

TRABAJO FINAL DE MASTER

ESTUDIO COMPUTACIONAL DE POSIBLES INHIBIDORES DEL LIGANDO PD-L1

Autor: Luis Abenia Artigas

Tutor (director): Pedro Miguel Carda Usó

Tutora (directora): Raquel Castillo Solsona

MÁSTER EN QUÍMICA APLICADA Y FARMACOLOGÍA

CURSO 2020/2021

RESUMEN:

El cáncer sigue suponiendo un gran problema en la sociedad, siendo una de las principales causas de muerte en España y en todo el mundo. Las investigaciones en torno al tratamiento de esta enfermedad buscan nuevas estrategias más innovadoras y que muestren mayor eficiencia con menores perjuicios. Entre las estrategias más prometedoras, la inmunoterapia es una de las favoritas. El sistema inmunológico del cuerpo humano es capaz de eliminar las células que producen el cáncer, pero los mecanismos de los tumores lo desactivan. Uno de estos mecanismos es la ruta PD-1/PD-L1. Esta ruta funciona de forma natural como regulador para evitar respuestas autoinmunes. Las células tumorales aprovechan este tipo de rutas para bloquear los mecanismos inmunitarios que pudieran eliminarlas. El desarrollo de inhibidores de la ruta PD-1/PD-L1 juegan un papel importante dentro del progreso de la inmunoterapia. Entre las estrategias utilizadas para el diseño de estos fármacos se encuentra la Química Computacional. Esta rama de la química utiliza simulaciones por ordenador para estudiar las propiedades atómicas, reduciendo el tiempo y los recursos necesarios para el descubrimiento de nuevos fármacos. La Mecánica Molecular (MM) utiliza aproximaciones clásicas para la resolución de los cálculos necesarios. Este método entiende a los átomos como esferas con carga parcial en un espacio concreto y unidas entre sí mediante muelles teóricos, esta aproximación no considera a los electrones de los átomos, lo que reduce mucho la dificultad de los cálculos. Este método por sí solo no es suficiente, es solo una herramienta para construir la simulación. El núcleo de este trabajo es la Dinámica Molecular (MD), la cual otorga libertad a los átomos de un sistema para que evolucionen a posiciones de mínima energía más estables. El objetivo final de estos métodos es obtener datos sobre el desplazamiento de las moléculas y, mediante un análisis visual del entorno, sacar conclusiones sobre la estabilidad de estas.

SUMMARY:

Cancer continues to be a major problem in society, being one of the main causes of death in Spain and throughout the world. Research into the treatment of this disease is looking for new, more innovative strategies that show greater efficiency with less harm. Among the most promising strategies, immunotherapy is one of the favourites. The human body's immune system is capable of eliminating cancer-causing cells, but tumour mechanisms disable it. One such mechanism is the PD-1/PD-L1 pathway. This pathway naturally functions as a regulator to prevent autoimmune responses. Tumour cells take advantage of this type of pathway to block immune mechanisms that could eliminate them. The development of PD-1/PD-L1 pathway inhibitors plays an important role in advancing immunotherapy. Among the strategies used to design these drugs is computational chemistry. This branch of chemistry uses computer simulations to study atomic properties, reducing the time and resources needed for drug discovery. Molecular Mechanics (MM) uses classical approaches to solve the necessary calculations. This method understands atoms as partially charged spheres in a specific space and bound together by theoretical springs. This approach does not consider the electrons in the atoms, which greatly reduces the difficulty of the calculations. This method alone is not sufficient, it is only a tool to build the simulation. The core of this work is Molecular Dynamics (MD), which gives freedom to the atoms of a system to evolve to more stable minimum energy positions. The ultimate goal of these methods is to obtain data on the displacement of molecules and, through a visual analysis of the environment, to draw conclusions about the stability of the molecules.

ÍNDICE DE CONTENIDO

1.	Introducción:	4
1.1	Química Computacional en el diseño de fármacos ^[1] :	4
1.2	Mecánica Molecular (MM) ^{[2][3]} :	4
1.3	Dinámica molecular (MD) ^{[4][5][6]} :	10
1.4	Introducción al cáncer:	12
1.5	Ruta de muerte programada, ligando PD-L1 (Programmed death ligand-1, PD-L1):	14
2.	Objetivos:	17
2.1	Objetivos individuales:	17
2.2	Objetivos específicos:	17
3.	Metodología:	18
3.1	Herramientas utilizadas:	18
3.2	Preparación del sistema:	19
4.	Estructura y numeración de los inhibidores:	25
5.	Presentación de los resultados:	27
5.1	RMSD: Desviación cuadrática media de las posiciones atómicas	27
5.2	Resultados y análisis del desplazamiento de los inhibidores:	32
5.2.1	Grupo 5:	32
5.2.2	Grupo 6:	38
5.2.3	Grupo 7:	42
5.2.4	Grupo 8:	47
5.2.5	Grupo 9:	52
5.2.6	Grupo 10:	58
5.2.7	Grupo 101:	65
6.	Discusión de los resultados:	70
6.1.1.	Grupo 5:	71
6.1.2.	Grupo 6:	72
6.1.3.	Grupo 7:	73
6.1.4.	Grupo 8:	74
6.1.5.	Grupo 9:	76
6.1.6.	Grupo 10:	77
6.1.7.	Grupo 101:	78
7.	Conclusiones:	80
7.1	Los sustituyentes:	80
7.2	Estructura de grupo:	81

7.3	Conclusiones finales:.....	82
8.	REFERENCIAS.....	83
9.	ANEXO.....	86
9.1.	Grupo 5:.....	86
9.1.1.	Inhibidor 5:.....	86
9.1.2.	Inhibidor 11:.....	89
9.1.3.	Inhibidor 17:.....	93
9.1.4.	Inhibidor 23:.....	96
9.1.5.	Inhibidor 29:.....	99
9.2.	Grupo 6:.....	102
9.2.1.	Inhibidor 6:.....	102
9.2.2.	Inhibidor 12:.....	105
9.2.3.	Inhibidor 18:.....	109
9.2.4.	Inhibidor 24:.....	111
9.2.5.	Inhibidor 30:.....	115
9.3.	Grupo 7:.....	120
9.3.1.	Inhibidor 7:.....	120
9.3.2.	Inhibidor 13:.....	124
9.3.3.	Inhibidor 19:.....	127
9.3.4.	Inhibidor 25:.....	130
9.3.5.	Inhibidor 31:.....	133
9.4.	Grupo 8:.....	136
9.4.1.	Inhibidor 8:.....	136
9.4.2.	Inhibidor 14:.....	141
9.4.3.	Inhibidor 20:.....	145
9.4.4.	Inhibidor 26:.....	148
9.4.5.	Inhibidor 32:.....	151
9.5.	Grupo 9:.....	154
9.5.1.	Inhibidor 9:.....	154
9.5.2.	Inhibidor 15:.....	157
9.5.3.	Inhibidor 21:.....	162
9.5.4.	Inhibidor 27:.....	166
9.5.5.	Inhibidor 33:.....	170
9.6.	Grupo 10:.....	174
9.6.1.	Inhibidor 10:.....	174
9.6.2.	Inhibidor 16:.....	179

9.6.3.	Inhibidor 22:.....	183
9.6.4.	Inhibidor 28:.....	187
9.6.5.	Inhibidor 34:.....	193
9.7.	Grupo 101:.....	197
9.7.1.	Inhibidor 101:.....	197
9.7.2.	Inhibidor 161:.....	201
9.7.3.	Inhibidor 221:.....	205
9.7.4.	Inhibidor 281:.....	209
9.7.5.	Inhibidor 341:.....	213

1. Introducción:

1.1 Química Computacional en el diseño de fármacos^[1]:

La química computacional es una rama de la química que utiliza algoritmos y cálculos por ordenador, basándose en propiedades físico-químicas, para simular reacciones químicas y calcular propiedades atómicas y moleculares. Concretamente, en el diseño y descubrimiento de fármacos, se utilizan diversos enfoques de la química computacional para calcular y predecir situaciones, como la unión del fármaco a su diana, y cómo pueden variar las propiedades químicas para diseñar nuevos fármacos potenciales.

Los métodos computacionales son, a día de hoy, utilizados de forma rutinaria para acelerar los largos y costosos procesos del descubrimiento de fármacos. Sobre todo, ha demostrado ser una herramienta muy útil en el campo de la investigación académica, donde los recursos son más limitados que en la industria farmacéutica. La multifuncionalidad de la computación permite desde el modelado de estructuras químicas tridimensionales al cálculo cuántico de energías, pasando por un estudio profundo de las interacciones moleculares y los enlaces químicos.

Los métodos computacionales más utilizados en la química médica son el Docking, el análisis QSAR y las dinámicas moleculares, mediante mecánica molecular (MM) o mecánica cuántica (QM). Este estudio se centrará en la dinámica molecular, su preparación y desarrollo utilizando MM.

1.2 Mecánica Molecular (MM)^{[2][3]}:

El primer problema que surge al intentar simular sistemas formados por átomos es decidir a qué nivel tratarlos. Los átomos son sistemas complejos que se rigen por leyes cuánticas las cuales requieren cálculos matemáticos largos y complicados. Esto limita el tamaño de los sistemas en los que se pueden aplicar estas leyes. Los recursos de tiempo y computación para resolver estos cálculos con sistemas con un número elevado de átomos son muy elevados, de modo que se han desarrollado métodos que simplifican el tratamiento y reducen el tiempo de cálculo necesario.

La MM reduce los átomos a esferas puntuales en un espacio concreto los cuales mantienen su carga parcial y están unidos entre sí por muelles teóricos que se rigen por las leyes de la mecánica newtoniana clásica. El objetivo de los muelles teóricos es simular el comportamiento de los enlaces. Gracias a estas suposiciones el proceso de cálculo ya no tiene en cuenta a los electrones del sistema, pero sí está presente su contribución en forma de propiedades electrónicas de los elementos. Una gran ventaja de este método es que, al eliminar las

complicaciones generadas por los electrones, puede utilizarse en sistemas mucho más grandes que los basados en QM.

Por supuesto, este método genera limitaciones, pues al no tener en cuenta a los electrones no es aplicable a sistemas o procesos donde estos intervengan de forma directa, como por ejemplo en las transferencias electrónicas y formación o rotura de enlaces. Tampoco es posible calcular la energía de forma precisa para las moléculas dentro del sistema ya que no se tiene en cuenta el movimiento de los electrones y por tanto no se puede resolver la ecuación de Schrödinger.

Para hablar sobre MM es necesario entender el concepto de “Campo de fuerza” (CF) o, en inglés, “force field” (FF). La efectividad del método de la MM se basa en lo realista que sea el FF. Esta función está basada en las observaciones de los procesos naturales, los enlaces y las interacciones entre moléculas. Los campos de fuerza es un concepto amplio y puede entenderse de muchas maneras. Para este estudio lo utilizaremos de tal modo que nos permita construir un modelo tridimensional y calcular la energía potencial del sistema en función de los parámetros dentro de él.

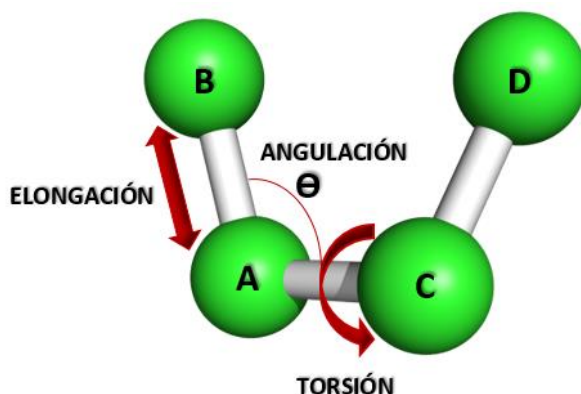


Figura 1 Movilidad entre átomos enlazados. Visualización del movimiento de los enlaces (elongación), cambios en sus ángulos (angulación) y movimiento de los diedros (torsión).

La función FF describe la energía potencial de las interacciones enlazantes y no enlazantes de los átomos y las moléculas que forman el sistema. La manera en la que se representan estos conceptos puede entenderse de diferentes formas y abarcar varios parámetros. Entre los parámetros que suelen tener en cuenta están los que describen los posibles movimientos de los enlaces que unen a los átomos, descritos en la [Figura 1](#).

Uniendo dos átomos (A y B en la [Figura 1](#)) nos encontraremos ante un enlace que puede estirarse y acortarse como lo haría un muelle. Si añadimos un tercer átomo (C en la [Figura 1](#)) al sistema, estaremos añadiendo no solo un enlace extra sino también un ángulo (Θ en la [Figura 1](#)), es decir,

un parámetro que mide la distancia entre la tercera (C) y la segunda (B) partícula. Al añadir un cuarto elemento al sistema (D en la **Figura 1**) estaremos añadiendo un parámetro que mide la torsión del sistema. Estos movimientos dentro del sistema contribuyen a la energía siendo partícipes de la función FF.

Las ecuaciones que se van a describir a continuación se basan en las leyes clásicas, siendo el comportamiento de los enlaces similar a un muelle y tratados mediante la ley de Hooke ($F = k * (x - x_0)$), siendo k la constante de proporcionalidad, x la posición y x_0 la posición de referencia.

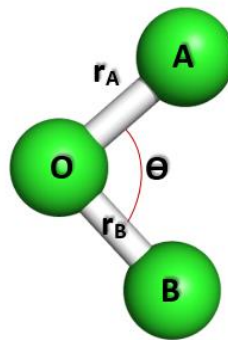


Figura 2 Representación del sistema de bolas y muelles. La partícula O unida a A y B mediante las distancias r_A y r_B respectivamente y separadas por el ángulo θ .

La ecuación 1 describe el cálculo de la energía potencial debida a la elongación de los enlaces basándonos en la **Figura 2**. Las constantes de elongación (k_{elong}) dependen de los elementos que enlazan y su objetivo es describir lo mejor posible las variaciones en la energía potencial debida a los movimientos de estiramiento y acortamiento de los enlaces. Los parámetros r describen la distancia de los enlaces, siendo r_A el enlace entre el átomo A y el átomo O, y r_B el enlace de B con O. El parámetro r_0 es la referencia y corresponde al equilibrio del sistema.

$$V_{elong}(r_A, r_B) = k_{elong}(r_A - r_0)^2 + k_{elong}(r_B - r_0)^2 \quad (1)$$

La ecuación 2 describe las variaciones en la energía potencial debidas a cambios en la angulación de los enlaces. El parámetro k_{ang} es una constante de angulación dependiente de los elementos que une y su objetivo es describir las variaciones en la energía potencial debido al movimiento de estos. Los parámetros θ representan el valor de los ángulos en cada instante, y θ_0 se considera la referencia cuando el sistema está en equilibrio.

$$V(\theta) = k_{ang}(\theta - \theta_0)^2 \quad (2)$$

El cálculo de la energía potencial debida a la torsión de los enlaces está descrito en la ecuación 3. A_{diedro} es una constante que define la rigidez del sistema frente a la rotación del enlace central

definido a través del ángulo diedro α , siendo α_0 el valor de referencia. El significado de n es el de integrador que define la periodicidad del término de torsión.

$$V_{tor}(\alpha) = A_{diedro} \{1 + \cos(n(\alpha - \alpha_0))\} \quad (3)$$

Además del movimiento de los enlaces debemos considerar que el sistema cuenta con la presencia de muchos átomos, cada uno con su carga parcial correspondiente de modo que hay cargas positivas y negativas atrayéndose y repeliéndose unas a otras. La contribución de estas cargas parciales se divide entre lo que se va a considerar como interacciones electrostáticas y las debidas a interacciones de Van der Waals.

La manera que se utiliza para calcular la contribución de las interacciones electrostáticas es mediante la ley de Coulomb, como se describe en la ecuación 4. El término r_{AB} de esta ecuación hace referencia a la distancia entre el átomo A de una molécula y el átomo B de otra. Las cargas parciales q_A y q_B son parámetros fijados, expresados en unidades atómicas, e es la magnitud de la carga de un electrón y ϵ es la permitividad del medio, normalmente siendo escogida la del vacío ϵ_0 .

$$V_{Coulomb}(r_{AB}) = \frac{1}{4\pi\epsilon} * \frac{q_A q_B e^2}{r_{AB}} \quad (4)$$

La contribución al comportamiento de Van der Waals es algo más compleja pues hay que tener en cuenta las propiedades que rigen a estas interacciones. Las fuerzas dispersivas de London también dependen de la polaridad y estas pueden generar tanto repulsión como atracción. Por tanto, se deben construir dos ecuaciones, una que describa la repulsión entre átomos y otra que describa la atracción de estos.

La ecuación 5 describe la repulsión que incluye al término A_{AB} , que se entiende como la constante que mide la fuerza de la interacción repulsiva entre el átomo A de una molécula y el átomo B de otra. El símbolo n es el integrador positivo que se añadió en los inicios de la computación y que comúnmente tiene el valor en esta ecuación de 12.

$$V_{repulsión}(r_{AB}) = \frac{A_{AB}}{r_{AB}^n} \quad (5)$$

La atracción tiene el signo contrario al de la repulsión y su integrador, m , tiene un valor habitual de 6. La B_{AB} , paralelamente a la ecuación de la repulsión, mide la fuerza de la interacción de atracción (ecuación 6).

$$V_{atracción}(r_{AB}) = \frac{-B_{AB}}{r_{AB}^m} \quad (6)$$

El sumatorio de las ecuaciones 5 y 6 es lo que se entiende como ecuación de Lennard-Jones (ecuación 7), físico inglés que la desarrolló. El término σ de esta ecuación representa el punto donde la interacción pasa de ser negativa a positiva, y viceversa.

$$V_{Lennard-Jones}(r_{AB}) = 4\epsilon\left\{\left(\frac{\sigma_{AB}}{r_{AB}}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{AB}}{r_{AB}}\right)^6\right\} \quad (7)$$

La contribución de cada uno de estos términos a la ecuación 8 es lo que entendemos como campo de fuerza y lo que se va a utilizar como medio para calcular la energía de los átomos de nuestro sistema.

$$V = \sum V_{elong} + \sum V_{ang} + \sum V_{tor} + \sum V_{Coulomb} + \sum V_{vdw} \quad (8)$$

Llegados a este punto es observable la cantidad de parámetros que el ordenador debe utilizar para calcular los valores de la energía potencial. Los sistemas en los que se puede aplicar MM son muy grandes y por tanto los parámetros de k_{elong} , k_{ang} , Θ o de los demás se pueden repetir cuando al mismo átomo o enlace se refiere. Una de los métodos para simplificar el recopilatorio de todos los parámetros es creando grupos de átomos o enlaces que sean similares entre sí, es decir, un átomo de C sp³ unido a un átomo N tendrá los mismos parámetros que todos los C sp³ unidos a N del sistema.

También se deben considerar las interacciones entre átomos de moléculas distintas. Para un sistema formado por 10000 átomos se requerirían de unos 50 millones de términos de Coulomb y de Lennard-Jones para desarrollar el FF. Sin embargo, esto no tiene sentido en el mundo real. Los átomos de diferentes moléculas a cada extremo del sistema tendrán una interacción entre sí mucho más pequeña que las interacciones que tengan en su entorno más próximo. Matemáticamente, no se puede eliminar sin más esta contribución ya que se perdería fidelidad en los cálculos, así que se deben hacer modificaciones añadiendo el concepto de “cut-off” a la expresión de la energía potencia.

Este método añade una condición al sistema pues este no calculará la contribución de los átomos que se encuentren a una distancia al átomo considerado mayor que el cut-off asignado. La expresión queda como se observa en la ecuación 9, donde $V_{standard}$ es la energía potencial del átomo respecto de una distancia a su entorno r , y r_{limite} la distancia cut-off asignada.

$$V_{cutoff}(r) = \begin{cases} V_{standard}(r) - V_{standard}(r_{limite}) & \text{si } r \leq r_{limite} \\ 0 & \text{si } r \geq r_{limite} \end{cases} \quad (9)$$

Esta expresión genera un problema de discontinuidad al derivar la energía respecto a las coordenadas atómicas, de modo que se incluye lo que se conoce como “distancia de suavizado”.

Esto arregla la discontinuidad añadiendo una nueva función, f_{cambio} o f_{switch} , que representa el proceso de suavizado.

$$f_{\text{switch}}(r) = \begin{cases} 1 & \text{si } r \leq r_{\text{limite1}} \\ g(r) & \text{si } r_{\text{limite1}} \leq r \leq r_{\text{limite2}} \\ 0 & \text{si } r \geq r_{\text{limite2}} \end{cases} \quad (10)$$

En la ecuación 10, la función $g(r)$ tiene un valor de 1 cuando la distancia es menor que la distancia límite y una derivada de cero, al aumentar la distancia, el valor decrece en continuo hacia cero. Cuando la distancia supera al segundo límite la derivada también se hace cero. Este método produce una función continua con una derivada también continua.

Esta solución es aparentemente razonable para el término de Lennard-Jones ya que, como ya se ha explicado, cuanto mayor es la distancia entre átomos menor es la interacción entre ambos. Sin embargo, debe tenerse en cuenta el límite que se debe asignar ya que cuanto mayor sea mayor será la cantidad de átomos que se tienen que considerar por estar a la misma distancia del átomo de referencia. Si es demasiado pequeño no se tendrán en cuenta átomos que en la realidad sí influyen, y si se asigna uno demasiado grande no estaremos solucionando nada respecto al tiempo de cálculo.

Incluso utilizando los términos de cut-off, es aún difícil construir un modelo lo suficientemente grande como para representar el comportamiento real de un líquido o un sólido. Para que el sistema sea fiel a la realidad, la mayoría de los átomos deberían encontrarse a una distancia muy alejada de la superficie del sistema que se está construyendo. Esto quiere decir que el sistema debería contener miles de millones de átomos antes de que el comportamiento del modelo sea similar a la situación real, algo que es completamente indeseable a la hora de desarrollar un sistema de cálculo.

De modo que es necesario añadir otra técnica para permitir construir sistemas grandes sin considerar miles de millones de átomos: *las condiciones de contorno periódicas*. Con esta técnica se asume que el sistema tiene un tamaño infinito y que está formado por un infinito número de celdas unidad simétricas entre sí. Otra manera de verlo es teniendo un sistema principal rodeado por todas partes por un número infinito de sistemas que son imágenes de sí mismo (Figura 3).

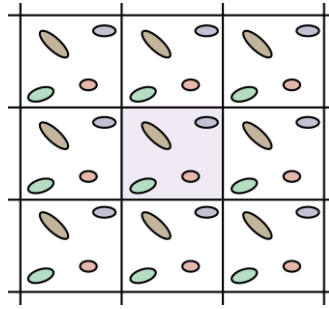


Figura 3 Representación esquemática del comportamiento de las condiciones de contorno periódico.

Se puede pensar que la situación se ha complicado notablemente ya que ahora existen infinitas partículas a tener en cuenta. Sin embargo, mediante el uso combinado de los cut-offs, es posible calcular la energía del sistema teniendo en cuenta solo los términos necesarios para calcular uno de los cubos y no todas las imágenes. Así pues, solo se tendrían en cuenta las interacciones que involucran la réplica o imagen más cercana de cada uno de los otros átomos en la expresión de la energía. Esto quiere decir que el cálculo de cada término de la de elongación, angulación o diedro se realizará teniendo en cuenta solo la distancia más cercana entre dos átomos, aunque pertenezcan a replicas distintas. Daría igual si se eligiera otra imagen como referencia pues todas ellas son réplicas de sí mismas.

1.3 Dinámica molecular (MD)^{[4][5][6]}:

La MD es una técnica computacional que simula cómo discurren los átomos a lo largo del espacio y el tiempo en un sistema. Al hablar de dinámica se hace referencia al movimiento de partículas así que se necesita una expresión matemática para calcular la energía y la fuerza con la que estas se ven impulsadas y se mueven.

Los núcleos atómicos son suficientemente pesados como para describirlos mediante métodos clásicos. Una buena aproximación es mediante la segunda ley del movimiento de Newton ($F = m * a$). Esta segunda ley puede ser escrita en forma diferencial lo cual relaciona a la fuerza (F) con la energía potencial (V) (Ecuación 11):

$$F = -\frac{dV(r)}{dr} = m\frac{d^2r}{dt^2} \quad (11)$$

La ecuación 11 describe la función negativa del gradiente de energía. El vector r contiene las coordenadas de todas las partículas, en coordenadas cartesianas. Este vector tendría la siguiente expresión para un grupo dado de partículas tras un pequeño incremento de tiempo (Δt) (Ecuación 12):

$$r_{i+1} = r_i + \frac{\delta r}{\delta t}(\Delta t) + \frac{\delta^2 r}{2\delta t^2}(\Delta t)^2 + \frac{\delta^3 r}{6\delta t^3}(\Delta t)^3 + \dots \quad (12)$$

$$r_{i+1} = r_i + v_i(\Delta t) + \frac{1}{2}a_i(\Delta t)^2 + \frac{1}{6}b_i(\Delta t)^3 + \dots \quad (13)$$

La ecuación 13 surge al sustituir las derivadas parciales por los coeficientes correspondientes. Siendo la primera derivada parcial de la posición respecto del tiempo correspondiente a la velocidad, v_i . Los coeficientes a_i y b_i son la aceleración (segunda derivada) y la hiperaceleración (tercera derivada) respectivamente. Ambas expresiones siguen la serie de Taylor.

Las posiciones anteriores tras un pequeño espacio de tiempo, Δt , derivan de las ecuaciones anteriores sustituyendo Δt con $-\Delta t$ (ecuación 14):

$$r_{i-1} = r_i - v_i(\Delta t) + \frac{1}{2}a_i(\Delta t)^2 - \frac{1}{6}b_i(\Delta t)^3 + \dots \quad (14)$$

La suma de las ecuaciones 13 y 14, la ecuación 15, permite predecir la posición tras un pequeño espacio de tiempo desde la posición inicial y las previas, así como con la aceleración presente. Esta última se puede calcular mediante la fuerza o, de forma equivalente, la energía potencial (ecuación 16):

$$r_{i+1} = (2r_i - r_{i-1}) + a_i(\Delta t)^2 + \dots \quad (15)$$

$$a_i = \frac{F_i}{m_i} = -\frac{1}{m_i} \frac{dV}{dr_i} \quad (16)$$

Esta es la expresión del algoritmo de Verlet para resolver la ecuación de Newton numéricamente. Destacar que el término de la hiperaceleración (b) desaparece. También hay que tener en cuenta que la posición inicial no se puede calcular al no tener una previa, pero sí que se puede estimar mediante un primer orden de la ecuación 12 (ecuación 17).

$$r_{-1} = r_0 - v_0\Delta t \quad (17)$$

A cada paso la aceleración se tiene que calcular mediante las fuerzas, lo que permite a las posiciones atómicas propagarse y generar trayectorias. Cuanto menor sea el tamaño del paso, Δt , mejor será la trayectoria y mayor la aproximación a la realidad. Sin embargo, cuanto menores sean los pasos, mayor es el número de pasos necesarios para conseguir una trayectoria total del sistema. Estos pasos son intervalos de tiempo que se suelen medir en nanosegundos (ns), en picosegundos (ps) o en femtosegundos (fs).

El método que se acaba de explicar es denominado "Velocity Verlet", el cual es útil para el estudio de la dinámica de reacciones químicas. Un uso más común es para el estudio del

comportamiento de sistemas grandes formados por muchas partículas que limite el uso de otros métodos.

1.4 Introducción al cáncer:

El cáncer sigue constituyendo una de las principales causas de mortalidad en todo el mundo. Los malos hábitos de vida como el tabaco, el alcohol, el sedentarismo o las dietas inadecuadas son algunos de los factores de riesgo evitables que constituyen un tercio de las muertes debidas al cáncer. La aparición de la Covid-19 ha dificultado el diagnóstico, por tanto, los datos de número de casos de cáncer en 2020 son estimados y probablemente no representen la realidad de la situación, pero la cifra estima casi 20 millones de casos en todo el mundo (Figura 4). A pesar de todos los avances que se han conseguido, el cáncer ha provocado la muerte de aproximadamente 10 millones de personas en el mundo a lo largo del año 2020, según datos proporcionados por la International Agency for Research on Cancer (IARC) [7].

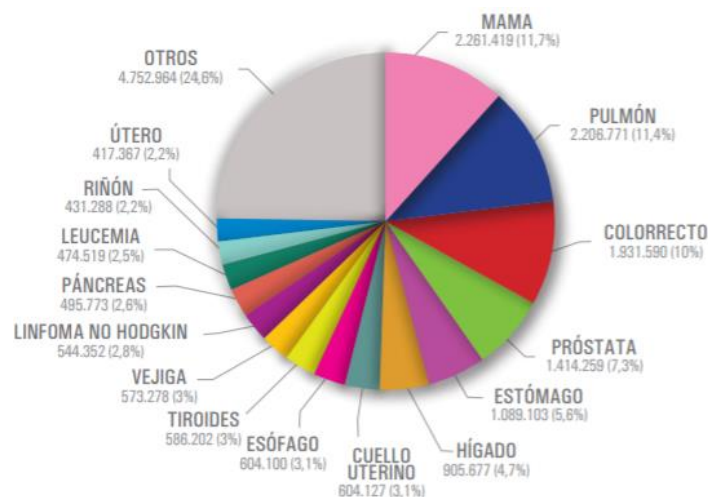


Figura 4 Tumores más frecuentemente diagnosticados en el mundo, estimación para 2020. Ref: GLOBOCAN 2020, IARC (International Agency for Research on Cancer) [10]

El cáncer puede surgir cuando los medios de control de la proliferación celular fallan debido a la adquisición de mutaciones por parte de las células del organismo que provocan un desarrollo indebido de la división celular. El desarrollo de estas células deriva en distintos tipos de tumores dependiendo del tejido y las mutaciones adquiridas [8]. Las señas de identidad más importantes de las células cancerosas están enumeradas en la Figura 5.



Figura 5 Principales características de las células cancerosas [9]

El tratamiento más habitual para los cánceres avanzados es el uso de quimioterapia. La quimioterapia tradicional utiliza compuestos químicos tóxicos para las células del organismo. Este método suele ser agresivo tanto para células tumorales como para células sanas. El interés general ha provocado un aumento de los tratamientos más especializados y orientados a eliminar las células tumorales manteniendo a las sanas intactas [11].

Entre las terapias más innovadoras se encuentra la Inmunoterapia que se basa en la teoría de inmunovigilancia desarrollada a lo largo del siglo XX. Esta teoría plantea que constantemente se están generando células tumorales en cierta cantidad pero que son eliminadas en su mayoría por el sistema inmune. A pesar de que se mantuvo durante el siglo pasado controversia en torno a esta teoría, en las últimas décadas se ha desarrollado rápidamente quedando bien establecida [12].

La evasión del sistema inmunológico es una de las mutaciones más útiles para la supervivencia de las células tumorales, pero también supone una oportunidad de tratamiento. La inmunoterapia tiene como objetivo o bien reactivar el sistema inmunológico o eliminar las herramientas que tienen las células tumorales para evadir a este [13].

En el presente trabajo se desarrollará el estudio computacional de una serie de posibles inhibidores de una de las rutas de inhibición del sistema inmunológico que las células tumorales aprovechan para aumentar su supervivencia.

1.5 Ruta de muerte programada, ligando PD-L1 (Programmed death ligand-1, PD-L1):

El sistema inmunitario está regulado por distintas rutas que actúan como puntos de control, los cuales envían señales que regulan la respuesta inmunitaria. Se han encontrado dos tipos de puntos o rutas de control, aquellas rutas que inducen al sistema inmunitario (como CD28, ICOS y CD137) y aquellas que lo inhiben (como PD-1, CTLA-4 y VISTA). Este tipo de mecanismo es esencial para evitar que el sistema inmunológico provoque una respuesta autoinmune. Estos puntos de control también regulan el tipo, la intensidad y la duración de la respuesta inmunológica. El hecho de que las rutas y puntos de control estén regulados por la interacción de ligandos y receptores proteicos hace más sencillo el bloqueo por parte de anticuerpos o agentes químicos, o para la regulación mediante formas recombinadas de ligandos o receptores [14].

El receptor de muerte programada (PD-1) es un receptor inhibitorio transmembrana que se expresa en células T, células B, monocitos, células dendríticas y células NK, mientras que el ligando de este receptor (PD-L1) se expresa de forma continua en la superficie de células del sistema inmune, incluyendo a las células dendríticas o los macrófagos. PD-1/PD-L1 participa tanto en el sistema inmunitario innato como el adaptativo.

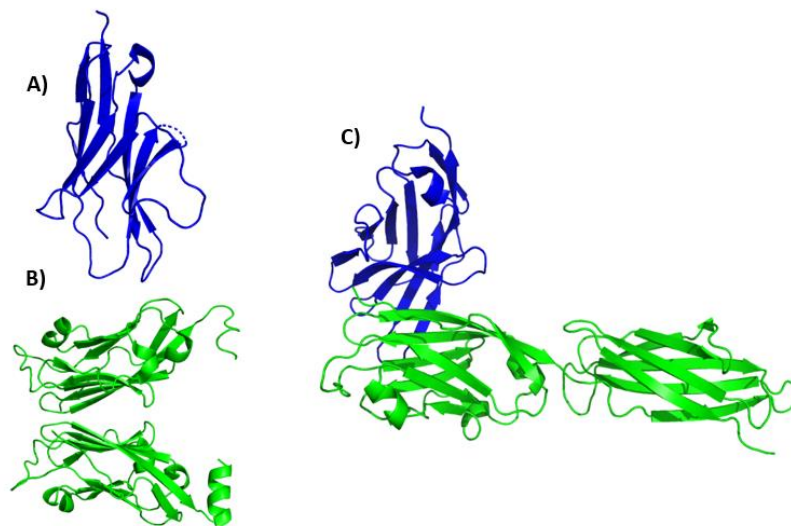


Figura 6 En azul la estructura de PD-1 (A), en verde la estructura de PD-L1 (B) y, a la derecha, la estructura del complejo PD-1/PD-L1 (C). Códigos PDB en RCSB: 6UMU (PD-1) [18], 7BEA (PD-L1) [19] y 3BIK (complejo) [17]

La estructura de PD-1 (**Figura 6**) consta de 288 aminoácidos, tiene un peso de 55 k-Da y su secuencia de aminoácidos es similar en un 15% a la de CD28 y un 20% a la de CTLA4. PD-1 tiene un dominio N-terminal extracelular de tipo inmunoglobulina, un dominio transmembrana y una

cola citoplasmática ubicada en los términos N y C, con dos bases de tirosina. Por otro lado, PD-L1 pesa 33 k-Da y está constituido por 290 aminoácidos. Cuenta con dos dominios de inmunoglobulina extracelulares, uno de ellos de tipo constante (IgC) [13].

La interacción entre el receptor PD-1 y su ligando funciona como punto de control inmunológico contra la actividad citotóxica de células T sin restricciones, esto promueve la desactivación de las células T periféricas y la conversión de las células T sin restricciones en células T agotadas (Figura 7).

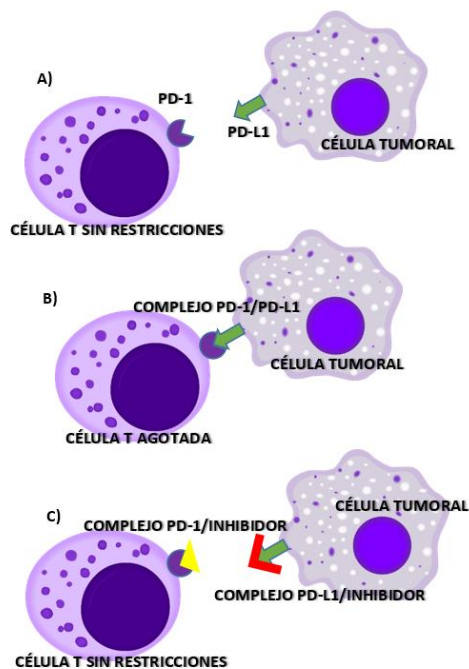


Figura 7 (A y B) Célula tumoral con PD-L1 sobreexpresada que inhibe la actividad de una célula T. (C) Inhibición de PD-1 y el ligando PD-L1 que mantiene a la célula T intacta.

La actividad natural de este mecanismo regula el sistema inmunológico, pero las células tumorales que sobreexpresan estas funciones generan una atmósfera a su alrededor con un sistema inmunitario deprimido lo que favorece su supervivencia. Los tumores sólidos de cánceres como el de mama generan un entorno celular que modifica las complejas interacciones entre las células tumorales y las células inmunitarias. Las células tumorales aprovechan las rutas que inhiben el sistema inmunitario como la de PD-1/PD-L1, de modo que la sobreexpresión de estos receptores y sus ligandos hacen más probable la supervivencia del tumor [15][20].

Sin embargo, a raíz de este mecanismo de actuación se ha encontrado un punto débil, pues al anular las rutas inhibitorias del sistema inmunitario se consigue la reactivación de este alrededor del tumor favoreciendo su eliminación por parte del propio organismo.

Desde que en 2011 la FDA aprobó el fármaco Ipilimumad (cuya diana es CTLA4) para el tratamiento del melanoma, se han aprobado terapias inhibitorias usando anticuerpos monoclonales. Estas terapias tienen como diana PD-1 (Nivolumad y Pembrolizumab) o PD-L1 (Avelumab, Atezolizumab y Durvalumab), y han exhibido una capacidad antitumoral en pacientes con diversos tipos de cánceres. A fecha de marzo de 2021, no se han desarrollado fármacos comercializados basados en moléculas inhibidoras pequeñas, aunque sí se encuentran varias en desarrollo [16][21].

Los inhibidores basados en pequeñas moléculas pueden llegar a solucionar algunos de los problemas intrínsecos a los anticuerpos monoclonales, a saber, su alto coste de producción, sus efectos secundarios adversos, la baja permeabilidad en los tejidos o la limitada adaptabilidad al paciente.

La estrategia de los inhibidores es la de romper o evitar la formación del complejo PD-1/PD-L1 responsable de la activación de la transducción de señales que desactivan a las células inmunitarias. Se pueden desarrollar inhibidores tanto para PD-1, PD-L1 o para el propio complejo [22]. En este estudio se va a preparar el sistema entorno al ligando, PD-L1, al cual se le introducirán distintos inhibidores y se evaluará la estabilidad de estos.

2. Objetivos:

Los objetivos de este trabajo se han dividido en dos secciones: Objetivos individuales y objetivos específicos. Esta división se ha hecho porque parte del tiempo dedicado a la realización de este trabajo ha sido orientado al desarrollo de los conocimientos del autor en una nueva rama de la química, la química computacional. Sin embargo, el trabajo no se aleja de los objetivos finales de este estudio, que son la obtención de resultados entorno al estudio de nuevos posibles inhibidores del ligando PD-L1.

2.1 Objetivos individuales:

- Aprender nuevas técnicas computacionales aplicadas al diseño y estudio de nuevos fármacos.
- Aprender a desarrollar un sistema basado en mecánica molecular y utilizarlo en la realización de dinámicas moleculares.
- Aprender el proceso de análisis de datos obtenidos mediante técnicas computacionales.

2.2 Objetivos específicos:

- Construcción y preparación de posibles inhibidores de la proteína PD-L1.
- Preparación de un sistema tridimensional simulado formado por el ligando PD-L1 para su uso en dinámica molecular.
- Estudiar, mediante técnicas computacionales, la estabilidad y las posibles interacciones de inhibidores de la proteína PD-L1 en función de datos computacionales.

3. Metodología:

3.1 Herramientas utilizadas:

Los programas que se han utilizado para la realización de este proyecto son en su mayoría programas de visualización, modelado y herramientas de cálculo. A continuación, detallaré los programas que se han usado y con qué propósito, así como las características de cada uno de ellos.

- **MOLDEN:** es un programa de visualización cuya característica principal es la creación de la matriz-Z. Esta matriz permite construir la molécula y modificar sus ángulos, sus diedros y las distancias de enlace de forma precisa. Un programa útil cuando se desea crear una estructura de partida con unas características muy específicas.
- **Jmol:** es uno de los programas de visualización más utilizados debido a la facilidad de su uso a la hora de modificar estructuras moleculares. Una de sus herramientas más útiles es la minimización que modifica las distancias de enlace y los ángulos de forma automática en función de los elementos que enlazan.
- **VMD (Visual Molecular Dynamics):** programa de visualización que se utilizó tanto durante el diseño de la estructura y colocación de los inhibidores dentro del centro activo de la proteína como en la etapa de análisis de los resultados. Este programa es el más utilizado en el estudio de proteínas ya que permite la visualización de sistemas formados por decenas de miles de átomos sin producir dificultades de procesado. Cuenta con herramientas de modelado que se utilizaron para trasladar las estructuras de los inhibidores dentro del centro activo evitando así solapamientos entre estos y la estructura proteica.
- **PyMOL:** es un programa muy avanzado de modelado y visualización de moléculas. Este programa permite una visualización más moderna de las estructuras y con mayor calidad gráfica. Se utilizó principalmente durante la redacción del actual trabajo.
- **Notepad++:** programa de visualización de texto utilizado para modificaciones puntuales y lectura de los archivos “pdb” (archivos de coordenadas) obtenidos durante la preparación del sistema. También utilizado como herramienta de lectura y extracción de los resultados para luego plasmarlos en Excel y preparar las representaciones gráficas.
- **EXCEL:** programa de hojas de cálculo que se utilizó para la etapa de tratamiento de los resultados en donde se construyeron las gráficas para su posterior análisis.

- **AMBERTOOLS:** conjunto de programas desarrollados independientemente pero que se utilizan en conjunto. Estos programas permiten realizar simulaciones completas de dinámica molecular y el análisis de los resultados. Para este trabajo se utilizó la versión AMBERTOOLS19 [23].
- **NAMD:** programa que permite realizar simulaciones de dinámica molecular en plataformas UNIX. Es una herramienta de soporte compatible con AMBER, CHARMM y VMD. En este trabajo se utilizó para optimizar el sistema y llevar a cabo la dinámica molecular.

3.2 Preparación del sistema:

Podemos dividir al sistema en función de su composición, sus átomos, sus residuos o sus secuencias, pero en este caso para explicar el concepto se dividirá en 4 segmentos diferenciados: la proteína, el inhibidor, los contraiones y las moléculas de agua. Los segmentos más sencillos de entender son los iones y las moléculas de agua.

Es importante que también especifiquemos la información que necesitamos para llevar a cabo la dinámica. Estos datos que vamos a necesitar ya se pueden suponer a partir de los apartados 1.2 y 1.3. La información que buscamos son los parámetros del sistema y la topología.

Los parámetros son todo el conjunto de distancias de enlace, ángulos, ángulos diedros y cargas parciales que incluyan a todos los segmentos del sistema. Básicamente es la información relevante para calcular el FF. En este trabajo se ha utilizado el campo de fuerzas de CHARMM cuyos ficheros son accesibles a través de la web: <https://www.charmm.org/> [27].

El FF también necesita de las coordenadas del sistema y cómo se enlazan entre sí los átomos presentes pues es fundamental conocer la secuencia de unión entre los átomos de un sistema. Esa información la obtendremos en los archivos de topología o de secuenciación y en los archivos pdb.

Además, hay que tener en cuenta que los sistemas celulares son entornos acuosos y neutros formados por miles de millones de átomos. Por un lado, para compensar la falta de neutralidad de las proteínas se añaden contraiones. En el caso que nos ocupa, el inhibidor es neutro pero la proteína tiene una carga negativa de 4 y es necesario añadirle 4 iones positivos de sodio (**Figura 8**, en violeta).

En el apartado sobre la MM (**apartado 1.2**) ya se explicó la razón por la cual se utilizaban las condiciones de contorno periódicas. Por lo general, la geometría de los sistemas que se construyen tienen formas cúbicas, pero también se pueden construir con otras estructuras

siempre que estas puedan ser repetidas en el espacio infinito. Las aguas del sistema son las que se colocan de tal modo que forman una caja en tres dimensiones, la denominada “caja de aguas” (Figura 8, en rojo). En el interior de la caja de aguas se colocarán el restante de los segmentos del sistema.

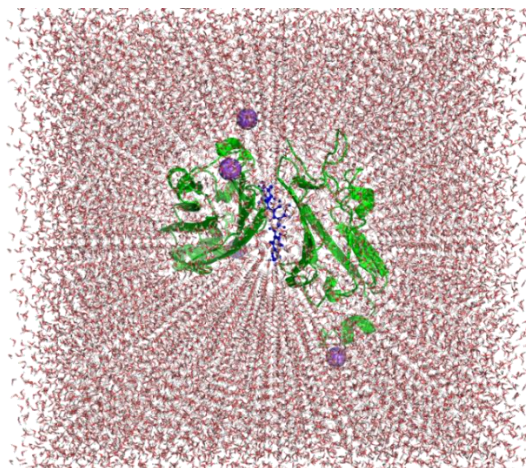


Figura 8 Sistema final formado por la unión de todas los segmentos: en rojo las moléculas de agua, en violeta los contraiones de sodio, en azul el inhibidor y en verde PD-L1.

La correcta preparación de la estructura proteica es, sin lugar a duda, la parte más importante de todas. El objetivo es obtener a la proteína tal cual la encontramos en la célula y por eso necesitaremos su composición, estructura, secuencia y coordenadas. Estos se obtienen en formato pdb de la base de datos www.rcsb.org. En este trabajo se utilizaron las coordenadas del archivo pdb con el código 5N2F [24] para obtener la información pertinente sobre el ligando PD-L1.

Los archivos presentes en esta librería se han obtenido mediante cristalografía de rayos X. Según los parámetros utilizados en la cristalografía algunos átomos o enlaces pueden no aparecer, por ejemplo, los hidrógenos, así como los enlaces disulfuro. Estos deberán ser añadidos a mano e identificar posibles secuencias desaparecidas o ausentes de la estructura. Aunque hay métodos automáticos, este paso es prácticamente manual y se ha conseguido preparar la secuencia de la proteína sin ningún enlace o aminoácido ausente.

La última de las partes necesarias antes de construir el sistema es preparar la estructura de los inhibidores. Se utilizaron varios programas combinados entre sí, Jmol, VMD y MOLDEN, con los cuales se fueron construyendo y modificando de forma tridimensional. El punto más importante en este momento es seleccionar las coordenadas de los átomos de los inhibidores, las cuales deberán cuadrar con el centro activo de la proteína (Figura 9), pero sin llegar a solaparse con ningún átomo o enlace de ésta.

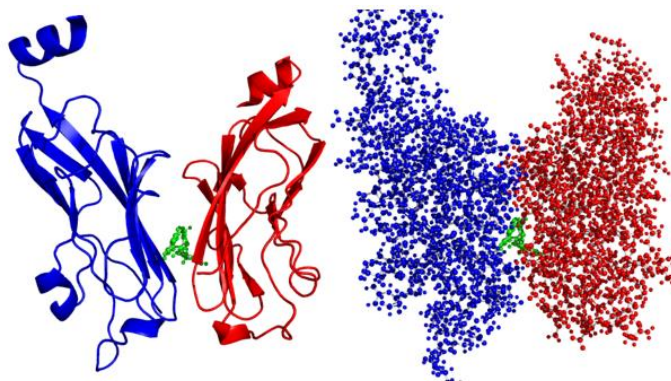


Figura 9 Colocación de los inhibidores en el centro activo de PD-L1.

Las coordenadas del centro activo se han obtenido del mismo lugar del que se obtuvo la estructura de la proteína, el archivo con código 5N2F de la página www.rcsb.org. Este archivo contiene ya un inhibidor el cual puede ser eliminado y trasladadas sus coordenadas a los inhibidores que deseamos estudiar de modo que podamos partir desde el centro activo. Al no compartir las estructuras entre los inhibidores probados en este trabajo y el inhibidor original se tuvieron que modificar las colocaciones iniciales de tal modo que se evitasen solapamientos. Sin embargo, las modificaciones solo afectaron al posicionamiento de parte de la estructura manteniendo a los inhibidores dentro del centro activo de PD-L1.

Los inhibidores construidos también formarán parte del FF y por tanto necesitaremos sus parámetros. El programa AMBERTOOLS cuenta con las herramientas necesarias que nos permitirán obtener dichos datos. El campo de fuerza CHARMM nos da dos archivos, uno de ellos contiene los parámetros y el otro contiene la secuencia. En la [Figura 10](#) se puede ver un ejemplo del contenido de cada uno de estos archivos para uno de los inhibidores estudiados.

Los parámetros de la proteína, los iones o las aguas se recopilan en un archivo estandarizado que ya incluye a todos los aminoácidos, todos los elementos más comunes e incluso nucleótidos y otras moléculas como las aguas.

Una vez recopilado todos estos elementos podemos proceder a juntarlos todos y así crear el sistema. A partir de este momento empezaremos a trabajar con el programa NAMD, lugar en el que más adelante llevaremos a cabo las dinámicas. Mediante este programa se juntan todos los archivos de coordenadas y secuencias de las aguas, los iones, la proteína y el inhibidor seleccionado.

```

Force Field Parameter File.
A)
BOND
ca ca 461.10 1.398
ca ha 345.80 1.086
ca n 384.20 1.412
ca c1 305.60 1.750
c n 427.60 1.379
hn n 403.20 1.013
c o 637.70 1.218
c3 ca 321.00 1.516
c3 c3 300.90 1.538
c3 hc 330.60 1.097
ca os 376.60 1.370
c3 os 308.60 1.432
c3 h1 330.60 1.097

ANGLE
ca ca ca 66.600 120.020
ca ca n 67.900 120.190
ca ca ha 48.200 119.880
ca n c 63.800 123.710
ca n hn 47.600 116.000
ca ca c1 57.900 119.390
n c o 74.200 123.050
n c n 72.900 113.560
c n hn 48.300 117.550
ca ca c3 63.500 120.770
ca c3 c3 63.100 112.070
ca c3 hc 46.800 110.470
c3 c3 hc 46.300 109.800
ca ca os 69.600 119.200
ca os c3 62.500 117.960
os c3 h1 50.800 109.780
h1 c3 h1 39.200 108.460
hc c3 hc 39.400 107.580

DIHEDRAL
X ca ca X 3.625 2 180.0
X ca n X 0.450 2 180.0
X c n X 2.500 2 180.0
hn n c o 2.500 2 180.0
hn n c e 2.000 1 0.0
X c3 ca X 0.000 2 0.0
X c3 c3 X 0.156 3 0.0
Xc c3 c3 hc 0.150 3 0.0
X ca os X 0.900 2 180.0
X c3 os X 0.383 3 0.0

Topology File.
B)
99 1
MASS 1 ca 12.010000
MASS 2 n 14.010000
MASS 3 c 12.010000
MASS 4 o 16.000000
MASS 5 c1 35.450000
MASS 6 c3 12.010000
MASS 7 os 16.000000
MASS 8 ha 1.008000
MASS 9 h1 1.008000
MASS 10 hn 1.008000
MASS 11 hc 1.008000

RESI I5 0.000
GROUP
ATOM C1 ca 0.000000
ATOM C2 ca 0.000000
ATOM C3 ca 0.000000
ATOM C4 ca 0.000000
ATOM C5 ca 0.000000
ATOM C6 ca 0.000000
ATOM N7 n 0.000000
ATOM C8 c 0.000000
ATOM O9 o 0.000000
ATOM C110 c1 0.000000
ATOM N11 n 0.000000
ATOM C12 ca 0.000000
ATOM C13 ca 0.000000
ATOM C14 ca 0.000000
ATOM C15 ca 0.000000
ATOM C16 ca 0.000000
ATOM C17 ca 0.000000
ATOM C18 c3 0.000000
ATOM C19 c3 0.000000
ATOM C20 ca 0.000000
ATOM C21 ca 0.000000
ATOM C22 ca 0.000000
ATOM C23 ca 0.000000
ATOM C24 ca 0.000000
ATOM C25 ca 0.000000
ATOM O26 os 0.000000
ATOM C27 c3 0.000000
ATOM H28 ha 0.000000
ATOM H29 ha 0.000000
ATOM H30 ha 0.000000
ATOM H31 ha 0.000000
ATOM H32 ha 0.000000

```

Figura 10 Archivos obtenidos mediante el programa CHARMM: (A) información sobre los parámetros del inhibidor ejemplo, (B) información sobre la topología o secuenciación del inhibidor ejemplo

El sistema ya está construido, pero aún no está preparado para ser utilizado en la dinámica. Si se utilizara en este instante, la energía no correspondería con la realidad ya que el sistema ha sido construido con átomos estáticos. En este estado los átomos no se mueven lo que corresponde con una condición de cero absoluto. Además, las posiciones entre segmentos pueden variar y se deben ajustar las distancias entre ellos basándose en los parámetros para evitar tensiones de enlace o cargas similares muy próximas entre sí que puedan generar repulsiones muy fuertes.

De modo que lo primero será minimizar el sistema para que los átomos se acomoden en el lugar que han sido colocados y se eviten las tensiones nombradas. Este paso puede sopesar problemas que no hayamos visto de forma visual al colocar a los inhibidores en sus lugares correspondientes. La minimización utiliza parámetros similares a los que usará la dinámica, pero con temperaturas menores, 10 K, y dura mucho menos, 2000 pasos.

```

structure 15.psf
coordinates i5-all.pdb
bincoordinates mini-i5.coor
paraTypeCharmm on
parameters par_all27_prot_na.prm
parameters 15.Charmm.prm
#fixedatoms on
#extrabonds on
#extrabondsfile const_file
cellBasisVector1 94.614 0.0 0.0
cellBasisVector2 0.0 94.175 0.0
cellBasisVector3 0.0 0.0 99.639
#constantForce on
#constantForceFile fiyo.pdb
#constantForceScaling 10.
exclude scaled1-4
l-4scaling 1.0
switching on
switchdist 12.0
cutoff 14.0
pairlistdist 16.0
wrapwater on
wrapall on
timestep 1
fullElectFrequency 4
outputname heat-i5
dcdfreq 1000
outputEnergies 1000
outputTiming 1000
restartname heat-i5-restart
restartfreq 1000
binaryrestart yes
pcdfile heat-i5.dcd
seed 1000
numsteps 3000
temperature 0
reassignFreq 1
reassignIncr 0.1
reassignHold 300

```

A)

```

structure 15.psf
coordinates press-i5.coor
paraTypeCharmm on
parameters par_all27_prot_na.prm
parameters 15.Charmm.prm
#fixedatoms on
#extrabonds on
#extrabondsfile const_file
cellBasisVector1 91.554 0.0 0.0
cellBasisVector2 0.0 91.129 0.0
cellBasisVector3 0.0 0.0 96.416
#constantForce on
#constantForceFile fiyo.pdb
#constantForceScaling 10.
exclude scaled1-4
l-4scaling 1.0
switching on
switchdist 12.0
cutoff 14.0
pairlistdist 16.0
wrapwater on
wrapall on
temperature 300
firsttimestep 0
timestep 1
numsteps 5000000
nonbondedFreq 2
fullElectFrequency 4
stepspercycle 20
#minimization on
#binvelocities vel
langevin on
langevinDamping 1
langevinTemp 300
outputname dina50ns-i5
dcdfreq 1000
outputEnergies 1000

```

B)

Figura 11 Parámetros utilizados en el lanzador del (A) calentamiento y (B) la dinámica.

El siguiente paso será calentar el sistema de modo que los átomos alcancen una energía vibracional igual a la que tendrían dentro del organismo a la temperatura de este, unos 300 K. Este paso se realiza de forma lenta, constante y controlada yendo de 0 a 300 K en intervalos de 0.1 K cómo se muestra en la **Figura 11**.

Finalmente, como preparación del sistema debemos considerar que el volumen ha sido colocado de forma previa seleccionando un cubo estándar, pero, al cambiar la temperatura también hemos variado la presión y el volumen lo que realmente afectaría al tamaño de la caja. El tamaño de cada celda debe ser preciso y por ello deberemos realizar un paso extra en donde dejamos el número de átomos, la presión y la temperatura constantes (NPT) permitiendo al sistema variar hasta su volumen real.

El proceso matemático para la realización de la dinámica ya se ha explicado en el apartado **1.3**. La dinámica otorga libertad al sistema para moverse en función de su entorno, y así obtener una posición de mínima energía y estable a lo largo del tiempo.

A la dinámica se le deben de suministrar una serie de datos que se pueden ver en la **Figura 11**. En el parámetro denominado “CellBasisVector” se detalla el tamaño de la celda cúbica que contiene todo el sistema. Los cut-off y demás funciones de suavizado también se incluyen entre estos parámetros. Concretamente, en esta dinámica se ha utilizado un “pairlistdist” de 16 Å, un cut-off de 14 Å y un switch de 12 Å. El único que no se ha explicado con anterioridad es el pairlist,

el cual tiene una labor similar al cut-off pero en este caso corresponde a la distancia a partir de la cual no se guardan las interacciones entre los átomos. Esto reduce el tiempo de cálculo al no obligar al programa a revisar todos y cada uno de los átomos del sistema.

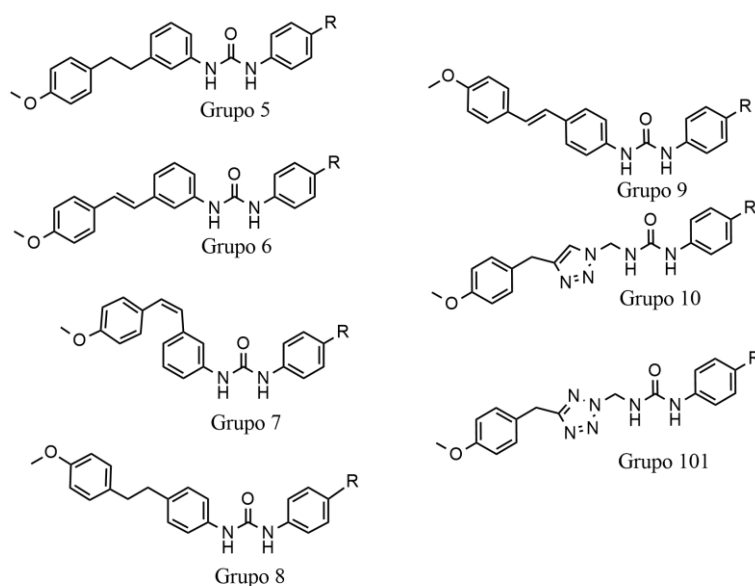
Otros de los datos importantes que se incluyen en esta figura son la temperatura, que debe ser la del cuerpo humano, aproximadamente de 300 K, y el tiempo de paso, el parámetro Δt que ya se introdujo en el apartado 1.3 y que se requiere para la utilización de la ecuación de Verlet. En esta dinámica se utilizó un tiempo de paso de 1 fs. También es necesario suministrarle el número de pasos, que para este proceso fue de 50 millones guardando datos cada 1000 pasos. Es decir, el tiempo total de la dinámica fue de unos 50 ns que equivale a 50000 ps y a su vez equivale a 50000000 fs.

4. Estructura y numeración de los inhibidores:

En esta sección se van a presentar las estructuras de los inhibidores preparados y utilizados a lo largo de la elaboración de este trabajo. Los inhibidores han sido divididos en función de su estructura en 7 grupos. Cada grupo comparte la misma estructura y solo se diferencian en el sustituyente R. Los sustituyentes R que se han puesto a prueba son el Cloro, el Flúor, el Bromo, el metóxido y el metilo. Esta clasificación puede observarse en la **Figura 12**.

La numeración de los inhibidores (**Tabla 1**) se hizo según el orden en el que fueron modelados siendo en primer lugar los de cloro del 5 al 10, y más adelante añadido el 101. La numeración del grupo 101 es debida a que fue el último en ser construido y se hizo a partir de las numeraciones del grupo 10 ya que estos dos grupos se diferencian únicamente en un átomo del anillo de heteroátomos, de triazol en el caso del grupo 10 y de tetrazol en el caso del grupo 101.

Para todos los grupos se mantiene que, tras la numeración del grupo, se numeraron los inhibidores según el sustituyente, por ejemplo en el caso del grupo 5 el inhibidor de Cloro es el número 5, el de Flúor el 11, el de Bromo el 17, el de Metoxi el 23 y el Metilo el 29. De modo que los inhibidores de Flúor van del 11 al 16, incluido el 161.



R = Cl, F, Br, MeO, Me

Figura 12 Estructura de los diferentes inhibidores

Tabla 1 Numeración de los inhibidores, la "i" anterior a la numeración hace referencia a "inhibidor".

	Grupo 5	Grupo 6	Grupo 7	Grupo 8	Grupo 9	Grupo 10	Grupo 101
Cl	i5	i6	i7	i8	i9	i10	i101
F	i11	i12	i13	i14	i15	i16	i161
Br	i17	i18	i19	i20	i21	i22	i221
MeO	i23	i24	i25	i26	i27	i28	i281
Me	i29	i30	i31	i32	i33	i34	i341

La estructura de las moléculas estudiadas es variada, pero todas comparten una gran aromaticidad y la presencia de la urea. Si se observa la **Figura 12** se ve que el anillo de la derecha a la urea no varía salvo en la composición de R. La estructura del grupo 5, 6 y 7 tienen el primero de los anillos a la izquierda de la urea la sustitución en meta, mientras que en los grupos 8 y 9 la sustitución es en para. Los grupos 6, 7 y 9 cuentan con un doble enlace que hace de puente entre los dos anillos de la izquierda de la urea. Los inhibidores del grupo 7 tienen la configuración Z en el doble enlace, mientras que los de los grupos 6 y 9 tienen una configuración E.

Los grupos 10 y 101 son las estructuras que más varían con respecto al resto de los inhibidores. Se ha cambiado el primero de los anillos de la izquierda por anillos aromáticos de nitrógeno, triazol en el caso del grupo 10 y tetrazol en el caso del grupo 101.

5. Presentación de los resultados:

Los datos obtenidos mediante la MD se trataron mediante NAMD y se extrajeron en formato de texto para representarlos en EXCEL. Al ser 50000 puntos, el análisis no puede ser llevado a cabo sin una representación gráfica en EXCEL. Esta representación permite hacer un análisis visual de la sucesión observada en las gráficas.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos en base a los datos de la dinámica. Debido a la alto número de representaciones se han colocado en su mayoría en el Anexo, apartado 9.

5.1 RMSD: Desviación cuadrática media de las posiciones atómicas

El RMSD significa en inglés “root-mean-square-deviation”, este es un método matemático por el cual se evalúa el desplazamiento de los átomos de un sistema respecto a las coordenadas iniciales. Su aplicación es diversa, entre las que se incluye la monitorización de cambios estructurales en simulaciones bioinformáticas como las que se han realizado en este estudio. El objetivo es evaluar la fiabilidad de los resultados [25][26].

Los datos obtenidos mediante este método se han plasmado en Excel y representados en formato gráfico para cada grupo de inhibidores. Lo que se espera para considerar que un inhibidor ha evolucionado correctamente es que su gráfica RMSD debe tener un perfil similar a una función de raíz cuadrada, es decir, una subida exponencial que se vaya estabilizando dentro de un rango de valores generando una meseta. Es también de esperar que los valores RMSD no sean excesivamente altos y que no sean superiores a 8 o 10 Å, porque eso significaría un desplazamiento excesivo fuera del centro activo.

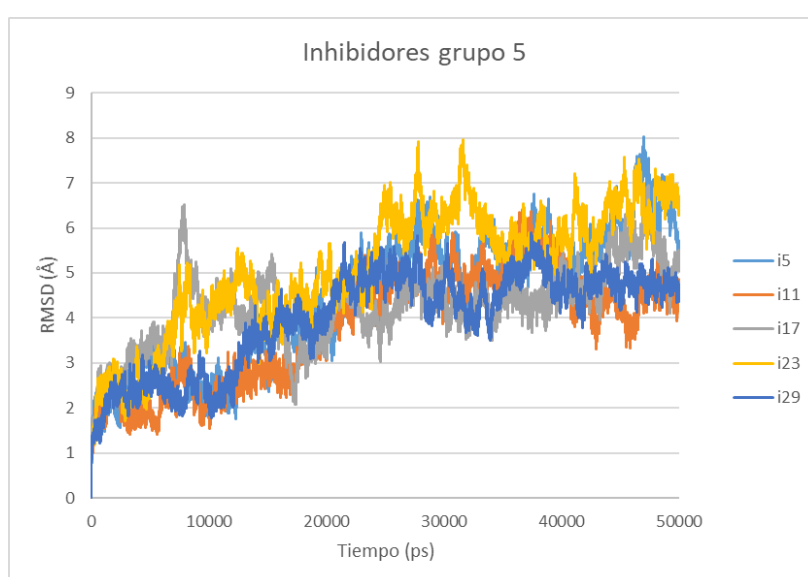


Figura 13 Gráfica RMSD de los inhibidores del grupo 5

La gráfica RMSD que muestra las variaciones de los inhibidores del grupo 5 (Figura 13) muestra un desplazamiento constante en todos ellos hasta alcanzar valores entre 4 y 7 Å. Esta situación es indicativa de que han alcanzado una posición estable. Comparativamente, los inhibidores de este grupo que muestran un mejor posicionamiento son el 11 y el 29. Ambos muestran la mayor estabilidad y su rango de variación es el más bajo en los ps finales, entre 4 y 5 Å.

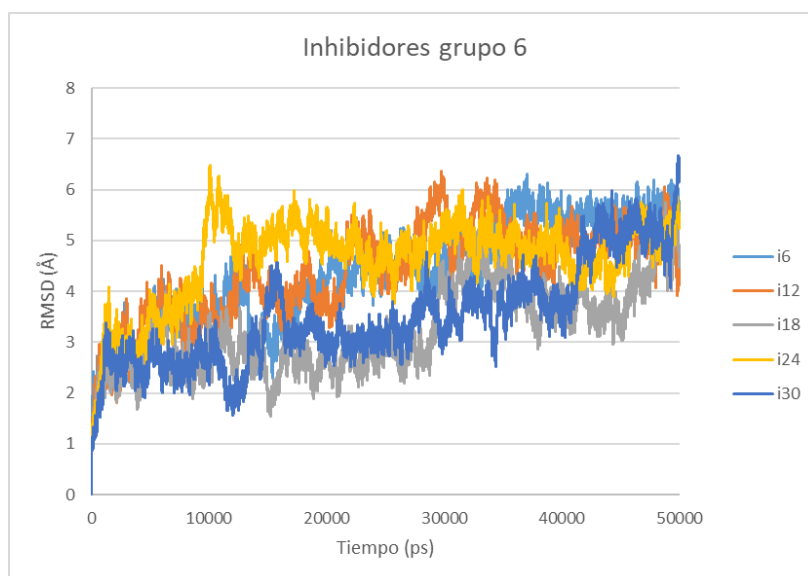


Figura 14 Gráfica RMSD de los inhibidores del grupo 6

En la representación gráfica, Figura 14, del grupo 6 encontramos valores si cabe más bajos que los del grupo 5, además de una mayor constancia en el grupo. Todos ellos muestran un perfil similar, una fuerte subida hasta los valores finales que se mantienen a lo largo de toda la dinámica y terminan convergiendo en el mismo rango de valores, entre 4 y 6 Å. Destacable el inhibidor 24 que, aunque muestra el pico más elevado, es el único que ha alcanzado rápidamente los valores finales en los que convergen el resto del grupo.

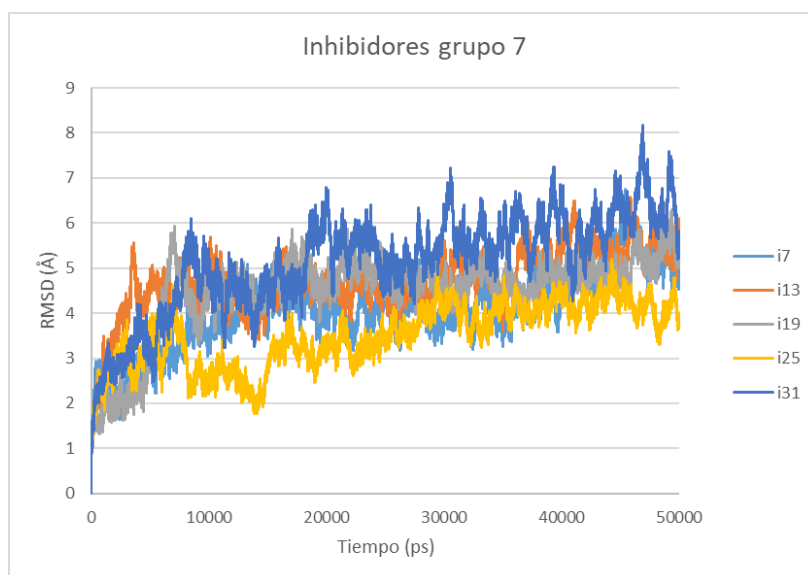


Figura 15 Gráfica RMSD de los inhibidores del grupo 7

La gráfica del grupo 7 (**Figura 15**) cuenta con un peor perfil que el resto, pues no se observa que el grupo alcance un rango de valores estable. Sin embargo, es intuitiva la tendencia de algunos de ellos como el número 25, el cual muestra en los ps finales algo parecido a una tendencia entre valores constantes, 3,5 y 5 Å.

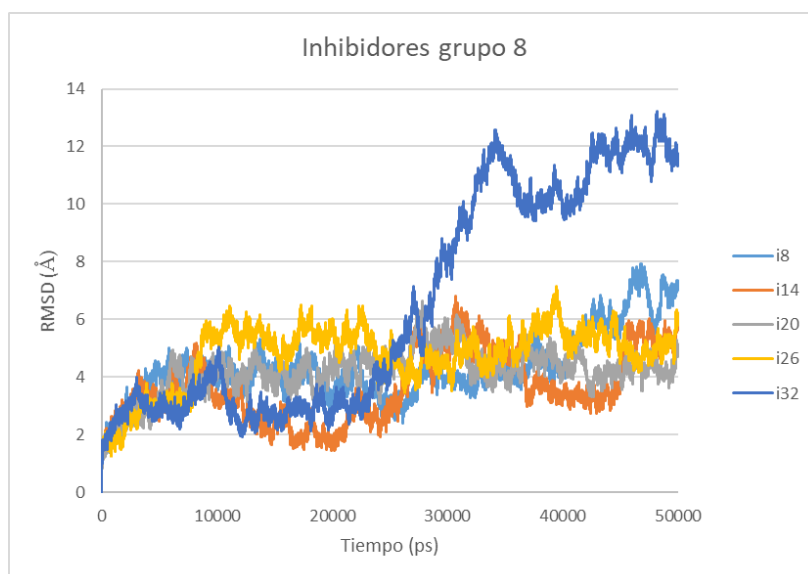


Figura 16 Gráfica RMSD de los inhibidores del grupo 8

En la **Figura 16** encontramos el primero de los perfiles que se podrían considerar erráticos, pues el inhibidor 32, del grupo 8, muestra una repentina subida sobre la mitad de la dinámica hasta valores superiores a 10 Å, manteniéndose finalmente en un rango entre 11 y 13 Å. Esta situación se puede explicar cómo un desplazamiento repentino del inhibidor hasta una posición más estable o un suceso todo lo contrario. El resto de inhibidores del grupo muestran valores más

comunes e, incluso, considerablemente más estables que otros. Destacables, según este análisis gráfico, los inhibidores 20 y 26 que muestran menores variaciones en sus valores, así como valores bajos en su RMSD.

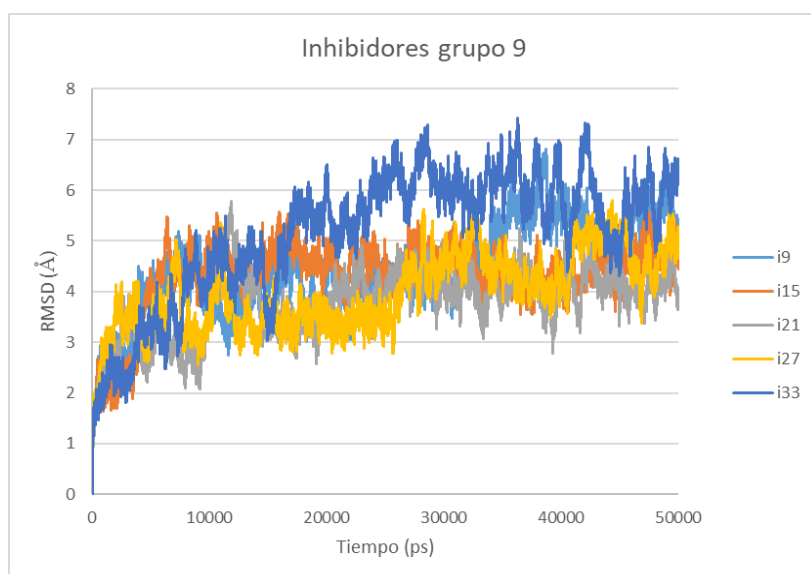


Figura 17 Gráfica RMSD de los inhibidores del grupo 9

El grupo 9 (*Figura 17*) es un buen ejemplo de lo esperado, una subida exponencial que luego genera una meseta de valores máximos. Todos los inhibidores, salvo el 33, muestran una situación estable a los pocos ps del inicio de la dinámica. El inhibidor 33 y, en menor medida, el 9 muestran valores mayores con desplazamientos más erráticos y pronunciados.

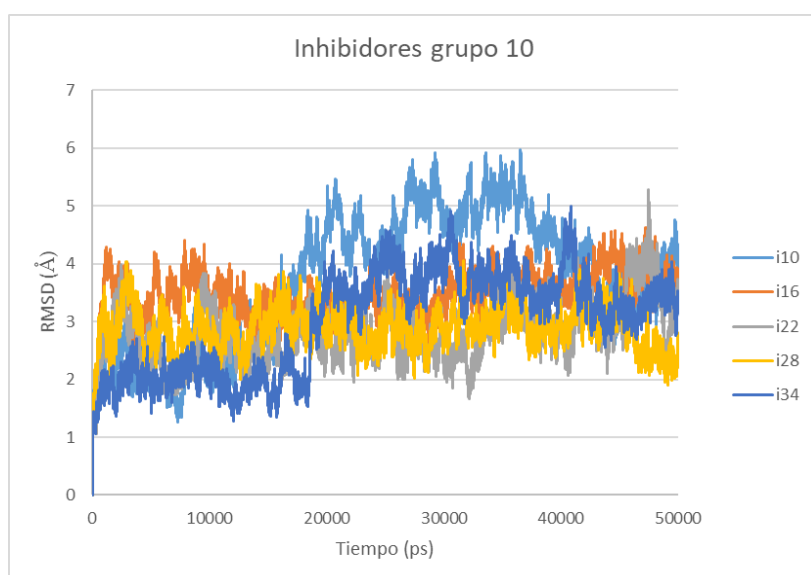


Figura 18 Gráfica RMSD de los inhibidores del grupo 10

Los inhibidores del grupo 10 (Figura 18) son los que más rápido parecen alcanzar las posiciones más estables y se encuentran los valores más bajos, aunque es destacable dos situaciones aparentemente deficientes. En el caso del i34 encontramos una fuerte subida a los 2000 ps que da pie a una rápida adquisición de un nuevo rango de valores RMSD. Por otro lado, parece ocurrir lo mismo con el inhibidor 10 pues también sube hasta un rango mayor, aunque en este caso de forma menos pronunciada. Los mejores inhibidores, según esta gráfica, son el 16, 22 y, especialmente, el 28.

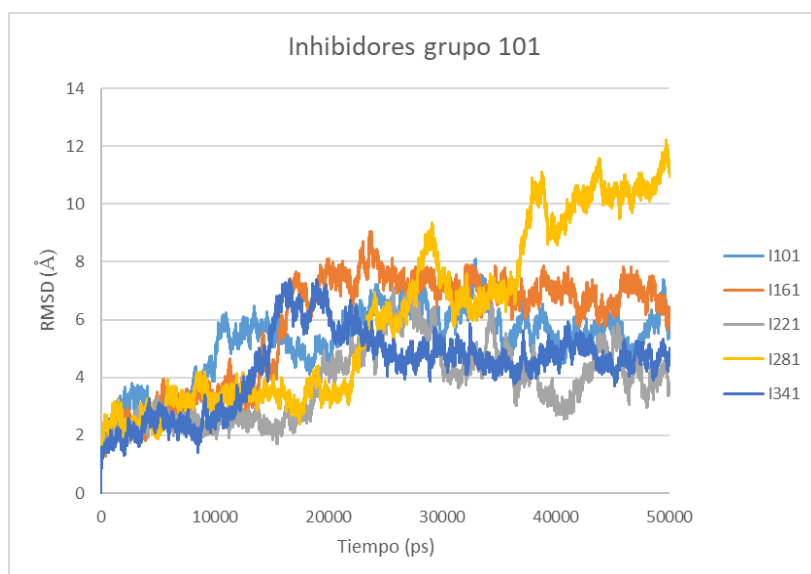


Figura 19 Gráfica RMSD de los inhibidores del grupo 101

Los inhibidores del grupo 101 (Figura 19) que comparten el anillo de tetrazol muestran en su gráfica una situación de clara estabilidad. Aunque este no es el caso del 281, pues esta muestra los valores más elevados y no aparenta en ningún momento estabilización en su desplazamiento. Los inhibidores más destacables son el 101, el 161 y el 341. Estos inhibidores muestran valores aceptables y alcanzan un rango estable en su posicionamiento.

5.2 Resultados y análisis del desplazamiento de los inhibidores:

En este apartado se van a plasmar los resultados obtenidos del desplazamiento de los inhibidores respecto a su entorno proteico. Antes de entrar dentro de los análisis es recomendable explicar la manera en la que se han analizado.

Todos los inhibidores de este estudio cuentan con átomos capaces de aceptar electrones hidrogenoides, mayormente oxígeno y flúor, es decir, capaces de formar enlaces de hidrógeno. Solo se van a considerar interacciones entre la proteína y las moléculas inhibitorias, de modo que descartamos la presencia de moléculas de agua capaces de hacer de puente o que formen enlaces de hidrógeno con los inhibidores.

Además, debemos considerar que la hidrofobicidad de estas moléculas juega un papel fundamental en su estabilidad y por eso, se ha hecho un análisis exhaustivo del entorno hidrofóbico partiendo de los residuos que aparentemente se encuentran en el entorno del inhibidor en el punto final.

Finalmente, es importante destacar al lector que, debido a la cantidad de datos recopilados y al volumen gráfico, todos los resultados, con excepciones, se encuentran en el anexo y se hará continuamente referencia a las gráficas allí presentes, pues son estos los datos que se presentan como resultado en el estudio. Además, la numeración de los átomos en las estructuras puede variar entre los grupos debido a que las estructuras pueden no contener el mismo número de átomos o modificarse de tal manera que cambie el tipo de átomos al que numera. Sin embargo, todos los inhibidores cuentan con figuras en donde se observa su estructura molecular junto con la numeración más importante de los átomos presentes.

5.2.1 Grupo 5:

La estructura del grupo 5 destaca por la posición “para” en el anillo numerado como C13-C16 (el primero de los anillos a la izquierda de la urea (Figura 20)). Estos inhibidores cuentan con movilidad entorno al enlace saturado (C18-C19) que une a los anillos aromáticos, lo que puede dar lugar a rotaciones que doblen la estructura.

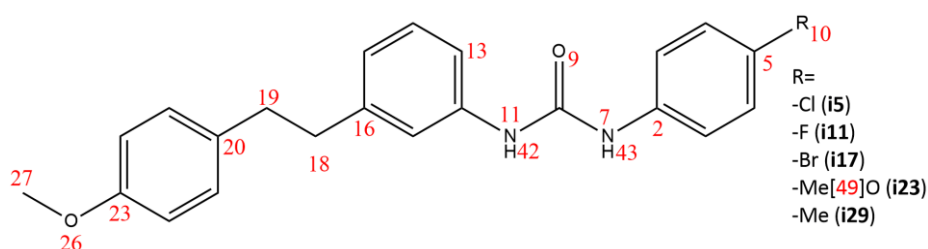


Figura 20 Estructura y numeración de los inhibidores del grupo 5

- I5:

El oxígeno O26 muestra una interacción muy cercana a lo largo de la dinámica entre este y el residuo de Gln175 (Figura 40) en un rango entre 2 y 4 Å.

Los átomos H42 y H43 no muestran diferenciación en relación con el entorno proteico. Se ha encontrado a los residuos Ser100, Asp105 y Asp231 a una distancia dentro del rango entre 3 y 6 Å. El residuo Asp105 es el único de los tres que finalmente se aleja del inhibidor (Figura 41).

Este inhibidor presenta en el C27 un acercamiento con la Val185. Comparativamente, en los ps finales puede observarse un corto espacio de tiempo en el que se produce un acercamiento con otra Valina, la Val177 (Figura 42).

El anillo C20-C23 muestra un entorno estable con los residuos Tyr106, Ile163 y Tyr165. Las Tirosinas 106 y 165 cuentan con anillos aromáticos cercanos capaces de interactuar. La mayoría de estos residuos se mantienen en un rango entre 4 y 6 Å de distancia (Figura 43 y Figura 44).

El anillo aromático C13-C16 cuenta con un entorno hidrofóbico estable, formado por los residuos de Met224 (Figura 45) y Ala104 (Figura 46). En ambos casos se observa durante toda la dinámica una distancia media estable de 4 Å aproximadamente.

En el entorno del anillo C2-C5 se ha encontrado acercamientos favorables y en un rango estable entre este y los residuos de Ile37 (Figura 48) y Tyr232 (Figura 47). Ambos muestran un perfil similar y un distanciamiento de aproximadamente 4 Å de media.

- I11:

El átomo O26 muestra dos residuos cercanos en su entorno, Gln175 y Tyr106 (Figura 49). La distancia con el residuo Gln175 es aproximadamente de 2 a 4 Å, mientras que el Tyr106 permanece más tiempo alejado, pero cuando se acerca lo hace de forma muy pronunciada. Este último residuo se encuentra alejado del O26 en el punto final, a unos 10 Å. En el átomo F10 se ha encontrado un desplazamiento relacionado con la Gln49 (Figura 50) con la cual mantiene un distanciamiento de entre 2 a 6 Å durante prácticamente toda la dinámica.

En el átomo O9 se ha observado un comportamiento similar. Este mantiene la misma posición inicial con los residuos Ile225 y Asp231 entre 3 y 5 Å (Figura 51). Sin embargo, se observa que a partir de la mitad del proceso el rango de desplazamiento se desestabiliza ligeramente.

La Ser100 muestra un ligero acercamiento con los átomos H42 y H43 del inhibidor que dura toda la dinámica. En el punto final se encuentra en un distanciamiento similar con ambos átomos, entre 2,5 y 6 Å (Figura 52).

El átomo C27 muestra con la Val185 un distanciamiento variable (Figura 53). Empieza a una distancia considerablemente cercana y estable, entre 4 y 6 Å, pero durante ciertos periodos se aleja. Es destacable que pasa más tiempo cerca del residuo que alejado y en los últimos ps de la dinámica se vuelven a acercar.

El anillo aromático C20-C23 está franqueado por los anillos de las Tirosinas 106 y 165 (Figura 54), con las que se observa el mismo comportamiento que se observaba en el C27. El distanciamiento es menor entre el anillo C20-C23 y el anillo del residuo 106.

El anillo aromático C13-C16 muestra un comportamiento estable y una distancia media aproximada de 4 Å con los residuos Met224 (Figura 56) y Ala104 (Figura 55). El C2 del anillo C2-C5 muestra un distanciamiento cercano, de unos 4 Å de media, con los residuos Ile37 y Tyr232 (Figura 57).

- I17:

El posicionamiento de este inhibidor ha provocado la rotación del enlace C18-C19 dando lugar una conformación en forma de U. El análisis realizado en la Figura 21 indica que esta situación se produce en los ps finales de la dinámica, indicando una adquisición tardía de lo que podríamos considerar la situación más estable para este inhibidor.

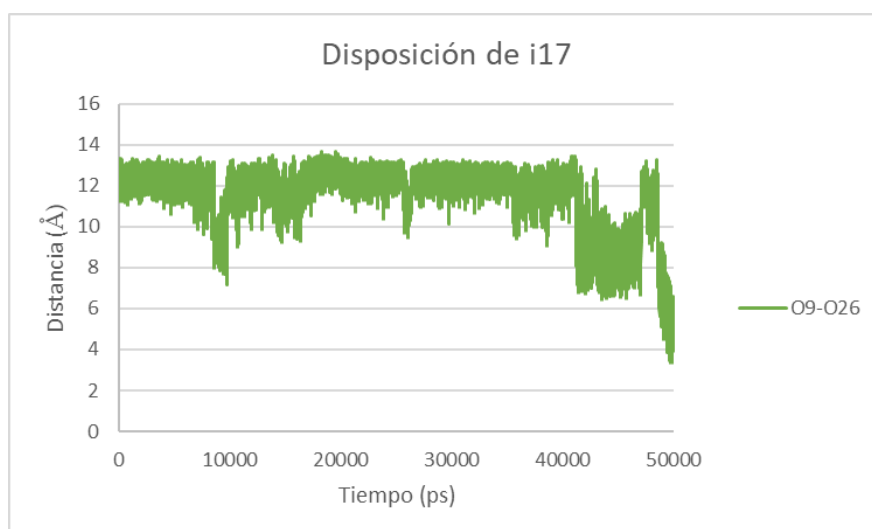


Figura 21 Representación del distanciamiento entre los átomos O9 y O26 del inhibidor 17

Durante el transcurso de la dinámica, el Asn172 se mantiene a unos 3 Å del O26, pero en los últimos ps esta distancia aumenta hasta alejarse por completo (Figura 58). Similar es el comportamiento con el residuo 175, aunque sin estar inicialmente tan cercano (Figura 58). Por otro lado, se ha encontrado a los residuos Arg96, Tyr165 y Arg222 (Figura 59), los cuales terminan todos acercándose al átomo O26 de este inhibidor, hasta unos 5 Å de media. Solo la Tyr165 ya muestra este posicionamiento en el punto inicial de la dinámica. En el átomo O9 solo se ha encontrado un residuo en su entorno, la Ile225 (Figura 60), y este se aleja en el punto final.

El átomo H42 se mantiene a una distancia bastante estable y cercana con los residuos Ala104, Asp105 y Tyr106 (Figura 61). Estas distancias varían en un rango de 2 a 6 Å hasta el final de la dinámica.

El perfil gráfico que relaciona las posiciones entre C27 y la Tyr232 (Figura 62) es similar al visto en la disposición de i17 (Figura 21). Durante toda la dinámica, el residuo Tyr232 se mantiene muy alejado del inhibidor, y justo en los últimos ps se acerca pronunciadamente a este, alcanzando una posición media aproximada de 5 Å. En cuanto al anillo C20-C23 se ha encontrado un desplazamiento frente a los residuos Tyr106 y Tyr165 (Figura 63). Estas tirosinas se mantienen junto al inhibidor hasta el final de la dinámica, solo el residuo 106 parece variar, pero finaliza como el 165 a entre 3 y 5 Å de distancia.

El último de los anillos de la estructura, el C2-C5, muestra un desplazamiento con los residuos Met98 y Ala230 (Figura 64). Este desplazamiento se mantiene desde el punto inicial hasta el final con un rango de desplazamiento estrecho, de unos 3 a 5 Å.

- I23:

En el punto final se observa que el inhibidor 23 también ha adquirido disposición en forma de U, similar a la del inhibidor 17 de este mismo grupo. El análisis gráfico de las distancias entre los átomos O9 y O26 (Figura 22) indica que la posición inicial desaparece a los pocos ps y entonces se empiezan a acercar progresivamente. En el punto final se ha observado que el distanciamiento entre ambos es aproximadamente de 5 Å de media.

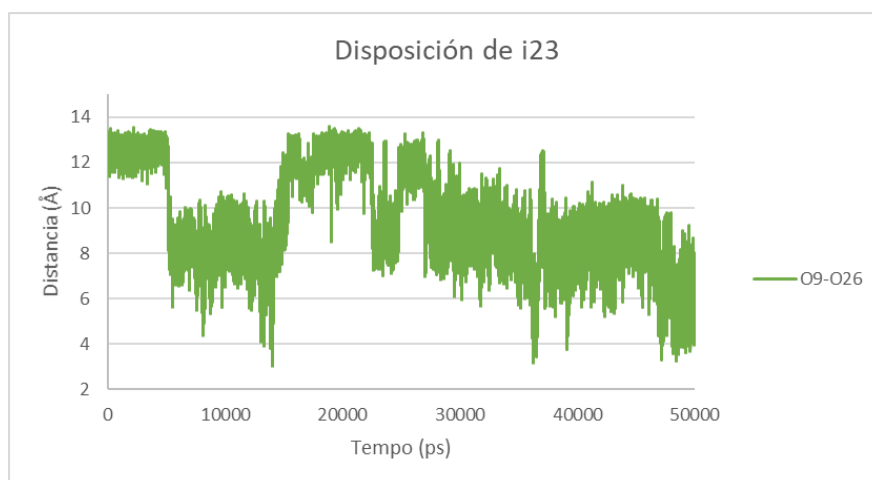


Figura 22 Representación del distanciamiento entre los átomos O9 y O26 del inhibidor 23

Alrededor del átomo O26 se ha encontrado a los residuos Asn172, Arg96 y Tyr39 (Figura 65). Inicialmente este átomo se encuentra cerca del residuo Asn172, pero este se aleja poco a poco hasta un distanciamiento de más de 10 Å. Por otro lado, los residuos 39 y 96 empiezan a más de 10 Å, pero se van acercando hasta que en los ps finales podemos encontrarlos a unos 5 Å del átomo O26.

El átomo O10 mantiene desplazamientos con los residuos Gln49 y Tyr232 (Figura 66). Con la Gln49 mantiene un posicionamiento desde el inicio, aunque durante el transcurso de la dinámica se observan variaciones. En el caso del residuo Tyr232, este inicialmente se encuentra a más de 10 Å, pero se acerca a los pocos ps y se mantiene cercano al O10 hasta los ps finales donde finalmente se aleja.

El análisis gráfico y visual del entorno del átomo H42 ha determinado que no se producen aproximaciones por parte de ningún residuo, todo lo contrario, parece que los residuos Ala104 y Asp105 se alejan del inhibidor (Figura 67).

En el caso del átomo C27 se ha observado un acercamiento por parte del residuo Tyr39 (Figura 68), el cual se acerca inicialmente de forma profusa, pero se vuelve a alejar. Finalmente se observa como este reduce progresivamente su distancia con el inhibidor, hasta quedar a unos 5 Å de distancia. Este tramo final es común y tiene el mismo comportamiento en el caso de C19 y los residuos Tyr106 y Tyr165 (Figura 68), los cuales mantienen durante prácticamente todo el procedimiento la misma distancia, pero en los ps finales convergen en perfil y posicionamiento con el caso de la Tyr39.

El anillo C13-C16 muestra relaciones con el residuo de antes, Tyr165, además de con Ala104 e Ile163 (Figura 69 y Figura 70). Las observaciones del desplazamiento indican un perfil similar al

acontecido entre el C19 y sus residuos. Los posicionamientos iniciales no cambian demasiado hasta que en el tramo final se estabilizan y muestran un distanciamiento pequeño, unos 5 Å. En el caso del extremo C16 es algo más inestable, pero para el C13 se observa perfectamente esta situación.

Finalmente, se ha encontrado a la Val51 en el entorno del átomo C49 (Figura 71), con el cual termina a unos 5 Å de media.

- I29:

La disposición final en forma de U se alcanza a los pocos ps del inicio de la dinámica (Figura 23) y es similar a la ya vista en el inhibidor 17 y 23 de este mismo grupo.

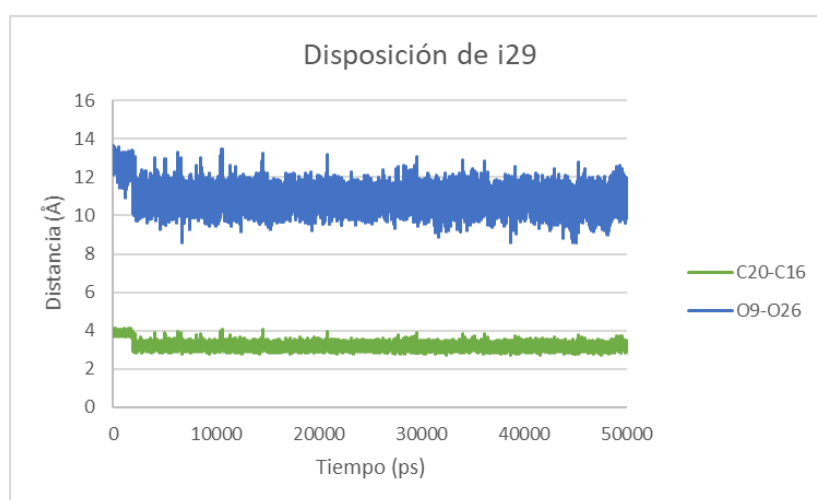


Figura 23 Representación del distanciamiento entre los átomos O9-O26 y C20-C16 del inhibidor 29

En el O9 se ha encontrado al residuo Asp231 (Figura 72), este mantiene su posición inicial cercana durante toda la dinámica. El rango de desplazamiento entre ambos es pequeño, de 3 a 5 Å. Por otro lado, se observa en el átomo O26 a los residuos Ala104 y Asn172 (Figura 73). El Asn172 se aleja hasta más de 10 Å a los pocos ps del inicio de la dinámica, justo en el mismo instante en el que el residuo de Ala104 se aleja, ocupando una posición similar a la que tenía inicialmente el 172.

El átomo H43 (Figura 74) se aleja de los residuos de su entorno, el Ile99 y el Asp105. El desplazamiento con ambos es irregular y varía mucho, pero la distancia es pequeña durante toda la dinámica, unos 4 Å, hasta que en el punto final la inestabilidad gana y se alejan hasta los 5 Å de media. En el caso de H42 (Figura 75) con estos dos residuos es diferente. Lo que se observa es mayor estabilidad que antes y además en los ps finales del procedimiento no hay pérdida de

distancia, lo que mantiene durante toda la dinámica un distanciamiento medio de aproximadamente 4 Å.

Inicialmente los residuos Ile163 y Val177 (Figura 76) se encuentran a unos 12 Å del átomo C27, pero a los pocos ps del inicio de la dinámica se acercan profusamente, hasta mantener un rango de desplazamientos de unos 3 a 7 Å. El residuo Ile163 también está presente en el entorno del átomo C23 del anillo C20-C23 (Figura 77). Esta muestra el mismo perfil de desplazamiento que mostraba con el C27. El anillo C20-C23 también cuenta con la Tyr165, pero esta se mantiene en una posición de unos 7 Å.

El anillo C13-C16 ya no muestra el mismo comportamiento y además no se observa en el C13 cambios en la distancia con el residuo de su entorno Ala104, esta se mantiene en 4 Å durante toda la dinámica (Figura 78).

El desplazamiento de los residuos entorno al átomo C5 del anillo del inhibidor C2-C5 (Figura 79) con el Ile37 y Tyr39 muestra que estos mantienen sus posiciones iniciales, pero arrastran inestabilidad. El más cercano de los dos es el 37 con el que se mantiene un posicionamiento de aproximadamente 4 Å.

Finalmente, el átomo C10 se desplaza con respecto a la Val51 (Figura 80), con la cual termina en un rango entre 4 y 6 Å.

5.2.2 Grupo 6:

Este grupo de inhibidores se caracterizan por el doble enlace, en configuración E, que hace de puente entre los dos anillos aromáticos de la parte izquierda de la urea. Este doble enlace es rígido y no permite rotaciones ni disposiciones dobladas. La configuración en el anillo denominado C13-C16 sigue siendo de meta.

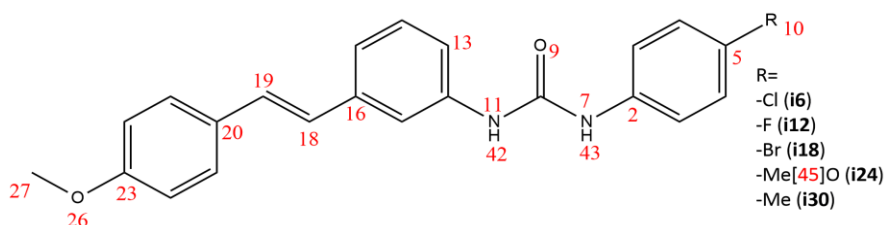


Figura 24 Estructura y numeración de los inhibidores del grupo 6

- I6:

El átomo O26 (Figura 81) parte de un posicionamiento mediocre respecto la Gln175 de la que termina alejándose. No pasa lo mismo con los residuos de Arg96 y Arg108, los cuales parten

alejados, pero terminan a una distancia cercana de aproximadamente entre 3 y 6 Å. El residuo que más tiempo mantiene una posición cercana al átomo O26 es la Arg96. El átomo O9 no muestra acercamientos.

La Ala104 y Ala230, muestran acercamiento con H42, pero de manera menos pronunciada y a una distancia mayor (Figura 82). Se ha encontrado que los residuos Ile225 y Asp231 se acercan al átomo H42 de la urea (Figura 83) hasta una distancia de aproximadamente entre 3 y 4 Å de media. Otros residuos como la Gly103 y la Ser100 muestra un comportamiento contrario y se alejan (Figura 84).

El primer punto destacable de la hidrofobicidad es que el átomo C27, en el punto final, se encuentra ausente de acercamientos por parte de ningún residuo proteico. Así pues, los primeros acercamientos los sufre el átomo C20 del anillo C20-C23 del inhibidor, por parte de las Tirosinas 106 y 165 (Figura 85).

Se ha encontrado un estable acercamiento entre el anillo C13-C16 y la Met224 (Figura 86). Y, en el caso del átomo C5 del anillo C2-C5, se ha encontrado un ligero acercamiento por parte del anillo de la Tyr232. El residuo de Ala104 no aparenta acercamientos, pero aun así mantiene cierto entorno cercano al inhibidor (Figura 87).

- I12:

En el átomo F10 se ha encontrado una variación grande, aunque cercana y estable con el residuo de Gln49, entre 2 y 6 Å (Figura 88).

El análisis gráfico del desplazamiento del entorno al átomo O26 se ha encontrado a los residuos Tyr106, Asn172 y Gln175 (Figura 89 y Figura 90). El átomo ha mantenido, durante el transcurso de la dinámica, variaciones en el posicionamiento respecto a 106, pero sin llegar a empeorar o mejorar el distanciamiento, unos 5 Å finales. La Asn172 es el único de los 3 residuos que aparentemente se acerca más al átomo, pero en el tramo final se aleja hasta una posición media de 8 Å. Este hecho parece afectar a la Gln175 que termina más cerca de lo que inicialmente estaba.

El átomo O9 también cuenta con un entorno poblado de residuos (Figura 91 y Figura 92), se observa a la Tyr165 la cual no se acerca, pero mantiene su posición toda la dinámica, aspecto que también observamos en Tyr165 e Ile225. Estos dos últimos se mantienen a unos 4 Å de media con un rango de variación pequeño. Otro residuo, la Ser100, sí que muestra una tendencia al acercamiento con este átomo, pero es un proceso débil.

El perfil de la Ser100 con el átomo O9 es el mismo que el que se observa con H42 (Figura 93), algo esperable pues ambos elementos se encuentran en la urea de la estructura. Sin embargo, la distancia con H42 es considerablemente menor, lo cual es más favorable.

El C27 muestra un acercamiento con la Val185 y, aunque su perfil muestra algunos tramos con variaciones, mantiene una posición estable (Figura 94).

El átomo C23 del anillo C20-C23 del inhibidor tiene en su entorno a las Tirosinas 106 y 165 (Figura 95), con las cuales no parece mostrar un acercamiento, y, aunque están inicialmente posicionados a unos 4 Å de media, se alejan y desestabilizan en los ps finales, no siendo sustituidos por ningún otro residuo.

En este inhibidor se ha podido detallar la hidrofobicidad del enlace C18-C19, el cual muestra acercamientos con los carbonos de la Ala104 (Figura 96).

El anillo C2-C5 es, entre toda la estructura hidrofóbica del inhibidor, el que muestra mayor acercamiento y estabilidad con algún anillo aromático de su entorno, en este caso, el de la Tyr232 (Figura 97). Ambos extremos del anillo del inhibidor están cercanos al inicio del anillo de la Tirosina y no varían su posicionamiento a lo largo de la dinámica.

- I18:

Este inhibidor ha terminado colocado de tal manera que la mitad de su estructura está fuera de la proteína en contacto con el disolvente. La mitad del inhibidor colocado hacia fuera es la parte del carbono C27 al C18. Este posicionamiento ha evitado acercamientos sobre el átomo O26 (Figura 99) o sobre el anillo C20-C23.

Por el contrario, los átomos de la Urea de la estructura van a mostrar aproximaciones con residuos de la proteína. El átomo O9 (Figura 98) se desplaza en un rango de unos 3 a 5 Å con los residuos Asp231 e Ile225. Más adelante se le acerca la Ser226, desestabilizándose en el tramo final ligeramente y pasando a ser un rango entre 5 a 7 Å. En el caso del átomo H43 (Figura 100), se observa el acercamiento por parte de los residuos Ala104, Tyr106 y Ser226. Este acercamiento es prolongado en el tiempo, y para el 104 y 106 el distanciamiento ha mejorado considerablemente. Para 226, el distanciamiento termina a unos 6 Å de media. También se ha observado el desplazamiento del átomo H43 respecto a Asp105, con el cual termina a un rango de 2 a 4 Å (Figura 101).

El átomo C13 del anillo C13-C16 muestra un acercamiento con Met224, con la cual termina en un rango de 4 a 6 Å (Figura 102).

El átomo C19 muestra un perfil similar con el residuo Tyr106 que el C2 con los residuos de Met98 y Ala104 (Figura 103). Este perfil es inestable al inicio, pero se va estabilizando y reduciendo el rango de distanciamiento. Los tres residuos terminan a una posición media de unos 4 Å de sus respectivos átomos del inhibidor.

- I24:

Inicialmente, el átomo O26 parte de una posición muy cercana del residuo Asn172 y, algo menos cercana, de los residuos Tyr106 y Tyr165 (Figura 104). Con todos ellos el desplazamiento se mantiene constante durante toda la dinámica, no se observan variaciones ni mejoras o empeoramientos en el rango de valores. Lo mismo sucede en el caso del átomo O9 con el Asp231 y la Ile225, los cuales se mantienen en un rango entre 3 y 6 Å (Figura 105).

El comportamiento entre los átomos H42 y H43 (Figura 106-105) con los distintos residuos de su entorno sigue la misma línea que los ya mencionados del O26 y O9. Estabilidad y cercanía son las características clave entre estos y los residuos Met98, Ile99, Ser100, Ala104, Asp105 y Tyr106, algo poco sorprendente pues son residuos consecutivos, pero destacable porque no sucede en todos los residuos.

El entorno hidrofóbico mantiene también el mismo comportamiento que el resto de la estructura. Se ha encontrado acercamientos entre el C27 y el residuo Val185 (Figura 110), el C20 y las Tirosinas 106 y 165 (Figura 111), entre el C13 y la Met224, entre el C5 y la Tyr39 (Figura 112) y entre el C45 y la Ile37 (Figura 113).

- I30:

El residuo de Arg222 muestra un acercamiento con el átomo O9 (Figura 114) a lo largo de la dinámica, hasta terminar, en un rango estable de entre 4 y 8 Å. Mientras que en el caso del átomo O26 (Figura 115), se ha observado una gran cercanía con el residuo Asn172, con el que además mantiene un rango estable de entre 2 y 6 Å durante toda la dinámica. Un perfil similar, aunque a una mayor distancia lo tiene con la Gln175. El último de los residuos del entorno es la Arg108, con el que no se observa estabilidad ninguna salvo en unos pequeños instantes en los tramos finales, aunque no se mantiene en el punto final.

Los residuos Ile99, Ala104, Asp105 y Tyr106, muestran cercanía con los átomos H42 y H43 de la urea (Figura 116, Figura 117, Figura 118 y Figura 119). Se han encontrado en todos ellos, estabilidad y cercanía con el inhibidor, manteniendo en todos los casos una media aproximada de unos 4 Å.

C27 solo cuenta con el residuo Val185 en su entorno, pero durante la dinámica no muestra estabilidad en el desplazamiento respecto a este (Figura 120). De forma totalmente distinta ocurre entre el anillo C20-C23 y el anillo aromático de la Tyr165 en donde se observa un rango pequeño de desplazamiento, así como una cercanía de menos de 4 Å (Figura 120).

Un comportamiento similar, aunque más pronunciado ocurre entre la Met224 y el anillo C13-C16 del inhibidor (Figura 121). Estos se mantienen a un distanciamiento medio de 4 Å. También se observa cercanía entre el anillo y la Ala104 (Figura 122), pero en los tramos finales se pierde la estabilidad en el rango de desplazamiento, aunque la distancia termina siendo similar.

El anillo C2-C5 mantiene proximidad con la Met98 y la Tyr232 (Figura 123 y Figura 124). Con la Met98, C2 muestra mayor cercanía y estabilidad que C5, manteniendo una distancia media de entre 3,5 y 5 Å. Entre este anillo y el anillo aromático de la Tyr232 se observa un ligero alineamiento en las posiciones dentro de los ps finales de la dinámica. El posicionamiento entre ambos anillos varía entre 3 y 6 Å.

Finalmente, el C10 del inhibidor mantiene un posicionamiento cercano con el residuo Ile37 (Figura 125), con el que también muestra inestabilidad, aunque solo en ciertos momentos de la dinámica. En los ps finales, el rango de desplazamiento aumenta entre 4 y 7 Å.

5.2.3 Grupo 7:

La estructura de los inhibidores de este grupo es similar a la del grupo 6 con la diferencia de que en este caso la configuración del doble enlace C18-C19 que hace de puente entre los dos anillos aromáticos es Z. El doble enlace también dificulta la movilidad debida a rotaciones de esta estructura. Sin embargo, veremos cómo esta misma configuración permite una disposición cerrada que empuja a los anillos C20-C23 y C2-C25 a cerrarse y acercarse.

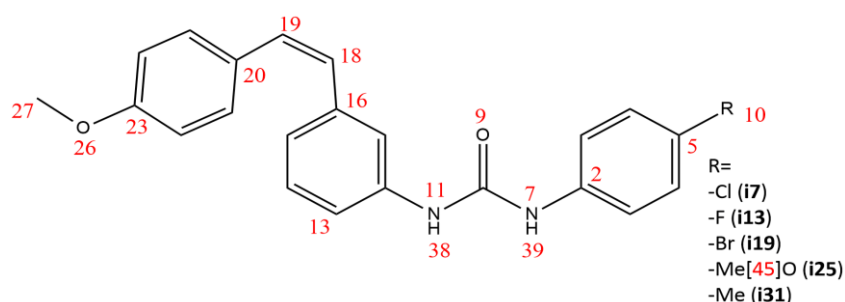


Figura 25 Estructura y numeración de los inhibidores del grupo 7

- I7:

Entorno al O26 se ha observado un desplazamiento respecto al Arg108 (Figura 126), pero en algunos puntos de la dinámica la distancia entre ambos ha llegado a los 3 Å. De forma completamente distinta sucede con la Lys107, con la cual mantiene un distanciamiento de aproximadamente 6 Å de media durante toda la dinámica, además de ser un rango de desplazamiento estrecho. Sin embargo, en el átomo O9 no se observan aproximaciones por parte de ningún residuo, ocurre todo lo contrario, la Ser100 se aleja de este (Figura 127).

Se ha encontrado que los átomos H38 (Figura 129) y H39 (Figura 128) mantienen un distanciamiento cercano con los residuos Asp105 y Tyr106. Este desplazamiento es de un rango elevado, entre 3 y 7 Å para el 106 y entre 2 y 7 Å para el 105.

No se observa en el punto final presencia de ningún residuo con capacidad de aproximarse al C27. En el caso del anillo C20-C23 este se mantiene cerca de dos anillos aromáticos de la proteína, Tyr106 (Figura 130) y Tyr165 (Figura 131). El desplazamiento de estos con el anillo 106 es estable y cercano para el C23, unos 4 Å, y algo más alejado para el C20, unos 5,5 Å. Para el anillo del 165 ocurre al contrario se observa más estabilidad con el C20, pero el distanciamiento es similar.

El anillo C13-C16 también cuenta con un buen entorno, cercano y estable, con los residuos de Tyr165 (Figura 132) e Ile163 (Figura 133). El rango de desplazamiento con 165 es de entre 3 y 6 Å, mientras que con 163 es de unos 4 a 6 Å.

El último de los anillos C2-C5 de la estructura muestra un comportamiento similar a los anteriores con los residuos Met98 (Figura 135) y Ala104 (Figura 134). El rango de desplazamiento es de 3,5 a 5 Å y 4 a 6 Å, respectivamente.

- I13:

El F10 de este inhibidor muestra un desplazamiento favorable con la Ser100 (Figura 136), la cual se aproxima de forma ligera hasta posicionarse a una distancia media aproximada de 5 Å.

Alrededor del átomo O26 se observan a los aminoácidos Arg108 y Tyr106 (Figura 137). El desplazamiento respecto al 106 es estable y cercano, de un rango aproximado de entre 4 y 6. Por el contrario, el rango de desplazamiento con 108 es mayor, entre 4 y 8, además es un desplazamiento más inestable.

En el O9 no se han observado grandes desplazamientos con los aminoácidos de su entorno. Se ha encontrado a los residuos Ile225 y Asp231 (Figura 138), con los que mantiene el mismo perfil de desplazamiento, en un rango de 3 a 6 Å.

Los protones H38 y H39 de la urea de este inhibidor cuentan con los residuos Asp105 y Tyr106 (Figura 139). El 105 se aleja mientras que el 106 mantiene su posicionamiento y se va estabilizando hasta terminar en una posición cercana, entre 3 y 4 Å.

El perfil hidrofóbico de este inhibidor muestra un desplazamiento inicial seguido de un distanciamiento estable y cercano con los residuos de su entorno. En C27, esta situación sucede con el residuo de Arg108 (Figura 140). El anillo C20-23 (Figura 141) cuenta con la proximidad del anillo aromático Tyr106, siendo el C23 más cercano y estable que su alterno C20. En el anillo C13-C16 (Figura 142) se observa un comportamiento similar con el residuo de Met224, aunque no existen diferencias sustanciales entre los extremos del anillo.

El perfil de los anteriores desaparece de forma apreciable en el desplazamiento entre el anillo C2-C5 y el residuo de Met98 (Figura 143). Sin embargo, se mantiene una cercanía y estabilidad importantes.

- I19:

El átomo O26 es estable en su posicionamiento respecto a la Tyr106 (Figura 144), con la que mantiene durante toda la dinámica un rango entre 3 y 6 Å. Mientras que las observaciones del desplazamiento de O9 respecto a los residuos Ile225 y Asp231 (Figura 145) sugieren una afinidad que acerca dichos residuos al inhibidor hasta una posición media aproximada de 4 Å y en un rango de desplazamiento estable, entre 3,5 y 6 Å.

El Asp105 se aleja de los protones H38 y H39 (Figura 146), pasando de unos 3 Å de media para H39 y de unos 4 Å para el H38, a 4 y 6 Å respectivamente.

Se han encontrado similitudes en los perfiles, rangos y distancias entre los desplazamientos hidrofóbicos respecto al inhibidor. El átomo C27 se mantiene a una distancia estable de la Lys107 (Figura 147), unos 4 Å de media. En el caso del anillo C20-C23 (Figura 148) respecto al anillo de Tyr106 se modifica en la posición de C23 dando lugar a un ligero alejamiento, aunque ambos anillos se mantienen próximos, a unos 4 y 6 Å de distancia para C23 y C20 respectivamente.

En el caso del anillo C13-C16 (Figura 149) se puede observar un desplazamiento estable y favorable con el residuo de Met224, salvo por un desplazamiento pronunciado durante el primer

trcho de la dinámica. A pesar de este hecho, el residuo 224 se acerca al anillo hasta colocarse en un rango de distancias entre 4 y 6 Å.

El anillo C2-C5 muestra desplazamientos respecto a los residuos Met98 (Figura 150) y Ala230 (Figura 151), siendo en el caso de la Met98 un distanciamiento hasta una posición de 6 para C2 y de 8 para C5. Para la Ala230 encontramos una gran estabilidad y cercanía con el inhibidor, siendo para ambos extremos del anillo un rango de entre 4 y 6 Å.

- I25:

Se ha encontrado que el posicionamiento de este inhibidor ha sido tal que ha evolucionado hasta posicionarse en forma de U muy cerrada, con el átomo C27 muy cerca de una de las caras del anillo C2-C5. Si observamos la Figura 26 se puede ver como la disposición del inhibidor se ha alcanzado a los pocos ps del inicio de la dinámica y se ha mantenido hasta el final. Es el primero de los inhibidores de este grupo en mostrar un posicionamiento doblado.

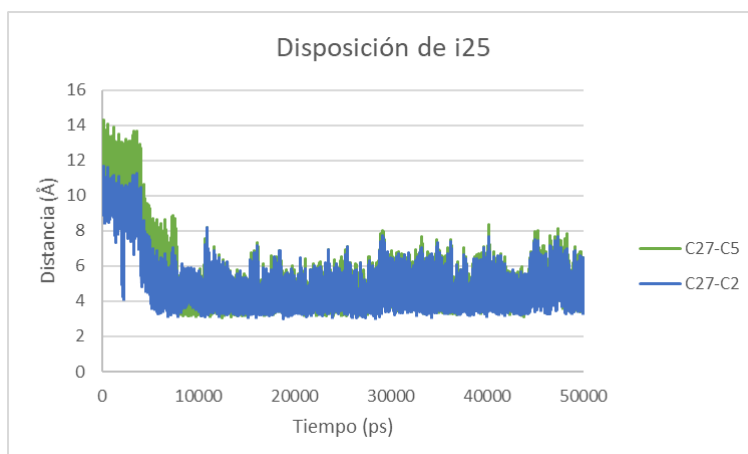


Figura 26 Representación del distanciamiento entre el átomo C27 con los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 25

El residuo de Gln175 (Figura 152) muestra un desplazamiento respecto al átomo O9 que lo acerca a este, pasando de una distancia de 12 Å hasta una distancia de prácticamente 3 Å de media. Una de las situaciones desfavorecida por el posicionamiento se observa en el átomo O26 y en su desplazamiento respecto a la Tyr106 (Figura 153), del que se encontraba al principio a una distancia media de aproximadamente 3 Å pero que, tras el movimiento, termina a una distancia media aproximada de 6 Å. Se puede observar el mismo perfil que tenía el O9 en el caso de O10 respecto a la Ile225 (Figura 154), con un posicionamiento similar de unos 4 Å.

Alrededor de la Urea, átomo H39 (Figura 155), se ha encontrado un desplazamiento más errático que los anteriores pero que acerca este a los residuos Ser100 y Gly102. El posicionamiento final varía entre 2 y 4 Å para la Ser100 y entre 2 y 6 Å para la Gly102.

La otra cara del anillo C2-C5, que no está bloqueada por C27, mantiene una aproximación similar a las de O9 y O10, pero con la Ser226 (Figura 158). El otro anillo, C20-C23, muestra en su átomo C20 un posicionamiento cercano con Ala104 y Tyr165 (Figura 156). Se puede observar como este átomo intercambia las posiciones con ambos residuos, empezando cercano a 165 y más alejado de 104, y terminando más cercano de 104 con ahora la posición de este ocupada por 165.

El anillo C13-C16 muestra una tendencia que lo aproxima al residuo de Val177 (Figura 157), manteniendo en el tramo final un desplazamiento entre 4 y 6 Å. En el extremo del inhibidor se ha encontrado a C45 (Figura 159) rodeado de varios residuos de la proteína con los que muestra relación. Parte de una distancia cercana del aminoácido Ile37, pero su posición se ve desplazada hasta una media de 6 Å permitiendo al residuo de Ala230 ocupar su lugar con una distancia media de 4 Å.

- I31:

Se ha encontrado un desplazamiento extremadamente cercano entre el átomo O9 del inhibidor y el residuo de Ser100 (Figura 160). Este posicionamiento mantiene a ambos a una distancia de prácticamente 2 Å de media. Mientras que en el caso de O26 se ha observado un distanciamiento inicial con la Tyr106 que se estabiliza a unos 6 Å (Figura 160). No se han encontrado aproximaciones entre los residuos de la proteína y los átomos dadores de electrones hidrogenoides de la urea del inhibidor.

En el análisis hidrofóbico encontramos estabilidad durante todo el proceso. El C27 mantiene un posicionamiento estable de unos 5 Å con el anillo de Tyr106 (Figura 161). Los átomos del anillo C20-C23 se colocan a una distancia similar del residuo de Met98 (Figura 162). De igual modo se observa entre los átomos de C13-C16 con los residuos de Ala104 (Figura 163) y Met224 (Figura 164), siendo en este último un posicionamiento más cercano que los anteriores, de unos 4 Å. En el caso del anillo C2-C5 la distancia entre este y los residuos de Ile37 (Figura 165) y Tyr39 (Figura 166) es mayor que los anteriores, de unos 6 Å.

Finalmente, el átomo C10 muestra un comportamiento que lo acerca al residuo de Val51 (Figura 167), con el que mantiene un posicionamiento de unos 4 Å durante prácticamente todo el proceso.

5.2.4 Grupo 8:

Este grupo es similar al grupo 5, pero difiriendo en la configuración del primer anillo aromático a la izquierda de la urea, el denominado C12-C15 equivalente al de antes C13-C16. Esta nueva configuración es para en vez de meta como sucedía en el grupo 5.

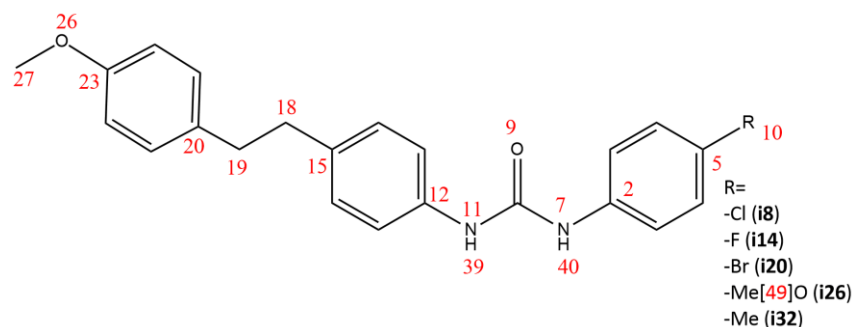


Figura 27 Estructura y numeración de los inhibidores del grupo 8

- i8:

Se observa una evolución en la distancia entre los carbonos 15 y 20 del inhibidor. Este desplazamiento acerca a ambos carbonos dando al inhibidor una disposición en forma de U (Figura 28).

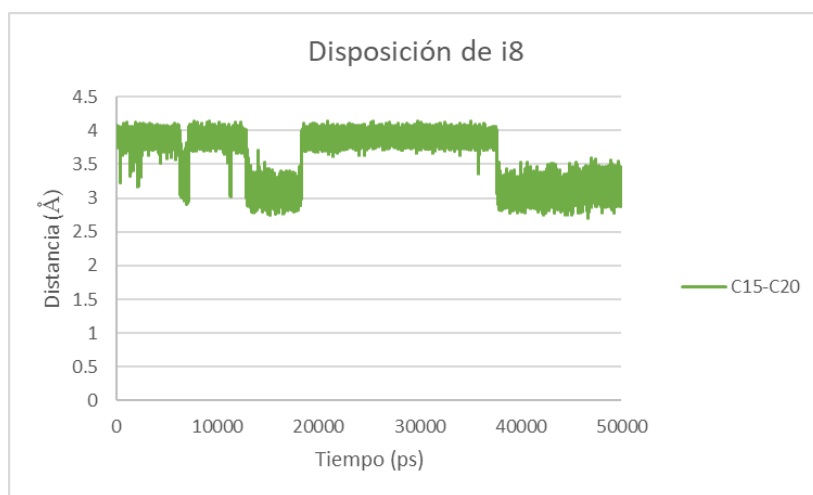


Figura 28 Representación del distanciamiento entre los átomos C15 y C20 del inhibidor 8

Se ha encontrado que el átomo O26 mantiene en su entorno más cercano a los residuos Tyr165 y Gln175 (Figura 168). La gráfica muestra que, el residuo 175, que inicialmente está más cerca del inhibidor, intercambia su posicionamiento en repetidas ocasiones con el 165. En la posición final se ha encontrado que es el 165 el que permanece más cerca del inhibidor, unos 4Å, ganando así la posición al 175.

En cuanto al análisis del entorno al O9 (Figura 169), todo indica que el acercamiento se produce desde la Ser100. Este residuo muestra un desplazamiento que lo deja en el trecho final en una posición cercana a este, unos 4 Å.

Los residuos Tyr106 (Figura 170), Ala230 (Figura 171), Asp231 (Figura 172) y Tyr232 (Figura 173) forman parte del entorno de los átomos H39 y H40 del inhibidor. El 106 parte alejado, unos 12 Å, pero en los ps finales del procedimiento se aleja profundamente hasta una distancia de aproximadamente 4 Å de media. En el caso del 230, el proceso que se sufre es distinto, pues partiendo de una posición relativamente cercana se termina quedando a una distancia de casi 8 Å, más alejada que en el inicio. La situación que se observa en el 231 y 232 es similar, con un perfil que no difiere prácticamente en ningún punto, indicado una relación estrecha. La distancia en estos últimos residuos, que en algunos casos llegaba a ser de 2 Å, termina siendo, en el punto final, de prácticamente 6 Å.

Se ha encontrado en los análisis gráficos de los desplazamientos hidrofóbicos de este inhibidor, una relación compartida entre todas las partes de su estructura. El anillo de la Tyr106 (Figura 174) muestra un acercamiento final muy estable con el átomo C27, hasta unos 4 Å. Para el anillo C20-C23 (Figura 175) sucede lo mismo con el anillo de la Tyr165 y además con la misma distancia media.

El anillo C12-C15 se relaciona con los residuos de Ala104 (Figura 176) y de Met224 (Figura 177), los cuales mantienen un distanciamiento final de unos 4 Å y unos 5 Å respectivamente.

Finalmente, el anillo C2-C5 muestra algunas diferencias con los anteriores, pues el perfil de desplazamiento con los residuos de Tyr39 (Figura 178) y Met98 (Figura 179) es diferente. A pesar de ello, se ha encontrado que los desplazamientos son estables, es decir, mantienen un rango de desplazamiento relativamente estrecho y cercano. Para el 39 es de unos 6 Å y para el 98 es de 5 Å.

- I14:

Se observa que el residuo de Gln49 (Figura 180) ha mantenido contactos cercanos durante el desplazamiento con el átomo N7, pero solo durante un corto periodo pues en la gráfica se muestra como este residuo mantiene una relación muy próxima con el F10 durante prácticamente todo el proceso, de entre 2 y 4 Å. El átomo O26 mantiene un distanciamiento irregular con el residuo de Gln175 (Figura 181), con el cual mantiene el distanciamiento a una distancia media de 4 Å.

El residuo de Ala230 muestra desplazamientos que lo colocan en una posición entre 2 y 6 Å con los átomos H39 y H40 (Figura 182). Durante el desplazamiento entre ambos se observan irregularidades que lo alejan y lo vuelven a acercar, pero en el punto final se mantiene una distancia media aproximada de 4 Å.

El entorno de C27 muestra desplazamientos irregulares con la Val177 (Figura 183). El rango en el que se mueve este desplazamiento está entre 4 y 8 Å, terminando la posición en una media aproximada de 5 Å.

El anillo C20-C23 (Figura 184 y Figura 185) cuenta en su entorno con aproximaciones por parte de los residuos Tyr106, Ile163 y Tyr165. Con el residuo de Tyr106 se observa un desplazamiento más alejado e irregular que con los otros dos. Los residuos 163 y 165 se aproximan al C23 en los primeros ps de la dinámica terminando en un rango de posiciones estrecho, entre 4 y 6 Å. Hay cierta diferenciación entre los extremos del anillo C20-C23, que en resumidas cuentas se deduce que el C20 se encuentra más alejado de los residuos.

El anillo C12-C15 está rodeado por Met98 (Figura 187), Met224 (Figura 188) y Ala230 (Figura 186). El residuo 230 y 98 muestran una aproximación al anillo en los primeros ps del proceso, terminando el primero a una distancia aproximada de 4 Å con un rango de desplazamiento estrecho, y el segundo a una distancia de 6 Å con un rango de desplazamiento más ancho. La Met224 muestra otro perfil, pues este se mantiene más distanciado e irregular frente al anillo.

Por último, el anillo C2-C5 muestra un ligero y breve acercamiento al anillo de la Tyr232 (Figura 189), pero termina recuperando su posición inicial, de 6 y 8 Å para C2 y C5 respectivamente. Sin embargo, se encuentra otro anillo en las inmediaciones con el que sí que parece mantener una estabilidad mayor, el anillo de la Tyr39 (Figura 190), con el cual mantiene un distanciamiento de 4 Å de media.

- I20:

En el punto final se observa una disposición en forma de U debido a la rotación del enlace C18-C19. Gráficamente (Figura 29) se observa entre C12 y C23 que inicialmente se encuentran a unos 7 Å, punto donde la molécula está estirada, aunque algo retorcida, pero que a los pocos ps se estira completamente hasta casi 10 Å. Finalmente, casi por la mitad del proceso la molécula recupera su posición y se va cerrando sobre si misma hasta alcanzar unos 5 Å de media entre C12 y C23.

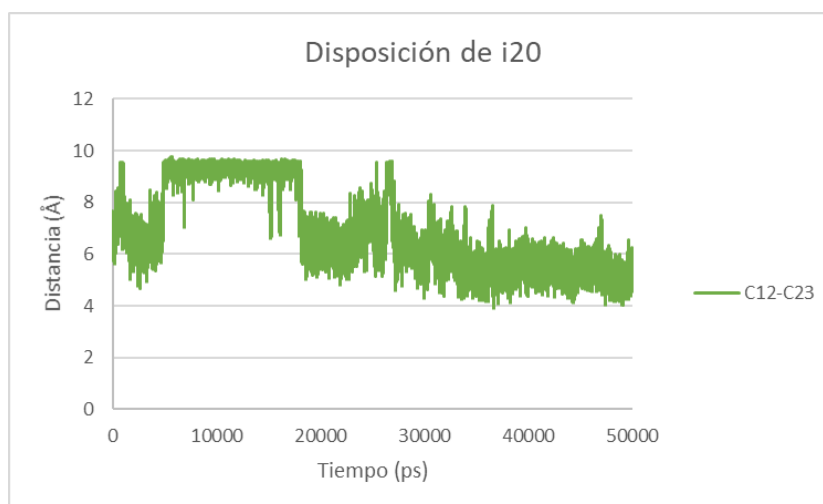


Figura 29 Representación del distanciamiento entre los átomos C12 y C23 del inhibidor 20

El átomo O26, el cual mantiene una aproximación favorable con los residuos Ala104, Ser226 y Ala230, y en menor medida con Ser100 y Gln175. Se observa cierta convergencia entre estos residuos Ser100 y Ala104 (*Figura 191*) terminando en el punto final dentro del rango entre 4 y 10 Å, siendo el 104 el más cercano de los dos. Por el contrario, se observa mayor estabilidad y afinidad en el desplazamiento con 226 y 230 (*Figura 192*), los cuales terminan en una posición de aproximadamente 5 con un rango de desplazamiento más estrecho.

Entorno a H39 se han encontrado a los residuos Ala104, Asp105 y Ala230 (*Figura 193*), que mantienen cierto posicionamiento cercano durante la dinámica pero que terminan alejándose de este en los ps finales.

El C27 sufre un acercamiento por parte del residuo Ile163 (*Figura 194*) el cual parte de unos 6 y un desplazamiento irregular y ancho, y termina a una distancia de 4 Å con un rango de desplazamiento entre 3 y 6 Å, mucho más estrecho y estable. De forma similar se observa entre el átomo C23 y el residuo Tyr165, no así como con Ala104 (*Figura 195*). Con la Ala104 lo que se observa es un perfil mucho más ancho e irregular, aunque termina ligeramente más cercano.

El anillo C12-C15 (*Figura 196*) está impedido en uno de sus laterales debido al cierre de la molécula en posición U. La otra cara del anillo se encuentra orientada hacia el anillo de la Tyr106, con la cual se observa un desplazamiento que los coloca a una distancia media aproximada de 4 Å

Algo similar se ha encontrado entre el C5 y los residuos de Tyr39 y Tyr232 (*Figura 197*). La distancia final con ambos residuos tiene un rango de desplazamiento estrecho y es cercana con el primero de ellos, unos 4 Å, y algo más alejada con el segundo, unos 6 Å.

- I26:

La visualización de este inhibidor en el punto final muestra que más de la mitad de la estructura está inmersa en el disolvente (el lado de los anillos C20-C23 y C12-C15), aunque esa misma parte de la estructura mantiene uno de sus lados con ciertos contactos con la proteína. El átomo O26 muestra un desplazamiento con la Gln175 (Figura 198) con la que mantiene irregularidad e inestabilidad fruto de la movilidad de este inhibidor y su inmersión en el disolvente.

El O9 y el O10 muestran acercamientos por parte de las Serinas 226 y 100 respectivamente (Figura 199). En los dos casos tienen perfiles similares, aunque en el caso del 100 es mucho más pronunciado. Estos residuos se acercan en los ps iniciales a los átomos del inhibidor, en cuyo momento generan su posición, estable y cercana al inhibidor, que durará hasta los compases finales de la dinámica. Para ambos la distancia media aproximada sería de unos 5 Å, siendo para el residuo 226 un rango de desplazamiento más ancho y algo más irregular, aunque también llega más cerca del inhibidor.

El análisis de las distancias de H39 y H40 muestran un acercamiento con los residuos Tyr106 (Figura 201) y Asp231 (Figura 200). El 106 se acerca progresivamente desde una distancia más alejada que el 231, pero en el tramo final el 106 se mantiene más cercano, entre 2 y 6 Å. Para el 231 la posición final varía entre 4 y 7 Å.

Como ya se ha indicado, la visualización del punto final coloca al inhibidor con la mitad de su estructura fuera de la proteína y por lo tanto en su análisis hidrofóbico no se han encontrado aproximaciones al C27 ni al anillo C20-C23.

En cuanto al anillo C12-C15 (Figura 202) la situación es totalmente distinta. En este caso se ha observado un entorno formado por el residuo Ile163 y las Tirosinas 106 y 165. La Tyr165 y la Ile163 mantienen su posición con respecto al inhibidor y en el caso del 163 se observa un ligero desplazamiento hasta alcanzar una distancia de aproximadamente 4 Å de media. El distanciamiento de la Tyr106 a lo largo de la dinámica muestra un acercamiento al inhibidor más pronunciado que finalmente termina en una posición estable a unos 6 Å de media aproximadamente, una distancia lejana pero más cercana que inicialmente.

Se observa que el residuo Ala230 ha mantenido su posicionamiento cercano frente al anillo C2-C5 (Figura 203). Por otro lado, se le ha acercado la Tyr106 hasta colocarse a una distancia media de 6 Å aproximadamente. El mismo perfil de distanciamiento que se observa entre el residuo Ala104 y el C49 (Figura 204).

- I32:

Se observa que durante el proceso este inhibidor se ha colocado de forma que los átomos C12-C23 de la propia estructura se han acercado entre sí (Figura 30). Gráficamente se observa que este posicionamiento ocurre en varios estados de la dinámica, siendo así que no parece permanecer en ninguno de los casos. Sin embargo, en el punto final encontramos precisamente esta disposición.

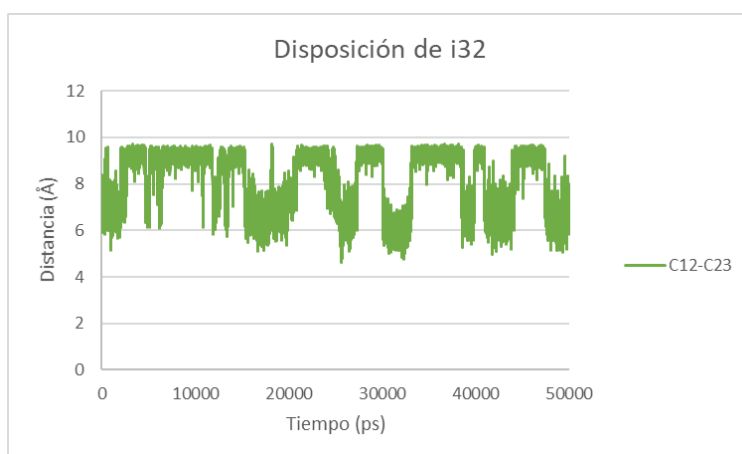


Figura 30 Representación del distanciamiento entre los átomos C12 y C23 del inhibidor 32

En el análisis RMSD (Figura 16) se vio como este inhibidor mostraba un comportamiento irregular y fuera de la norma, indicando que no había alcanzado una posición estable dentro del centro activo de PD-L1. De modo que, no se ha redactado una descripción exhaustiva de lo que visualmente muestran los desplazamientos de los átomos respecto a la proteína dado que estos no reflejan la estabilidad de este en el interior del centro activo. Las Figura 205 a Figura 210 muestran los resultados del desplazamiento de este inhibidor frente a su entorno.

Se requeriría un estudio más profundo de lo sucedido a lo largo de la dinámica para comprender la razón que ha llevado al desplazamiento de este inhibidor, pero no se realizará en este trabajo ya que no entra dentro de sus objetivos.

5.2.5 Grupo 9:

La estructura de este grupo de inhibidores es similar al grupo 6 pero con posición para en el primero de los anillos a la izquierda de la urea (anillo C12-C15). También es similar a los del grupo 8 pero con un doble enlace entre C18-C19 en configuración E.

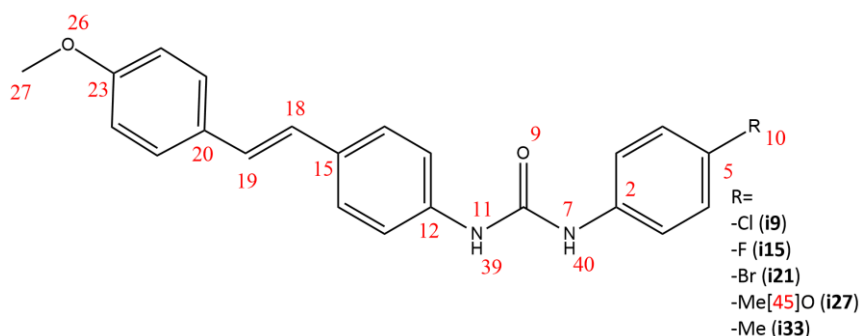


Figura 31 Estructura y numeración de los inhibidores del grupo 9

- I9:

El O26 se desplaza cerca de los residuos Tyr106, Gln175 y Tyr232 (*Figura 211*). Se observa al residuo 106 progresar a lo largo de la dinámica y finalmente acercarse junto con el resto pues todos convergen a la misma distancia del átomo O26, unos 5 Å. Por otro lado, no se ha detectado residuos cercanos al átomo O9.

Los átomos H39 y H40 muestran desplazamientos respecto a los residuos Asp231 y Tyr232 (*Figura 212*), los cuales muestran el mismo perfil de desplazamiento con ambos átomos. Se observa que en varios momentos el distanciamiento con el inhibidor se reduce a valores muy pequeños, pero esto solo ocurre en contadas ocasiones, en el tramo final lo que se observa es que todos convergen en el mismo rango de valores, entre 6 y 9 Å. Otro residuo presente en el entorno es la Ser100 (*Figura 213*), la cual muestra un comportamiento diferente ya que termina en un intervalo aún más cercano, entre 4 y 8 Å.

El átomo C27 se estabiliza en su desplazamiento frente a la Val177 (*Figura 214*). En el tramo final se mantiene en un rango por debajo de 4 Å que llega por encima de 6 Å. Entorno al anillo C20-C23 se ha encontrado a los residuos Ile163 (*Figura 215*) y Tyr106 (*Figura 216*). El residuo 163 muestra estabilidad en su desplazamiento con el átomo C23 del anillo e inestabilidad con el C20, con ambos el rango se encuentra entre 4 y 7 Å aproximadamente. En el caso del residuo 106 lo que se encuentra es diferente ya que ahora la mayor estabilidad la presenta con el átomo C20 y la inestabilidad, aunque no tanta como con 163, la presenta el C23. La gráfica demuestra que el posicionamiento en el tramo final de ambos se encuentra entre 4 y 6 Å.

El anillo C12-C15 se relaciona con los residuos Met98 (*Figura 217*) y Ala230 (*Figura 218*). Con el residuo 98 el desplazamiento se mantiene a lo largo de toda la dinámica manteniendo un rango entre 4 y 7 Å. Una situación similar ocurre con la Ala230, aunque en este caso el rango es más estrecho y cercano, entre 3 y 5 Å.

El anillo C2-C5 se acerca en el tramo final con el residuo de Tyr39 (Figura 219), generando una posición favorable de aproximadamente 5 Å de media.

- I15:

El residuo Tyr106 se acerca desde el primer momento al átomo O26 y se alinea con el perfil de desplazamiento del residuo Gln175 (Figura 220). Ambos residuos se mantienen finalmente en un rango entre 3 y 8 Å. En el caso del átomo O9 (Figura 221), los residuos Ala230, Asp231 y Tyr232 muestran el mismo perfil de desplazamiento. El residuo que se acerca más al átomo O9 es la Tyr232 la cual alcanza una distancia media aproximada del 4 Å. El átomo F10 no muestra ningún residuo cercano, el único del entorno, la Gln49 se aleja del inhibidor (Figura 222).

Los átomos H39 y H40 muestran un entrono formado por los residuos Ile37 (Figura 223), Val38 (Figura 224), Tyr39 (Figura 225) y Met98 (Figura 226). Los residuos Ile37 al Tyr39 muestran el mismo perfil, situación esperable pues están unidos entre sí por enlaces peptídicos. En cualquier caso, es destacable el desplazamiento de todos ellos. El residuo 37 alcanza una posición media de 6 Å, mientras que el 38 y 39 se sitúan a 5 Å. El perfil en el caso del residuo 98 es similar, pero con más diferencias, pues, aunque se produce el acercamiento inicial que se observa en los anteriores, también se mantiene en un rango más elevado, pero más cercano, entre 3 y 8 Å.

La Val177 se relaciona con el átomo C27 (Figura 227), con el cual mantiene el distanciamiento inicial tras un trecho en el que se desplaza lejos del inhibidor. El rango de desplazamiento es de entre 4 y 6 Å. En el caso de los átomos del anillo C20-C23 se ha observado una aproximación por parte del anillo aromático de la Tyr106 (Figura 228). En particular el desplazamiento llega a ser de entre 3,5 a 5,5 Å. También se desplaza respecto de la Ile163 (Figura 229) con la cual mantiene un posicionamiento similar que con el residuo anterior.

Los residuos Met98 (Figura 230) y Ala230 (Figura 231) también se aproximan a los átomos del anillo C12-C15 y lo hacen de forma muy pronunciada y estable. Estos alcanzan un distanciamiento de 6 y 4 Å de media respectivamente. Los átomos del anillo C2-C5 también sufren la aproximación con los residuos Tyr39 (Figura 232) y Val51 (Figura 233). En ambos casos el rango de desplazamiento es bastante ancho, entre unos 4 a 8 Å, y no se observa demasiada estabilidad.

- I21:

Se ha encontrado la aproximación de los residuos Gln175 (Figura 234) y Lys107 (Figura 235) respecto al átomo O26. En el caso del residuo 175 se observa un acercamiento de entre 2 a 5 Å, mientras que para la Lys107 se produce un acercamiento más pronunciado que resulta en una

distancia media de 8 Å, que no es mucho, pero se mueve en un rango de entre 5 a 10 Å. No se ha detectado aproximación por parte de ningún residuo hacia el átomo O9.

Los átomos H39 y H40 muestran desplazamiento con los residuos Ile225 (Figura 237), Asp231 (Figura 236) y Tyr232 (Figura 238). El distanciamiento más cercano se produce con los residuos Asp231 y Tyr232. Estos alcanzan distancias de entre 2 y 5 Å. En el caso del 225, se ha producido el mismo perfil de desplazamiento que con 231, pero en este caso el posicionamiento es más alejado, entre 4 y 8 Å.

C27 muestra desplazamientos con los residuos Val177 y Val185 (Figura 239). Con Val185 el desplazamiento es más inestable que con Val177, pero alcanza un rango de desplazamiento final más estrecho de entre 4 a 6 Å. Para 177 se observa que el desplazamiento, aunque ancho, es también constante a lo largo de todo el proceso, manteniendo una distancia media aproximada de 6 Å.

El anillo C20-C23 solo cuenta con un residuo que se le aproxime en su entorno, la Tyr165 (Figura 240). Esta se le acerca en los ps finales y luego se mantiene en un rango de desplazamiento entre 4 y 6 Å. Para el anillo C12-C15 sí que se ha encontrado más de un residuo, el Ala104 (Figura 241) y el Met224 (Figura 242). El perfil es similar, aunque el 224 parte de una distancia mayor y se acerca de forma más pronunciada. Ambos muestran estabilidad y un rango estrecho de desplazamiento. Para la Ala104 es de entre 3 y 6 Å, mientras que para la Met224 es de entre 4 y 5 Å.

El estudio de los residuos entorno al anillo C2-C5 ha encontrado un distanciamiento cercano con los residuos Ile37 (Figura 243) y Tyr39 (Figura 244). El perfil de desplazamiento entre los extremos del anillo y el residuo 37 es diferente, C5 muestra más cercanía y un rango de desplazamiento menor, entre 3,5 y 5 Å. Para el 39 es distinto pues el desplazamiento, aunque en un rango estrecho, varía de forma ondulatoria a lo largo de la dinámica. En el tramo final este se mantiene entre 5 y 7 Å.

- I27:

Se ha encontrado un desplazamiento irregular entre la Gln175 y el átomo O26 (Figura 245), manteniendo un posicionamiento final de aproximadamente 5 Å. Algo parecido también ocurre en el caso de la Ser100 y el átomo O9 (Figura 246), pero manteniendo en el trecho final un posicionamiento medio más cercano, de unos 4 Å.

Se ha observado al residuo Gln49 en el entorno del átomo O10, aunque su desplazamiento termina en una distancia mayor entre ambos. El O10 también cuenta con otra aproximación,

con la Lys107, con la cual se produce una aproximación favorable que termina en un posicionamiento que varía en un rango entre 4 y 6 Å (Figura 247).

En el estudio de los desplazamientos en el entorno de H39 y H40 (Figura 248) se ha observado el acercamiento de la Gln49 que antes se alejaba de O10 y ahora se acerca a estos protones. Este desplazamiento llega a ser de 2 Å en algunos puntos de la dinámica, pero termina manteniendo un distanciamiento de 5 Å de media.

El átomo C27 mantiene cercanos a los residuos Ile163 y Val177 (Figura 249). El 163 es constante en su desplazamiento, el cual varía en un rango entre 4 y 6 Å en el tramo final. En cuanto al 177 lo que se observa es un mayor distanciamiento, aunque en los últimos ps se observa un acercamiento similar al que mantenía el 163.

El anillo C20-C23 se desplaza respecto al anillo de la Tyr106 (Figura 250), con el que se acerca en el inicio del proceso y se mantiene junto a este con una relativa estabilidad y a un distanciamiento medio de aproximadamente 6 Å. Este anillo también se relaciona con el residuo Ile163 (Figura 251), con el cual mantiene un desplazamiento estable en un rango entre 4 y 6 Å. Se ha encontrado este mismo comportamiento entre el anillo C12-C15 y el residuo de Met98 (Figura 252). También se encuentra desplazamiento entre la Ala230 y el anillo C12-C15 (Figura 253). En este caso el desplazamiento es más estable con el C15 y se observa mayor distanciamiento e inestabilidad con el C12.

El estudio ha dado como resultado al anillo C2-C5 cercano al residuo Ile37 (Figura 254), con el que mantiene un desplazamiento inicial que dura durante toda la dinámica. Este desplazamiento es algo inestable y con una distancia media de 5 Å aproximadamente. Finalmente, se ha encontrado que existe una cercanía estable entre la Val51 y el átomo C45 de este inhibidor (Figura 255).

- I33:

Se observa a los residuos Arg108, Asn172 y Gln175 con trayectorias de desplazamiento que finalizan en el entorno más próximo al átomo O26 (Figura 256). Los tres residuos terminan a una distancia media de aproximadamente 5 Å. El posicionamiento inicial de los tres está escalonado, siendo el 108 el más alejado, seguido del 172 y finalmente el 175 el cual ya parte del distanciamiento final de los tres. Se ha encontrado que los residuos Asp105 y Tyr106 (Figura 257) se acercan al átomo O9 y mantienen su posicionamiento respecto a este a lo largo del proceso. Se observa un ligero distanciamiento en los ps finales que se recupera en el punto final manteniendo un distanciamiento de 4 Å.

H39 y H40 (Figura 258) no muestran acercamientos respecto de los residuos del entorno, solo se ha podido detallar como se ha alejado del inhibidor el residuo Asp105.

En el análisis hidrofóbico, se encuentra que el átomo C27 mantienen un distanciamiento que se le aproxima con el residuo Val185. El anillo C20-C23 también muestra este perfil con el mismo residuo, Val185 (Figura 259). Esto es indicativo del punto intermedio en el que se encuentra este residuo.

Entre los residuos entorno al anillo C12-C15 se han encontrado a la Tyr106 (Figura 260) y la Met224 (Figura 261). La Tirosina muestra un comportamiento similar en el trecho final con ambos extremos del anillo, estos se mantienen en un distanciamiento media de 5 Å. La Met224 sí que mantiene un distanciamiento similar con ambos extremos, aunque más cercano con el C12 que con el C15. En este caso el distanciamiento observado en el punto final es de unos 4 Å de media aproximada.

El anillo C2-C5 muestra una especial estabilidad con los residuos de su entorno. Estos residuos son la Met98 (Figura 262) y la Ala104 (Figura 263). Los dos perfiles son similares, un primer acercamiento que finaliza en lo que ya sería el posicionamiento final, para el 98 de unos 4 Å y de 5 Å para la Alanina. Finalmente, se encuentra que el átomo C10 mantiene un desplazamiento estable con la Ile37 (Figura 264), en el que se alcanza un distanciamiento medio de 4 Å.

5.2.6 Grupo 10:

La mayor particularidad de la estructura de los inhibidores de este grupo es la presencia del anillo de Triazol, el cual no solo añade dos átomos extra capaces de aceptar densidad electrónica (N31 y N32) sino que además mantienen aromaticidad en el anillo, representado por acercamiento por parte de C34.

Las visualizaciones de los inhibidores de este grupo en el punto final han confirmado que los protones H28 y H29 de la urea apuntan hacia lados distintos, aunque esto ha progresado de forma distinta en cada inhibidor.

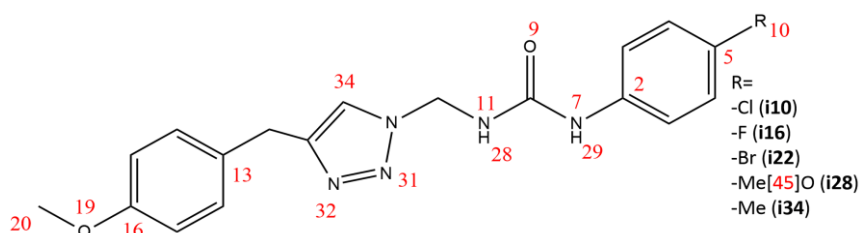


Figura 32 Estructura y numeración de los inhibidores del grupo 10

- I10:

Este inhibidor no ha terminado de doblarse completamente sobre sí mismo, pero sí ha adquirido una disposición similar a una U. La **Figura 33** muestra el desplazamiento de este inhibidor frente a sí mismo. Se puede ver como, sobre la mitad de los ps, el inhibidor ha reducido el distanciamiento entre C20 y los átomos del anillo C2-C5, indicando que se ha doblado.

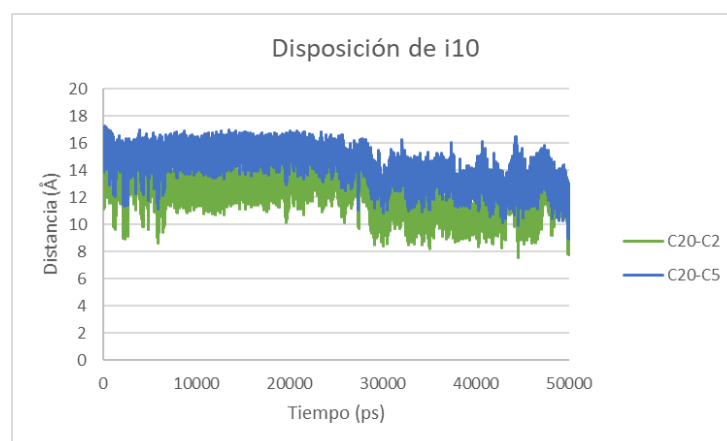


Figura 33 Representación del distanciamiento entre el átomo C20 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 10

La Ser226 se encuentra relacionada con los átomos O9 y O19 (**Figura 265**). Sin embargo, es con el átomo O9 con el que muestra mayor acercamiento en cierto trecho de la dinámica. Esta relación se pierde y el residuo termina en un posicionamiento intermedio con ambos átomos,

de unos 6 Å de media, aunque algo más alejado de O9 que de O19. El O19 además cuenta con la Gln175 (Figura 266), la cual muestra un desplazamiento irregular, aunque termina en una posición cercana con dicho átomo. Este posicionamiento termina siendo de entre 3 a 6 Å.

Por otro lado, se ha encontrado que la Arg222 se acerca al anillo de triazol (Figura 267) formado por los nitrógenos N31 y N32. Este acercamiento se produce a lo largo de la dinámica partiendo de un punto inicial muy alejado, por encima de 15 Å, y termina a unos 5 Å.

El posicionamiento de la Tyr39 (Figura 268) respecto de los átomos H28 y H29 se traduce en una aproximación desde un punto inicial alejado hasta una distancia de 6 y 4 Å respectivamente. El perfil de ambas aproximaciones es similar y solo se diferencian en el distanciamiento. Este mismo perfil se observa también en el desplazamiento de estos átomos con la Gln49 (Figura 270), con la que mantiene un distanciamiento algo mayor en el punto final, de unos 8 Å para el H28 y de 6 Å para H29. Los átomos H28 y H29 también mantiene relaciones con los residuos Ser226 (Figura 269) y Gly228 (Figura 271). Con el 226 lo que se observa son varios desplazamientos a lo largo de la dinámica y que se encuentran sincronizados para ambos átomos. En el tramo final el residuo se aleja del inhibidor hasta casi 8 Å para ambos átomos. En el caso de la Gly228 lo que se observa es un perfil parabólico que sugiere la aproximación del residuo al inhibidor, finalizando en un distanciamiento de unos 6 Å para ambos.

En el extremo de la estructura del inhibidor se ha encontrado que el átomo C20 mantiene un distanciamiento cercano con la Ile163 (Figura 272) la cual se mantiene en prácticamente todo momento a una distancia media de 5 Å. El anillo C13-C16 muestra una aproximación similar por parte de los residuos Ala230 (Figura 273) y Met224 (Figura 274). Estos residuos parten de distanciamientos similares y se acercan también de manera similar. El residuo Ala230 termina a una distancia de aproximadamente 5 Å, mientras que el Met224 termina más cerca a unos 4 Å. Además, se encuentra que el C34 del anillo de triazol (Figura 275) mantiene un desplazamiento que también se acerca por parte de la Ala230 y que finaliza a unos 4 Å.

Finalmente, la Ala230 también se acerca al anillo C2-C5 del inhibidor (Figura 276), pero de forma menos pronunciada que en los anteriores y además a una distancia mayor, unos 6 Å. Este anillo también muestra un desplazamiento respecto del anillo de Tyr39 (Figura 277), el cual parece mantenerse ligeramente alejado y estable hasta que en los ps finales se acerca ambos extremos del anillo hasta una posición de unos 4 Å.

- I16:

El átomo F10 muestra un acercamiento por parte de la Gln49 (Figura 278) y que se mantiene en el trecho final a una distancia media aproximada de unos 4 Å. El átomo O9 se mantiene relacionado con la Gln175 al igual que este residuo lo hace el átomo O19 (Figura 279). El desplazamiento del residuo respecto a los dos átomos está relacionado, siendo pues, si se acerca a uno de ellos se aleja del otro. El átomo O9 también se mantiene cercano de los residuos Ser100 y Ser226 (Figura 280). Con ambos parten de una posición similar, pero es con el residuo 100 con el que mantiene la mayor cercanía en uno de los tramos finales, de prácticamente 2 Å de media. Esta distancia se pierde en los ps del final cuando se aleja ligeramente hasta 4 Å. La Ser226 termina a una distancia mayor que la inicial de la que partía. El O19 también cuenta con otros dos residuos en su entorno, las Tirosinas 106 y 165 (Figura 281). Estas tienen el mismo perfil de desplazamiento, el cual muestra una aproximación con el inhibidor a partir de la mitad del procedimiento. El distanciamiento final es para ambos similar, de unos 7 Å de media.

Alrededor de los átomos H28 y H29 se observa a los residuos Ile225 (Figura 282) y Ser226 (Figura 283), pero ninguno muestra un acercamiento. En todos los casos se alejan hasta posiciones más distanciadas que en el punto final. Para Ile225 el distanciamiento final es de uno 6 Å, mientras que para Ser226 varía para H28 y H29, siendo de 8 y 5 Å de media aproximada respectivamente.

El mismo perfil que se observaba para el O19 y los residuos Tyr106 y Tyr165 se observa ahora para el átomo C20 y Tyr106 (Figura 284). Esta situación es justificada pues C20 y O19 están unidos por un enlace covalente. Por otro lado, este átomo también muestra cercanía con el residuo de Met98 (Figura 285), con el cual muestra un desplazamiento que los acerca a lo largo de la dinámica y que finaliza a unos 5 Å. El residuo Met98 también se aproxima al anillo C13-C16 (Figura 285) y lo hace con el mismo perfil que lo hacía con C20. Además, el residuo se mantiene a la misma distancia de ambos extremos del anillo del inhibidor. El residuo de Ala104 se acerca al anillo C13-C16 (Figura 286) y termina en un posicionamiento entre 4 y 6 Å.

Se ha encontrado que el anillo C2-C5 cuenta con un entorno formado por los residuos Val51 (Figura 287), Met224 (Figura 288) y Ala230 (Figura 289). En el caso de la Val51 se ha encontrado un desplazamiento final que lo acerca al inhibidor hasta una distancia media aproximada de 5 Å. La Met224 muestra un acercamiento menos forzado y más constante en el tiempo que finaliza también a unos 5 Å de media. Y, por último, la Ala230 parte de una distancia media de 4 Å y una estabilidad apreciable par ambos átomos C2 y C5 pero que desaparece en el trecho final, cuando el residuo se leja del inhibidor hasta una distancia media aproximada de entre 5 a 6 Å. Es de

destacar que para los residuos 51 y 224 no experimentan diferencias en el desplazamiento respecto a los extremos del anillo del inhibidor.

- I22:

En la gráfica de la **Figura 34** se puede ver como el átomo C20 recorta distancia con los átomos del anillo C2-C5 que se encuentran en el extremo contrario del inhibidor. Esto es una representación de cómo el desplazamiento ha provocado que este inhibidor sufra periodos en los que adquiere una conformación doblada.

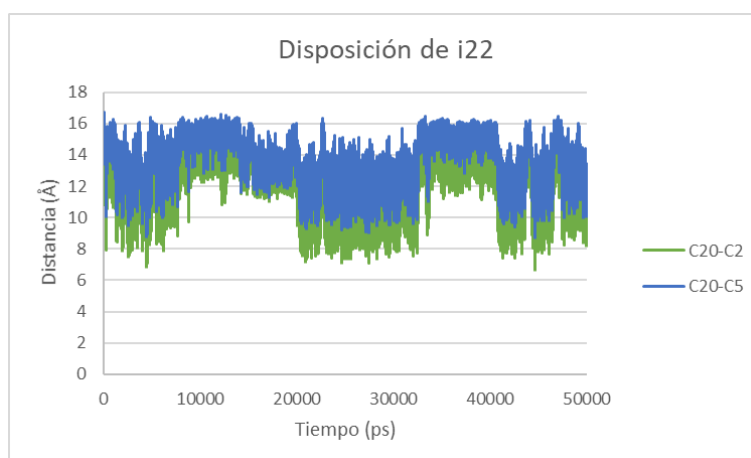


Figura 34 Representación del distanciamiento entre el átomo C20 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 22

El átomo O19 muestra desplazamientos próximos con el residuo de Gln175 (**Figura 290**). En este caso se ha encontrado que sufren variaciones prolongadas en el tiempo en donde se alejan y se acercan. En el tramo final se encuentran a una distancia de aproximadamente 6 Å. No ocurre lo mismo en el caso de este residuo con el átomo O9 (**Figura 291**). En el desplazamiento se observa una mayor aproximación del residuo Gln175 al átomo O9, que resulta en un distanciamiento de aproximadamente 3 Å de media.

En este inhibidor también se ha encontrado una aproximación por parte de la Hsd178 al anillo de triazol (**Figura 292**), situación que se observa en el desplazamiento de este residuo frente a los átomos N31 y N32. Un comportamiento similar se muestra entre estos átomos del inhibidor y la Ala104 (**Figura 293**), pero aún más pronunciado. En el caso del residuo Hsd178 la distancia media aproximada del punto final es de unos 5 Å, mientras que para el residuo Ala104 la distancia varía entre 2 y 3 Å.

Los resultados de los desplazamientos proteicos frente a los átomos H28 y H29 dan como resultado una aproximación inicial por parte de la Ala104 y la Tyr106 (**Figura 294**). El residuo 104 es, de los dos, el que más permanece cercano al inhibidor, entre unos 2 a 4 Å.

El anillo de triazol se ha desplazado de tal manera que ha permitido una aproximación entre el C34 y la Val177 (Figura 295). Estos dos elementos se mantienen a una distancia media aproximada de 4 Å. Este residuo también ha sido encontrado en el entorno del anillo C13-C16 (Figura 296). Este se le acerca, aunque de manera irregular al átomo C16 y algo más estable con el C13. El distanciamiento final es de aproximadamente entre 4 y 6 Å. El C13 muestra también relación con el residuo de Ala1 (Figura 297), con el cual muestra acercamientos ligeramente estables y que se desliza entre 3 y 6 Å.

El átomo C20 muestra el mismo perfil de desplazamiento que tenía O19, pero en este caso el desplazamiento se realiza respecto a la Val185 (Figura 298). El distanciamiento final que se puede percibir es de aproximadamente 5 Å de media. Finalmente, el estudio de los desplazamientos ha detectado otra aproximación protagonizada por la Ala104 y en este caso hacia los átomos del anillo C2-C5 (Figura 299). Este desplazamiento se produce en el mismo momento del inicio de la dinámica y alcanza un desplazamiento muy estable, unos 4 Å, que se mantiene hasta el final del proceso. Por otro lado, este anillo también mantiene en su entorno al residuo de Met98 (Figura 300), con el cual desde el inicio mantiene un distanciamiento aproximado de entre 3,5 y 6 Å.

- I28:

Los resultados de los desplazamientos entorno al átomo O19 (Figura 301 y Figura 302) han detectado la presencia de los residuos de Tyr106, Asn172 y Gln175. Todos ellos muestran cierto grado de aproximación al inhibidor, pero también muestran desplazamientos irregulares que se alejan y acercan repetidamente de este. El acercamiento más pronunciado lo realiza el residuo 106, el cual se acerca desde una distancia de aproximadamente 12 Å hasta colocarse a unos 7 Å. Las posiciones finales de los residuos 172 y 175 coinciden entre sí, siendo de aproximadamente unos 6 Å de media, aunque varían entre 4 y 8 Å.

La Tyr165 muestra un desplazamiento que lo aproxima a los átomos N31 y N32 del anillo de triazol (Figura 303). Esta aproximación coloca al residuo a una distancia media aproximada de unos 5 Å y que varía entre 3 y 6 Å.

Se ha encontrado a los residuos Ile99 (Figura 304), Ser100 (Figura 305), Ile225 (Figura 306) y Ser226 (Figura 307) entorno a los átomos H28 y H29. Solo la Ser100 muestra un cierto grado de acercamiento al H29 pues parte de unos 5 Å hasta colocarse entre unos 3 a 4 Å. El resto de residuos muestran distanciamiento en algún punto del proceso. La Ile99 parte de aproximadamente 2 Å y se aleja en el punto inicial hasta unos 6, más adelante, sobre la mitad del proceso se vuelve a desplazar hasta una posición estable para ambos átomos de unos 8 Å.

Los residuos 225 y 226 muestran un perfil de desplazamiento similar, aunque más pronunciado para el 225. En ambos casos el posicionamiento inicial respecto a H29 es el más cercano. En la lle225 la posición final es similar para H28 y H29, situación que cambia al fijarse en las posiciones finales de la Ser226, la cual sigue manteniendo un acercamiento mayor con H29. Los distanciamientos finales se observan en la gráfica de la figura.

En este caso el desplazamiento de C20 respecto a la Val185 (Figura 308) difiere en el desplazamiento observado de O19. En C20 se observa cómo se mantiene un distanciamiento durante toda la dinámica que se mueve en un rango ancho de unos 4 a 8 Å. Este residuo también se relaciona con el anillo C13-C6 (Figura 308) con el que mantiene un mayor distanciamiento. El anillo también está desplazándose respecto a la Tyr106 (Figura 309), con la cual muestra un perfil de desplazamiento irregular pero que los aproxima, mostrando en el punto final unos 7 Å de media.

El átomo C45 (Figura 310 y Figura 311) se aproxima a los residuos de Tyr232 y Met224, 5 y 7 Å de media respectivamente. Este átomo también mantiene en el entorno a la Tyr39, con la cual mantiene su desplazamiento inicial de unos 4 Å. Además, también se observa un desplazamiento que aleja al átomo C45 del residuo Met98 el cual recupera parte de su posición hasta unos 5 Å de media, muy similar a la posición de la Tyr39.

El átomo C34 del anillo de triazol (Figura 312) se desplaza manteniendo su posición inicial respecto a la Ala104 con la que se mantiene en un rango de desplazamiento estrecho y cercano, entre 3 y 5 Å.

Finalmente, se ha encontrado que la Met98 (Figura 313), junto con la Ala230 (Figura 314), también se relaciona con el desplazamiento del anillo C2-C5. El residuo 98 alcanza un posicionamiento respecto al inhibidor que varía en un rango entre 3 y 7 Å. El Ala230 parte de un desplazamiento cercano y estrecho, unos 3 a 5 Å, pero que se aleja y ensancha hasta unos 3 a 7 Å.

- I34:

En el punto final se ha encontrado que este inhibidor está ligeramente doblado con el anillo C2-C5 orientado ligeramente hacia el otro extremo de la estructura como se observa en la gráfica de la Figura 35.

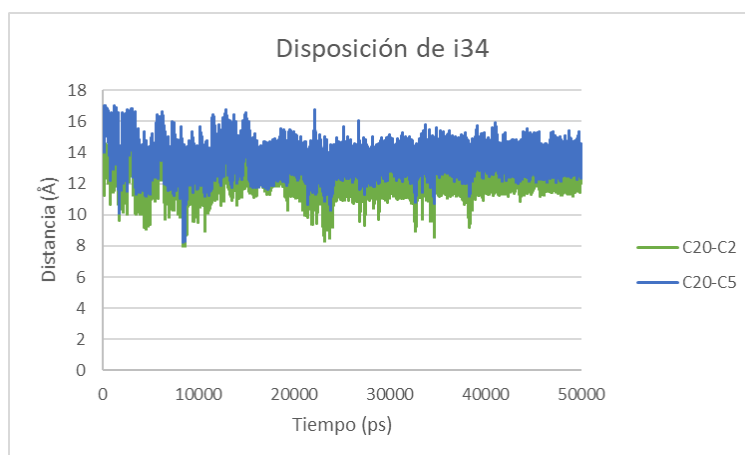


Figura 35 Representación del distanciamiento entre el átomo C20 y los átomos del anillo C2-C5 inhibidor 34

El átomo O9 de este inhibidor se encuentra desplazándose cercano a la Tyr165 (*Figura 315*), pero este se mantiene finalmente a una distancia que varía entre 4 y 7 Å. Por otro lado, el átomo O19 se relaciona con la Gly103 (*Figura 316*), la cual muestra un perfil de desplazamiento que lo aproxima al inhibidor, partiendo de una distancia de prácticamente 13 Å, hasta una distancia de 5 Å de media.

Entorno al átomo N31 del anillo de triazol (*Figura 317*) se ha encontrado la presencia de los residuos Ser226 y Ala104. La Ser226 se estabiliza y mantiene en el trecho final a una distancia de aproximadamente 7 Å. No pasa lo mismo con la Ala104, que, aunque partiendo del mismo posicionamiento inicial que 226, esta no se estabiliza al mismo tiempo y por el contrario se acerca ligeramente y termina variando su distanciamiento entre unos 3 y 5 Å.

La Ala104 se ha encontrado entorno a los átomos H28 y H29 (*Figura 318*). Este residuo mantiene un rango de desplazamiento que varía entre 4 y 6 Å. Otros residuos entorno a los protones de la urea son el Asp105 (*Figura 319*) y Ile99 (*Figura 320*). Ambos residuos muestran similar perfil de desplazamiento con H28, un desplazamiento estrecho y estable desde el inicio a unos 6 Å de media. En el caso de H29, el perfil es ligeramente similar pero el punto más importante es que en ambos casos es más cercano que con H28. El distanciamiento final entre H29 y los residuos 105 y 99 es de entre 2 a 6 Å y 4 a 8 Å respectivamente.

C20 se relaciona con los residuos Ile163 y Val177 (*Figura 321*), con los cuales termina a un distanciamiento en el trecho final que varía entre 4 y 7 Å. Por el contrario, el anillo C13-C16 solo muestra una aproximación, en este caso por parte de la Gly103 (*Figura 322*). Esta se aproxima profusamente desde una distancia de 9 Å hasta unos 4 Å de media para los dos extremos del anillo.

Los resultados han determinado que el átomo C34 perteneciente al anillo de triazol mantiene un acercamiento con los residuos Ala104 y Tyr165 (Figura 323). Esta aproximación deja a los residuos a una distancia del inhibidor de aproximadamente 4,5 Å de media.

En el anillo C2-C5 (Figura 324 y Figura 325) se observa un entorno formado por las Metioninas 98 y 224. La Met224 muestra un desplazamiento que, partiendo de una distancia moderada, lo acerca hasta una proximidad que varía entre 3 y 5 Å. Sin embargo, el estudio del desplazamiento del residuo 98 muestra un distanciamiento más irregular e inestable que en el trecho final varía entre 3 y 7 Å.

Por último, el carbono C10 en uno de los extremos del inhibidor mantiene su posición respecto a la Ile37 (Figura 326), con la que en el punto final varía su desplazamiento entre 3,5 y 5 Å.

5.2.7 Grupo 101:

Los inhibidores de este grupo comparte el anillo de heteroátomos con los del grupo 10, con la diferencia de que en el grupo 101 el anillo es un tetrazol, el cual aporta un átomo aceptor más a la estructura (Figura 36).

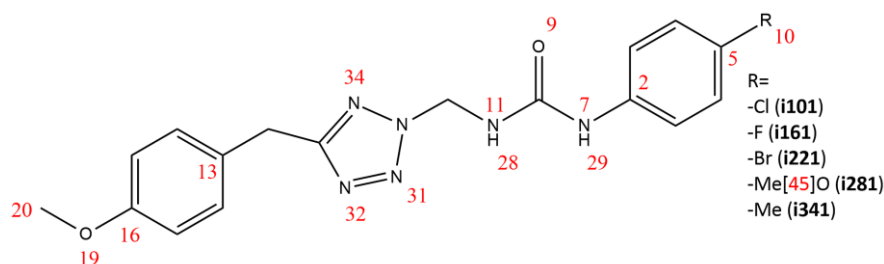


Figura 36 Estructura y numeración de los inhibidores del grupo 101

- I101:

El átomo O19 (Figura 327 y Figura 328) de este inhibidor muestra aproximaciones por parte de los residuos Arg108, Tyr106 y Tyr165. Estos residuos muestran el mismo perfil de desplazamiento y los tres terminan a una distancia media aproximada de unos 5 Å. Se ha encontrado que la Tyr106 se relaciona con el átomo O9 (Figura 329). Este átomo también se desliza respecto a los residuos Ser100 y Ser226, pero con los tres residuos la posición final que se ha observado es de unos 8 Å de media. El residuo Tyr106 también se desliza respecto al átomo N31 del anillo de tetrazol, junto con el residuo Ala104 (Figura 330). Estos dos residuos muestran con el N31 un perfil similar al encontrado en el átomo O9. El distanciamiento final para el N31 respecto al residuo Ala104 es de unos 7 Å y para el Tyr106 de unos 9 Å de media. El

átomo N34 muestra un profundo acercamiento al residuo de Ile225 (Figura 331), terminando a una distancia de aproximadamente 4 Å de media.

Los átomos H28 y H29 (Figura 332 y Figura 333) se relacionan con los residuos de Ala104 y de Asp105. El perfil de desplazamiento para todos es el mismo pero el distanciamiento cambia ligeramente, siendo algo mayor para el H29. El 104 permanece a unos 6 Å de H28 y a unos 7 Å de H29, mientras que el 105 termina estando a unos 4 Å de H28 y 5 Å de H29.

En este caso el átomo C20 muestra un perfil de desplazamiento respecto al entorno proteico similar al del O19. El C20 se desplaza respecto a los residuos Lys107 y Arg108 (Figura 334), con los cuales termina posicionado entre 4,5 y 6 Å. El anillo aromático del inhibidor C13-C16 mantiene un desplazamiento tal que lo aproxima a los anillos aromáticos de Tyr106 (Figura 335) y Tyr165 (Figura 336). El distanciamiento final para ambos es similar, siendo el mismo para los extremos de los anillos y de unos 5 Å para todos.

Por último, el estudio de los desplazamientos proteicos respecto al anillo C2-C5 (Figura 337) ha revelado que existe una aproximación por parte del residuo de Tyr39 y un alejamiento de la Tyr232. El posicionamiento final del residuo 39 respecto al inhibidor es de aproximadamente 6 Å de media, mientras que para el 232 existen diferencias entre los extremos del anillo siendo para C5 de unos 10 Å y para C2 de unos 8 Å.

- I161:

En el punto final, este inhibidor se encuentra totalmente doblado sobre sí mismo. El anillo C2-C5 del inhibidor se acerca al anillo del otro extremo de la estructura, el anillo C13-C16 (Figura 37).

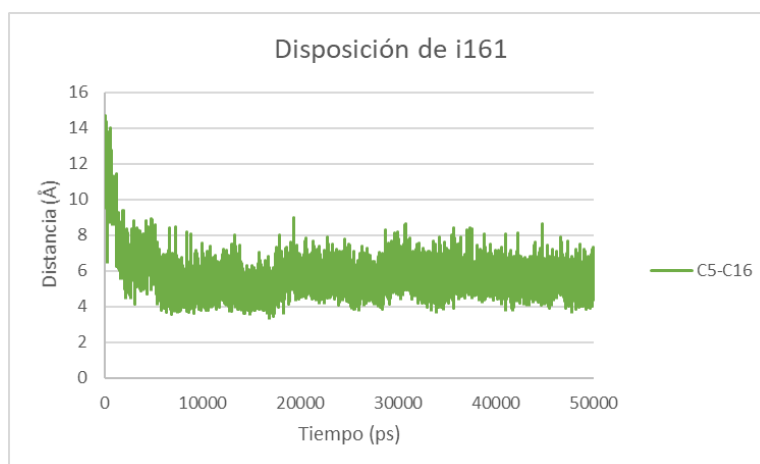


Figura 37 Representación del distanciamiento entre el átomo C5 y el átomo C16 del inhibidor 161

El átomo O9 (*Figura 338*) sufre la aproximación muy cercana del aminoácido Tyr106, hasta prácticamente 2 Å de media. Otro de los residuos del entorno es el aminoácido Ile99, el cual cuenta con el mismo perfil que el anterior, pero termina a una distancia de unos 7 Å. En el otro extremo se encuentra el átomo F10 (*Figura 339*) el cual mantiene un rango de desplazamiento de entre unos 3 a 7 Å durante prácticamente toda la dinámica con los residuos Ile225 y Ser226.

El residuo de Gln175 mantiene proximidad con el átomo O19 (*Figura 340*) con el que termina desplazándose entre 2 a 6 Å. El anillo de tetrazol (*Figura 341*) sufre la aproximación del residuo de Arg108, el cual se acerca y termina en ciertos tramos y también en el último trecho a unos 5 Å de media.

El átomo H29 cuenta con el mismo perfil de desplazamiento con la Ala104 (*Figura 342*) y con el Asp105 (*Figura 343*). En el caso del residuo Ala104 termina en un rango entre 2 y 4 Å mientras que para el Asp105 termina entre 2 a 5 Å. El H28 también se desplaza respecto de estos residuos, con el Asp105 se observa un perfil similar a los que tenía el H29 termina a una distancia de aproximadamente 6 Å de media. En cuanto a la Ala104, el desplazamiento no varía respecto al punto final y se mantiene hasta el último paso de la dinámica. Este se mantiene en un rango de desplazamiento de entre 5 a 7 Å.

El átomo C20 muestra irregularidades en su posicionamiento respecto del residuo Val177, pero no así del Ile163 (*Figura 344*). Con respecto a la Val177 este átomo termina desplazándose en un rango entre 3,5 a 8 Å, mientras que con el 163 el rango es menor, entre 3,5 a 6 Å. El anillo C13-C16 (*Figura 345*) solo muestra en su entorno al anillo aromático de la Tyr165 con la que se aproxima ligeramente manteniendo un rango de desplazamiento entre 3 y 7 Å.

Por último, los átomos del anillo C2-C5 mantienen su posicionamiento con los residuos Ala230 (*Figura 346*) y Met224 (*Figura 347*). Con la Ala230 se mantiene en el trecho final un rango de desplazamiento de unos 3,5 a 6 Å, mientras que con la Met224 este rango está más desplazado, entre 4 y 8 Å de anchura de desplazamiento.

- I221:

Se han encontrado a los residuos Asn172 (*Figura 349*), Gln175 (*Figura 348*), Tyr106 y Tyr165 (*Figura 350*) en el entorno proteico del átomo O19. Todos ellos muestran un perfil de desplazamiento similar con un distanciamiento igual para todos ellos, de aproximadamente 5 Å de media. La Ala104 se aproxima profundamente al anillo de tetrazol (*Figura 351*) en uno de los trechos de la dinámica, pero se pierde este posicionamiento y se coloca a aproximadamente unos 8 Å de media.

Los átomos H28 y H29 se encuentran próximos a los residuos Ala104 (*Figura 352*) y Asp105 (*Figura 353*). Con el residuo Asp105 se produce un distanciamiento que finaliza en un posicionamiento de entre 4 a 6 Å para el H29 y de unos 5 a 7 Å para H28. En el caso de la Ala104 se ha encontrado que el posicionamiento final para H28 y H29 es similar, terminando los dos a una distancia media aproximada de unos 4 Å.

El átomo C20 muestra una aproximación al residuo de Val185 (*Figura 354*). Estos terminan a una distancia que varía entre 4 y 6 Å. El desplazamiento del anillo C13-C16 del inhibidor está relacionado con los residuos Tyr106 (*Figura 355*) y Tyr165 (*Figura 356*). Los anillos de estas tirosinas se acercan al inhibidor, siendo los de la Tyr165 los que terminan mejor posicionados a unos 5 Å de distancia media. Los de la Tyr106 terminan a más distancia a unos 7 Å.

La Ala104 (*Figura 357*) también se aproxima a los átomos del anillo C2-C5 y lo hace de forma similar para los átomos de los extremos. Este residuo termina a unos 4,5 Å de distancia media. Por otro lado, también se desplaza respecto de la Met98 (*Figura 358*) quedando en el tramo final a un rango de desplazamiento entre 4 y 8 Å.

- I281:

De la misma manera que sucedía con el inhibidor 32, el inhibidor 281 no ha alcanzado una posición estable dentro del centro activo del ligando PD-L1 tal y como se muestra en la *Figura 19*. De modo que, no se ha realizado una redacción exhaustiva del desplazamiento de este con su entorno proteico. Las representaciones gráficas del desplazamiento están presentadas en las *Figura 359* a *Figura 367*.

- I341:

El átomo O9 muestra un desplazamiento al entorno del residuo de Ser100 (*Figura 368*) con el cual comparte un tramo de la dinámica a una distancia de aproximadamente 2 Å de media, pero resulta en un alejamiento en el tramo final hasta terminar en un rango de entre 3 a 5 Å. Un comportamiento similar se ha encontrado entre el átomo O19 y la Asn172 (*Figura 369*), con la cual termina a unos 7 Å de media. El átomo O19 también se mantiene cercano en los ps finales a la Gln175 (*Figura 370*), con la que mantiene un rango de desplazamiento de entre 2 y 4 Å. Este residuo también se relaciona con los átomos del anillo de tetrazol el N32 y el N34 (*Figura 370*), aunque su posicionamiento final es más alejado que el que se observa durante la mayor parte de la dinámica, unos 4 Å de media. El anillo de tetrazol parte de una posición cercana al residuo de Ala104 (*Figura 371*), pero en el transcurso del desplazamiento se observa cómo se terminan distanciando, a unos 6 Å de media. Este anillo también se relaciona con la Arg96 (*Figura 372*)

con la cual se observa un aumento de la proximidad a lo largo de toda la dinámica. Este desplazamiento concluye con un posicionamiento de aproximadamente 3 Å de media.

Los átomos C20 y C10 (*Figura 373*) comparten desplazamiento respecto al residuo de Ile37. Estos átomos terminan distanciados del residuo de forma similar, a unos 4 Å de media, aunque el rango de desplazamiento respecto de C20 es visiblemente algo mayor que respecto a C10. Además, se observan variaciones iniciales en el desplazamiento entre el residuo Ile37 y el C20 que no se observan con C10.

Los átomos del anillo C13-C16 se aproximan a los átomos del anillo de la Tyr106 (*Figura 374*) y terminan distanciados de forma irregular, pero a unos 6 Å de distancia media aproximada. Los átomos del anillo C2-C5 se relacionan con los residuos Met98 (*Figura 375*) y Tyr232 (*Figura 376*). Con ambos residuos no se observan variaciones en el distanciamiento a lo largo de la dinámica más allá de pequeñas modificaciones pero que en los tramos finales se recuperan respecto al punto inicial. En el punto final el residuo Met98 se encuentra a unos 5 Å del inhibidor, y el residuo Tyr232 a unos 4 Å.

6. Discusión de los resultados:

En este apartado se van a comparar los resultados recopilados en el desplazamiento de los inhibidores durante la dinámica. El objetivo es evaluar y comparar la estabilidad de los inhibidores de modo que podamos sacar conclusiones.

En primera instancia se debe considerar los datos de los desplazamientos RMSD. Este nos permite evaluar si cada uno de los inhibidores se ha desplazado a posiciones más estables. La gráfica RMSD debe mostrar un perfil similar a una función cuadrática que alcanza un máximo constante o meseta. Si el gráfico no muestra esta tendencia, entonces el inhibidor no habrá alcanzado, en el tiempo permitido, una posición estable. Este primer punto nos lleva a considerar un segundo punto para poder concluir que un inhibidor sea o no estable, la colocación dentro del centro activo. Si el inhibidor se ha desplazado de modo que tenga parte de su estructura fuera del centro activo entonces este inhibidor no se podrá considerar estable dentro de este, a pesar de que haya adquirido buenas interacciones fuera de este.

El tercer punto a tener en cuenta es la hidrofobicidad. Los inhibidores construidos son muy hidrofóbicos, de modo, que un buen comienzo para alcanzar la estabilidad es tener un entorno formado por contactos hidrofóbicos cercanos y permanentes alrededor de todas las partes de la estructura. Además, los inhibidores cuentan con átomos dadores y aceptores de densidad electrónica mediante enlaces de hidrógeno de modo que un cuarto punto debe ser que todos los átomos dadores y aceptores participen en alguna aproximación que pueda dar lugar a interacciones.

Se ha decidido que la mejor manera de proceder, debido a la inmensa cantidad de datos, es hacer un recopilatorio previo del número de posibles interacciones a partir de los desplazamientos medios de las gráficas obtenidas. El desplazamiento medio se va a entender como el punto medio entre la distancia mínima y máxima de un rango de desplazamiento en el punto final de la dinámica.

Se ha creado una escala que mide la fiabilidad o lo favorable que pueda ser el acercamiento entre un aminoácido y el inhibidor. De este modo: Si la distancia media en el punto final es menor o igual a 4 Å se va a considerar como un distanciamiento favorable, si la distancia media es mayor de 4 Å o menor o igual a 6 Å entonces se considerará un distanciamiento moderado y, finalmente, se considerará como ineficaz todo lo superior a 6 Å.

6.1.1. Grupo 5:

En base a la gráfica RMSD de este grupo ([Figura 13](#)), todos los inhibidores han alcanzado una posición final aceptable y estable, pudiendo proceder en base a datos fiables. Los inhibidores 11 y 29 son los que muestran un mejor perfil.

La [Tabla 2](#) es un recopilatorio de las aproximaciones de los inhibidores de este grupo. Los resultados indican que el inhibidor 11, con el sustituyente de Flúor, es el que más aproximaciones favorables tiene, seguido por los inhibidores 5 y 17.

Todos los inhibidores de este grupo muestran una colocación aceptable dentro del centro activo. No se han observado desplazamientos fuera de la proteína, con la excepción del inhibidor 29 sustituido de metilo que, a pesar de su perfil RMSD, se ha desplazado teniendo parte de su estructura fuera del centro activo de la proteína.

Aparentemente, en este grupo, la disposición más estirada es la que más favorece el número de aproximaciones favorables. Si nos fijamos en los inhibidores con más interacciones, 5 y 11, son los que permanecen estirados y bien colocados dentro del centro activo. Incluso se puede considerar al inhibidor 17 en disposición estirada pues, si nos fijamos en la [Figura 21](#), se podía ver cómo esta colocación se alcanzaba en los ps finales dando a entender que a lo largo de la dinámica se ha mantenido estirado.

Tabla 2 Número de las aproximaciones favorables, moderadas e ineficaces del grupo 5 en el punto final

INHIBIDOR	NÚMERO DE APROXIMACIONES MEDIAS EN EL PUNTO FINAL		
	Favorable	Moderado	Ineficaz
5	6	5	2
11	8	-	3
17	6	2	1
23	1	7	2
29	3	7	1

Si comparamos los entornos proteicos, presentados en el apartado 5.2, se puede ver que el aminoácido Gln175 se mantiene en el entorno de O26 salvo cuando el inhibidor se dobla que entonces es intercambiado por el Asn172, pero siendo este último menos fiable. Los inhibidores 5 y 11 mantienen cerca Gln175, mientras que el 17, el 23 y el 29 lo pierden.

Los inhibidores que han doblado su estructura, el 17, el 23 y el 29, no comparten similitud en las aproximaciones a sus átomos aceptores o dadores. Sin embargo, sí que se observa similitud en el entorno de la posición del sustituyente. El inhibidor con Flúor, el 11, y el inhibidor con

metóxido, el 23, comparten la misma interacción con el aminoácido Gln49, para ambos favorable.

Tanto los inhibidores estirados, el 5 y el 11, como los doblados en el punto final, el 17 y el 23, se encuentran bien rodeados de aminoácidos de la proteína con un buen surtido de contactos hidrofóbicos como ya se describió para cada uno en el apartado 5.2. Por tanto, la estabilidad de los inhibidores de este grupo dependerá de las interacciones por enlace de hidrógeno, y aquellos que se mantienen estirados tienen más disponibilidad para formar dichos enlaces, siendo el inhibidor 11, sustituido de flúor, el más destacado en el grupo. El inhibidor 5 por otro lado tiene ausencia de interacciones en el átomo O9, lo cual reduce su estabilidad.

6.1.2. Grupo 6:

La [Figura 14](#) muestra perfiles de RMSD aceptables para todos los integrantes de este grupo, de modo que podemos considerar que todas sus trayectorias han terminado en posiciones estables y con desplazamientos aceptables.

Una visualización más cercana y específica ha mostrado que algunos de estos inhibidores se han trasladado dejando parte de su estructura fuera del centro activo. El más descolocado de todos es el inhibidor 18 que prácticamente ha sacado hacia el disolvente la mitad de su estructura. Los inhibidores 24 y 30 están algo desplazados del centro activo, pero se mantienen bien rodeados y solo parte del lateral del anillo C20-C23 parece estar dando hacia el disolvente.

La [Tabla 3](#) muestra como el inhibidor 18 tiene el menor número interacciones favorables de su grupo, mientras que uno de los mejor colocados, el 6 sustituido de Cloro, tiene de las que más interacciones.

Los inhibidores 6 y 24, con cloro y metóxido respectivamente, son los que destacan en número de aproximaciones favorables ([Tabla 3](#)). Ya se ha destacado que el inhibidor 24 está algo desplazado pero esta situación está compensada respecto al inhibidor 6 pues este no muestra interacciones en el átomo O9.

Además, el inhibidor 24, al tener el grupo metóxido en posición 10, muestra interacciones hidrofóbicas más fuertes en ese extremo. El resto de la estructura sigue participando en los contactos hidrofóbicos habituales que también se pueden ver en el inhibidor 6.

El O26 muestra diferencias en ambas estructuras, el punto final del inhibidor con cloro, i6, tiene a los aminoácidos Arg96 y Arg108, mientras que el inhibidor con metóxido, i24, muestra un desplazamiento en el punto final que lo aleja de su posición original pero que lo acerca a Asn172,

aminoácido que ya se trató en el grupo 5. El desplazamiento del inhibidor 24 (con metóxido) gana en aproximaciones a los protones de la urea sin perder interacciones en O26.

Tabla 3 Número de las aproximaciones favorables, moderadas e ineficaces del grupo 6 en el punto final

INHIBIDOR	NÚMERO DE APROXIMACIONES MEDIAS EN EL PUNTO FINAL		
	Favorable	Moderado	Ineficaz
6	9	4	1
12	7	4	2
18	6	4	1
24	9	3	1
30	7	4	-

Los inhibidores 6 y 24 son los principales protagonistas de este grupo y los que aparentemente muestran la mayor estabilidad. Los dos muestran algún percance como la ausencia de interacciones en O9 para el inhibidor 6 o la colocación del inhibidor 24. Sin embargo, a pesar de la colocación el inhibidor 24 muestra la mayor estabilidad.

6.1.3. Grupo 7:

Los inhibidores del grupo 7 son los que peor perfil RMSD muestran. Si se analiza el perfil de la **Figura 15** se ve que ninguno de los inhibidores da muestras de alcanzar una posición estable que pueda mantenerse en el tiempo. La visualización del punto final para estos inhibidores ha confirmado esta situación. Los inhibidores 7, 13 y 31 están mal rodeados por parte de los aminoácidos de PD-L1. El inhibidor 19 está fuera del centro activo. El único inhibidor que muestra una buena colocación es el número 25, sustituido de metóxido.

A pesar de la mala colocación del resto de integrantes de este grupo, la orientación del inhibidor 25 sustituido con metóxido es singular dentro de este grupo. La estructura de los inhibidores de limita la movilidad debida a la configuración Z del doble enlace C18-C19. Esto no ha impedido que el carbono C27 del inhibidor 25 se acerque al propio anillo aromático de la estructura, el anillo C2-C5, como ya se ha descrito en la presentación de los resultados de susodicho inhibidor.

Tabla 4 Número de las aproximaciones favorables, moderadas e ineficaces del grupo 7 en el punto final

INHIBIDOR	NÚMERO DE APROXIMACIONES MEDIAS EN EL PUNTO FINAL		
	Favorable	Moderado	Ineficaz
7	4	4	1
13	3	7	-
19	6	1	-
25	7	4	-
31	6	3	-

Esta colocación limita las interacciones con O26, aun así, sigue siendo el inhibidor con mayor número de interacciones dentro de su grupo (Tabla 4). También se observan diferencias en torno al O9 donde desaparecen aproximaciones por parte de los residuos Ile225 y Asp231, que sí aparecen en los inhibidores 13 y 19, pero se genera una aproximación más cercana entre Gln175 y el inhibidor 25 con el sustituyente metoxi.

La presencia del sustituyente metóxido también añade aproximaciones favorables, en concreto con Ile225 y con Ala230. Esto implica que no se pierde, en el inhibidor 25, la aproximación por parte de Ile225, sino que se intercambia el átomo que lo recibe.

El entorno hidrofóbico de estos inhibidores no es malo, es estable en muchos aspectos y se observa como la mayoría de los inhibidores de este grupo mantienen estos contactos a lo largo del tiempo. El peor de todos ellos es el que muestra el inhibidor 31 y el mejor ambiente hidrofóbico es el que tiene el inhibidor 25.

En función de todas estas razones, el inhibidor 25 con el sustituyente de metóxido es el indiscutible mejor inhibidor del grupo.

6.1.4. Grupo 8:

La representación gráfica de RMSD de los inhibidores de este grupo muestra una perturbación muy clara con respecto al inhibidor 32 (Figura 16). El perfil de este inhibidor no alcanza una posición estable. Esta situación se confirma mediante la visualización del punto final donde se ve como este inhibidor se ha colocado fuera del centro activo y de tal manera que ha descolocado incluso las posiciones de la proteína.

Un análisis más exhaustivo de la Figura 16 da a entender que el inhibidor 8 tampoco alcanza una posición estable. Su perfil RMSD es bueno hasta los ps finales donde aumenta repentinamente y no aparenta alcanzar una meseta estable. Sin embargo, la visualización indica que este

inhibidor se ha colocado de una forma correcta dentro del centro activo de la proteína. Se observa un doblamiento, pero se mantiene bien rodeado y con un estable entorno hidrofóbico.

Por lo general, este grupo de inhibidores son algo irregulares en sus aproximaciones y no se observan interacciones con aminoácidos que se repitan a lo largo del grupo. Además, la visualización del punto final del inhibidor 26 da como resultado un desplazamiento de este inhibidor fuera de la proteína.

La Gln175 vuelve a aparecer cerca de O26, pero solo en el inhibidor 14 muestra un buen acercamiento. El inhibidor 14 cuenta con la ventaja de estar sustituido por Flúor y añade una interacción muy favorable con Gln49. Además, este inhibidor, sin contar al 26, es el único que no está doblado y aunque no cuenta con un entorno abundante alrededor de O9 o de los protones de la urea, sí que muestra mayor cantidad de aproximaciones favorables por parte de los aminoácidos de la proteína (Tabla 5).

Tabla 5 Número de las aproximaciones favorables, moderadas e ineficaces del grupo 8 en el punto final

INHIBIDOR	NÚMERO DE APROXIMACIONES MEDIAS EN EL PUNTO FINAL		
	Favorable	Moderado	Ineficaz
8	4	4	2
14	5	6	-
20	3	7	1
26	4	5	-
32	2	5	1

El inhibidor sustituido con Cloro, el número 8, es bastante equilibrado en cuanto a interacciones se refiere, está doblado y aun así no ha perdido demasiadas aproximaciones favorables. Esto comparado con el inhibidor sustituido con Bromo, el número 20, el cual muestra la pérdida de muchas aproximaciones, es bastante destacable.

La Tabla 5 no es concluyente en cuanto a mejor inhibidor se refiere. El que mayor número de interacciones tienes es el inhibidor 14 sustituido de Flúor, pero solo con 5 interacciones favorables, mientras que el 8 o el 26 muestran 4, solo una menos.

Pero, en función de todo este razonamiento, los peores inhibidores de este grupo son claramente los inhibidores 26 y 32. El inhibidor 20 está doblado, pero bien rodeado, aun manteniendo un estable entorno hidrofóbico no destaca en interacciones favorables.

Los mejores inhibidores por colocación, interacciones favorables y contactos hidrofóbicos son sin duda alguna los inhibidores 8 y 14, sustituidos por Cloro y Flúor respectivamente. A pesar de estar muy igualados, hay que destacar que el inhibidor 14 no cuenta con aproximaciones en el átomo O9 de la urea de su estructura, lo que a la larga lo hace menos estable que el inhibidor 8 sustituido de Cloro que sí tiene.

6.1.5. Grupo 9:

La gráfica RMSD de la [Figura 17](#) Gráfica RMSD de los inhibidores del grupo 9 muestra un buen ejemplo de cómo deberían ser los perfiles RMSD de inhibidores que alcanzan una situación estable. El único que se sale fuera de la norma es el inhibidor 33, que no lo hace por mucho, pero que, si lo visualizamos, descubrimos que se ha colocado fuera del centro activo. El resto de inhibidores están bien colocados y conservan un buen entorno rodeado de aminoácidos de la proteína.

Si se observa la [Tabla 6](#) se verá que el inhibidor 21, sustituido de Bromo, es el que muestra mayor cantidad de aproximaciones favorables, la mayoría hidrofóbicas. Pero no hay demasiada diferencia con respecto al resto de inhibidores, como ya pasaba en el grupo 8. De modo que es necesario profundizar más en las interacciones de este grupo.

Comparativamente, en este grupo se observa cierta estabilidad entorno al O26, el cual muestra en todas aproximaciones con Gln175. El átomo O9 varía de un inhibidor a otro y no se encuentran correlaciones. Los protones de la urea no juegan un papel demasiado relevante dentro del grupo y solo se puede destacar al inhibidor 27 sustituido con metóxido el cual muestra una muy buena aproximación con la Gln49. El oxígeno en posición 10 o el Flúor en esta misma posición suelen acercarse al residuo Gln49. Sin embargo, el O10 del metóxido del inhibidor 27 se acerca a la Lys107 dejando a Gln49 libre para trasladarse al entorno de la urea.

Tabla 6 Número de las aproximaciones favorables, moderadas e ineficaces del grupo 9 en el punto final

INHIBIDOR	NÚMERO DE APROXIMACIONES MEDIAS EN EL PUNTO FINAL		
	Favorable	Moderado	Ineficaz
9	3	5	2
15	4	7	1
21	5	6	-
27	3	7	-
33	2	8	-

Basándonos en el número de interacciones y el tipo de estas se ha destacado a dos inhibidores como los mejores de este grupo, el inhibidor 21 sustituido de Bromo por tener el mayor número de interacciones favorables, y el 27 sustituido de metóxido por formar interacciones más fuertes y a lo largo de toda su estructura, aunque menos abundantes. Los inhibidores 9 y 15 no están dentro de los mejores de este grupo porque el i9 tiene ausencia de interacciones tanto en el átomo O9 como en la urea, y el i15 no forma interacciones en el F10.

Entre el inhibidor 21 y el 27, el que más estabilidad aparenta es el número 27, sustituido con metóxido. Esto es debido a que el inhibidor 21 no tiene aproximaciones en O9 y el 27 sí. El resto de sus características son similares.

6.1.6. Grupo 10:

La **Figura 18** muestra perfiles RMSD aceptables y dentro de lo esperado, pues todos los inhibidores alcanzan una posición estable a los pocos ps del inicio de la dinámica. El único perfil irregular es el del inhibidor 10, pero incluso este termina alcanzando una meseta estable. Es necesaria una visualización de los inhibidores de este grupo para descubrir que la mayoría muestran irregularidades, estructuras dobladas, retorcidas o desplazadas fuera del centro activo.

El inhibidor 10 es el primero que se observa mal situado. Se ha doblado sobre sí mismo y desplazado lejos del centro activo de la proteína. Por otro lado, los inhibidores 22 y 28 se han desplazado ligeramente del centro activo de la proteína, pero nada que pueda afectar en exceso a las aproximaciones.

Los inhibidores de este grupo que muestran una mejor colocación dentro del centro activo son el 16 y el 34, sustituidos por Flúor y metilo respectivamente. Ambas estructuras están algo retorcidas o dobladas.

La **Tabla 7** muestra al inhibidor 34, sustituido con metilo, como la molécula con más aproximaciones favorables de este grupo. Esta molécula está ligeramente doblada, pero no tanto como el inhibidor 10.

Tabla 7 Número de las aproximaciones favorables, moderadas e ineficaces del grupo 10 en el punto final

INHIBIDOR	NÚMERO DE APROXIMACIONES MEDIAS EN EL PUNTO FINAL		
	Favorable	Moderado	Ineficaz
10	5	4	1
16	4	7	1
22	5	3	1
28	2	12	2
34	6	5	1

Si se buscan aminoácidos comunes entre los inhibidores se encuentra de nuevo a la Gln175 la cual ronda al equivalente en esta estructura de O26, el O19. La urea, por ejemplo, tiene un entorno muy similar a otros grupos. Cuenta con un entorno poblado por aminoácidos como Ala104 o Ser100 con los que puede tener posibilidad de formar interacciones.

Los entornos hidrofóbicos de la parte de la estructura que es similar al resto de grupos no cambia demasiado, aunque por su puesto se pierda la del anillo que ya no está. El anillo de triazol puede tener aproximaciones como en el caso del inhibidor con Bromo, el i22, o no tenerlas como en el caso del sustituido por Flúor, el i16. Algo que era diferente cuando estaba el anillo aromático de carbonos en esta posición, el cual siempre mantenía cierta cercanía con su entorno.

Es el inhibidor 34 sustituido con metilo el que más destaca dentro del grupo, principalmente por ser el que mayor número de aproximaciones favorables tiene. Otro que también es destacable es el 28, pero este tiene ausencia de aproximaciones en el átomo O9, lo que lo hace más inestable que el 34.

6.1.7. Grupo 101:

El análisis RMSD de los inhibidores de este grupo (**Figura 19**) muestra claramente que el inhibidor 281 sustituido con metóxido no ha conseguido una posición estable. El resto de inhibidores muestran un perfil aceptable en esta figura. Además, el inhibidor 161 sustituido con Flúor se ha colocado fuera de la estructura del centro activo del ligando. A pesar de ello, en la **Tabla 8** el inhibidor 161 sustituido con flúor es el que más interacciones favorables muestra. Esto podría significar que, aunque el inhibidor no es estable dentro del centro activo, sí que tiene una gran afinidad con la proteína.

Tabla 8 Número de las aproximaciones favorables, moderadas e ineficaces del grupo 101 en el punto final

INHIBIDOR	NÚMERO DE APROXIMACIONES MEDIAS EN EL PUNTO FINAL		
	Favorable	Moderado	Ineficaz
101	2	7	5
161	8	4	1
221	1	7	-
281	2	6	2
341	4	5	1

De todos los inhibidores de este grupo el único que no alcanza aproximaciones entorno al anillo de tetrazol es el inhibidor 221, que además también cuenta con un pequeño desplazamiento respecto del centro activo de la proteína. Tampoco tiene interacciones en O9.

En cuanto a la hidrofobicidad, todos estos inhibidores mantienen un buen entorno hidrofóbico, estable y sin perturbaciones aparentes, salvo aquellas producidas por cambios de posición.

Descartando a los inhibidores 161 y 281 por la posición y al inhibidor 221 por deficiencia en el número de interacciones y en su reparto a lo largo de la estructura, solo quedan los inhibidores 101 y 341, sustituidos con Cloro y metilo respectivamente, como candidatos a más estables del grupo.

Ni 101 ni 341 están doblados, los dos están bien colocados y ambos cuentan con una razonable cantidad de aproximaciones totales que además están bien repartidas a lo largo de sus estructuras. La mayor diferencia entre ambos reside en la urea, pues el inhibidor 341 tiene deficiencia en aproximaciones en esta parte de su estructura, dejando al inhibidor 101 como más estable dentro del grupo a pesar de su número inferior en aproximaciones favorables.

7. Conclusiones:

En este apartado se va a redactar las conclusiones obtenidas a partir de los datos discutidos en el apartado 6. Entre los objetivos del trabajo está el estudio de la estabilidad de los inhibidores, pero fundamentalmente este objetivo tiene como meta obtener aquellos inhibidores que destaquen en estabilidad, razonar el origen de esta y desarrollar las conclusiones.

Las conclusiones giran en torno a la estabilidad de los inhibidores dentro del centro activo del ligando PD-L1, y cómo su estructura ha afectado a dicha estabilidad.

7.1 Los sustituyentes:

En el apartado 6 se obtuvieron los mejores inhibidores por grupo que se resumen en la [Tabla 9](#). La conclusión es que los mejores inhibidores son los sustituidos por metóxido. Este sustituyente es el mejor en 3 de los 7 grupos. Los sustituyentes que también han aparecido entre los inhibidores más destacables son el Cloro y, en menor grado, el flúor y el metilo.

Tabla 9 Resumen de los mejores inhibidores por grupo junto con sus sustituyentes

	INHIBIDORES	SUSTITUYENTE
GRUPO 5	11	FLÚOR
GRUPO 6	24	METÓXIDO
GRUPO 7	25	METÓXIDO
GRUPO 8	8	COLORO
GRUPO 9	27	METÓXIDO
GRUPO 10	34	METILO
GRUPO 101	101	COLORO

El metóxido es capaz de formar interacciones por enlace de hidrógeno y además generar contactos hidrofóbicos. El Flúor también es capaz de formar enlaces de hidrógeno, mientras que el Cloro no es lo suficientemente pequeño y electronegativo para formarlos, aunque su influencia es suficiente para afectar positivamente a la estabilidad. El grupo metilo solo puede generar contactos hidrofóbicos, pero en un ambiente tan hidrofóbico como el que se ha visto en este estudio es algo que ha terminado beneficiando. Los inhibidores sustituidos por Flúor han quedado en su mayoría cercanos a ser los mejores de su grupo, pero han terminado siendo eclipsados por el resto.

Los inhibidores sustituidos por Bromo no han destacado en ningún grupo. Este sustituyente es muy voluminoso y puede haber afectado al entorno generando demasiada repulsión. Este hecho

no es demostrable mediante visualización ya que no está destinada para ello, aunque sí que se ha observado en algunos inhibidores como el entorno del Bromo muestra una esfera sin ninguna aproximación (Figura 38).

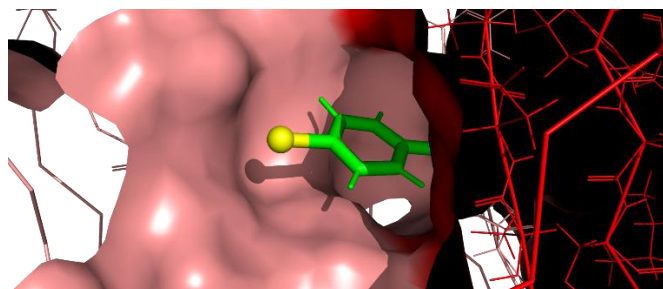


Figura 38 Contorno del bromo (amarillo) en un inhibidor ejemplo.

7.2 Estructura de grupo:

En primer lugar, en función de los datos que se han obtenido, es arriesgado determinar cuál de todas las estructuras es la que muestra mayor estabilidad. Lo que sí que se puede hacer es determinar qué estructuras son las que han mostrado peor estabilidad o cuales son las que, aparentemente, cuentan con una estructura prometedora en términos de estabilidad.

La peor de las estructuras es sin lugar a duda la del grupo 7. Su enlace doble en configuración Z ha limitado mucho la movilidad de estos inhibidores provocando desplazamientos fuera del centro activo y generando problemas de interacción. Otra de las estructuras que ha generado muchos problemas de estabilidad es la del grupo 8, teniendo a dos inhibidores desplazados fuera del centro activo. Este grupo sí que tiene movilidad y además tiene a dos inhibidores, el 8 (Cl) y el 14 (F), disputando el puesto de mejor inhibidor del grupo 8, lo cual no es nada desdeñable.

El grupo 10 también ha generado algún problema, pero no tanto como los grupos anteriores. La estructura de estos inhibidores se ha retorcido y doblado como ninguna otra provocando algunos desplazamientos que han llevado a la colocación del inhibidor 10 totalmente fuera del centro activo.

Entre las estructuras más estables se encuentra la del grupo 9, en la cual todos los inhibidores, salvo el 33, sustituido de metilo, estaban perfectamente colocados dentro del centro activo. Mostraban todos ellos buenas y estables interacciones. Otros grupos como el 5, el 6 y el 101 también han demostrado tener estructuras estables, aunque han variado algo más. El 101 es similar al grupo 10, pero siendo más estable. El anillo de tetrazol ha sido capaz de formar aproximaciones favorables en todos los inhibidores del grupo, mientras que el anillo de triazol ha fallado en esta tarea.

7.3 Conclusiones finales:

Los cimientos básicos para la estabilidad de estos inhibidores en el centro activo de la proteína PD-L1 es fundamentalmente hidrofóbico. Las interacciones por enlace de hidrógeno que se puedan formar son el ancla que mantiene las estructuras en el interior. Los enlaces hidrofóbicos mantienen a la estructura en el interior del centro activo mientras que las interacciones por enlace de hidrógeno los terminan de estabilizar.

Se ha visto cierta tendencia en algunos grupos a mejorar la estabilidad cuando se mantienen totalmente estirados. Esto puede ser debido a la forma del centro activo. Esta tiene una disposición en forma de tubo (Figura 39) que permite a las estructuras disponerse estiradas y girar sobre sí mismas en un eje longitudinal. La composición en aminoácidos en el “backbone” del centro activo es muy variable, formado tanto por aminoácidos polares como no polares.

Esta podría ser una de las razones por las que estructuras alargadas como las del grupo 5, 6 o 9 han mostrado una elevada estabilidad. Los inhibidores que se han doblado sobre sí mismo no han destacado en estabilidad sobre el resto, pero tampoco han generado demasiados perjuicios. Estructuras con disposición doblada como las del grupo 7 sí que han derivado en malas colocaciones en el interior de este tubo.

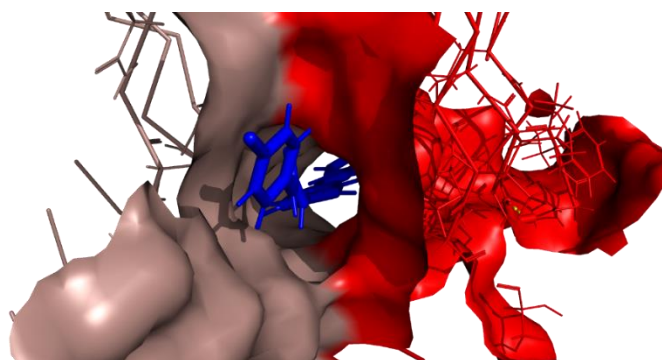


Figura 39 Representación del centro activo de la PD-L1 utilizado a lo largo de la dinámica.

8. REFERENCIAS

- [1] Willems, H., de Cesco, S., & Svensson, F. (2020). Computational Chemistry on a Budget: Supporting Drug Discovery with Limited Resources. *Journal of Medicinal Chemistry*, 63(18), 10158–10169. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.9b02126>
- [2] Harvey, J. (2018a). Computational Chemistry. En *Molecular Mechanics Methods* (Illustrated ed., pp. 71–82). Oxford University Press, USA.
- [3] Jensen, F. (2013a). Introduction to Computational Chemistry. En *Force Field Methods* (2nd ed., pp. 24–62). Wiley.
- [4] Harvey, J. (2018b). Computational Chemistry. En *Dynamics Methods* (Illustrated ed., pp. 105–116). Oxford University Press, USA.
- [5] Jensen, F. (2013b). Introduction to Computational Chemistry. En *Molecular Dynamics Methods* (2nd ed., pp. 451–453). Wiley.
- [6] Young, D. (2001). *Computational Chemistry* (Vol. 9). Wiley.
- [7] *El cáncer en cifras - SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica* © 2019. (2021, 1 febrero). SEOM. <https://seom.org/prensa/el-cancer-en-cifras>
- [8] Hanahan, D., Weinberg, R., & Francisco, S. (2000). The hallmarks of cancer- review. *Cell Press*, 100, 57–70. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107443>
- [9] Hanahan, D., & Weinberg, R. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- [10] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [11] Yuan, C., Liu, Z., Yu, Q., Wang, X., Bian, M., Yu, Z., & Yu, J. (2019). Expression of PD-1/PD-L1 in primary breast tumours and metastatic axillary lymph nodes and its correlation with clinicopathological parameters. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50898-3>
- [12] Ribatti, D. (2016). The concept of immune surveillance against tumors: The first theories. *Oncotarget*, 8(4), 7175–7180. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12739>
- [13] Han, Y., Liu, D., & Li, L. (2020). PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer - review article. *American Journal of Cancer Research*, 10(3), 727–742. <http://www.ajcr.us/>, ISSN:2156-6976/ajcr0108072
- [14] Chen, T., Li, Q., Liu, Z., Chen, Y., Feng, F., & Sun, H. (2019). Peptide-based and small synthetic molecule inhibitors on PD-1/PD-L1 pathway: A new choice for

- immunotherapy? *European Journal of Medicinal Chemistry*, *161*, 378–398. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.10.044>
- [15] Zhou, K., Lu, J., Yin, X., Xu, H., Li, L., & Ma, B. (2019). Structure-based derivation and intramolecular cyclization of peptide inhibitors from PD-1/PD-L1 complex interface as immune checkpoint blockade for breast cancer immunotherapy. *Biophysical Chemistry*, *253*, 106213. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2019.106213>
- [16] Dai, X., Wang, K., Chen, H., Huang, X., & Feng, Z. (2021). Design, synthesis, and biological evaluation of 1-methyl-1H-pyrazolo[4,3-b]pyridine derivatives as novel small-molecule inhibitors targeting the PD-1/PD-L1 interaction. *Bioorganic Chemistry*, *114*, 105034. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105034>
- [17] Bank, R. P. D. (2007, 30 noviembre). *RCSB PDB - 3BIK: Crystal Structure of the PD-1/PD-L1 Complex*. RCSB PDB. <https://www.rcsb.org/structure/3BIK>
- [18] Bank, R. P. D. (2019, 10 octubre). *RCSB PDB - 6UMU: Human apo PD-1 triple mutant*. RCSB PDB. <https://www.rcsb.org/structure/6UMU>
- [19] Bank, R. P. D. (2020, 22 diciembre). *RCSB PDB - 7BEA: Structure of human Programmed cell death 1 ligand 1 (PD-L1) with inhibitor*. RCSB PDB. <https://www.rcsb.org/structure/7BEA>
- [20] Lin, X., Lu, X., Luo, G., & Xiang, H. (2020). Progress in PD-1/PD-L1 pathway inhibitors: From biomacromolecules to small molecules. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *186*, 111876. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.111876>
- [21] Butera, R., Ważyńska, M., Magiera-Mularz, K., Plewka, J., Musielak, B., Surmiak, E., Sala, D., Kitel, R., de Bruyn, M., Nijman, H. W., Elsinga, P. H., Holak, T. A., & Dömling, A. (2021). Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Imidazopyridines as PD-1/PD-L1 Antagonists. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, *12*(5), 768–773. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.1c00033>
- [22] Wu, L., Cai, S., Deng, Y., Zhang, Z., Zhou, X., Su, Y., & Xu, D. (2021). PD-1/PD-L1 enhanced cisplatin resistance in gastric cancer through PI3K/AKT mediated P-gp expression. *International Immunopharmacology*, *94*, 107443. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107443>
- [23] Walker, R. C., Crowley, M.F., Case, D.A. (2008) *J.COMP. CHEM.* *29*:2019
- [24] Bank, R. P. D. (2017, 7 febrero). *RCSB PDB - 5N2F: Structure of PD-L1/small-molecule inhibitor complex*. RCSB PDB. <https://www.rcsb.org/structure/5N2F>
- [25] Cohen, F. E., & Sternberg, M. J. (1980). On the prediction of protein structure: The significance of the root-mean-square deviation. *Journal of Molecular Biology*, *138*(2), 321–333. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(80\)90289-2](https://doi.org/10.1016/0022-2836(80)90289-2)

- [26] Kuzmanic, A., & Zagrovic, B. (2010). Determination of Ensemble-Average Pairwise Root Mean-Square Deviation from Experimental B-Factors. *Biophysical Journal*, *98*(5), 861–871. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2009.11.011>
- [27] Meana-Paneda, R. (s. f.). *CHARMM: Home*. CHARMM: Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics. Recuperado 15 de septiembre de 2021, de <https://www.charmm.org/>

9. ANEXO

En este apartado se van a presentar las gráficas que corresponden al desplazamiento a lo largo de la dinámica entre los átomos de los inhibidores y los aminoácidos de su entorno. Estas gráficas representan la distancia entre dos átomos, medido en Amstrongs (eje Y) frente al tiempo medido en ps (eje X). Con el objetivo de reducir espacio y obtener una visión más completa de las medidas se ha prescindido de nombrar a los ejes prefiriendo una representación simplificada.

9.1. Grupo 5:

9.1.1. Inhibidor 5:

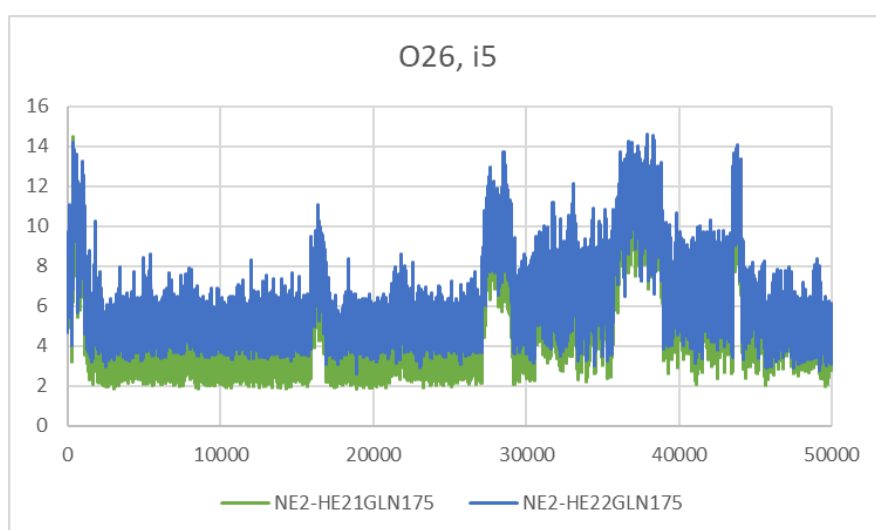


Figura 40 Desplazamiento entre la Gln175 y el átomo O26 del inhibidor 5

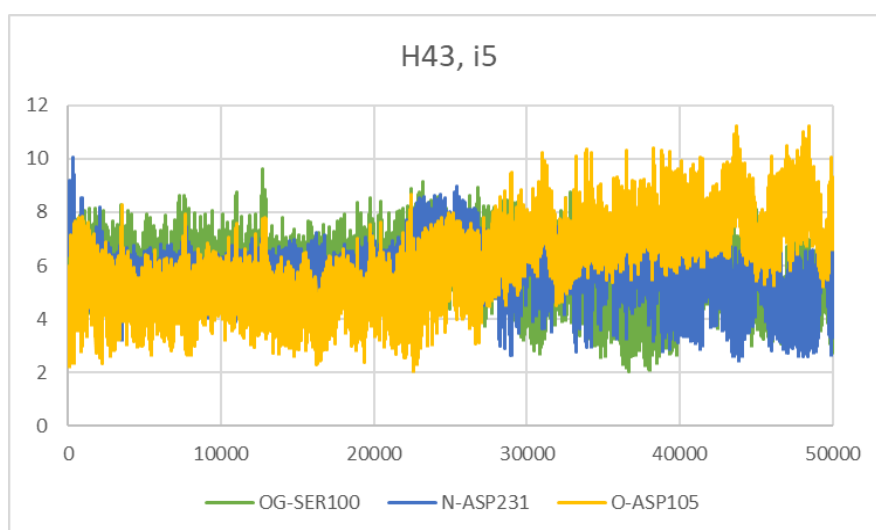


Figura 41 Desplazamiento entre los residuos 100, 105 y 231 con el átomo H43 del inhibidor 5

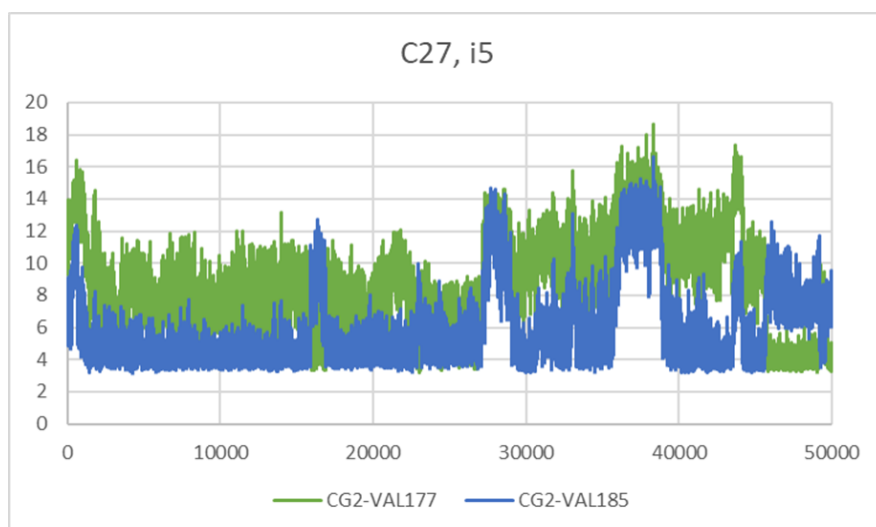


Figura 42 Desplazamiento entre los residuos 177 y 185 con el átomo C27 del inhibidor 5

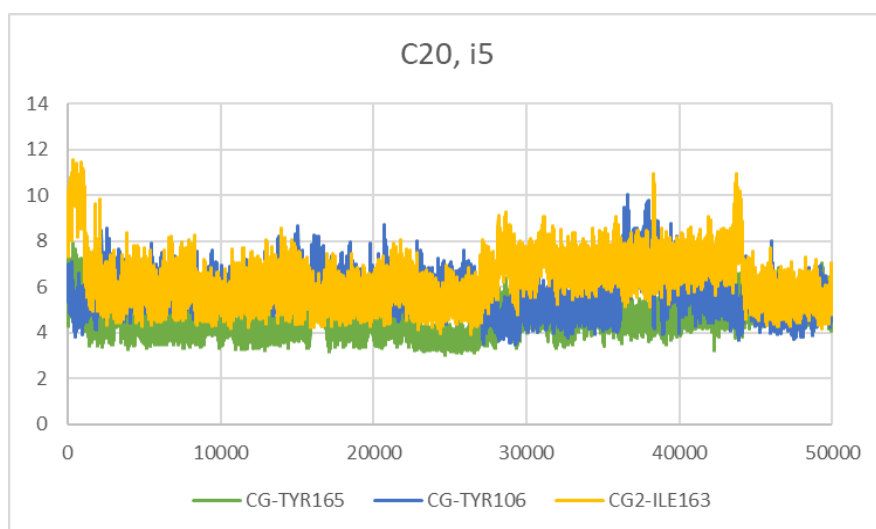


Figura 43 Desplazamiento entre los residuos 106, 163 y 165 con el átomo C20 del inhibidor 5

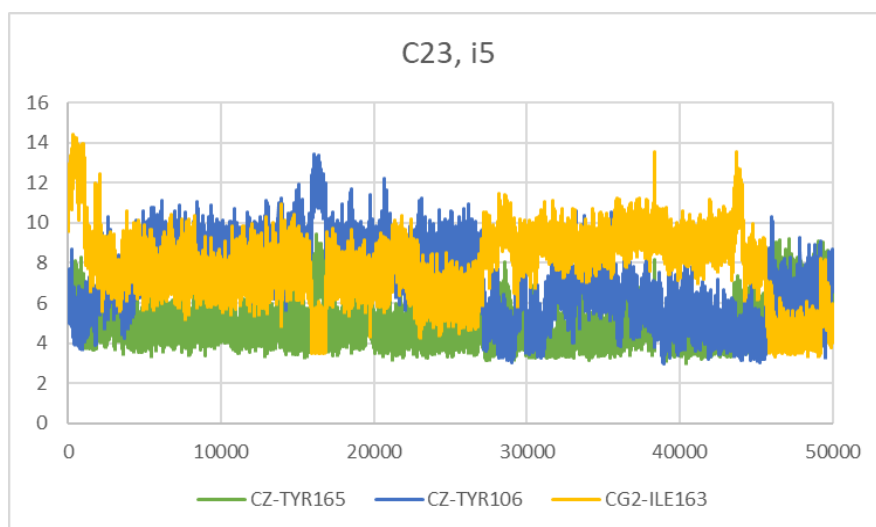


Figura 44 Desplazamiento entre los residuos 106, 163 y 165 con el átomo C23 del inhibidor 5

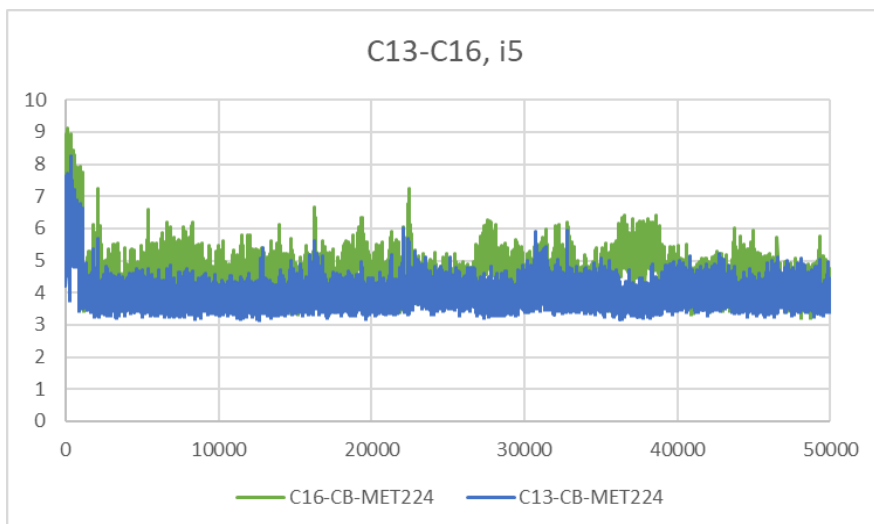


Figura 45 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 5

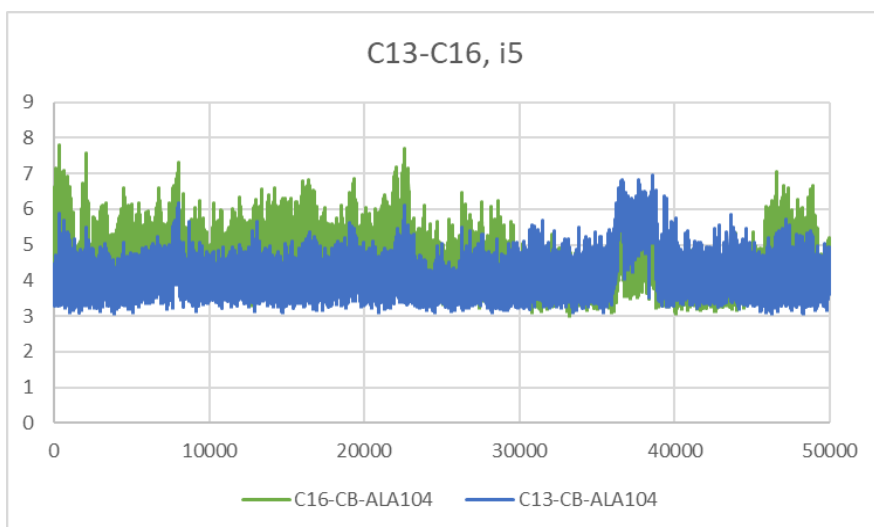


Figura 46 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 5

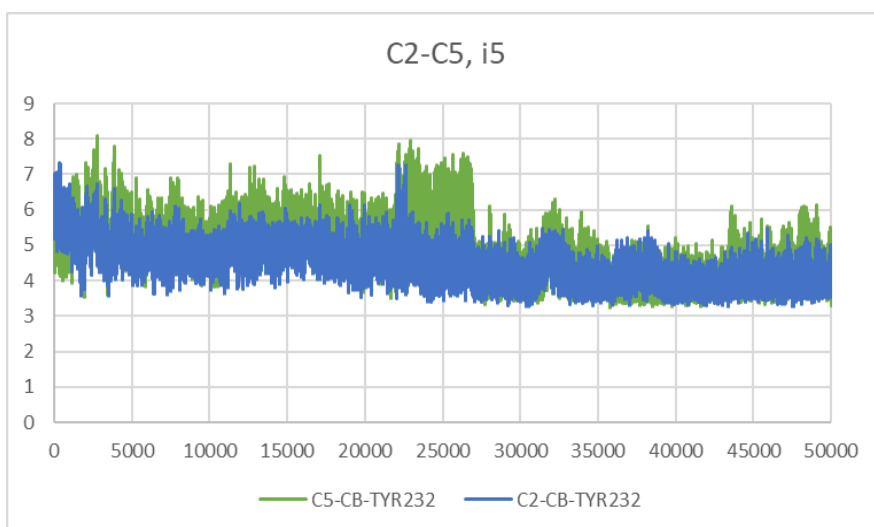


Figura 47 Desplazamiento entre la Tyr232 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 5

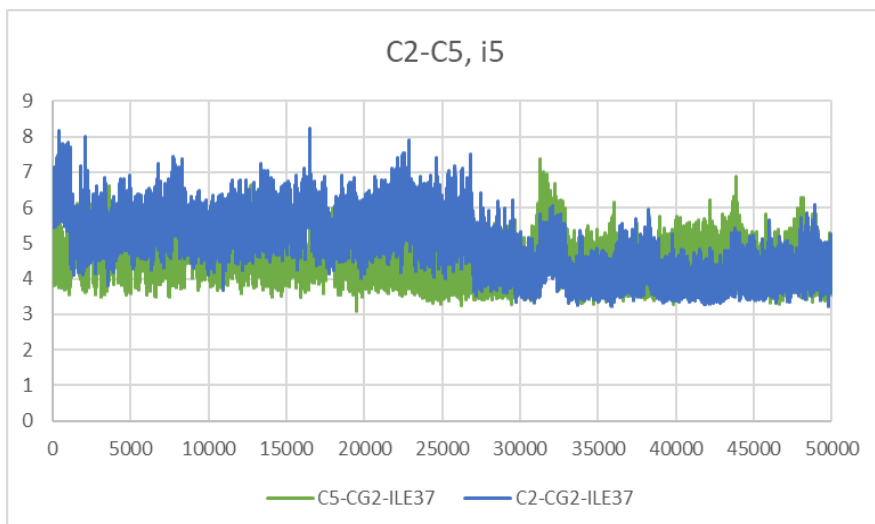


Figura 48 Desplazamiento entre la Ile37 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 5

9.1.2. Inhibidor 11:

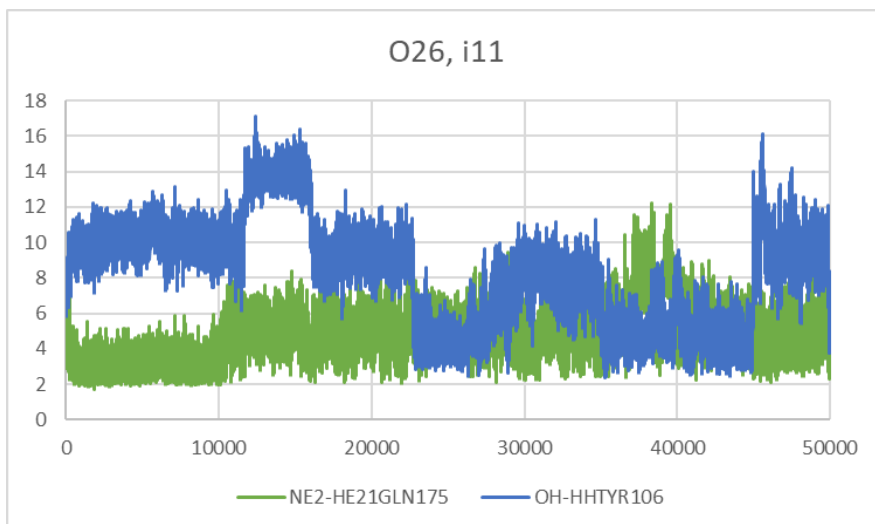


Figura 49 Desplazamiento entre los residuos 106 y 175 con el átomo O26 del inhibidor 11

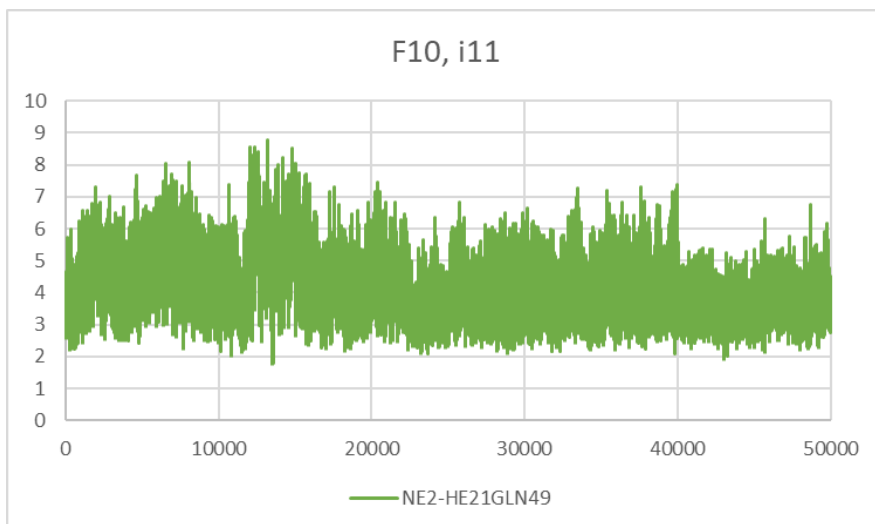


Figura 50 Desplazamiento ente la Gln49 y el átomo F10 del inhibidor 11

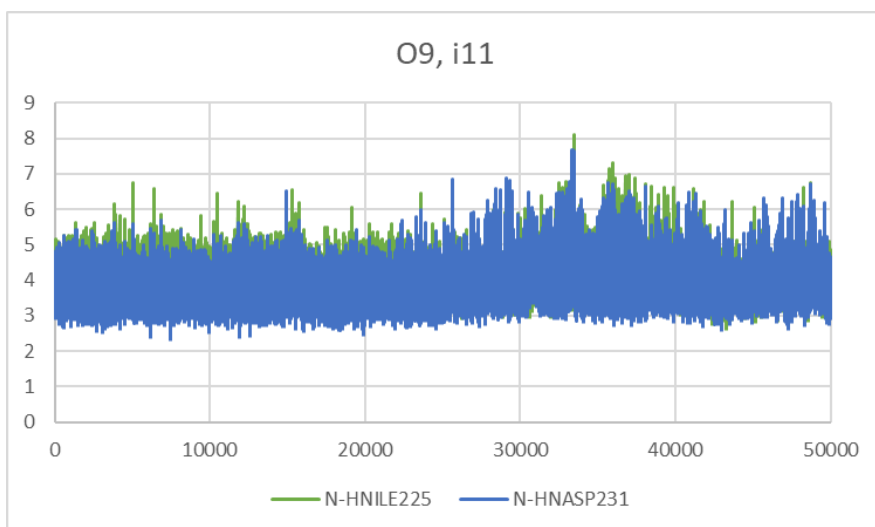


Figura 51 Desplazamiento entre los residuos 225 y 231 con el átomo O9 del inhibidor

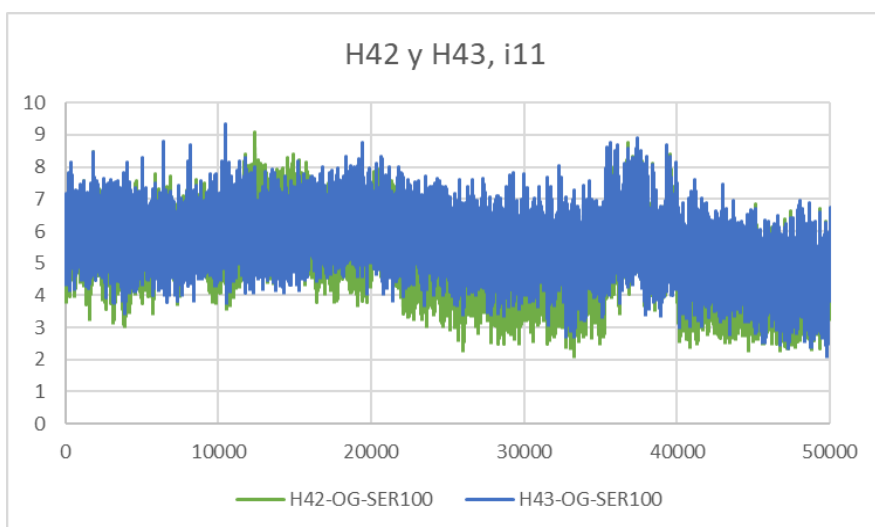


Figura 52 Desplazamiento ente la Ser100 y los átomos H42 y H43 del inhibidor 11

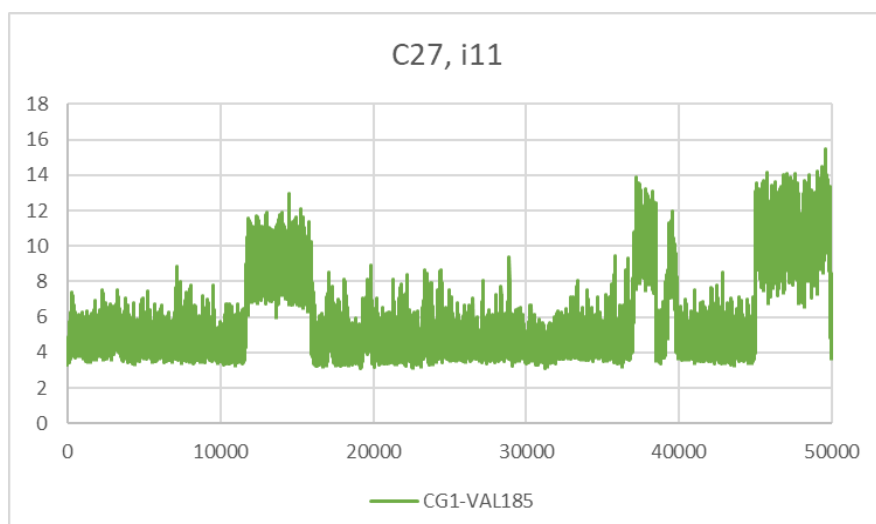


Figura 53 Desplazamiento entre la Val185 y el átomo C27 del inhibidor 11

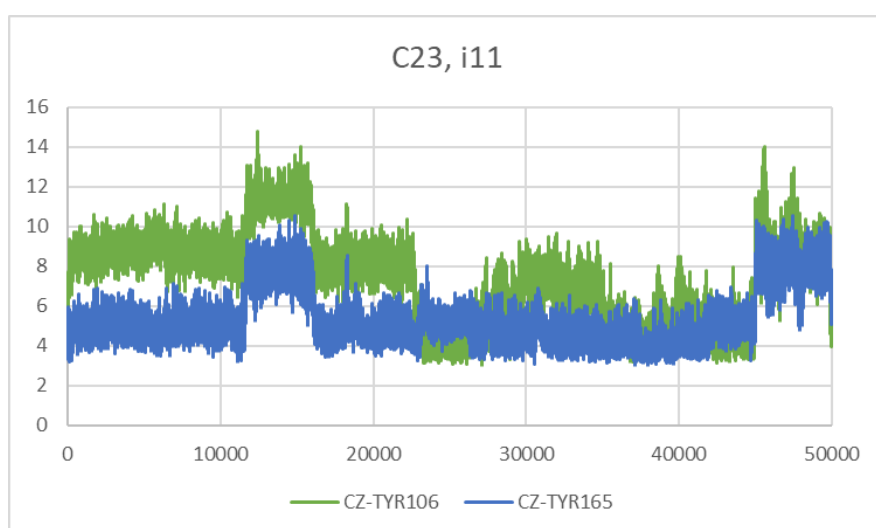


Figura 54 Desplazamiento entre los residuos 106 y 165 con el átomo C23 del inhibidor 11

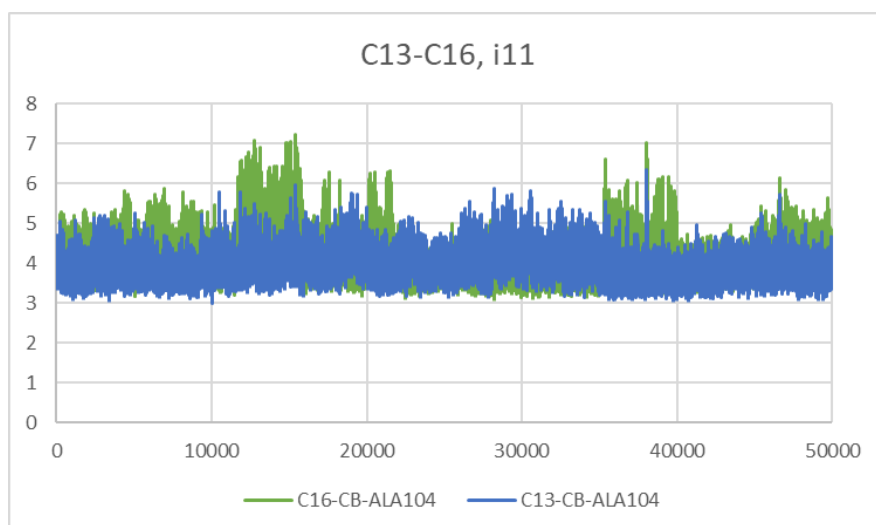


Figura 55 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 11

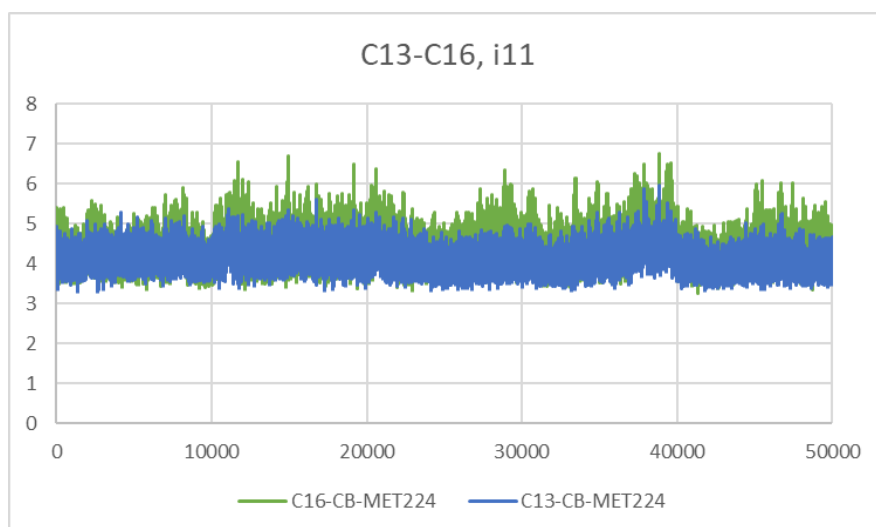


Figura 56 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 11

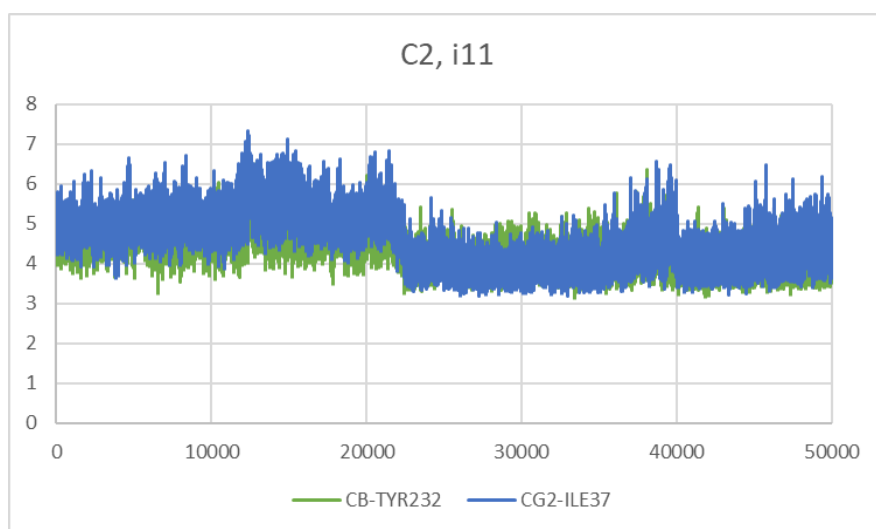


Figura 57 Desplazamiento entre los residuos 37 y 232 con el átomo C2 del anillo C2-C5 del inhibidor 11

9.1.3. Inhibidor 17:

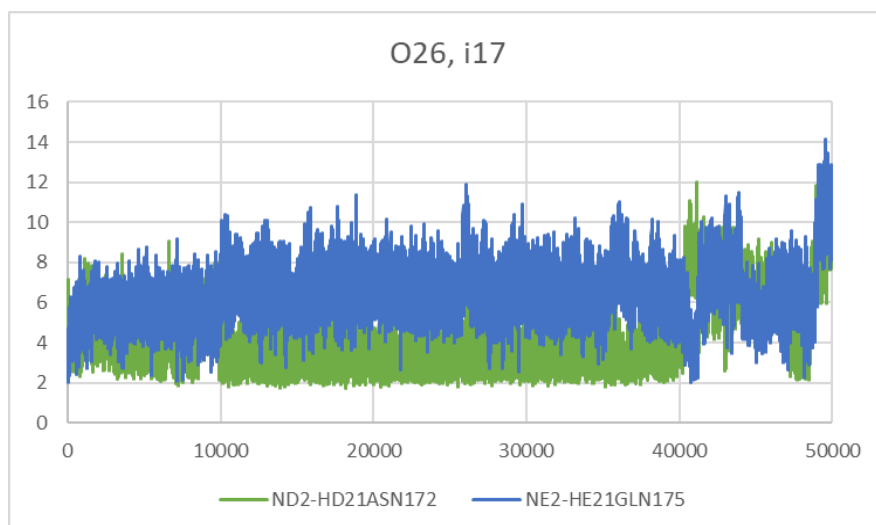


Figura 58 Desplazamiento entre los residuos 172 y 175 con el átomo O26 del inhibidor 17

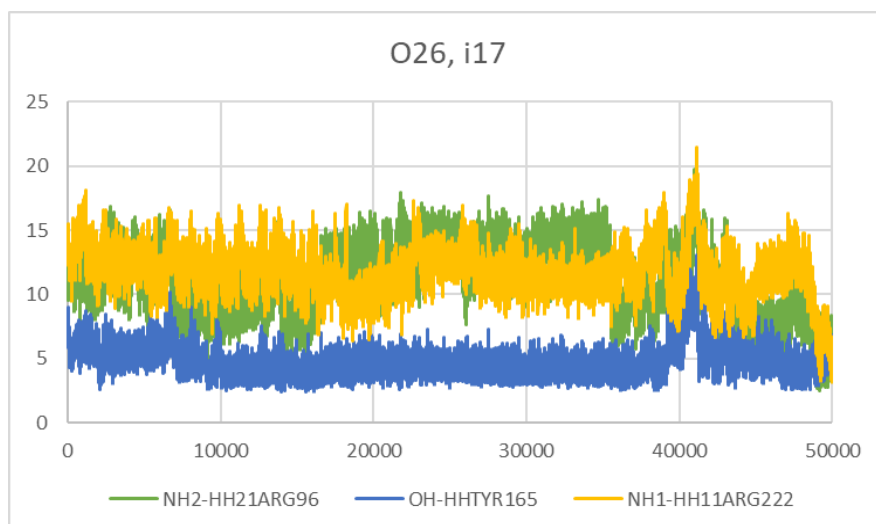


Figura 59 Desplazamiento entre los residuos 96, 165 y 222 con el átomo O26 del inhibidor 17

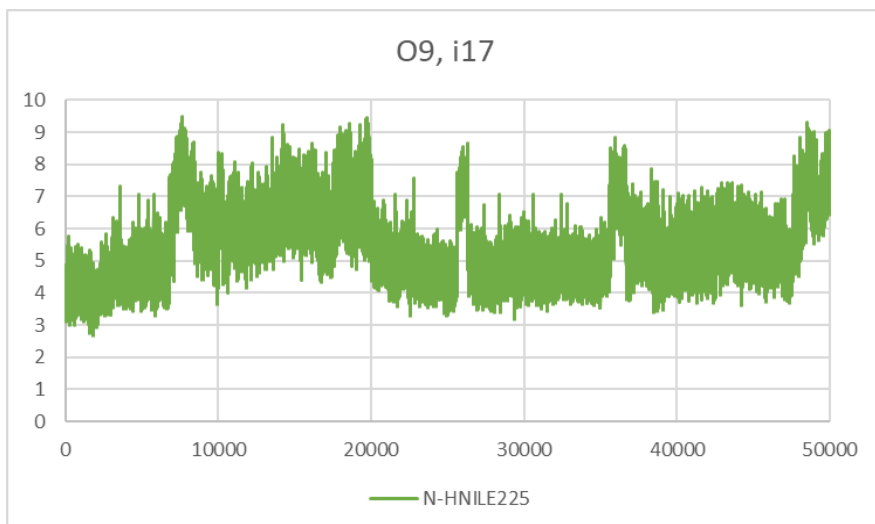


Figura 60 Desplazamiento entre la Ile225 y el átomo O9 del inhibidor 17

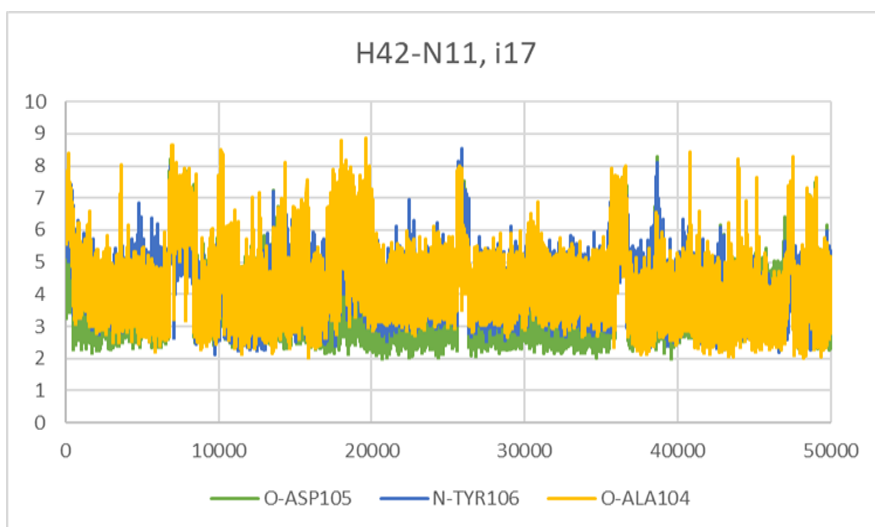


Figura 61 Desplazamiento entre los residuos 104, 105 y 106 con el átomo H42 del inhibidor 17

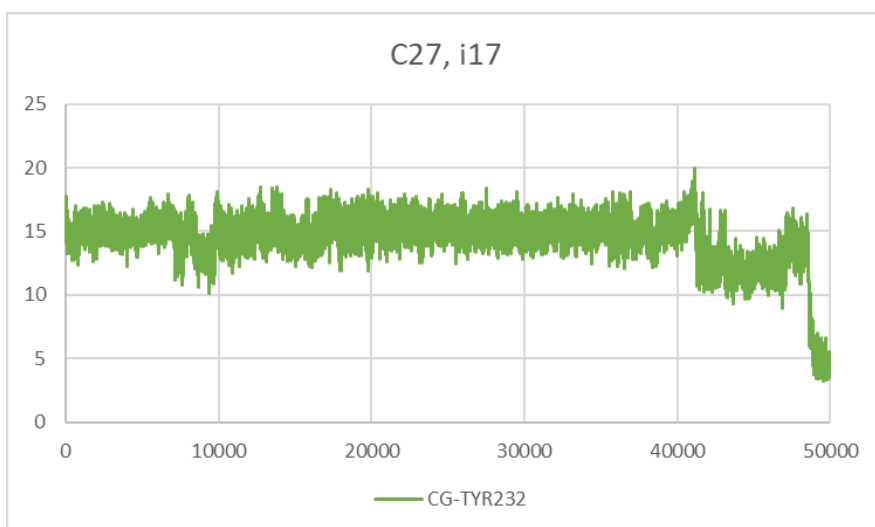


Figura 62 Desplazamiento entre la Tyr232 y el átomo C27 del inhibidor 17

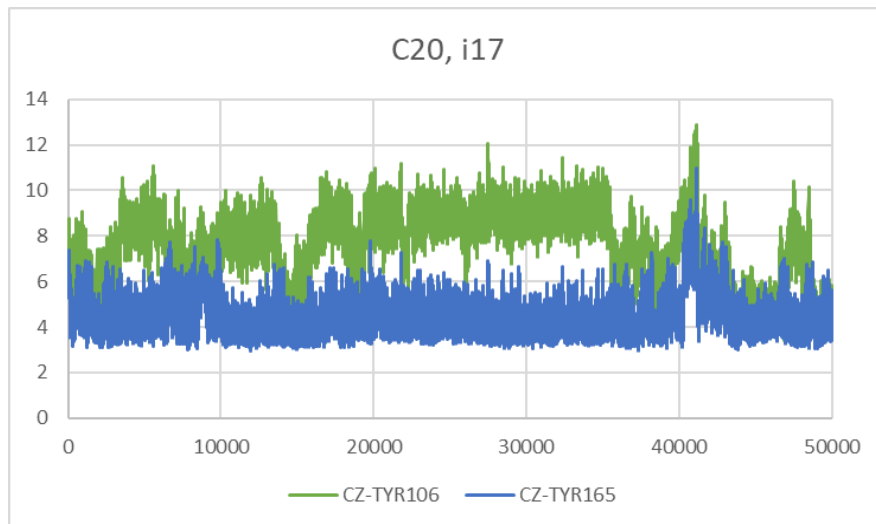


Figura 63 Desplazamiento entre los residuos 106 y 165 con el átomo C20 del inhibidor 17

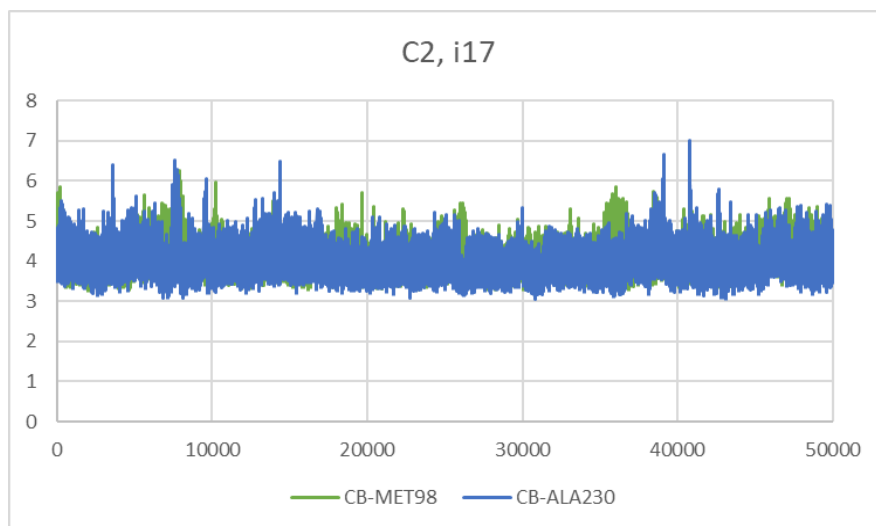


Figura 64 Desplazamiento entre los residuos 98 y 230 con el átomo C2 del inhibidor 17

9.1.4. Inhibidor 23:

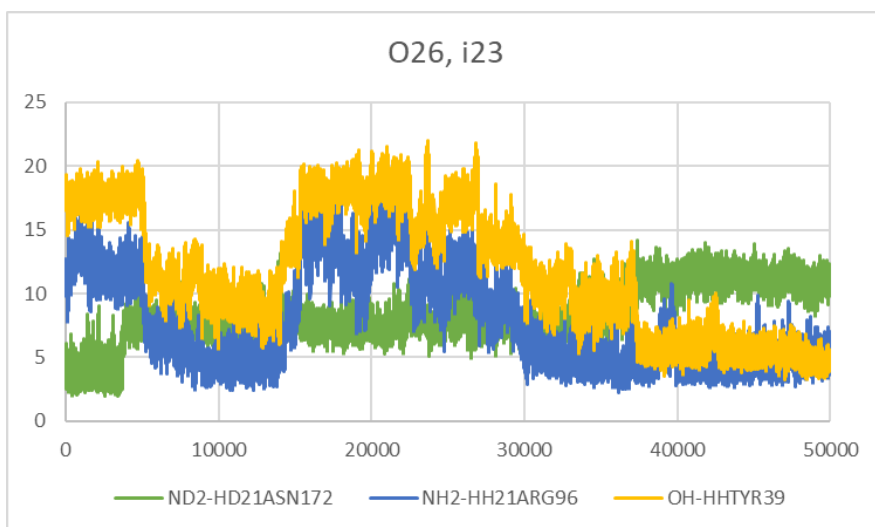


Figura 65 Desplazamiento entre los residuos 39, 96 y 172 con el átomo O26 del inhibidor 23

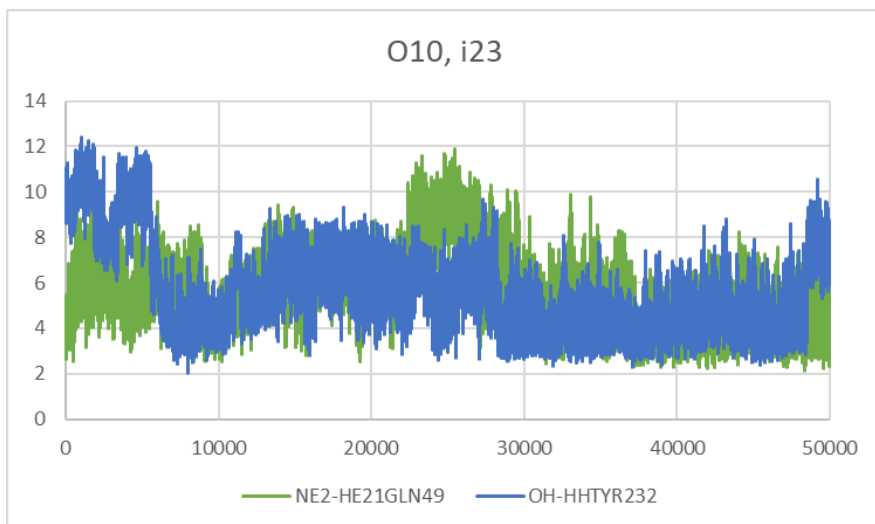


Figura 66 Desplazamiento entre los residuos 49 y 232 con el átomo O10 del inhibidor 23

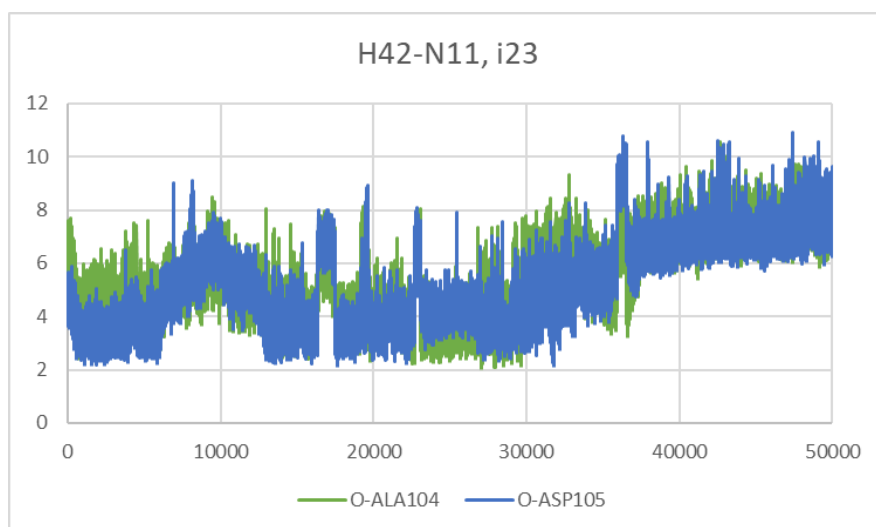


Figura 67 Desplazamiento entre los residuos 104 y 105 con el átomo H42 del inhibidor 23

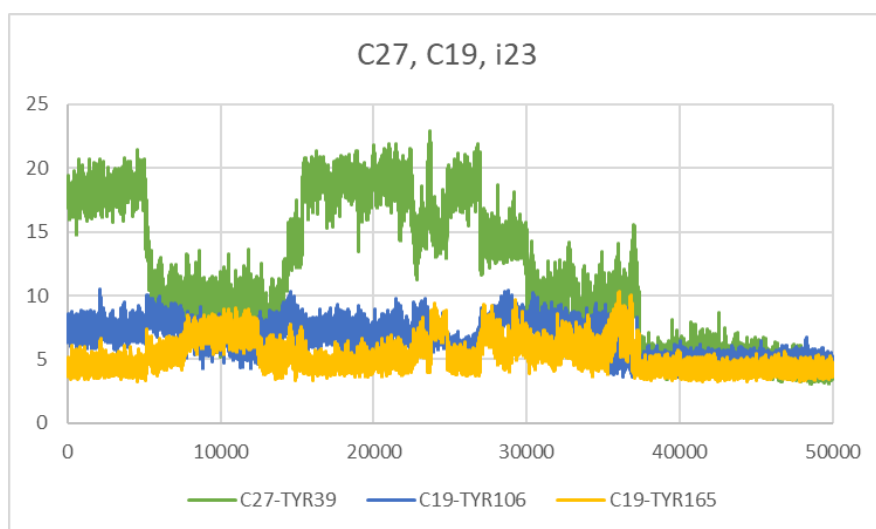


Figura 68 Desplazamiento entre la Tyr39 y el átomo C27 del inhibidor 23, y los residuos 106 y 165 con el átomo C19 del inhibidor 23

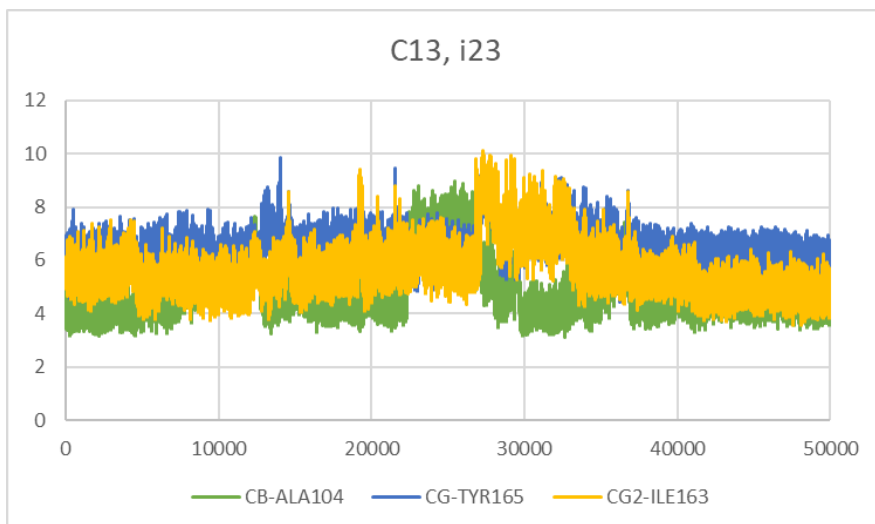


Figura 69 Desplazamiento entre los residuos 104, 163 y 165 con el átomo C13 del inhibidor 23

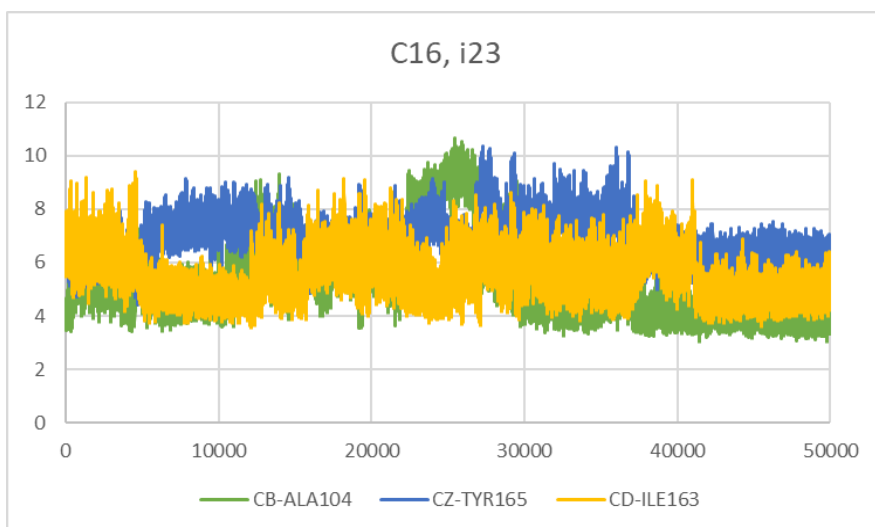


Figura 70 Desplazamiento entre los residuos 104, 163 y 165 con el átomo C16 del inhibidor 23

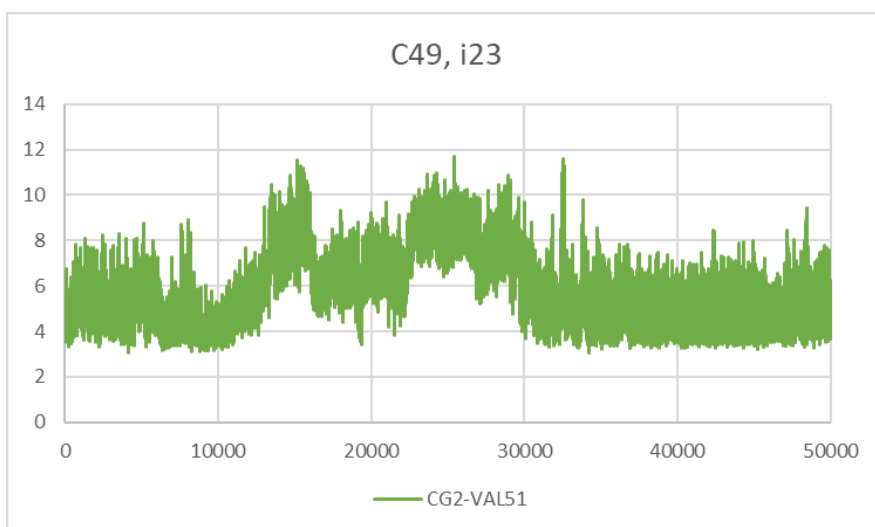


Figura 71 Desplazamiento entre la Val51 y el átomo C49 del inhibidor 23

9.1.5. Inhibidor 29:

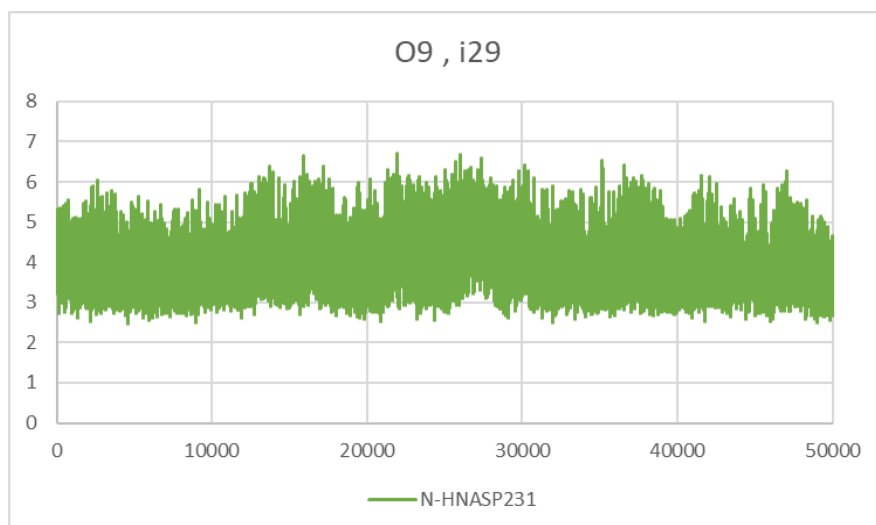


Figura 72 Desplazamiento entre el Asp231 y el átomo O9 del inhibidor 29

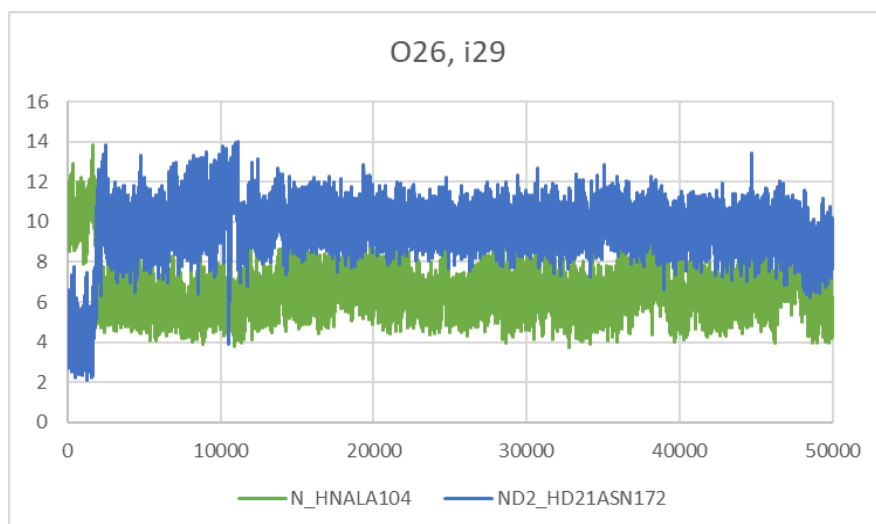


Figura 73 Desplazamiento entre los residuos 104 y 172 con el átomo O26 del inhibidor 29

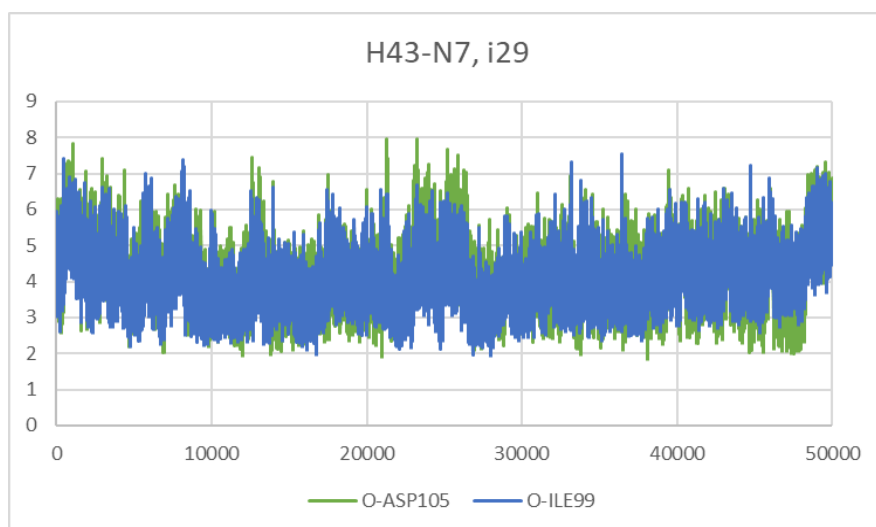


Figura 74 Desplazamiento entre los residuos 99 y 105 con el átomo H43 del inhibidor 29

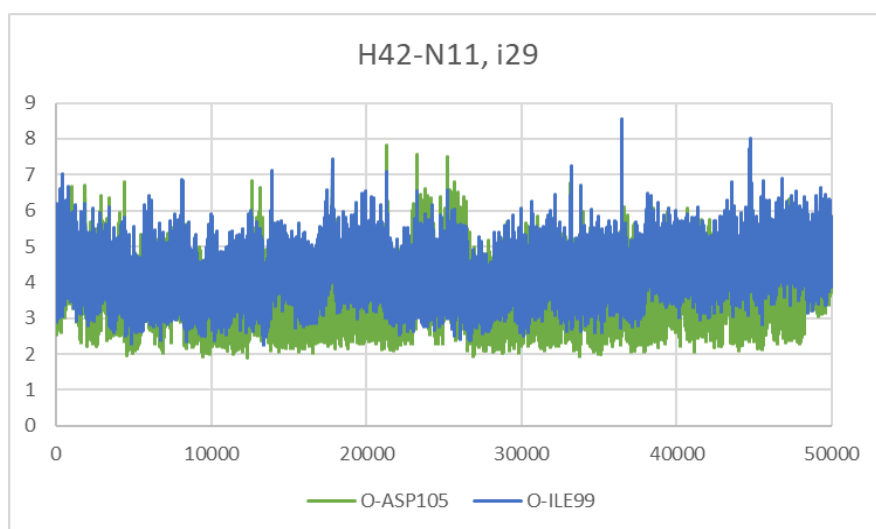


Figura 75 Desplazamiento entre los residuos 99 y 105 y el átomo H42 del inhibidor 29

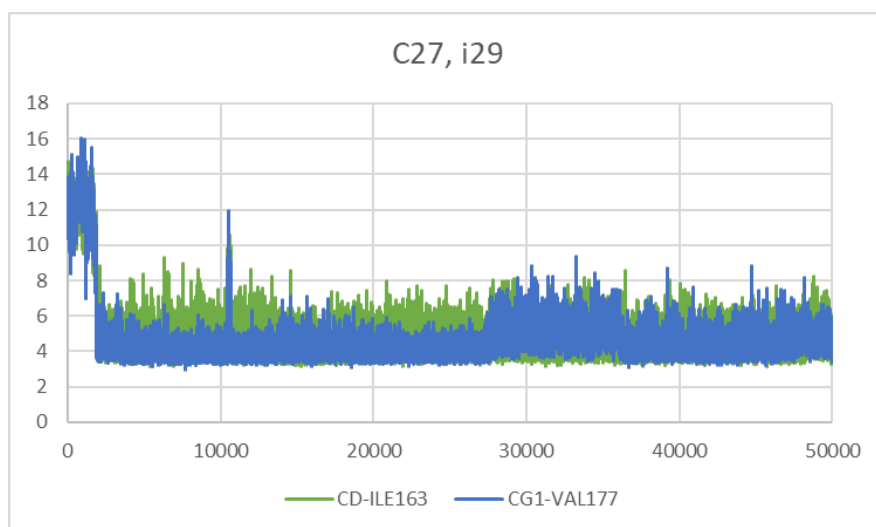


Figura 76 Desplazamiento entre los residuos 163 y 177 con el átomo C27 del inhibidor 29

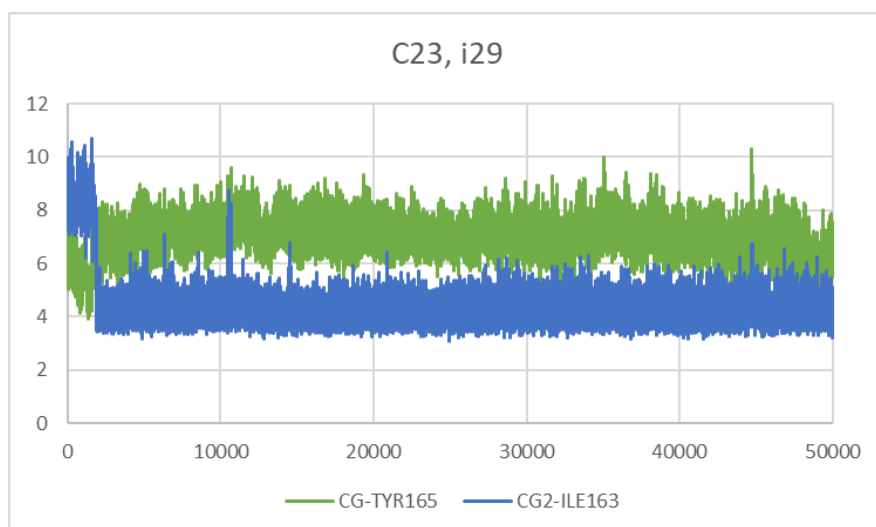


Figura 77 Desplazamiento entre los residuos 163 y 165 con el átomo C23 del inhibidor 29

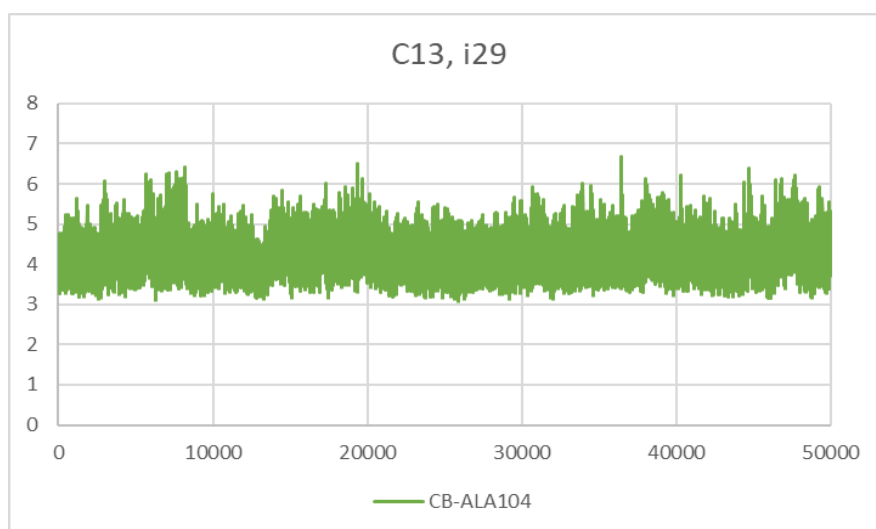


Figura 78 Desplazamiento entre la Ala104 y el átomo C13 del inhibidor 29

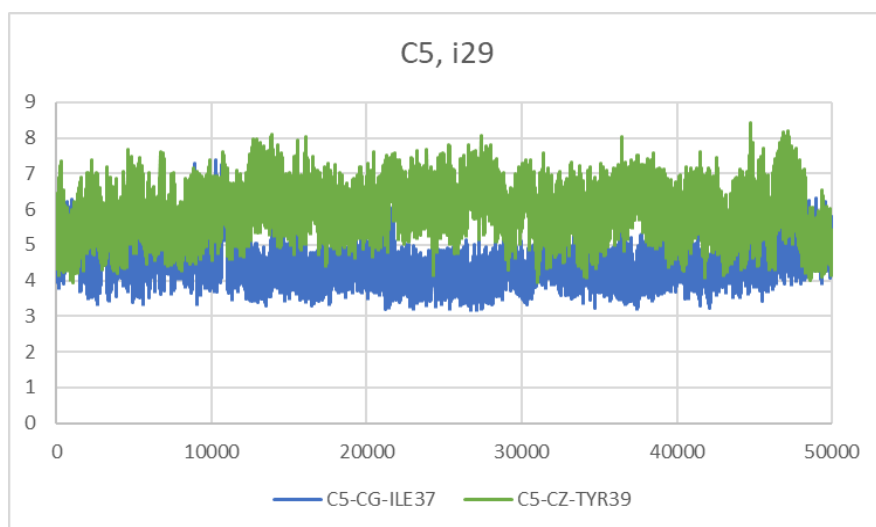


Figura 79 Desplazamiento entre los residuos 37 y 39 con el átomo C5 del inhibidor 29

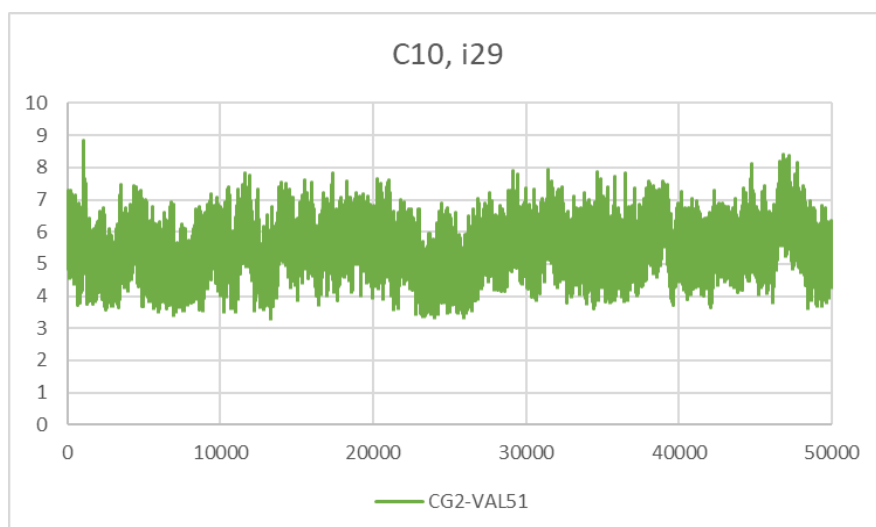


Figura 80 Desplazamiento entre la Val51 y el átomo C10 del inhibidor 29

9.2. Grupo 6:

9.2.1. Inhibidor 6:

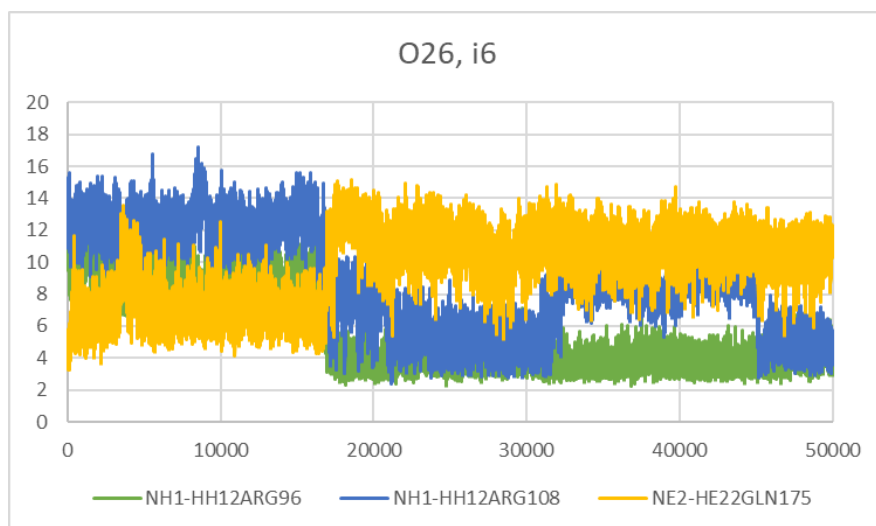


Figura 81 Desplazamiento entre los residuos 96, 108 y 175 con el átomo O26 del inhibidor 6

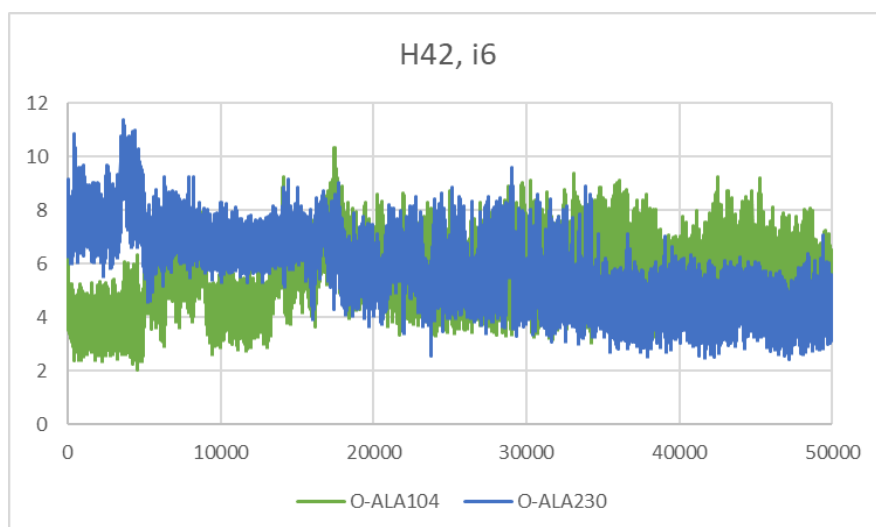


Figura 82 Desplazamiento entre los residuos 104 y 230 con el átomo H42 del inhibidor 6

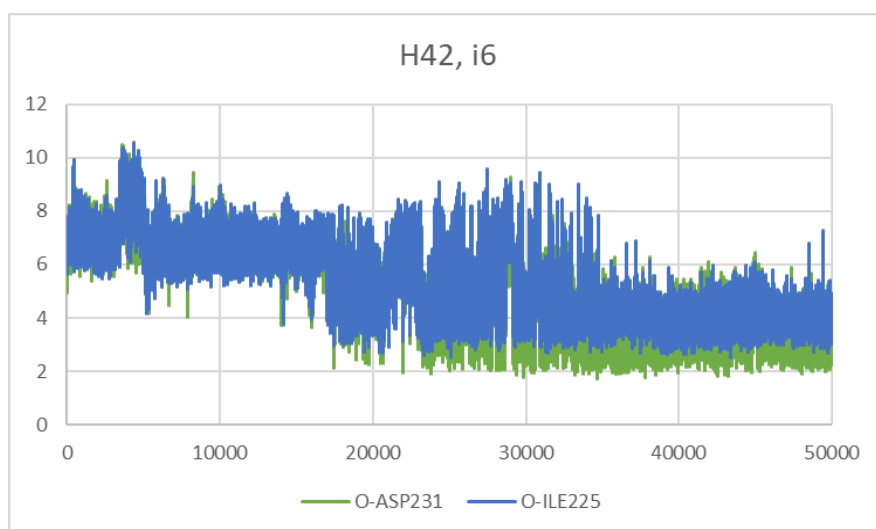


Figura 83 Desplazamiento entre los residuos 225 y 231 con el átomo H42 del inhibidor 6

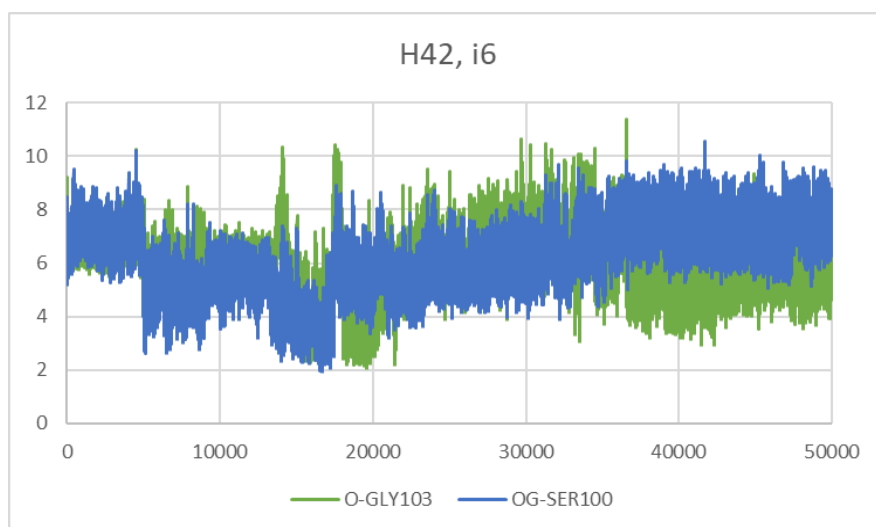


Figura 84 Desplazamiento entre los residuos 100 y 103 con el átomo H42 del inhibidor 6

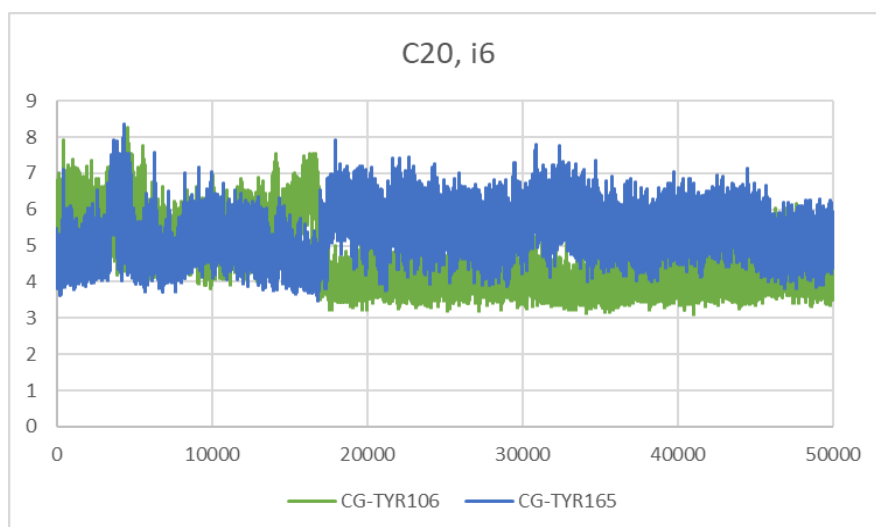


Figura 85 Desplazamiento entre los residuos 106 y 165 con el átomo C20 del inhibidor 6

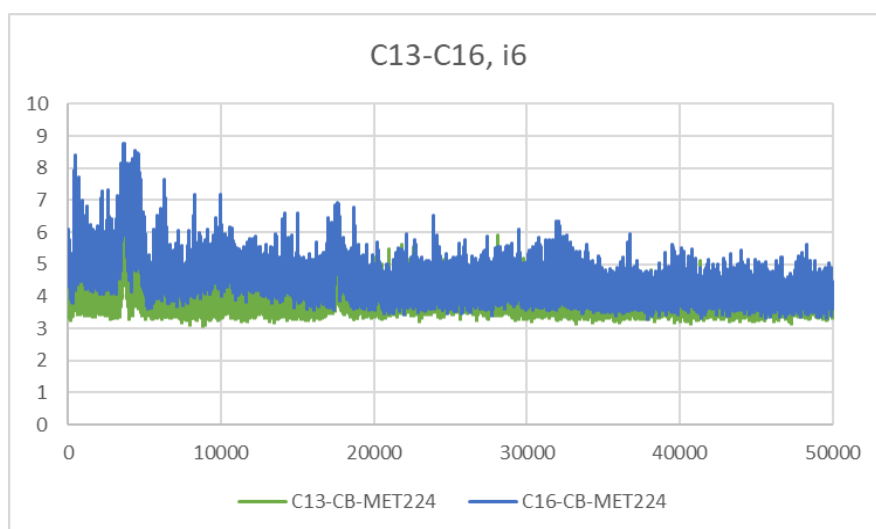


Figura 86 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos C13-C16 del anillo del inhibidor 6

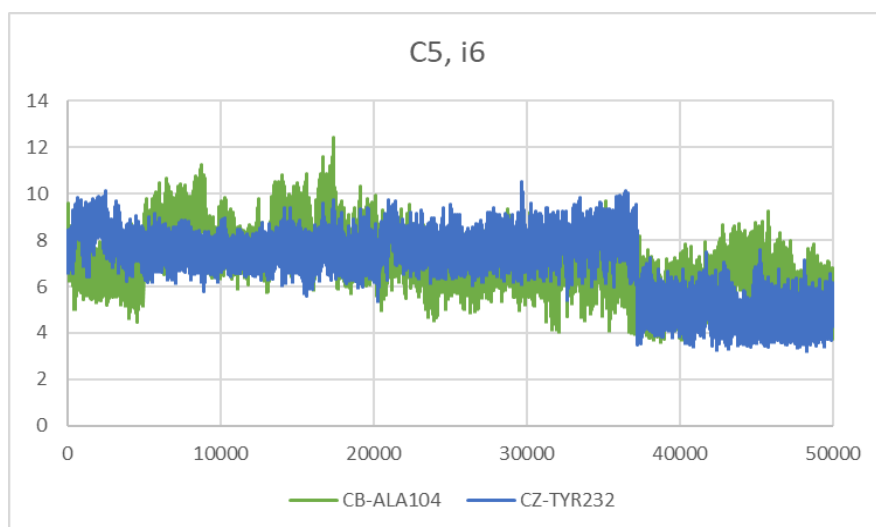


Figura 87 Desplazamiento entre los residuos 104 y 232 con el átomo C5 del inhibidor 6

9.2.2. Inhibidor 12:

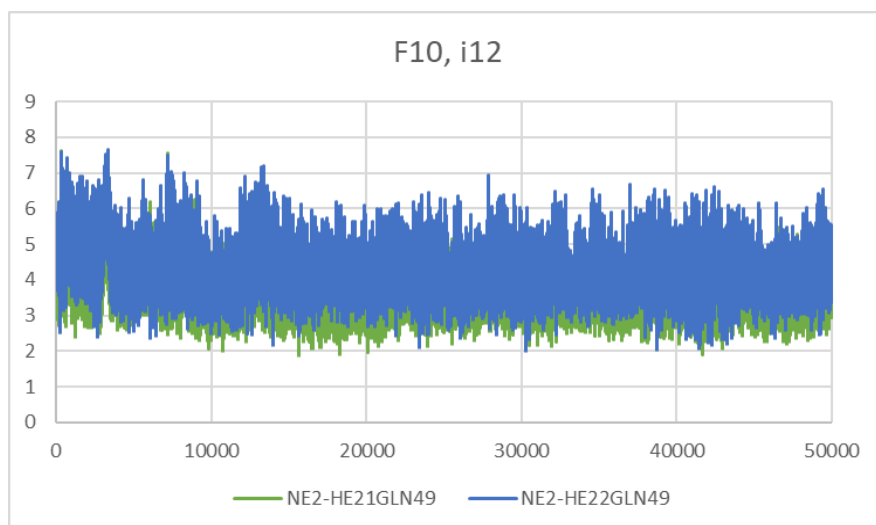


Figura 88 Desplazamiento entre la Gln49 y el átomo F10

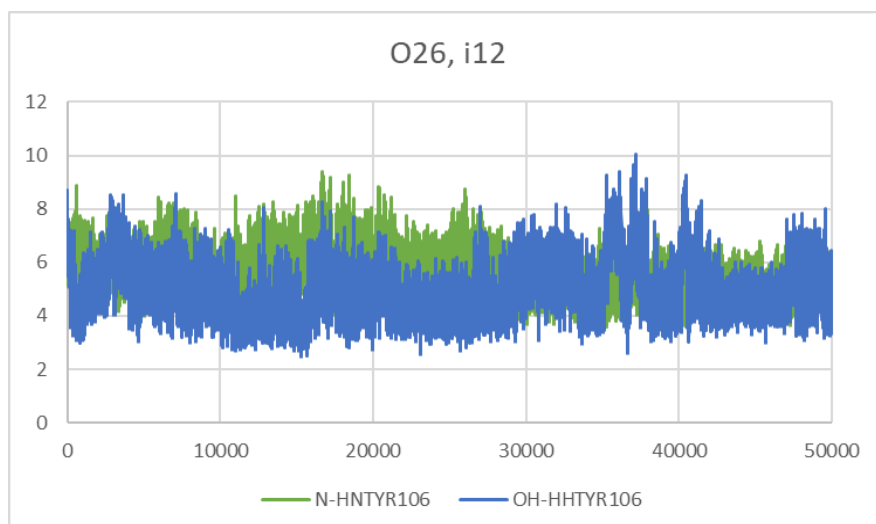


Figura 89 Desplazamiento entre la Tyr106 y el átomo O26 del inhibidor 12

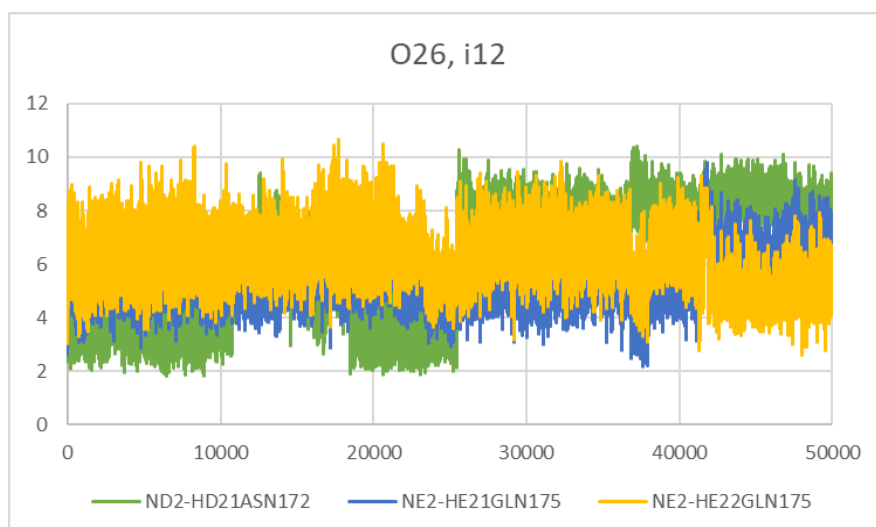


Figura 90 Desplazamiento entre los residuos 172 y 175 con el átomo O26 del inhibidor 12

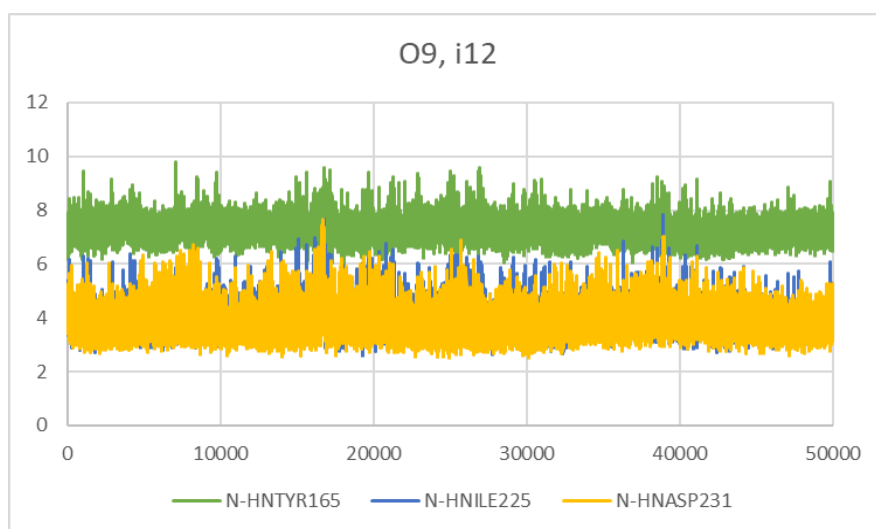


Figura 91 Desplazamiento entre los residuos 165, 225 y 231 con el átomo O9 del inhibidor 12

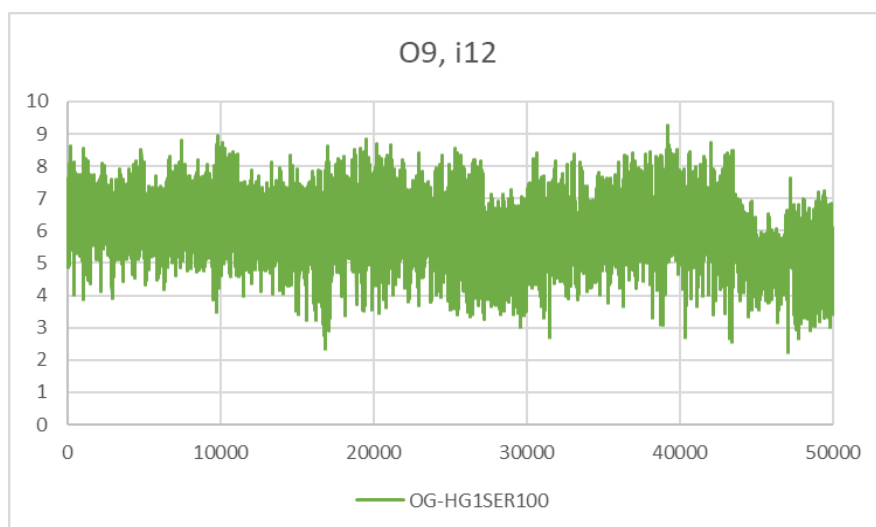


Figura 92 Desplazamiento entre la Ser100 y el átomo O9 del inhibidor 12

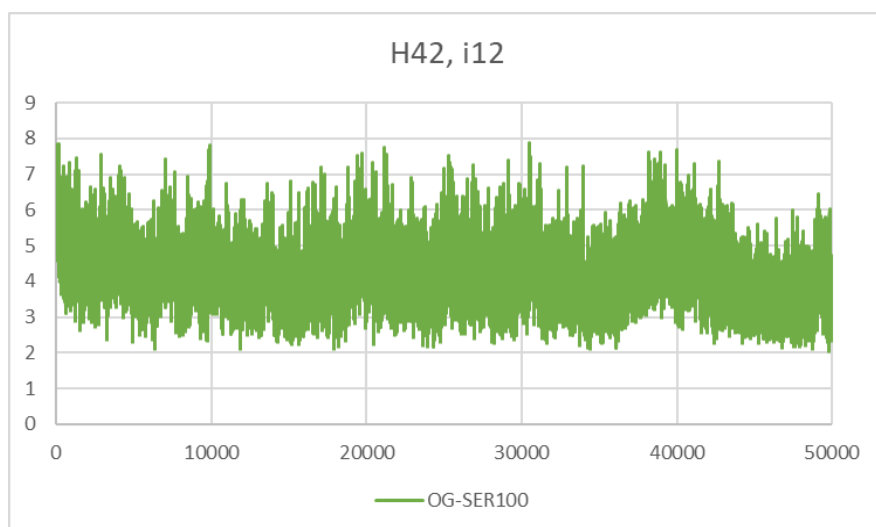


Figura 93 Desplazamiento entre la Ser100 y el átomo H42 del inhibidor 12

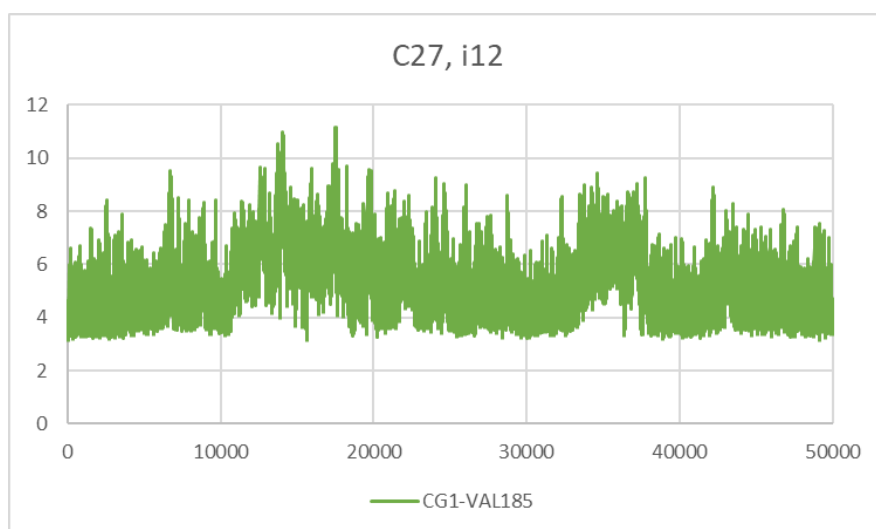


Figura 94 Desplazamiento de la Val185 y el átomo C27 del inhibidor 12

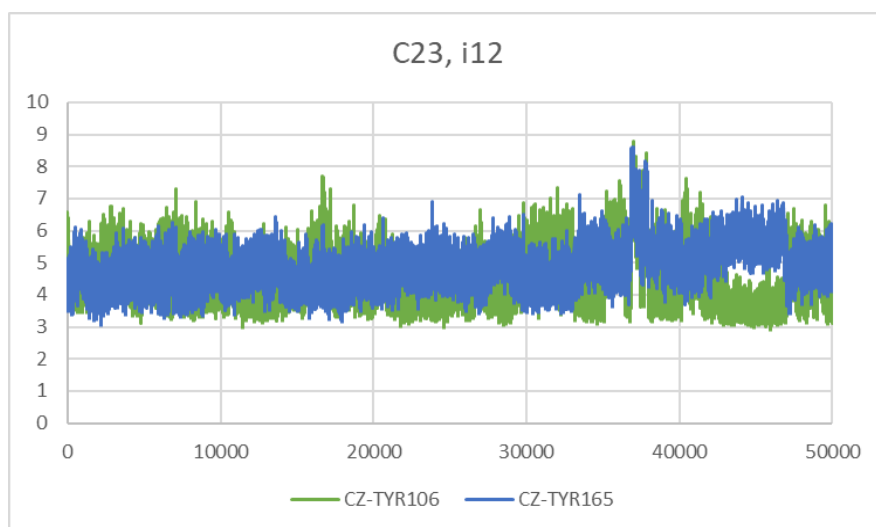


Figura 95 Desplazamiento entre los residuos 106 y 165 con el átomo C23 del inhibidor 12

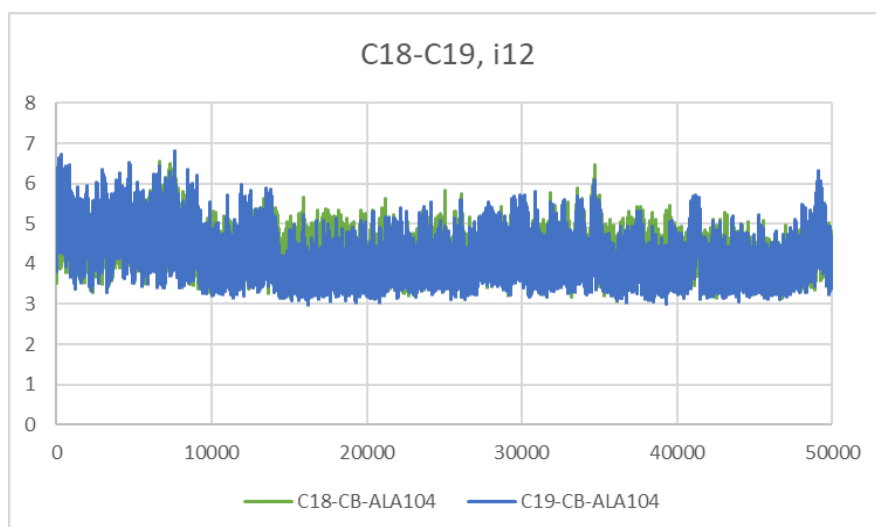


Figura 96 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos C18 y C19 del inhibidor 12

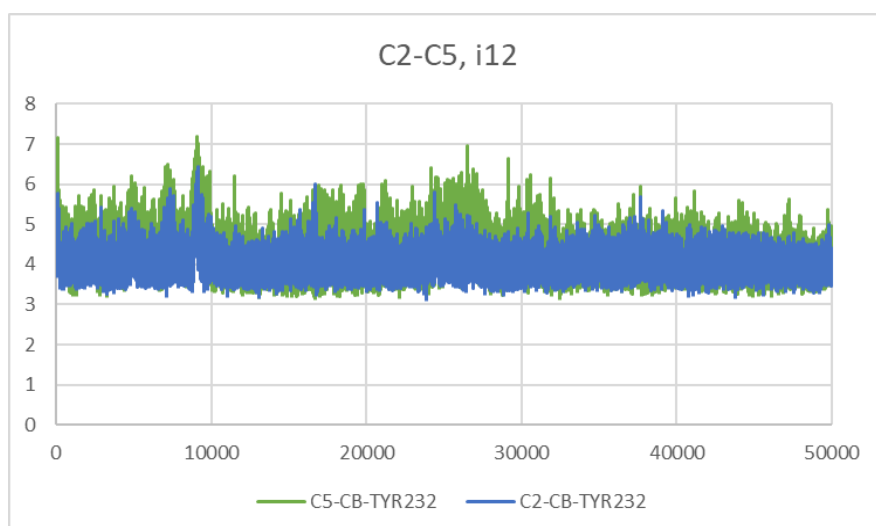


Figura 97 Desplazamiento entre la Tyr232 y los átomos del anillo C2 y C5 del inhibidor 12

9.2.3. Inhibidor 18:

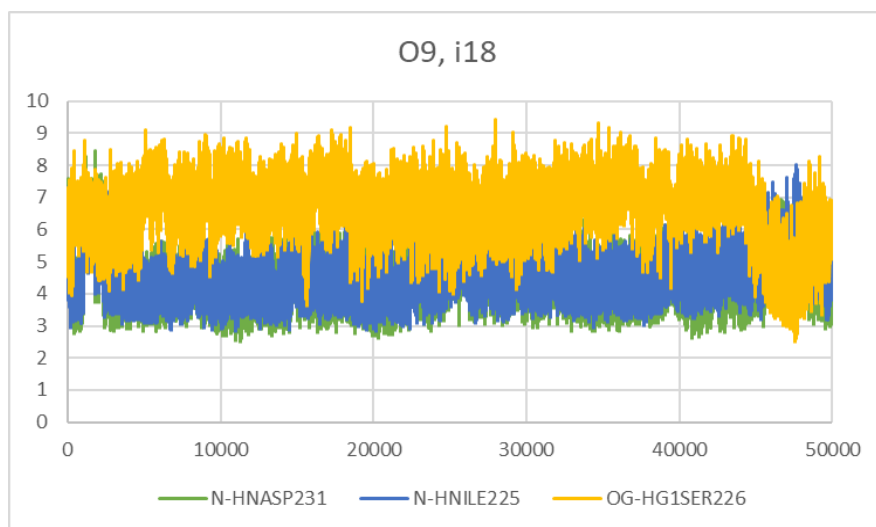


Figura 98 Desplazamiento entre los residuos 225, 226 y 231 con el átomo O9 del inhibidor 18

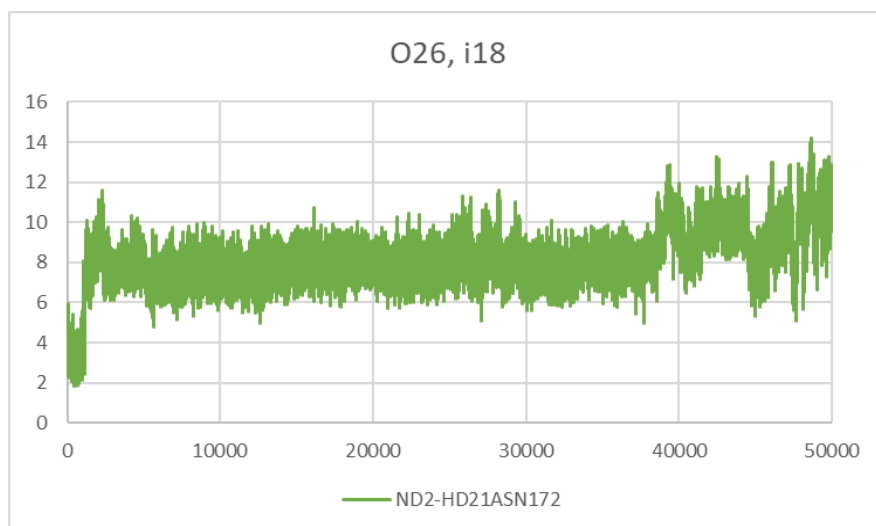


Figura 99 Desplazamiento entre la Asn172 y el átomo O26 del inhibidor 18

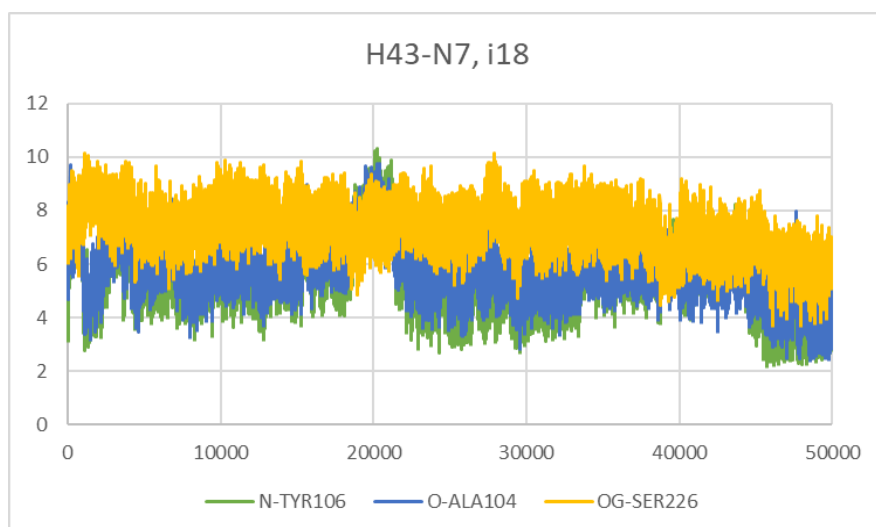


Figura 100 Desplazamiento entre los residuos 104, 106 y 226 con el átomo H43 del inhibidor 18

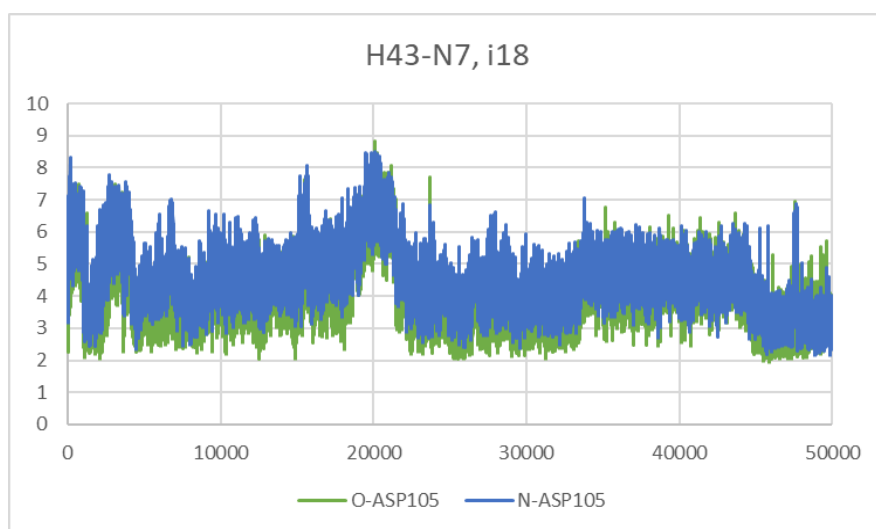


Figura 101 Desplazamiento entre el Asp105 y el átomo H43 del inhibidor 18

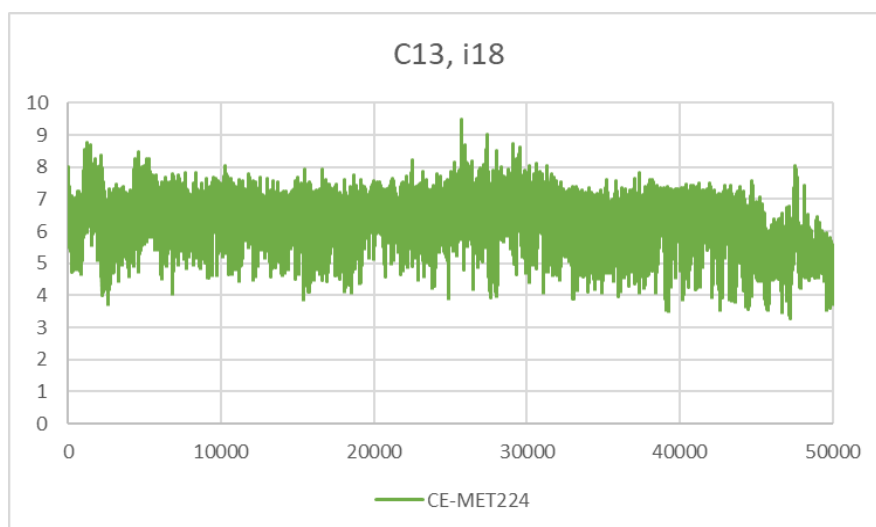


Figura 102 Desplazamiento entre la Met224 y el átomo C13 del inhibidor 18

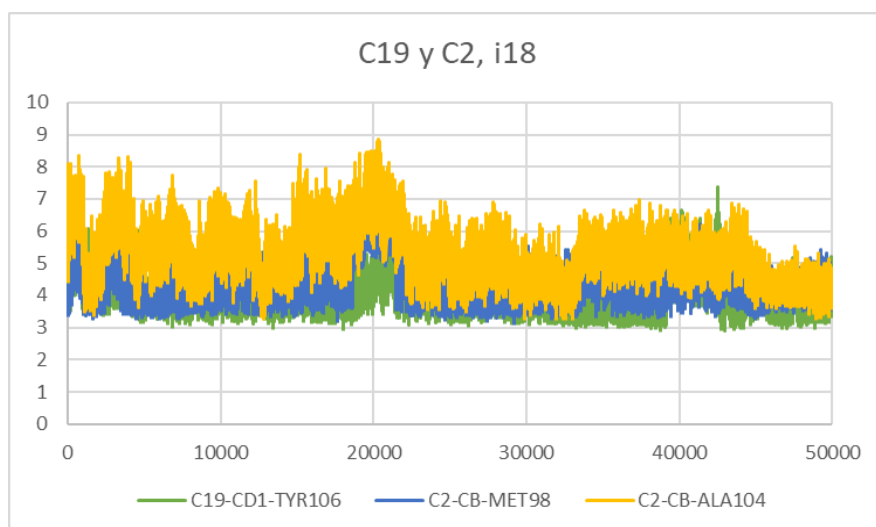


Figura 103 Desplazamiento de los residuos 98 y 104 con el átomo C2 del inhibidor 18, y la Tyr106 con el átomo C19 del inhibidor 18

9.2.4. Inhibidor 24:

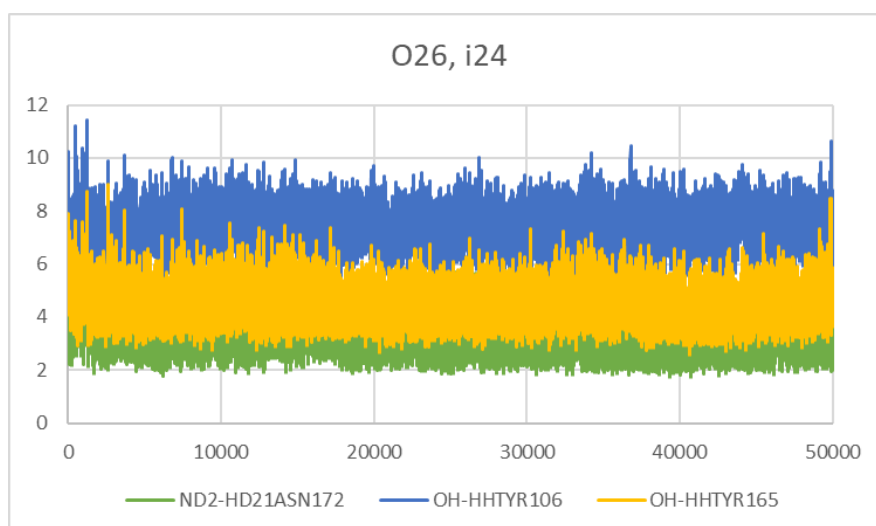


Figura 104 Desplazamiento entre los residuos 106, 165 y 172 con el átomo O26 del inhibidor 24

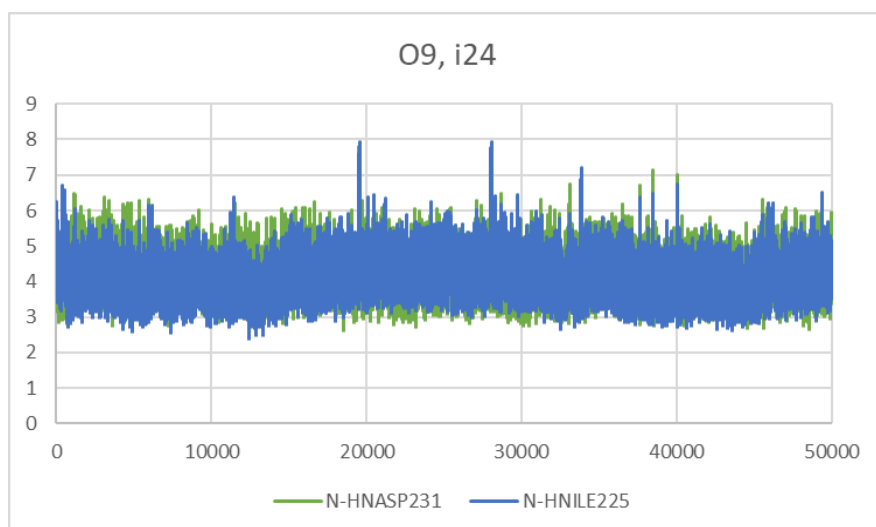


Figura 105 Desplazamiento entre los residuos 225 y 231 con el átomo O9 del inhibidor 24

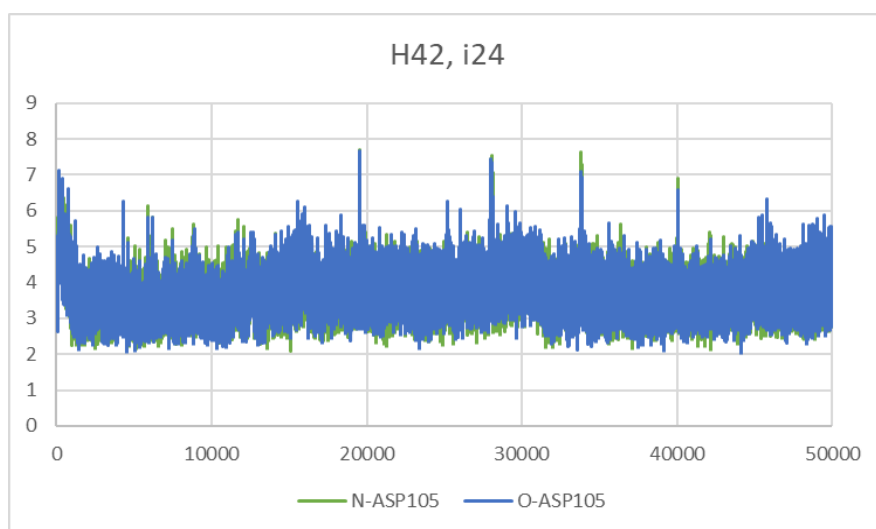


Figura 106 Desplazamiento entre el Asp105 y el átomo H42 del inhibidor 24

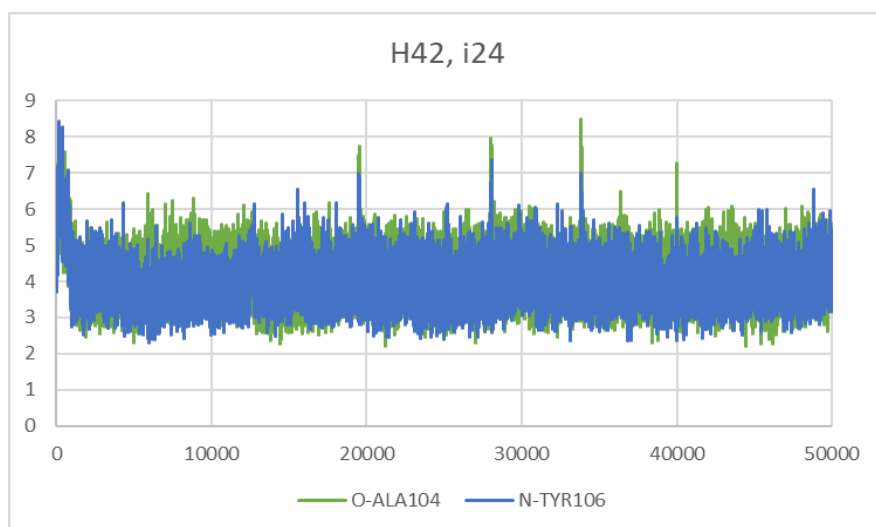


Figura 107 Desplazamiento entre los residuos 104 y 106 con el átomo H42 del inhibidor 24

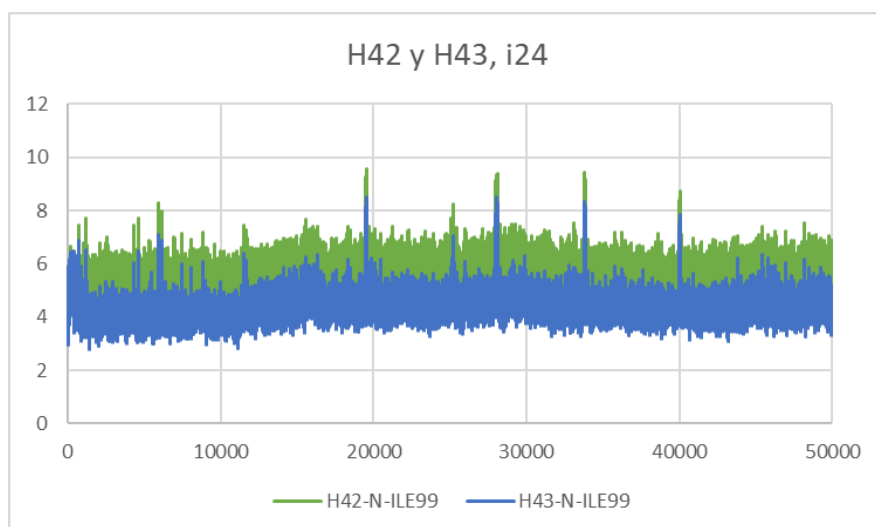


Figura 108 Desplazamiento entre la Ile99 y los átomos H42 y H43 del inhibidor 24

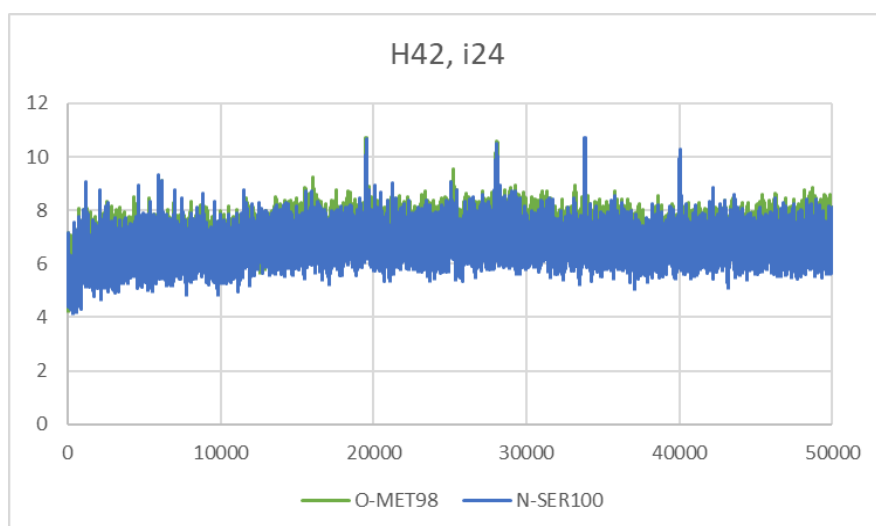


Figura 109 Desplazamiento entre los residuos 98 y 100 con el átomo H42 del inhibidor 24

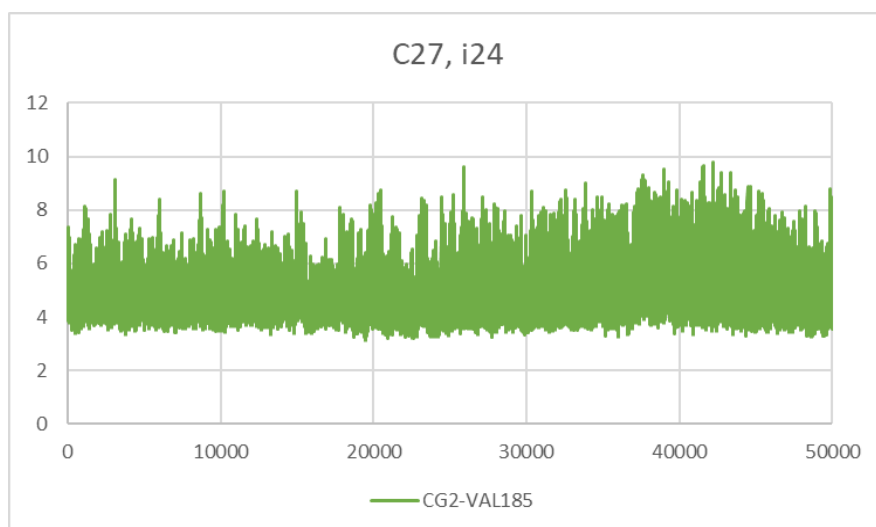


Figura 110 Desplazamiento entre la Val185 y el átomo C27 del inhibidor 24

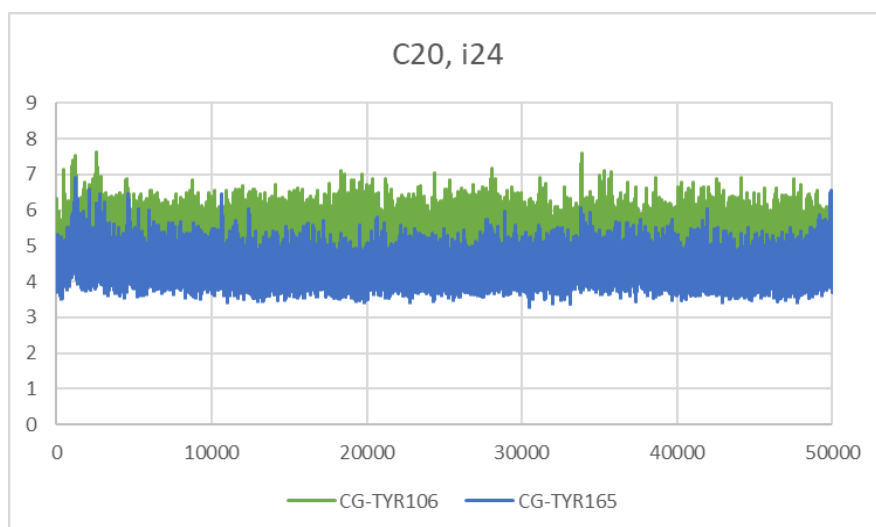


Figura 111 Desplazamiento entre los residuos 106 y 165 con el átomo C20 del inhibidor 24

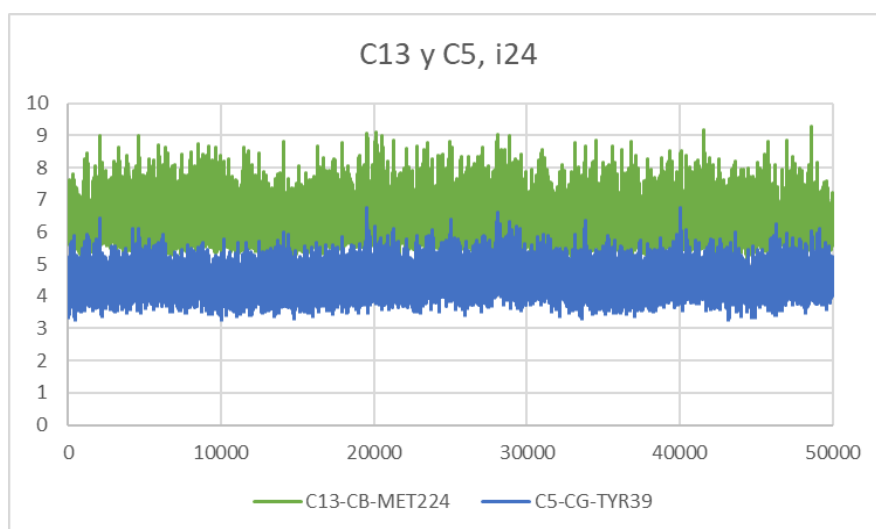


Figura 112 Desplazamiento entre la Tyr39 y el átomo C5 del inhibidor 24, y la Met224 y el átomo C13 del inhibidor

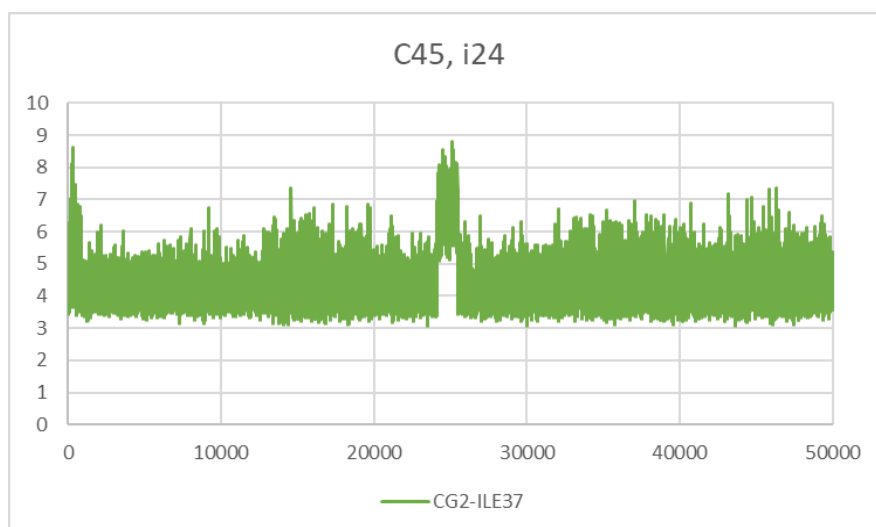


Figura 113 Desplazamiento entre la Ile37 y el átomo C45 del inhibidor 24

9.2.5. Inhibidor 30:

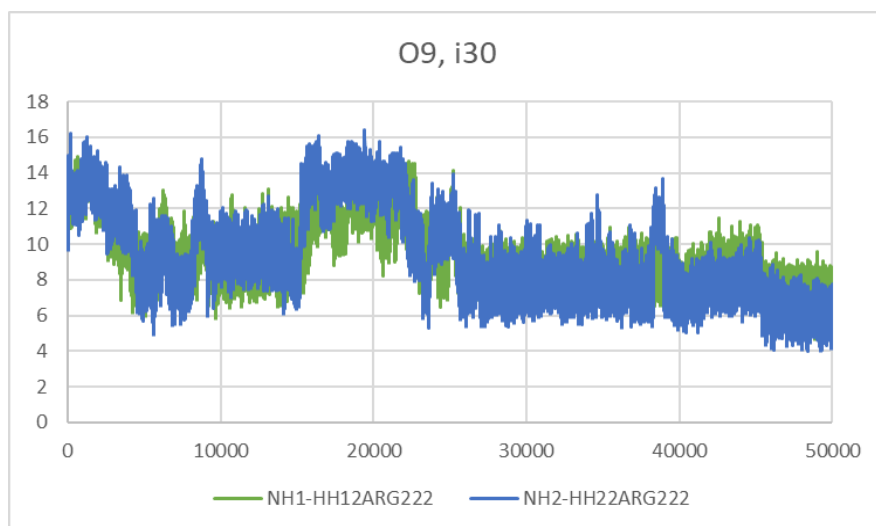


Figura 114 Desplazamiento entre la Arg222 y el átomo O9 del inhibidor 30

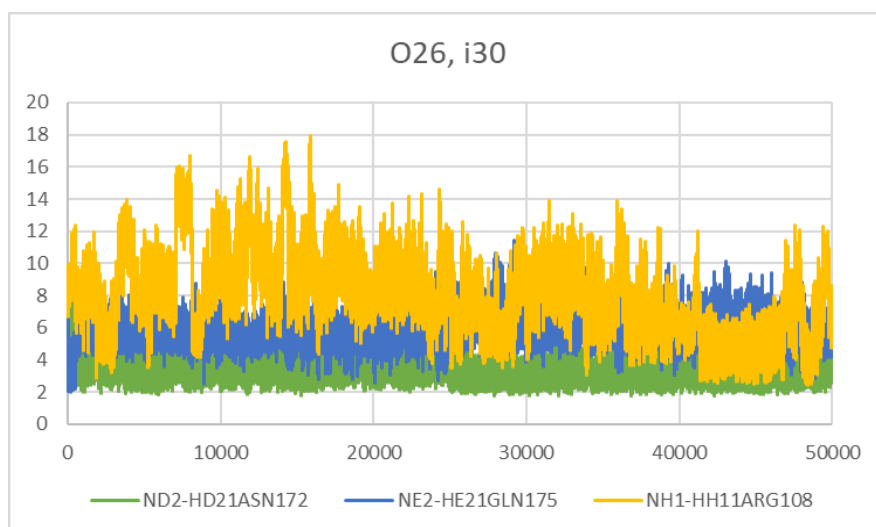


Figura 115 Desplazamiento entre los residuos 108, 172 y 175 con el átomo O26 del inhibidor 30

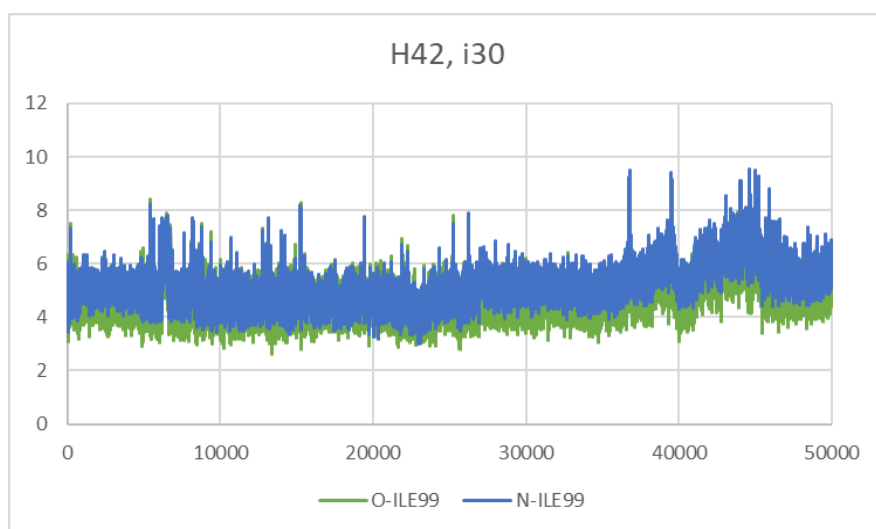


Figura 116 Desplazamiento entre la Ile99 y el átomo H42 del inhibidor 30

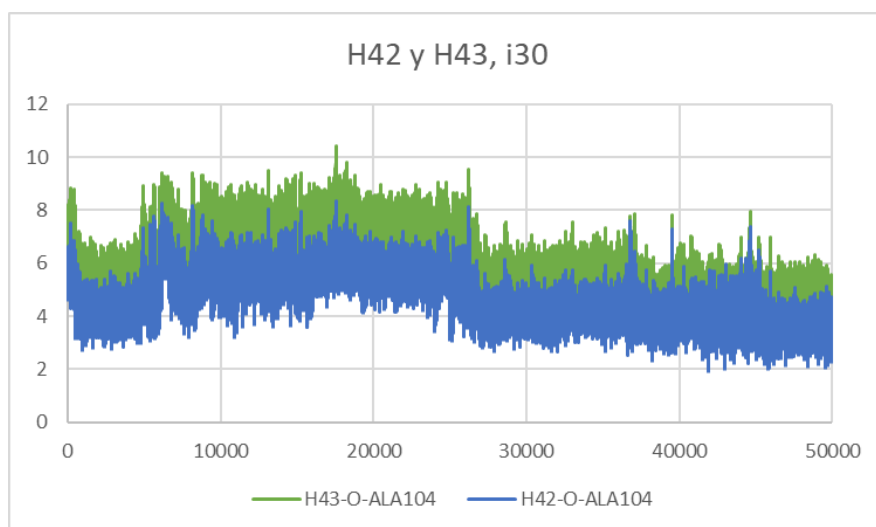


Figura 117 Desplazamiento entre la Ala104 de los átomos H42 y H43 del inhibidor 30

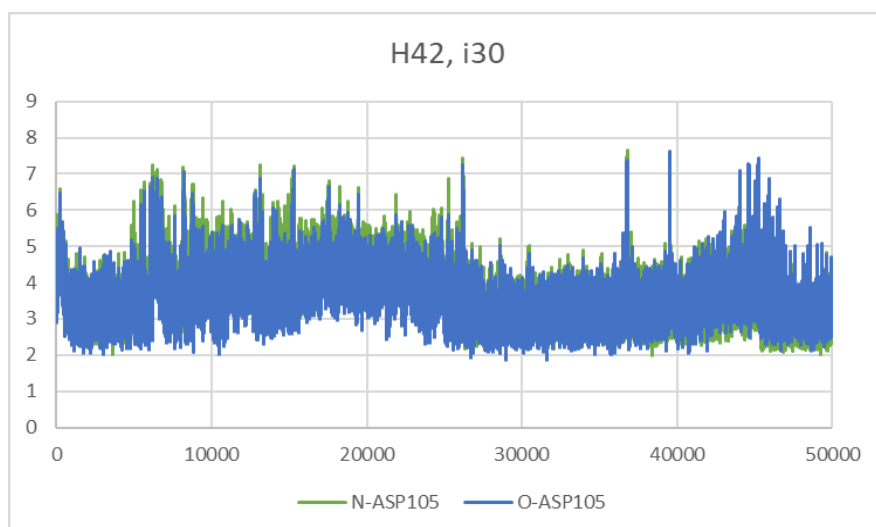


Figura 118 Desplazamiento entre el Asp105 y el átomo H42 del inhibidor 30

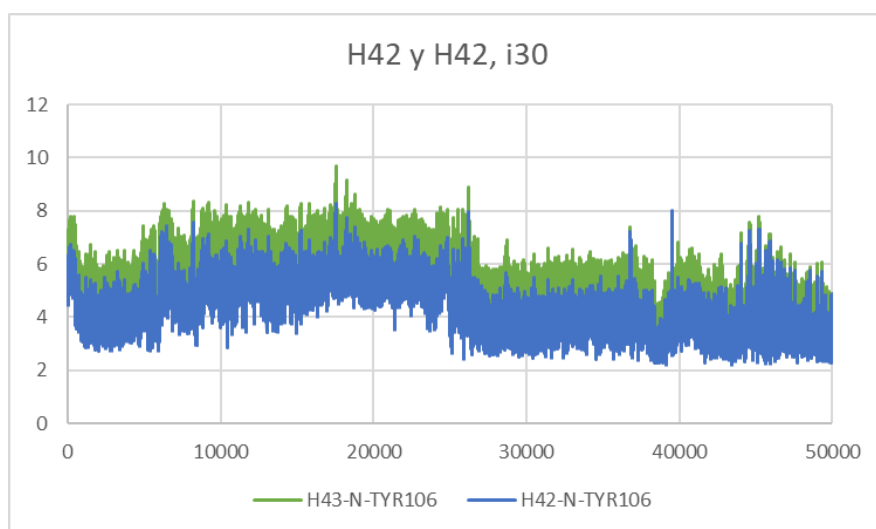


Figura 119 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos H42 y H43 del inhibidor 30

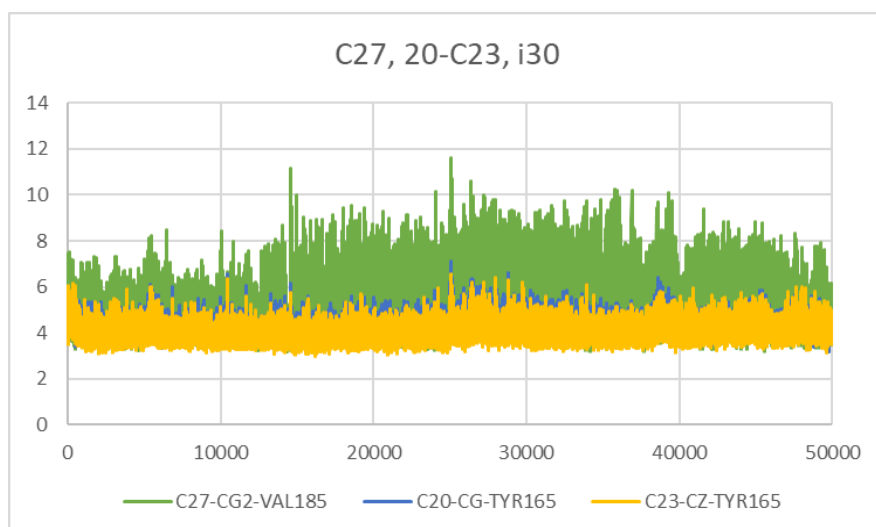


Figura 120 Desplazamiento entre la Val185 y el átomo C27 del inhibidor 30, y la Tyr165 y los átomos del anillo C20-C23 del inhibidor 30

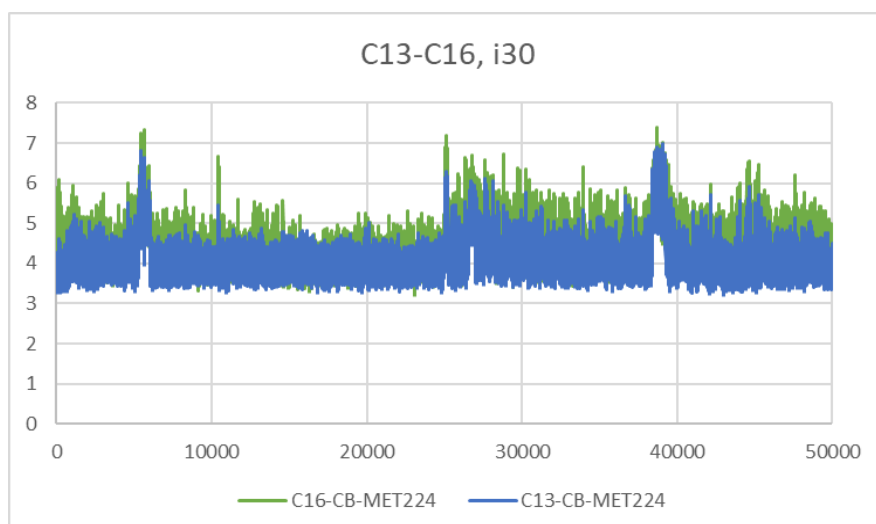


Figura 121 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 30

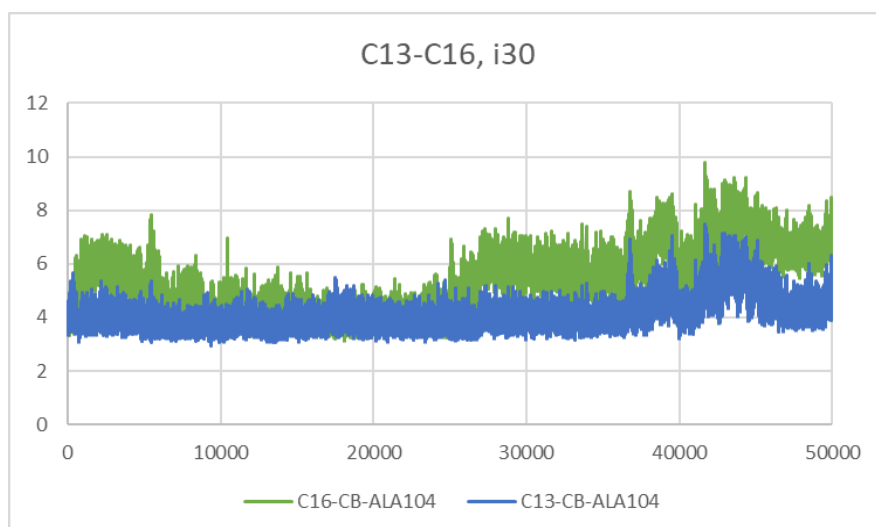


Figura 122 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 30

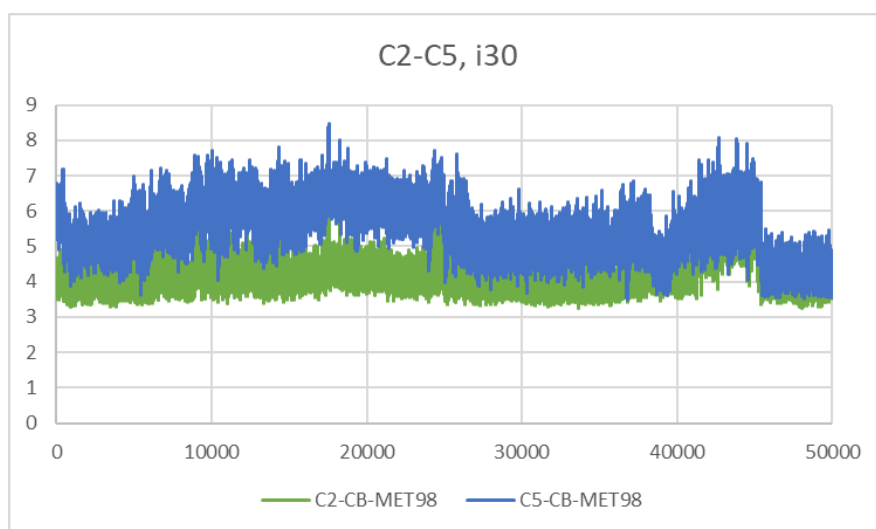


Figura 123 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 30

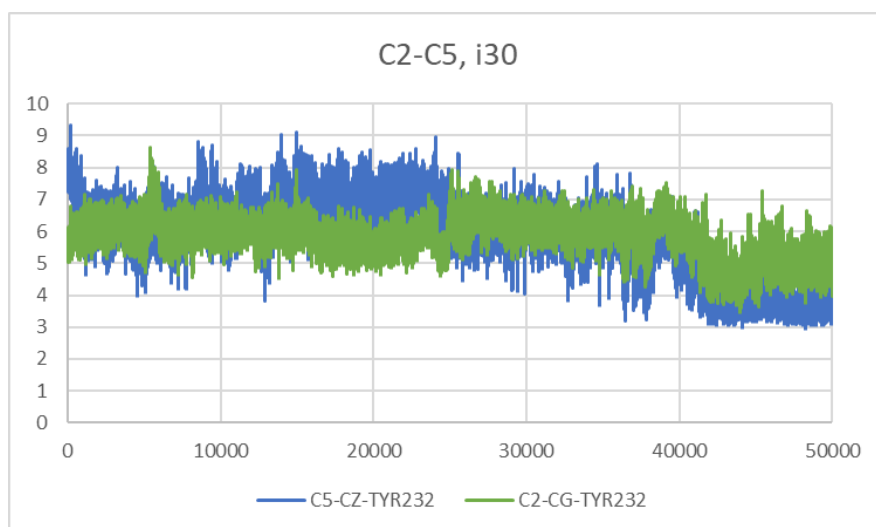


Figura 124 Desplazamiento entre la Tyr232 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 30

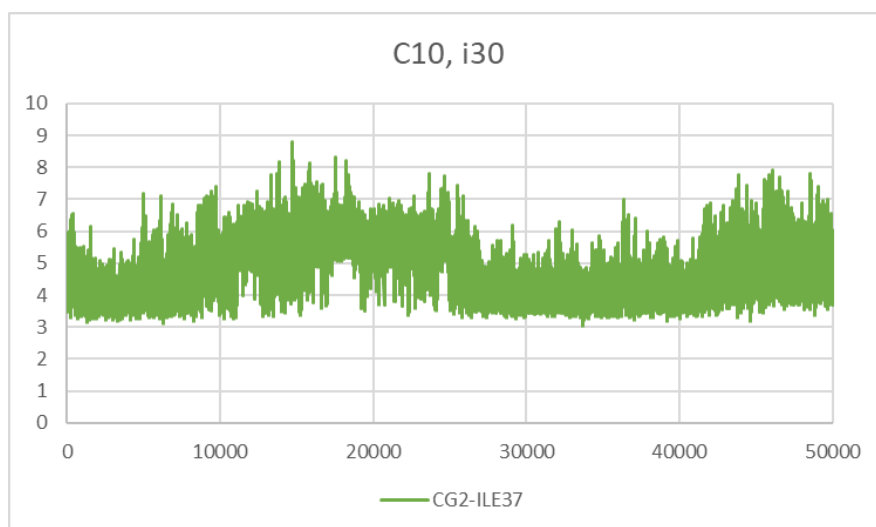


Figura 125 Desplazamiento entre la Ile37 y el átomo C10 del inhibidor 30

9.3. Grupo 7:

9.3.1. Inhibidor 7:

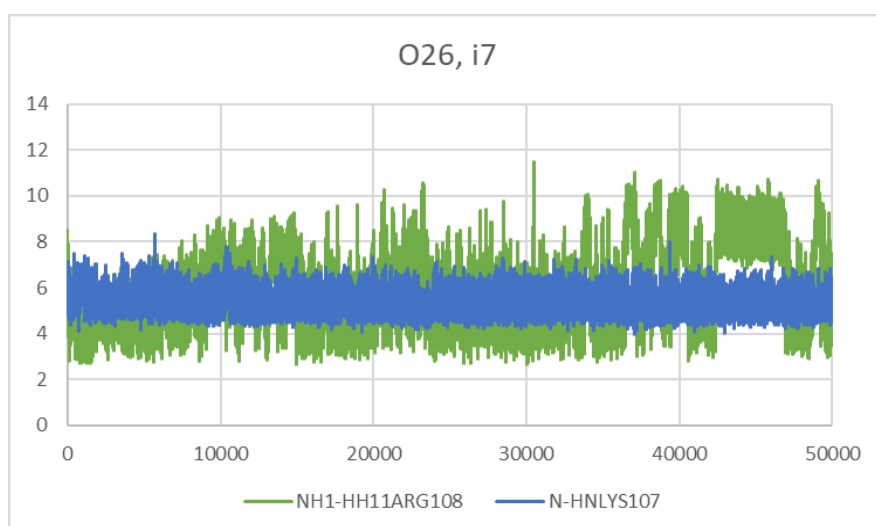


Figura 126 Desplazamiento entre los residuos 107 y 108 con el átomo O26 del inhibidor 7

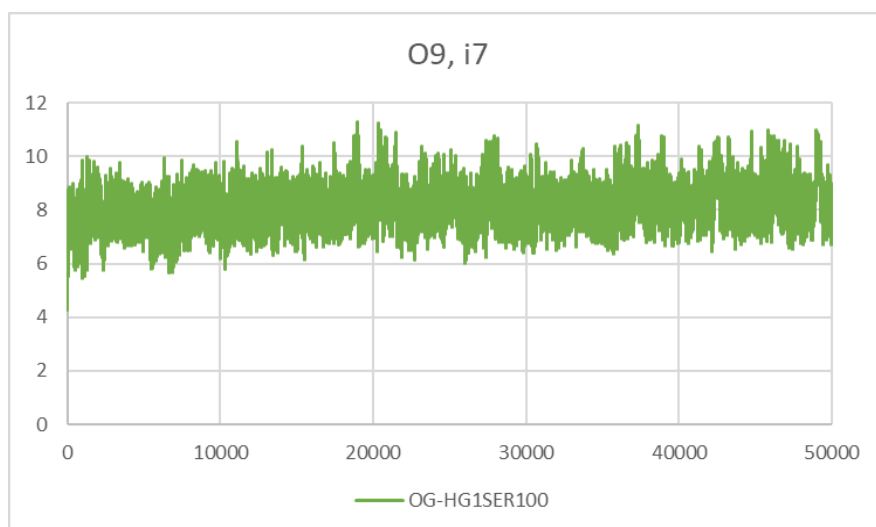


Figura 127 Desplazamiento entre la Ser100 y el átomo O9 del inhibidor 7

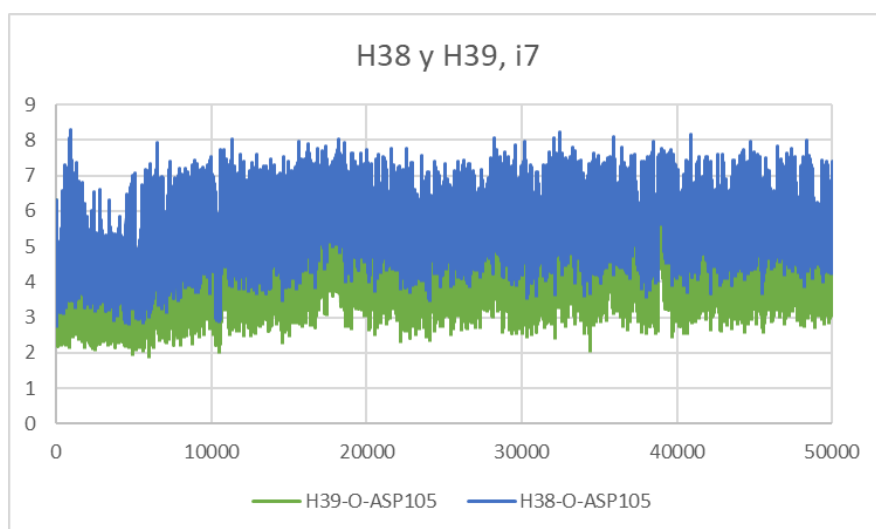


Figura 128 Desplazamiento entre el Asp105 y el átomo H39 del inhibidor 7

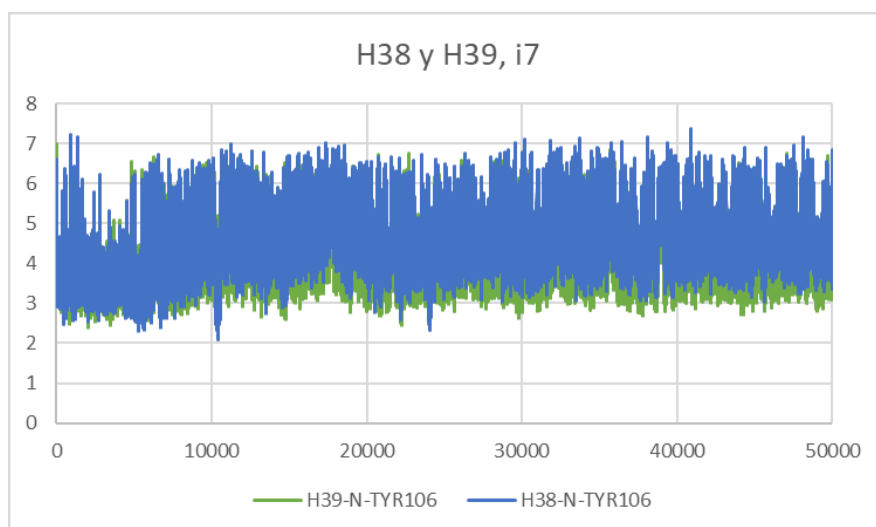


Figura 129 Desplazamiento entre la Tyr106 y el átomo H38 del inhibidor 7

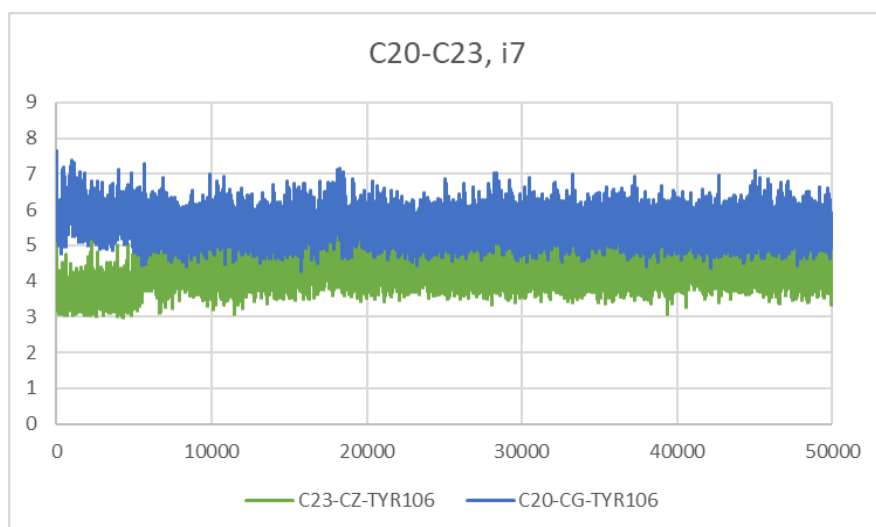


Figura 130 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos del anillo C20-C23 del inhibidor 7

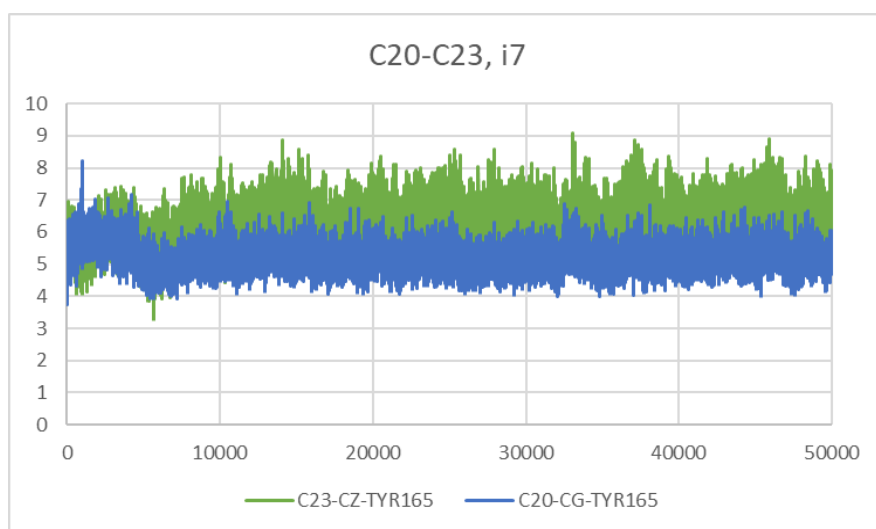


Figura 131 Desplazamiento entre la Tyr165 y los átomos del anillo C20-C23 del inhibidor 7

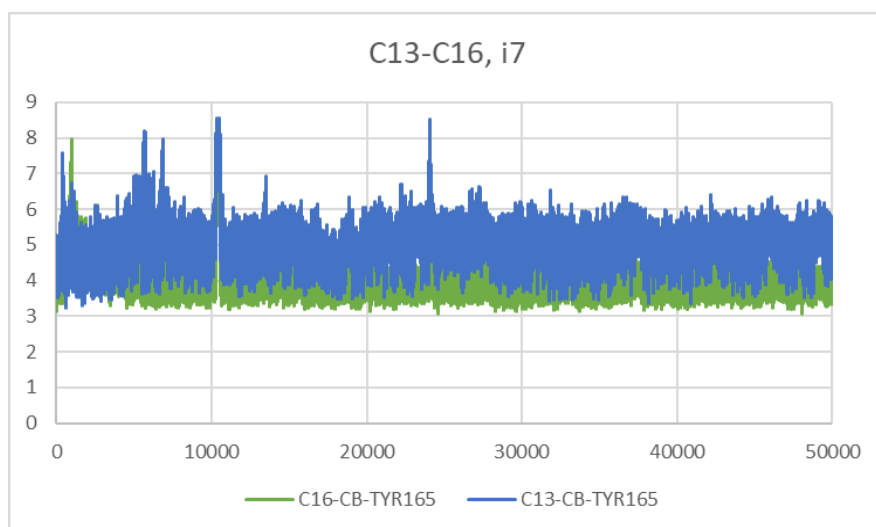


Figura 132 Desplazamiento entre la Tyr165 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 7

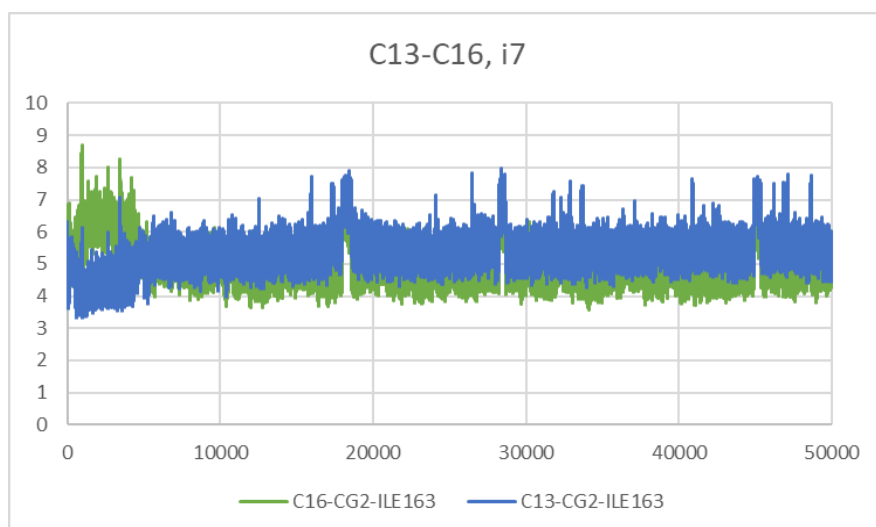


Figura 133 Desplazamiento entre la Ile163 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 7

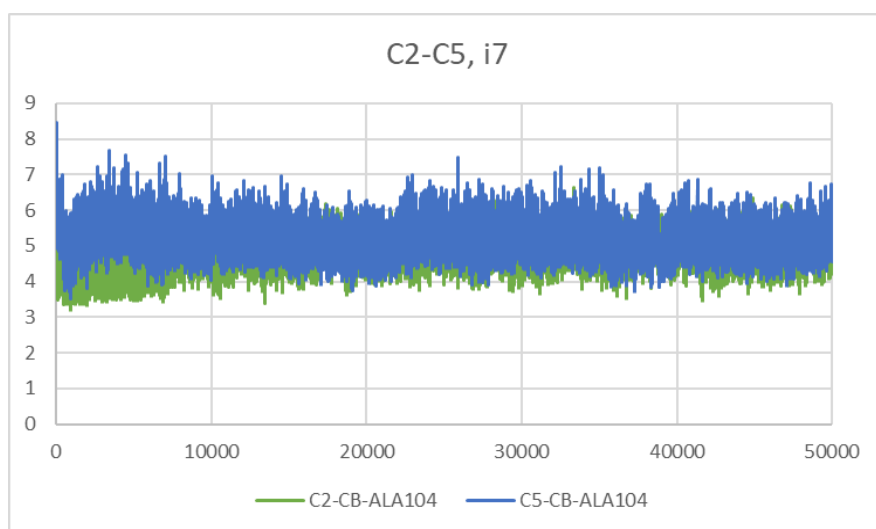


Figura 134 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 7

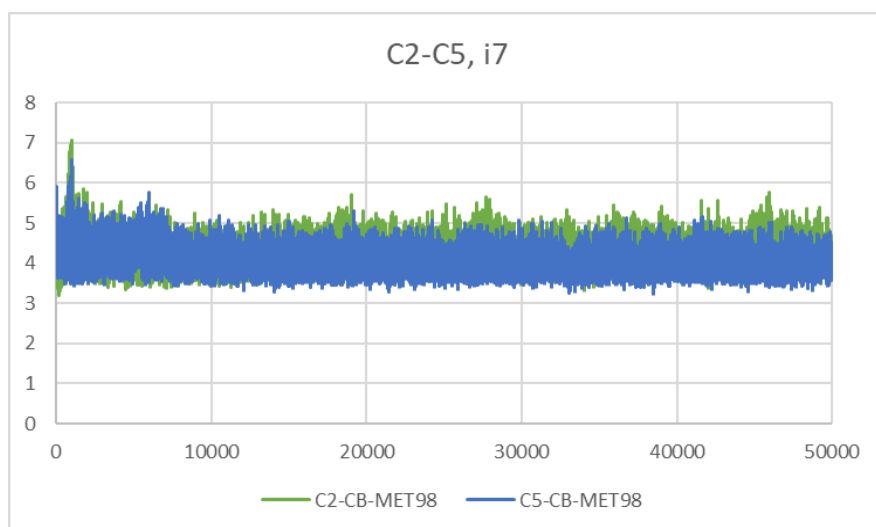


Figura 135 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 7

9.3.2. Inhibidor 13:

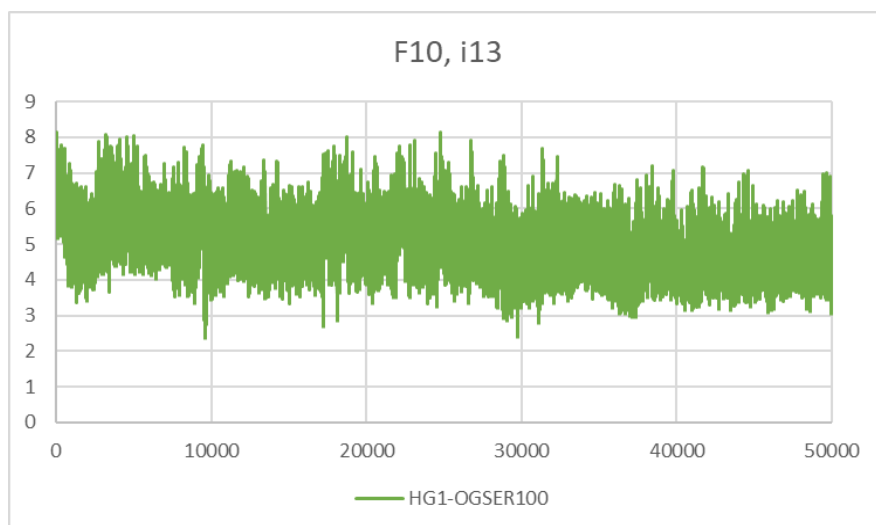


Figura 136 Desplazamiento entre la Ser100 y el átomo F10 del inhibidor 13

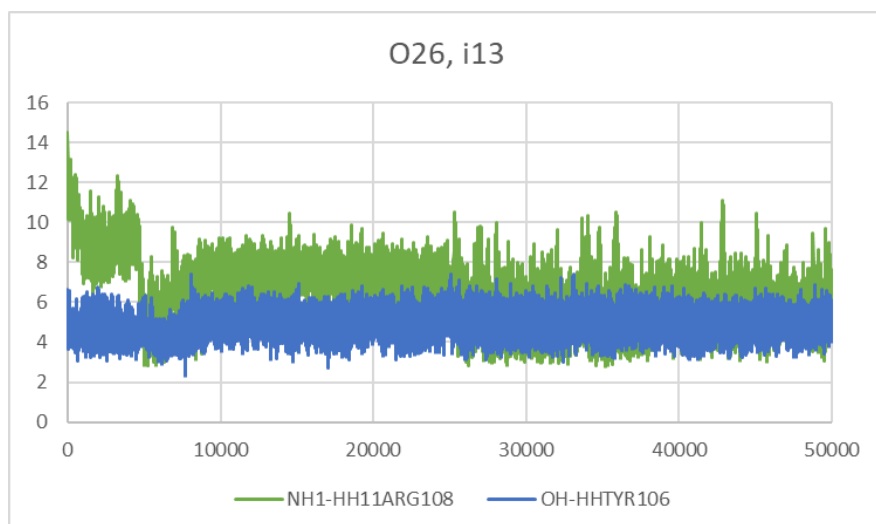


Figura 137 Desplazamiento entre los residuos 106 y 108 con el átomo O26 del inhibidor 13

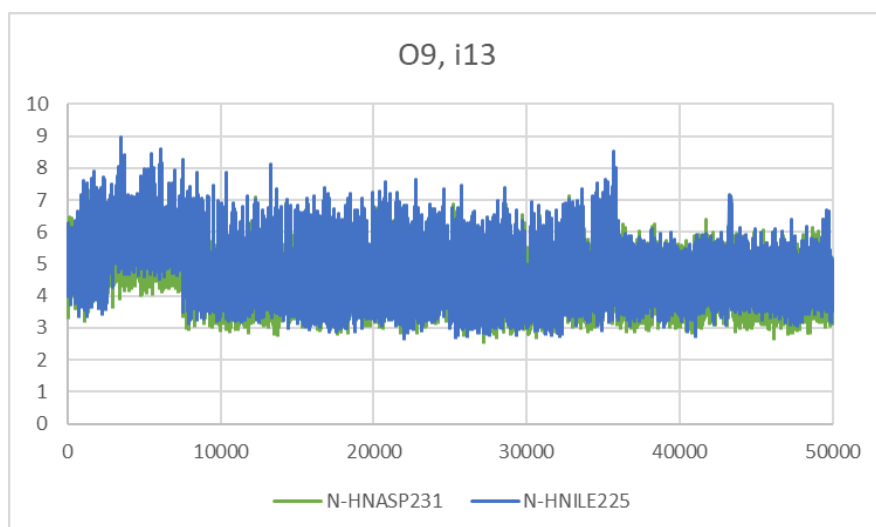


Figura 138 Desplazamiento entre los residuos 225 y 231 con el átomo O9 del inhibidor 13

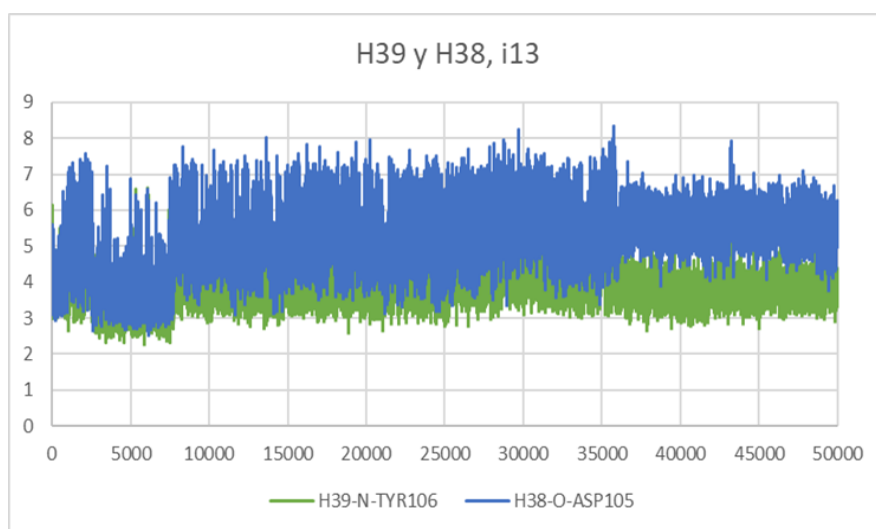


Figura 139 Desplazamiento entre los residuos 105 y 106 con los átomos H38 y H39 del inhibidor 13

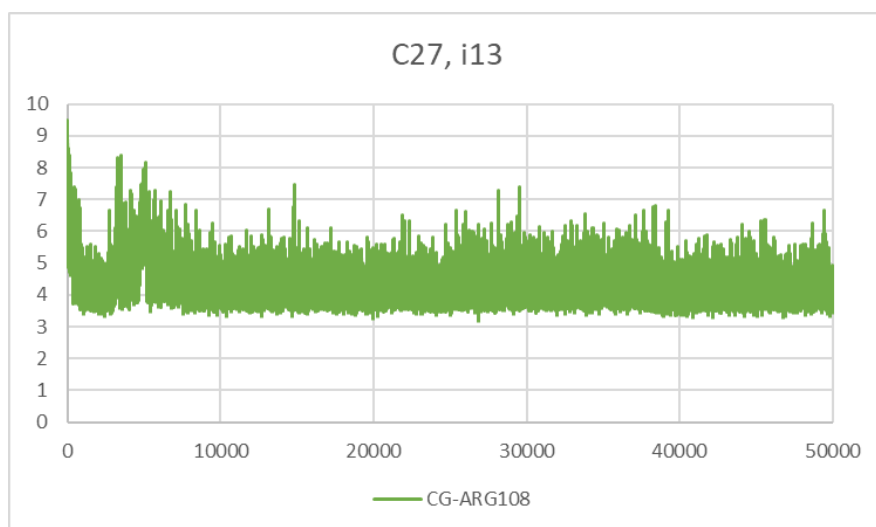


Figura 140 Desplazamiento entre la Arg108 y el átomo C27 del inhibidor 13

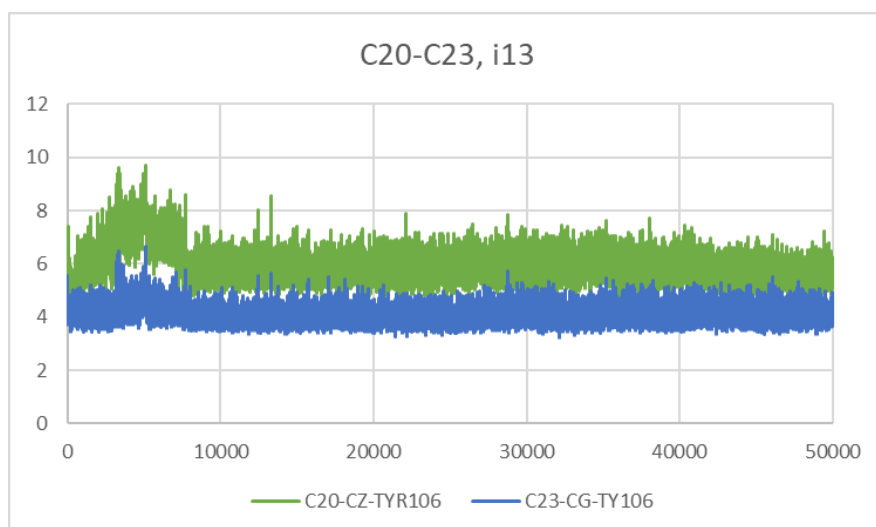


Figura 141 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos del anillo C20-C23 del inhibidor 13

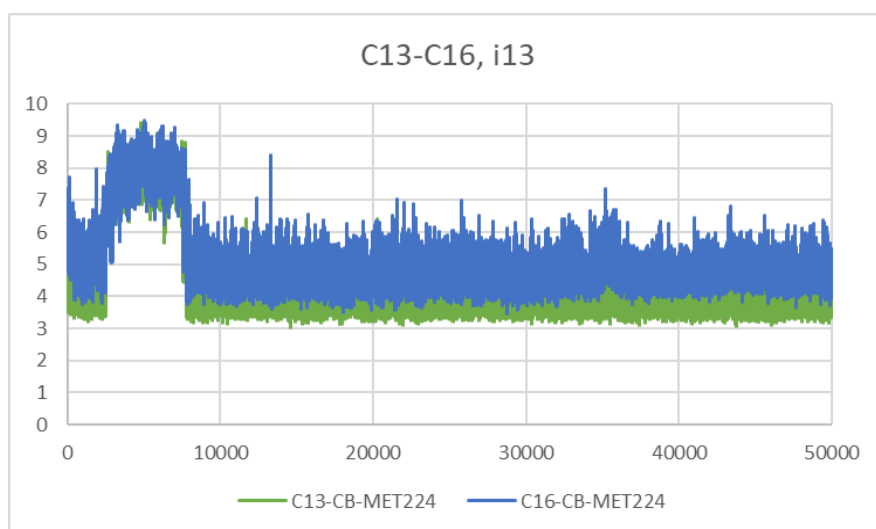


Figura 142 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 13

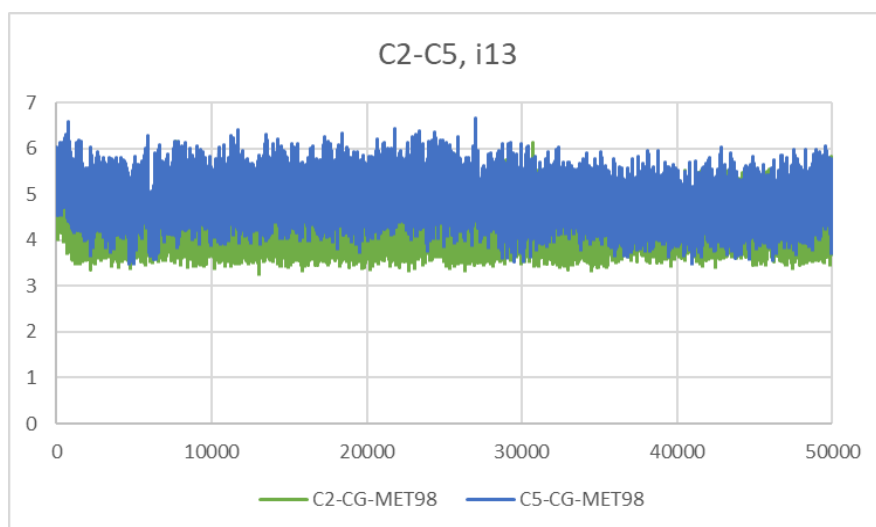


Figura 143 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 13

9.3.3. Inhibidor 19:

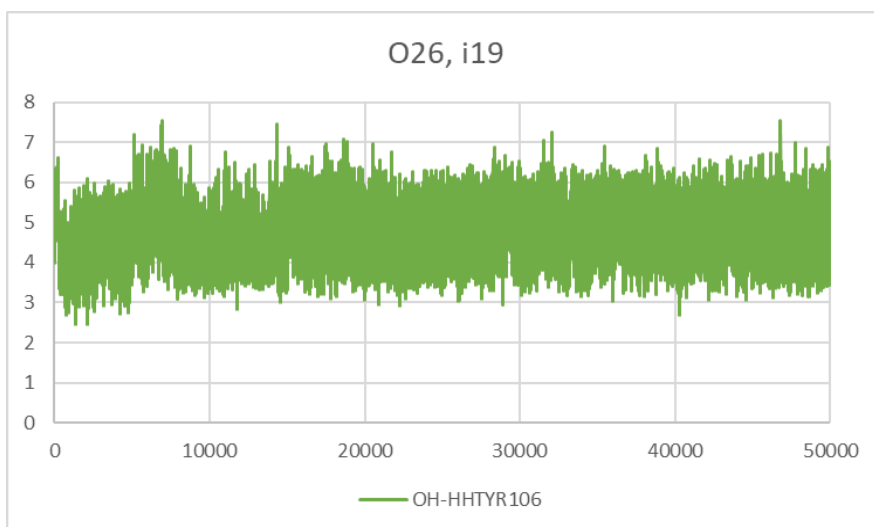


Figura 144 Desplazamiento entre la Tyr106 y el átomo O26 del inhibidor 19

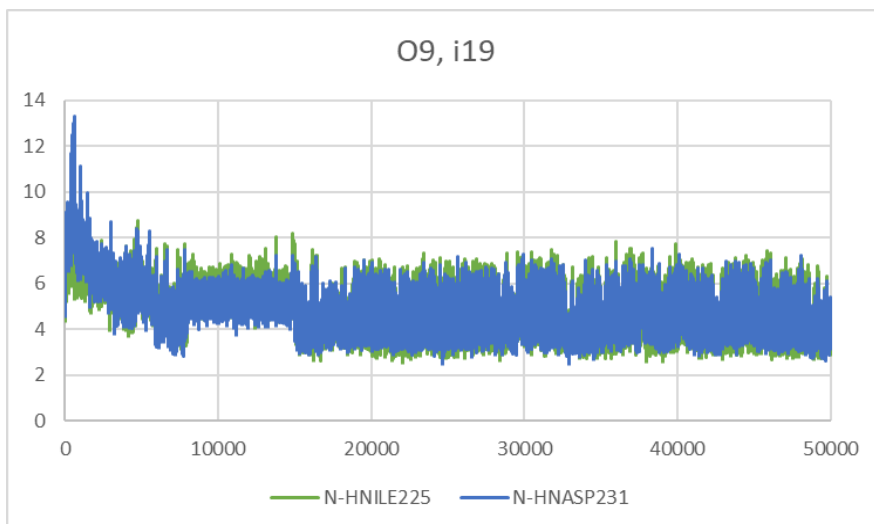


Figura 145 Desplazamiento entre los residuos 225 y 231 con el átomo O9 del inhibidor 19

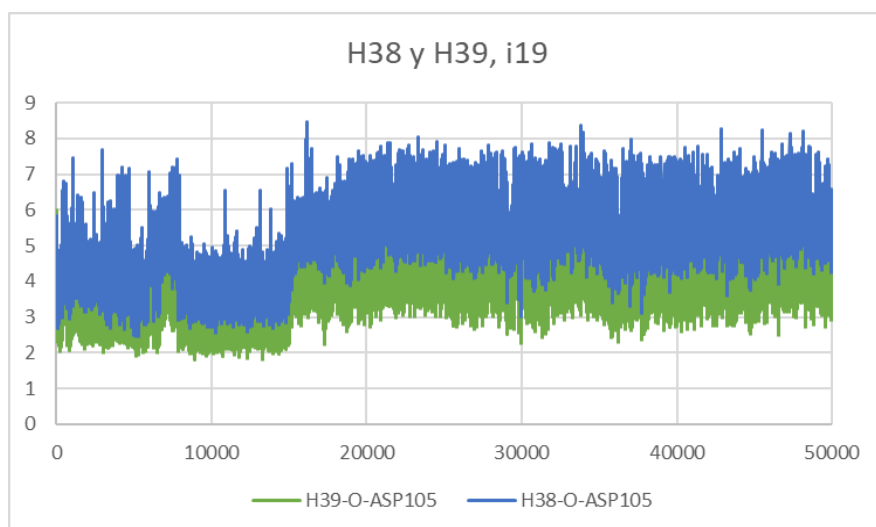


Figura 146 Desplazamiento entre el Asp105 y los átomos H38 y H39 del inhibidor 19

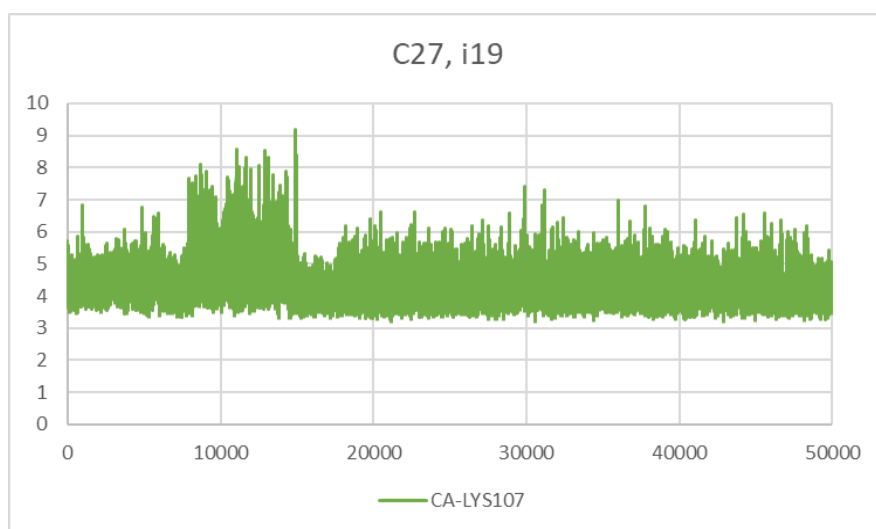


Figura 147 Desplazamiento entre la Lys107 y el átomo C27 del inhibidor 19

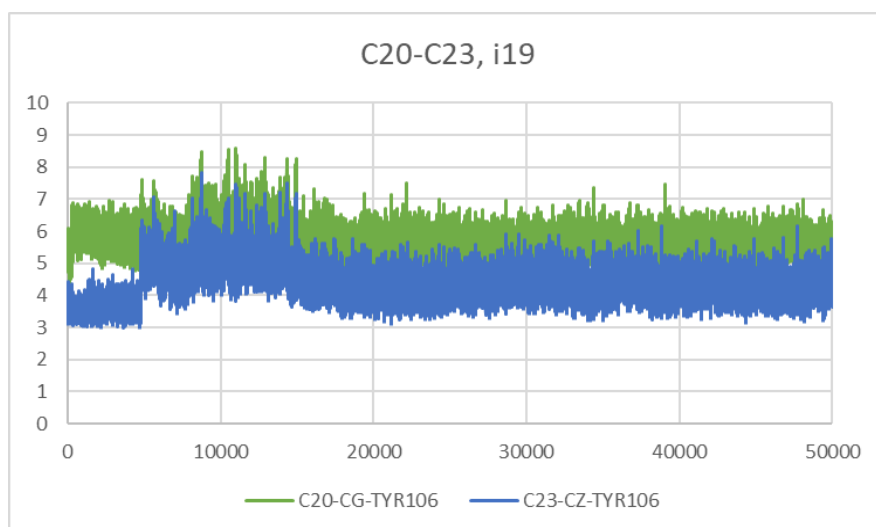


Figura 148 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos del anillo C20-C23 del inhibidor 19

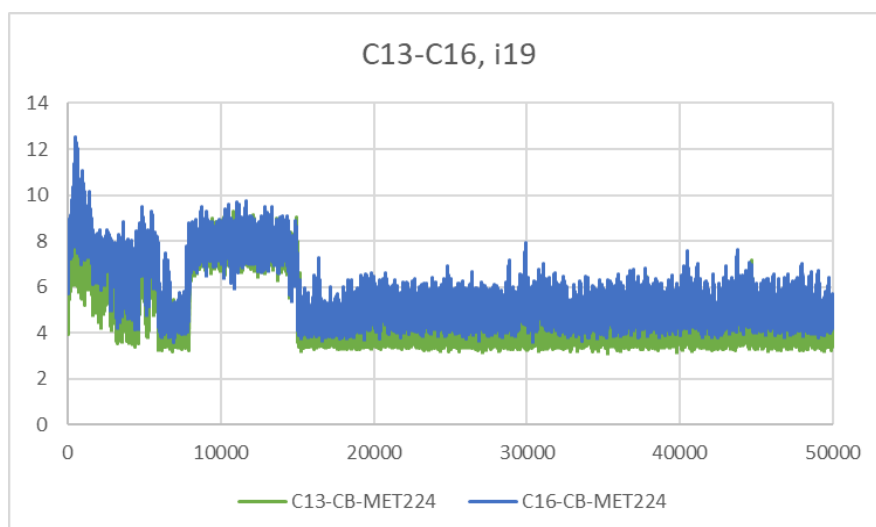


Figura 149 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 19

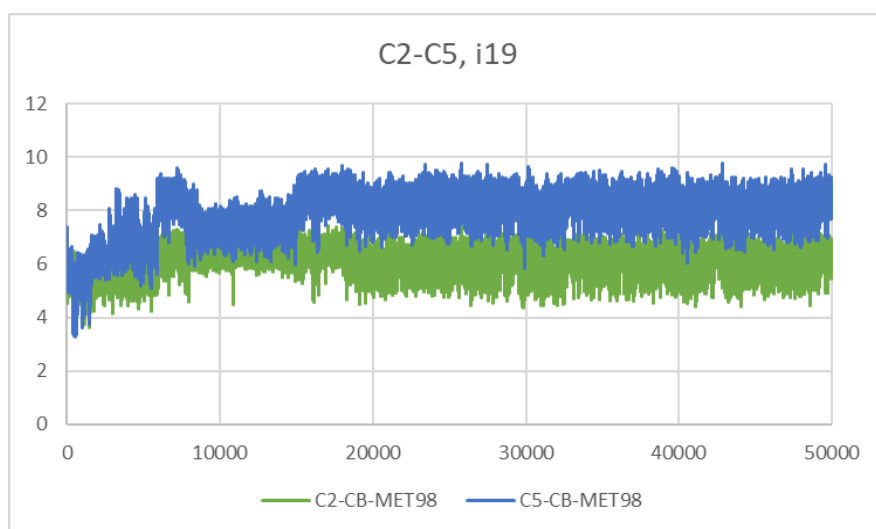


Figura 150 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 19

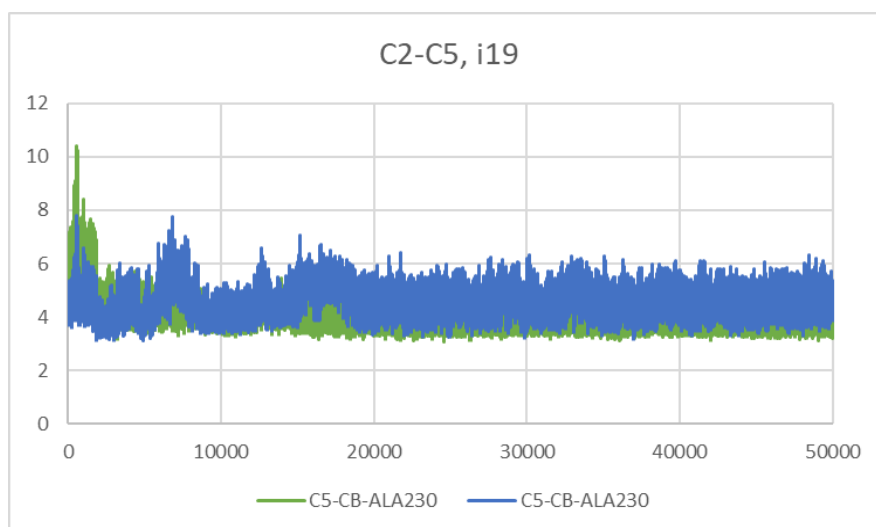


Figura 151 Desplazamiento entre la Ala230 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 19

9.3.4. Inhibidor 25:

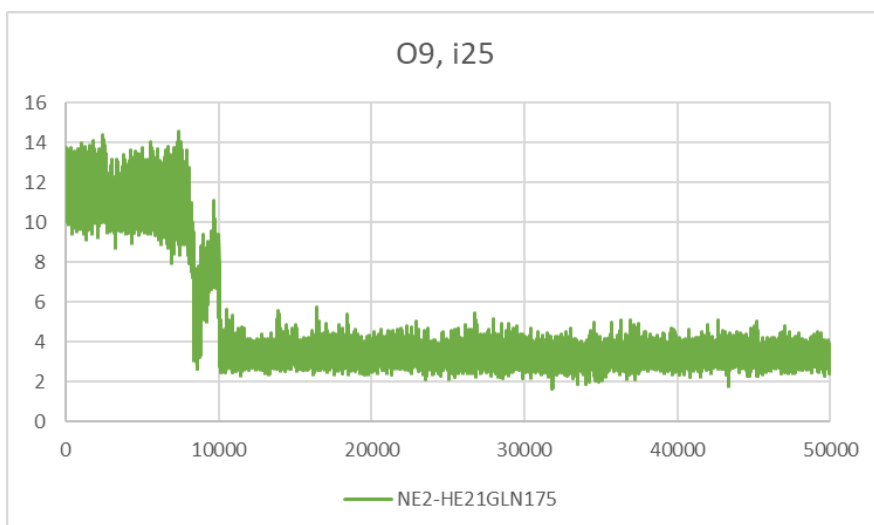


Figura 152 Desplazamiento entre la Gln175 y el átomo O9 del inhibidor 25

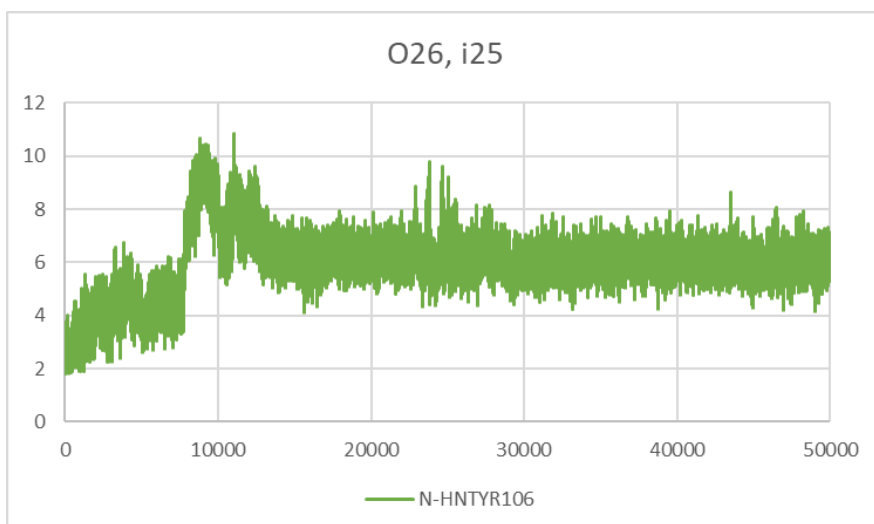


Figura 153 Desplazamiento entre la Tyr106 y el átomo O26 del inhibidor 25

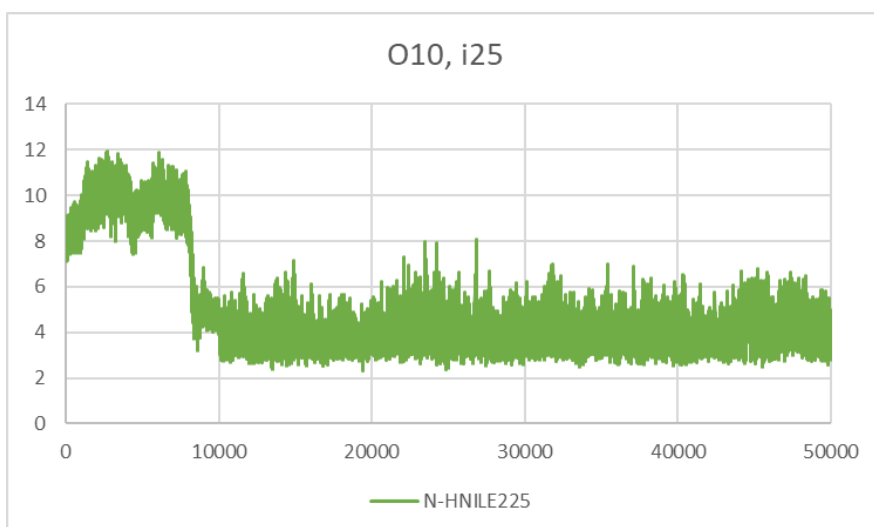


Figura 154 Desplazamiento entre la Ile225 y el átomo O10 del inhibidor 25

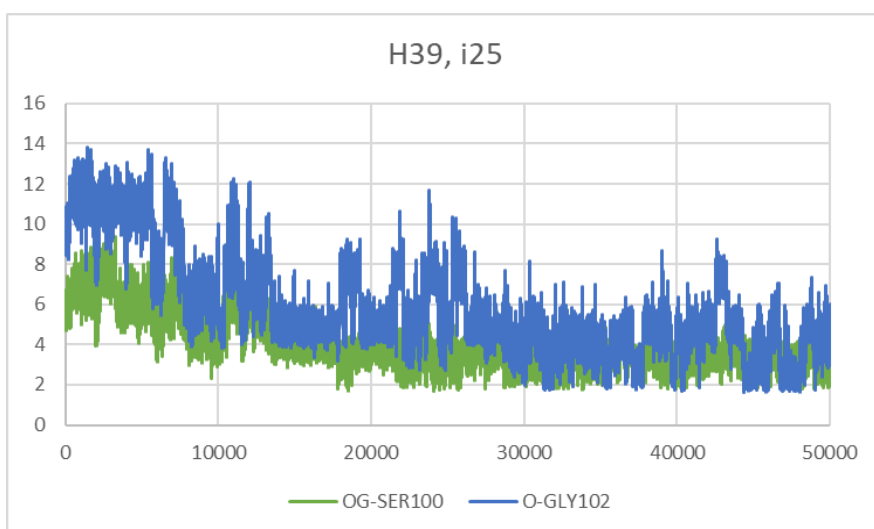


Figura 155 Desplazamiento entre los residuos 100 y 102 con el átomo H39 del inhibidor 25

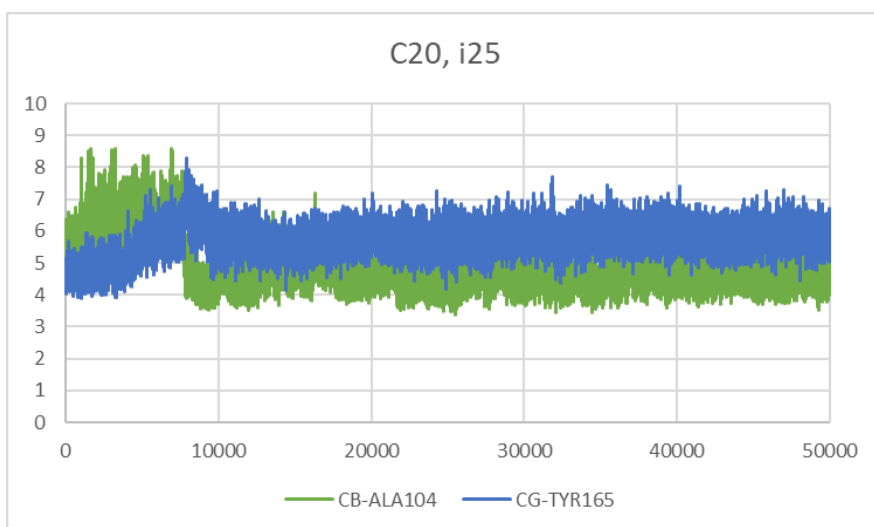


Figura 156 Desplazamiento entre los residuos 104 y 165 con el átomo C20 del anillo C20-C23 del inhibidor 25

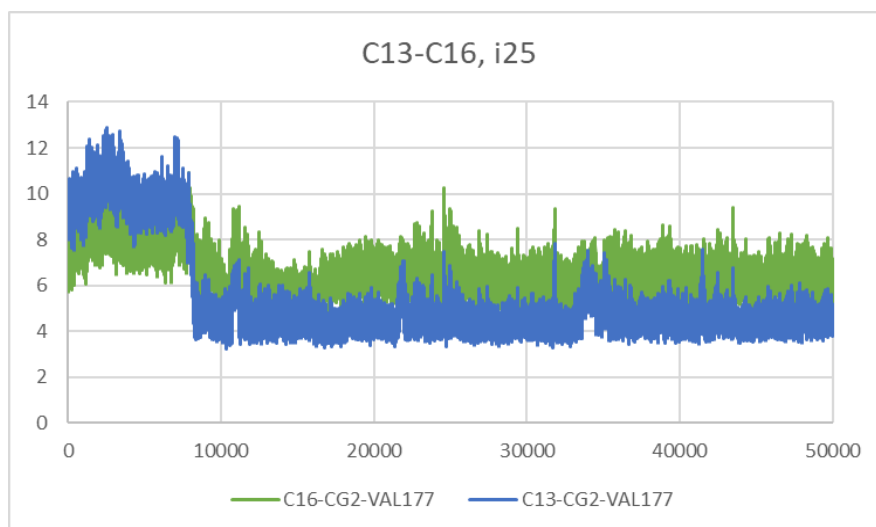


Figura 157 Desplazamiento entre la Val177 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 25

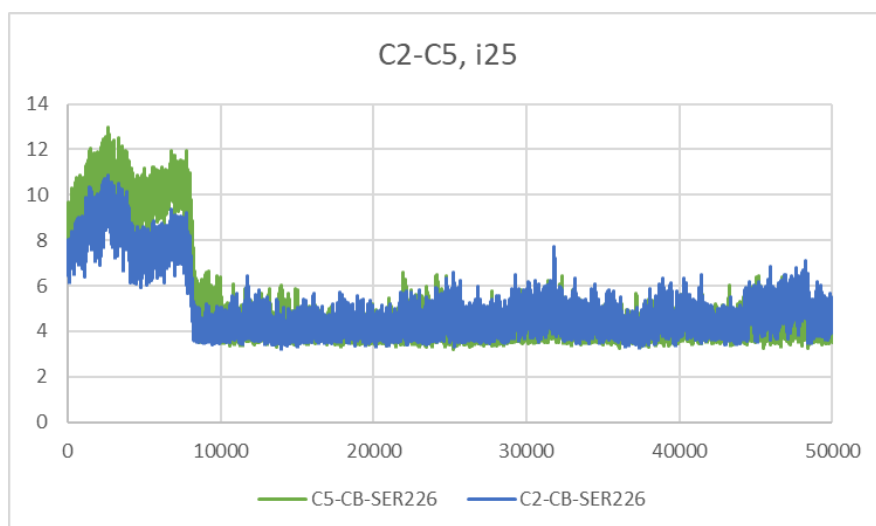


Figura 158 Desplazamiento entre la Ser226 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 25

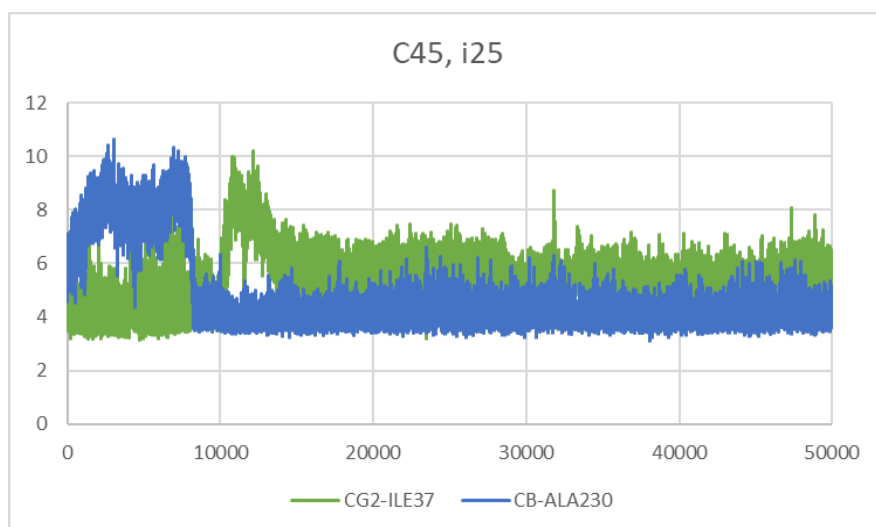


Figura 159 Desplazamiento entre los residuos 37 y 230 con el átomo C45 del inhibidor 25

9.3.5. Inhibidor 31:

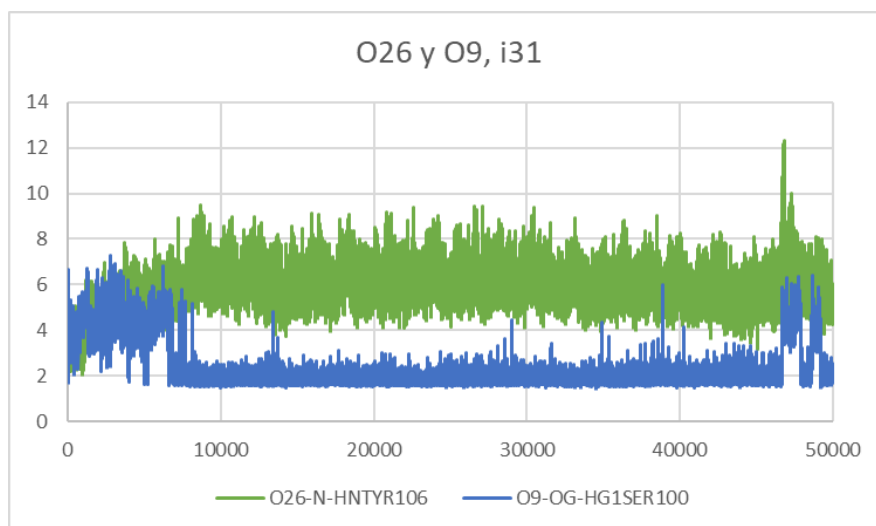


Figura 160 Desplazamiento entre la Ser100 y el átomo O9 del inhibidor 31, y la Tyr106 y el átomo O26 del inhibidor

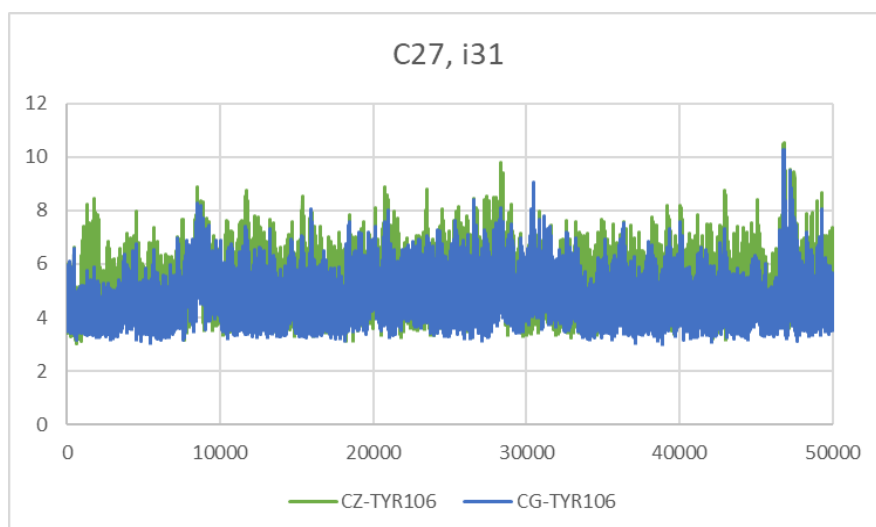


Figura 161 Desplazamiento entre la Tyr106 y el átomo C27 del inhibidor 31

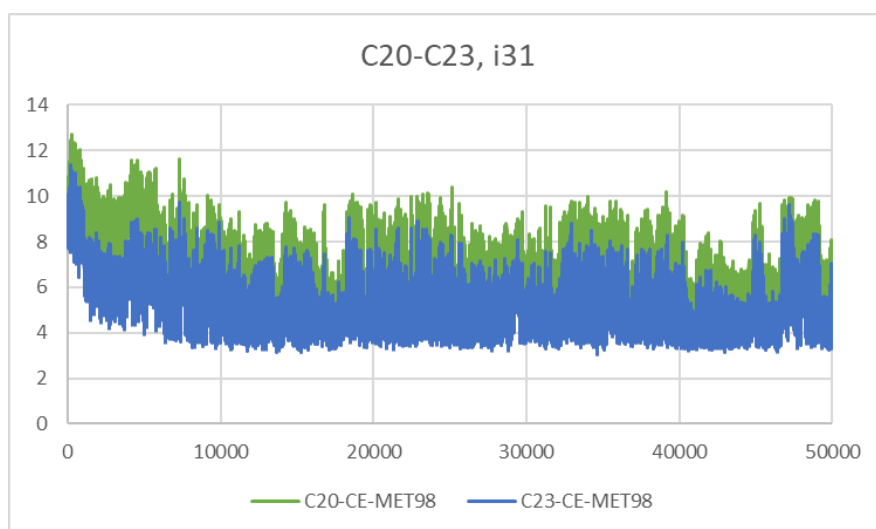


Figura 162 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C20-C23 del inhibidor 31

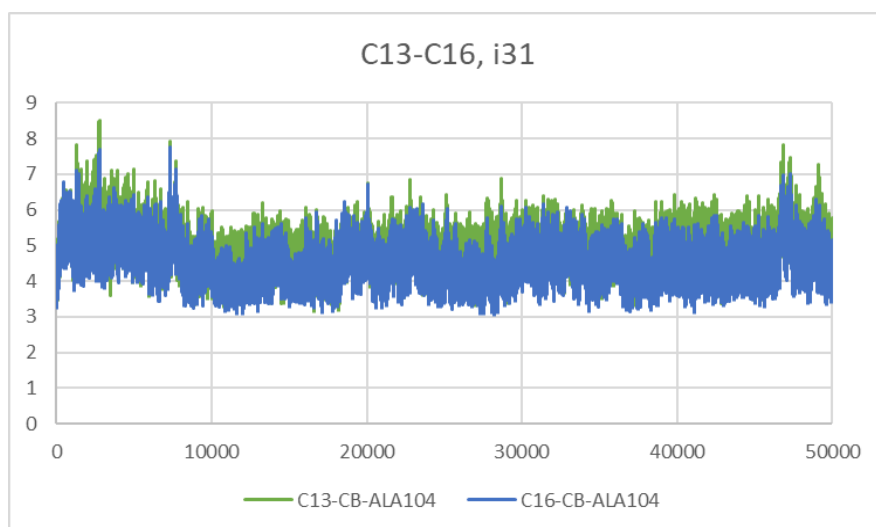


Figura 163 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 31

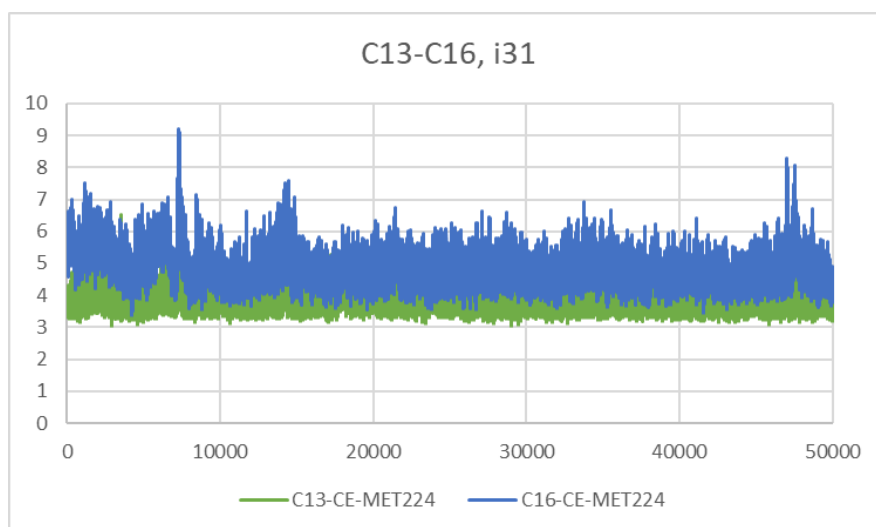


Figura 164 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 31

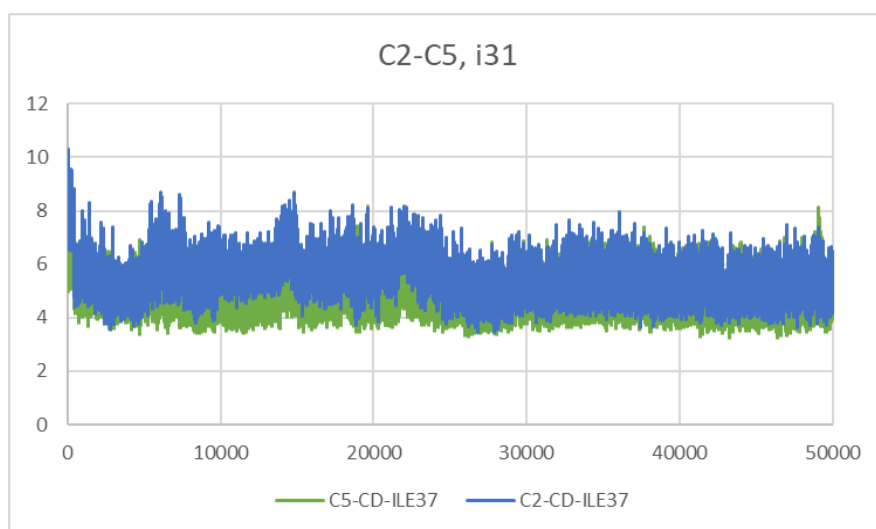


Figura 165 Desplazamiento entre la Ile37 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 31

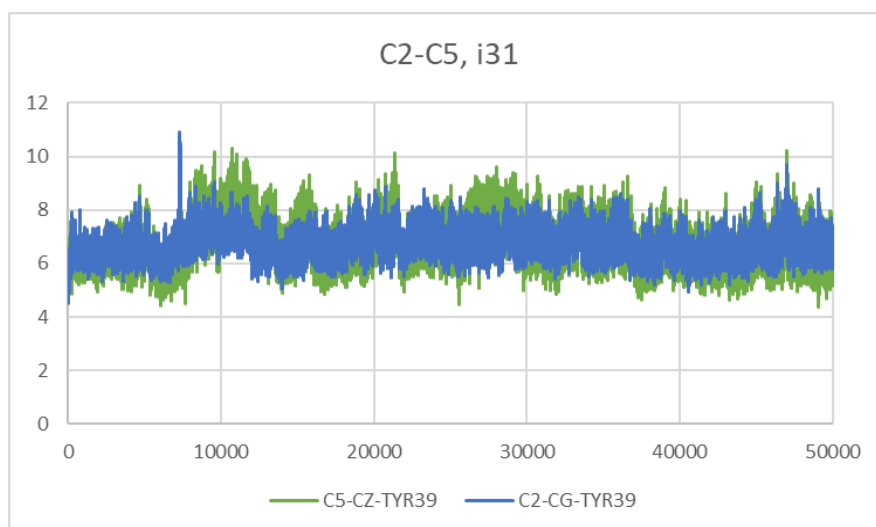


Figura 166 Desplazamiento entre la Tyr39 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 31

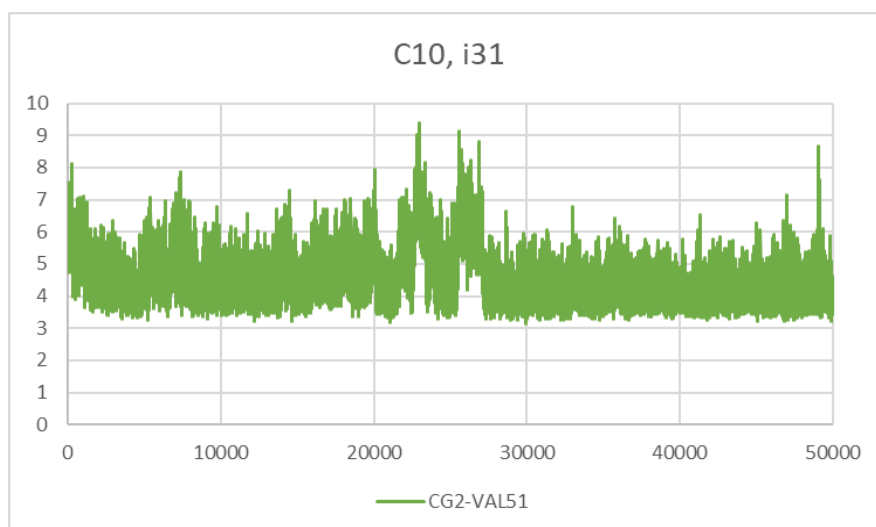


Figura 167 Desplazamiento entre la Val51 y el átomo C10 del inhibidor 31

9.4. Grupo 8:

9.4.1. Inhibidor 8:

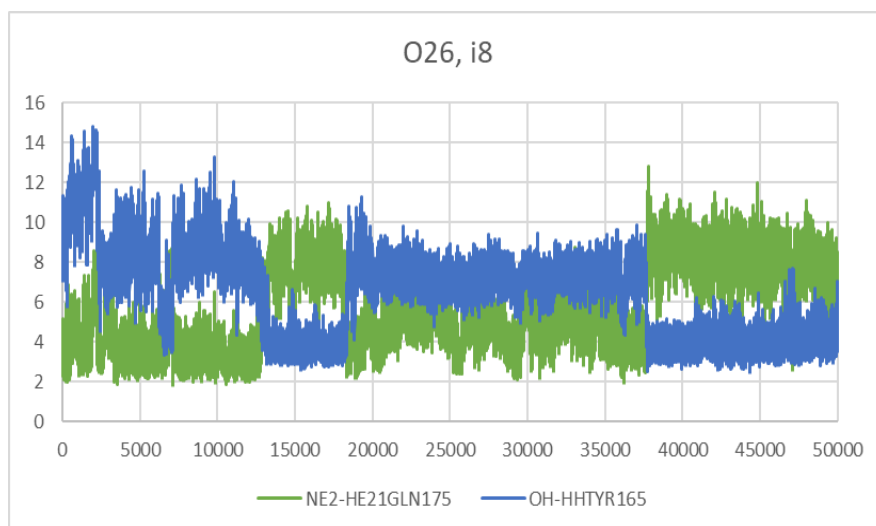


Figura 168 Desplazamiento entre los residuos 165 y 175 con el átomo O26 del inhibidor 8

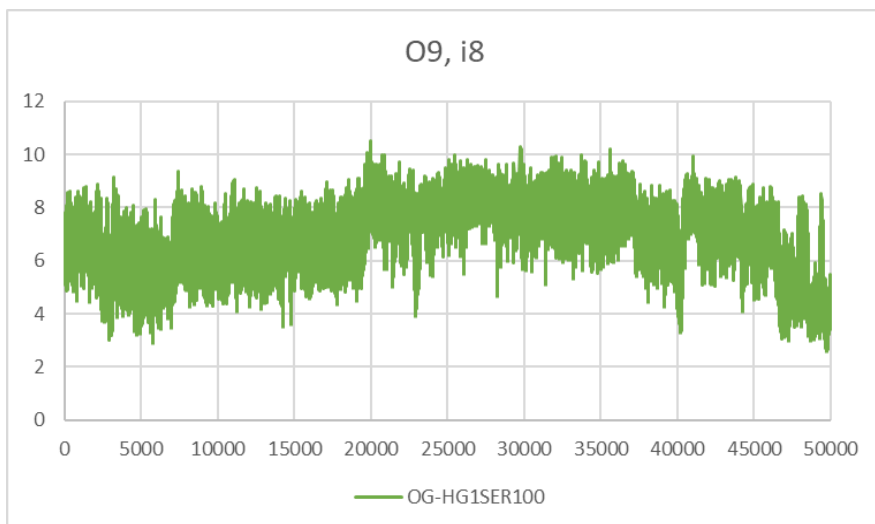


Figura 169 Desplazamiento entre la Ser100 y el átomo O9 del inhibidor 8

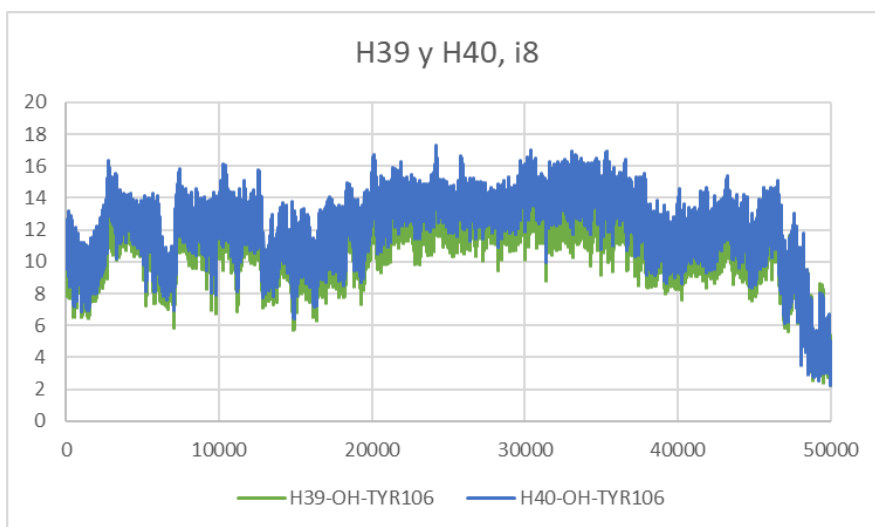


Figura 170 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 8

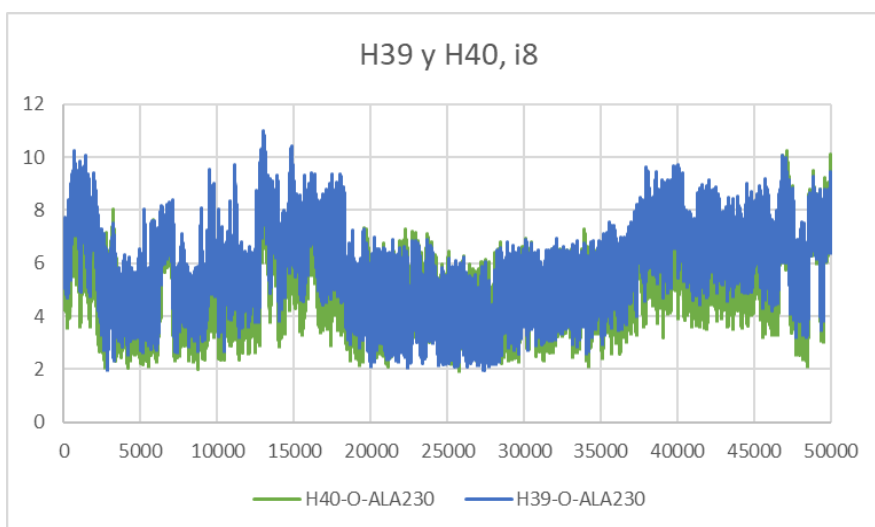


Figura 171 Desplazamiento entre la Ala230 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 8

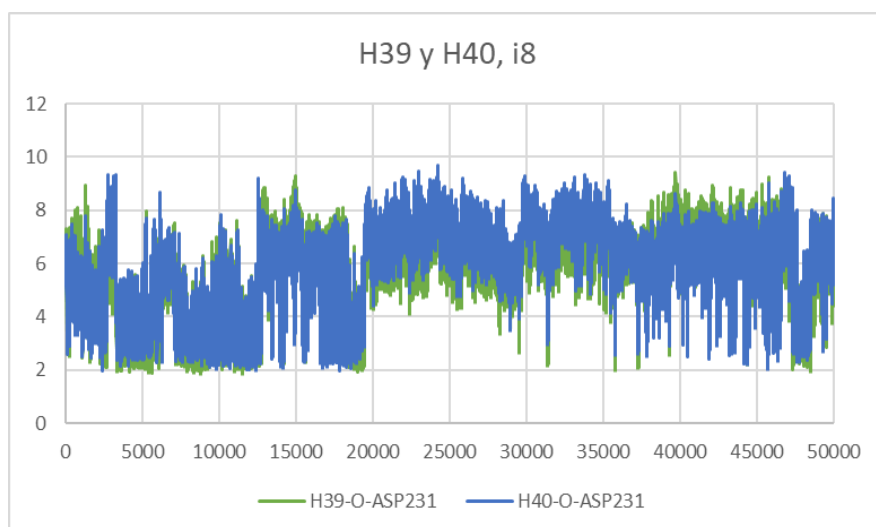


Figura 172 Desplazamiento entre el Asp231 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 8

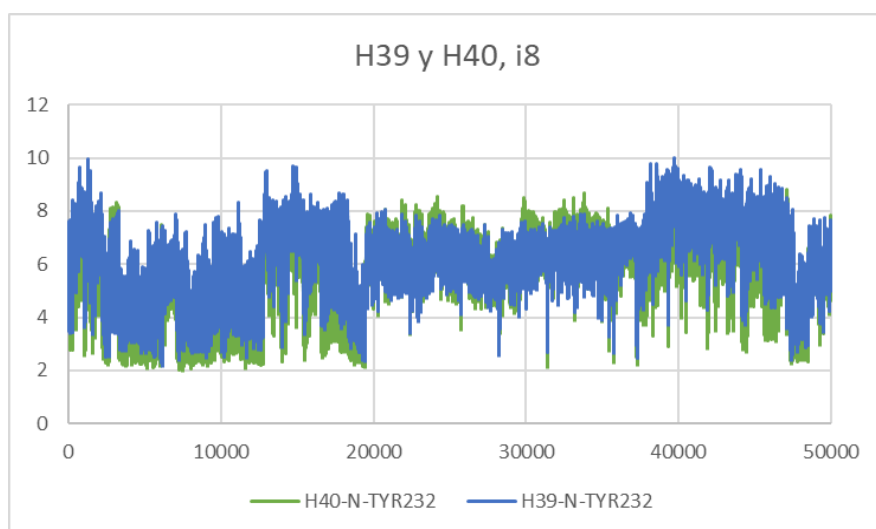


Figura 173 Desplazamiento entre la Tyr232 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 8

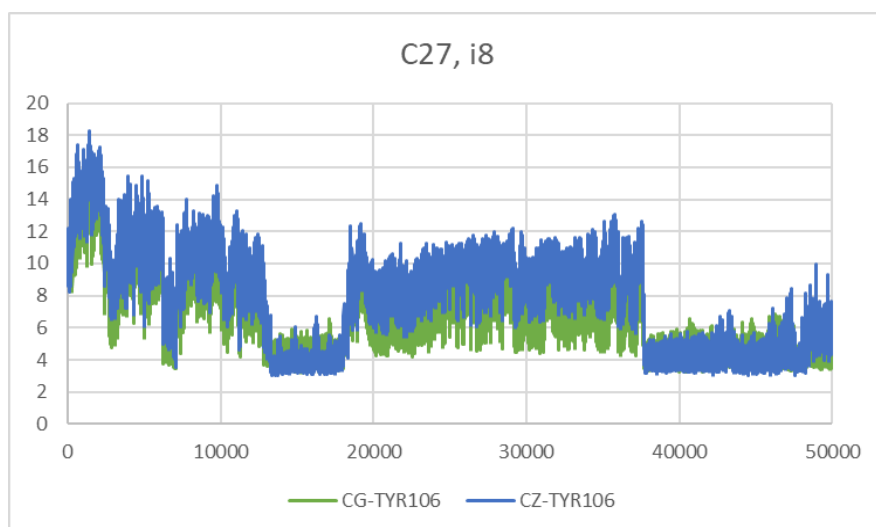


Figura 174 Desplazamiento entre la Tyr106 y el átomo C27 del inhibidor 8

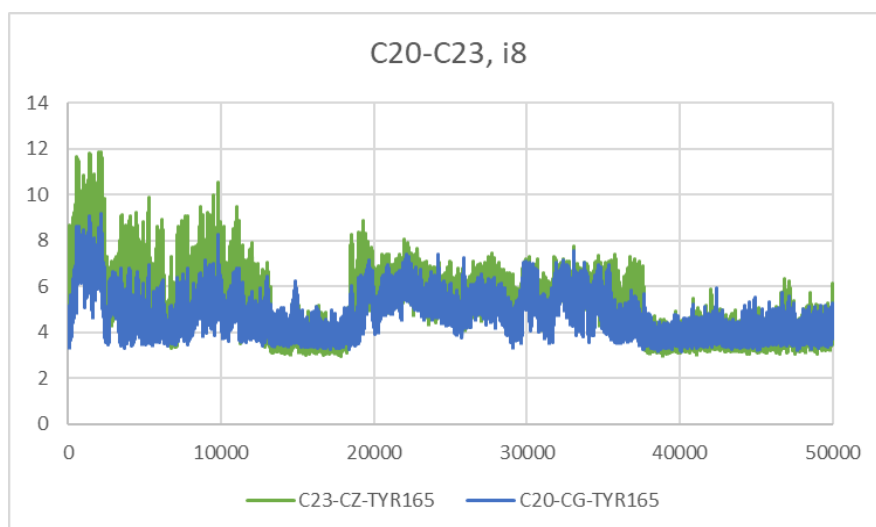


Figura 175 Desplazamiento entre la Tyr165 y los átomos del anillo C20-C23 del inhibidor 8

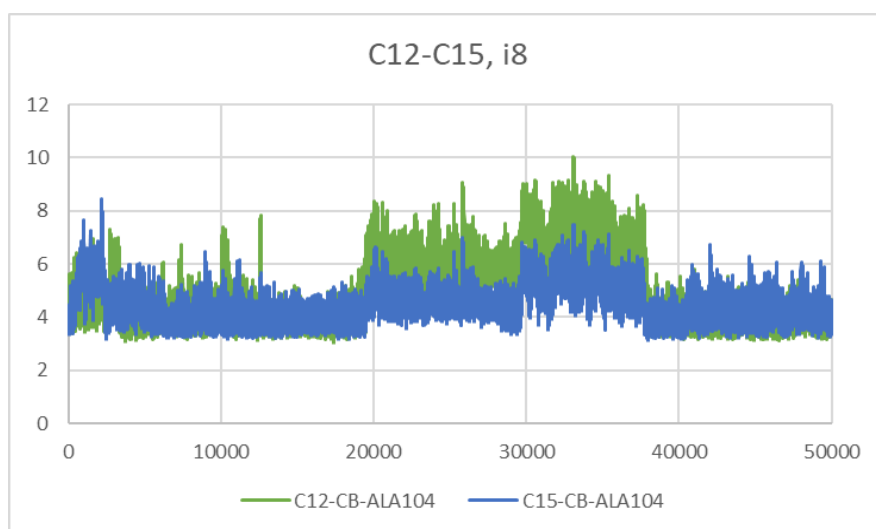


Figura 176 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 8

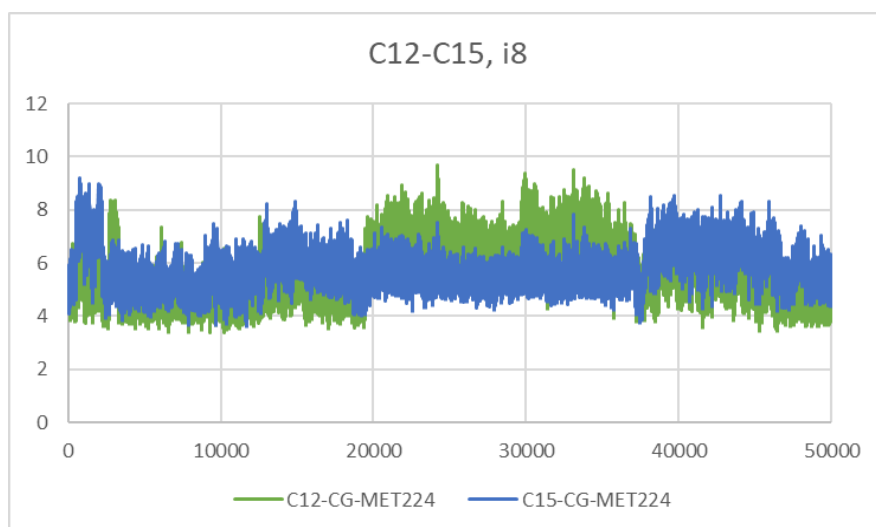


Figura 177 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 8

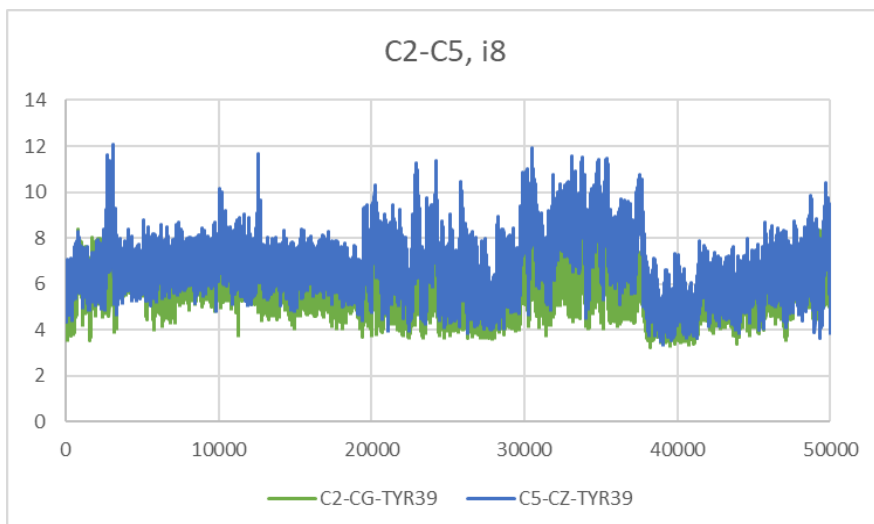


Figura 178 Desplazamiento entre la Tyr39 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 8

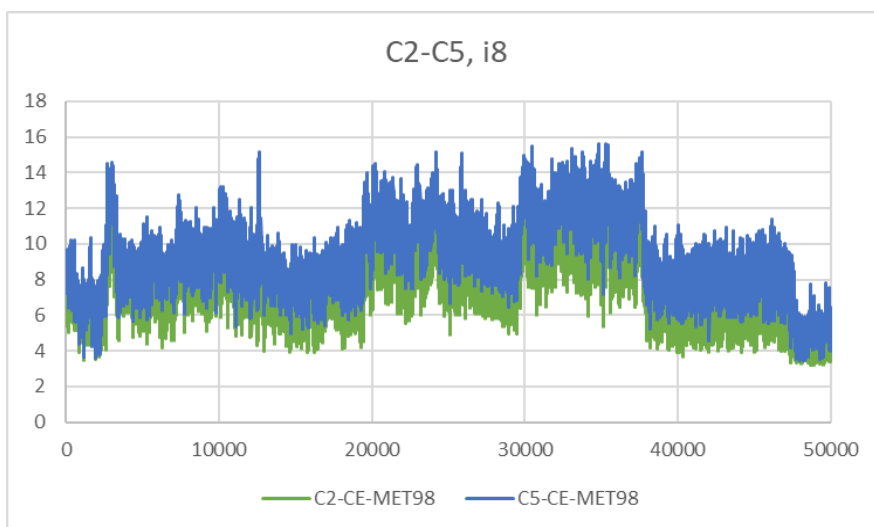


Figura 179 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 8

9.4.2. Inhibidor 14:

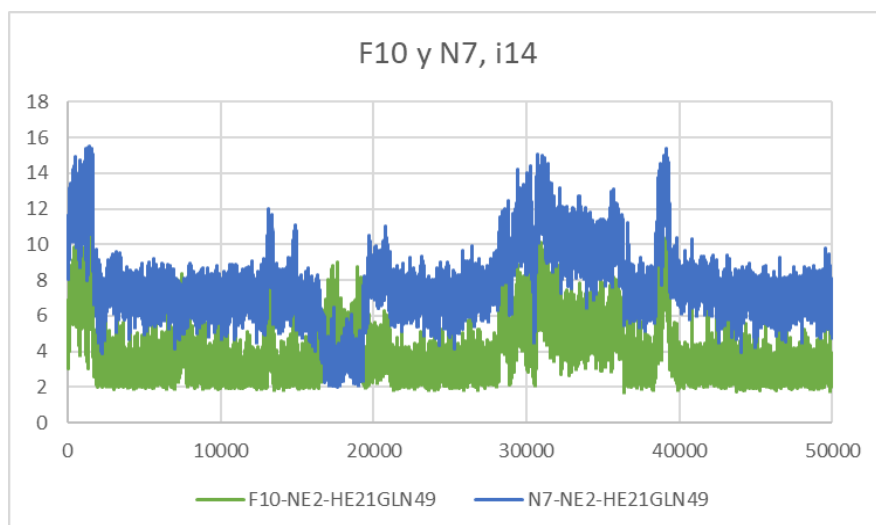


Figura 180 Desplazamiento entre la Gln49 y los átomos F10 y N7 del inhibidor 14

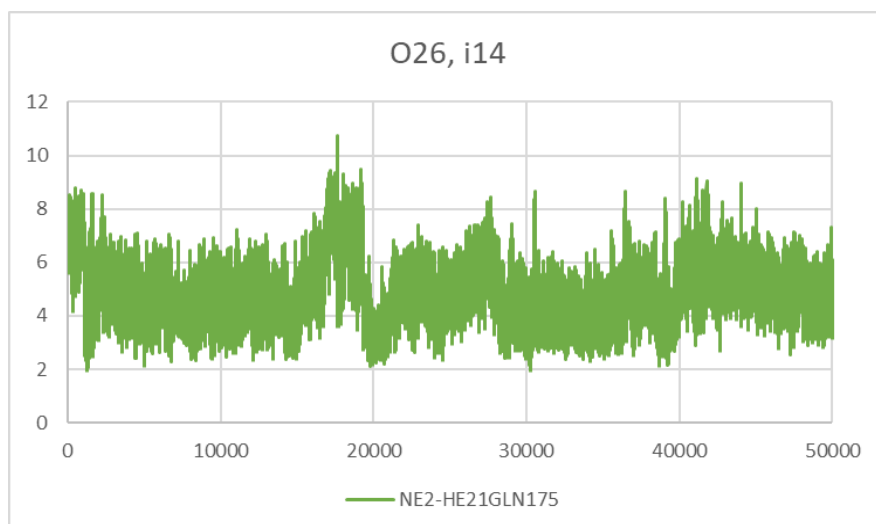


Figura 181 Desplazamiento entre la Gln175 y el átomo O26 del inhibidor 14

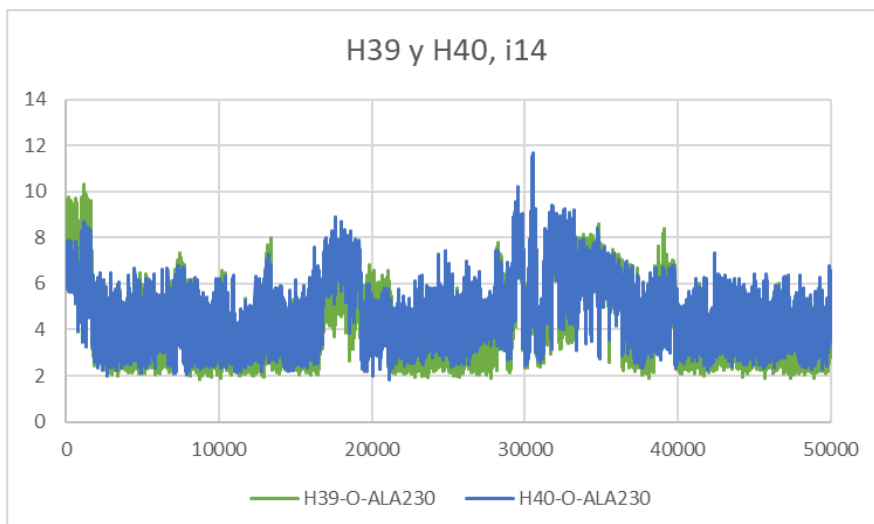


Figura 182 Desplazamiento entre la Ala230 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 14

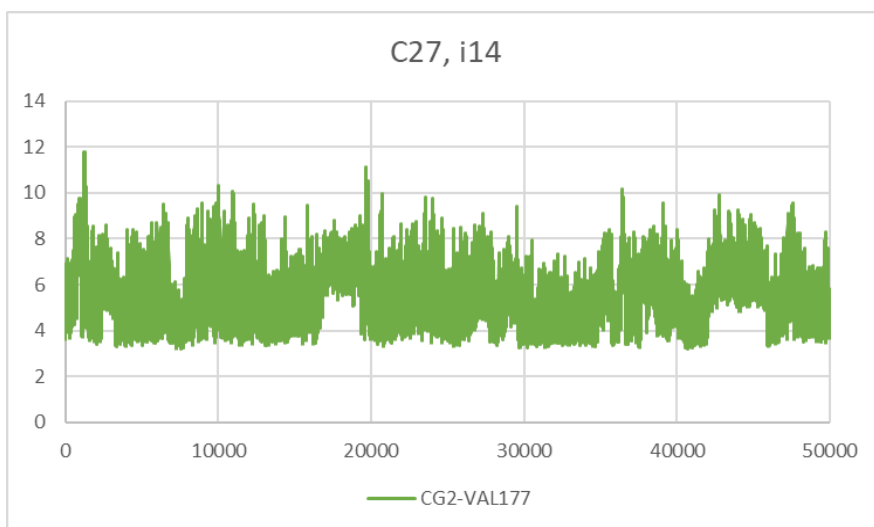


Figura 183 Desplazamiento entre la Val177 y el átomo C27 del inhibidor 14

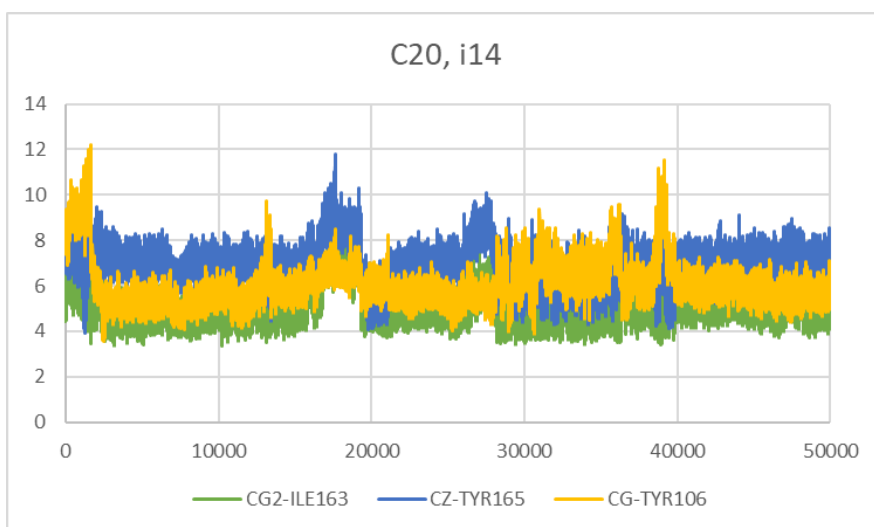


Figura 184 Desplazamiento entre los residuos 106, 163 y 165 con el átomo C20 del anillo C20-C23 del inhibidor 14

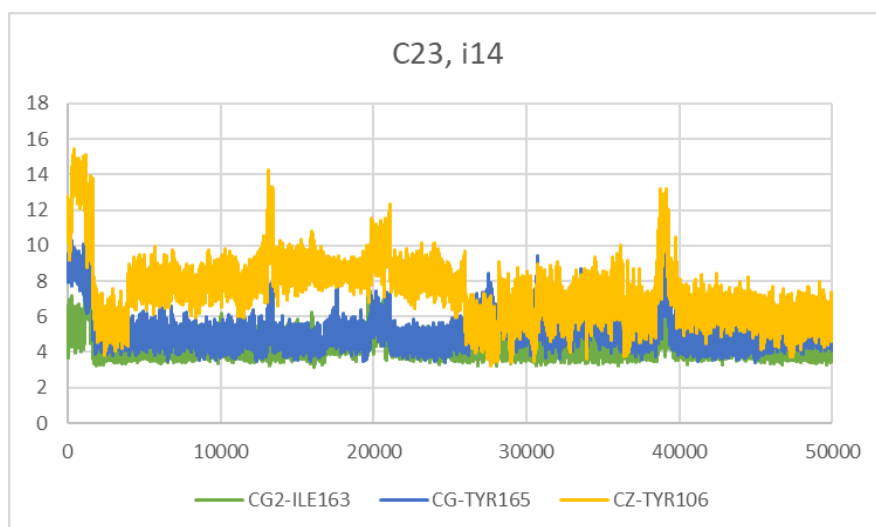


Figura 185 Desplazamiento entre los residuos 106, 163 y 165 con el átomo C23 del anillo C20-C23 del inhibidor 14

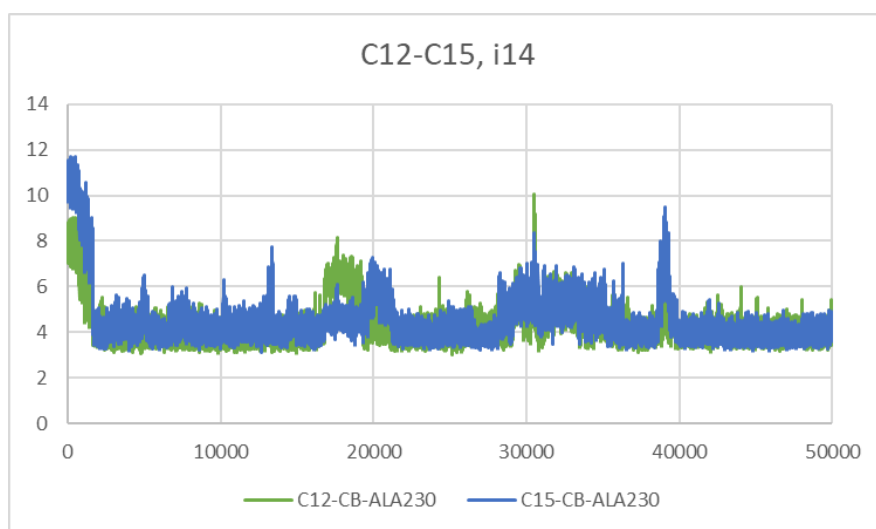


Figura 186 Desplazamiento entre la Ala230 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 14

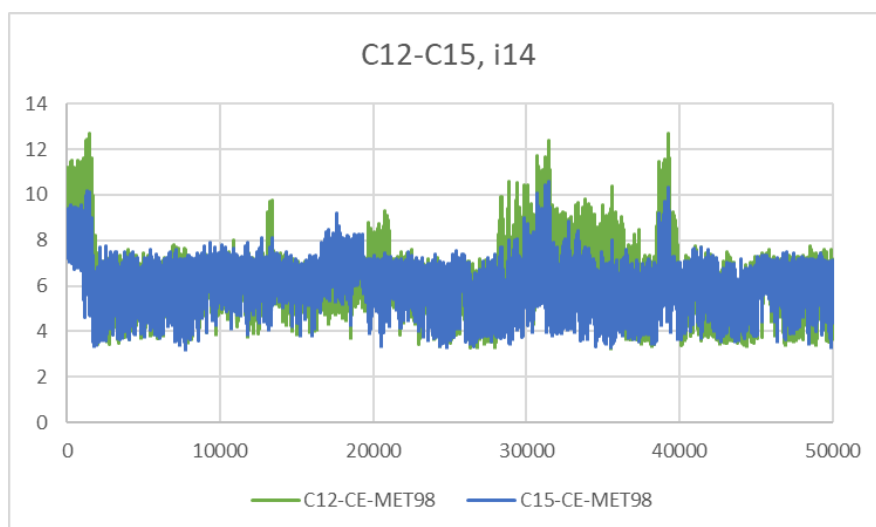


Figura 187 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 14

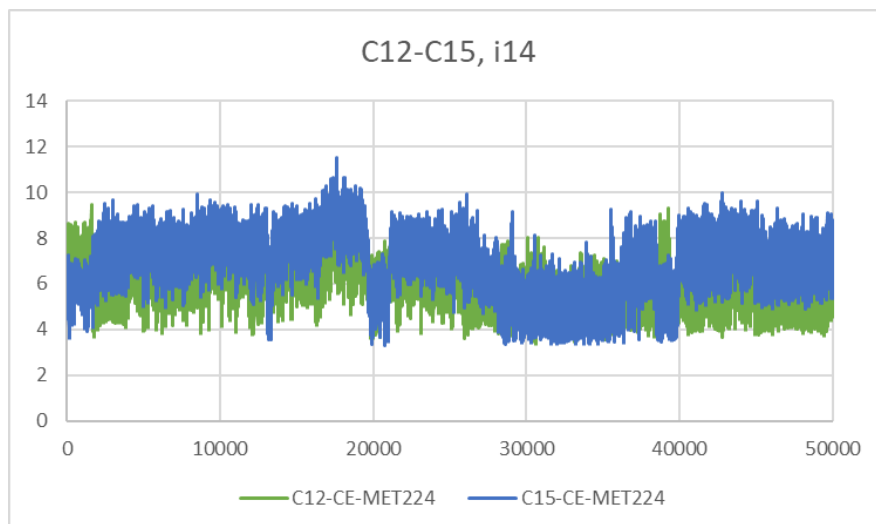


Figura 188 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 14

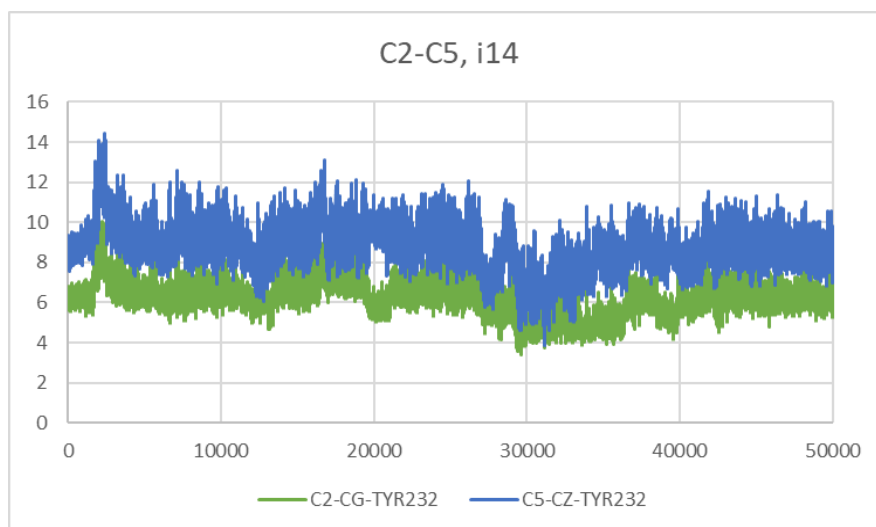


Figura 189 Desplazamiento entre la Tyr232 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 14

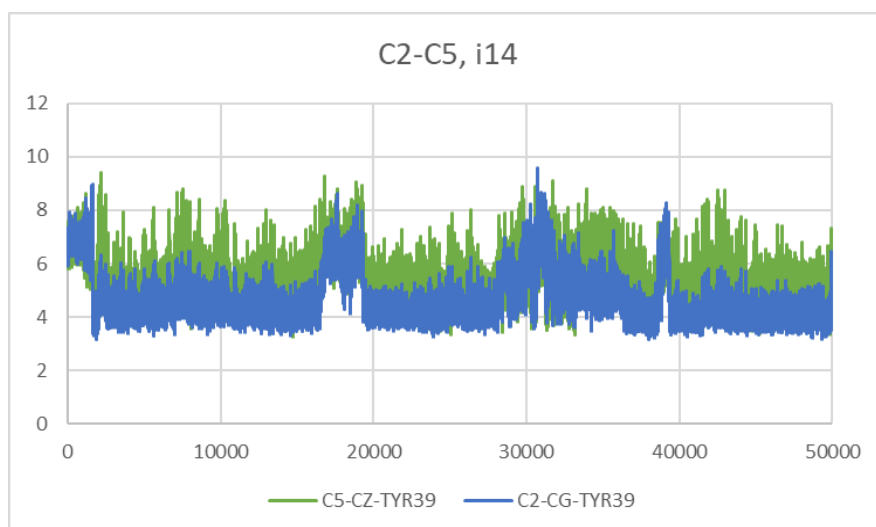


Figura 190 Desplazamiento entre la Tyr39 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 14

9.4.3. Inhibidor 20:

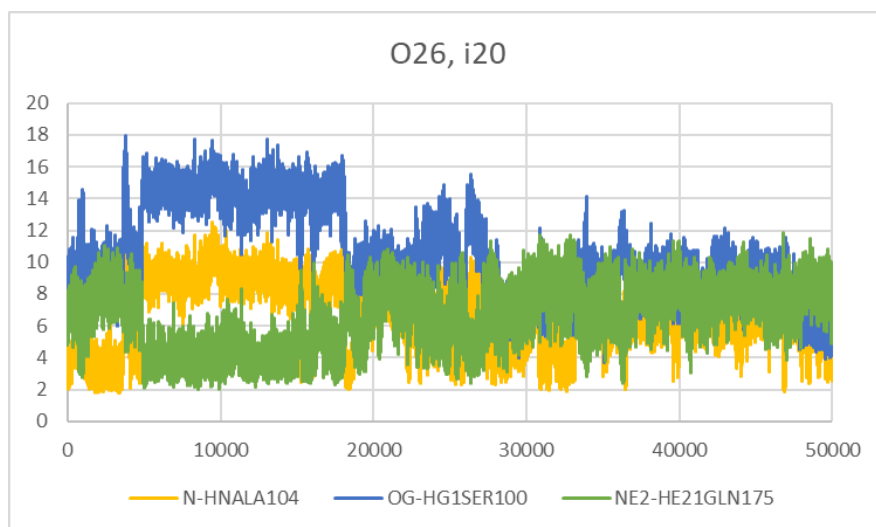


Figura 191 Desplazamiento entre los residuos 100, 104 y 175 con el átomo O26 del inhibidor 20

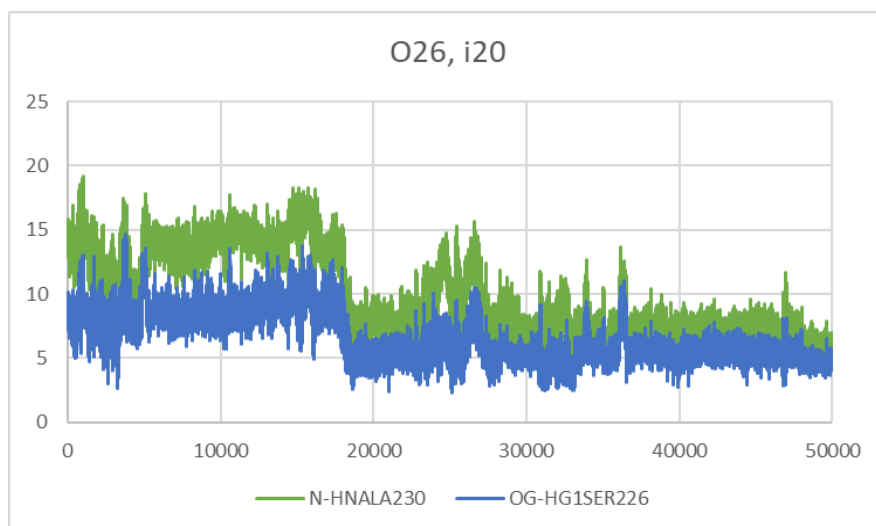


Figura 192 Desplazamiento entre los residuos 226 y 230 con el átomo O26 del inhibidor 20

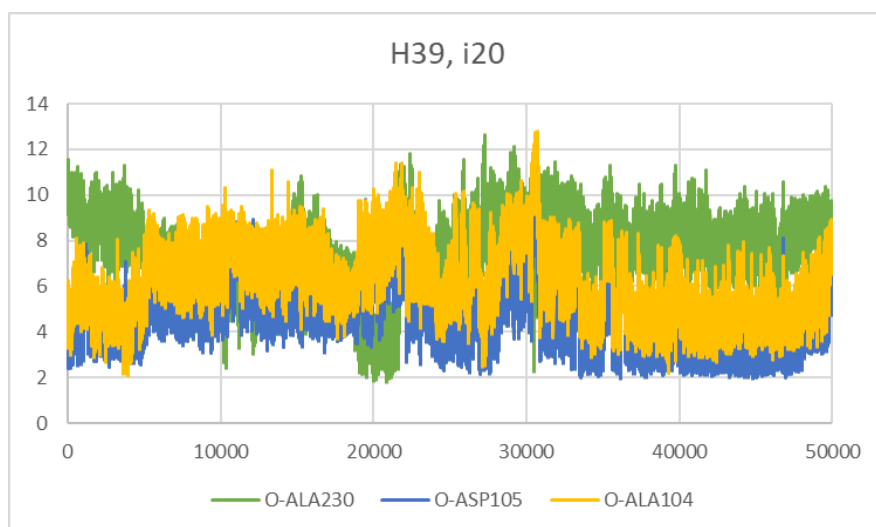


Figura 193 Desplazamiento entre los residuos 104, 105 y 230 con el átomo H39 del inhibidor 20

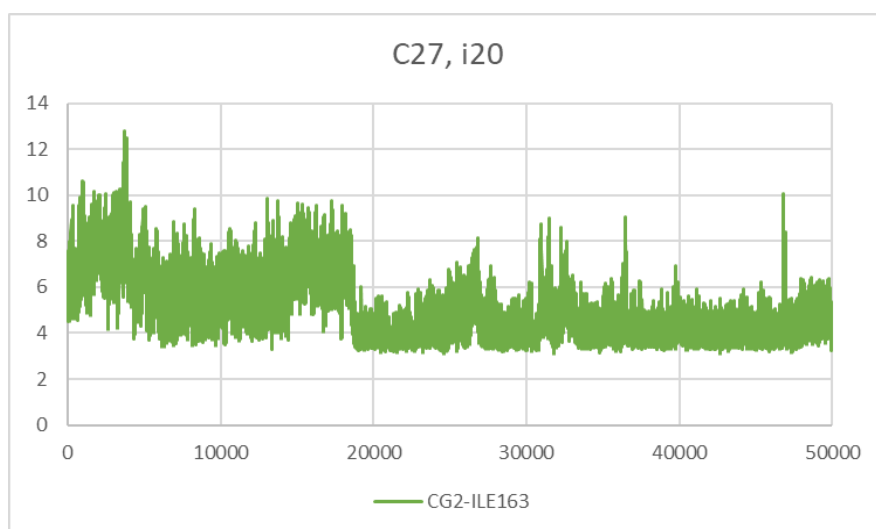


Figura 194 Desplazamiento entre la Ile163 y el átomo C27 del inhibidor 20

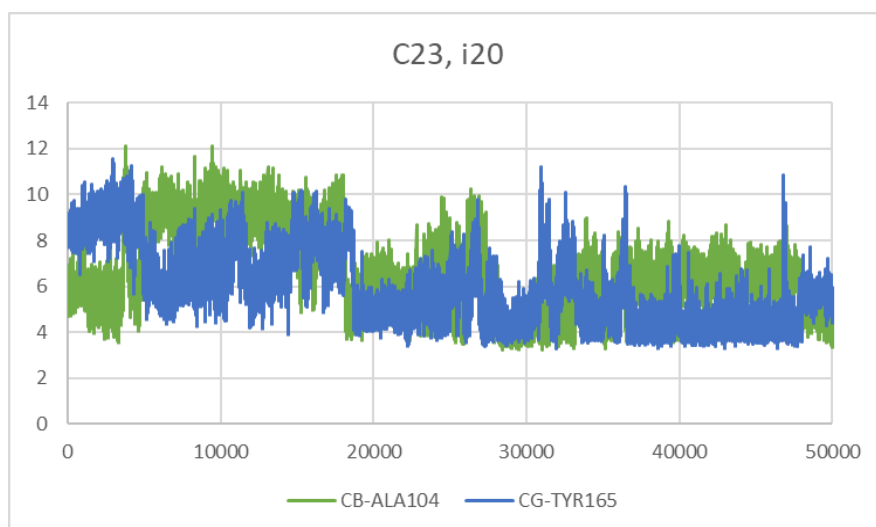


Figura 195 Desplazamiento entre los residuos 104 y 165 con el átomo C23 del anillo C20-C23 del inhibidor 20

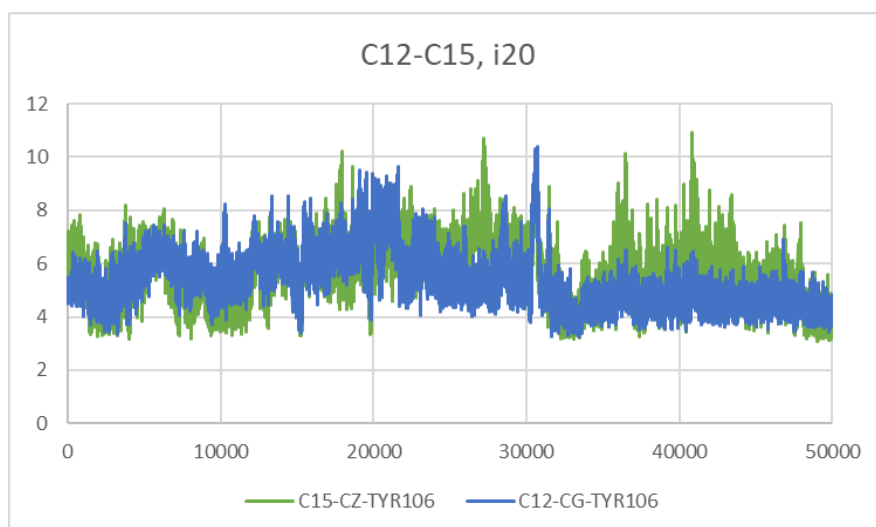


Figura 196 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 20

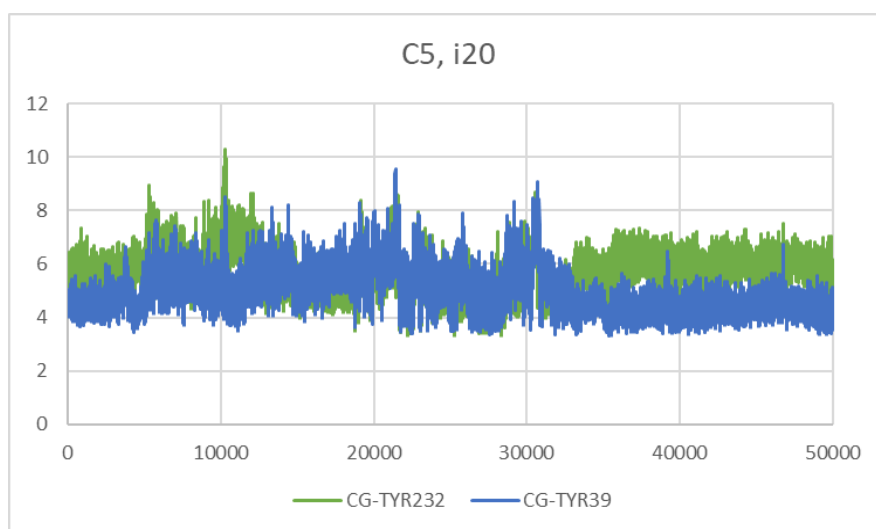


Figura 197 Desplazamiento entre los residuos 39 y 232 con el átomo C5 del anillo C2-C5 del inhibidor 20

9.4.4. Inhibidor 26:

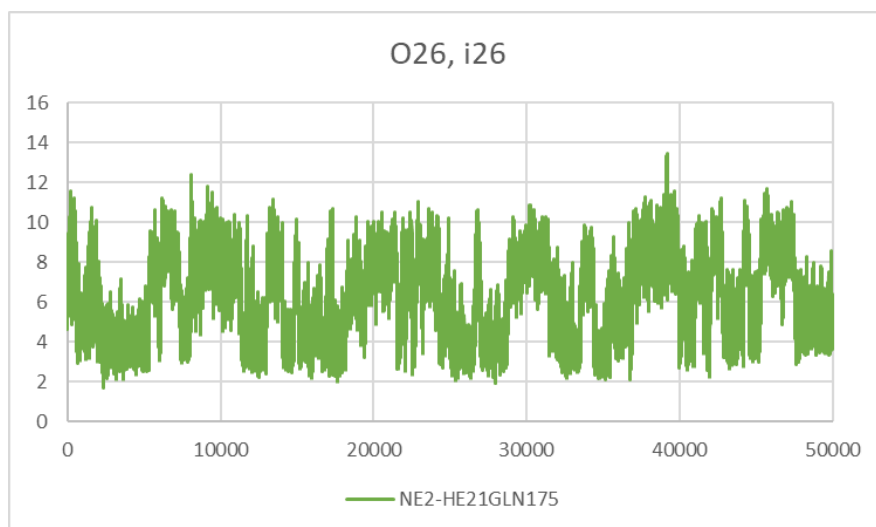


Figura 198 Desplazamiento entre la Gln175 y el átomo O26 del inhibidor 26

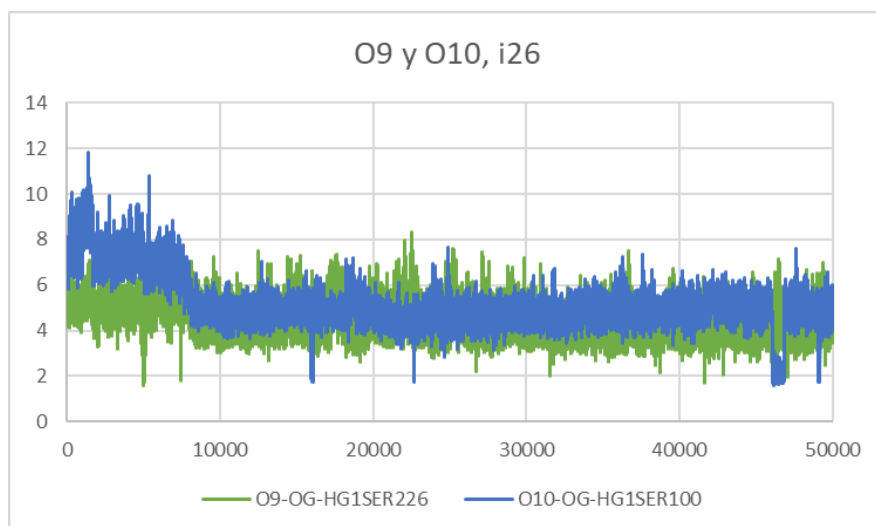


Figura 199 Desplazamiento entre la Ser100 y el átomo O10 del inhibidor 20, y la Ser226 y el átomo O9 del inhibidor

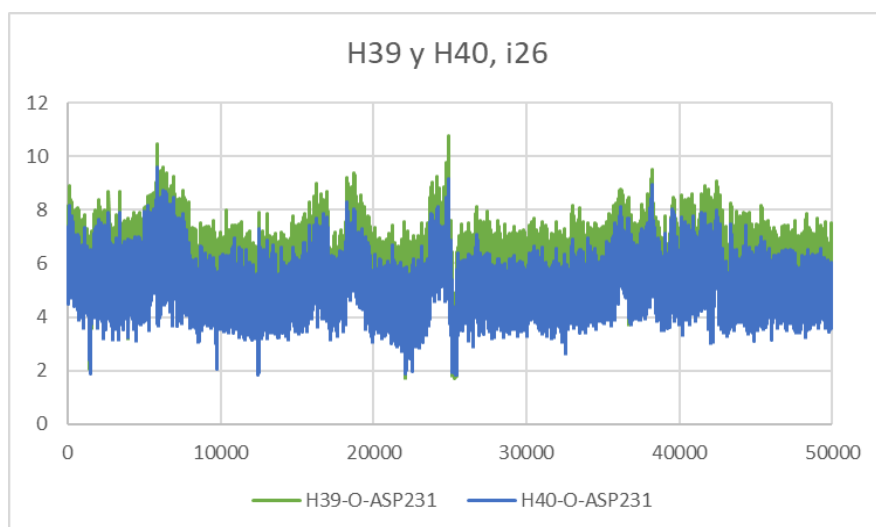


Figura 200 Desplazamiento entre el Asp231 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 26

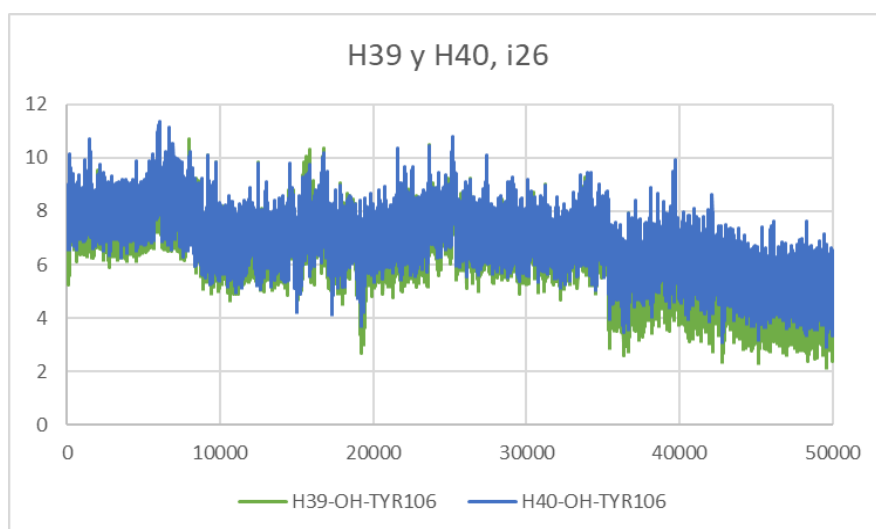


Figura 201 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 26

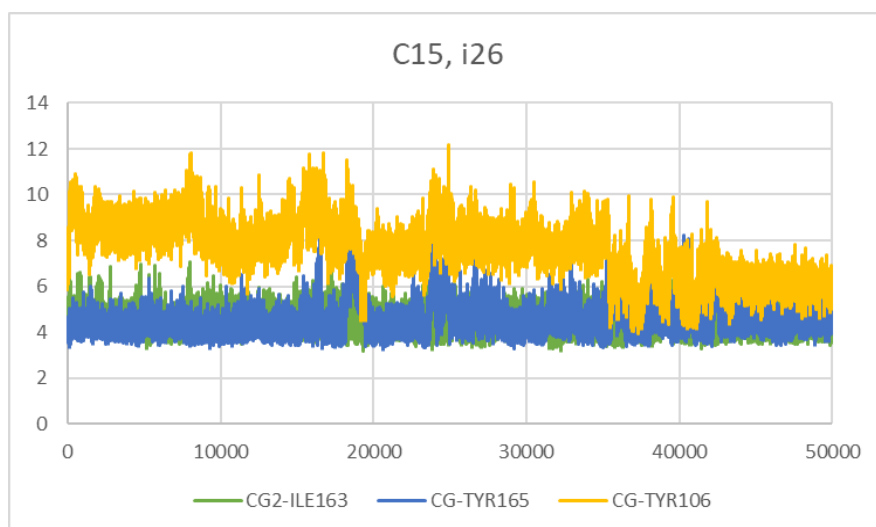


Figura 202 Desplazamiento entre los residuos 106, 163 y 165 con el átomo C15 del anillo C12-C15 del inhibidor 26

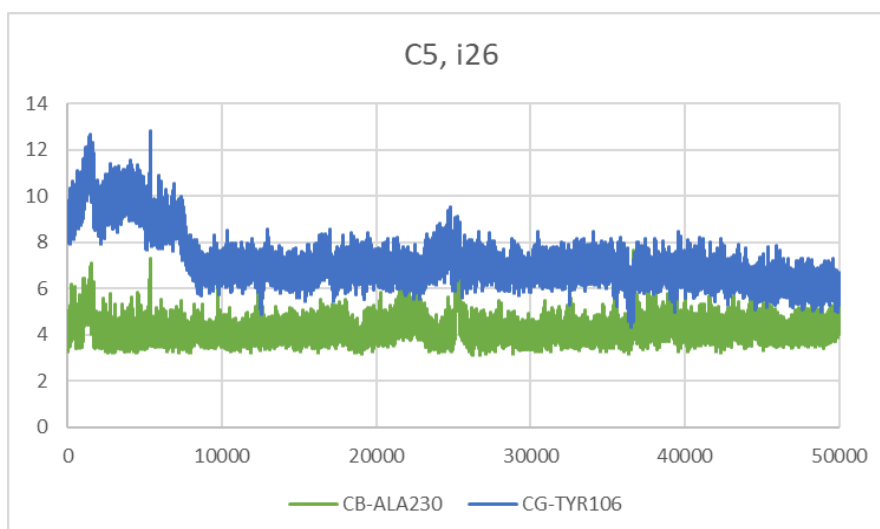


Figura 203 Desplazamiento entre los residuos 106 y 230 con el átomo C5 del anillo C2-C5 del inhibidor 26

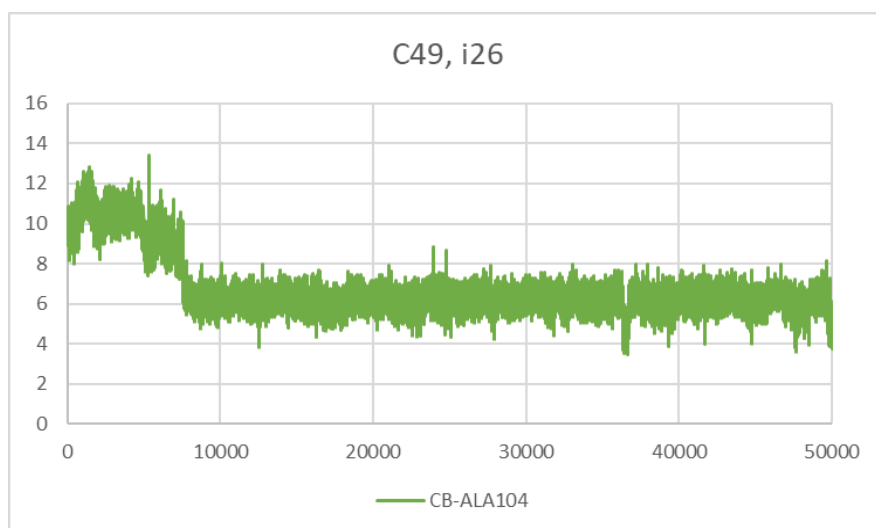


Figura 204 Desplazamiento entre la Ala104 y el átomo C49 del inhibidor 26

9.4.5. Inhibidor 32:

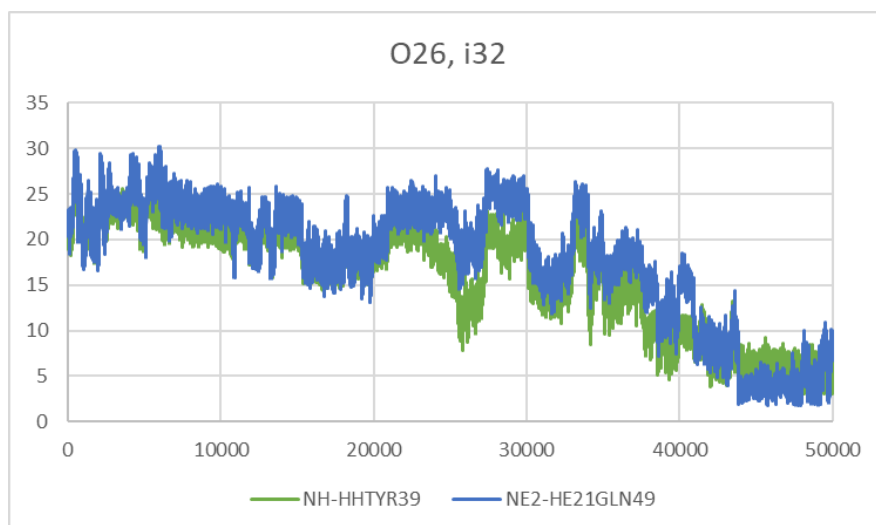


Figura 205 Desplazamiento entre los residuos 39 y 49 con el átomo O26 del inhibidor 32

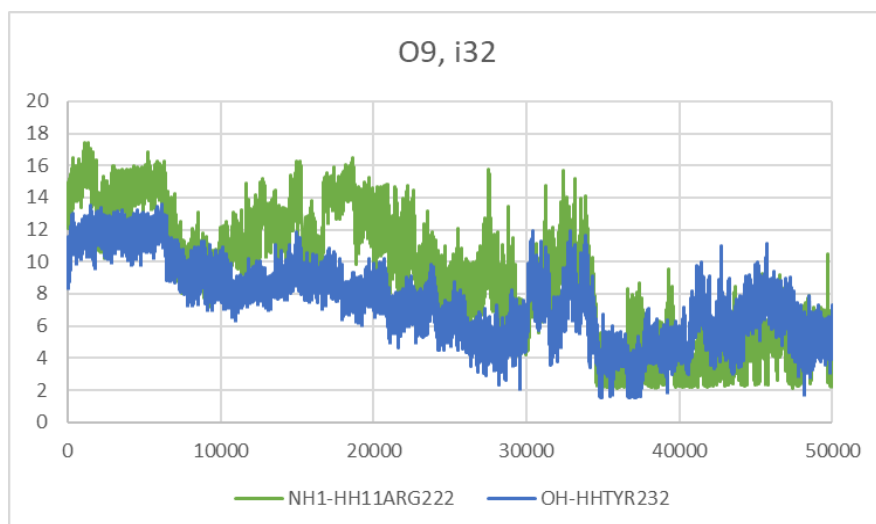


Figura 206 Desplazamiento entre los residuos 222 y 232 con el átomo O9 del inhibidor 32

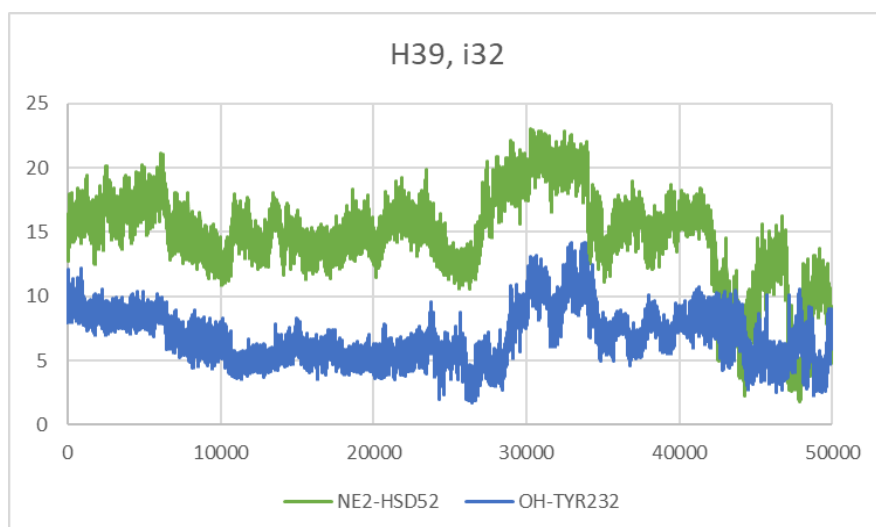


Figura 207 Desplazamiento entre los residuos 52 y 232 con el átomo H39 del inhibidor 32

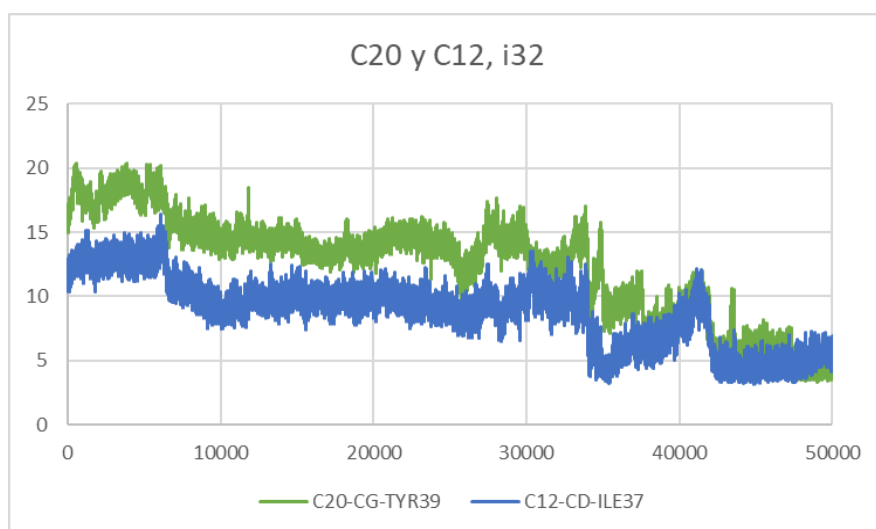


Figura 208 Desplazamiento entre la Ile37 y el átomo C12 del anillo C12-C15 del inhibidor 32, y la Tyr39 y el átomo C20 del anillo C20-C23 del inhibidor 32

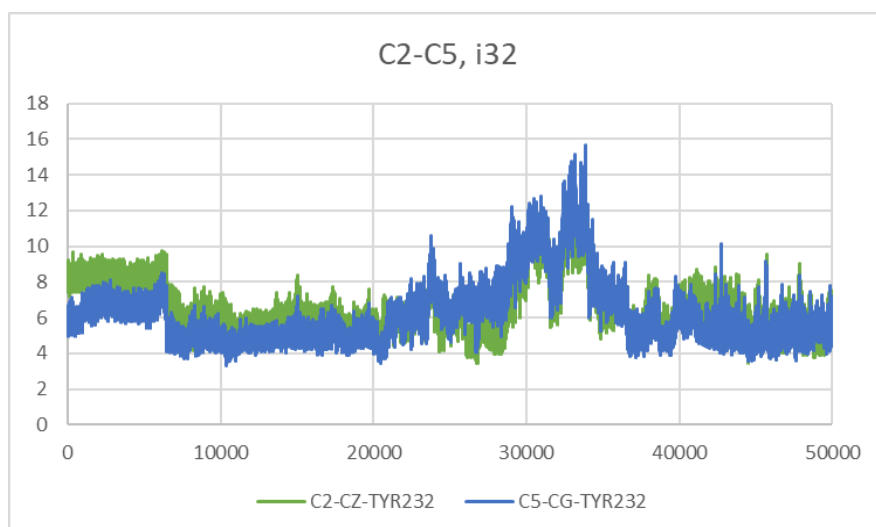


Figura 209 Desplazamiento entre la Tyr232 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 32

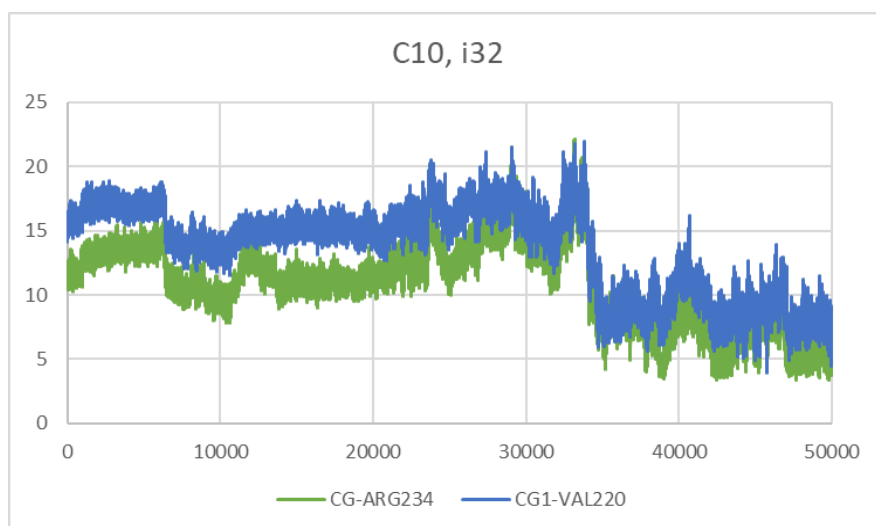


Figura 210 Desplazamiento entre los residuos 220 y 234 con el átomo C10 del inhibidor 32

9.5. Grupo 9:

9.5.1. Inhibidor 9:

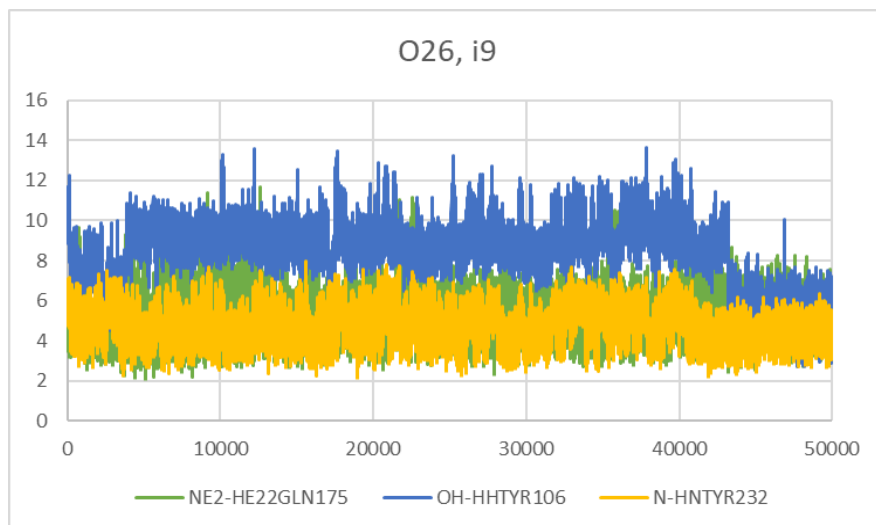


Figura 211 Desplazamiento entre los residuos 106, 175 y 232 con el átomo O26 del inhibidor 9

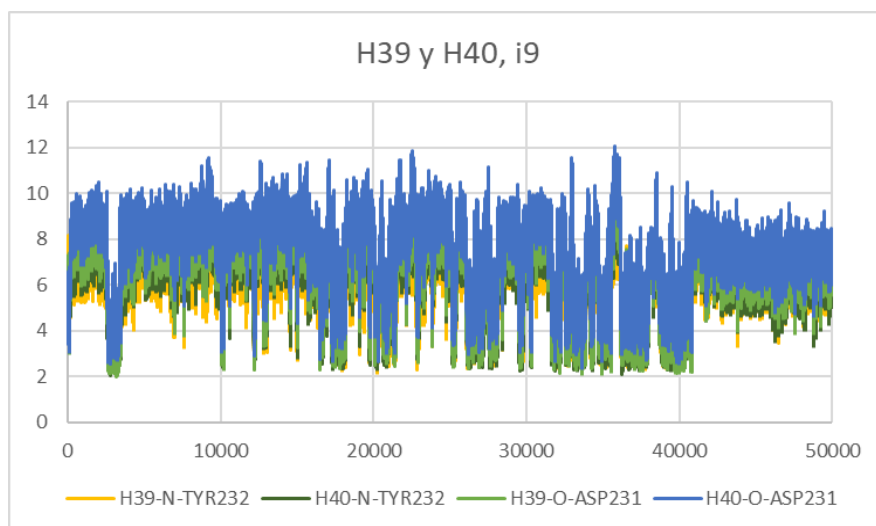


Figura 212 Desplazamiento entre los residuos 231 y 232 con los átomos H39 y H40 del inhibidor 9

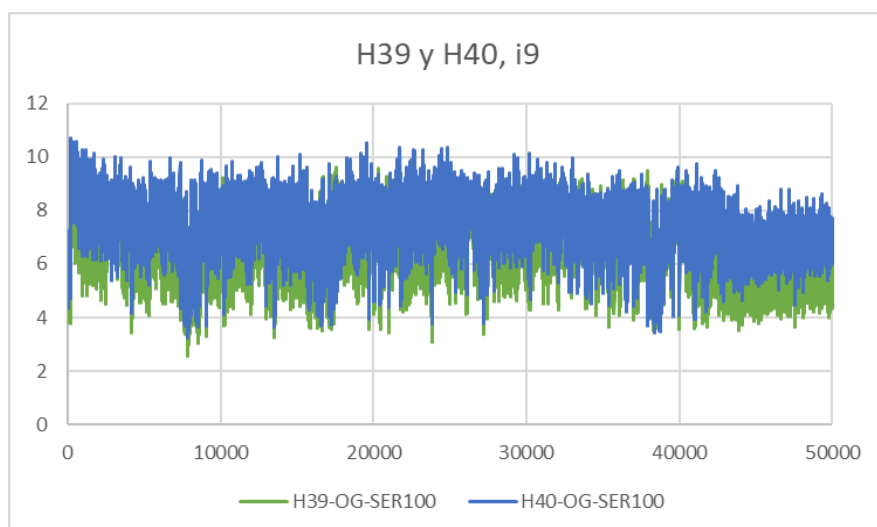


Figura 213 Desplazamiento entre la Ser100 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 9

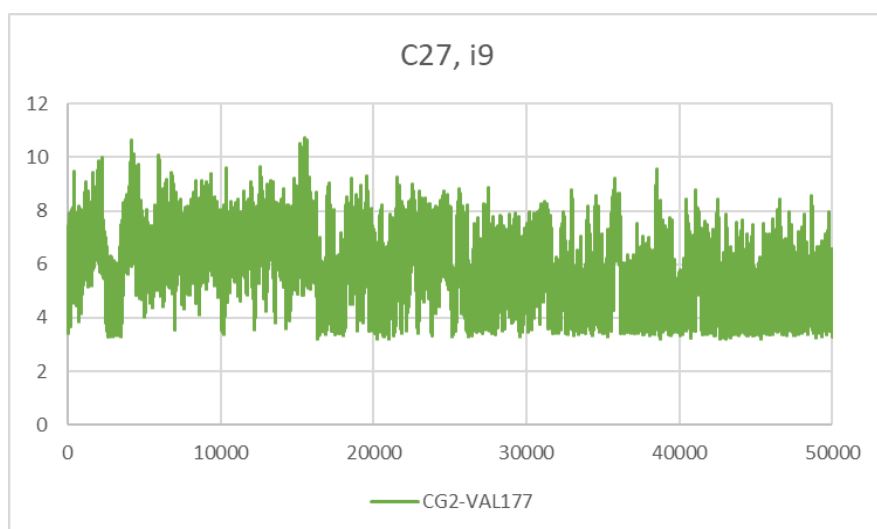


Figura 214 Desplazamiento entre la Val177 y el átomo C27 del inhibidor 9

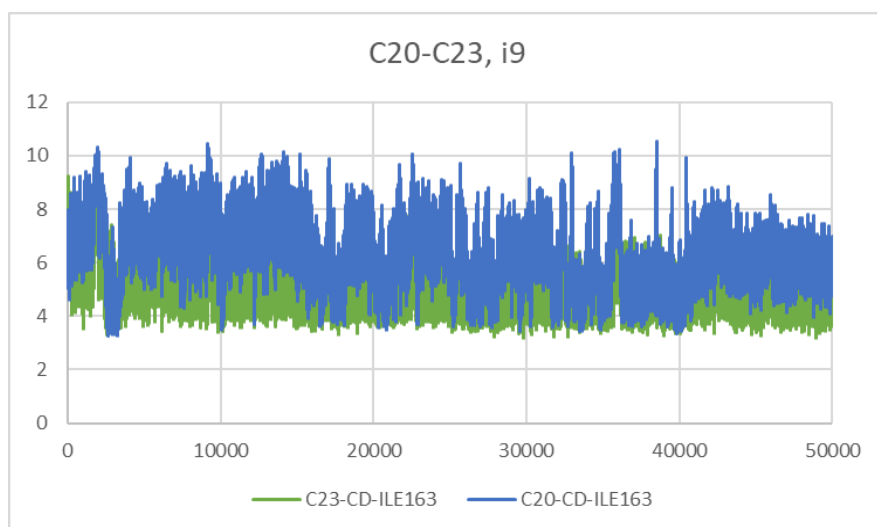


Figura 215 Desplazamiento entre la Ile163 y los átomos del anillo C20-C23 del inhibidor 9

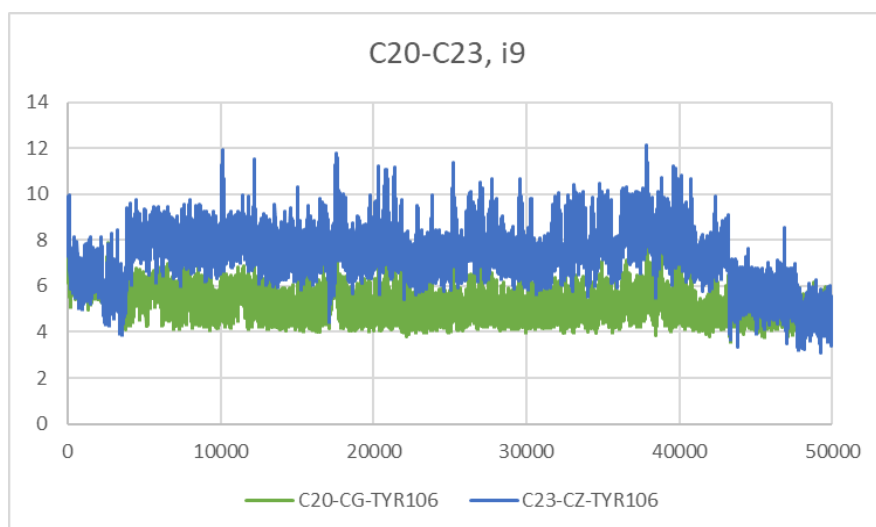


Figura 216 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos del anillo C20-C23 del inhibidor 9

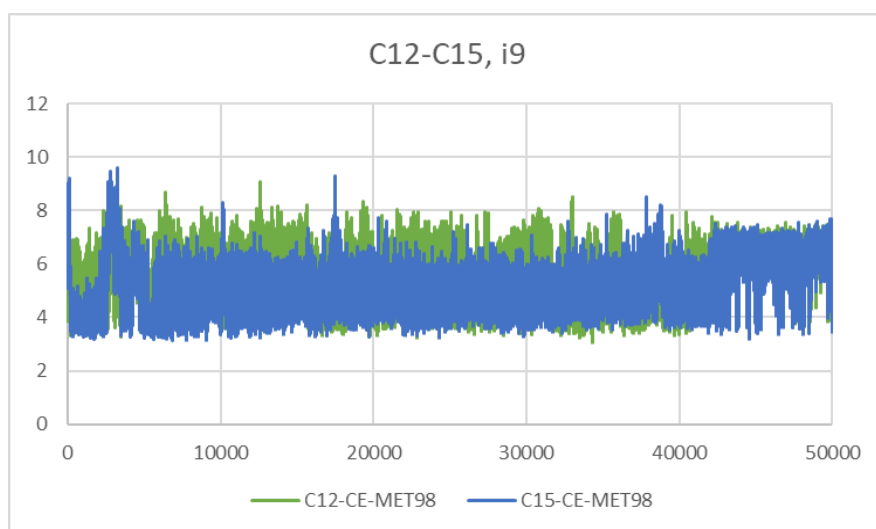


Figura 217 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 9

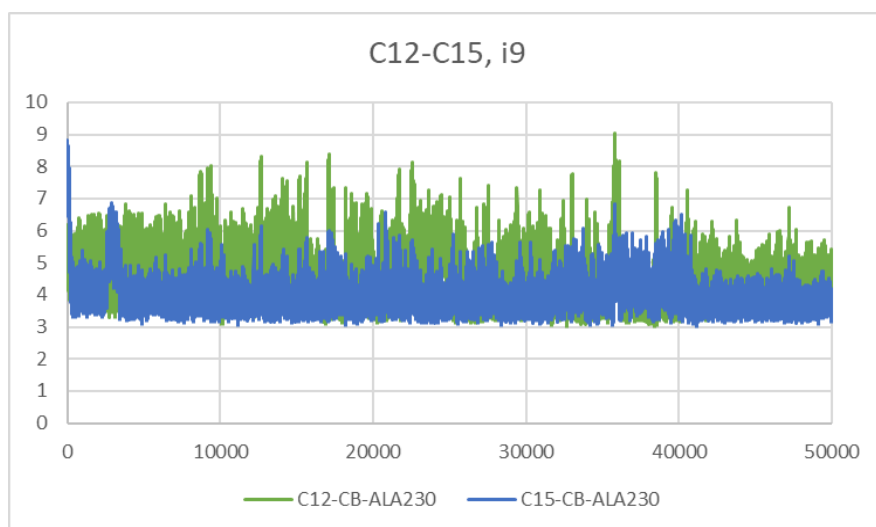


Figura 218 Desplazamiento entre la Ala230 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 9

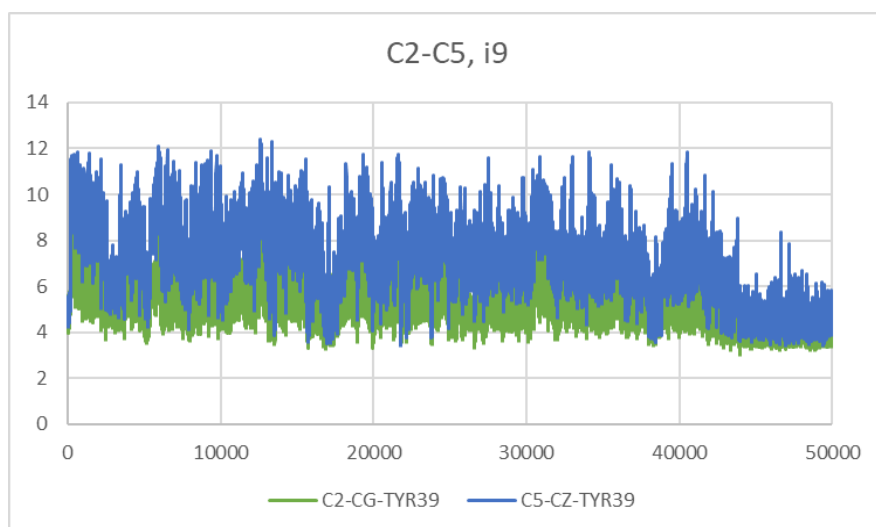


Figura 219 Desplazamiento entre la Tyr39 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 9

9.5.2. Inhibidor 15:

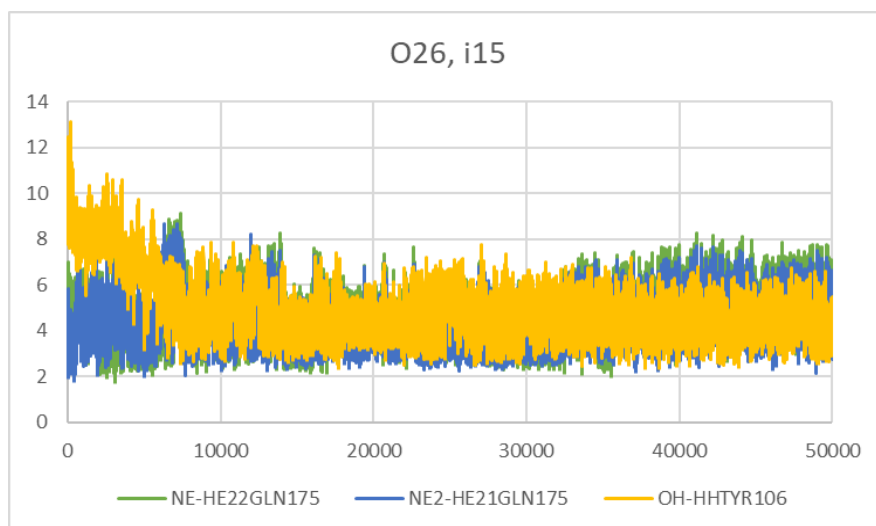


Figura 220 Desplazamiento entre los residuos 106 y 175 con el átomo O26 del inhibidor 15

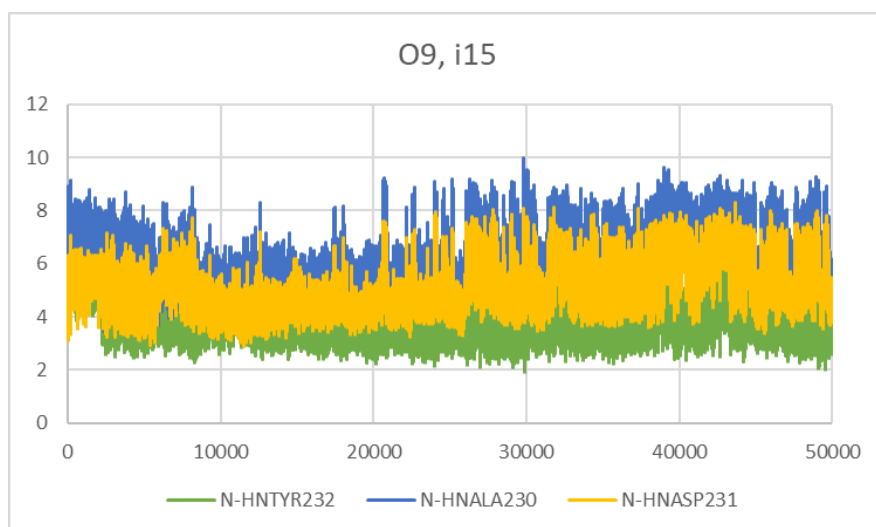


Figura 221 Desplazamiento entre los residuos 230, 231 y 232 con el átomo O9 del inhibidor 15

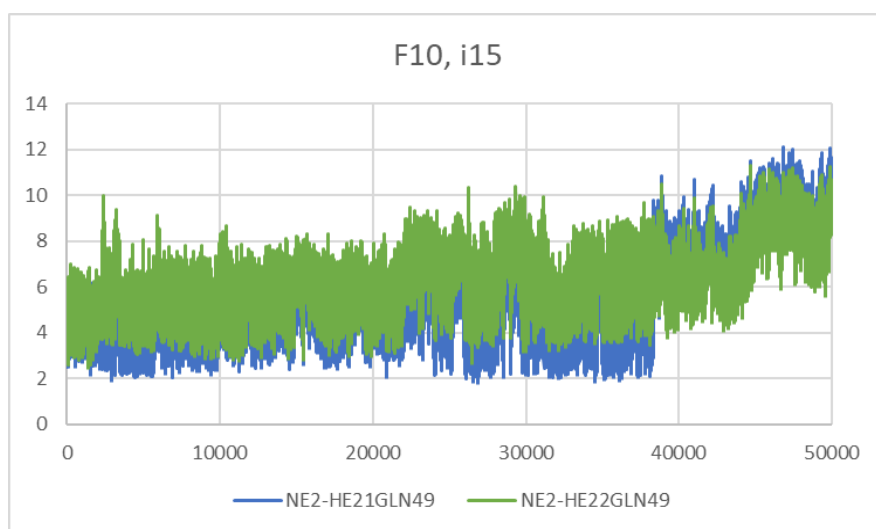


Figura 222 Desplazamiento entre la Gln49 y el átomo F10 del inhibidor 15

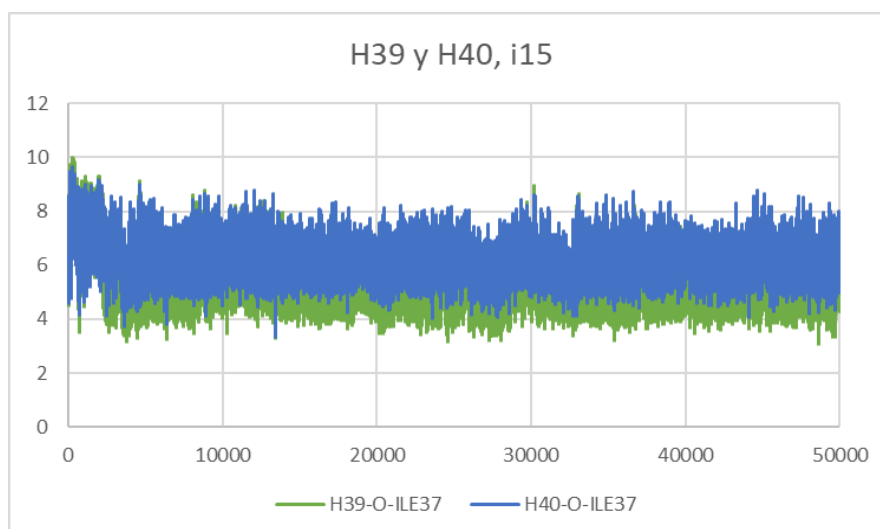


Figura 223 Desplazamiento entre la Ile37 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 15

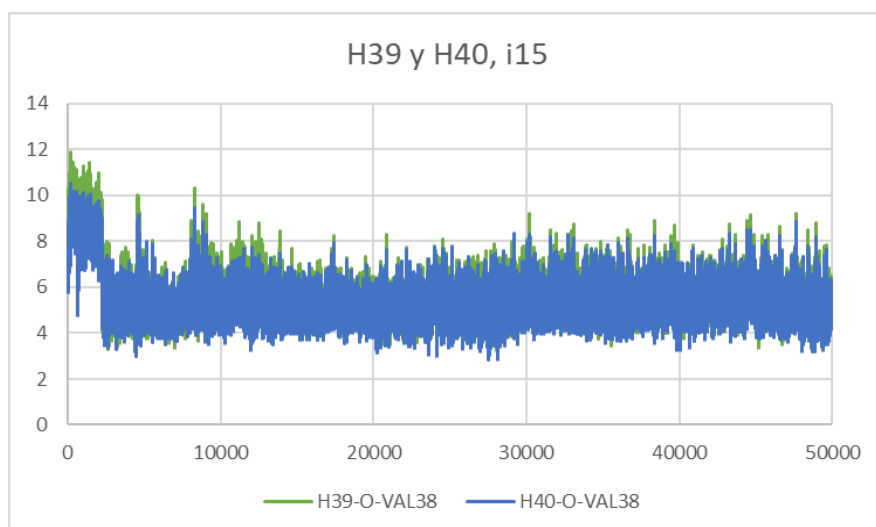


Figura 224 Desplazamiento entre la Val38 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 15

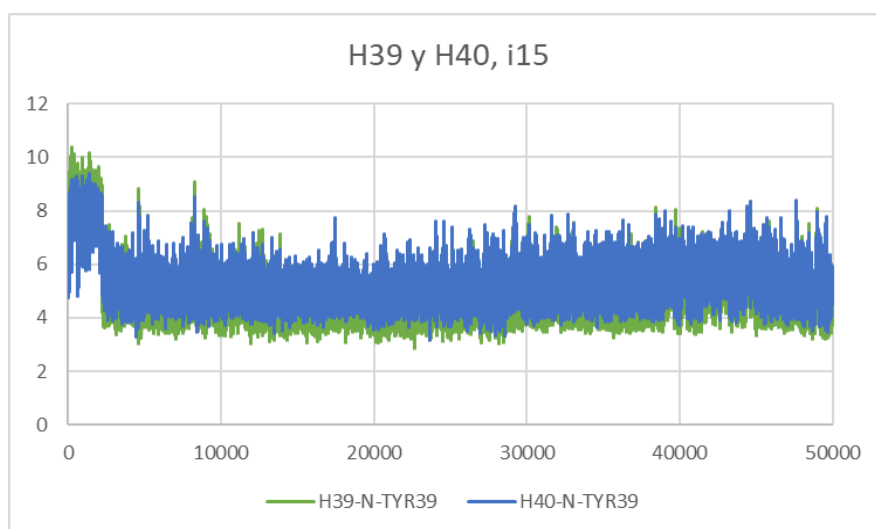


Figura 225 Desplazamiento entre la Tyr39 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 15

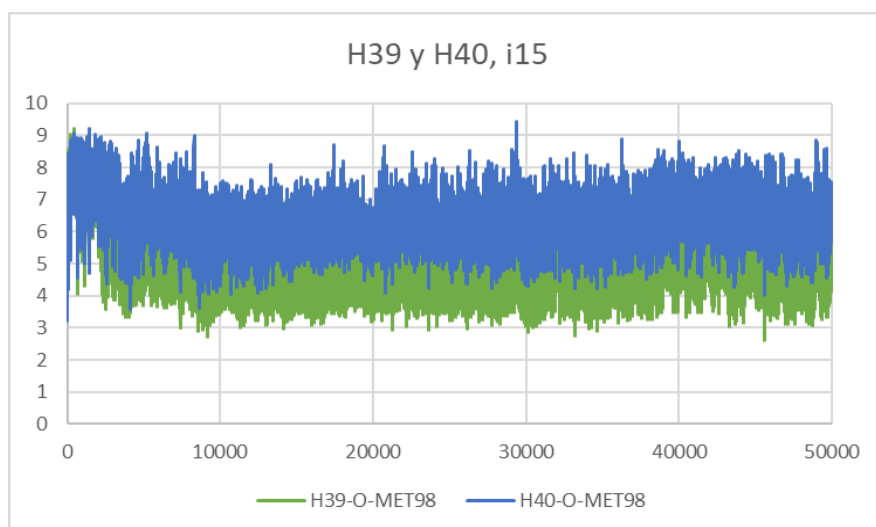


Figura 226 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 15

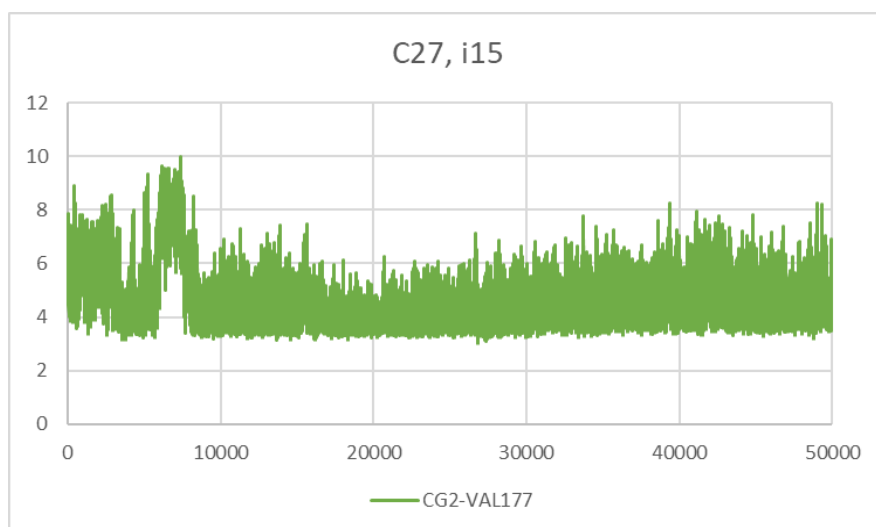


Figura 227 Desplazamiento entre la Val177 y el átomo C27 del inhibidor 15

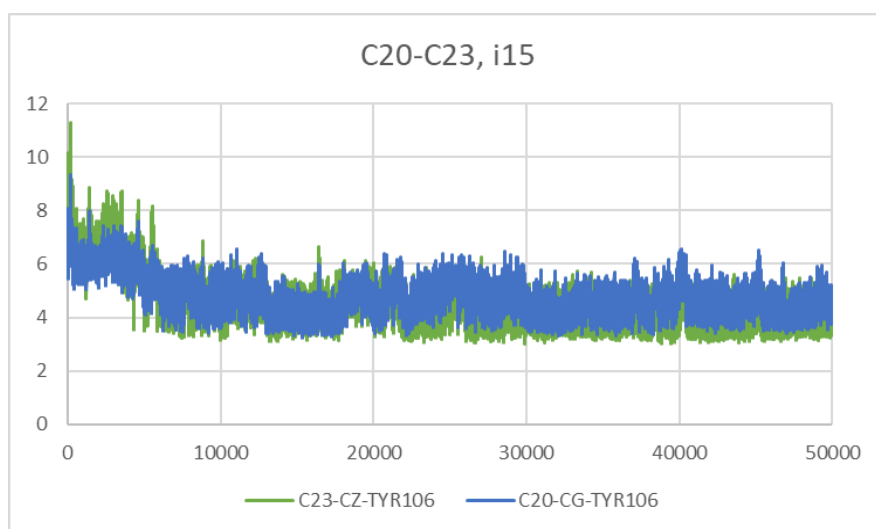


Figura 228 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos del anillo C20-C23 del inhibidor 15

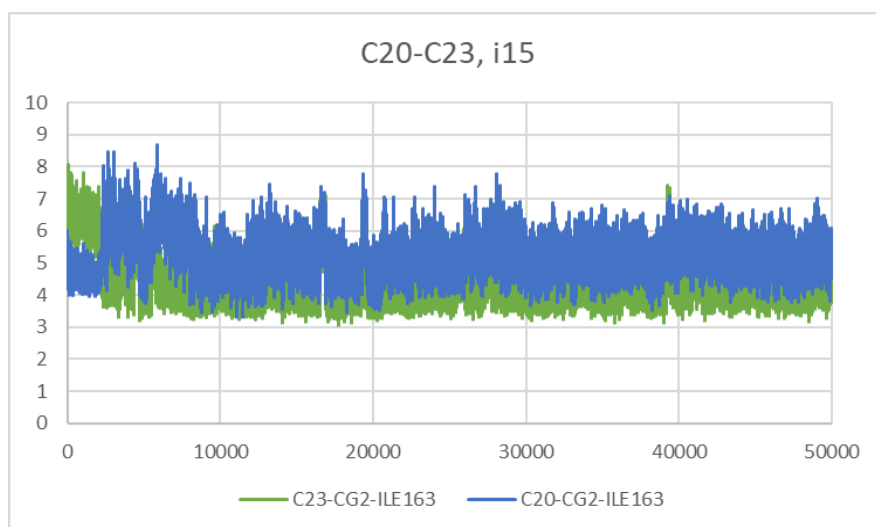


Figura 229 Desplazamiento entre la Ile163 y los átomos del anillo C20-C23 del inhibidor 15

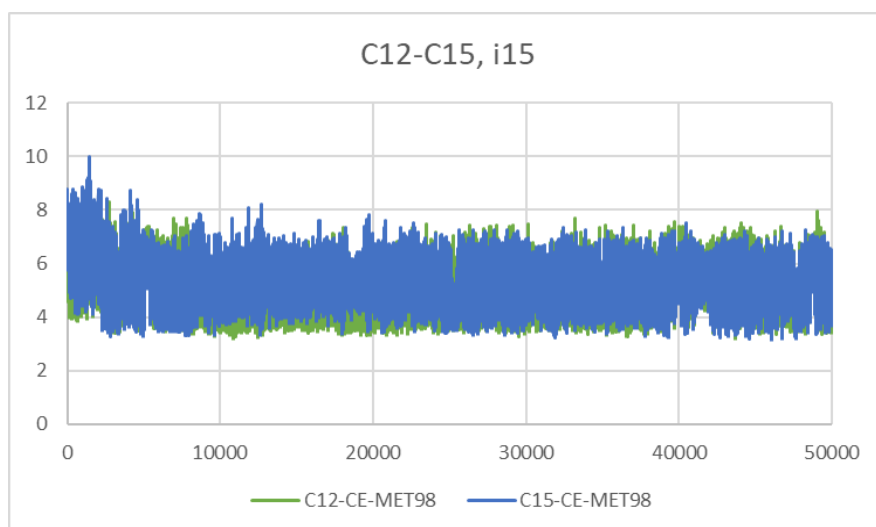


Figura 230 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 15

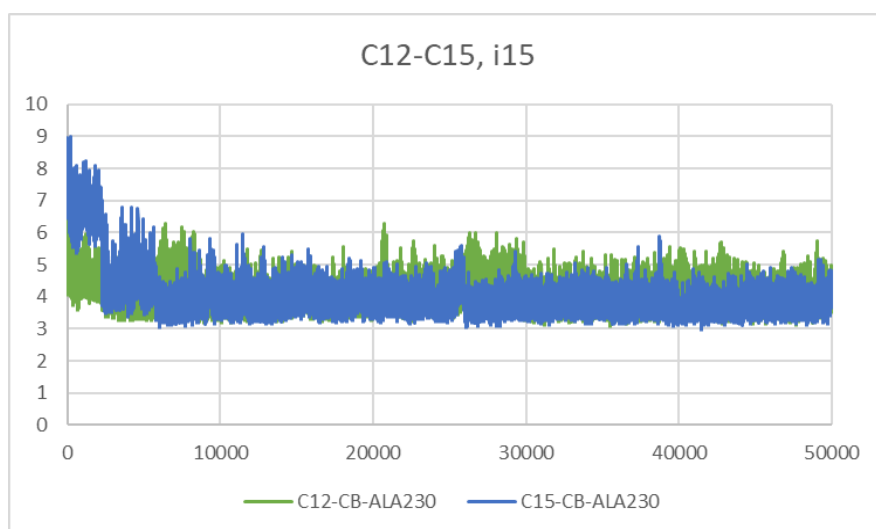


Figura 231 Desplazamiento entre la Ala230 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 15

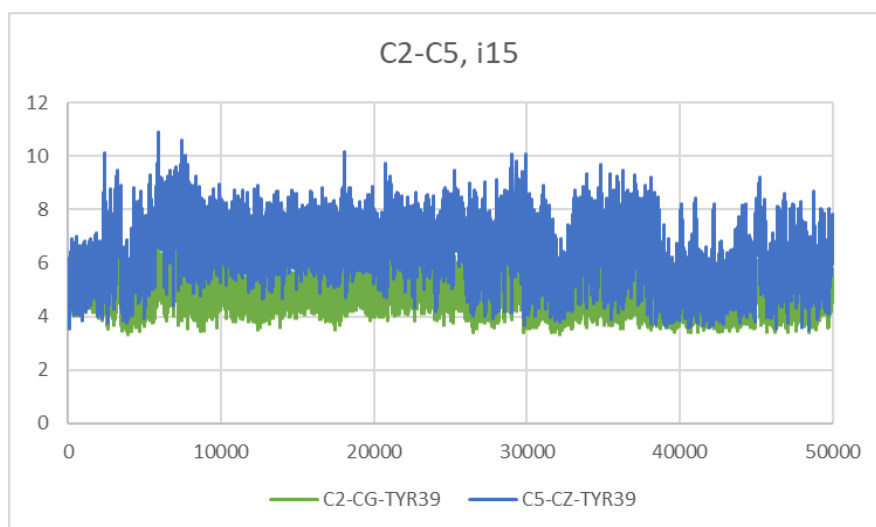


Figura 232 Desplazamiento entre la Tyr39 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 15

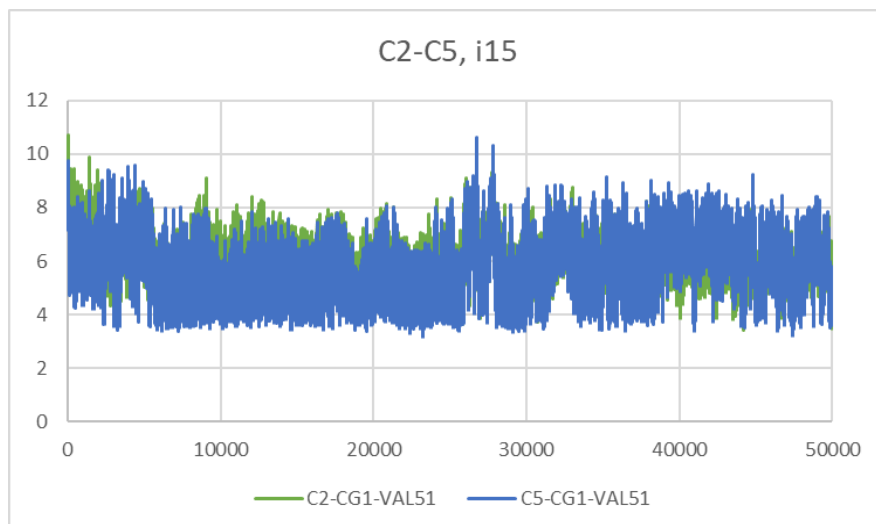


Figura 233 Desplazamiento entre la Val51 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 15

9.5.3. Inhibidor 21:

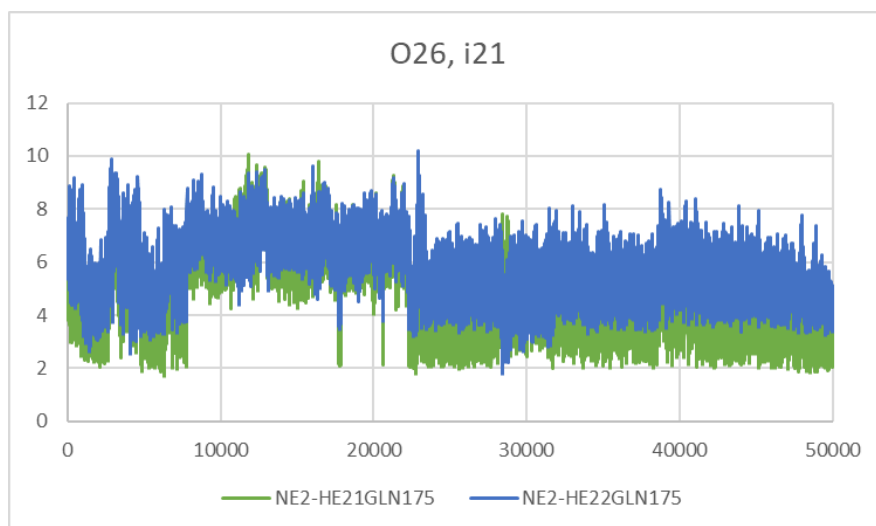


Figura 234 Desplazamiento entre la Gln175 y el átomo O26 del inhibidor 21

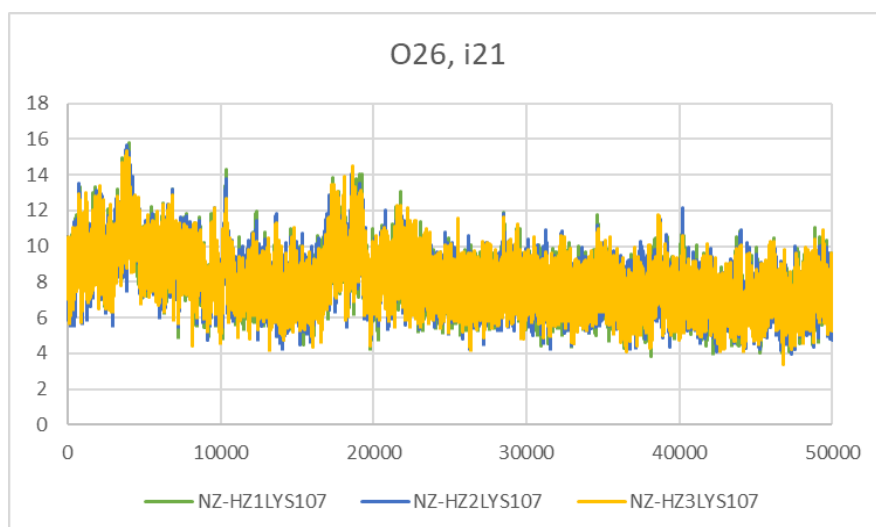


Figura 235 Desplazamiento entre la Lys107 y el átomo O26 del inhibidor 21

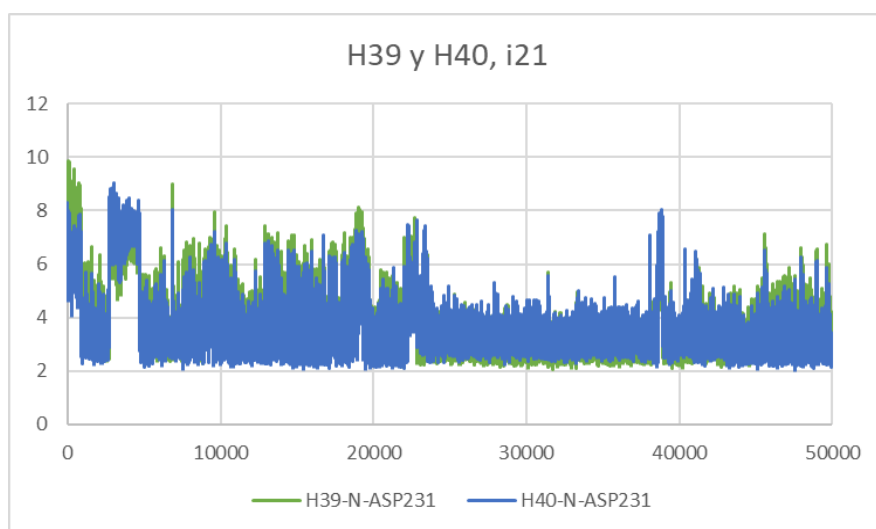


Figura 236 Desplazamiento entre el Asp231 con los átomos H39 y H40 del inhibidor 21

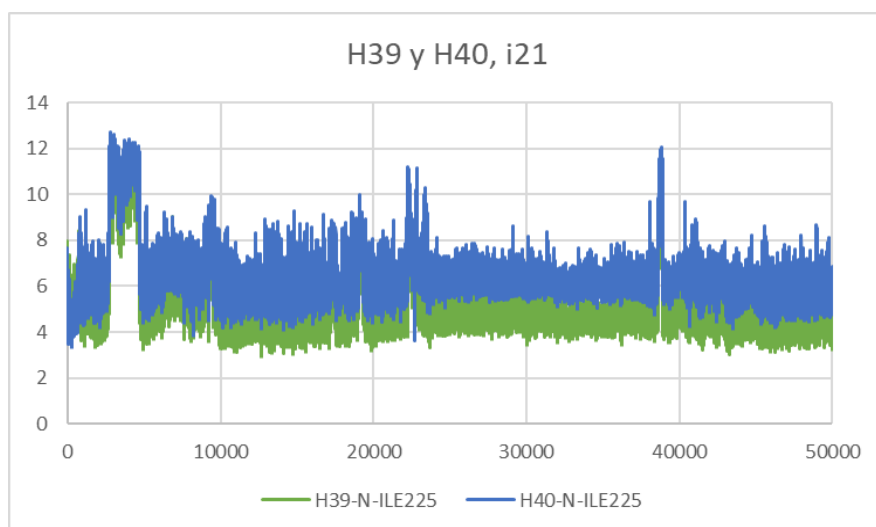


Figura 237 Desplazamiento entre la Ile225 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 21

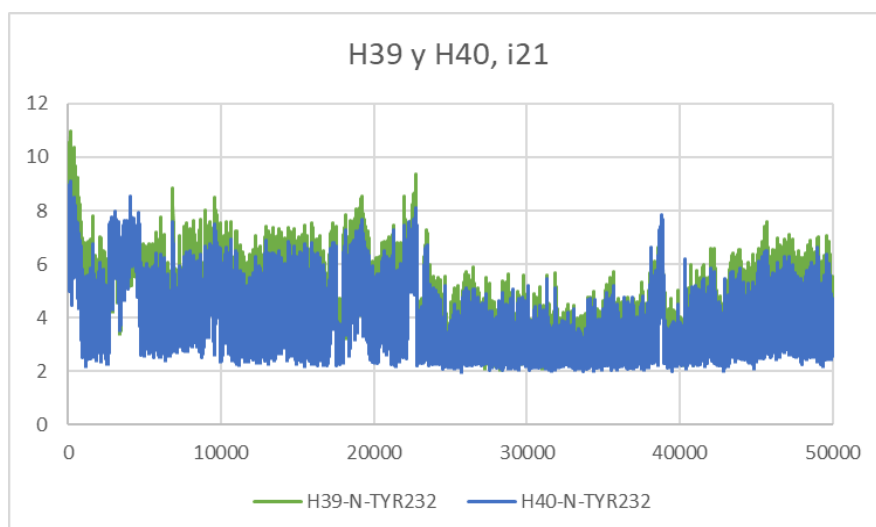


Figura 238 Desplazamiento entre la Tyr232 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 21

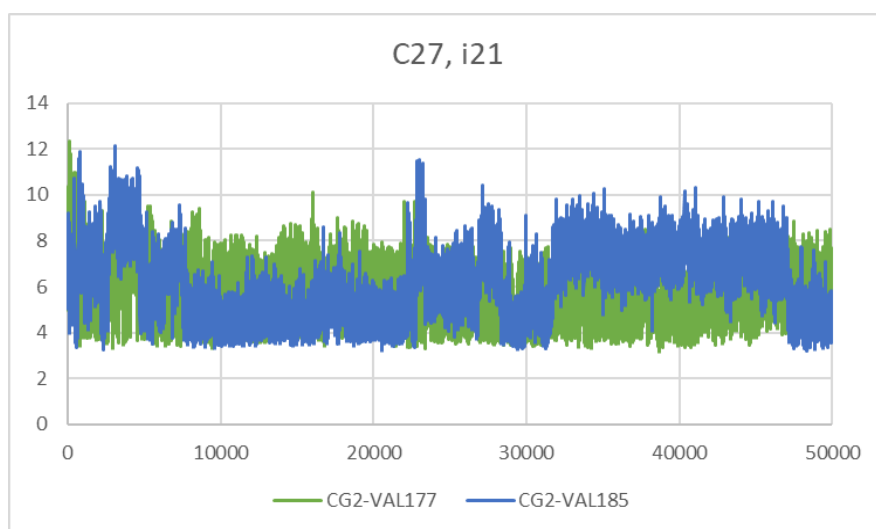


Figura 239 Desplazamiento entre los residuos 177 y 185 con el átomo C27 del inhibidor 21

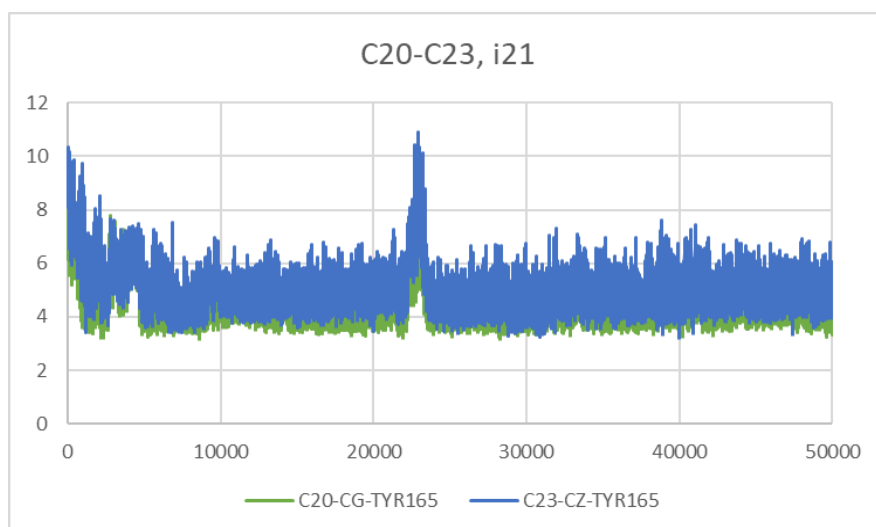


Figura 240 Desplazamiento entre la Tyr165 y los átomos del anillo C20-C23 del inhibidor 21

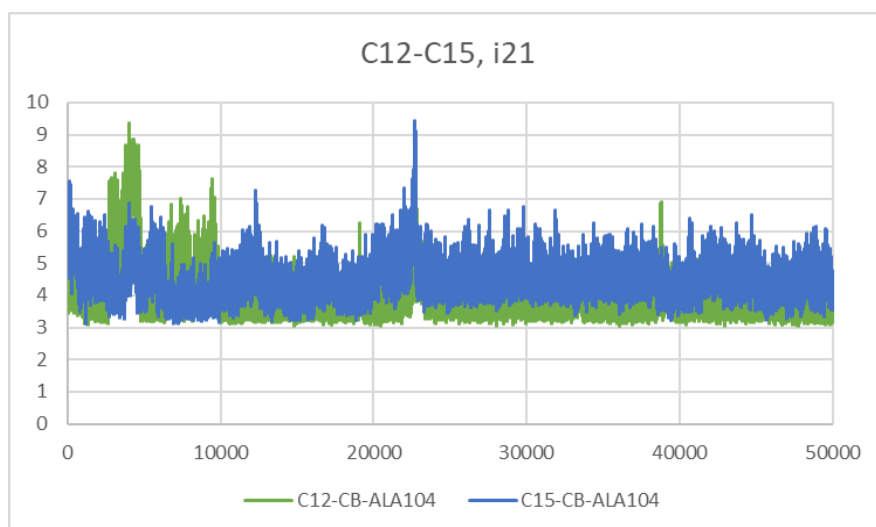


Figura 241 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 21

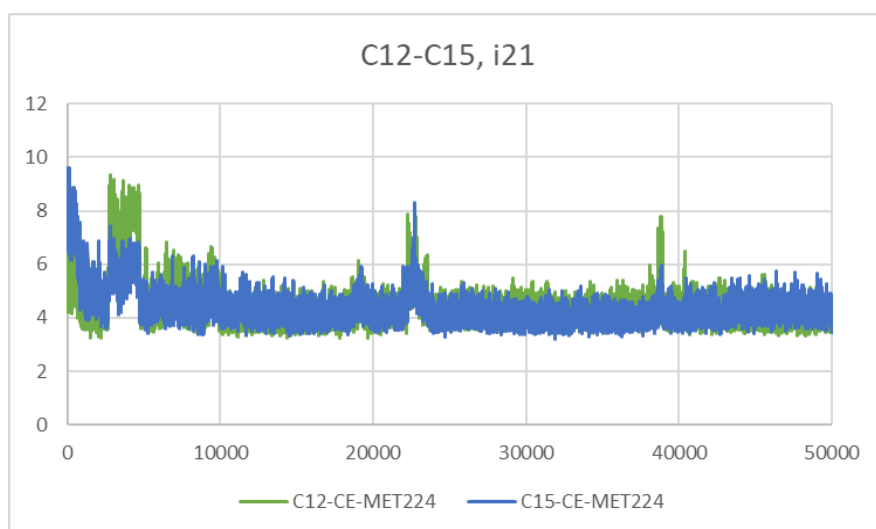


Figura 242 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 21

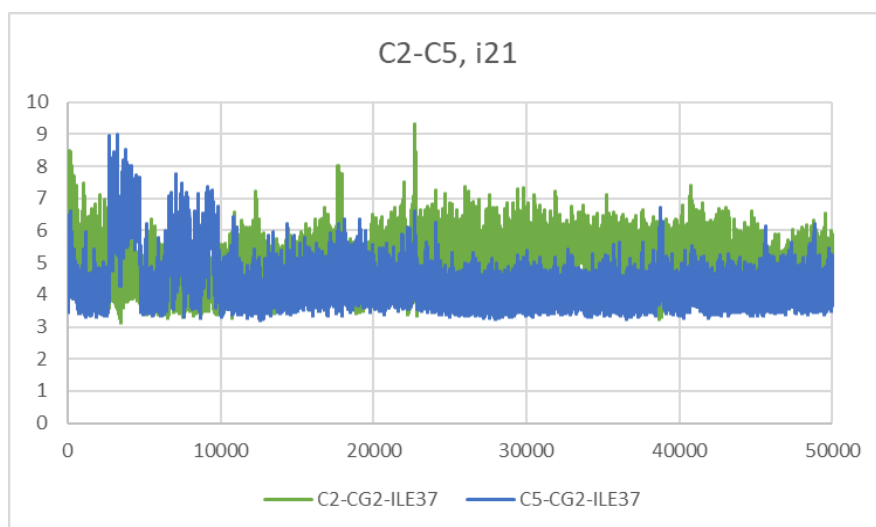


Figura 243 Desplazamiento entre la Ile37 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 21

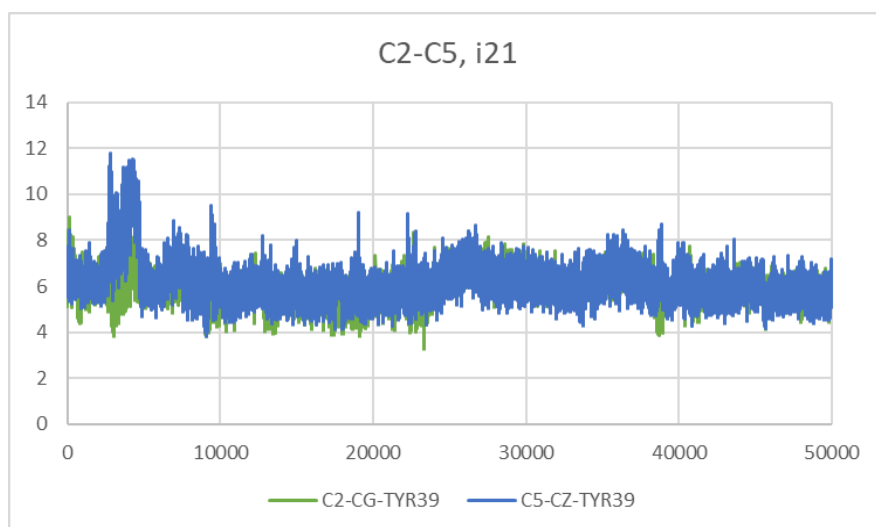


Figura 244 Desplazamiento entre la Tyr39 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 21

9.5.4. Inhibidor 27:

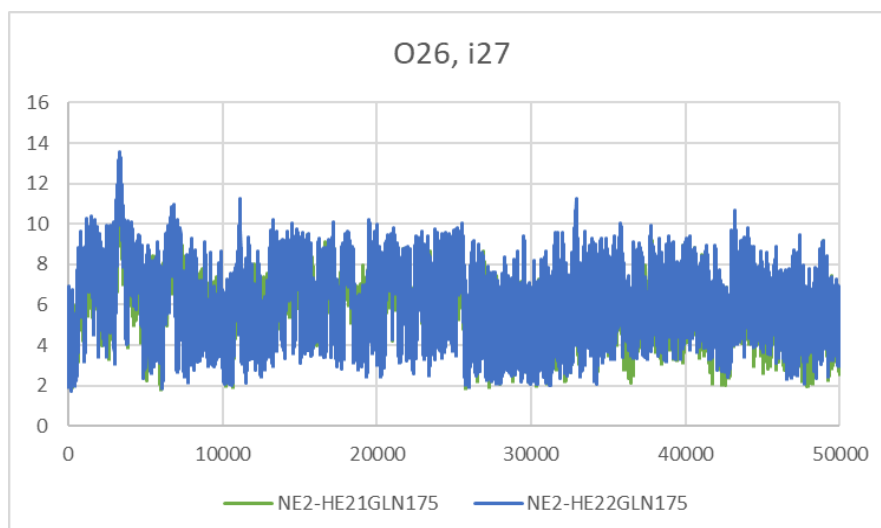


Figura 245 Desplazamiento entre la Gln175 y el átomo O26 del inhibidor 27

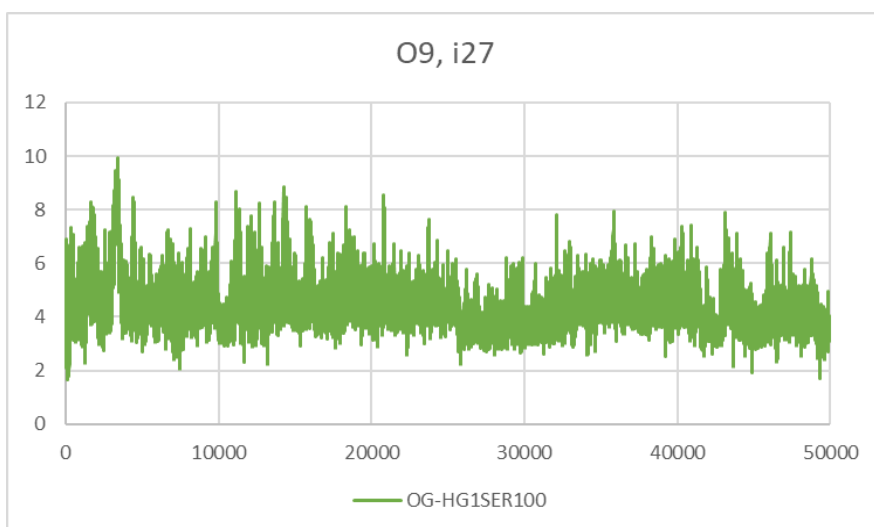


Figura 246 Desplazamiento entre la Ser100 y el átomo O9 del inhibidor 27

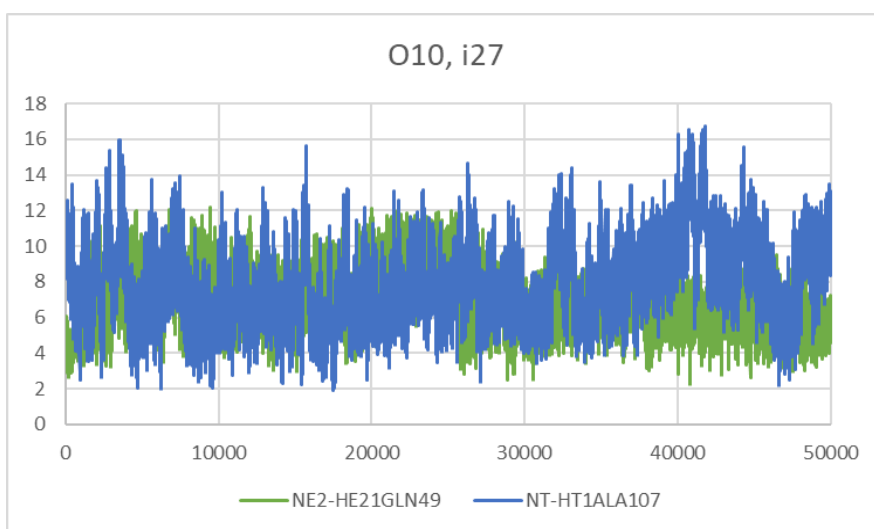


Figura 247 Desplazamiento entre los residuos 49 y 107 con el átomo O10 del inhibidor 27

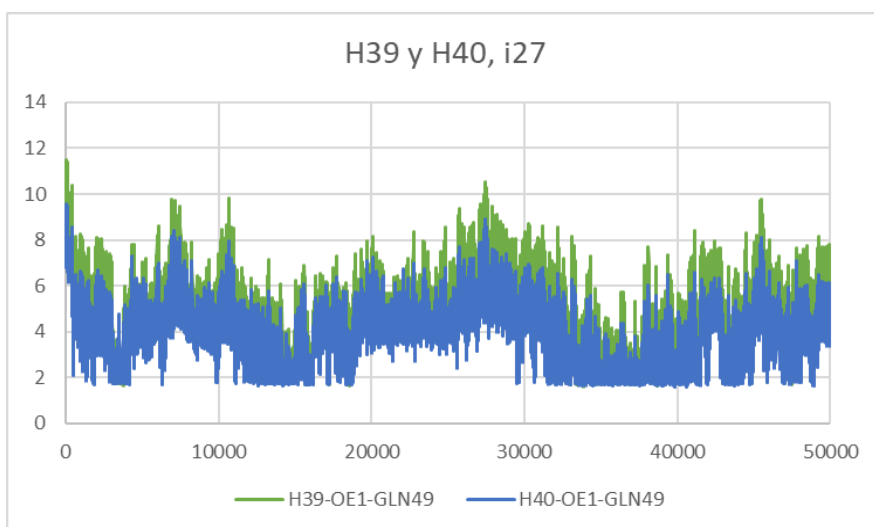


Figura 248 Desplazamiento entre la Gln49 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 27

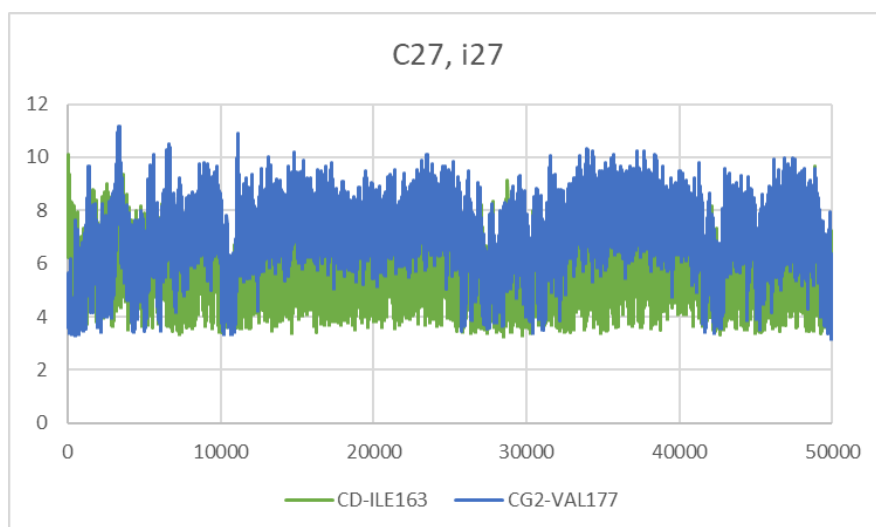


Figura 249 Desplazamiento entre los residuos 163 y 177 con el átomo C27 del inhibidor 27

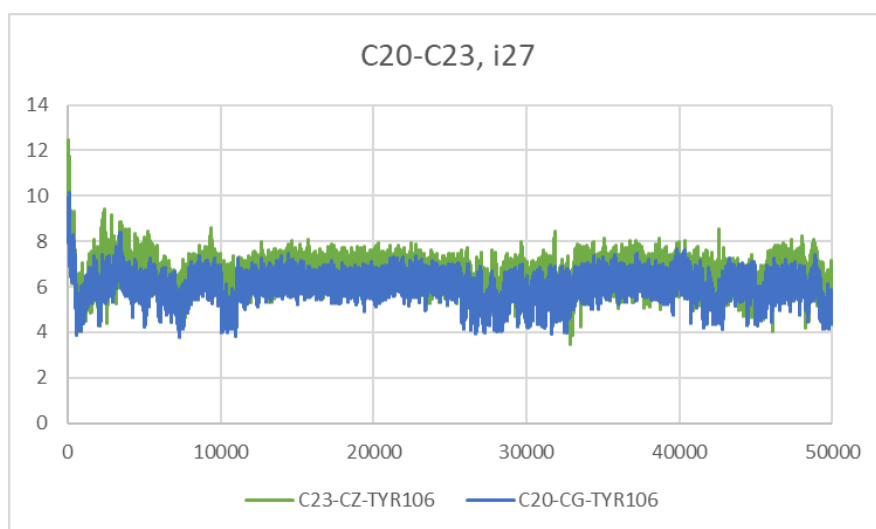


Figura 250 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos del anillo C20-C23 del inhibidor 27

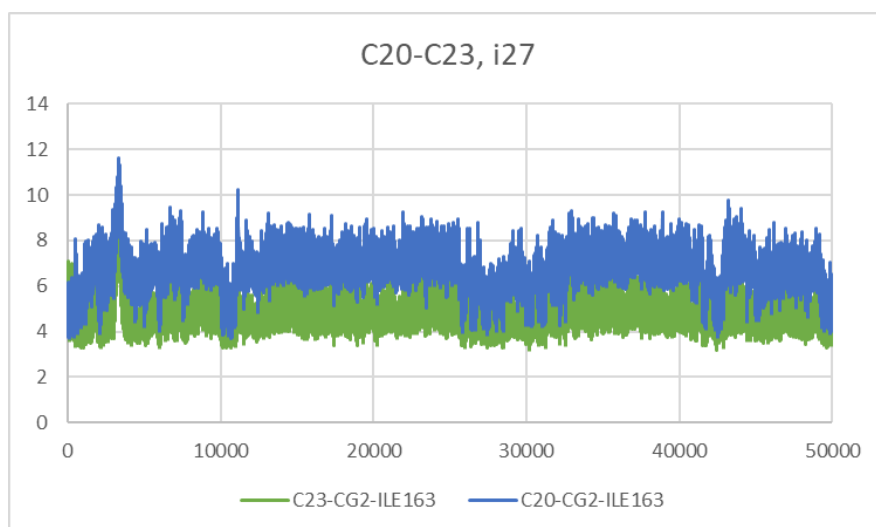


Figura 251 Desplazamiento entre la Ile163 y los átomos del anillo C20-C23 del inhibidor 27

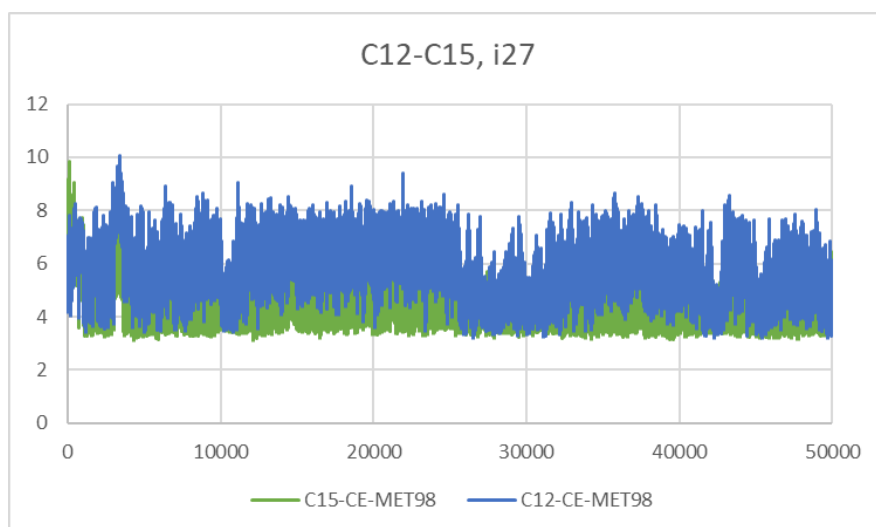


Figura 252 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 27

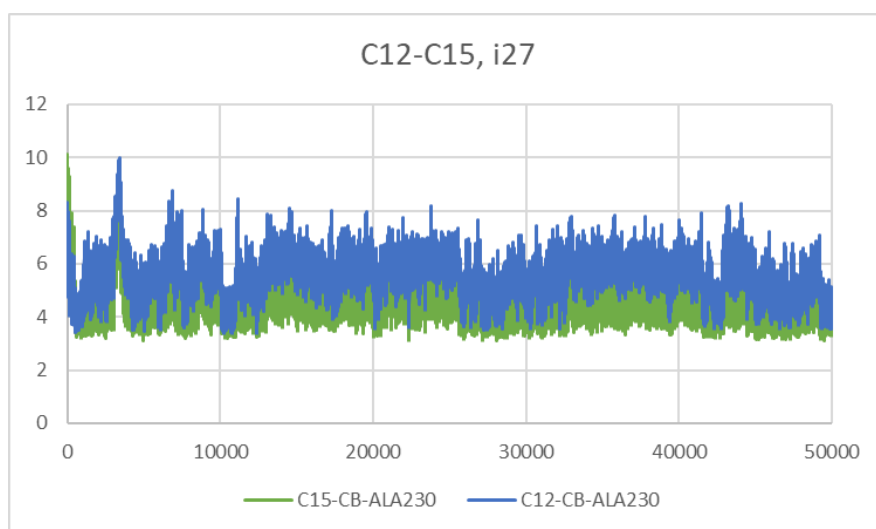


Figura 253 Desplazamiento entre la Ala230 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 27

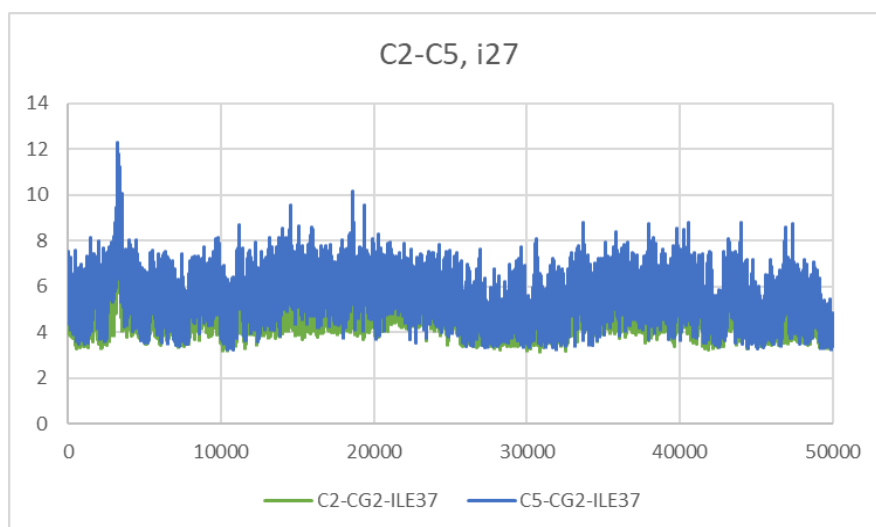


Figura 254 Desplazamiento entre la Ile37 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 27

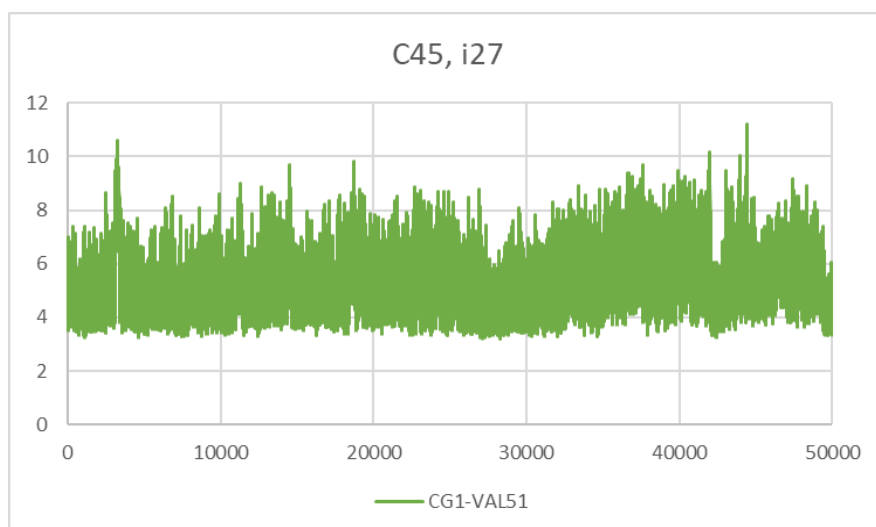


Figura 255 Desplazamiento entre la Val51 y el átomo C45 del inhibidor 27

9.5.5. Inhibidor 33:

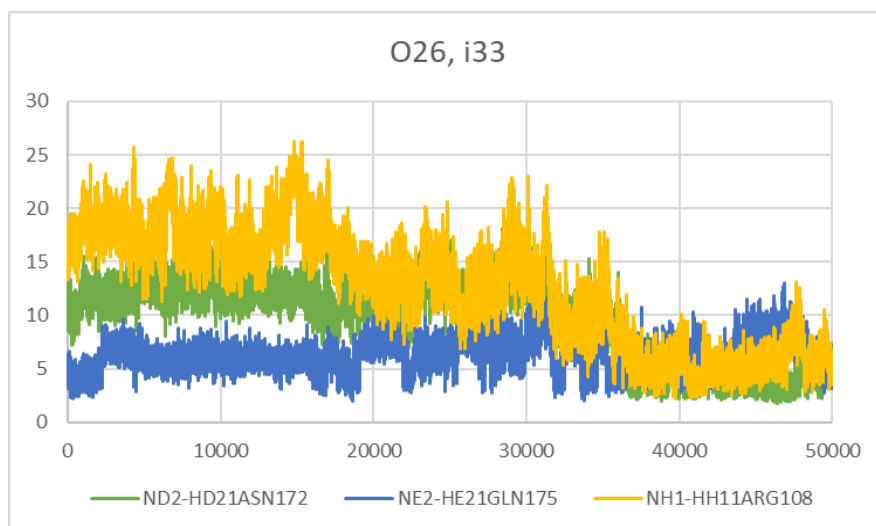


Figura 256 Desplazamiento entre los residuos 108, 172 y 175 con el átomo O26 del inhibidor 33

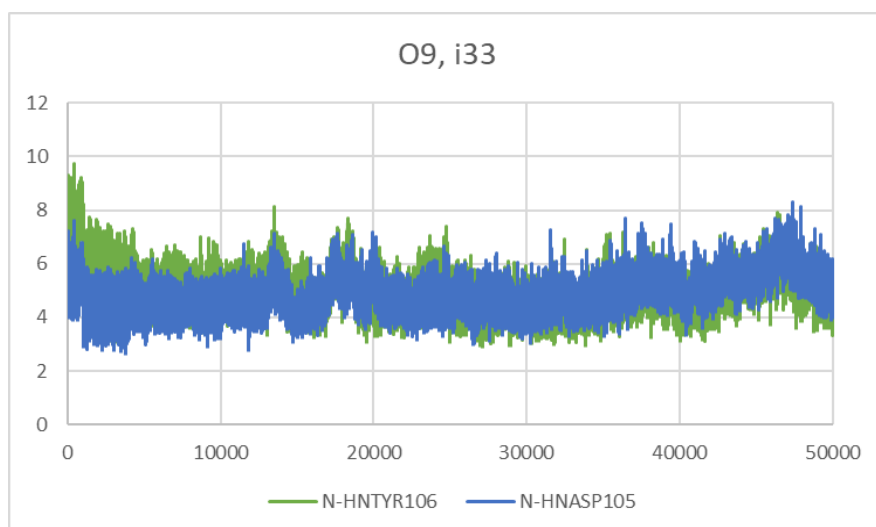


Figura 257 Desplazamiento entre los residuos 105 y 106 con el átomo O9 del inhibidor 33

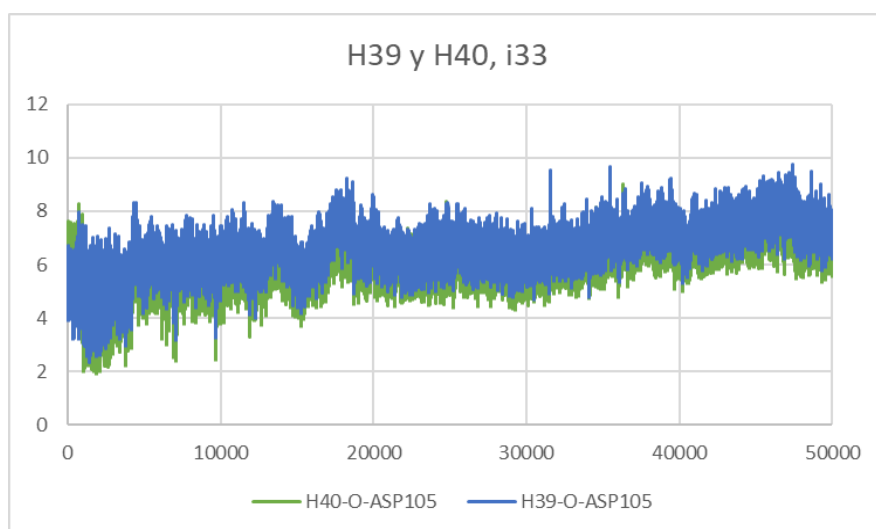


Figura 258 Desplazamiento entre el Asp105 y los átomos H39 y H40 del inhibidor 33

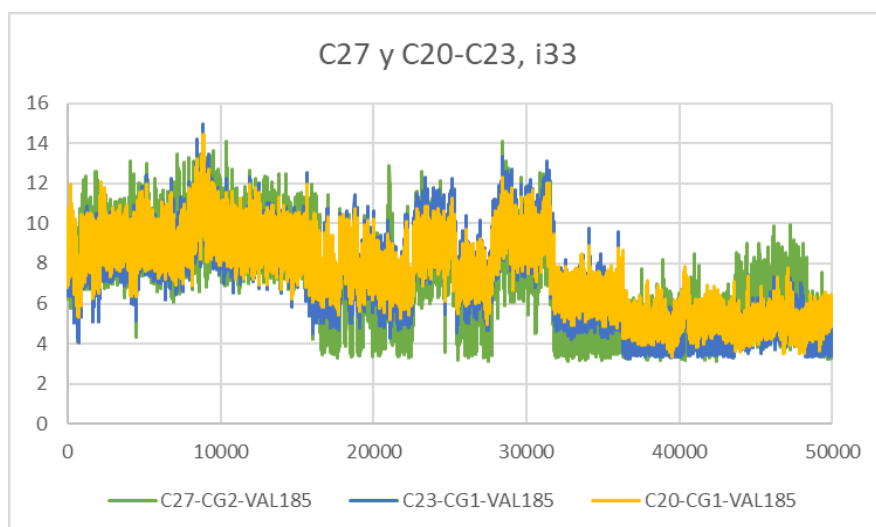


Figura 259 Desplazamiento entre la Val185 y el átomo C27 y los átomos del anillo C20-C23 del inhibidor 33

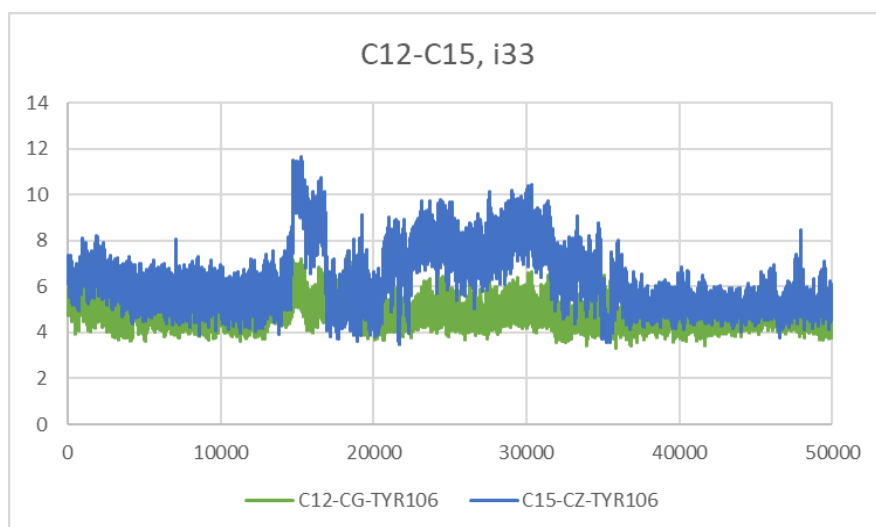


Figura 260 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 33

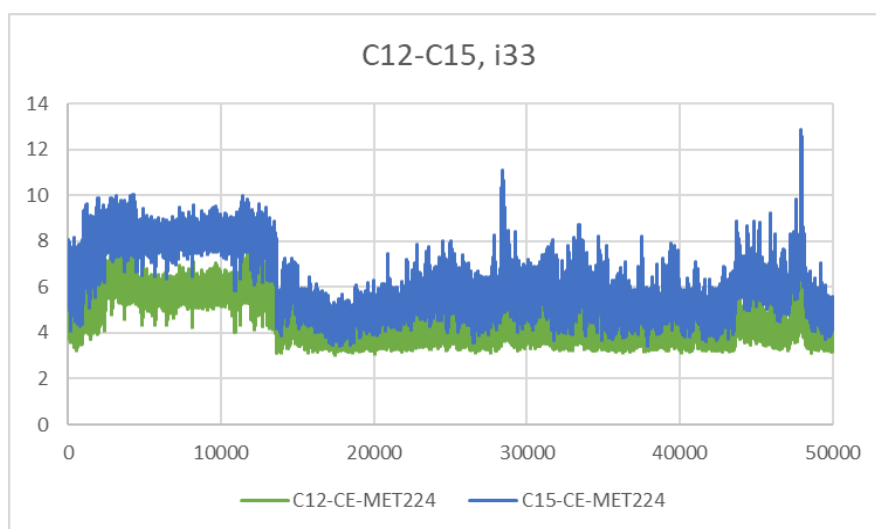


Figura 261 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos del anillo C12-C15 del inhibidor 33

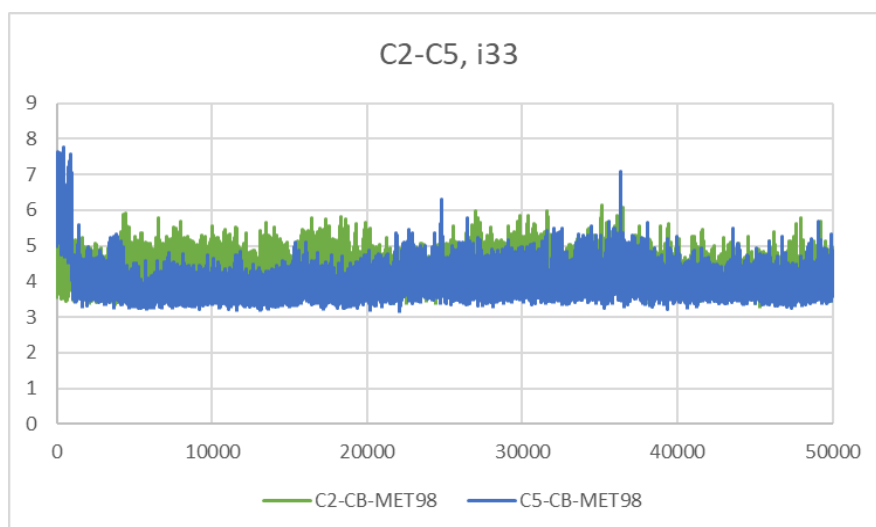


Figura 262 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 33

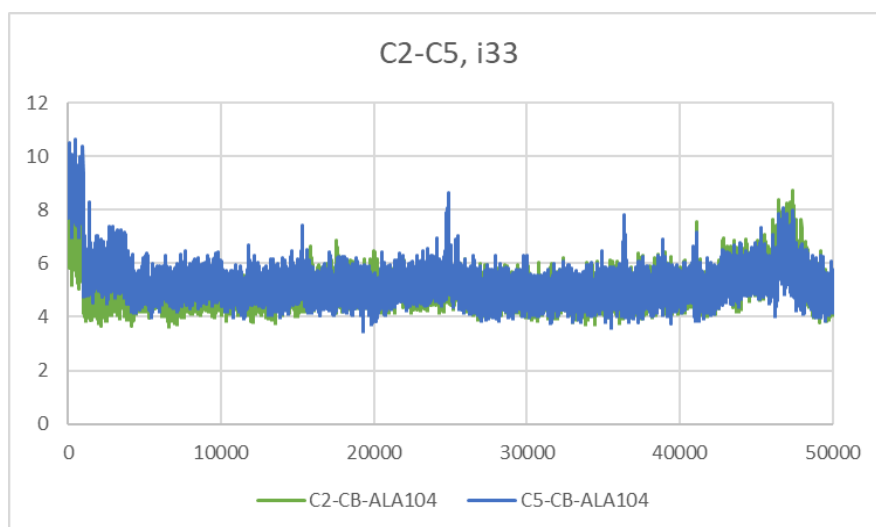


Figura 263 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 33

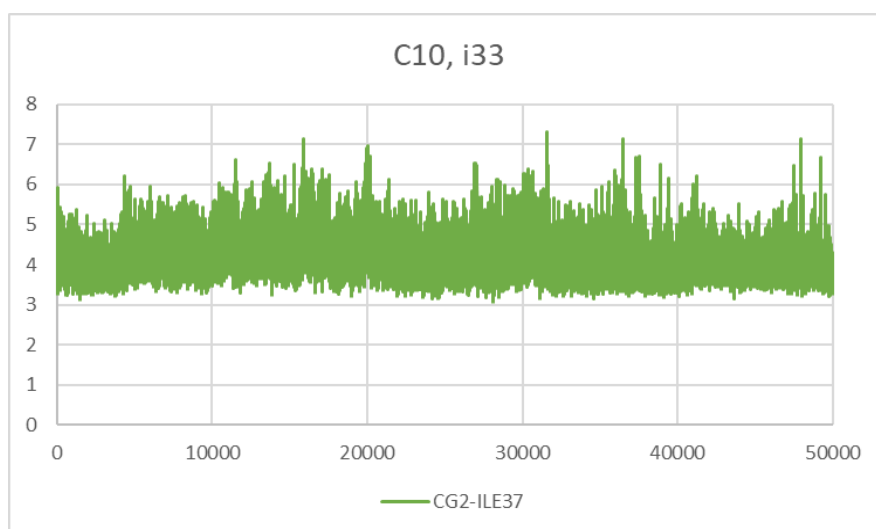


Figura 264 Desplazamiento entre la Ile37 y el átomo C10 del inhibidor 33

9.6. Grupo 10:

9.6.1. Inhibidor 10:

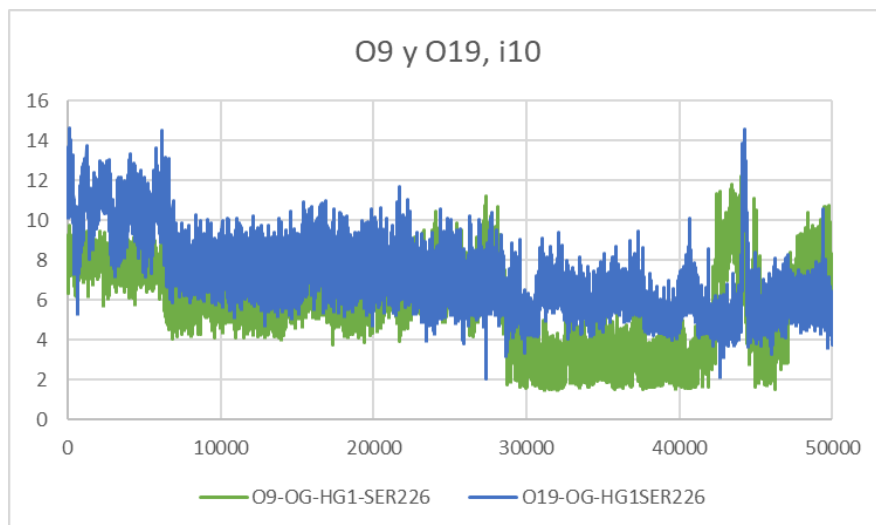


Figura 265 Desplazamiento entre la Ser226 y los átomos O9 y O19 del inhibidor 10

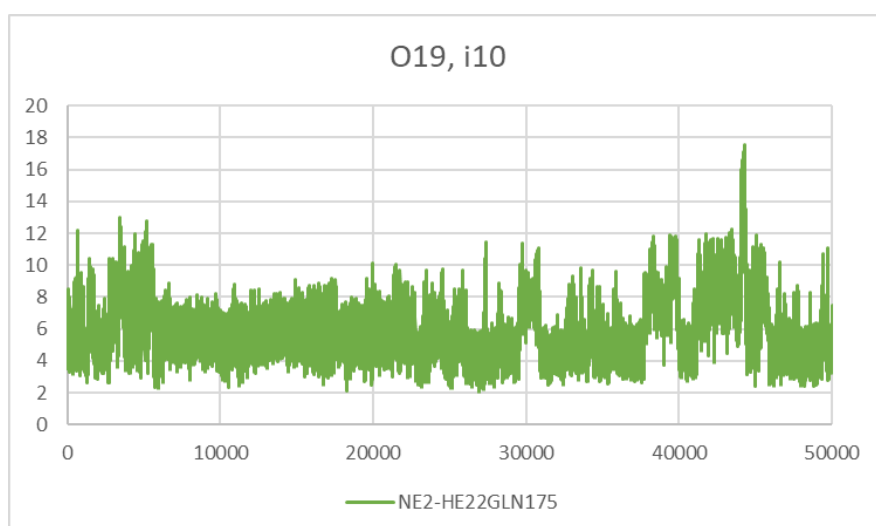


Figura 266 Desplazamiento entre la Gln175 y el átomo O19 del inhibidor 10

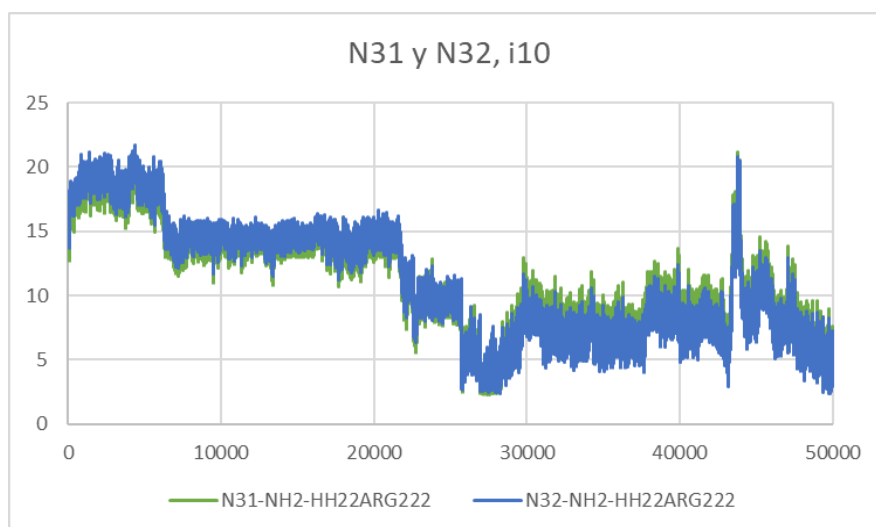


Figura 267 Desplazamiento entre la Arg222 y los átomos del anillo de triazol N31 y N32 del inhibidor 10

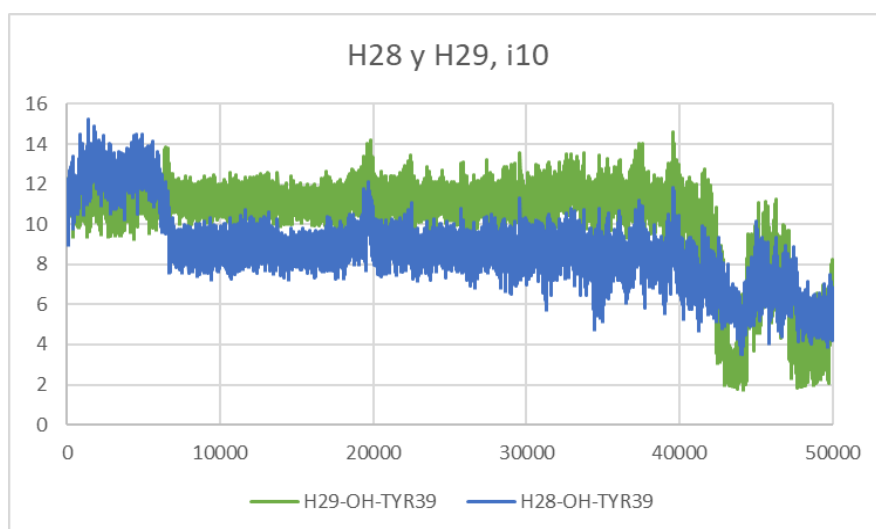


Figura 268 Desplazamiento entre la Tyr39 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 10

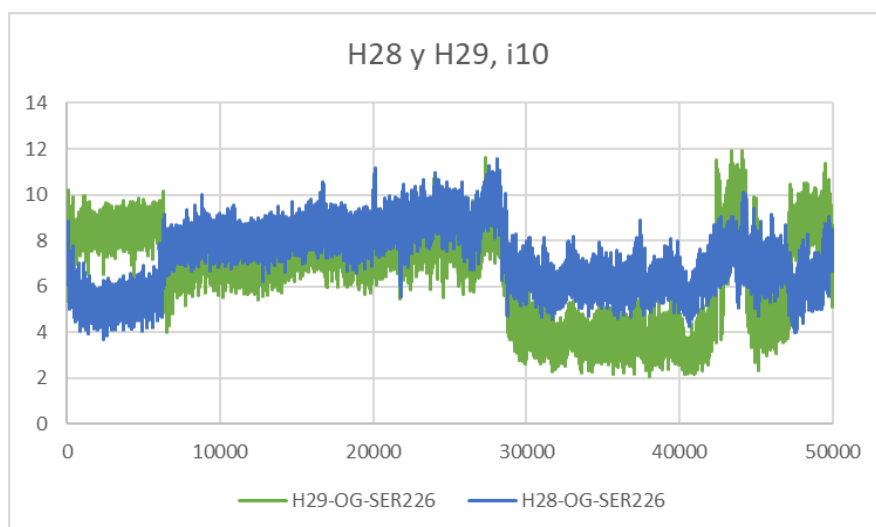


Figura 269 Desplazamiento entre la Ser226 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 10

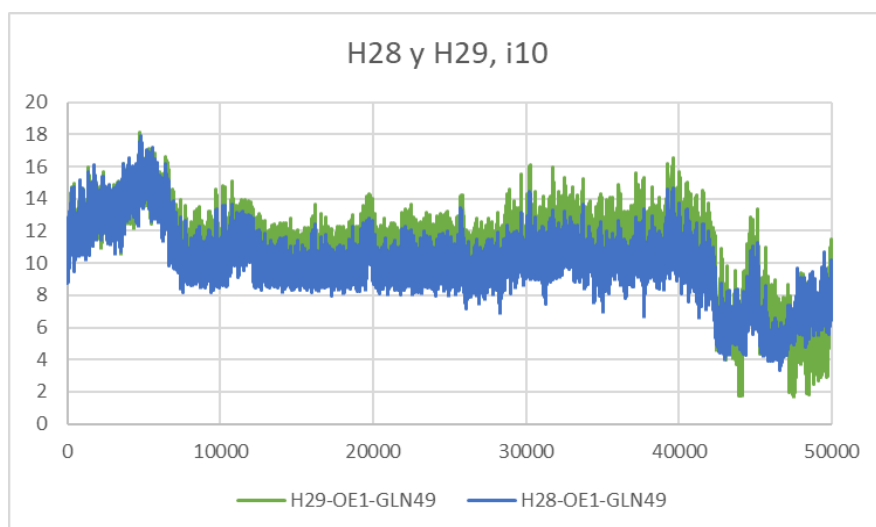


Figura 270 Desplazamiento entre la Gln49 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 10

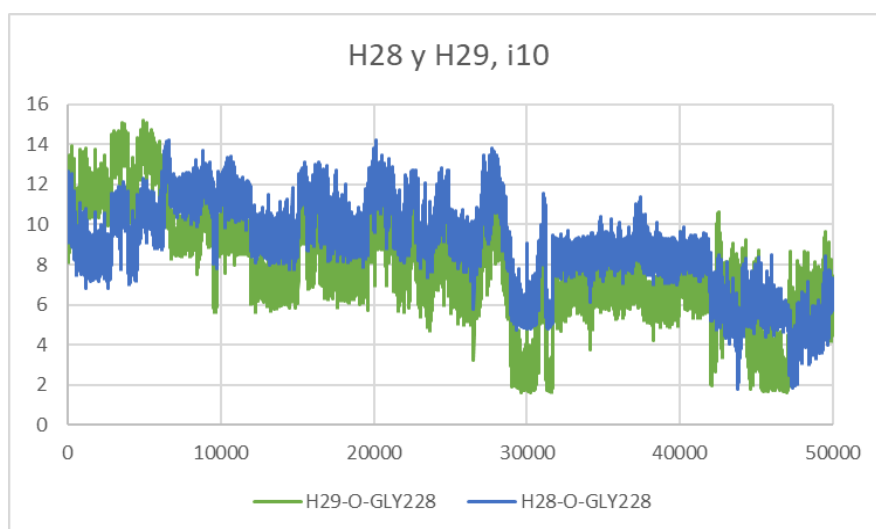


Figura 271 Desplazamiento entre la Gly228 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 10

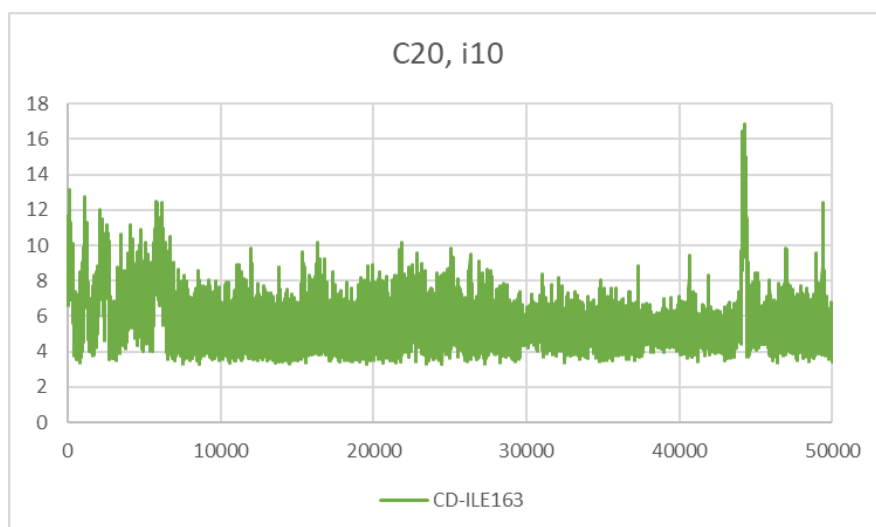


Figura 272 Desplazamiento entre la Ile163 y el átomo C20 del inhibidor 10

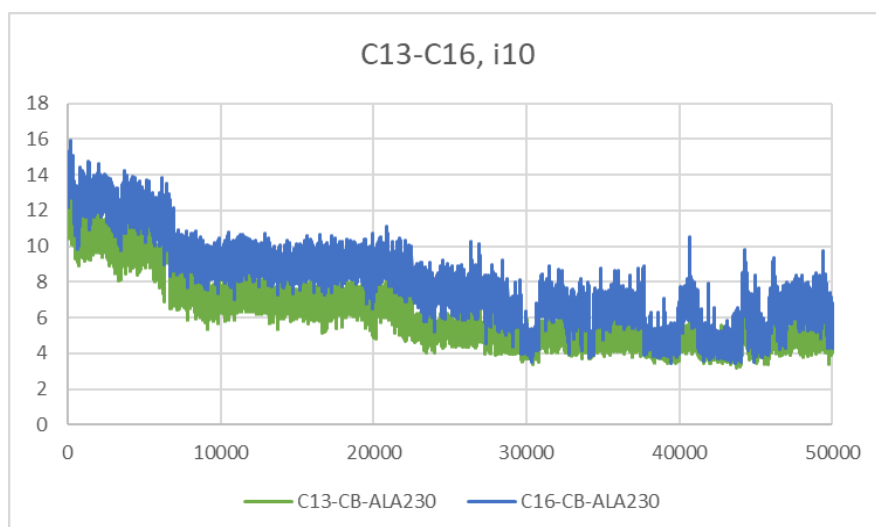


Figura 273 Desplazamiento entre la Ala230 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 10

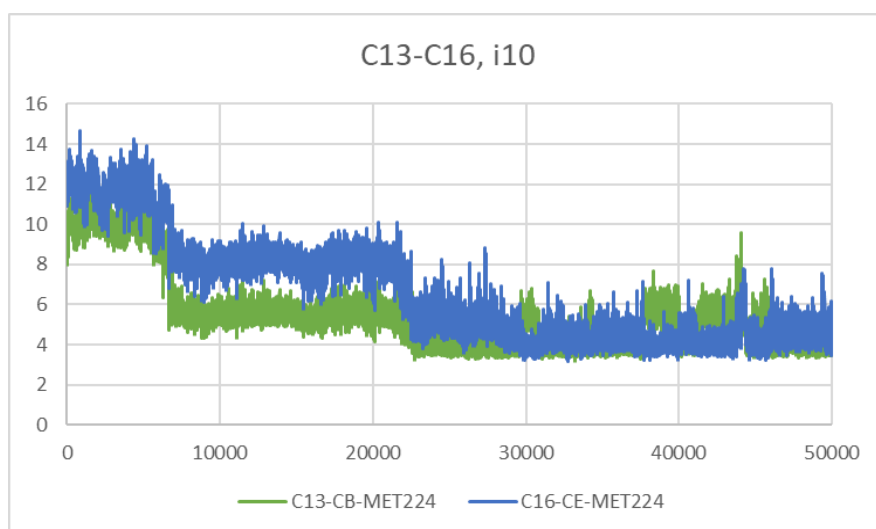


Figura 274 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 10

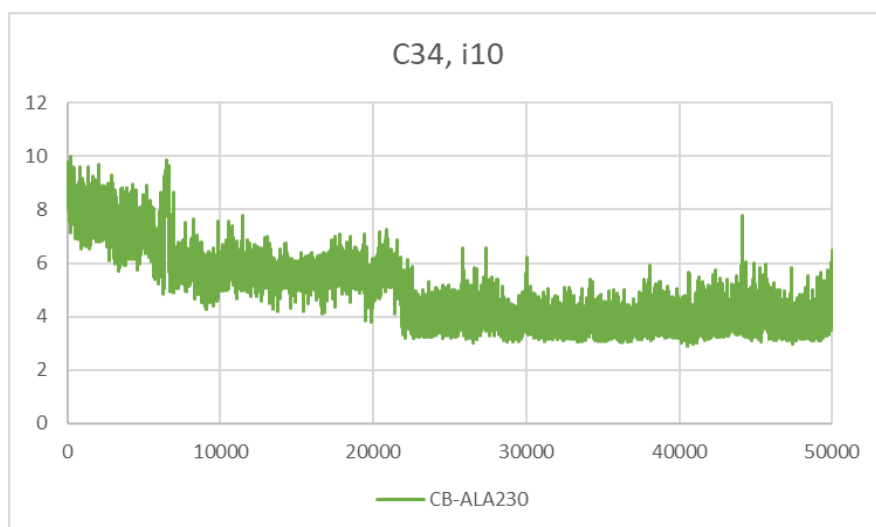


Figura 275 Desplazamiento entre la Ala230 y el átomo C34 del anillo de triazol del inhibidor 10

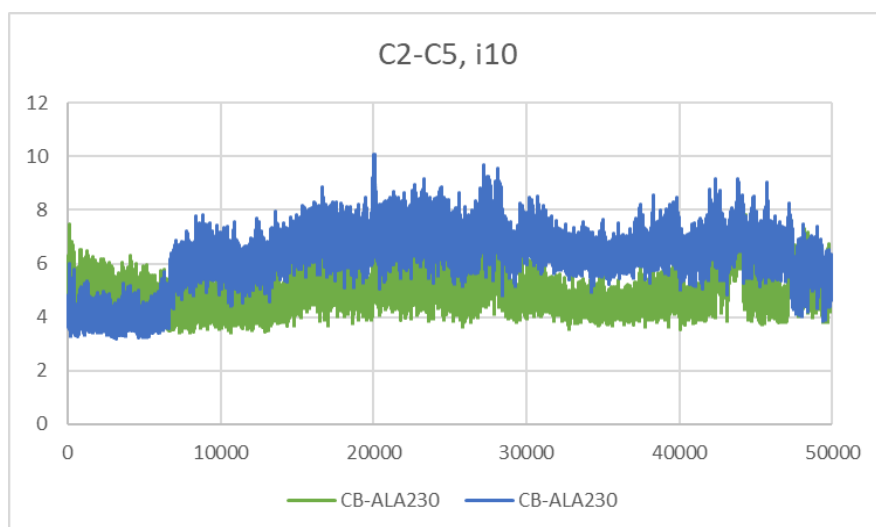


Figura 276 Desplazamiento entre la Ala230 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 10

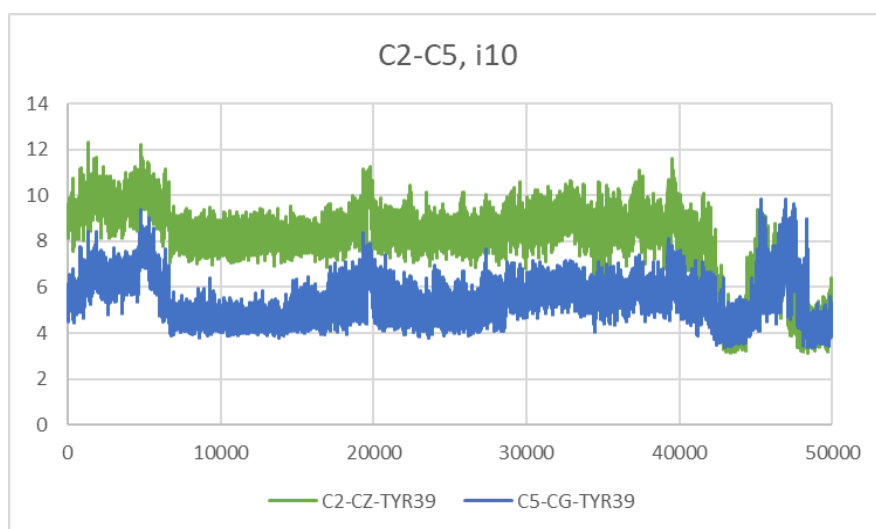


Figura 277 Desplazamiento entre la Tyr39 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 10

9.6.2. Inhibidor 16:

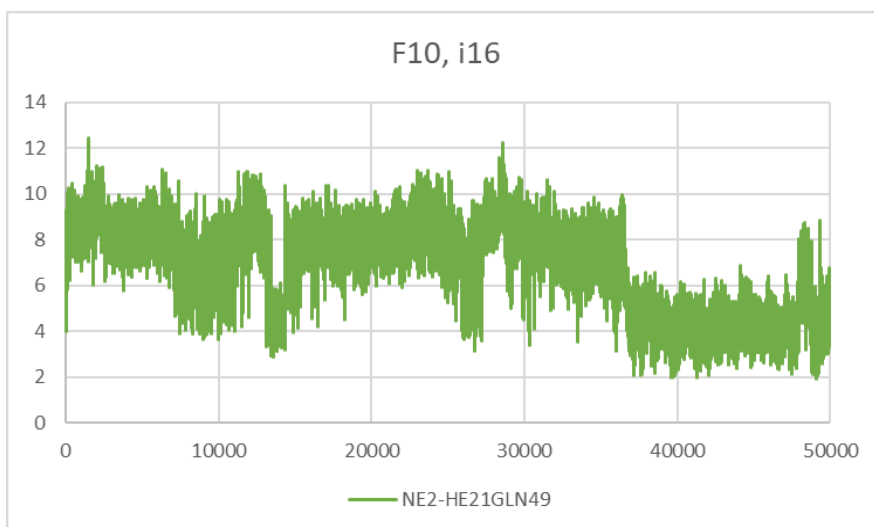


Figura 278 Desplazamiento entre la Gln49 y el átomo F10 del inhibidor 16

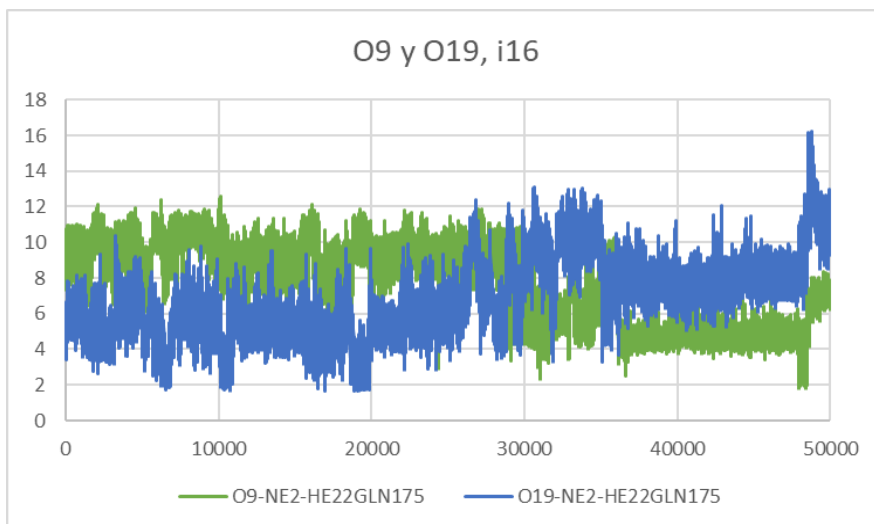


Figura 279 Desplazamiento entre la Gln175 y los átomos O9 y O19 del inhibidor 16

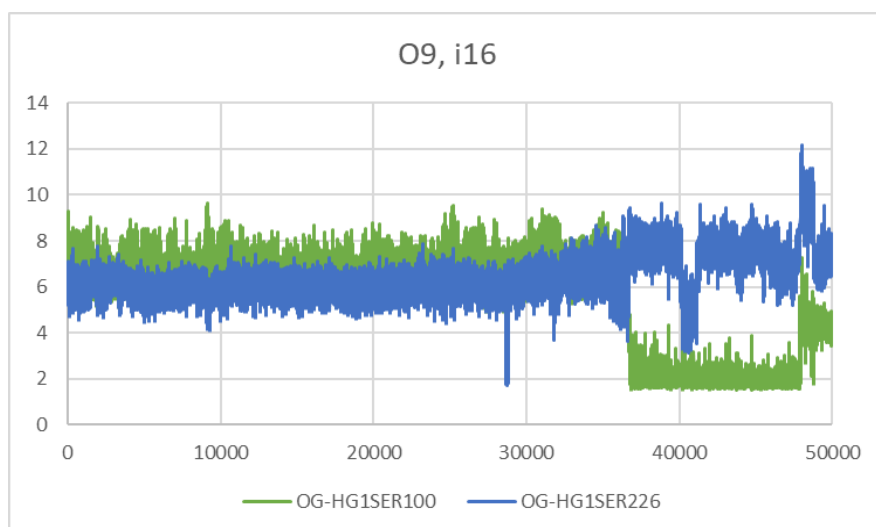


Figura 280 Desplazamiento entre los residuos 100 y 226 con el átomo O9 del inhibidor 16

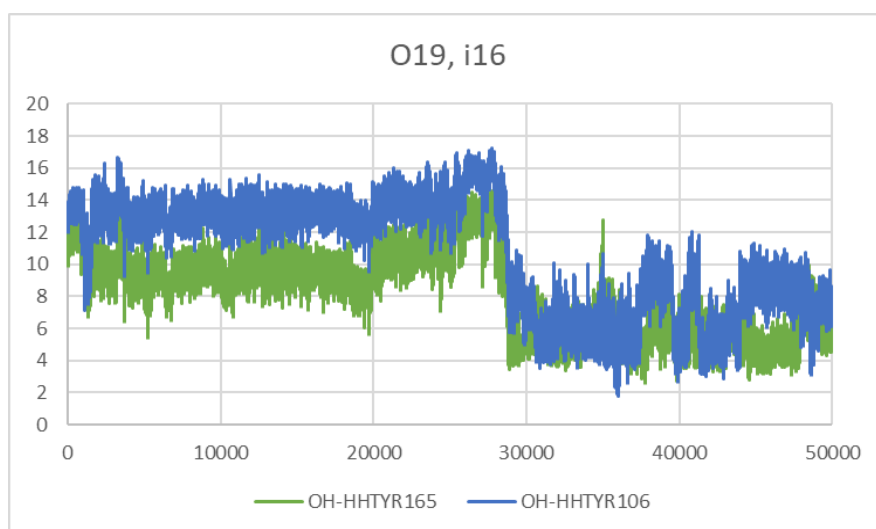


Figura 281 Desplazamiento entre los residuos 106 y 165 con el átomo O19 del inhibidor 16

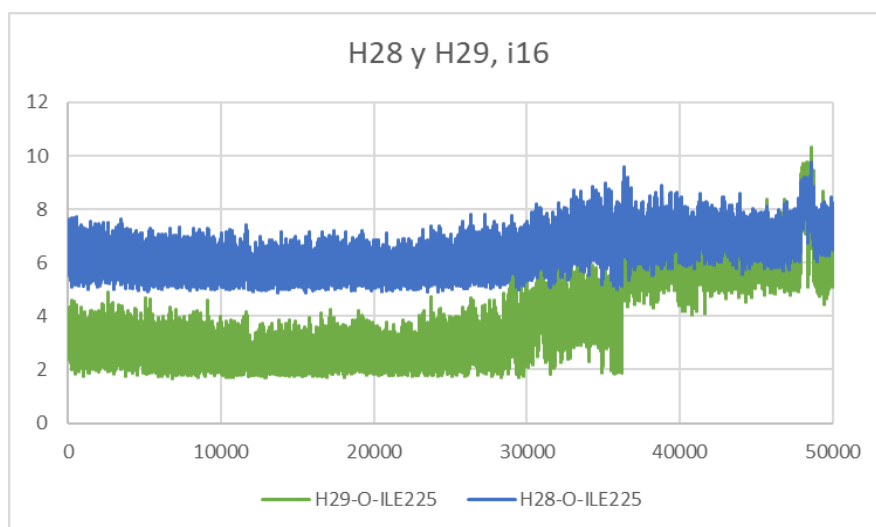


Figura 282 Desplazamiento entre la Ile225 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 16

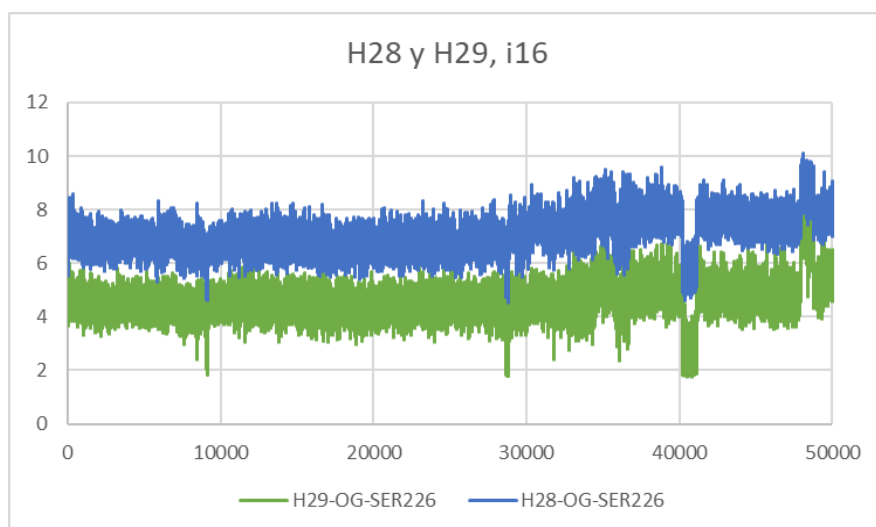


Figura 283 Desplazamiento entre la Ser226 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 16

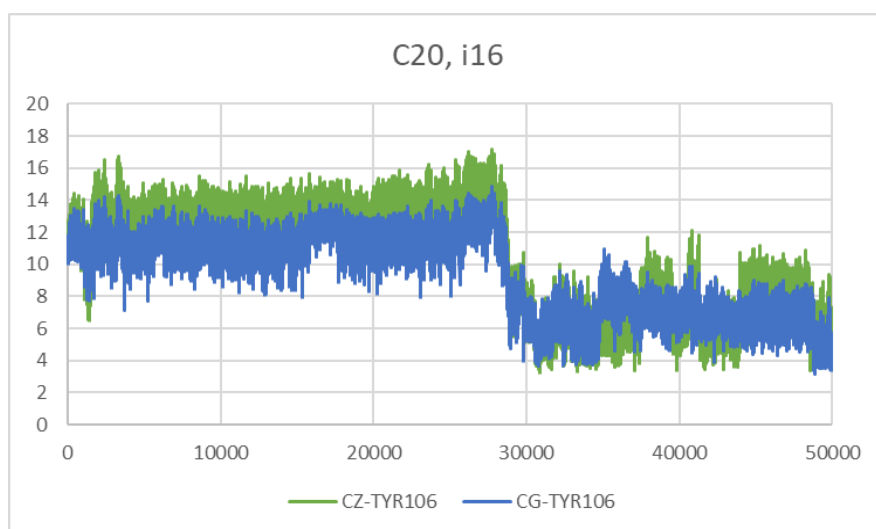


Figura 284 Desplazamiento entre la Tyr106 y el átomo C20 del inhibidor 16

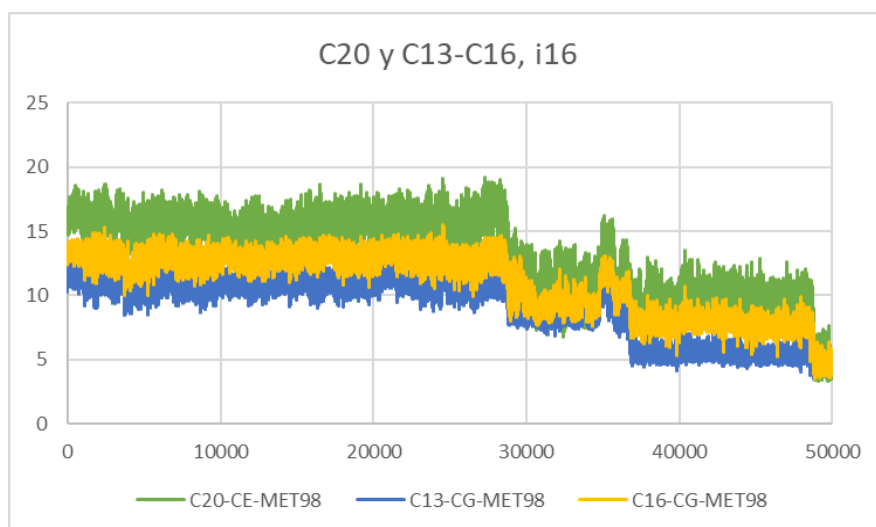


Figura 285 Desplazamiento entre la Met98 y el átomo 20 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 16

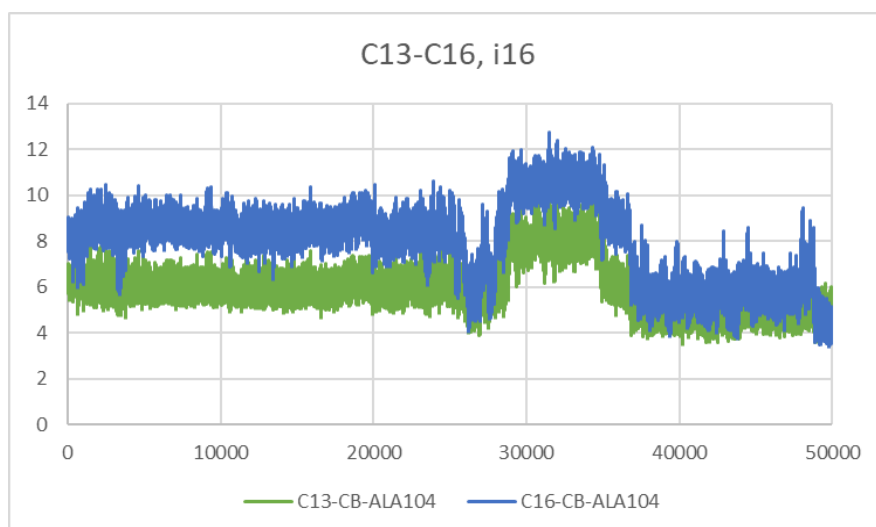


Figura 286 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 16

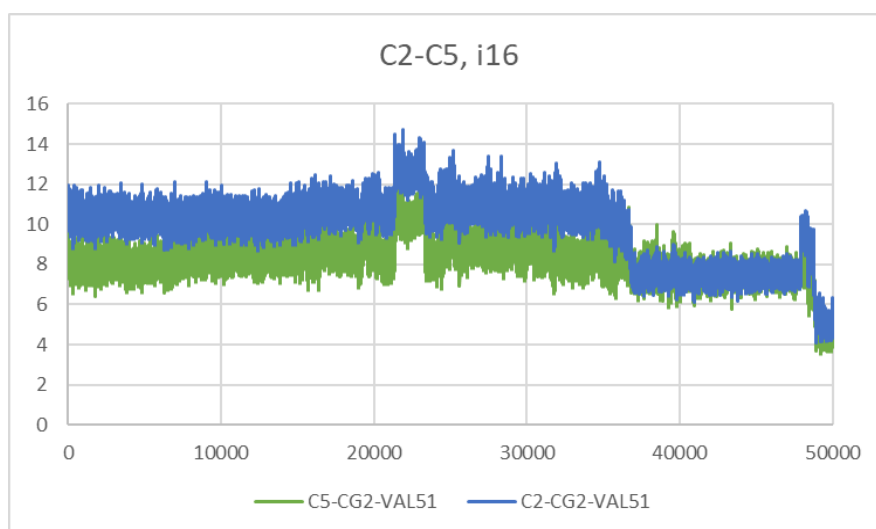


Figura 287 Desplazamiento entre la Val51 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 16

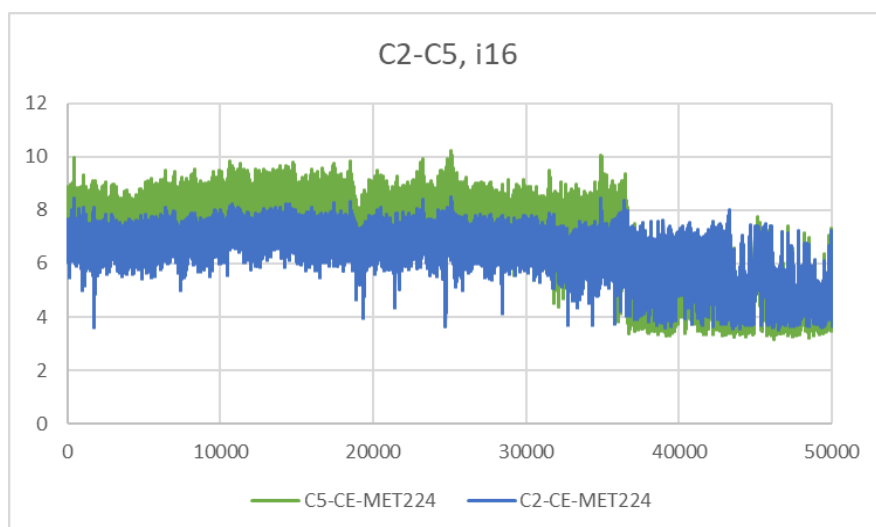


Figura 288 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 16

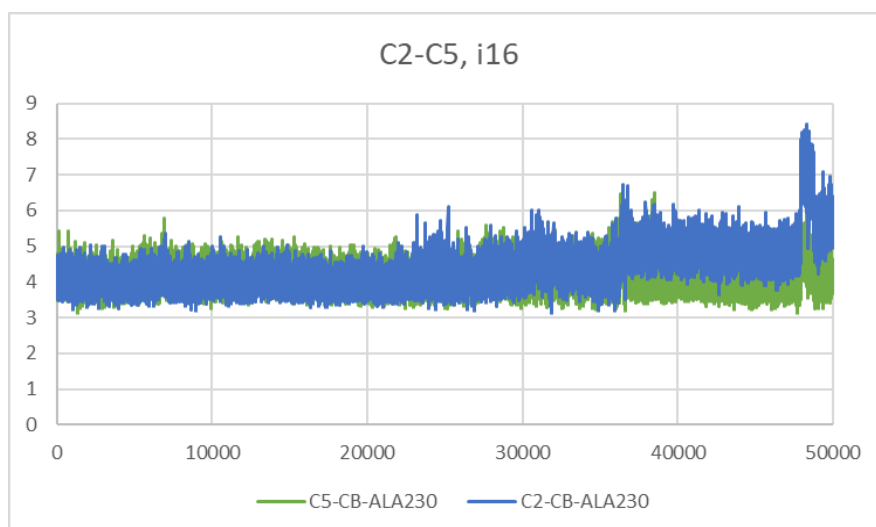


Figura 289 Desplazamiento entre la Ala230 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 16

9.6.3. Inhibidor 22:

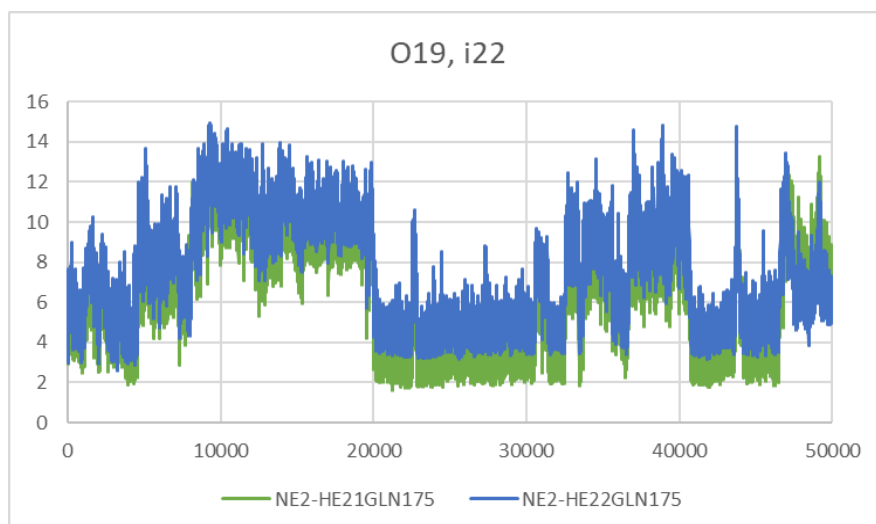


Figura 290 Desplazamiento entre la Gln175 y el átomo O19 del inhibidor 22

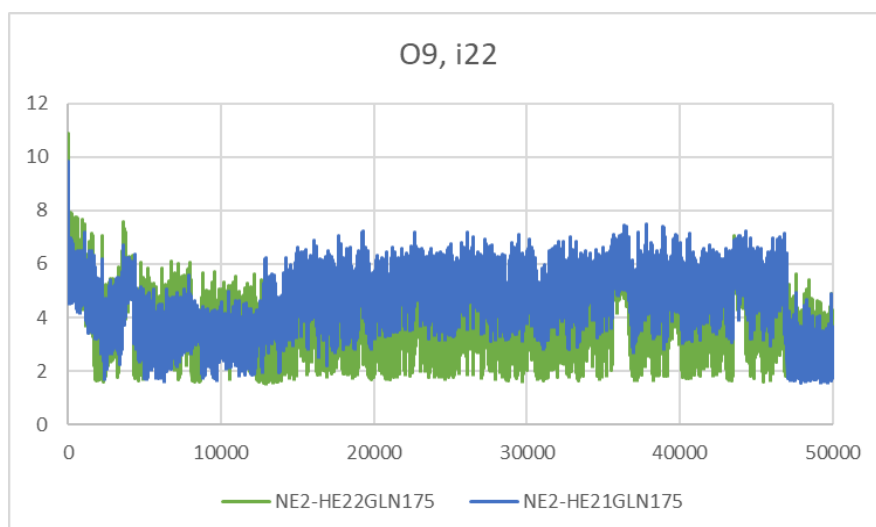


Figura 291 Desplazamiento entre la Gln175 y el átomo O9 del inhibidor 22

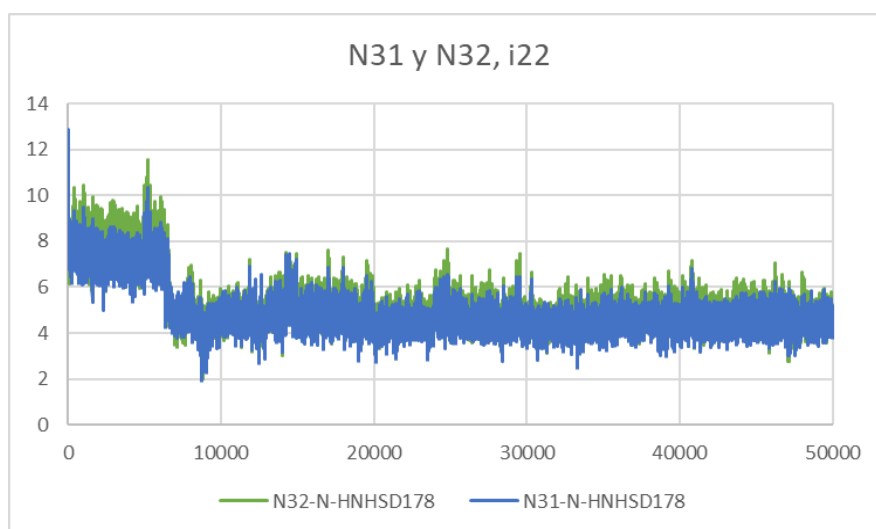


Figura 292 Desplazamiento entre la Hsd178 y los átomos N31 y N32 del inhibidor 22

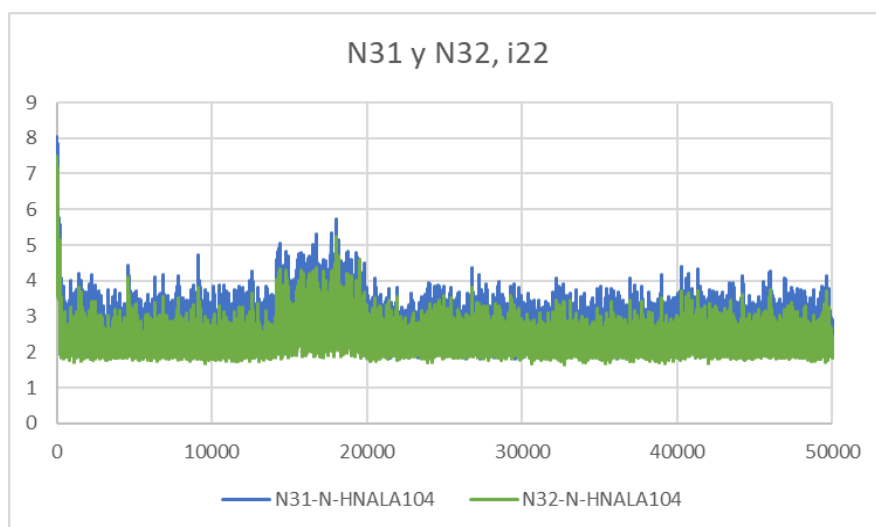


Figura 293 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos N31 y N32 del inhibidor 22

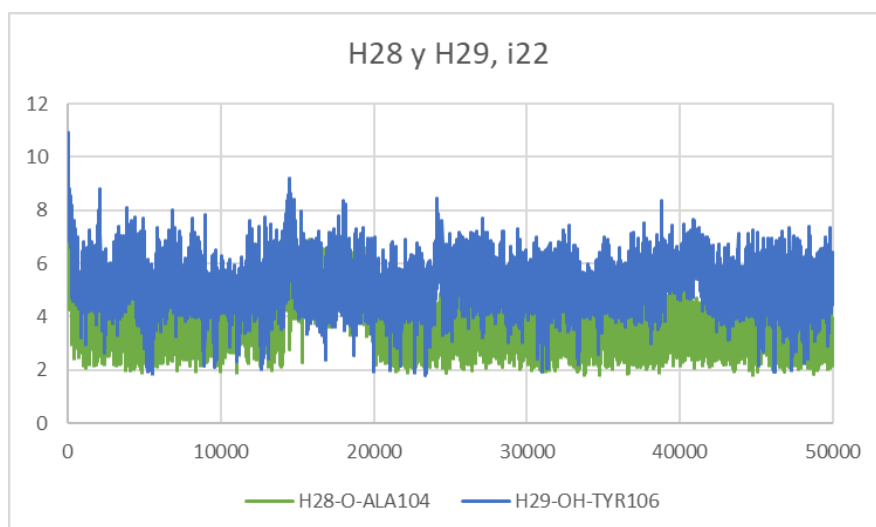


Figura 294 Desplazamiento entre los residuos 104 y 106 con los átomos H28 y H29 del inhibidor 22

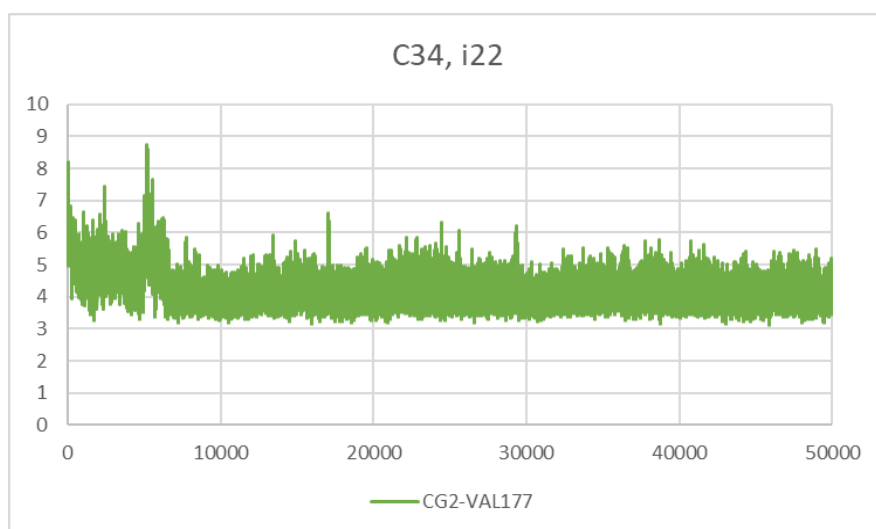


Figura 295 Desplazamiento entre la Val177 y el átomo C34 del inhibidor 22

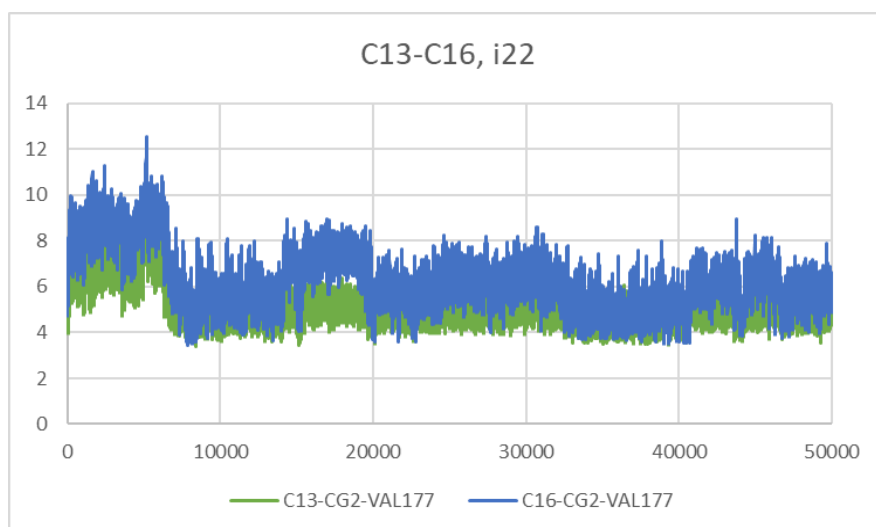


Figura 296 Desplazamiento entre la Val177 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 22

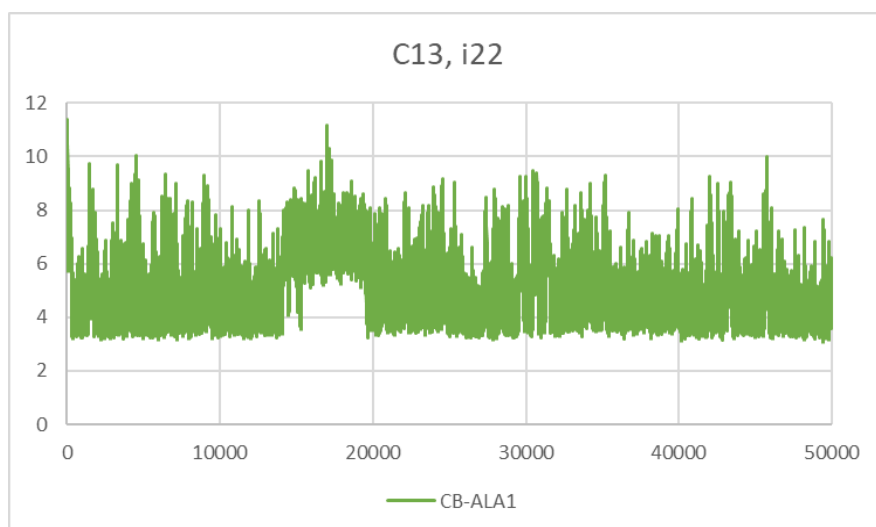


Figura 297 Desplazamiento entre la Ala1 y el átomo C13 del anillo C13-C16 del inhibidor 22

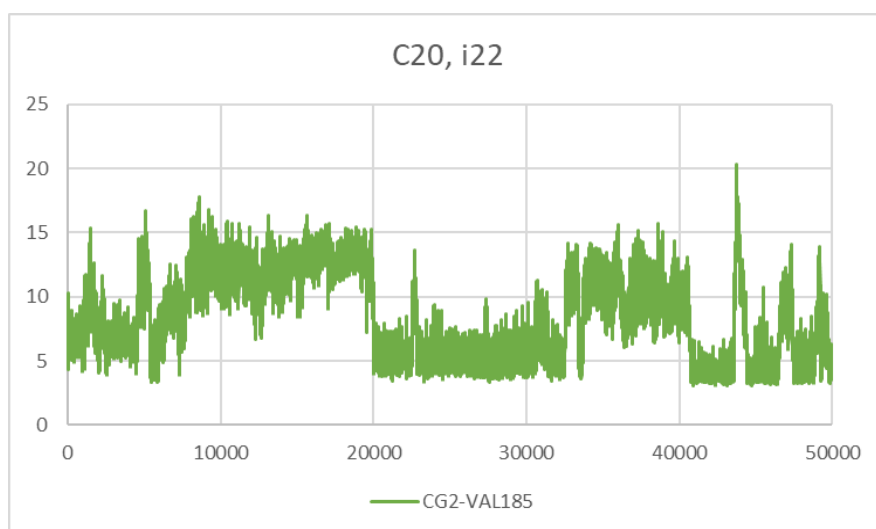


Figura 298 Desplazamiento entre la Val185 y el átomo C20 del extremo del inhibidor 22

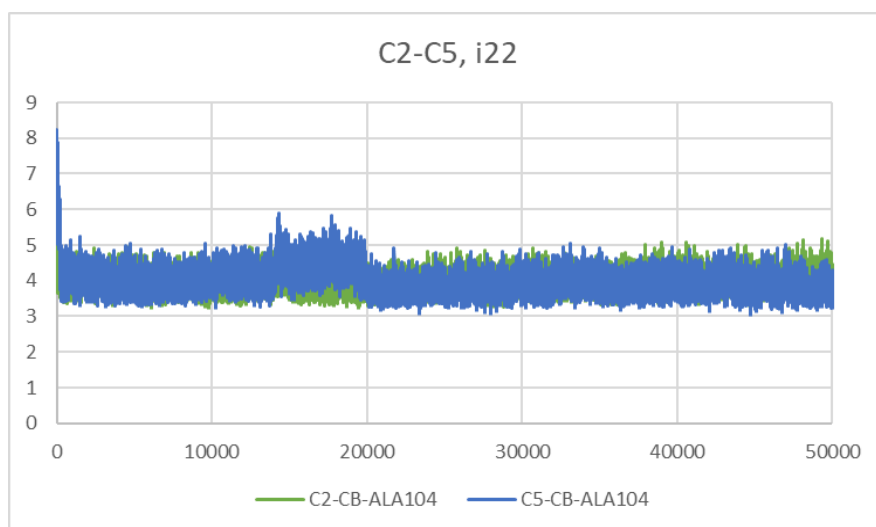


Figura 299 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 22

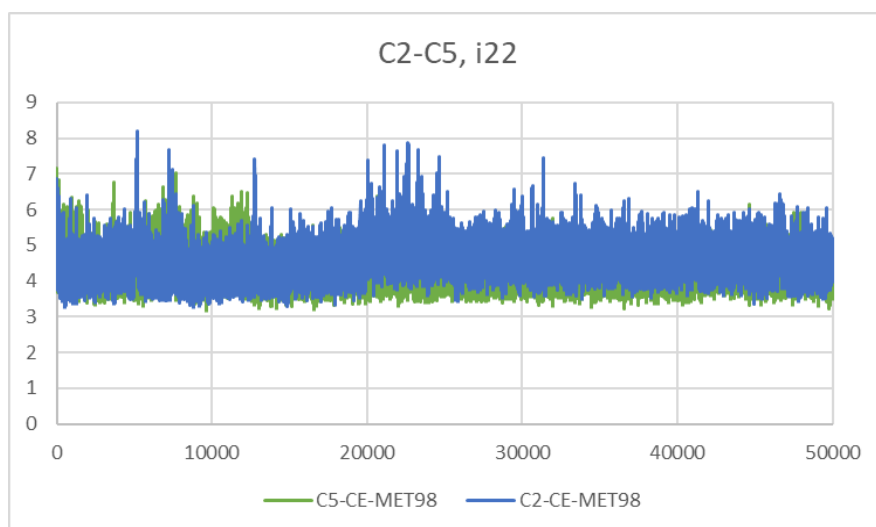


Figura 300 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 22

9.6.4. Inhibidor 28:

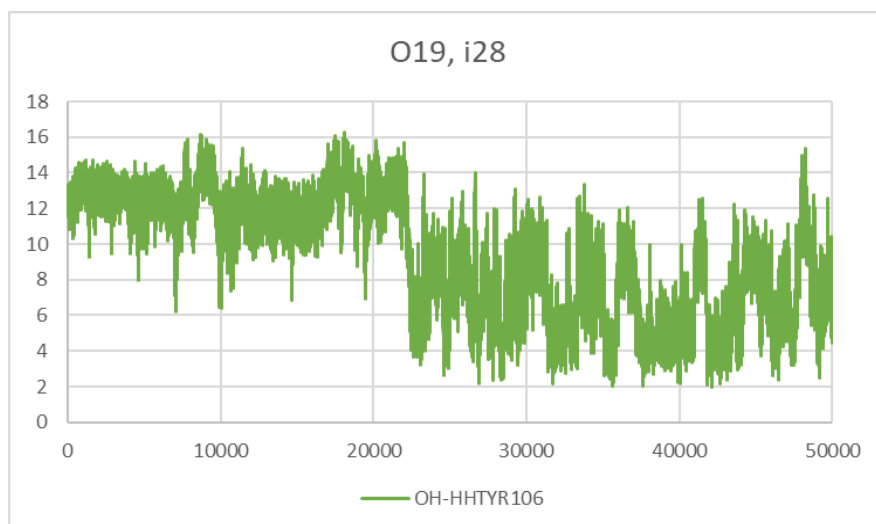


Figura 301 Desplazamiento entre la Tyr106 y el átomo O19 del inhibidor 28

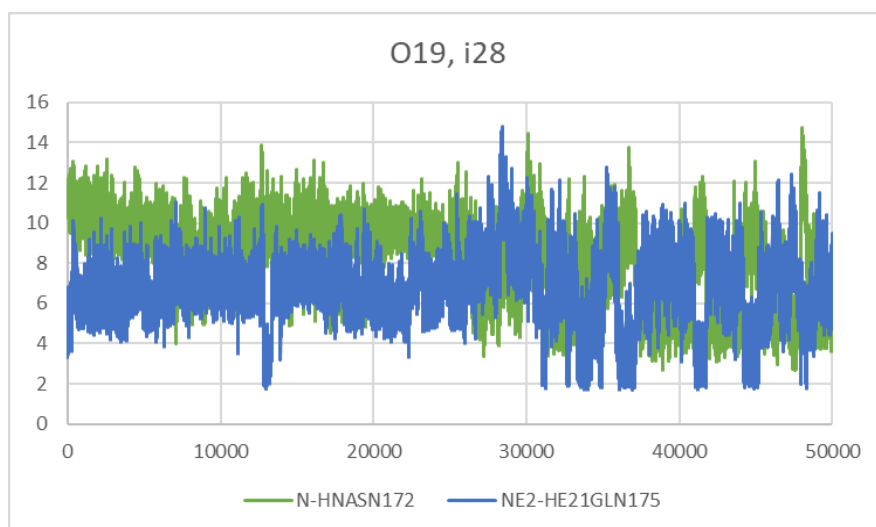


Figura 302 Desplazamiento entre los residuos 172 y 175 con el átomo O19 del inhibidor 28

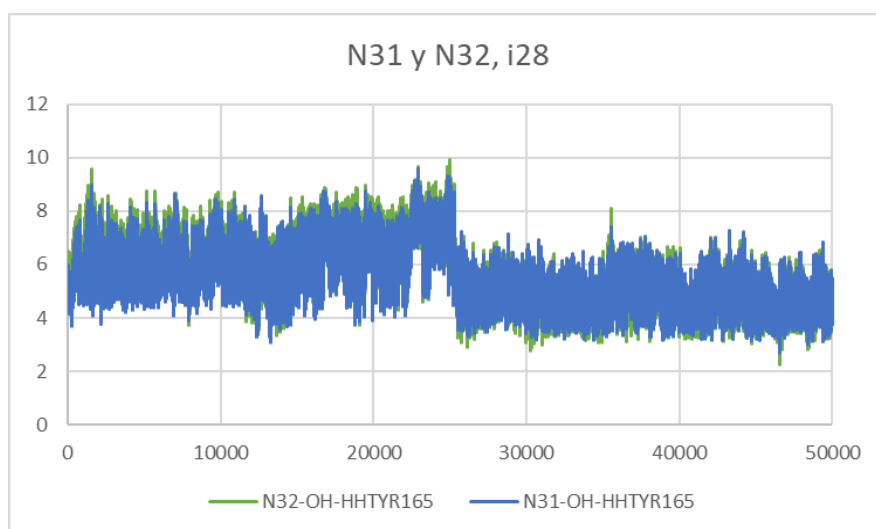


Figura 303 Desplazamiento entre la Tyr165 y los átomos N31 y N32 del anillo de triazol del inhibidor 28

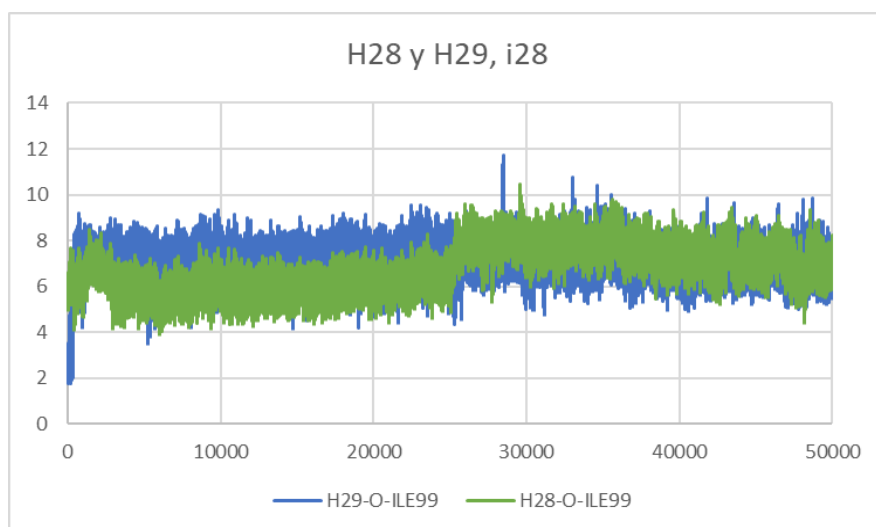


Figura 304 Desplazamiento entre la Ile99 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 28

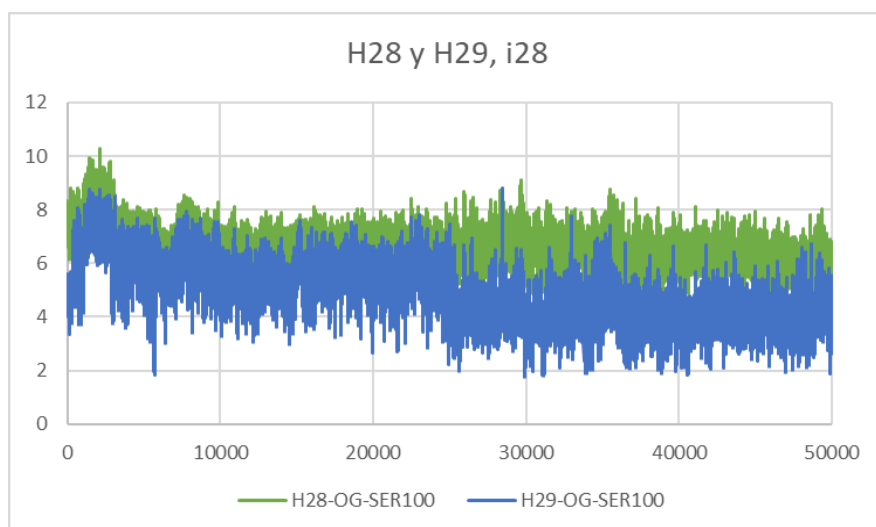


Figura 305 Desplazamiento entre la Ser100 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 28

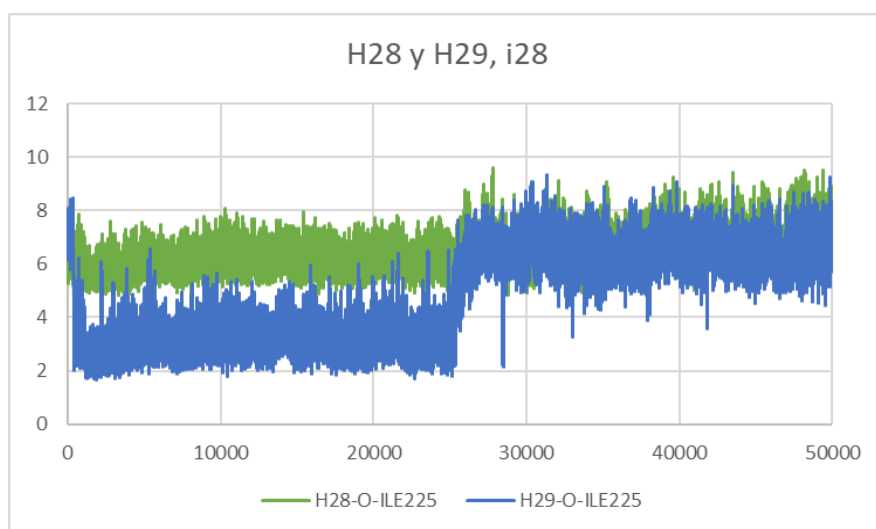


Figura 306 Desplazamiento entre la Ile225 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 28

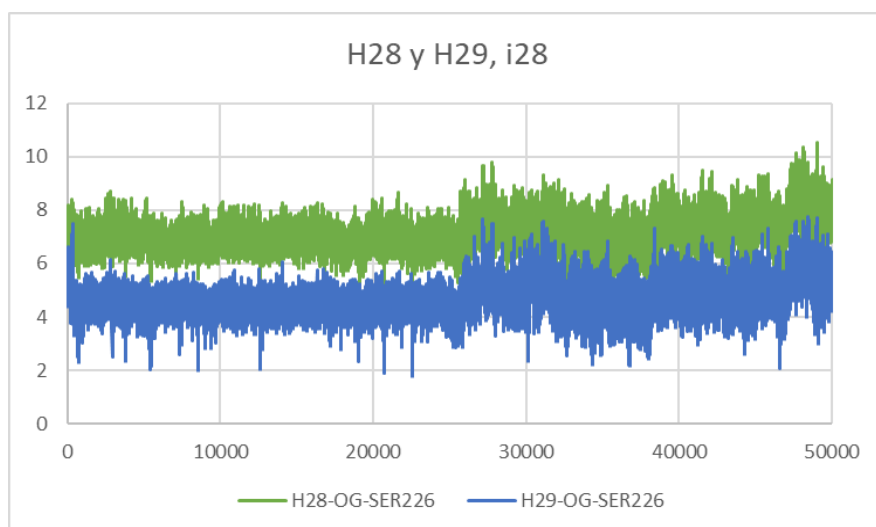


Figura 307 Desplazamiento entre la Ser226 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 28

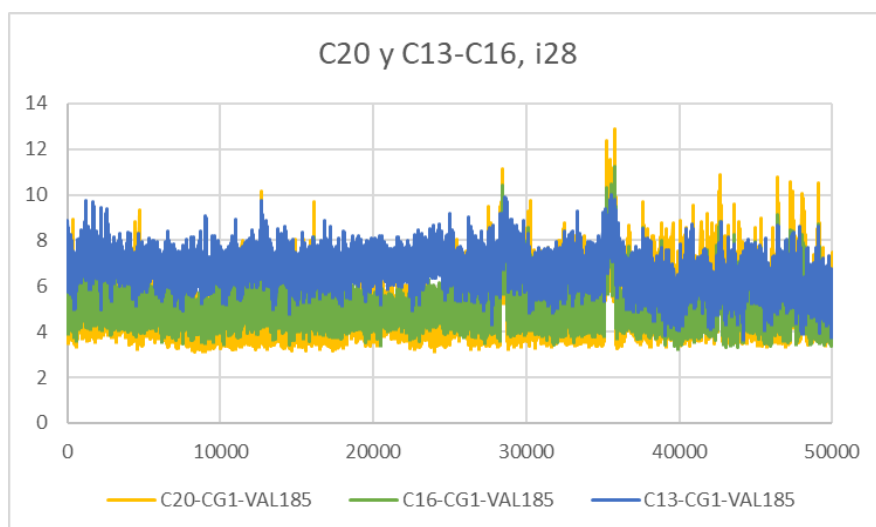


Figura 308 Desplazamiento entre la Val185 y el átomo C20 del inhibidor 28, y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 28

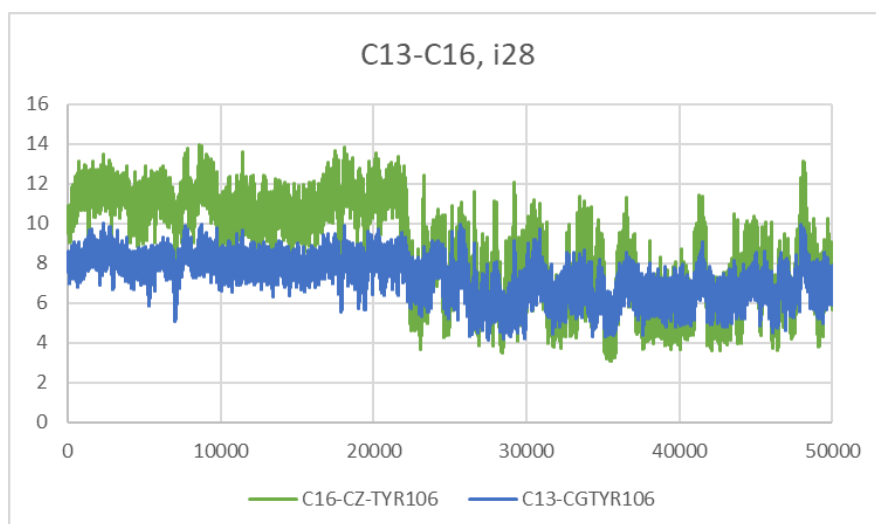


Figura 309 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 28

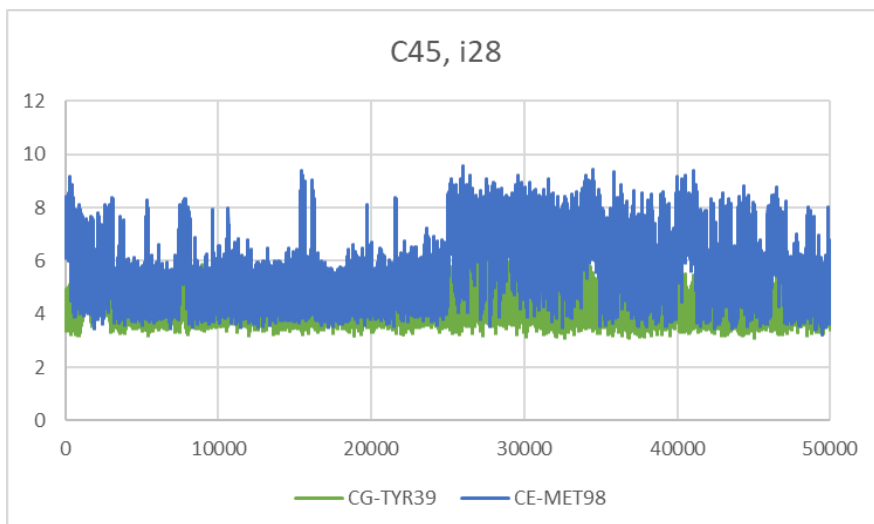


Figura 310 Desplazamiento entre los residuos 39 y 98 con el átomo C45 del inhibidor 28

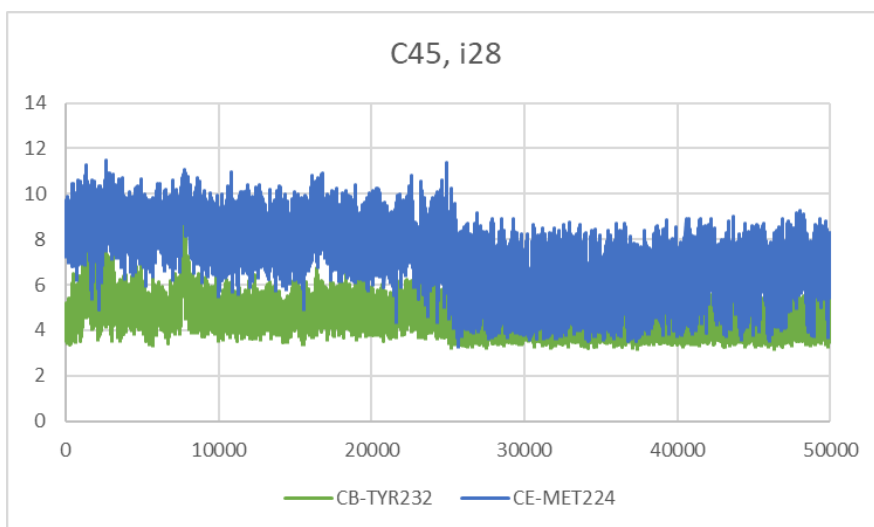


Figura 311 Desplazamiento entre los residuos 224 y 232 con el átomo C45 del inhibidor 28

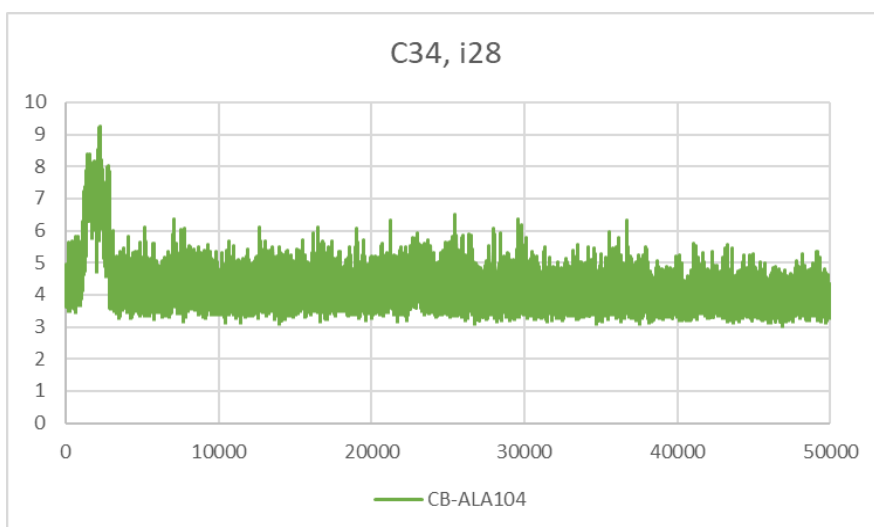


Figura 312 Desplazamiento entre la Ala104 y el átomo C34 del inhibidor 28

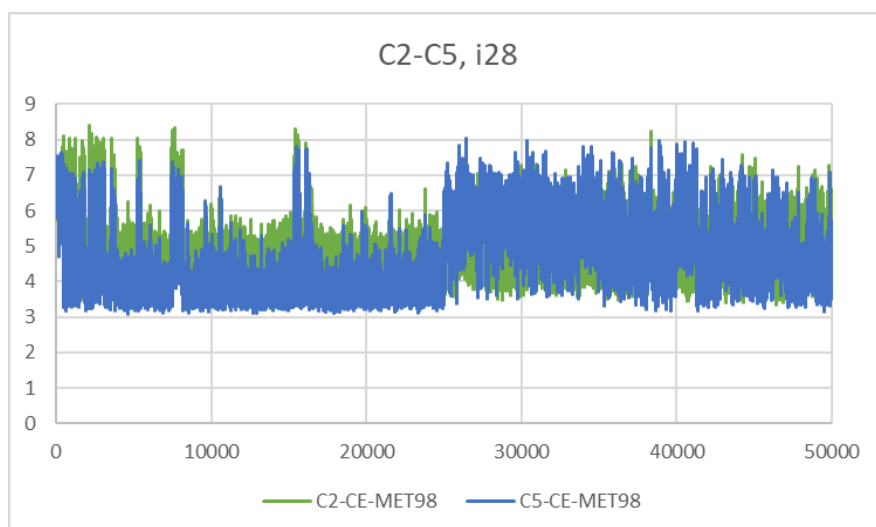


Figura 313 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 28

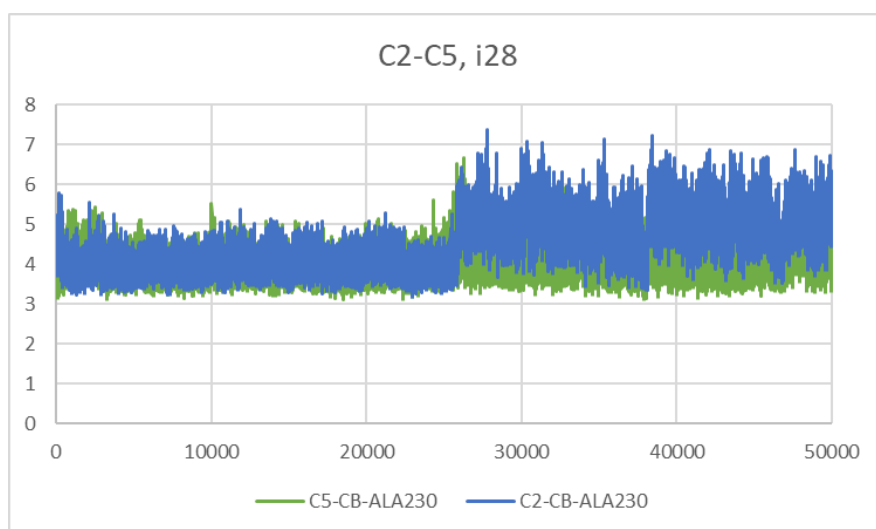


Figura 314 Desplazamiento entre la Ala230 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 28

9.6.5. Inhibidor 34:

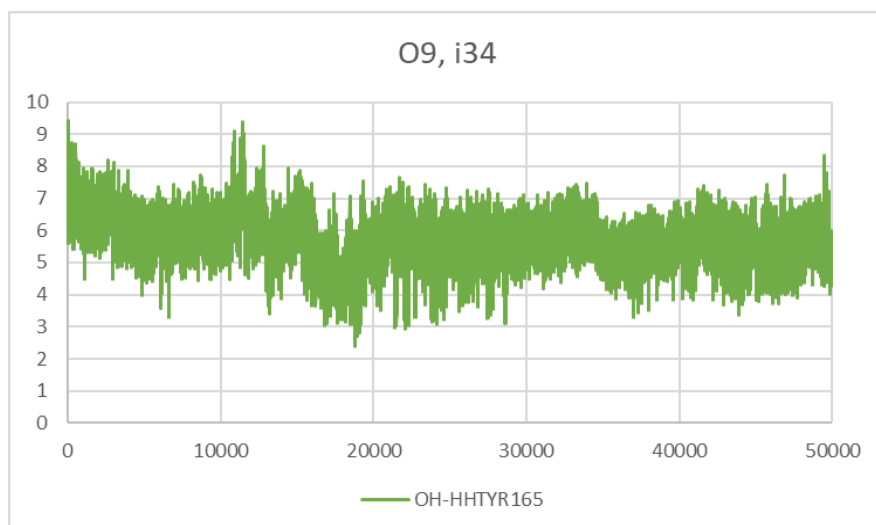


Figura 315 Desplazamiento entre la Tyr165 y el átomo O9 del inhibidor 34

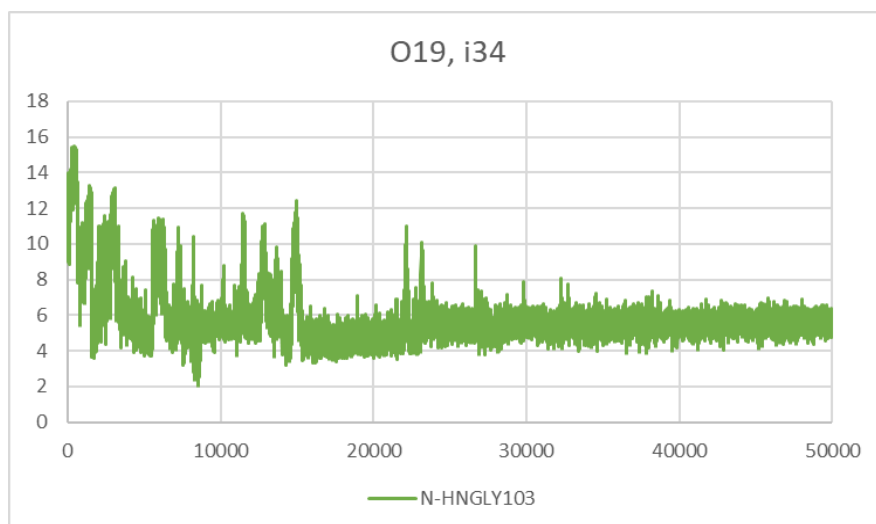


Figura 316 Desplazamiento entre la Gly103 y el átomo O19 del inhibidor 34

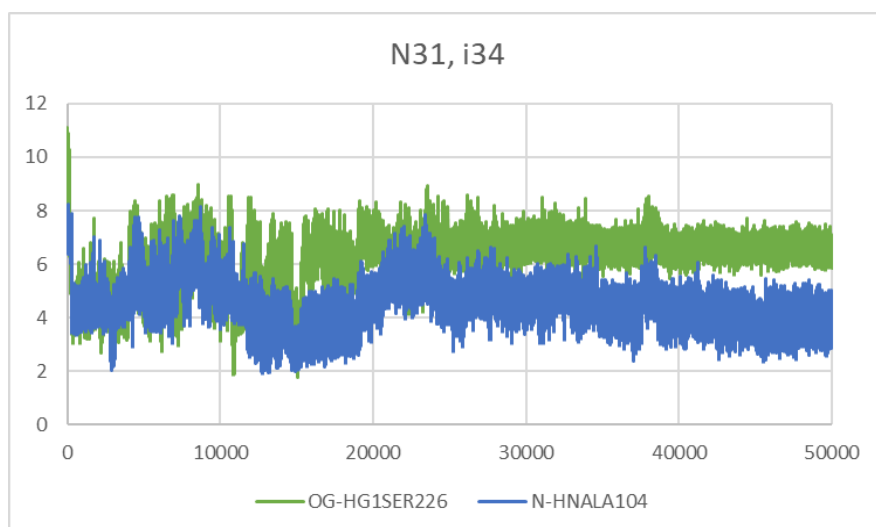


Figura 317 Desplazamiento ente los residuos 104 y 226 con el átomo N31 del anillo de triazol del inhibidor 34

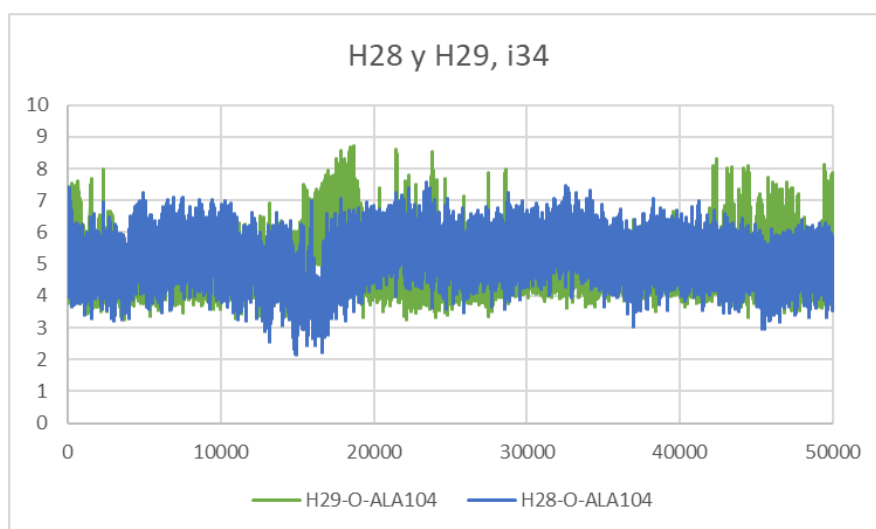


Figura 318 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 34

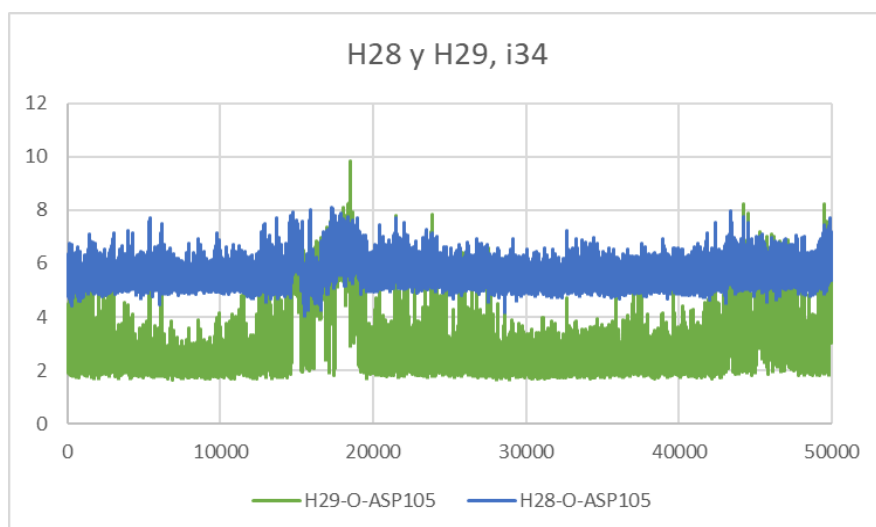


Figura 319 Desplazamiento entre el Asp105 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 34

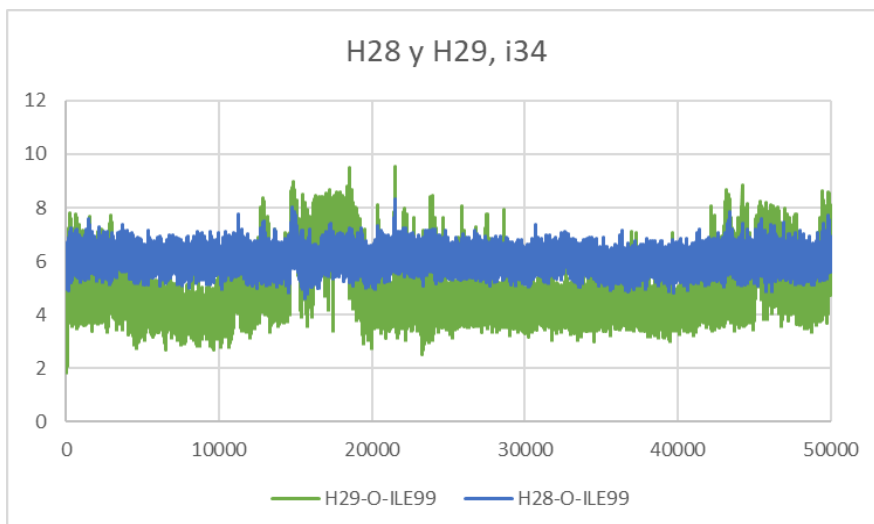


Figura 320 Desplazamiento entre la Ile99 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 34

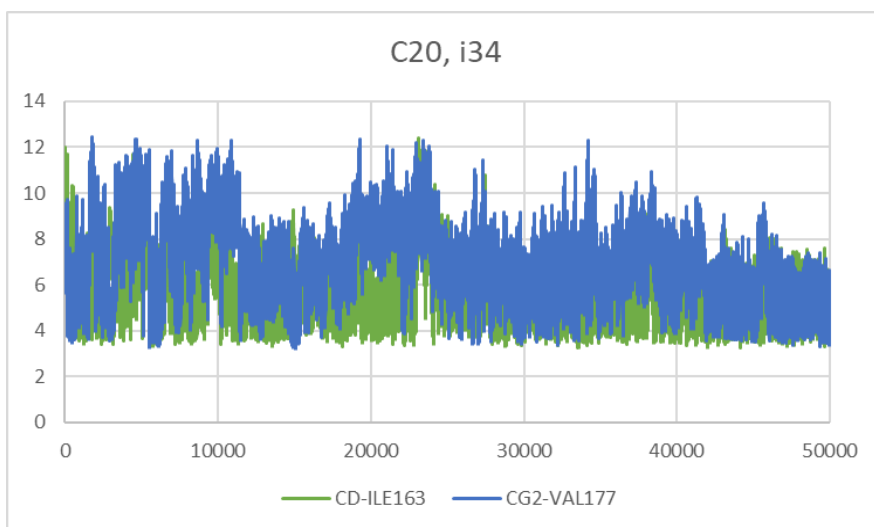


Figura 321 Desplazamiento entre los residuos 163 y 177 con el átomo C20 del inhibidor 34

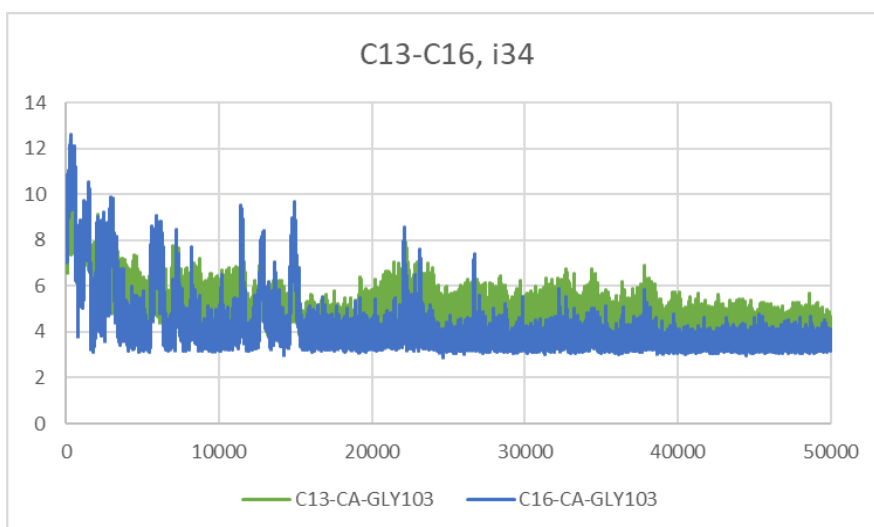


Figura 322 Desplazamiento entre la Gly103 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 34

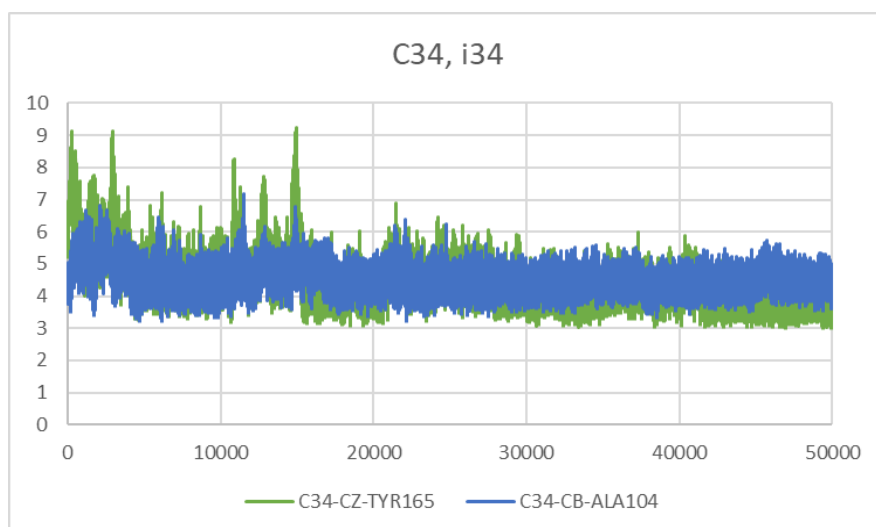


Figura 323 Desplazamiento entre los residuos 104 y 165 con el átomo C34 del inhibidor 34

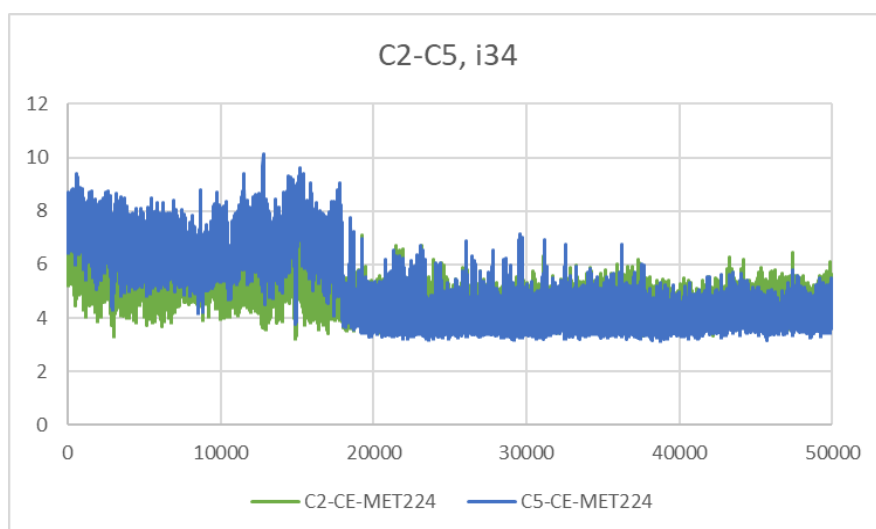


Figura 324 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 34

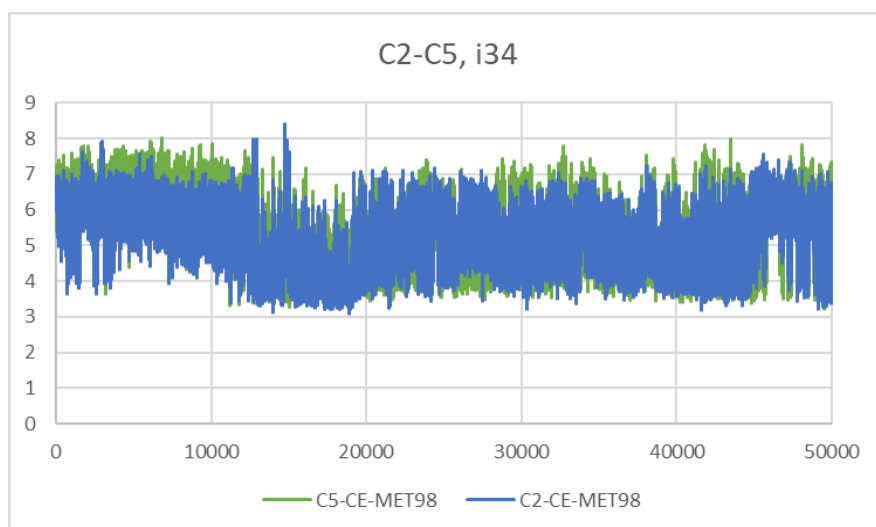


Figura 325 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 34

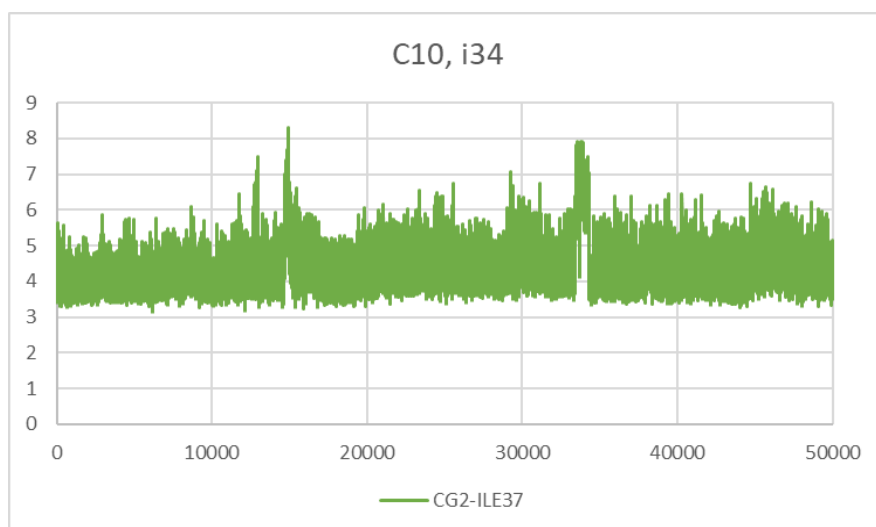


Figura 326 Desplazamiento entre la Ile37 y el átomo C10 del inhibidor 34

9.7. Grupo 101:

9.7.1. Inhibidor 101:

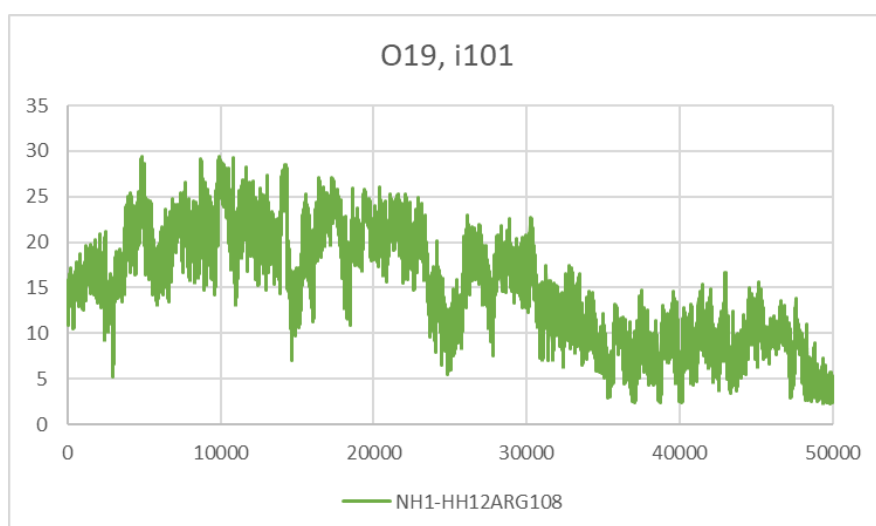


Figura 327 Desplazamiento entre la Arg108 y el átomo O19 del inhibidor 101

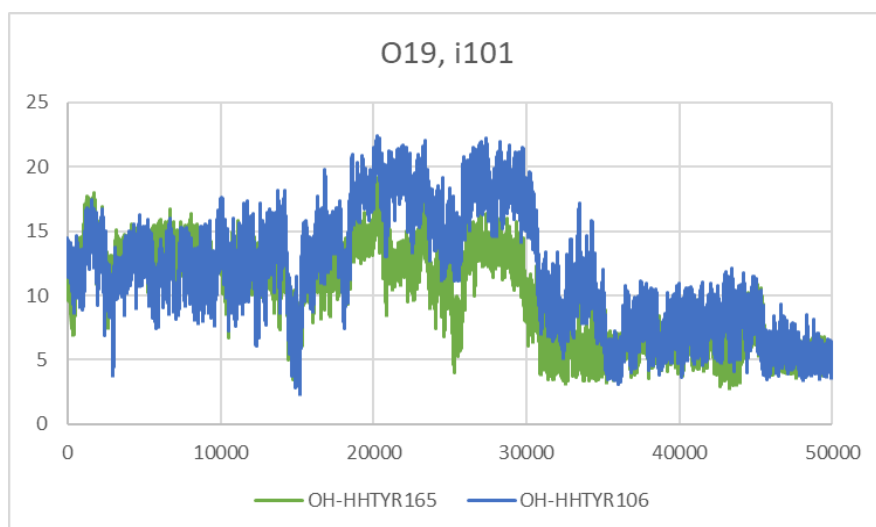


Figura 328 Desplazamiento entre los residuos 106 y 165 con el átomo O19 del inhibidor 101

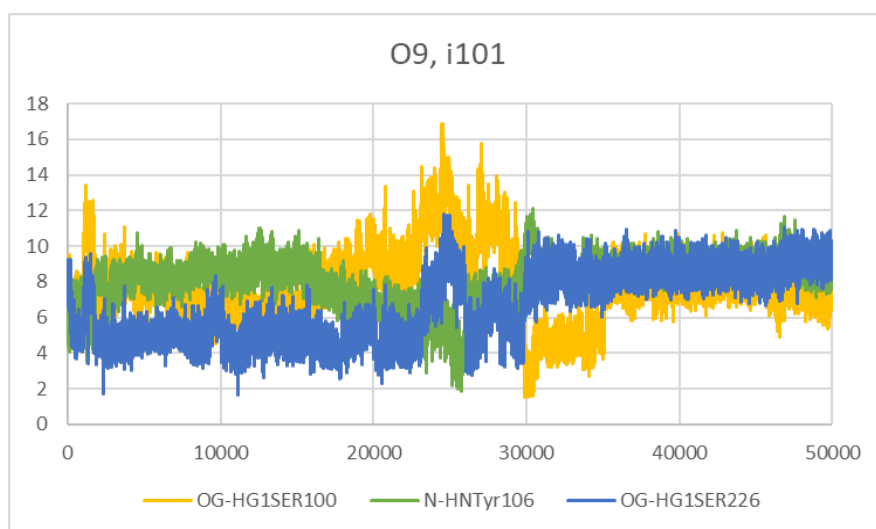


Figura 329 Desplazamiento entre los residuos 100, 106 y 226 con el átomo O9 del inhibidor 101

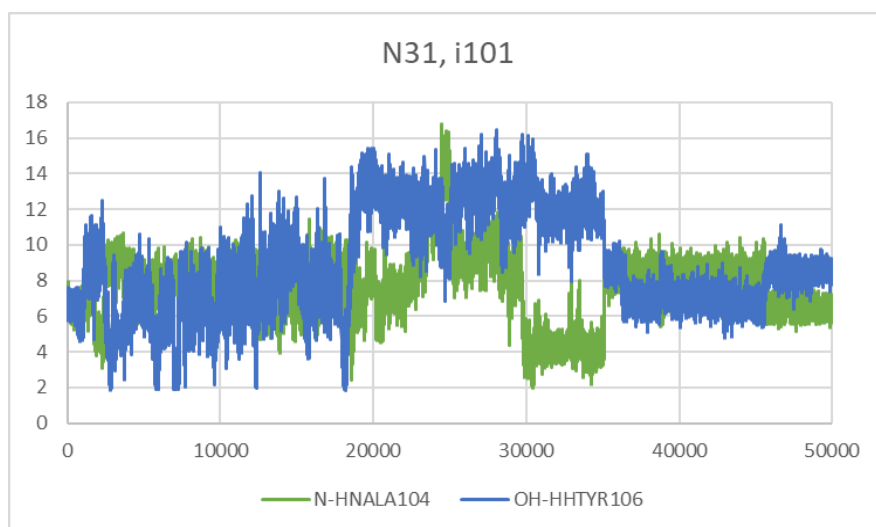


Figura 330 Desplazamiento entre los residuos 104 y 106 con el átomo N31 del anillo de tetrazol del inhibidor 101

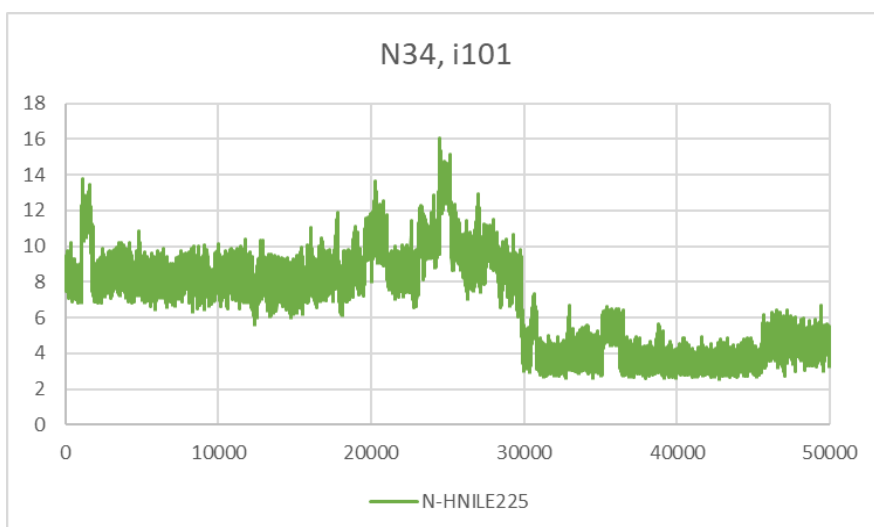


Figura 331 Desplazamiento entre la Ile225 y el átomo N34 del anillo de tetrazol del inhibidor 101

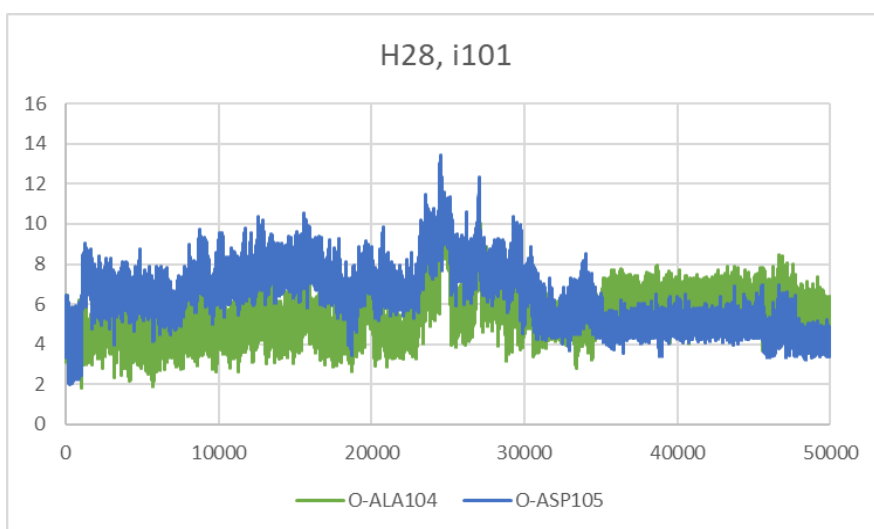


Figura 332 Desplazamiento entre los residuos 104 y 105 con el átomo H28 del inhibidor 101

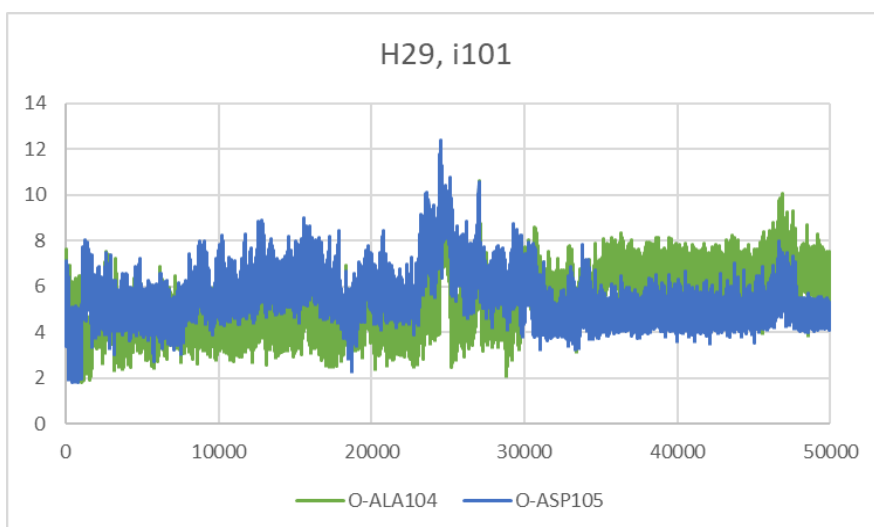


Figura 333 Desplazamiento entre los residuos 104 y 105 con el átomo H29 del inhibidor 101

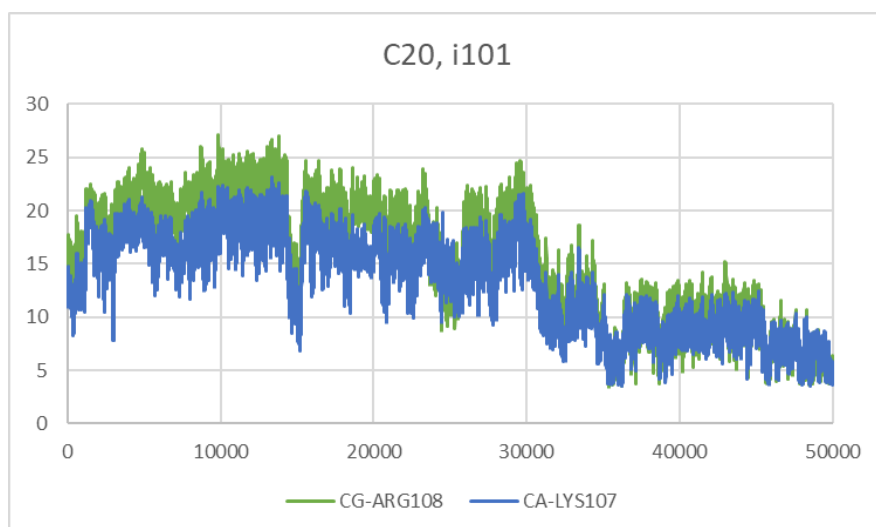


Figura 334 Desplazamiento entre los residuos 107 y 108 con el átomo C20 del inhibidor 101

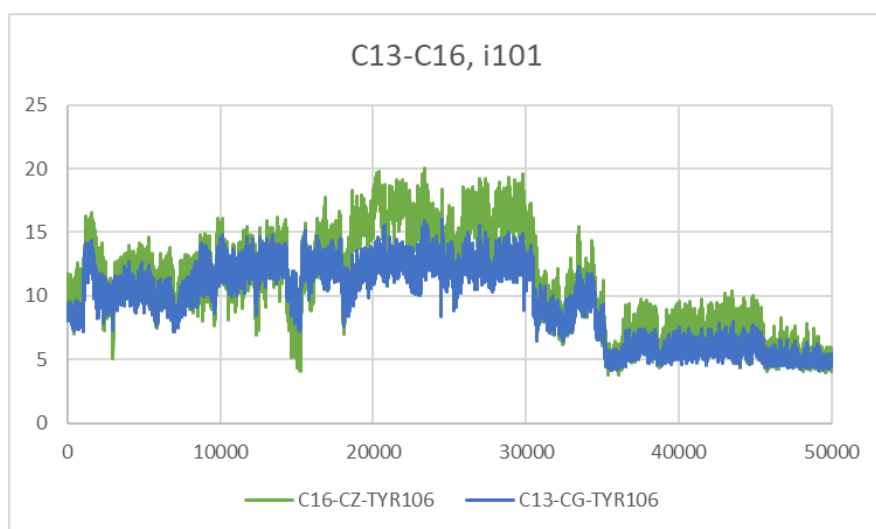


Figura 335 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 101

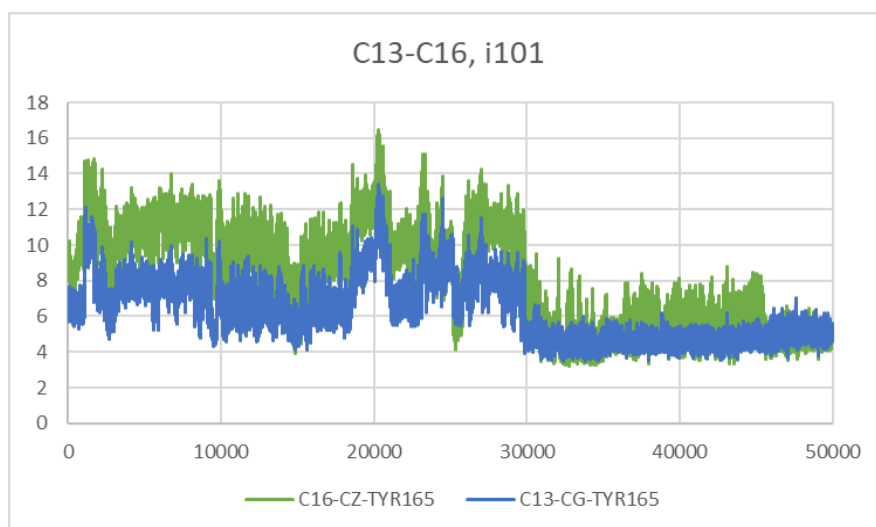


Figura 336 Desplazamiento entre la Tyr165 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 101

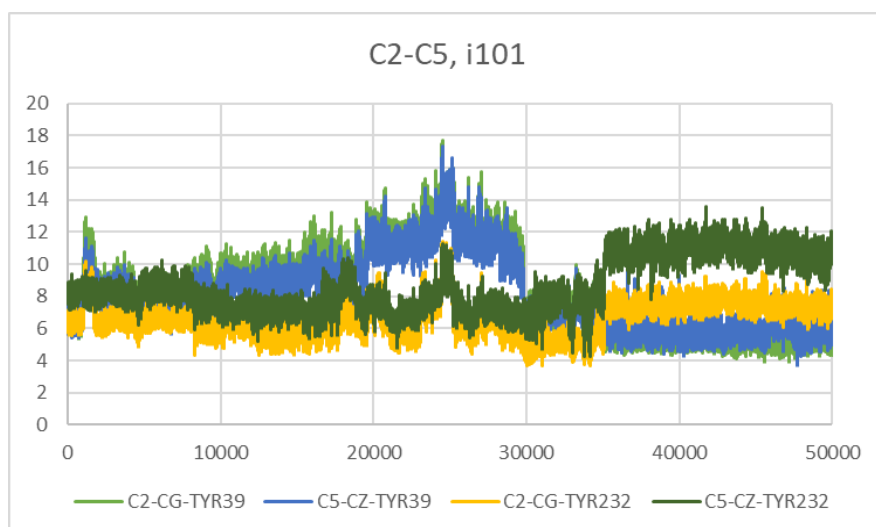


Figura 337 Desplazamiento entre los residuos 39 y 232 con los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 101

9.7.2. Inhibidor 161:

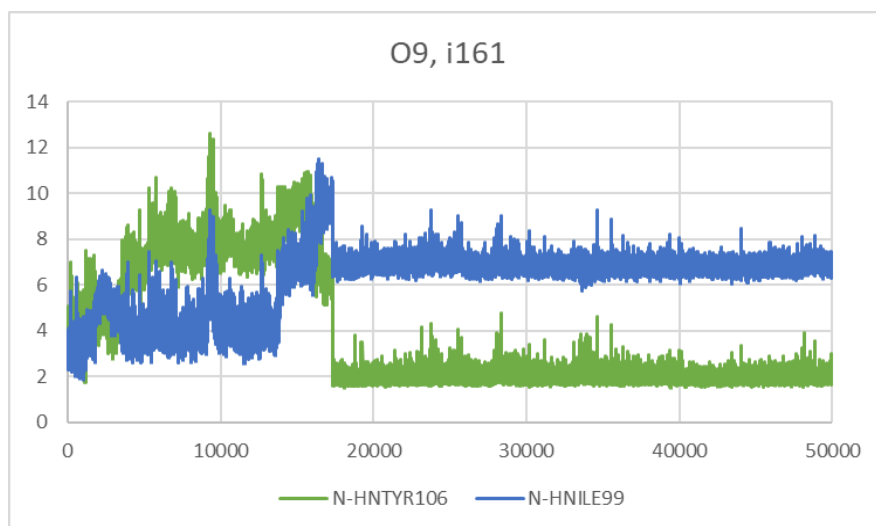


Figura 338 Desplazamiento entre los residuos 99 y 106 con el átomo O9 del inhibidor 161

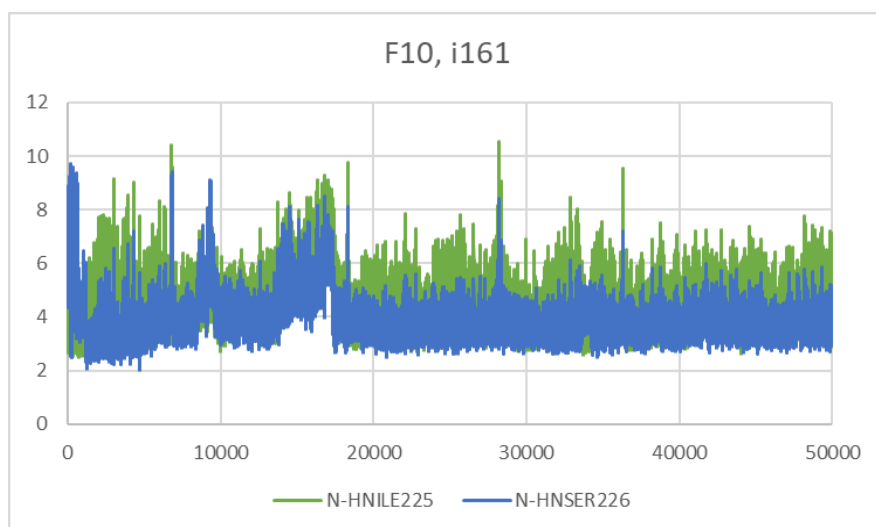


Figura 339 Desplazamiento entre los residuos 225 y 226 con el átomo F10 del inhibidor 161

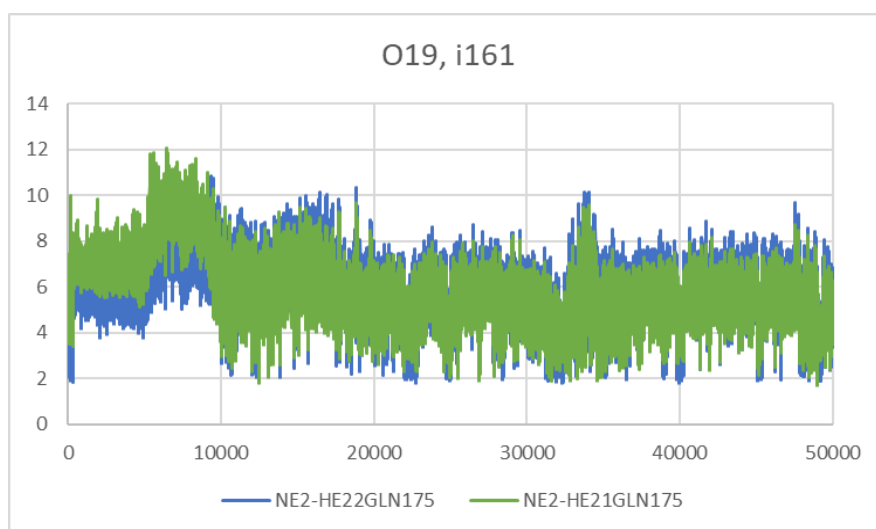


Figura 340 Desplazamiento entre la Gln175 y el átomo O19 del inhibidor 161

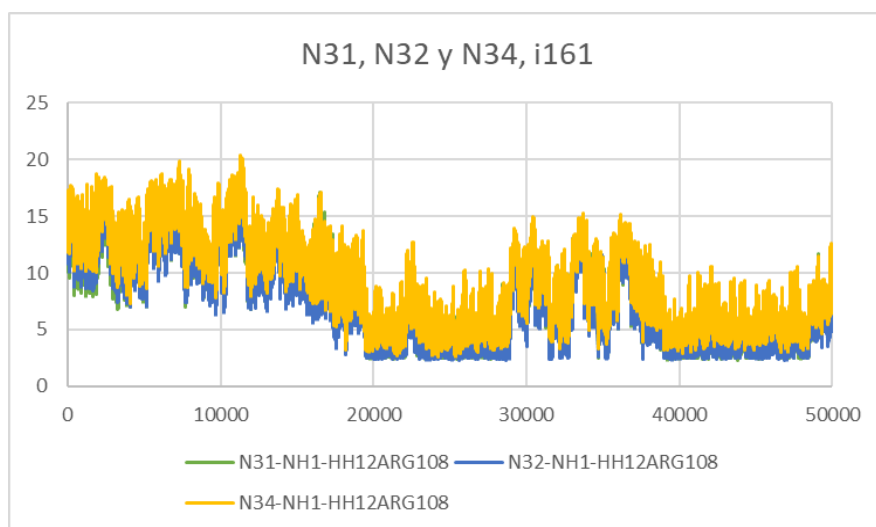


Figura 341 Desplazamiento entre la Arg108 y los átomos N31, N32 y N34 del anillo tetrazol del inhibidor 161

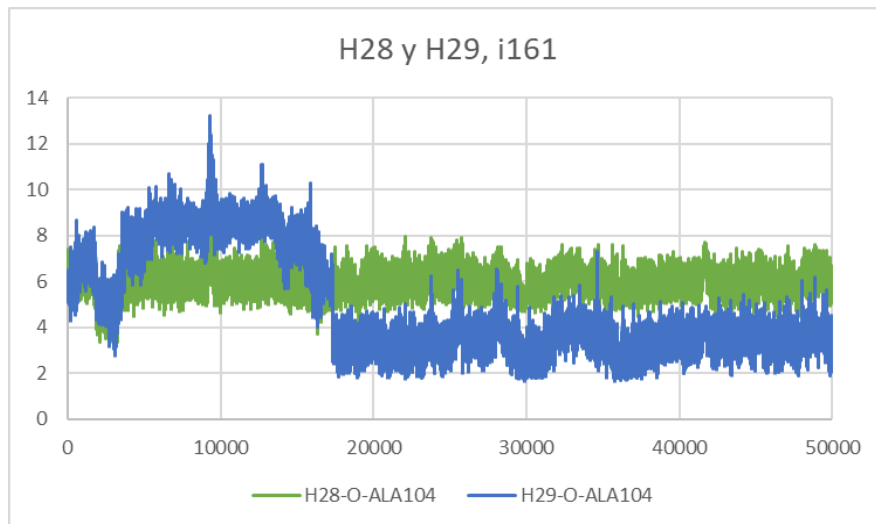


Figura 342 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 161

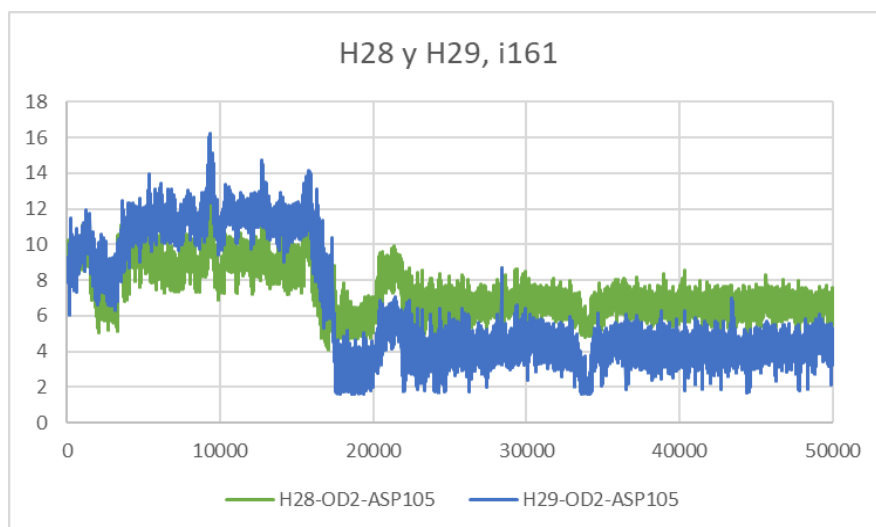


Figura 343 Desplazamiento entre el Asp105 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 161

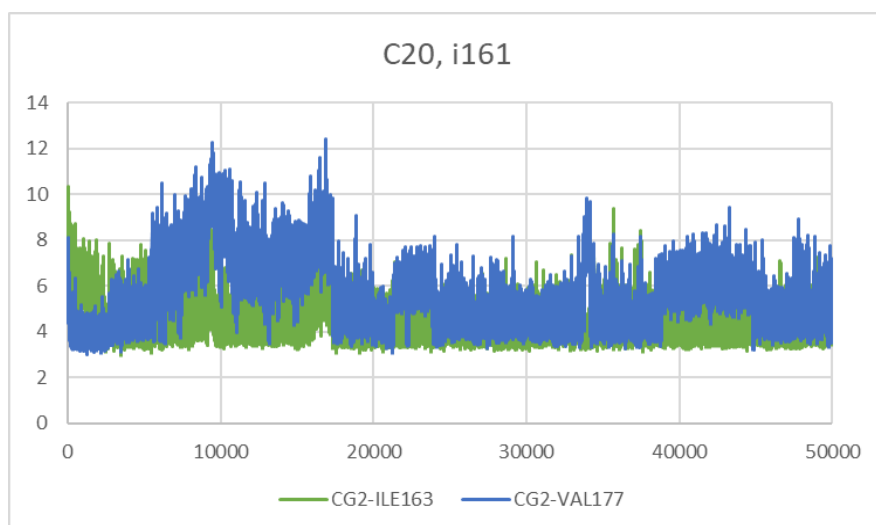


Figura 344 Desplazamiento entre los residuos 163 y 177 con el átomo C20 del inhibidor 161

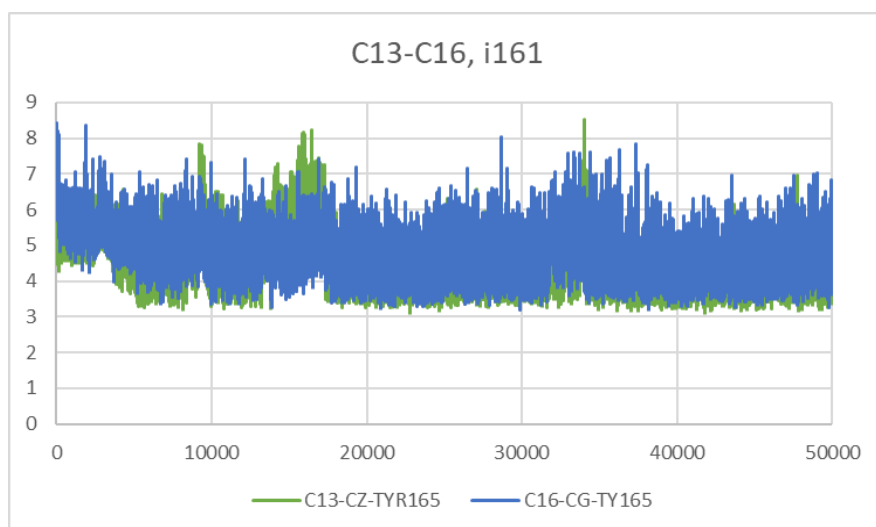


Figura 345 Desplazamiento entre la Tyr165 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 161

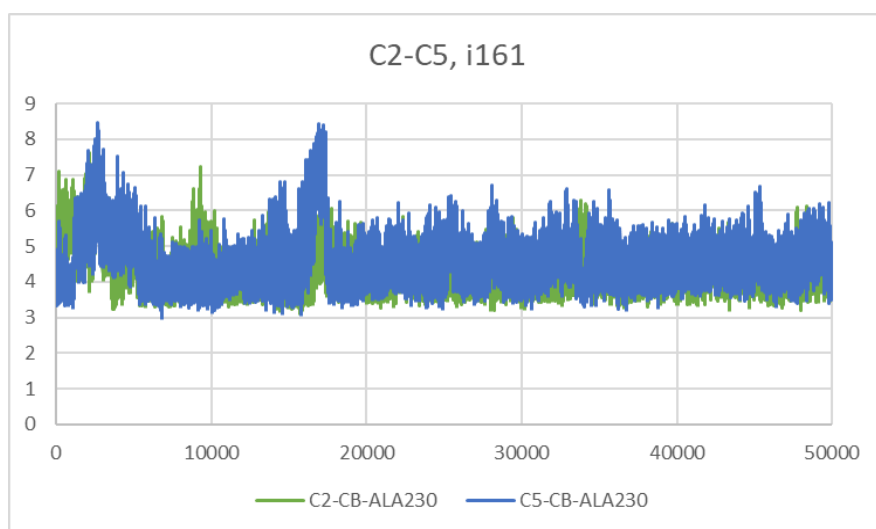


Figura 346 Desplazamiento entre la Ala230 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 161

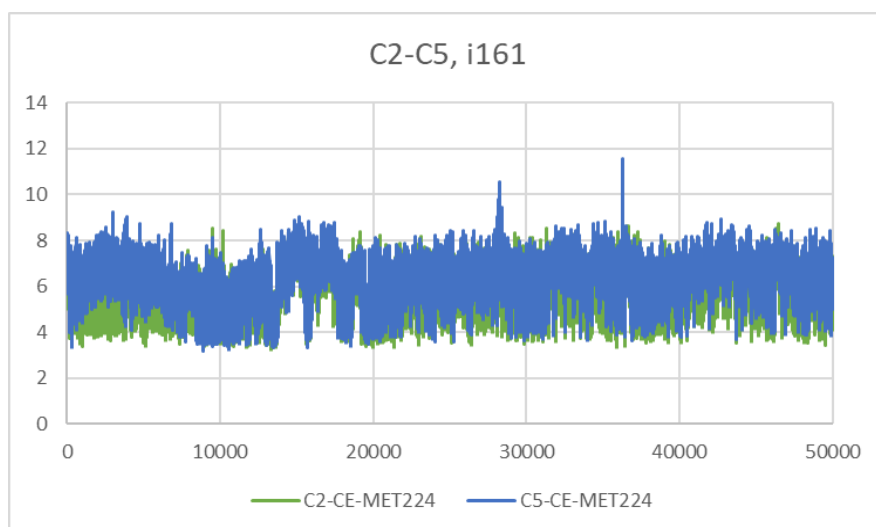


Figura 347 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 161

9.7.3. Inhibidor 221:

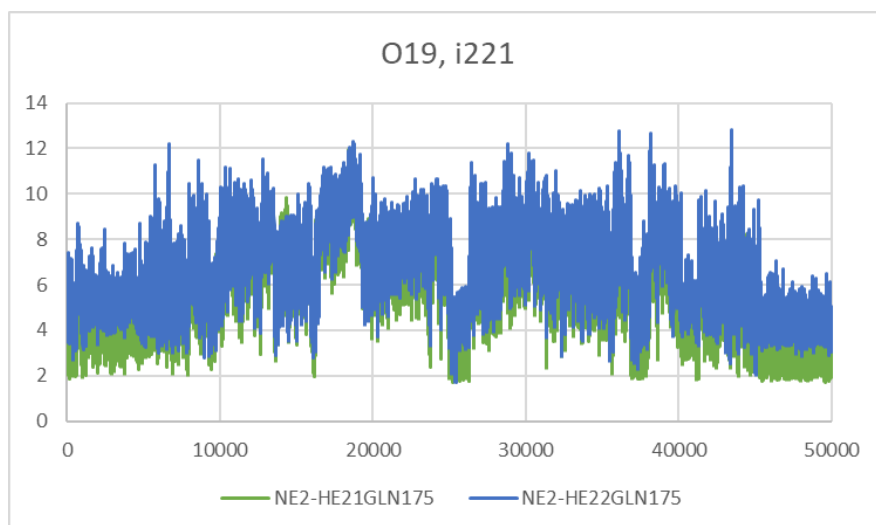


Figura 348 Desplazamiento entre la Gln175 y el átomo O19 del inhibidor 221

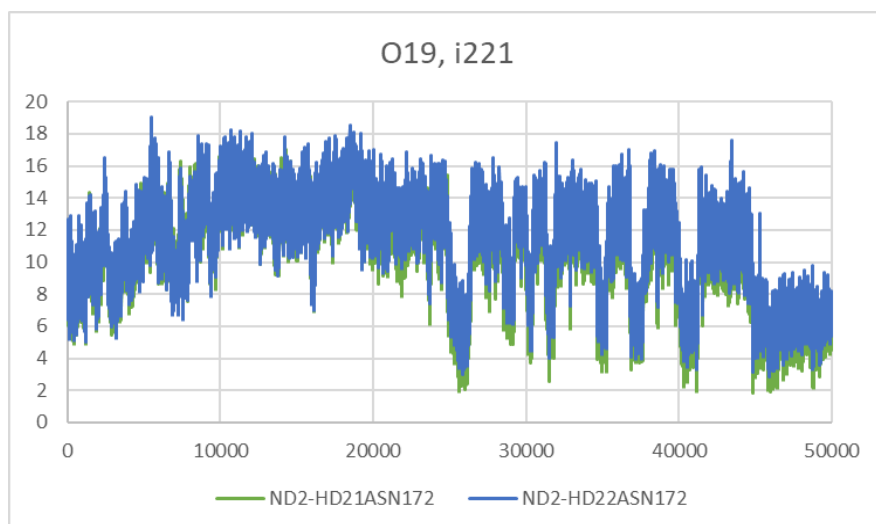


Figura 349 Desplazamiento entre la Asn172 y el átomo O19 del inhibidor 221

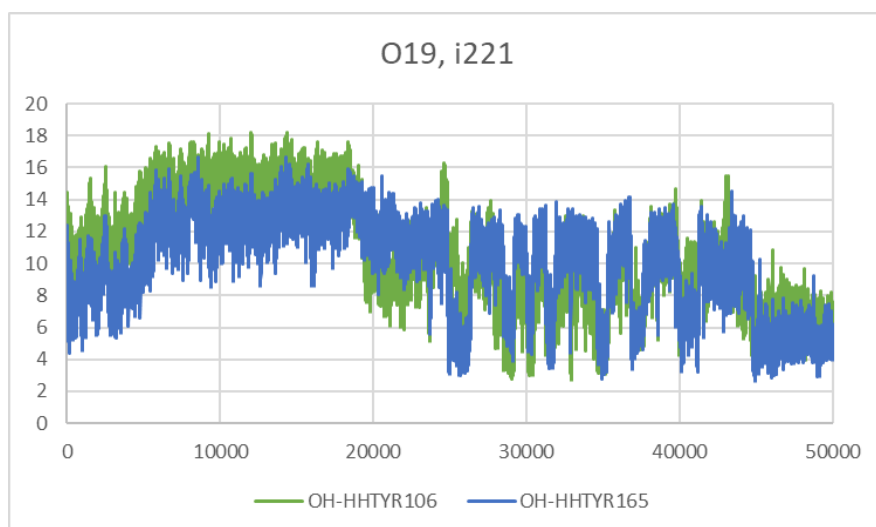


Figura 350 Desplazamiento entre los residuos 106 y 165 con el átomo O19 del inhibidor 221

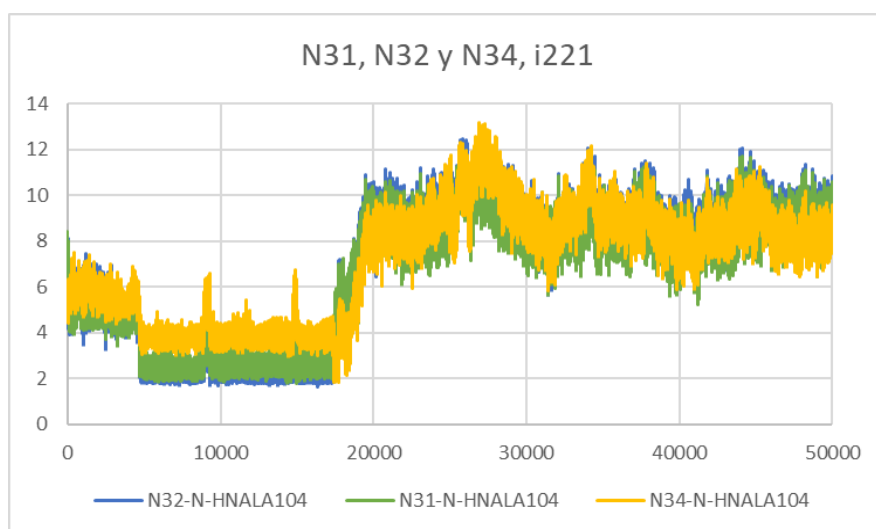


Figura 351 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos N31, N32 y N34 del anillo de tetrazol del inhibidor 221

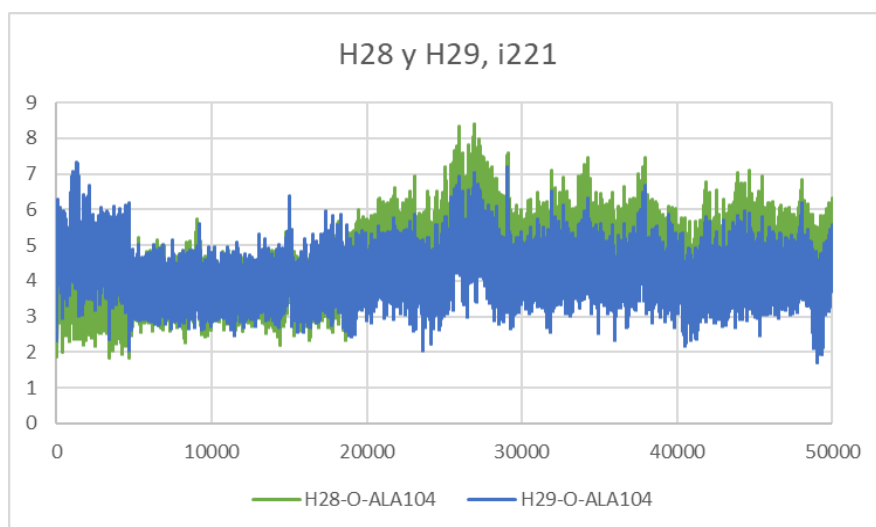


Figura 352 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 221

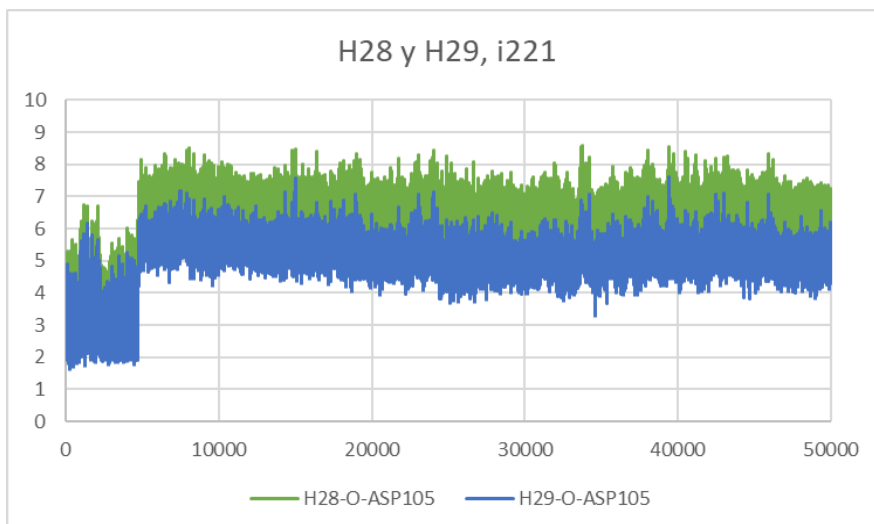


Figura 353 Desplazamiento entre el Asp105 y los átomos H28 y H29 del inhibidor 221

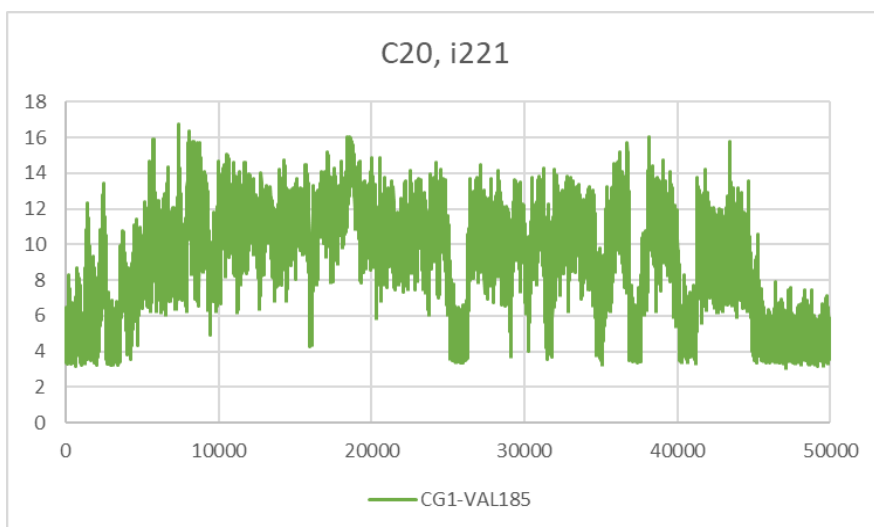


Figura 354 Desplazamiento entre la Val185 y el átomo C20 del inhibidor 221

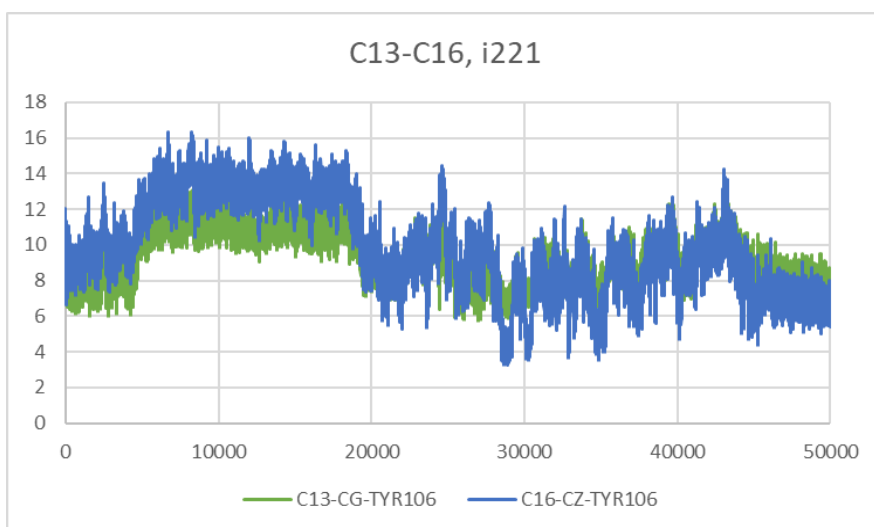


Figura 355 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 221

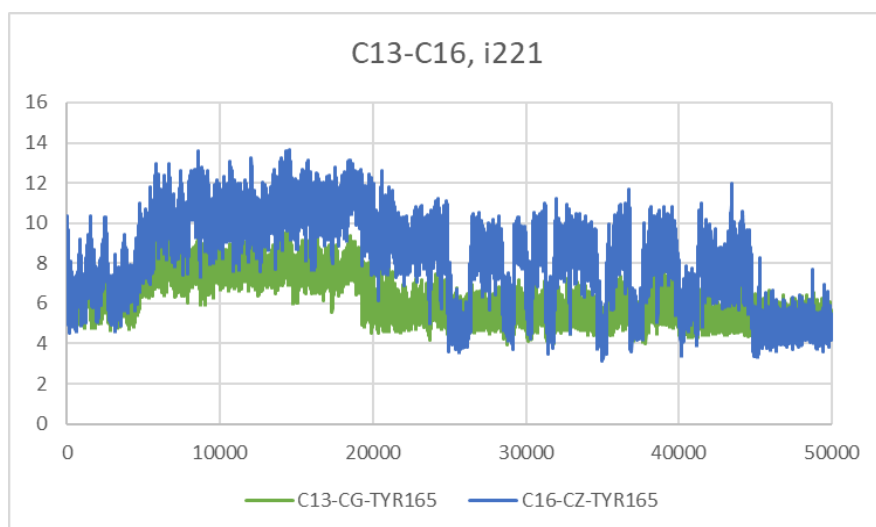


Figura 356 Desplazamiento entre la Tyr165 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 221

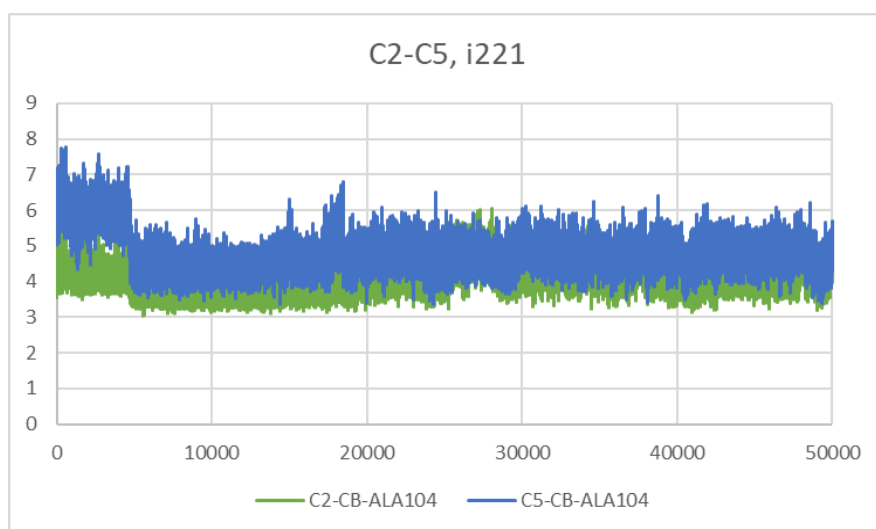


Figura 357 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 221

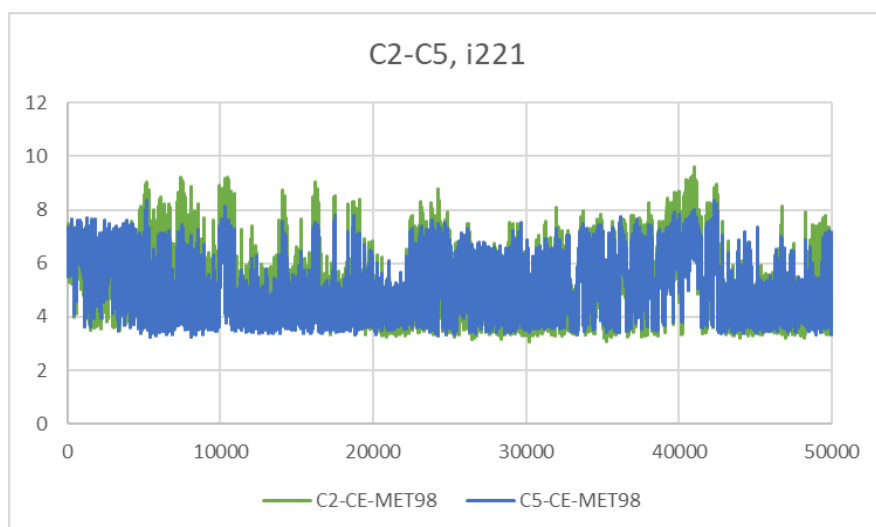


Figura 358 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 221

9.7.4. Inhibidor 281:

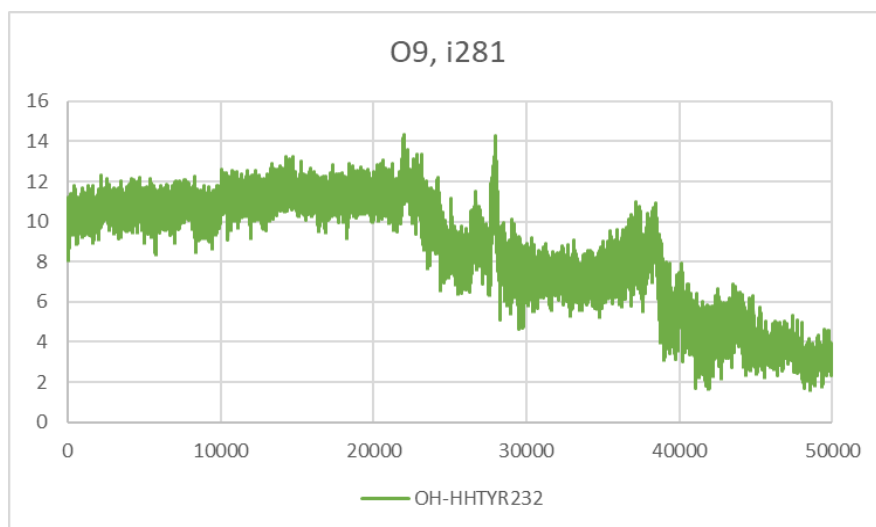


Figura 359 Desplazamiento entre la Tyr232 y el átomo O9 del inhibidor 281

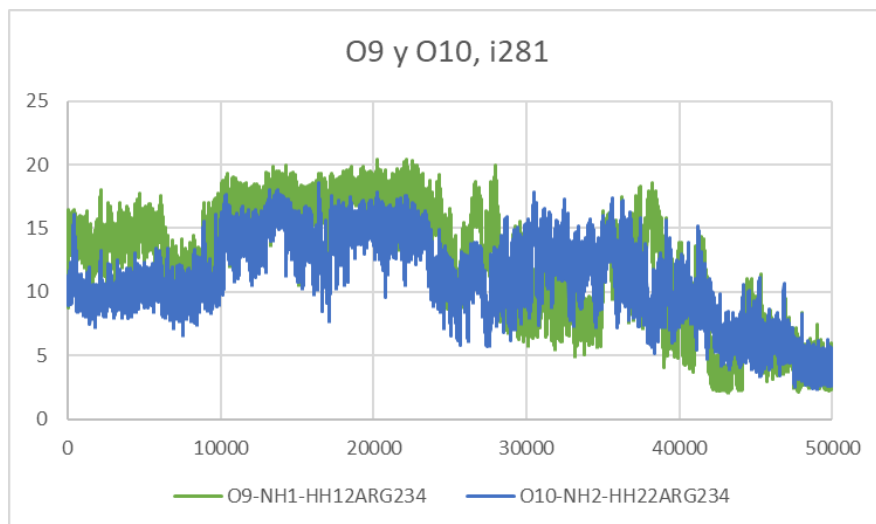


Figura 360 Desplazamiento entre la Arg234 y los átomos O9 y O10 del inhibidor 281

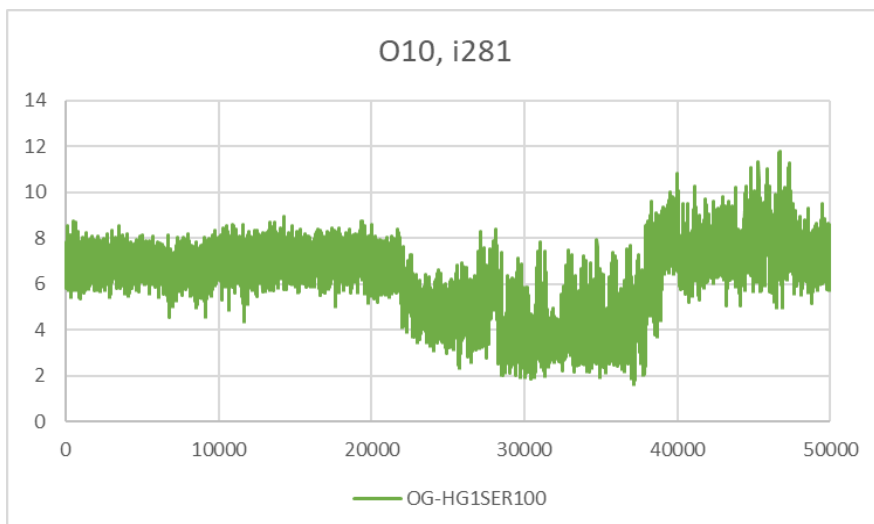


Figura 361 Desplazamiento entre la Ser100 y el átomo O10 del inhibidor 281

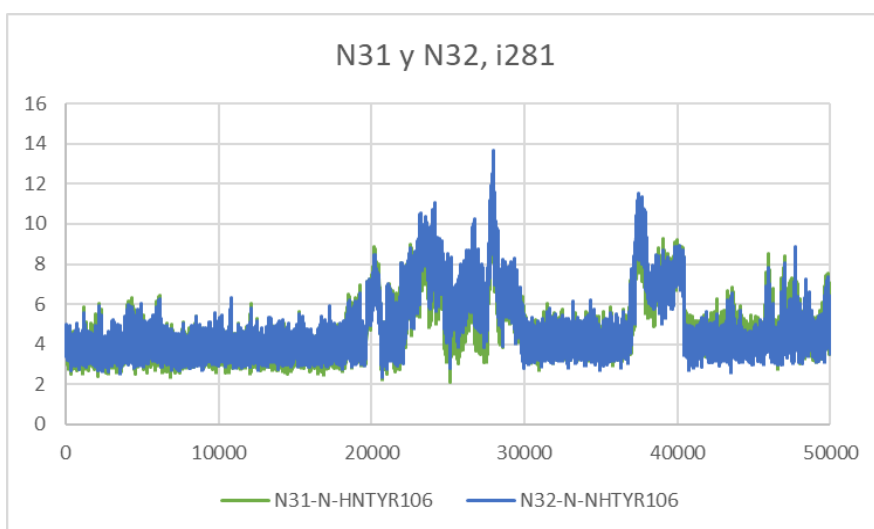


Figura 362 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos N31 y N32 del anillo de tetrazol del inhibidor 281

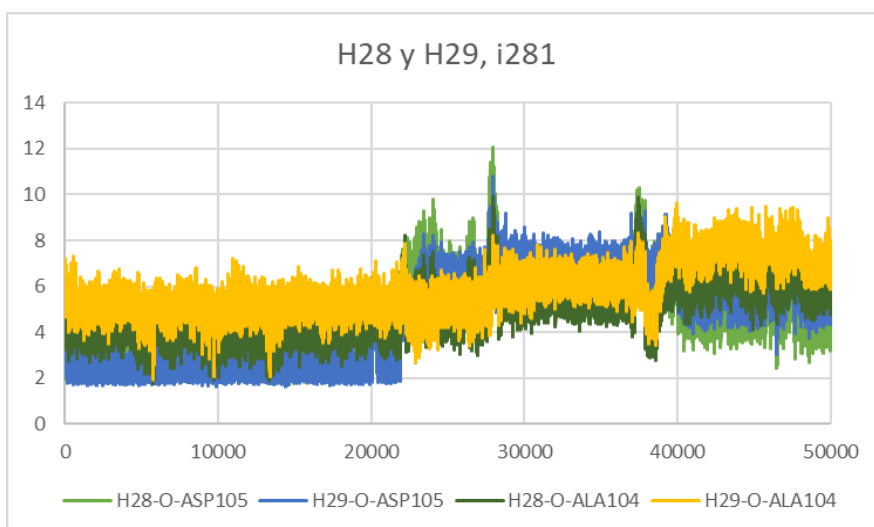


Figura 363 Desplazamiento entre los residuos 104 y 105 con los átomos H28 y H29 del inhibidor 281

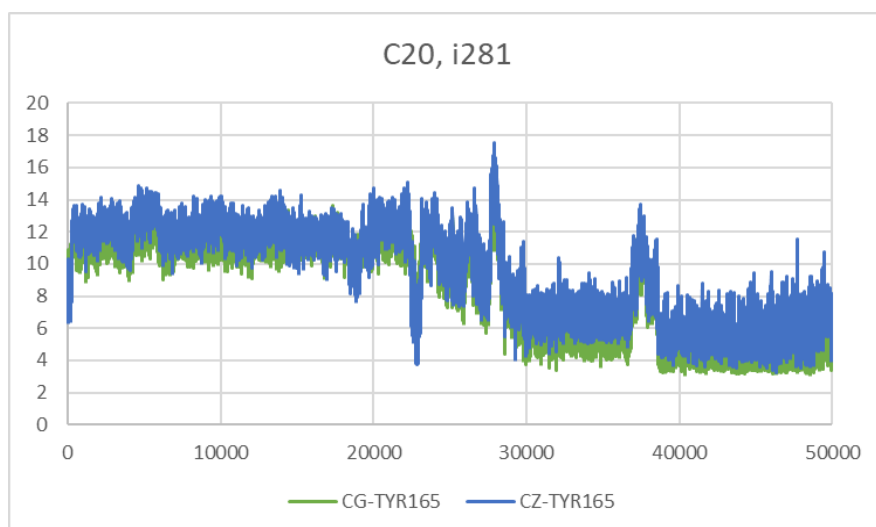


Figura 364 Desplazamiento entre la Tyr165 y el átomo C20 del inhibidor 281

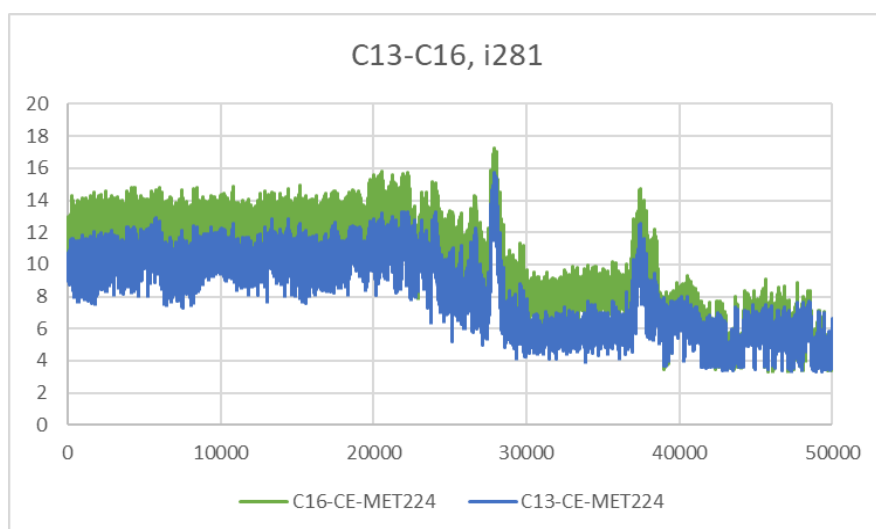


Figura 365 Desplazamiento entre la Met224 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 281

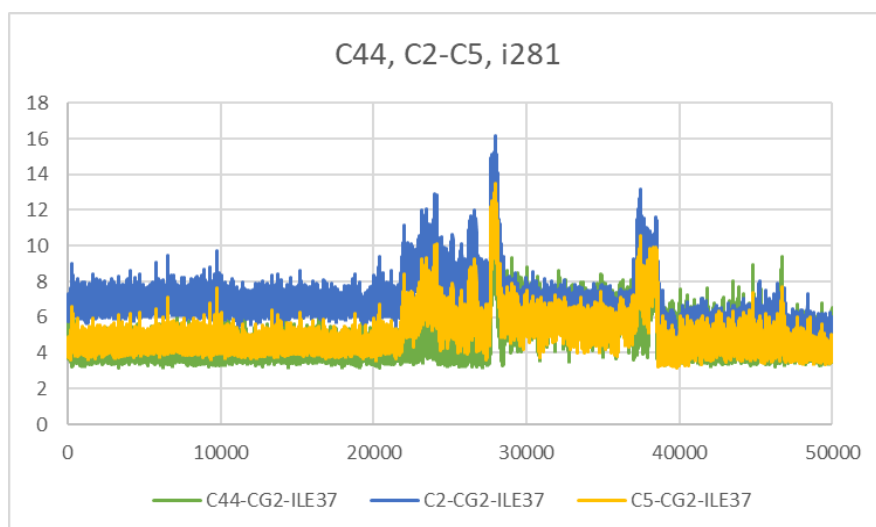


Figura 366 Desplazamiento entre la Ile37 y el átomo C44 del inhibidor 281, y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 281

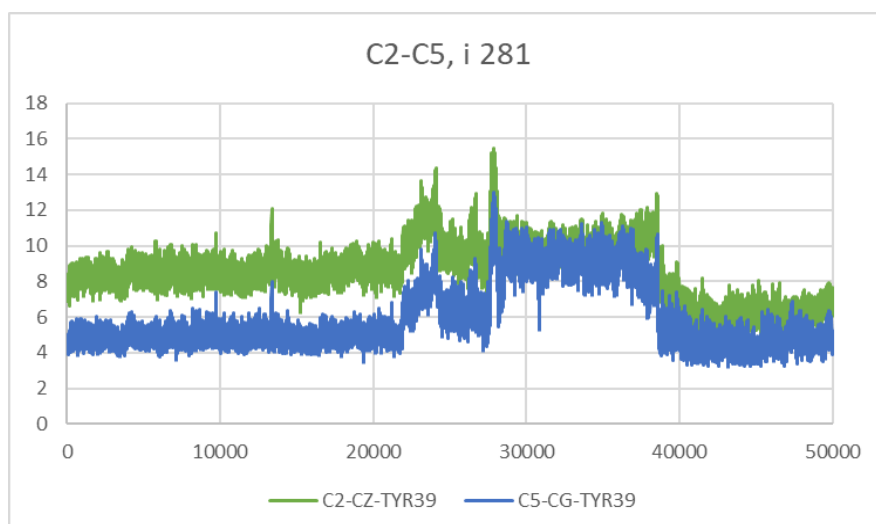


Figura 367 Desplazamiento entre la Tyr39 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 281

9.7.5. Inhibidor 341:

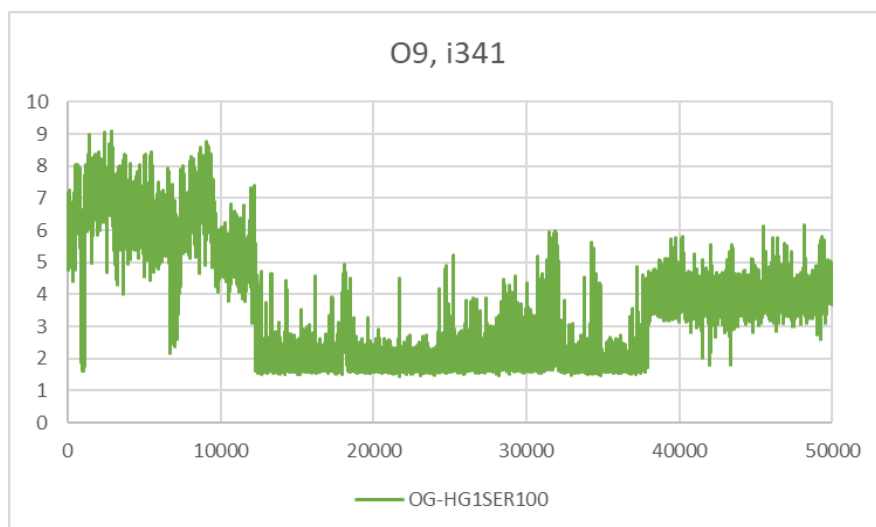


Figura 368 Desplazamiento entre la Ser100 y el átomo O9 del inhibidor 341

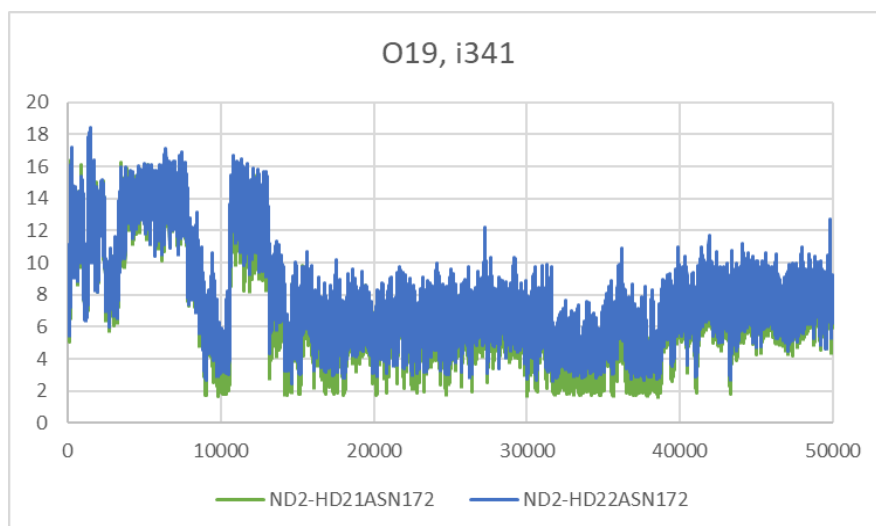


Figura 369 Desplazamiento entre la Asn172 y el átomo O19 del inhibidor 341

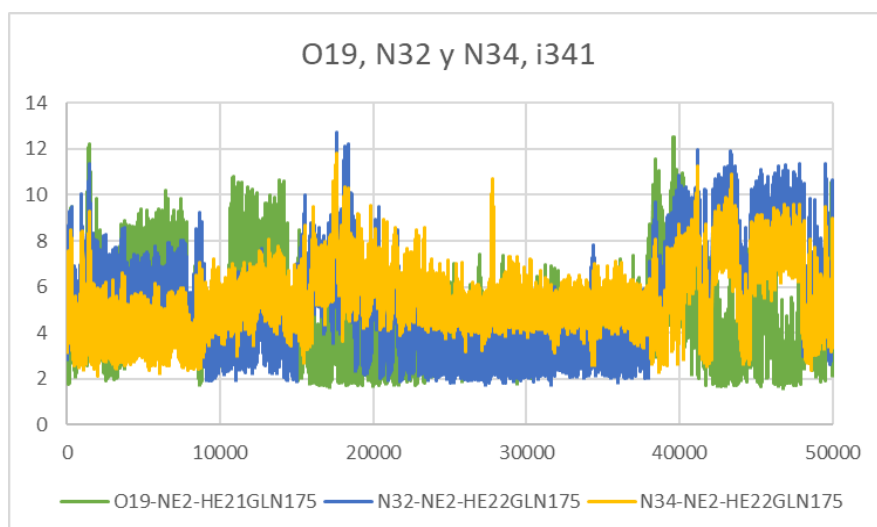


Figura 370 Desplazamiento entre la Gln175 y el átomo O19 del inhibidor 341, y los átomos N32 y N34 del anillo de tetrazol del inhibidor 341

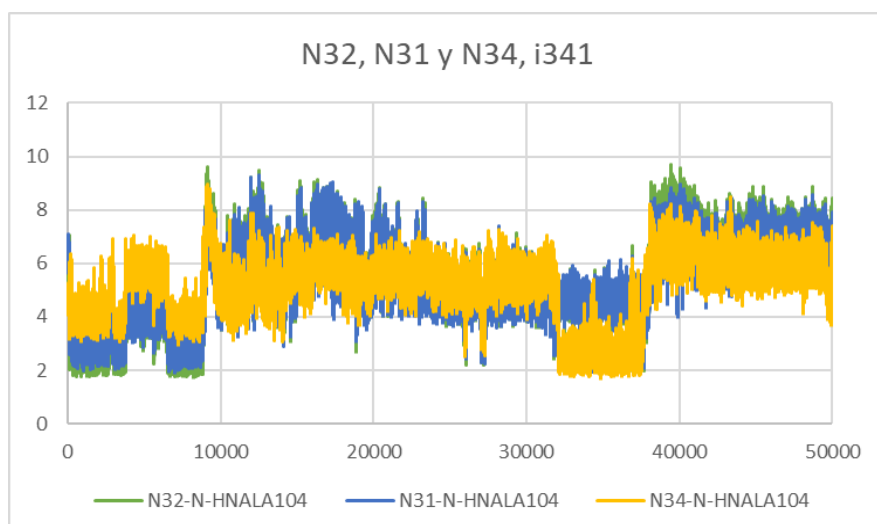


Figura 371 Desplazamiento entre la Ala104 y los átomos N31, N32 y N34 del anillo de tetrazol del inhibidor 341

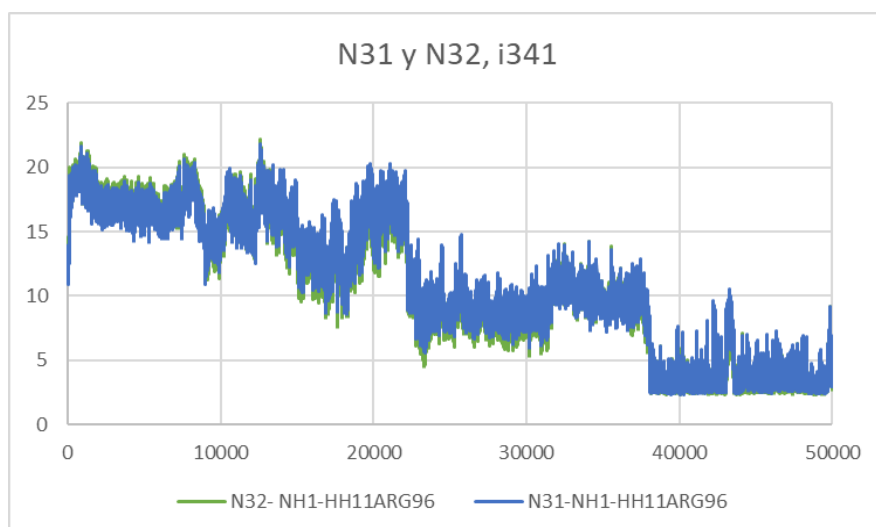


Figura 372 Desplazamiento entre la Arg96 y los átomos N31 y N32 del anillo de tetrazol del inhibidor 341

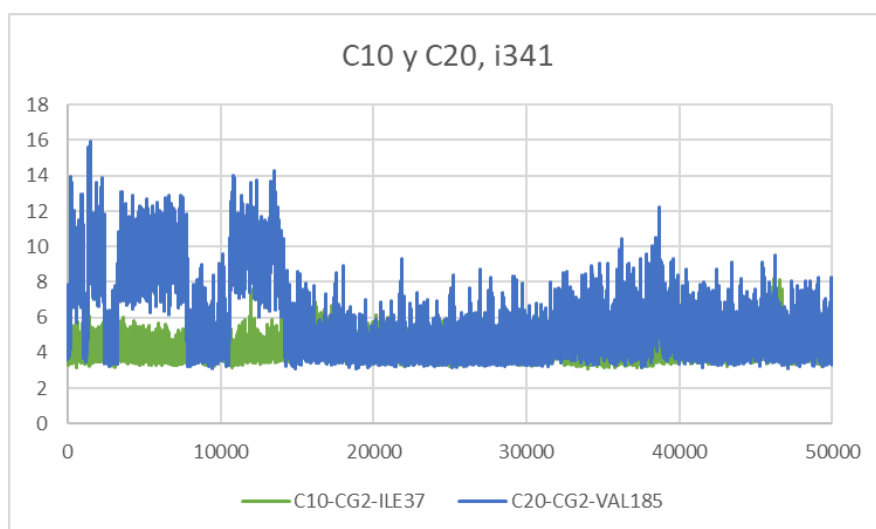


Figura 373 Desplazamiento entre los residuos 37 y 185 con los átomos C10 y C20 del inhibidor 341

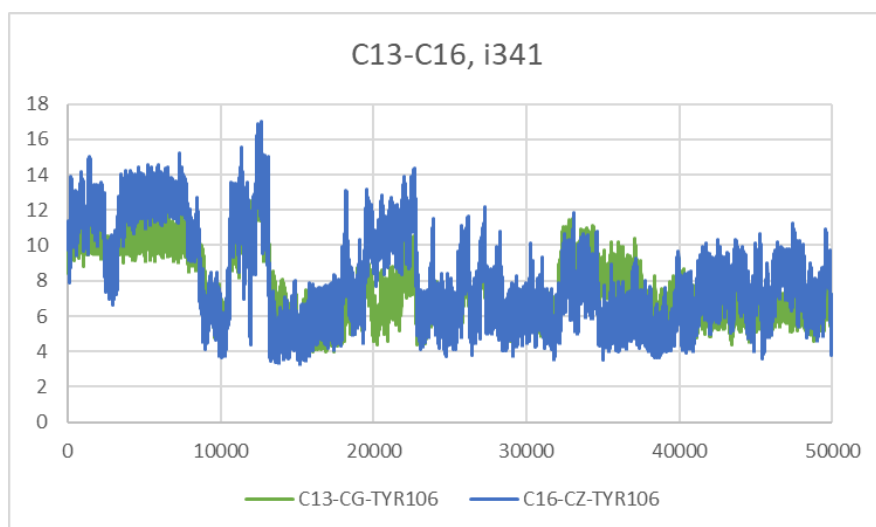


Figura 374 Desplazamiento entre la Tyr106 y los átomos del anillo C13-C16 del inhibidor 341

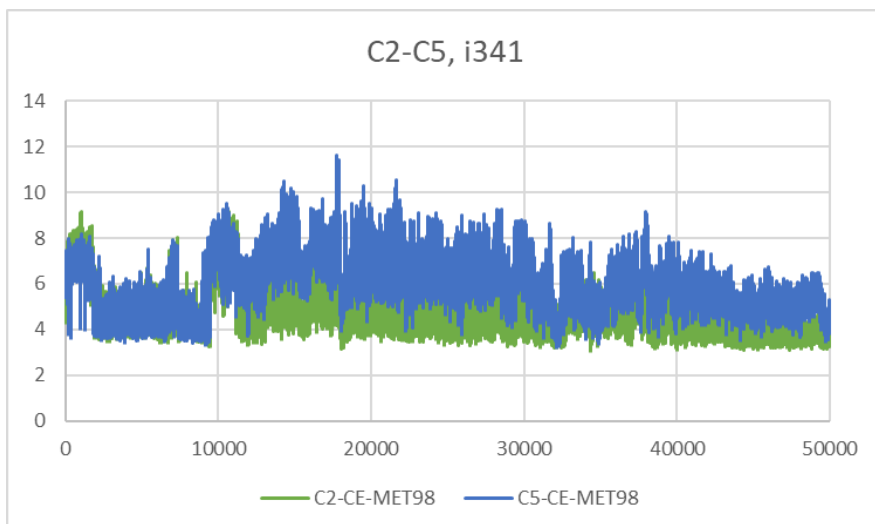


Figura 375 Desplazamiento entre la Met98 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 341

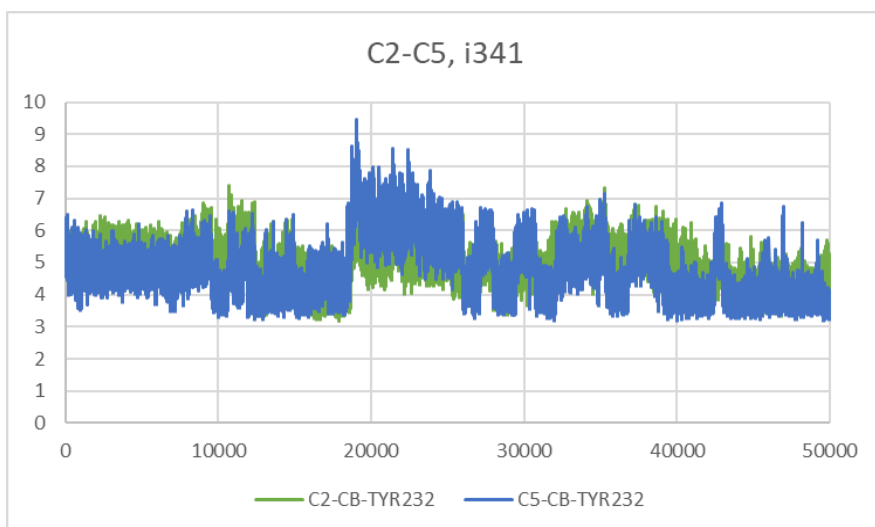


Figura 376 Desplazamiento entre la Tyr232 y los átomos del anillo C2-C5 del inhibidor 341