  63.522  1.00  0.00
ATOM   4231  CD2 LEU   269      76.305  80.907  61.952  1.00  0.00
ATOM   4232 1HD2 LEU   269      77.195  81.357  61.512  1.00  0.00
ATOM   4233 2HD2 LEU   269      76.265  79.857  61.672  1.00  0.00
ATOM   4234 3HD2 LEU   269      75.455  81.467  61.572  1.00  0.00
ATOM   4235  C   LEU   269      72.965  80.307  64.632  1.00  0.00
ATOM   4236  O   LEU   269      72.625  80.267  65.812  1.00  0.00
ATOM   4237  N   ARG   270      72.455  79.537  63.682  1.00  0.00
ATOM   4238  H   ARG   270      72.665  79.727  62.722  1.00  0.00
ATOM   4239  CA  ARG   270      71.475  78.537  63.912  1.00  0.00
ATOM   4240  HA  ARG   270      71.555  78.277  64.972  1.00  0.00
ATOM   4241  CB  ARG   270      70.155  79.117  63.502  1.00  0.00
ATOM   4242  HB1 ARG   270      70.165  80.177  63.262  1.00  0.00
ATOM   4243  HB2 ARG   270      69.605  78.567  62.742  1.00  0.00
ATOM   4244  CG  ARG   270      69.435  78.947  64.732  1.00  0.00
ATOM   4245  HG1 ARG   270      69.415  77.907  65.032  1.00  0.00
ATOM   4246  HG2 ARG   270      69.935  79.587  65.482  1.00  0.00
ATOM   4247  CD  ARG   270      68.075  79.317  64.402  1.00  0.00
ATOM   4248  HD1 ARG   270      67.845  80.027  63.592  1.00  0.00
ATOM   4249  HD2 ARG   270      67.415  78.457  64.542  1.00  0.00
ATOM   4250  NE  ARG   270      67.805  80.207  65.402  1.00  0.00
ATOM   4251  HE  ARG   270      68.585  80.817  65.662  1.00  0.00
ATOM   4252  CZ  ARG   270      66.585  80.207  65.802  1.00  0.00
ATOM   4253  NH1 ARG   270      65.515  79.737  65.362  1.00  0.00
ATOM   4254 1HH1 ARG   270      65.825  78.907  64.902  1.00  0.00
ATOM   4255 2HH1 ARG   270      65.755  80.737  65.232  1.00  0.00
ATOM   4256  NH2 ARG   270      65.915  80.967  66.442  1.00  0.00
ATOM   4257 1HH2 ARG   270      66.425  81.817  66.272  1.00  0.00
ATOM   4258 2HH2 ARG   270      65.095  80.437  66.042  1.00  0.00
ATOM   4259  C   ARG   270      71.765  77.277  63.162  1.00  0.00
ATOM   4260  O   ARG   270      71.135  76.967  62.152  1.00  0.00
```

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ANEXO N° 04: Archivo de minimización, los sistemas.

```
title                = Minimizacion
cpp                  = /lib/cpp
include              = -I../top
define               =
integrator           = steep
nsteps               = 500000000
nstcomm              = 1
emtol                = 10
emstep               = 0.01
nstcgsteep           = 1000
nstxout              = 10
nstvout              = 10
nstfout              = 0
nstlog               = 1000
nstenergy            = 1000
nstxtcout            = 1
nbfgscorr            = 10
xtc-precision        = 1000
xtc-grps             =
energygrps           =
cutoff-scheme        = Verlet
nstlist              = 10
ns-type              = grid
pbc                  = xyz
optimize-fft         = yes
fourierspacing       = 0.3
DispCorr = Ener
constraints          = none
coulombtype          = PME
rlist                = 0.9
rcoulomb             = 0.9
vdwtype              = Cut-off
rvdw                 = 0.9
```

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

pme-order = 4
ewald-rtol = 1e-5
rgbradii =0.9
;implicit_solvent= none

ANEXO A5: Archivo para la dinámica molecular, para todos los sistemas.

title = Dinamica Molecular NVT
cpp = /lib/cpp
include = -I../top
integrator = md
dt = 0.001
nsteps = 100
nstxout = 1000
nstvout = 1000
nstlog = 1000
nstenergy = 1000
nstxout-compressed= 1000
xtc-grps =
energygrps =
nstlist = 20
ns-type = grid
fourierspacing = 0.30
pme-order = 4
ewald-rtol = 1e-5
pbc = xyz
tcoupl = nose-hoover
tc-grps = system
tau-t = 0.5
ref-t = 309.65
gen-vel = yes
gen-seed = 173529

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

constraints = none
cutoff-scheme = verlet
coulombtype = PME
rlist = 0.9
rcoulomb = 0.9
vdwtype = Cut-off
rvdw = 0.9

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis