

## Base de Datos de Referencia de Antibióticos: Optimización Geométrica por Force Field y Density Functional Theory

A. P. Leyva-Aizpuru<sup>1</sup>, A. García-Hernández<sup>1</sup>, L. B. Enríquez-Sánchez<sup>1,2</sup>, N. G. Sámano-Lira<sup>1</sup>, L. C. Hinojos-Gallardo<sup>1</sup>, I. E. Gutiérrez-Gómez<sup>1</sup>, J. Camarillo-Cisneros<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Diseño, Análisis y Prototipo de Tecnología Biomédica, Universidad Autónoma de Chihuahua/ Facultad de Medicina y Ciencias Biomédicas, Ingeniería Biomédica, Chihuahua, Chihuahua, México

<sup>2</sup>Departamento de Cirugía, Hospital Central de Chihuahua, Chihuahua, Chihuahua, México

\* javier.camarillo@uach.mx

**Resumen**— El presente trabajo de investigación se centra en crear una metodología de cálculo computacional aplicable inicialmente a las familias de antibióticos de fluoroquinolonas y carbapenems. En esta etapa han sido obtenidas geometrías de cada especie molecular: distancias de enlace y ángulos de torsión. Los métodos de simulación de física y química computacional fueron desde el nivel teórica de Force Field (enfoque clásico) hasta Density Functional Theory (enfoque cuántico), esta segunda incluyendo interacciones de van der Waals. Las geometrías optimizadas finales permitieron crear los medibles de espectroscopia Raman para realizar comparaciones directas contra resultados experimentales publicados. Debido a la buena correlación de los espectros analizados se concluye que la metodología es válida y podrá ser extendida a más familias de antibióticos. La creación de información química/física confiable en las diferentes familias y generaciones de antibióticos es la etapa inicial que permitirá diseñar computacionalmente moléculas nuevas con potencial uso antibacterial.

**Palabras clave**—Antibióticos, Force Field, DFT

### I. INTRODUCCIÓN

El diseño computacional de antibióticos (DCA) abarcan un conjunto de métodos teóricos tanto del área química como física. Los métodos computacionales enfocados en aplicaciones relacionadas al área de salud han crecido en la última década, lo que resaltar la importancia de estos [1]. Así mismo, diversos métodos novedosos empleados en física o química pueden transferirse al DCA como por ejemplo incluir interacciones dispersivas que ayuden a obtener geometrías que cumplan con criterios de medibles experimentales.

El conjunto de cálculos mencionados referente a DCA forma parte de un estudio multidisciplinario dirigido al desarrollo de nuevos fármacos. La existencia de programas computacionales abre la posibilidad de llevar directamente gran cantidad de caminos hipotéticos de reacción y concluir si es posible la formación de una molécula. Sin embargo, los acercamientos que pueden llevarse a cabo en ocasiones son insuficientes, como por ejemplo en DFT acoplado a funcionales de intercambio y correlación como son Local-density approximations (LDA) y Perdew, Burke and Ernzerhof (PBE) ampliamente aplicados en física y química.

Las limitantes de LDA y PBE estándar se subsanan en gran parte en el caso de diseño de moléculas incluyendo interacciones de van der Waals. Los resultados que buscamos concentrar en una tabla de referencia serán un punto confiable de comparación a partir de la cual se pueden proponer nuevos antibióticos.

### II. METODOLOGÍA

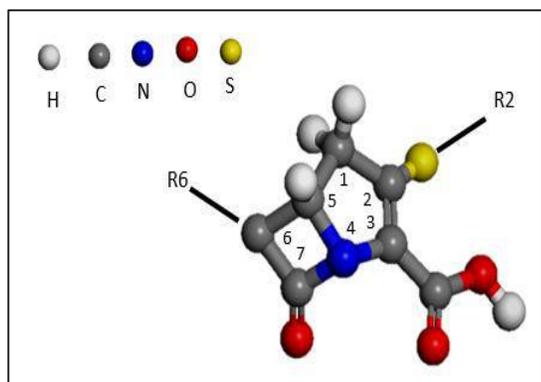
Fueron empleados dos niveles de teoría en la obtención de las geometrías energéticamente preferentes. Las moléculas empleadas correspondieron a los antibióticos de las familias de fluoroquinolonas y carbapenemicos. Empleando primero un acercamiento semi clásico se obtuvieron geometrías iniciales por medio de la metodología conocida como Force Field como se encuentra implementado en el código Thinker. Del resultado de la búsqueda del espacio conformacional se tomaron las 5 moléculas más estables para ser tratadas empleando Density Functional Theory (DFT) en el código all-electron full-potential de bases numéricas centradas en cada átomo FHI-aims. Los medibles a crear a partir de la molécula más estable en cada especie fue el espectro Raman empleando el funcional estándar PBE, así como las versiones con interacciones de van der Waals PBE+vdW. Los efectos relativistas se toman en cuenta por medio de la aproximación atomic scalar zeroth-order mientras que los efectos dispersivos se toman en cuenta como la suma de pares del método TS [2].

### III. RESULTADOS

Los resultados en los que se centra la primera etapa de la creación de la tabla de referencias corresponde a geometrías de cada molécula. Se emplean dos familias de antibióticos; quinolonas y carbapenems. Los carbapenems son los antibióticos  $\beta$ -lactámicos dotados de mayor espectro, actividad y resistencia a las  $\beta$ -lactamasas. Los carbapenems son similares en cuanto a espectro, pero tienen diferencias en su actividad antimicrobiana y esto determina las indicaciones clínicas de cada antibiótico. Los carbapenems inhiben la síntesis de la pared celular durante la transpeptidación uniéndose a residuos de serina de peptidasas situadas en la

cara externa de la membrana citoplasmática denominadas PBP. Las quinolonas son un grupo de antibióticos enteramente sintéticos, la introducción de un átomo de flúor en la molécula base de las quinolonas dio lugar a antibióticos con espectro mayor llamados fluoroquinolonas. Las quinolonas y fluoroquinolonas son antibióticos bactericidas que actúan en el ADN cromosómico bacteriano al unirse e inhibir la actividad de las topoisomerasas, principalmente la ADN-girasa en bacterias gramnegativas. Los cálculos abarcaron desde el nivel teórico de FF hasta DFT+vdW.

La Figura 1 muestra la estructura base a partir de la cual se forman los carbapenémicos [6]. Dicha estructura es el resultado de la condensación de un anillo pirrolidínico y un anillo beta-lactámico. Este último, posee en 1 un átomo C el cual se relaciona a la potencia, espectro y estabilidad contra las beta-lactamasas. Se muestra además en la estructura base a R6 y R2 en átomos de C y S, respectivamente. Estos lugares de enlace a grupos funcionales es lo que permite crear la evolución de la 1ª a la 4ª generación de la familia de antibióticos. Las sustituciones en R6 tienen influencia en el grado de sensibilidad a distintas enzimas, Los cambios en R2 se relacionan con un aumento en la vida media de la molécula y su grado de actividad contra microorganismos gram+ y gram- [5].



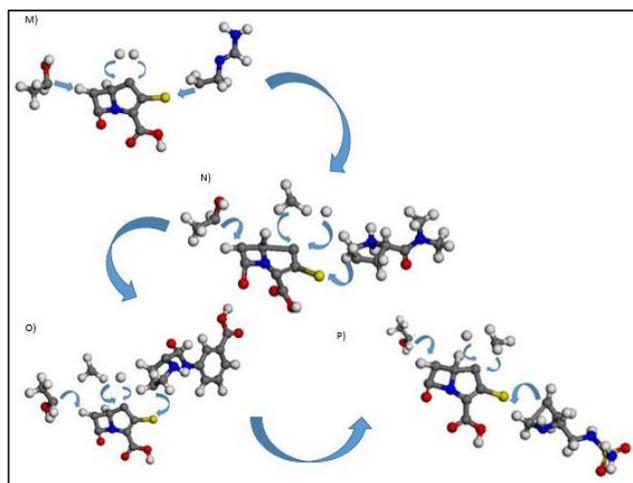
**Figura 1.** Estructura de la molécula base de la familia de los carbapenémicos. R2 y R6 muestran los lugares en los que se pueden llevar a cabo las sustituciones por grupos funcionales.

La Tabla 1 muestra una lista de los carbapenémicos formados por la metodología mencionada de agregar grupos funcionales a la base.

TABLA 1. Antibióticos de la familia de carbapenems de la 1ª a la 3ª generación.

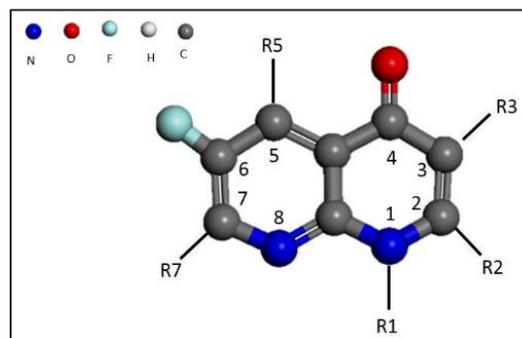
Antibiótico	Fórmula química [7]
M) Imipenem	$C_{12}H_{17}N_3O_4S$
N) Meropenem	$C_{17}H_{25}N_3O_5S$
O) Ertapenem	$C_{22}H_{25}N_3O_7S$
P) Doripenem	$C_{15}H_{24}N_4O_6S_2$

La Figura 2 muestra las diferentes moléculas en función de las composiciones que heredan de su respectivo antecesor. Las estructuras finales se obtuvieron al permitir la relajación atómica de toda la molécula después de agregar cada enlace entre la base y nuevos grupos funcionales.



**Figura 2.** Auto ensamble de moléculas de la familia de los carbapenems de la 1ª a la 4ª generación.

Respecto a las moléculas que forman la familia de antibióticos de quinolonas, la estructura base de las quinolonas mostrada en la Figura 1 [3]. La Tabla II concentra dicha evolución de la 1ª a 4ª generación e incluye 12 moléculas.



**Figura 3.** Estructura de la molécula base de la familia de las quinolonas. Los números 1 al 8 muestran los lugares en los que se pueden llevar a cabo las sustituciones por grupos funcionales.

La creación de moléculas con efecto antibiótico se obtendrá con dichos grupos funcionales enlazados en los átomos de C y de N que forman los anillos bencénicos. La excepción de esta sustitución sistemática es el par Flúor-Carbón en la posición 6. La estabilidad de este par permanece inalterada en todas las generaciones y da a la familia de antibióticos el nombre de fluoroquinolona.

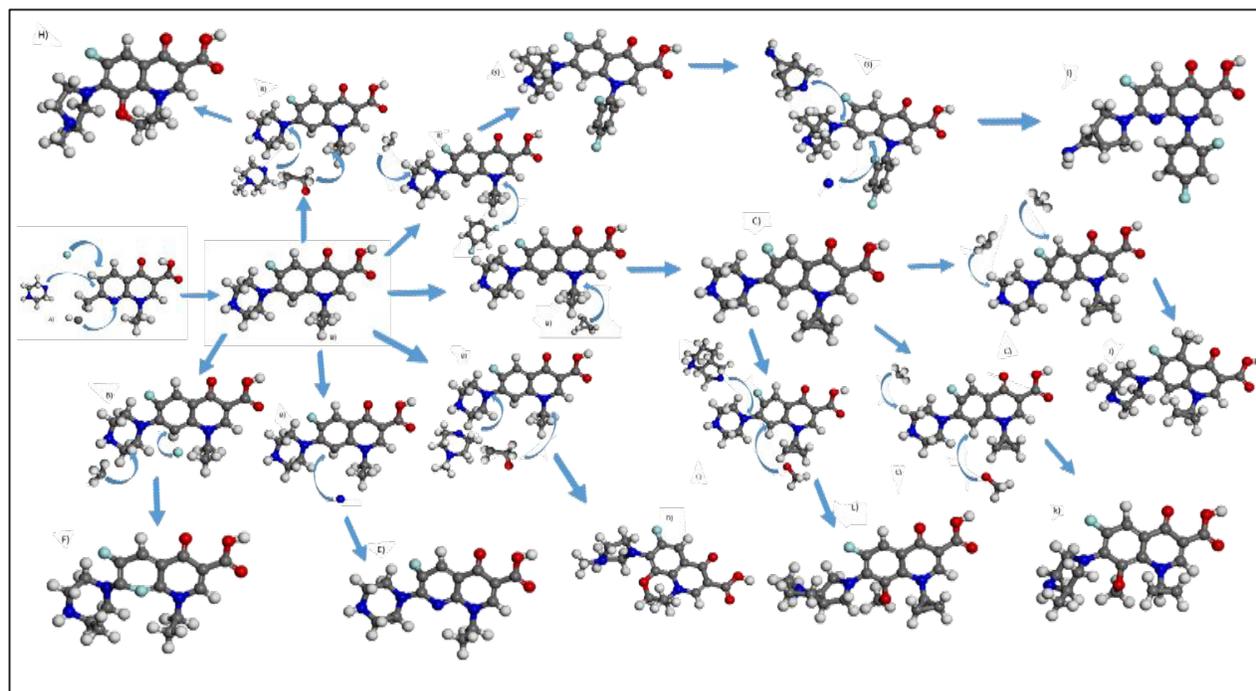
**TABLA II.** Moléculas pertenecientes a la familia de antibióticos de quinolonas de la 1ª a la 4ª generación.

Antibiótico	Formula química [8]
A) Ácido nalidíxico	$C_{12}H_{12}N_2O_3$
B) Norfloxacin	$C_{16}H_{18}FN_3O_3$
C) Ciprofloxacina	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$
D) Ofloxacina	$C_{18}H_{20}FN_3O_4$
E) Enoxacin	$C_{15}H_{17}FN_4O_3$
F) Lomefloxacina	$C_{17}H_{19}F_2N_3O_3$
G) Temafloxacina	$C_{21}H_{18}F_3N_3O_3$
H) Levofloxacina	$C_{18}H_{20}FN_3O_4$
I) Trovafloxacina	$C_{20}H_{15}F_3N_4O_3$
J) Grepafloxacina	$C_{19}H_{22}FN_3O_3$
K) Gatifloxacina	$C_{19}H_{22}FN_3O_4$
L) Moxifloxacina	$C_{21}H_{24}FN_3O_4$

Partiendo de la Figura 3 se llevan a cabo reemplazo entre las posiciones 1-8 por grupos funcionales como se muestra en la Figura 4. Los cambios en R1 aumentan la potencia contra ciertos microorganismos y la farmacocinética. En R3 permiten la unión a topoisomerasas, girasas y el transporte transmembrana. R5 incrementan la absorción, distribución y actividad sobre bacterias gram positivas. En R6 aumentan la actividad antimicrobiana y la unión al complejo topoisomerasa-ADN. En R7 aumentan la potencia, espectro y farmacocinética y en R8 aumentan la actividad antimicrobiana [9]. El comparativo contra el medible experimental se muestra en la Figura 5. En este caso se compara el espectro Raman contra dos cálculos teóricos empleando los funcionales PBE y PBE+vdW. Puede observarse que el patrón obtenido por medio de PBE no reporta interacciones entre 1200 a 1500  $cm^{-1}$  mientras que el espectro obtenido por PBE+vdW si contiene picos de interacciones. Ambos funcionales sobre estiman las intensidades inferiores a 1100  $cm^{-1}$ .

#### IV. DISCUSION DE RESULTADOS

Las geometrías obtenidas por Force Field y DFT varían ligeramente con  $\pm 4$  respecto a distancias de enlace e incluso menos con respecto a algunos ángulos de torsión ( $\pm 4$ ). Por otra parte, las diferencias entre PBE y PBE+vdW son en

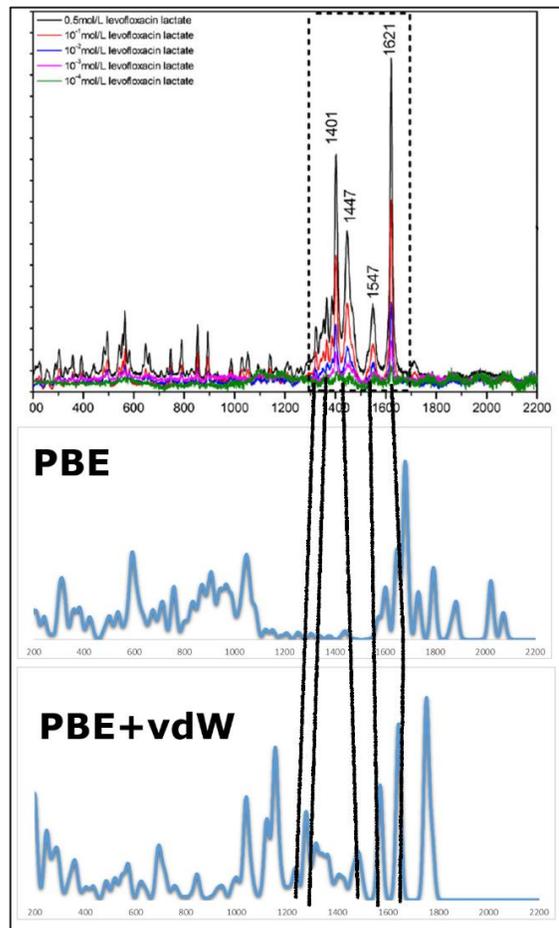


**Figura 4.** Moléculas de la familia de Fluoroquinolonas nombradas A) para la primera generación, de la B) → F) para la segunda generación, G) y H) para la tercera generación y I) → L) para la cuarta generación empleando el nivel de teoría PBE+vdW [4].

promedio 0.5% para distancias de enlace. La metodología propuesta para llevar a cabo el análisis conformacional de diferentes moléculas de antibióticos por medio de FF y DFT+vdW se pudo aplicar a moléculas con átomos de fuerte interacción como es S y N en los carbapenems ya que pudo converger cada estructura propuesta independientemente de las interacciones de las diferentes especies autoicas. El auto ensamble de los lugares R2 y R6 en la base de carbapenems son abordados por la metodología de igual manera. Las simulaciones involucradas en la estructura base de las quinolonas, seguido de las 12 estructuras tomaron ventaja de la modificación directa de estructuras previas que heredan características geométricas, lo cual reduce tiempos de cálculo significativamente. El paso siguiente que involucro cálculos por medios de DFT y DFT+vdW mostró pequeñas diferencias geométricas como se esperaba, basándonos en previos resultados publicados donde incluyen interacciones de vdW en moléculas. Sin embargo, si bien los cambios geométricos son pequeños los cálculos de espectroscopia Raman muestran diferencias significativas. Esta característica es dividida a que la matriz Hessian calculada en la aproximación perturbativa aumenta las interacciones entre átomos vecinos, resaltando los efectos de distancias pequeñas obtenidas en PBE. La reproducción de espectroscopia Raman se apega a los resultados experimentales en las 2 mas bajas concentraciones de Levofloxacin a 0.5 mol/L y 1.0 mol/L de concentración en sangre. Esto es debido que el modelo molecular actual no toma en cuenta interacción molécula - molécula presentes en concentraciones altas. Centrándose entonces en los espectros a bajas concentraciones se reproducen los picos más altos, sin embargo, desfasados en promedio  $\pm 10 \text{ cm}^{-1}$  lo cual permite análisis cualitativo solamente como medio de comparación.

## V. CONCLUSIÓN

El presente estudio se enfoca en la simulación teórica de moléculas que forman las familias de antibióticos quinolonas y carbapenems. Los modelos moleculares finales corresponden a los componentes de las generaciones de uso actual en ambos casos. Fueron evaluadas las geometrías y comparadas contra el medibles experimental de espectroscopia Raman. Si bien las especies químicas fueron simuladas por medio de la aproximación semi-clásica Force Field son solo las estructuras obtenidas al nivel de DFT las que reproducen con precisión necesaria para comparar directamente con resultados experimentales. Sin embargo, el funcional de intercambio y correlación PBE debe de incluir las interacciones de van der Waals (PBE+vdW) para capturar una cantidad de modos de vibración comparable al experimento.



**Figura 5.** Comparación de espectro Raman experimental y teóricos A) espectro a diferentes concentraciones reportado por [10] B) Espectro Raman calculado por el funcional PBE, C) Espectro Raman calculado por medio del funcional PBE+vdW.

La metodología presentada que se basa en FF, DFT e interacciones de vdW será extendida a todas las familias de antibióticos empleados actualmente en el sector salud. La información química deberá de ser aplicable en una etapa subsecuente para proponer nuevos antibióticos como enfoque multidisciplinario que enfrente los casos de resistencias bacterianas.

## RECONOCIMIENTOS

A. P. Leyval y A. García agradecen a la Universidad Autónoma de Chihuahua por las instalaciones y equipo de cómputo necesarios. Los autores agradecen al Laboratorio Nacional de Supercomputo del Sureste de México por la capacidad de cálculo bajo el proyecto 201801030N.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Medina-Franco, JL, Lopez-Vallejo F, Castillo R. Diseño de fármacos asistido por computadora. *Educación Química*. 17: 452-457, 2006.
- [2] Tkatchenko A, Scheffler M. Accurate Molecular Van Der Waals Interactions from Ground-State Electron Density and Free-Atom Reference Data. *Phys. Rev. Lett.* 102: 1-4, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.102.073005>
- [2] W. Petri, “Sulfonamidas, trimetoprim-sulfametoxazol, quinolonas y fármacos contra infecciones urinarias” en Goodman y Gilman: Las bases farmacológicas de la terapéutica, L. Brunton, Ed. Mc Graw Hill, Col, 2007, cap. 43, pp. 1118–1122.
- [3] R. Finkel, “Quinolonas, antagonistas del ácido fólico y antisépticos del tracto urinario” en *Farmacología*, A. Harvey, C. Champe, Ed. Lippincott Williams & Wilkins, PA, 2009, cap. 33, pp. 387–391.
- [4] Moreno K. Carbapenémicos: Tipos y mecanismos de resistencia bacterianos. *Rev. Médica de Costa Rica y Centroamérica*. 70(608): 599-605, 2013.
- [5] Sánchez-Saldaña L, Sáenz-Anduaga E, Pancorbor-Mendoza J, Lanchipa-Yokota P, Zegarra-Del-Carpio R. Antibióticos sistémicos en dermatología. *Rev. Dermatología Peruana*. 14(3): 161-179, 2014.
- [6] Mella S, *et al.* Quinolonas: Aspectos generales sobre su estructura y clasificación. 2000.
- [7] Leyva S, Leyva E. Fluoroquinolonas. Mecanismos de acción y resistencias, estructura, síntesis y reacciones fisicoquímicas importantes para propiedades medicinales. 2008. *Antibiotics: Mode of action and mechanisms of resistance*.
- [8] Fresnadillo-Martínez MJ, García-García MI, Enrique García-Sánchez E, García-Sánchez JE. Los carbapenems disponibles: propiedades y diferencias. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010. 28(2):53-64, 2010.
- [9] Bado I, Cordeiro N, García V, Robino L, Seija V, Vignoli R. Principales grupos de antibióticos. 2008.
- [10] Shupeng Liu, Jing Huang, Zhenyi Chen, Na Chen, Fufei Pang, Tingyun Wang and Linshui Huc. Raman spectroscopy measurement of levofloxacin lactate in blood using an optical fiber nano-probe.