

UNIVERSIDAD CATÓLICA SANTO TORIBIO DE MOGROVEJO
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE MEDICINA HUMANA



**Moléculas con capacidad de inhibición de la enzima Glucosa 1-fosfato
timidil transferasa (RMLA) de *Klebsiella pneumoniae* resistente a
antibiótico**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
MÉDICO CIRUJANO**

AUTOR

Harold Capuñay Torres

ASESOR

Erick Giancarlo Suclupe Farro

<https://orcid.org/0000-0002-0334-2191>

Chiclayo, 2024

**Moléculas con capacidad de inhibición de la enzima Glucosa 1-fosfato
timidil transferasa (RMLA) de *Klebsiella pneumoniae* resistente a
antibiótico**

PRESENTADA POR

Harold Capuñay Torres

A la Facultad de Medicina de la
Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo
para optar el título de

MÉDICO CIRUJANO

APROBADA POR

Alfredo Juan Chiappe Gonzalez
PRESIDENTE

Miguel Villegas Chiroque
SECRETARIO

Erick Giancarlo Suclupe Farro
VOCAL

Dedicatoria

Dedico esta tesis a mis padres, quienes me han brindado su apoyo incondicional en todo momento y han sido mi inspiración para ser cada día una mejor persona. A nuestros docentes, quienes en su experiencia han tratado de compartir sus conocimientos en cada asignatura y a mis amigos que han sido un eje importante en vida y con los cuales he vivido distintas experiencias que jamás olvidaré.

Agradecimientos

Dar gracias a mi universidad, por haberme permitido conocer a fondo mi profesión siempre respetando la ética y el acto médico. A mi país, que ha sido uno de mis principales motivos de seguir cada día capacitándome profesionalmente, espero algún día poder retribuirle por haberme dado tanto.

MOLÉCULAS CON CAPACIDAD DE INHIBICIÓN DE LA ENZIMA GLUCOSA 1-FOSFATO TIMIDIL TRANSFERASA (RMLA) DE Klebsiella pneumoniae RESISTENTE A ANTIBIÓTICOS

INFORME DE ORIGINALIDAD

5%	5%	2%	3%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	github.com Fuente de Internet	1%
2	archiv.ub.uni-heidelberg.de Fuente de Internet	1%
3	doku.pub Fuente de Internet	1%
4	(7-30-15) http://133.1.158.180/ftp/pub/bmrb/entry_directories/bi Fuente de Internet	<1%
5	alzheimer.net.scbdd.com Fuente de Internet	<1%
6	files.docking.org Fuente de Internet	<1%
7	pesquisa.bvsalud.org Fuente de Internet	<1%
8	zenodo.org Fuente de Internet	<1%

Índice

Resumen	6
Abstract	7
I. Introducción	8
II. Revisión de literatura	9
1. Antecedentes nacionales.....	9
2. Resistencia bacteriana.....	10
3. Estudios computacionales utilizados en la farmacología.....	12
III. Materiales y métodos	14
1. Diseño de estudio y contexto.....	14
2. Población.....	14
3. Variables y procedimiento.....	15
4. Aspectos éticos y financiamiento.....	16
IV. Resultados	17
V. Discusión	22
VI. Conclusiones	24
VII. Recomendaciones	24
VIII. Referencias	24
Anexos	32

Resumen

Introducción: La resistencia antimicrobiana es un problema alarmante en la salud pública mundial. A mediados del 2017, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reportó una lista de las bacterias para la búsqueda de nuevos antibióticos, incluyendo sobre todo enterobacterias. En el Perú, hubo reporte de casos de *Klebsiella pneumoniae* resistente a antibióticos en diferentes regiones del país. Por lo tanto, existe una necesidad de encontrar nuevos sitios diana de acción farmacológica para enfrentar esta problemática sanitaria. **Objetivo:** Identificar las moléculas orgánicas con capacidad de inhibición de la enzima Glucosa 1-fosfato Timidilil Transferasa (RmlA) de *K. pneumoniae* resistente a antibióticos utilizando la técnica de acoplamiento molecular. **Materiales y métodos:** Se realizó un estudio *in-silico*, mediante programas para acoplamiento molecular por ordenador local. La semejanza de fármacos con el sustrato natural de la enzima fue dada con programas de similaridad de ligandos, se obtuvieron datos teóricos de las interacciones entre los fármacos seleccionados con el sitio activo de la enzima. Finalmente se analizó cada ligando en función de sus energías libres. **Resultados:** Se analizó computacionalmente 14100 unidades farmacológicas con posible interacción con la enzima RmlA de *K. pneumoniae* resistente a antibióticos, según las energías libres de interacción los valores enteros están entre 96 a 103 (kcal/mol), frente al valor de acoplamiento del sustrato-enzima de -222.357 (kcal/mol). **Conclusiones:** Se encontraron posibles fármacos inhibidores de la enzima RmlA de *K. pneumoniae*, es necesario continuar con la valoración y estudio de estos fármacos en estudios laboratoriales para mejorar la propuesta de inhibición enzimática basada en este trabajo de investigación computacional.

Palabras clave: Farmacorresistencia Bacteriana, Biología Computacional, Ramnosa, *Klebsiella pneumoniae*

Abstract

Introduction: Antimicrobial resistance is an alarming problem in global public health. In mid-2017, the World Health Organization (WHO) reported a list of bacteria for the search for new antibiotics, including especially Enterobacteriaceae. In Peru, there were reports of cases of antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae* in different regions of the country. Therefore, there is a need to find new target sites for pharmacological action to address this health problem. **Objective:** Identify organic molecules with the capacity to inhibit the enzyme Glucose 1-phosphate Thymidyl Transferase (RmlA) of antibiotic-resistant *K. pneumoniae* using the molecular docking technique. **Materials and methods:** An in-silico study was carried out, using a program for molecular docking by local computer. The similarity of drugs with the natural substrate of the enzyme was given with ligand similarity programs, theoretical data were obtained on the interactions between the selected drugs with the active site of the enzyme. Finally, each ligand was analyzed based on its free energies. **Results:** 14100 pharmacological units with possible interaction with the RmlA enzyme of antibiotic-resistant *K. pneumoniae* were computationally analyzed. According to the interaction free energies, the integer values are between 96 to 103 (kcal/mol), compared to the coupling value of the substrate. - enzyme of -222,357 (kcal/mol). **Conclusions:** Possible drugs that inhibit the RmlA enzyme of *K. pneumoniae* were found; it is necessary to continue with the evaluation and study of these drugs in laboratory studies to improve the proposal for enzyme inhibition based on this computational research work.

Keywords: Drug Resistance, Bacterial, Computational Biology, Rhamnose, *Klebsiella pneumoniae*

I. Introducción

La resistencia antimicrobiana es una amenaza constante en la salud pública.^(1,2) Desde la aparición de los antibióticos se ha reducido en gran porcentaje la morbilidad y mortalidad de la población.⁽¹⁾ Sin embargo, el reporte del uso desmesurado de la terapia antibiótica y el reporte de nuevas cepas multirresistentes trajo consigo enfermedades infecciosas que cada día son más difíciles de tratar. En el 2021, informe de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) evidencia que 700 mil muertes anuales ocurren debido a la resistencia bacteriana, una cifra alarmante comparada a años previos.⁽³⁾

Las tasas de resistencia antibiótica en el mundo son altas.⁽³⁾ En 2017, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reportó una lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos resaltando un grupo de prioridad crítica que incluía sobre todo enterobacterias, con tasas de resistencia entre 12,11% a 36%.⁽⁴⁾ Se resalta en este grupo a *Klebsiella pneumoniae*, una bacteria gramnegativa, causante de múltiples infecciones hospitalarias. Se conoce que parte de su sistema de defensa recae sobre sus lipoproteínas.^(5,6) Estudios muestran que para la formación de estas estructuras es imprescindible la presencia de carbohidratos como la ramnosa (azúcar de 5 carbonos).^(7,8) Este azúcar es sintetizado en una cascada de 4 cuatro pasos cuya enzima de inicio es la Glucosa 1-fosfato Timidilil Transferasa - RmlA.⁽⁸⁾

En Perú, diversos aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* en pacientes hospitalizados reveló tasas de resistencia de 50% a betalactámicos.⁽⁹⁾ Cifras que se mantienen entre el 2015 y 2019, donde se han reportado casos de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenemasas en diferentes regiones del país.⁽¹⁰⁻¹²⁾ A nivel local, en Lambayeque durante el 2019, se reportó el hallazgo de *Klebsiella pneumoniae* con concentración inhibitoria mínima (CMI) mayor a 16ug/ml para betalactámicos en el Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo.⁽¹³⁾

En la actualidad, las investigaciones sobre fármacos se enfocan en la búsqueda de nuevas moléculas diana a través de métodos computacionales.⁽¹⁴⁻¹⁶⁾ Se ha demostrado hallazgos significativos al evaluar fármacos que tengan como diana enzimas y estructuras en diferentes microorganismos.⁽¹⁷⁾ Existen estudios computacionales donde se recomienda el abordaje de Glucosa 1-fosfato Timidil Transferasa (RmlA) como blanco farmacológico de diferentes bacterias.^(18,19) Sin embargo, aún no se ha realizado en

Klebsiella pneumoniae. Ante ello, se plantea la pregunta: ¿Cuáles son las moléculas con capacidad de inhibición de la enzima Glucosa 1-fosfato Timidil Transferasa (RmlA) de *Klebsiella pneumoniae* resistente a antibióticos a través de docking molecular?

El objetivo del estudio fue identificar las moléculas orgánicas con capacidad de inhibición en la enzima Glucosa 1-fosfato Timidil Transferasa (Rmla) de *Klebsiella pneumoniae* resistente a antibióticos con resistencia a carbapemenasas a través de docking molecular.

II. Revisión de literatura

1. Antecedentes nacionales

Angles-Yanqui et al. (2020), realizó una revisión sistemática abarcando literatura biomédica publicada desde 2000 hasta 2019 en las bases de datos médicas sobre casos reportados relacionados a bacterias con carbapemenasas en Perú. Se encontró que de 313 reportes que representan la población total, 74 reportes fueron sobre *Klebsiella pneumoniae*, lo que orienta a una alta tasa de casos de resistencia para estas especies bacterianas.⁽¹⁰⁾

Naomi-Matsuoka et al. (2020), realizó un estudio descriptivo en Lima, donde en base a muestras biológicas, encontró resistencia de *Klebsiella pneumoniae* a colistina, fármaco polipéptido que altera la permeabilidad de la membrana bacteriana; desarrollado en un instituto de la región, quien identificó cepas resistentes a colistina (33,3%), situación preocupante por ser esta parte de las últimas alternativas de tratamiento.⁽¹¹⁾

Quispe Pari et al. (2018), realizó un reporte de caso de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenems en Huancayo. Por lo que recomienda como práctica fundamental el control y eliminación a través de un manejo farmacológico combinado de las últimas líneas antibióticas de amplio espectro de acción como Colistina asociado a carbapenems.⁽¹²⁾

Díaz-Sipi3n et al. (2020), realizó un reporte de caso en la regi3n Lambayeque de un nuevo caso de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas. En este estudio se encontraron concentraciones inhibitorias m3nimas entre 4 y 8 para el ertapenem y mayores a 16 µg/m para imipenem y meropenem. Siendo estos resultados altos respecto a la resistencia de esta bacteria.⁽¹³⁾

2. Resistencia bacteriana

A. Resistencia farmacológica de enterobacterias. La resistencia de enterobacterias a diversos antibióticos recae en su capacidad de compartir genes de resistencia, ya sea mediante plásmidos o por división celular.⁽²⁰⁾ El principal mecanismo de resistencia es el enzimático, a través de la presencia de β -lactamasas.⁽²¹⁾ Otros mecanismos son la bomba eflujo y alteraciones en las porinas.⁽²²⁾ Es por ello que se recomienda como medidas sanitarias una correcta asepsia y antisepsia, capacitación del personal de salud, disminuir el uso de métodos invasivos y regular la administración de antibióticos mediante el uso racional de los mismos.⁽²¹⁾

B. Resistencia farmacológica de *Klebsiella pneumoniae*

Las bacterias *Klebsiella spp.* son bacterias gramnegativas, que pertenecen a la familia de enterobacterias.⁽²³⁾ Tienen forma de bacilo, son fermentadoras de lactosa y se encuentran en la boca, piel e intestino humano.⁽²⁴⁾ Fueron descritas a mediados del año 1882 por Carl Friedlander al examinar pacientes fallecidos por neumonía.⁽⁵⁾ Según su genoma accesorio, pueden clasificarse en tipos: oportunistas, hipervirulentas, multiresistentes (MDR) y extremadamente resistentes (XDR).⁽²⁴⁾ Dentro de las infecciones que producen con frecuencia se destacan las infecciones del tracto respiratorio (neumonía), las infecciones del tracto urinario (ITU) y las infecciones del torrente sanguíneo.^(5,24) Se destaca que en hospitales las fuentes de transmisión son el contacto entre los trabajadores de la salud y los pacientes, las superficies y los instrumentos contaminados.⁽⁵⁾

Los factores de virulencia incluyen cápsula, lipopolisacárido, sideróforos y pili, entre otros. Se resalta la bomba eflujo para la resistencia antibiótica.⁽⁵⁾ Además, se ha asociado la formación de biopelículas como sistema de defensa en poblaciones extremadamente resistentes.^(24,25) Esta matriz de polisacárido impide la llegada de anticuerpos, del sistema de complemento y la fagocitosis a la bacteria.⁽²⁶⁾

-La cápsula de polisacárido es uno de los factores de virulencia más importantes.^(5,24) Sobre todo, en *Klebsiella pneumoniae* hipervirulenta.⁽²⁴⁾ Está compuesto por series de azúcares y ácidos urónicos.⁽⁵⁾

-Lipopolisacáridos (LPS), es un componente principal de la membrana celular. Suele mutar o cubrirse por la cápsula bacteriana para no ser reconocido por el sistema inmune humano.^(5,26)

-Sideróforos, también llamados hemóforos⁽²⁴⁾, son moléculas quelantes de hierro que es indispensable para el desarrollo y crecimiento bacteriano.⁽⁵⁾ Existen 4 proteínas ligadas a la absorción de hierro: enterobactina, yersiniabactin, salmochelin y aerobactin.⁽²⁴⁾

-Pili, son estructuras filamentosas cuya función es la adhesión a las células epiteliales e inmunitarias y como promotores de la formación de biopelículas.^(5,26)

-Las bombas de eflujo, asociadas a la resistencia antibiótica. Su función es expulsar agentes antimicrobianos externos (antibióticos) e internos (fluidos fisiológicos bactericidas) para la preservación bacteriana.^(5,24)

C. Vía de la L-ramnosa.

La glucosa-1-fosfato timidililtransferasa (RmlA) es la primera enzima en la ruta de formación del producto L-ramnosa.⁽¹⁸⁾ Pertenece al grupo de las transferasas de grupo fosfato y cataliza la reacción entre el trifosfato de timidina (dTTP) y la alfa-D-glucosa 1-fosfato, generando un grupo difosfato libre y dTDP-alfa-D-glucosa. Además, su pH óptimo está 6 - 8.5.⁽⁷⁾ La L-ramnosa es un azúcar que se encuentra en plantas y bacterias.⁽⁸⁾

Distintos estudios han reportado la presencia de esta enzima en diversas bacterias grampositivas como micobacterias y gramnegativas, contribuyendo en la formación de su pared bacteriana. Cabe resaltar que las rutas de la ramnosa no se encuentran en el ser humano, por lo que estudios farmacológicos podrían ser de relevancia por poca interacción con vías enzimáticas humanas.⁽⁸⁾

3. Estudios computacionales utilizados en la farmacología

Para el descubrimiento o desarrollo de un fármaco se requieren 2 etapas: *(i)* pre-clínica, donde se diseña; y *(ii)* clínica, donde se evalúa el fármaco in vitro, en animales y humanos a través de ensayos clínicos. En el contexto de los métodos computacionales los posibles fármacos actúan como ligandos frente a un sitio diana y se perfilan en el concepto de que compuestos con características similares pueden tener actividades similares. Para este

tipo de búsqueda existen métodos: (i) basados en screening virtual (*target fishing molecular*) para ubicar nuestra población en una base de datos y (ii) docking molecular, para medir el grado de acoplamiento proteína-ligando. ⁽¹⁴⁾

A. Screening virtual

Es un tipo de método computacional que consiste en evaluar bases de datos con estructuras químicas de interés farmacológico a modo de filtro con el fin de obtener un número razonable de compuestos cercanos al ligando buscado para la interacción. ⁽¹⁴⁾

B. Docking molecular

Es un tipo de método computacional que permite predecir la afinidad entre dos estructuras. En este caso una estructura rígida (proteína) y una estructura flexible (fármaco). La flexibilidad radica en las diferentes posiciones con las que puede interactuar con el sitio diana. Para ello, se hace uso de programas para realizar una adecuada búsqueda de afinidad según algoritmos y estimar un puntaje según su energía de acoplamiento. ⁽¹⁴⁾

C. Bases de datos usadas en estudios computacionales

-ZINC15: Base de datos gratuita de millones de estructuras químicas disponibles virtualmente para uso de biólogos, químicos o investigadores para estudios de biotecnología.

⁽²⁷⁾

-DRUGBANK: Base de datos de acceso gratuito que almacena información de todos los fármacos y blancos terapéuticos donde estos actúan, brinda información de la estructura, secuencia y formas de cómo actúan los fármacos además de cómo responden sitios diana enzimáticos frente a estos. ⁽²⁸⁾

-PUBCHEM: Base de datos químico para obtención de las características fisicoquímicas de las moléculas farmacológicas, además presenta información de las moléculas blanco donde ejercen actividad biológica. ⁽²⁹⁾

-ChEMBL: Base de datos de moléculas bioactivas curada de forma manual obteniendo

información acerca de actividades genómicas y propias de los fármacos.⁽³⁰⁾

-Protein Data Bank – PDB: Base de datos de proteínas y ácidos nucleicos en imagen tridimensional de uso público para estudiantes e investigadores. Está a cargo de *Worldwide Protein Data Bank*.⁽³¹⁾

D. Programas usados en estudios computacionales

-LiSICA: Programa cuyo objetivo es buscar similaridad entre un compuesto seleccionado frente a una base de datos de estructuras en formato Mol2, expresados según los coeficientes de Tanimoto. Dirigido a investigadores académicos.⁽³²⁾

-PYMOL: Programa tipo visor que permite observar moléculas de diferentes tamaños, sus trayectorias y generar movimientos moleculares.⁽³³⁾

-CHIMERA: Programa gratuito tipo visor que analiza estructuras moleculares y calcula posibles modos de unión con determinados ligandos.⁽³⁴⁾

-AUTODOCK VINA: Programa utilizado para realizar acoplamiento molecular computacional de manera avanzada. Se resalta por su precisión en comparación con programas análogos anteriormente utilizados.⁽³⁵⁾

-YASARATM: Programa que gráfica, modela y simula estructuras moleculares, con un sistema de interacción artificial.⁽³⁶⁾

-LiBELa: Programa computacional de interacción biomolecular a través del uso de simulaciones de Monte Carlo, con puntuaciones obtenidas en los cálculos de acoplamiento. Asimismo, permite realizar búsqueda de similaridad entre estructuras químicas.⁽³⁷⁾

III. Materiales y métodos

1. Diseño de estudio y contexto

Estudio observacional, transversal descriptivo, basándose en la caracterización de datos encontrados en un tiempo determinado ⁽³⁸⁾, en fase preclínica y de tipo *In silico*, por los métodos computacionales que utiliza⁽³⁹⁾. El estudio se realizó en la Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo, universidad privada ubicada en el departamento de Lambayeque, que ha adaptado sus actividades académicas a una modalidad virtual. En el contexto temporal el estudio abarcó el periodo de noviembre del 2021 hasta Septiembre del 2022, en la universidad mencionada.

2. Población

Estudio de tipo poblacional. Se tomaron en consideración todas las estructuras moleculares farmacológicas orgánicas de ZINC15 database, reuniendo un total aproximado de 14100 moléculas de sustancia activa entre las aprobadas y no aprobadas por la FDA - Food and Drug Administration (FDA y No-FDA), incorporadas hasta Julio de 2021.

Criterios de inclusión:

- (i) fármacos que han sido aprobados y no aprobados por la FDA
- (ii) moléculas que presentan una estructura similar al sustrato de la enzima Glucosa-1-Fosfato Timidilil Transferasa (RmlA).

Criterios de exclusión:

- (i) moléculas inorgánicas
- (ii) moléculas que se encuentren en proceso de desarrollo
- (iii) moléculas que no formen parte de investigaciones, asumidas por ZINC database.

3. Variables y procedimientos

a. Variables

-Similaridad sustrato-fármaco: Grado de semejanza estructural entre una molécula que representa el sustrato y una segunda molécula que representa el fármaco ⁽⁴⁰⁾

-Interacción fármaco-enzima: Grado de acoplamiento estructural entre dos moléculas, una que representa el fármaco y una segunda molécula que representa la enzima. ⁽⁴⁰⁾

-Interacción sustrato-enzima: Grado de acoplamiento estructural entre dos moléculas, una de ellas representa al sustrato y la segunda molécula que representa la enzima. ⁽⁴⁰⁾

b) Procedimiento

Búsqueda de la secuencia de aminoácidos de enzima Glucosa 1-fosfato Timidilil Transferasa (RmlA) de *Klebsiella pneumoniae*. Mediante la herramienta libre del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) conocida como *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST). Segundo, para la búsqueda de la estructura proteica de la enzima RmlA se realizó una búsqueda en la base de datos PDB, sin encontrar la estructura almacenada se tuvo que realizar el modelado molecular en base al porcentaje de identidad de la molécula.

i) Modelo tridimensional de la enzima Glucosa 1-fosfato Timidilil Transferasa (RmlA) de *Klebsiella pneumoniae*. Mediante el uso del programa libre AlphaFold 2.0 de la empresa DEEP MIND, se introdujo la secuencia de aminoácidos para RmlA de *K. pneumoniae*, el cual generó 5 modelos.

ii) Validación de modelo de RmlA

El mejor modelo anteriormente dado por AlphaFold 2.0, se sometió a

análisis por el programa SAVE 6.0 de la Universidad de California de Los Angeles (UCLA). El cual mediante sus herramientas ERRAT, VERIFY 3D, PROCHEK y PROVE, validaron el modelo.

iii) Similitud de fármaco-sustrato

Se obtuvieron los fármacos que estén aprobados y no aprobados por FDA de la base de datos ZINC15 (<https://zinc15.docking.org/>), el sustrato de RmlA obtenido a partir de la base de datos PDB. El proceso de similitud se dio por el uso del programa LiSICA⁽⁵⁶⁾ y LiBELA⁽⁶¹⁾.

iv) Acoplamiento molecular

El sustrato proteico de trifosfato de timidina (dTTP) fue tratado en YASARATM, donde se agregaron los hidrógenos faltantes, en seguida se realizó control de energía para obtener un modelo más estable. El modelo resultante se guardó con una extensión “.sce” para continuar con el acoplamiento de los fármacos aprobados y no aprobados por FDA. El acoplamiento molecular permitió las energías de interacción en Kcal/mol lo que ayudó a seleccionar a los 10 mejores modelos de los fármacos aprobados y no aprobados por FDA.

4. Aspectos éticos y financiamiento

Este estudio computacional correspondió a un análisis de grados de interacción entre moléculas orgánicas con una posible diana de la enzima de glucosa 1-fosfato timidilil transferasa (RmlA) de *Klebsiella pneumoniae*. Fue realizado respetando los principios bioéticos de autonomía, justicia, benevolencia y no maleficencia. La base de datos de estructuras moleculares farmacológicas está disponible de forma gratuita y con acceso público en la página web de ZINC database. Ninguno de los autores presentó conflictos de interés con empresas farmacéuticas.

IV.Resultados

Se modeló la estructura de la enzima RmlA de *Klebsiella pneumoniae* a través del programa Alphafold 2.0, resultando cinco modelos. Se eligió el de mejor valoración según el programa. Este modelo generó una estructura proteica cuaternaria, el modelo posee cuatro cadenas polipeptídicas, donde tienen una interacción de tipo polar (**Figura 01**). Posterior a ello, se realizó la validación por la herramienta SAVEv.6.0, para reconocimiento de las cadenas hélices α y de las hojas β . Además, se conoció la estereoquímica de los aminoácidos; resultados mostrados en la **Tabla 01**. De igual manera, se muestra la comparación entre la estructura modelada de *K. pneumoniae* con la estructura cristalográfica de *E. coli* (**Figura 2a**), donde solo se tomaron dos cadenas para la superposición de estructuras (**Figura 2b**).

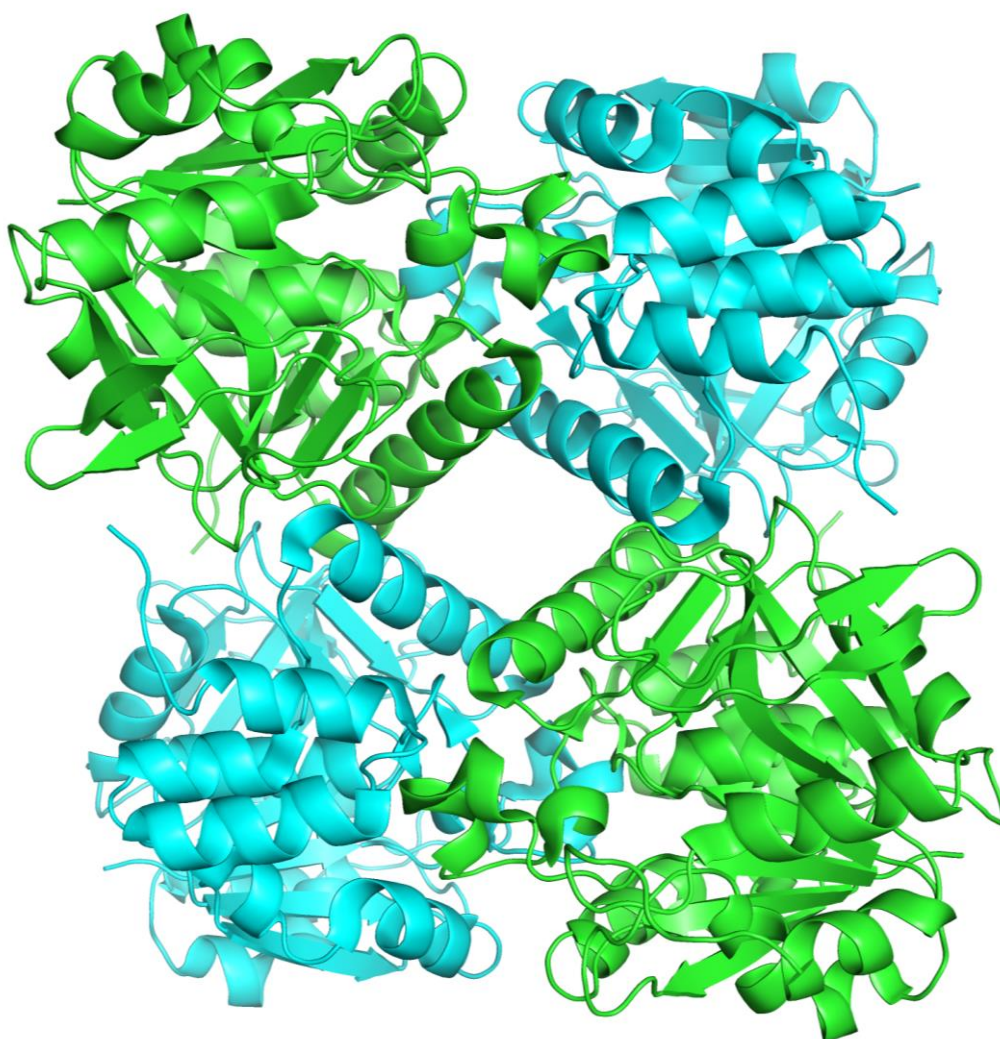


Figura 01. Estructura de la enzima RmlA de *K. pneumoniae*, modelada por Alpha Fold 2

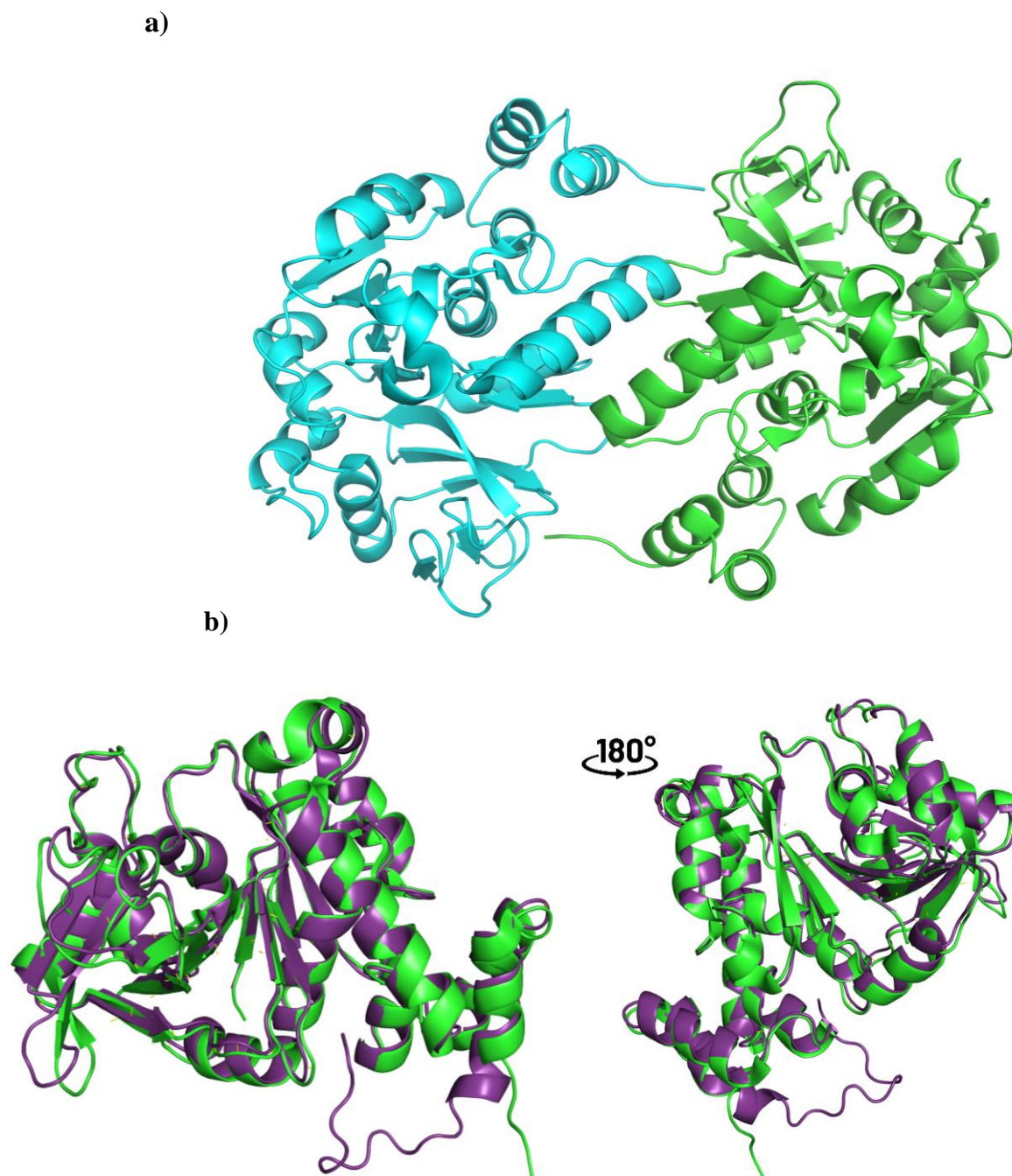


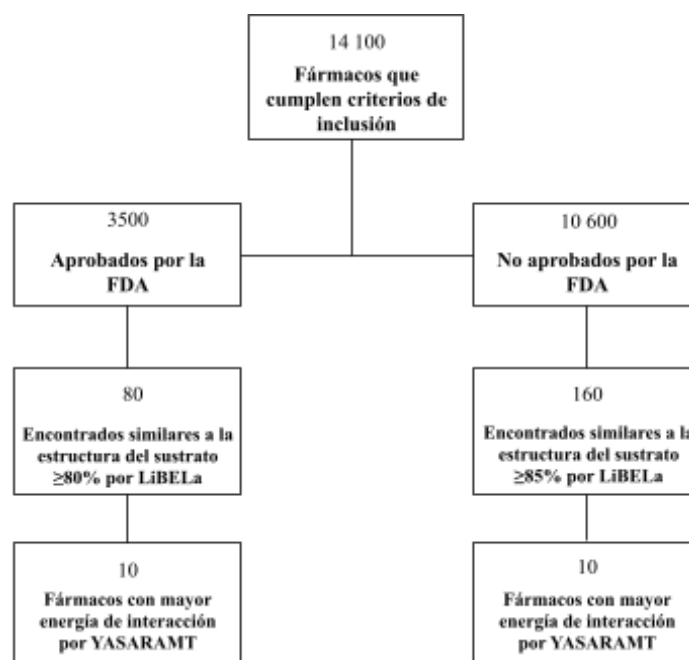
Figura 02. a) Estructura cristalográfica de la enzima RmlA de *E. coli* (cod. PDB 1MC3). b) Comparación por superposición de las estructuras cristalográficas de *E. coli* (verde) con la estructura modelada de *K. pneumoniae* (morado).

Tabla 01: Descripción de los datos de validación por SAVE v6.0

SAVE v6.0	RmlA
ERRAT (%)	97.22
VERIFY (%)	92.03
PROVE (z-score/z-RMS) (Å)	0.05/3.5
PROCHECK (%)	-0.13

Fuente: Información obtenida y adaptada de SAVE v6.0

A través del uso del programa LiBELa, se obtuvieron dos grupos de resultados sobre las comparaciones de similitud entre el sustrato de RmlA (dTTP-trifosfato de timidina) y los fármacos obtenidos a partir de las bases de datos ZINC 15 (clasificado como FDA y No FDA), cada uno de los programas usan sus propias metodologías de comparación. Con las listas de fármacos, se contrastaron resultados para obtener un total de 20 fármacos (10 aprobados por la FDA y 10 no aprobados por la FDA). Se tomó un porcentaje de 80% - 85% de similitud con el sustrato dttp como punto de corte para definir alta similitud estructural (**Figura 03**). En el **Anexo n°3**, se observa el código SMILE que representa la estructura química de cada ligando.

**Figura 03:** Esquema de selección de fármacos en el estudio in silico

Con respecto a los “*sitios pocket*” o sitios activos, se tomaron en consideración los residuos de literatura previa de la enzima en otras bacterias y los señalados por el modelaje de Alpha Fold 2.0, identificando los residuos R15, K25, D110, K162 y D225 como catalíticamente importantes. Además, se realizó el *docking molecular* a través del programa YASARAMT, donde se encontró la energía libre de interacción de los 20 fármacos seleccionados y se la comparó con la energía libre de interacción del sustrato enzimático. (Tabla 4 y 5). En el **Anexo n°4** se evidencia la interacción estructural en 2D, de cada fármaco con la enzima RmlA de *Klebsiella pneumoniae*.

Tabla 02: Tabla de comparación de resultados de docking para fármacos FDA, obtenidos por YASARAMT

Ligando	Energía libre de unión (kcal/mol)
dTTP	-222,357
Dolutegravir	97,170
Altol	95,650
Omeprazole	95,550
Bosulif	94,530
Sunitinib (*)	93,850
Donepezil	93,780
Cobimetinib	93,320
Sunitinib (*)	93,230
Betaxolol	91,470
Diosmetin	91,340

*Sunitinib presenta dos interacciones diferentes

Fuente: Información obtenida y adaptada de programa YASARAMT

En la **tabla 2**, se observa las energías libres de interacción de 10 fármacos aprobados por la FDA con mayor porcentaje de identidad al sustrato. Se resalta el fármaco Dolutegravir, un inhibidor de la enzima integrasa contra el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) ⁽⁴¹⁾ como de mayor energía de interacción (97.170). Entre otros fármacos seleccionados destacan: Bosulif (inhibidor de la tirosina quinasa utilizado en el tratamiento de Leucemia Mieloide Crónica) ⁽⁴²⁾, omeprazol (inhibidor de bomba de protones, utilizado en el tratamiento de Úlcera péptica) ⁽⁴³⁾, sunitinib (inhibidor de proteín-quinasa, utilizado en tratamiento de algunos cánceres) ⁽⁴⁴⁾, betaxolol (bloqueador de los receptores β_1 cardioselectivos) ⁽⁴⁵⁾, entre otros ligandos de menor uso cotidiano. Se resalta que cada uno de estos ligandos seleccionados no presentan actividad antibiótica de uso común, sino ejercen acción en enfermedades infecciosas y no infecciosas crónicas.

Tabla 03: Tabla de comparación de resultados de docking para fármacos no FDA, obtenidos por YASARAMT

Ligando	Energía libre de unión (kcal/mol)
dTTP	-222.357
Lufenuron	103,530
ZINC3872928 (*)	99,980
Dzn	99,920
ZINC3581056 (*)	99,150
Bevantolol	97,830
Mn-305	97,590
Bezafibrat	97,420
Prucalopride	97,060
Terizidone	96,990
Fenbufen	96,930

*Fármacos que no presentan nombre en base de datos ZINC 15
Fuente: Información obtenida y adaptada de programa YASARA

En la **tabla 3**, se observa las energías libres de interacción de 10 fármacos no aprobados por la FDA con mayor porcentaje de identidad al sustrato. Se reporta el fármaco Lufenuron como el de mayor interacción, sustancia actualmente utilizada como insecticida que interfiere la síntesis de quitina en insectos. ⁽⁴⁶⁾ También se resalta el Bevantolol, un fármaco candidato como antihipertensivo y anti anginoso. ⁽⁴⁷⁾

Finalmente, la **tabla 04** especifica los aminoácidos con los que la enzima realiza interacción con cada ligando farmacológico. Ello demuestra el sitio diana de regulación por acoplamiento molecular proporcionado por YASARAMT expuesto en estructura 2D.

Tabla 04: Aminoácidos de interacción de cada fármaco seleccionado

Fármaco	Aminoácidos de interacción
Dolutegravir	GLY 9 SER 10 GLY 11 THR 12 ARG 13 LYS 23 GLN 24 PRO 83 LEU 86 LEU 106 ASP 108 ASN 109 PHE 143 GLY 144 GLU 159 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 194 ILE 197 TRP 221 ASP 223
Altol	LEU 6 ALA 7 GLY 8 GLY 9 ARG 13 LYS 23 GLN 24 GLN 80 PRO 83 GLY 85 LEU 86 LEU 106 GLY 107 ASP 108 ASN 109 ARG 142 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 194 ILE 197 THR 198 TRP 221 ASP 223
Omeprazole	LEU 6 ALA 7 GLY 8 GLY 9 ARG 13 LYS 23 GLN 24 GLN 80 PRO 83 GLY 85 LEU 86 LEU 106 GLY 107 ASP 108 ASN 109 ARG 142 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 194 GLU 196 ILE 197 ASP 223
Bosulif	LEU 6 GLY 8 ARG 13 LYS 23 GLN 80 PRO 83 ASP 84 GLY 85 LEU 86 LEU 106 ASP 108 ASN 109 ARG 142 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 ILE 197 THR 198 TRP 221 ASP 223
Sunitinib	LEU 6 GLY 8 GLY 9 SER 10 GLY 11 THR 12 ARG 13 LYS 23 PRO 83 LEU 86 LEU 106 GLY 107 ASP 108 PHE 143 GLY 144 ASP 223

Donepezil	LEU 6 ALA 7 GLY 8 ARG 13 LYS 23 GLN 24 GLY 85 LEU 86 LEU 106 GLY 107 ASP 108 ASN 109 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 194 GLU 196 ILE 197 THR 198 TRP 221 ASP 223
Cobimetinib	LEU 6 ALA 7 GLY 8 GLY 9 LYS 23 GLN 24 GLN 80 PRO 83 ASP 84 GLY 85 LEU 86 LEU 106 GLY 107 ASP 108 ASN 109 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 ARG 192 GLU 194 GLU 196 TRP 221
Sunitinib	LEU 6 GLY 8 GLY 9 SER 10 GLY 11 ARG 13 LYS 23 PRO 83 LEU 86 LEU 106 GLY 107 ASP 108 ASN 109 PHE 143 GLY 144 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 194 TRP 221 ASP 223
Betaxolol	GLY 9 SER 10 THR 12 ARG 13 LYS 23 PRO 83 LEU 86 LEU 106 ASN 109 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 GLU 194 GLU 196 ILE 197 TRP 221 ASP 223
Diosmetin	LEU 6 GLY 8 ARG 13 LYS 23 GLN 24 GLN 80 PRO 83 ASP 84 GLY 85 LEU 86 LEU 106 ASP 108 ASN 109 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 196 ILE 197 THR 198 TRP 221 ASP 223 GLY 225
Lufenuron	LEU 6 GLY 8 GLY 9 LYS 23 GLN 80 PRO 83 ASP 84 GLY 85 LEU 86 LEU 106 ASP 108 ASN 109 ARG 142 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 194 GLU 196 ILE 197 THR 198 TRP 221 ASP 223
ZINC3872928	GLY 9 SER 10 GLY 11 THR 12 ARG 13 LYS 23 PRO 83 GLY 85 LEU 86 LEU 106 ASN 109 ARG 142 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 194 GLU 196 ILE 197 THR 198 TRP 221 ASP 223
Dzn	LEU 6 ALA 7 GLY 8 GLY 9 ARG 13 LYS 23 GLN 24 GLN 80 PRO 83 GLY 85 LEU 86 LEU 106 GLY 107 ASP 108 ASN 109 PHE 143 GLY 144 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 194 ILE 197 TRP 221 ASP 223
ZINC3581056	LEU 6 GLY 8 GLY 9 SER 10 GLY 11 THR 12 ARG 13 LYS 23 PRO 83 LEU 86 LEU 106 ASP 108 ASN 109 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 194 ILE 197 TRP 221 ASP 223
Bevantolol	GLY 9 SER 10 GLY 11 THR 12 ARG 13 LYS 23 PRO 83 GLY 85 LEU 86 LEU 106 ASN 109 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 194 ILE 197 THR 198 TRP 221 ASP 223
Mn-305	GLY 9 SER 10 GLY 11 THR 12 ARG 13 LYS 23 PRO 83 GLY 85 LEU 86 LEU 106 ASN 109 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 194 ILE 197 THR 198 TRP 221 ASP 223
Bezafibrat	LEU 6 GLY 8 GLY 9 LYS 23 GLN 80 PRO 83 ASP 84 GLY 85 LEU 86 LEU 106 ASP 108 ASN 109 ARG 142 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 194 GLU 196 TRP 221 ASP 223
Prucalopride	GLY 9 SER 10 GLY 11 THR 12 ARG 13 LYS 23 PRO 83 GLY 85 LEU 86 LEU 106 ASN 109 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 194 ILE 197 THR 198 TRP 221 ASP 223
Terizidone	GLY 9 SER 10 GLY 11 THR 12 ARG 13 LYS 23 PRO 83 GLY 85 LEU 86 LEU 106 ASN 109 ARG 142 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 194 ILE 197 THR 198 TRP 221 ASP 223
Fenbufen	GLY 9 SER 10 GLY 11 THR 12 ARG 13 LYS 23 PRO 83 LEU 86 LEU 106 ASN 109 ARG 142 PHE 143 GLY 144 GLU 159 LYS 160 VAL 170 THR 171 GLY 172 TYR 174 GLU 194 TRP 221 ASP 223

Fuente: Información obtenida y adaptada de programa YASARA

V. Discusión

En el estudio se identificó el modelo proteico de la enzima RmlA de *Klebsiella pneumoniae* generado por Alpha Fold 2.0, un tetrámero con dos cadenas alfa y dos betas (Figura 01). Las características estructurales muestran similitud con estructuras de enzimáticas proporcionadas por Alphey MS, et.al (2013) a través de su estudio *in silico* para RmlA en *Pseudomonas aeruginosa* y *Mycobacterium tuberculosis*, destacando sitios activos, sitios alostéricos, bucles y sitios de interacción en subunidades.⁽⁴⁸⁾ De la

misma manera Brown, et.al (2017) realizó un estudio en RmlA de *Mycobacterium tuberculosis* que concuerda con características de la arquitectura molecular propuesta de la estructura cuaternaria, sobre todo en el sitio activo en la interfaz de ambos dímeros.⁽⁴⁹⁾

En contraste con nuestra metodología computacional, Panda, et.al (2019) realizó un estudio *in silico* sobre el modelado de la enzima heptosyltransferase-III (HEP-III) como proteína diana para *Klebsiella spp.* y confronta sus sitios activos con posibles inhibidores utilizando energías libres de interacción. Esto conlleva a aplicar una metodología alterna a la utilizada en el presente trabajo adicionando la puntuación DOPE (Energía proteica optimizada), el programa de acoplamiento GOLD 3.2 y el uso de la función de puntuación *GoldScore* para las posiciones de acoplamiento.⁽⁵⁰⁾

En otros estudios de interacción farmacológica con esta enzima en otras bacterias, se encontró inhibidores alostéricos análogos de timina en RmlA de *Pseudomonas aeruginosa*.⁽⁴⁸⁾ Por otro lado, Harati, et.al (2015), evidenció interacciones de acoplamiento molecular entre RmlA - *Mycobacterium tuberculosis* y ligandos de Etambutol modificados.⁽⁵¹⁾ En comparación, en el presente estudio se encontró diferentes fármacos que podrían tener una estructura química potencialmente regulatoria con el sitio activo. No obstante, a la actualidad no hay evidencia a la fecha de estudios homólogos con RmlA de *Klebsiella pneumoniae* para establecer contraste con ligandos farmacológicos.

Dentro de los fármacos seleccionados, es preciso resaltar que no poseen función antibacteriana conocida. Sin embargo, a la revisión individual de ellos, se encontró estudios que respaldan cierta nueva acción contra estos microorganismos. Sun J, et.al (2023) presenta al betaxolol, un fármaco empleado en el tratamiento de Glaucoma como un inhibidor hidrolítico de beta-lactamasas, así como su capacidad de acoplamiento con el sitio activo de esta enzima y el sinergismo con Meropenem.⁽⁵²⁾ Liu S, et.al (2015) sugiere a la diosmetina como fármaco potencial para *Staphylococcus aureus*, actuando como inhibidor en este tipo de infección bacteriana.⁽⁵³⁾

Este estudio permite conocer la interacción de unión fármaco (ligando) con sitio activo de la enzima. No obstante, al ser un estudio realizado por computador, se obtuvo un resultado teórico computacional y se debe ser validado a través de la experimentación natural de la enzima y las estructuras químicas. Qu H, et.al (2007) y Hirmondó R, et.al (2022), mencionan lo indispensable de esta enzima para el crecimiento bacteriano y formación de pared celular en bacterias análogas^(19,54), por lo que es de vital importancia continuar el estudio a partir de los resultados encontrados para lograr su inhibición. También se debería extender la población a más bases de datos farmacológicas y ligandos en desarrollo para tener mayor representatividad en la selección. Finalmente, Panda et.al (2019) en su estudio utiliza programas computacionales análogos⁽⁵⁰⁾, por lo que el contraste con otros softwares de selección y acoplamiento sería ideal para generar mayor validez en el estudio.

VI. Conclusiones

Se encontró valores de energía libre de interacción para fármacos con el sitio enzimático de RmlA de *Klebsiella pneumoniae spp.* que varía entre 97,170 a 91,340 kcal/mol para fármacos FDA aprobados seleccionados y para no aprobados entre 103,530 a 96,930 kcal/mol, lo que indicaría un grado de interacción regulatorio con los sitios pocket de acción de la enzima.

Dentro de los fármacos aprobados por la FDA con alta energía libre de unión se encuentran: Dolutegravir (97.170), Altol (95.650), Omeprazole (95.550). Mientras entre los no aprobados por la FDA resaltan: Lefurionon (103.530), ZINC3872928 (99.980), Dzn (99.920).

Finalmente, se puede interpretar que al generar cambio o regulación enzimática por sus estructuras similares al sustrato trifosfato de timidina-dTTP y nivel de interacción alcanzado, podrían ser potenciales inhibidores enzimática a desarrollar en el campo laboratorial *in vivo*.

VII. Recomendaciones

Es necesario continuar con la valoración y estudio de estos fármacos en estudios laboratoriales para mejorar la propuesta de inhibición enzimática basada en los resultados presentados.

Se recomienda ampliar la lista de fármacos en otras bases de datos que podrían tener una interacción semejante o mayor a los resultados, considerando que solo trabajamos con una sola base de datos.

Finalmente, sería importante corroborar estos fármacos con otros medios computacionales para brindar mayor certeza de la interacción con los sitios activos enzimáticos y potencial regulación inhibitoria.

Referencias

- 1) Gonzales J, Maguiña C, Gonzalez F. La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. Acta Med Peru [internet]. 2019 [Consultado 25 Ago 2021]; 36(2):145-51. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172019000200011
- 2) Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antibióticos [internet]. Ginebra: Centro de prensa de la OMS; 2020 [Consultado 25 Ago 2021]. Disponible en :<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>
- 3) Organización Panamericana de la Salud. La resistencia antimicrobiana pone en riesgo la salud mundial [Internet]. Centro de prensa de la OPS. 2021 [Consultado

25 Ago 2021]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/noticias/3-3-2021-resistencia-antimicrobiana-pone-riesgo-salud-mundial>

- 4) Organización Mundial de la Salud. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos [internet]. Ginebra: Centro de Prensa de la OMS; 2017 [Consultado 25 Ago 2021]. Disponible en : <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- 5) Martin RM, Bachman MA. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol* [internet]. 2018 Jan 22 [Consultado 25 Ago 2021]; 8:4. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcimb.2018.00004/full>
- 6) Flórez J, Armijo J, Mediavilla A. En: Antibióticos B-lactámicos. Mediavilla A, . García-Lobo JM. *Farmacología Humana*. 6º ed. Barcelona: Elsevier-Masson; 2014.p. 967-989.
- 7) BRENDA [internet]. Información sobre EC 2.7.7.24 - glucosa-1-fosfato timidililtransferasa [internet]. Julio, 2020. Consultado 25 Ago 2021]. Disponible en : <https://www.brenda-enzymes.org/enzyme.php?ecno=2.7.7.24#INFORMACION%20GENERAL>
- 8) Giraud MF, Naismith JH. The rhamnose pathway. *Curr Opin Struct Biol* [internet]. 2000 Dec [Consultado 25 Ago 2021];10(6):687-96. Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11114506/>
- 9) Ministerio de Salud del Perú (MINSA). Plan Multisectorial para enfrentar la Resistencia a los Antimicrobianos 2019-2021. [internet]. 2019 [Consultado 25 Ago 2021]. Disponible en: <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/2399569/Plan%20Multisectorial%20para%20enfrentar%20la%20Resistencia%20a%20los%20Antimicrobianos%20>
- 10) Angles E., Huaranga J., Sacsquispe R., Pampa L. Panorama de las carbapenemasas en Perú. *Rev Panam Salud Publica* [internet]. 2020 [Consultado 25 Ago 2021]; 44:e61. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7498286/#B3>
- 11) Naomi Matsuoka A, Vargas M, Ymaña B, Soza G, Pons MJ. Resistencia a la colistina en cepas de *Klebsiella pneumoniae* multidrogorresistente del período 2015-2018 en un instituto materno perinatal de Lima, Perú. *Rev. perú. med. exp. salud publica* [Internet]. 2020 Oct [citado 2023 Mar 01]; 37(4): 716-720. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342020000400716&lng=es.

- 12) Quispe F, Ingaruca JO, Castro AM, Castro ML, Ccoicca FJ, Montalvo R, Prieto AA, Salvador FL. *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas en Perú: reporte de caso y discusión de la resistencia a los antimicrobianos. *Medwave*[internet].2018 [Consultado 25 Ago 2021];18(2):e7191. Disponible: <https://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/Estudios/Casos/7191.act>
- 13) Díaz R, Guerrero M, Carrillo R, Ventura R. Detección de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa en un hospital del norte del Perú. *Rev. Cuerpo Med. HNAAA* [internet].2020[Consultado 25 Ago 2021]; 13(3). Disponible en : <https://cmhnaaa.org.pe/ojs/index.php/rcmhnaaa/article/view/742/362>
- 14) Arcón JP. Determinantes moleculares de la interacción droga-proteína: uso de cosolventes como moléculas de prueba. *Repositorio Institucional CONICET Digital* [Internet]. 2018 [Consultado 25 Ago 2021]. Disponible en : <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/83587>
- 15) Font Mate C. Modelado molecular como herramienta para el descubrimiento de nuevos fármacos que interaccionan con proteínas. *Repositorio de Universidad Complutense de Madrid* [internet].2017 [Consultado 25 Ago 2021]. Disponible en : <https://eprints.ucm.es/id/eprint/56187/>
- 16) Perez J. Trabajo fin de grado: el modelado molecular como herramienta para el descubrimiento de nuevos fármacos que interaccionan con proteínas (teórico-práctico). *Repositorio de Universidad Complutense de Madrid* [Internet].2019[Consultado 25 Ago 2021]. Disponible en : <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/JAVIER%20PEREZ%20DIAS.pdf>
- 17) Valdiviezo J. La Era Digital en la Química Farmacéutica: Transformando el Diseño de Medicamentos con Métodos Computacionales. *Rev Quim* [Internet]. 2023;37(2):11–20. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.18800/quimica.202302.002>
- 18) Blankenfeldt W, Asuncion M, Lam JS, Naismith JH. The structural basis of the catalytic mechanism and regulation of glucose-1-phosphate thymidyltransferase (RmlA). *EMBO J*. 2000 Dec 15 [Consultado 25 Ago 2021];19(24):6652-63. Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11118200/>
- 19) Qu H, Xin Y, Dong X, Ma Y. An rmlA gene encoding d-glucose-1-phosphate thymidyltransferase is essential for mycobacterial growth. *FEMS Microbiol Lett*. 2007 Oct[Consultado 25 Ago 2021];275(2):237-43. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17784859>
- 20) Partridge SR. Resistance mechanisms in Enterobacteriaceae. *Pathology*. 2015 Apr[internet][Consultado 25 Ago 2021];47(3):276-84. Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25764207/>

- 21) Logan LK, Weinstein RA. The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: The Impact and Evolution of a Global Menace. *J Infect Dis*[internet]. 2017 Feb 15[Consultado 25 Ago 2021];215:S28-S36. Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28375512/>
- 22) Suay-García B, Pérez-Gracia MT. Present and Future of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) Infections. *Antibiotics* [internet]. 2019 Aug 19 [Consultado 25 Ago 2021];8(3):122. Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31430964/>
- 23) Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. *Microbiología Médica. Enterobacteriaceae*. 8ª ed. España : Elsevier; 2016.p.251-264.
- 24) Li B, Zhao Y, Liu C, Chen Z, Zhou D. Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. *Future Microbiol* [internet]. 2014 [Consultado 25 Ago 2021];9(9):1071-81. Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25340836/>
- 25) Vuotto C, Longo F, Pascolini C, Donelli G, Balice MP, Libori MF, Tiracchia V, Salvia A, Varaldo PE. Biofilm formation and antibiotic resistance in *Klebsiella pneumoniae* urinary strains [internet]. *J Appl Microbiol*. 2017 Oct [Consultado 25 Ago 2021];123(4):1003-1018. Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28731269/>
- 26) Wang G, Zhao G, Chao X, Xie L, Wang H. The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae* [internet]. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Aug 28 [Consultado 25 Ago 2021];17(17):6278. Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32872324/>
- 27) Irwin JJ, Shoichet BK. ZINC a free database of commercially available compounds for virtual screening. *J Chem Inf Model*. 2005 Jan-Feb [Consultado 25 Ago 2021];45(1):177-82. Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15667143/>
- 28) Wishart DS, Feunang YD, Guo AC, Lo EJ, Marcu A, Grant JR, Sajed T, Johnson D, Li C, Sayeeda Z, Assempour N, Iynkkaran I, Liu Y, Maciejewski A, Gale N, Wilson A, Chin L, Cummings R, Le D, Pon A, Knox C, Wilson M. DrugBank 5.0: una actualización importante de la base de datos de DrugBank para 2018 [internet]. *Nucleic Acids Res*. 8 de noviembre de 2017. [Consultado 25 Ago 2021] Disponible en : <https://go.drugbank.com/about>
- 29) Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, Li Q, Shoemaker BA, Thiessen PA, Yu B, Zaslavsky L, Zhang J, Bolton EE. PubChem 2023 update. *Nucleic Acids Res*. 2023 Jan 6;51(D1):D1373-D1380. Disponible en : <https://pubchemdocs.ncbi.nlm.nih.gov/citation-guidelines>
- 30) Gaulton A, Hersey A, Nowotka M, Bento AP, Chambers J, Mendez D, Mutowo

- P, Atkinson F, Bellis LJ, Cibrián-Uhalte E, Davies M, Dedman N, Karlsson A, Magariños MP, Overington JP, Papadatos G, Smit I, Leach AR. The ChEMBL database in 2017.[internet] *Nucleic Acids Res.*, 45(D1) D945-D954.[Consultado 25 Ago 2021] Disponible en: <https://chembl.gitbook.io/chembl-interface-documentation/frequently-asked-questions/general-questions#the-publications-used-to-cite-chembl-are>
- 31) Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H, Shindyalov IN, Bourne PE. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Res*[internet]. 2000 Jan 1[Consultado 25 Ago 2021];28(1):235-42. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10592235/>
- 32) Lešnik S, Štular T, Brus B, Knez D, Gobec S, Janežič D, Konc J. LiSiCA: A Programa for Ligand-Based Virtual Screening and Its Application for the Discovery of Butyrylcholinesterase Inhibitors[internet]. *J Chem Inf Model.* 2015 Aug 24[Consultado 25 Ago 2021];55(8):1521-8. Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26158767/>
- 33) Seeliger D, de Groot BL. Ligand docking and binding site analysis with PyMOL and Autodock/Vina[internet]. *J Comput Aided Mol Des.* 2010 May[Consultado 25 Ago 2021];24(5):417-22. Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20401516/>
- 34) Pettersen EF, Goddard TD, Huang CC, Couch GS, Greenblatt DM, Meng EC, Ferrin TE. UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis[internet]. *J Comput Chem.* 2004 Oct[Consultado 25 Ago 2021];25(13):1605-12. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15264254/>
- 35) Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading[internet]. *J Comput Chem.* 2010 Jan 30[Consultado 25 Ago 2021];31(2):455-61. Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19499576/>
- 36) Land, H., Humble, MS (2018). YASARA: una herramienta para obtener orientación estructural en investigaciones biocatalíticas. En: Bornscheuer, U., Höhne, M. (eds) *Ingeniería de proteínas. Methods in Molecular Biology*, vol 1685. Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7366-8_4
- 37) De Souza JV, Nogueira VHR, Nascimento AS. Ligand binding free energy evaluation by Monte Carlo Recursion. *Comput Biol Chem* [Internet]. 2023;103(107830):107830. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S147692712300021X>
- 38) Veiga de Cabo J, Fuente Díez E, Zimmermann Verdejo M. Modelos de estudios en investigación aplicada: conceptos y criterios para el diseño. *Med. Secur. Trab.* [Internet]. 2008 Mar [citado 2023 Dic 30] ; 54(210): 81-88. Disponible en:

http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0465-546X2008000100011&lng=es

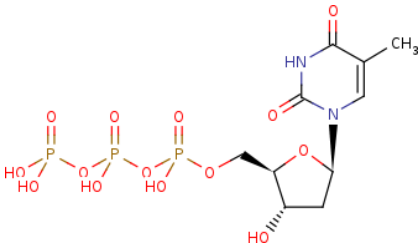

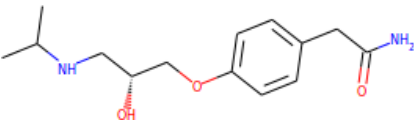
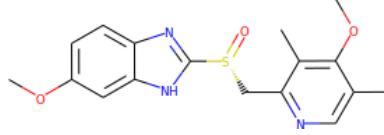
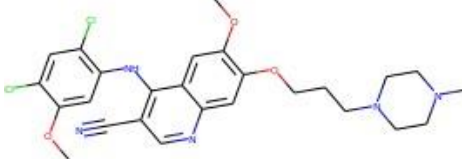
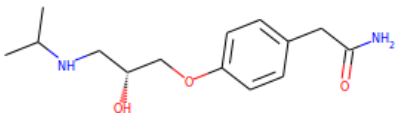
- 39) Vargas A, Fuentes R. Estudios in Silico, Simulando Vida en un Entorno Virtual. *Gac Med Bol* [Internet]. 2021 [citado 2023 Dic 30]; 44(2): 278-279. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662021000200278&lng=es.
- 40) Medina JL., Fernández E, Naveja JJ. Avances en el diseño de fármacos asistido por computadora. *Educ. quím* [revista en la Internet]. 2015 [citado 2024 Feb 06]; 26(3): 180-186. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-893X2015000300180&lng=es.
- 41) Perales J, Navarro H, López A, Abad B, Pascual O. Atención Farmaceutica al paciente VIH en tratamiento con Dolutegravir y Lamivudina. *Pharm Care Esp*. [Internet]. 2023 Abr [citado 2024 Feb 04]; 25(2): 22-33. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2794-11402023000200003&lng=es.
- 42) Hochhaus A, Baccarani M, Silver RT, Schiffer C, Apperley JF, Cervantes F, Clark RE, Cortes JE, Deininger MW, Guilhot F, Hjorth-Hansen H, Hughes TP, Janssen JJWM, Kantarjian HM, Kim DW, Larson RA, Lipton JH, Mahon FX, Mayer J, Nicolini F, Niederwieser D, Pane F, Radich JP, Rea D, Richter J, Rosti G, Rousselot P, Saglio G, Saußebe S, Soverini S, Steegmann JL, Turkina A, Zaritskey A, Hehlmann R. European LeukemiaNet 2020 recommendations for treating chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2020 Apr [citado 2024 Feb 04]; 34(4):966-984. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32127639/>.
- 43) Qi Q, Wang R, Liu L, Zhao F, Wang S. Comparative effectiveness and tolerability of esomeprazole and omeprazole in gastro-esophageal reflux disease: A systematic review and meta-analysis. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2015 Oct [citado 2024 Feb 04]; 53(10):803-10. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26329348/>.
- 44) Ferrari SM, Centanni M, Virili C, Miccoli M, Ferrari P, Ruffilli I, Ragusa F, Antonelli A, Fallahi P. Sunitinib in the Treatment of Thyroid Cancer. *Curr Med Chem*. 2019 [citado 2024 Feb 04]; 26(6):963-972. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28990511/>.
- 45) Al-Wadei MJ, Bakheit AH, Abdel-Aziz AA, Wani TA. Betaxolol: A comprehensive profile. *Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol*. 2021 [citado 2023 Feb 04]; 46:91-136. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33461701/>.
- 46) Lv H, Ling S, Guo Z, Zheng C, Ma H, Li J, Ma K. Effects of lufenuron treatments

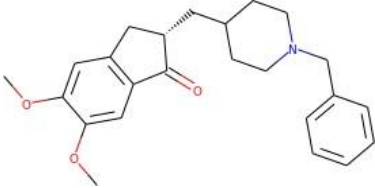
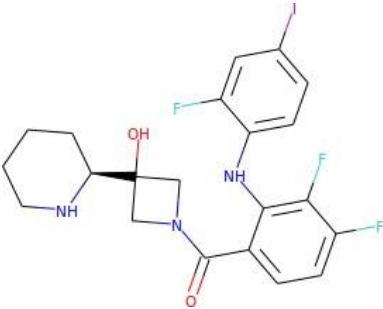
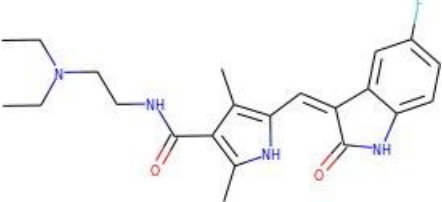
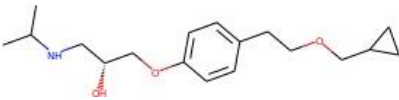
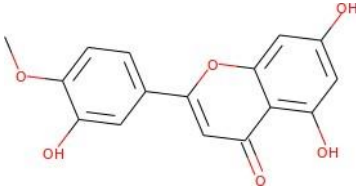
- on the growth and development of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2023 Jan[citado 2024 Feb 04];263:109499. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36336329/>.
- 47) Vaughan Williams EM. Bevantolol: a beta-1 adrenoceptor antagonist with unique additional actions. *J Clin Pharmacol*. 1987 Jul [citado 2024 Feb 04];27(7):450-60. Disponible en: <https://accp1.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/j.1552-4604.1987.tb03049.x>
- 48) Alphey MS, Pirrie L, Torrie LS, Boulkeroua WA, Gardiner M, Sarkar A, Maringer M, Oehlmann W, Brenk R, Scherman MS, McNeil M, Rejzek M, Field RA, Singh M, Gray D, Westwood NJ, Naismith JH. Allosteric competitive inhibitors of the glucose-1-phosphate thymidyltransferase (RmlA) from *Pseudomonas aeruginosa*. *ACS Chem Biol* [internet]. 2013 Feb 15 [Consultado 25 Ago 2021];8(2):387-96. Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23138692/>
- 49) Brown HA, Thoden JB, Tipton PA, Holden HM. The structure of glucose-1-phosphate thymidyltransferase from *Mycobacterium tuberculosis* reveals the location of an essential magnesium ion in the RmlA-type enzymes. *Protein Sci*[internet]. 2018 Feb [Consultado 25 Ago 2021] ;27(2):441-450.Disponible: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29076563/>
- 50) Panda SK, Saxena S, Guruprasad L. Homology modeling, docking and structure-based virtual screening for new inhibitor identification of *Klebsiella pneumoniae* heptosyltransferase-III. *J Biomol Struct Dyn*. 2020 Apr[Consultado 25 Ago 2021];38(7):1887-1902.Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31179839/>
- 51) Harathi N, Pulaganti M, Anuradha CM, Kumar Chitta S. Inhibition of *Mycobacterium*-RmlA by Molecular Modeling, Dynamics Simulation, and Docking. *Adv Bioinformatics*. 2016[Consultado 25 Ago 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26981117/>.
- 52) Sun J, Ren S, Yang Y, Li X, Zhang X. Betaxolol as a Potent Inhibitor of NDM-1-Positive *E. coli* That Synergistically Enhances the Anti-Inflammatory Effect in Combination with Meropenem. *Int J Mol Sci*. 2023 Aug 29[Consultado 04 Feb 2024].;24(17):13399. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37686201/>.
- 53) Liu S, Zhou X, Li W, Zhang H, Zhang B, Li G, Liu B, Deng X, Peng L. Diosmetin inhibits the expression of alpha-hemolysin in *Staphylococcus aureus*. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2015 Aug[Consultado 04 Feb 2024];108(2):383-9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26021482/>.

- 54) Hirmondó R, Horváth Á, Molnár D, Török G, Nguyen L, Tóth J. The effects of mycobacterial RmlA perturbation on cellular dNTP pool, cell morphology, and replication stress in *Mycobacterium smegmatis*. *PLoS One*. 2022 Feb 24[Consultado 04 Feb 2024];17(2). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35202428/>

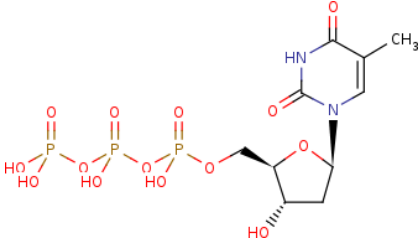
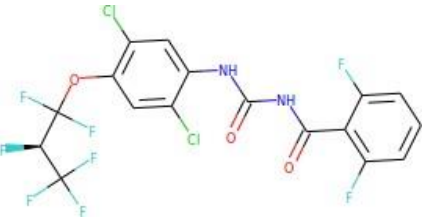
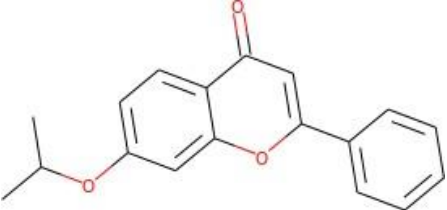
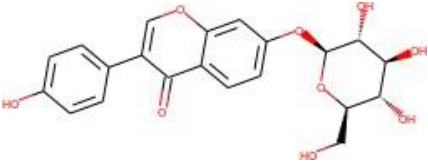
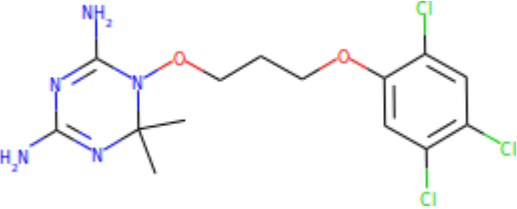
ANEXOS

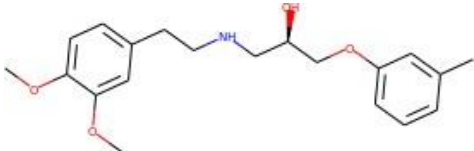
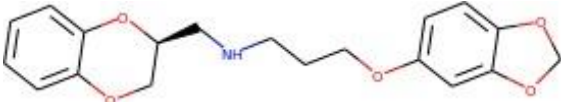
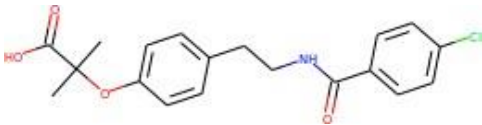
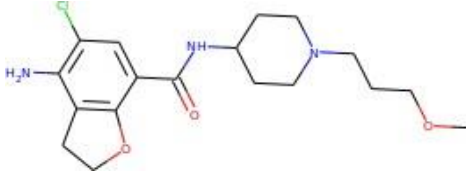
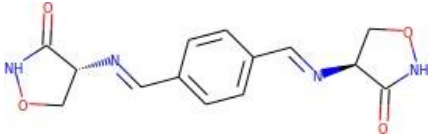
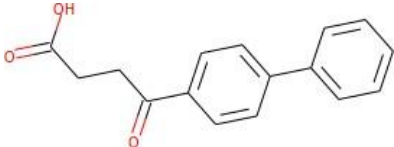
Anexo N°1. Estructuras en 2D de sustrato y fármacos aprobados por la FDA y seleccionados por su energía libre de interacción.

Ligando	Estructura 2D
dTTP	
Dolutegravir	
Altol	
Omeprazole	
Bosulif	
Sunitinib	

Donepezil	 <p>The chemical structure of Donepezil features a central indole ring system. The indole ring is substituted with two methoxy groups (-OCH₃) at the 6 and 7 positions. At the 3-position, there is a carbonyl group (-C(=O)-) which is linked to a piperidine ring. The piperidine ring is further substituted with a benzyl group (-CH₂-C₆H₅) at the 4-position.</p>
Cobimetinib	 <p>The chemical structure of Cobimetinib consists of a central pyrrolidine ring. One carbon of the pyrrolidine ring is substituted with a hydroxyl group (-OH) and a piperidine ring. The nitrogen of the pyrrolidine ring is part of an amide linkage (-C(=O)-NH-) to a benzene ring. This benzene ring is substituted with two fluorine atoms (-F) at the 2 and 6 positions and an amino group (-NH-) at the 4-position, which is further linked to another benzene ring. This second benzene ring has a fluorine atom (-F) at the 3-position and a chlorine atom (-Cl) at the 5-position.</p>
Sunitinib	 <p>The chemical structure of Sunitinib features a central benzimidazole ring system. The benzimidazole ring is substituted with two methyl groups (-CH₃) at the 2 and 6 positions. At the 4-position, there is a carbonyl group (-C(=O)-) which is linked to a diethylaminoethyl chain (-CH₂-CH₂-N(CH₂CH₃)₂). At the 5-position, there is a methylene group (-CH₂-) which is linked to another benzimidazole ring. This second benzimidazole ring is substituted with a fluorine atom (-F) at the 6-position and a carbonyl group (-C(=O)-) at the 2-position.</p>
Betaxolol	 <p>The chemical structure of Betaxolol consists of a central benzene ring. The benzene ring is substituted with a hydroxyl group (-OH) at the 1-position, a propylamino group (-CH₂-CH₂-NH-CH(CH₃)₂) at the 3-position, and a propyl chain (-CH₂-CH₂-CH₂-) at the 4-position. The propyl chain is further substituted with a cyclopropyl ring at the end.</p>
Diosmetin	 <p>The chemical structure of Diosmetin features a central coumarin ring system. The coumarin ring is substituted with a hydroxyl group (-OH) at the 7-position and a carbonyl group (-C(=O)-) at the 2-position. At the 3-position, there is a methylene group (-CH₂-) which is linked to another benzene ring. This second benzene ring is substituted with a methoxy group (-OCH₃) at the 4-position and a hydroxyl group (-OH) at the 5-position.</p>

Anexo N°2. Estructuras en 2D de sustrato y fármacos no aprobados por la FDA y seleccionados por su energía libre de interacción.



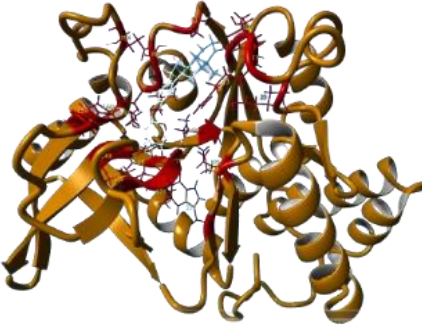

Ligando	Estructura 2D
dTTP	
Lufenuron	
ZINC3872928	
Dzn	
ZINC3581056	


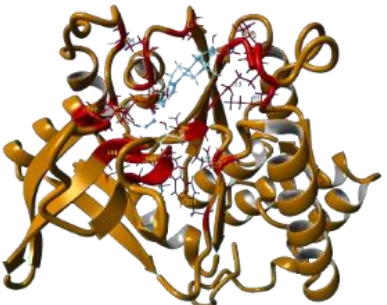
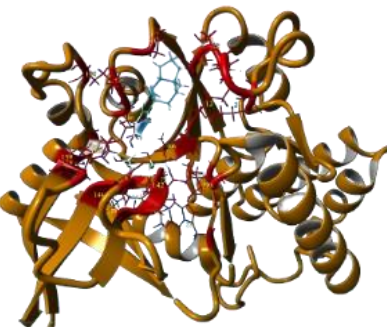
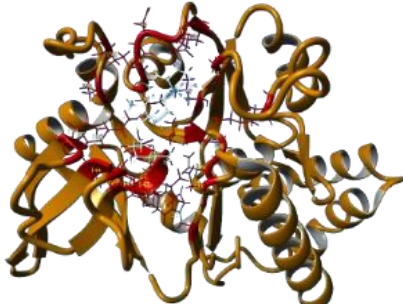
Bevantolol	 <p>The chemical structure of Bevantolol consists of a 3,4-dimethoxyphenyl ring connected via a two-carbon ethyl chain to a secondary amine. This amine is further connected to a chiral center (marked with a red wedge) which is bonded to a hydrogen atom and a 1-(4-methylphenoxy)ethyl group.</p>
Mn-305	 <p>The chemical structure of Mn-305 features two 2,3-dihydrobenzofuran rings. Each ring is connected at its 2-position to a methylene group, which is in turn connected to a secondary amine. The amine is further linked to a propyl chain that terminates in an ether linkage to the 4-position of the second benzofuran ring.</p>
Bezafibrat	 <p>The chemical structure of Bezafibrat is a symmetrical molecule. It features a central secondary amine connected to two 4-(2-(4-oxo-2,2-dimethylbutanoxy)phenoxy)phenyl groups. One of the phenoxy groups is highlighted in red, and the other in green.</p>
Prucalopride	 <p>The chemical structure of Prucalopride consists of a 5-chloro-2-amino-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline ring system. This is connected via a carbonyl group to a secondary amine, which is further linked to a piperidine ring. The piperidine ring is substituted with a propyl chain ending in a methoxy group.</p>
Terizidone	 <p>The chemical structure of Terizidone is a symmetrical molecule. It features two 2-oxo-1,2,3,4-tetrahydro-1H-imidazole-5-carboxamide rings. Each ring is connected at its 5-position to a methylene group, which is in turn connected to a central benzene ring via a double bond.</p>
Fenbufen	 <p>The chemical structure of Fenbufen consists of a central benzene ring substituted at the para position with a phenyl ring and at the other para position with a propyl chain. The propyl chain is terminated by a carboxylic acid group.</p>



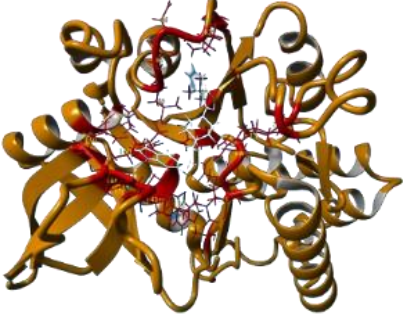
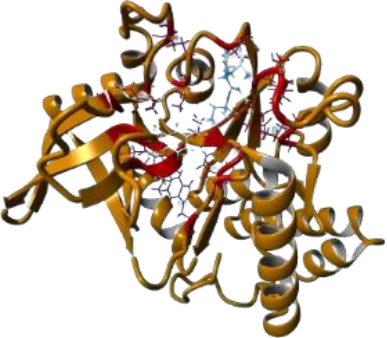
Anexo n°3: Código SMILE de fármacos de FDA y no FDA

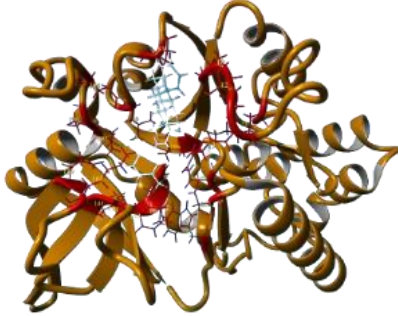
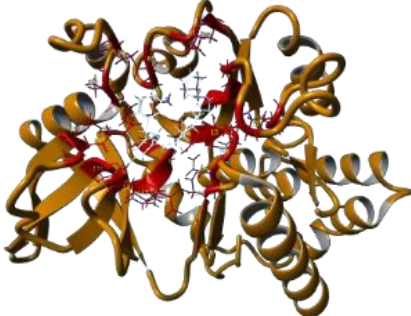

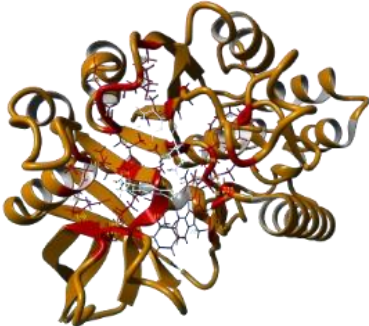
Fármacos	Código SMILE
Dolutegravir	<chem>C[C@@H]1CCO[C@H]2Cn3cc(C(=O)NCc4ccc(F)cc4F)c(=O)c(O)c3C(=O)N21</chem>
Altol	<chem>CC(C)NC[C@@H](O)COc1ccc(CC(N)=O)cc1</chem>
Omeprazole	<chem>COc1ccc2nc([S@](=O)C)cc3ncc(C)c(OC)c3C)[nH]c2c1</chem>
Bosulif	<chem>COc1cc(Nc2c(C#N)cnc3cc(OCCCN4CCN(C)CC4)c(OC)cc23)c(Cl)cc1Cl</chem>
Sunitinib	<chem>CCN(CC)CCNC(=O)c1c(C)[nH]c(/C=C2\C(=O)Nc3ccc(F)cc32)c1C</chem>
Donepezil	<chem>COc1cc2c(cc1OC)C(=O)[C@@H](CC1CCN(Cc3ccccc3)CC1)C2</chem>
Cobimetinib	<chem>O=C(c1ccc(F)c(F)c1Nc1ccc(I)cc1F)N1CC(O)([C@@H]2CCCCN2)C1</chem>
Betaxolol	<chem>CC(C)NC[C@@H](O)COc1ccc(CCOCC2CC2)cc1</chem>
Diosmetin	<chem>COc1ccc(-c2cc(=O)c3c(O)cc(O)cc3o2)cc1O</chem>
Lufenuron	<chem>O=C(NC(=O)c1c(F)cccc1F)Nc1cc(Cl)c(OC(F)(F)[C@H](F)C(F)(F)F)cc1Cl</chem>
ZINC3872928	<chem>CC(C)Oc1ccc2c(=O)cc(-c3ccccc3)oc2c1</chem>
Dzn	<chem>O=c1c(-c2ccc(O)cc2)coc2cc(O[C@@H]3O[C@H](CO)[C@@H](O)[C@H](O)[C@H]3O)ccc12</chem>
ZINC3581056	<chem>CC1(C)N=C(N)N=C(N)N1OCCCOc1cc(Cl)c(Cl)cc1Cl</chem>
Bevantolol	<chem>COc1ccc(CCNC[C@@H](O)COc2cccc(C)c2)cc1OC</chem>
Mn-305	<chem>c1ccc2c(c1)OC[C@H](CNCCCOc1ccc3c(c1)OCO3)O2</chem>
Bezafibrat	<chem>CC(C)(Oc1ccc(CCNC(=O)c2ccc(Cl)cc2)cc1)C(=O)O</chem>
Prucalopride	<chem>COCCCN1CCC(NC(=O)c2cc(Cl)c(N)c3c2OCC3)CC1</chem>
Terizidone	<chem>O=C1NOC[C@@H]1/N=C/c1ccc(/C=N/[C@@H]2CONC2=O)cc1</chem>
Fenbufen	<chem>O=C(O)CCC(=O)c1ccc(-c2ccccc2)cc1</chem>

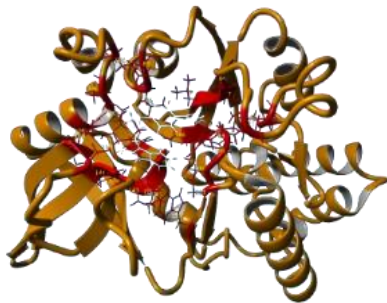

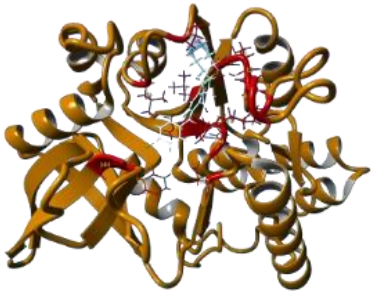
Anexo N° 4. Interacción de los 10 fármacos seleccionados aprobados y no aprobados por laFDA con estructura enzimática modelada.

Fármaco	Interacción en Estructura 2D
Dzn	
Prucalopride	
Bevantolol	
ZINC3581056	

Lufenuron	
Mn-305	
Terizidone	
Bezafibrat	

Fenbufen	 A 3D ribbon diagram of a protein structure, colored in shades of yellow and orange. A red and white ball-and-stick model of the Fenbufen molecule is shown bound within the protein's active site.
ZINC3872928	 A 3D ribbon diagram of a protein structure, colored in shades of yellow and orange. A red and white ball-and-stick model of the ZINC3872928 molecule is shown bound within the protein's active site.
Bosulif	 A 3D ribbon diagram of a protein structure, colored in shades of yellow and orange. A red and white ball-and-stick model of the Bosulif molecule is shown bound within the protein's active site.
Dolutegravir	 A 3D ribbon diagram of a protein structure, colored in shades of yellow and orange. A red and white ball-and-stick model of the Dolutegravir molecule is shown bound within the protein's active site.

Betaxolol	 A 3D ribbon diagram showing the protein structure in yellow and orange, with the Betaxolol molecule (stick representation) bound in the center. The molecule is shown in a stick representation with carbon atoms in grey, oxygen in red, and nitrogen in blue.
Omeprazole	 A 3D ribbon diagram showing the protein structure in yellow and orange, with the Omeprazole molecule (stick representation) bound in the center. The molecule is shown in a stick representation with carbon atoms in grey, oxygen in red, and nitrogen in blue.
Cobimetinib	 A 3D ribbon diagram showing the protein structure in yellow and orange, with the Cobimetinib molecule (stick representation) bound in the center. The molecule is shown in a stick representation with carbon atoms in grey, oxygen in red, and nitrogen in blue.
Diosmetin	 A 3D ribbon diagram showing the protein structure in yellow and orange, with the Diosmetin molecule (stick representation) bound in the center. The molecule is shown in a stick representation with carbon atoms in grey, oxygen in red, and nitrogen in blue.

Donepezil	 A 3D ribbon diagram of a protein structure, colored in shades of yellow and orange. A red and white ball-and-stick model of the Donepezil molecule is bound to the protein's active site.
Altol	 A 3D ribbon diagram of a protein structure, colored in shades of yellow and orange. A red and white ball-and-stick model of the Altol molecule is bound to the protein's active site.
Sunitinib	 A 3D ribbon diagram of a protein structure, colored in shades of yellow and orange. A red and white ball-and-stick model of the Sunitinib molecule is bound to the protein's active site.