



**EVALUACIÓN *In silico* DE LA AFINIDAD DE 12 MOLÉCULAS SOBRE
PROTEÍNAS INVOLUCRADAS EN LA FORMACIÓN DE BIOPELICULA DE
*Streptococcus mutans***

**ALLISON NATALLY ZAPATA TOVAR
VALENTINA TREJOS PÉREZ
DANIELA MARTÍNEZ CORREA**

Universidad Antonio Nariño

Programa de Odontología

Facultad de Odontología

Armenia, Colombia

2022

**EVALUACIÓN *In silico* DE LA AFINIDAD DE DOCE MOLÉCULAS SOBRE
PROTEÍNAS INVOLUCRADAS EN LA FORMACIÓN DE BIOPELICULA DE
*Streptococcus mutans***

**ALLISON NATALLY ZAPATA TOVAR
VALENTINA TREJOS PÉREZ
DANIELA MARTÍNEZ CORREA**

Proyecto de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:

ODONTÓLOGO

Director (a):

RAUL EDUARDO RIVERA
B.Sc., M.Sc., Ph.D.

Codirector (a):

CRISTIAN CAMILO ROCHA ROA
Qco. M.Sc.

Universidad Antonio Nariño

Programa de Odontología

Facultad de Odontología

Armenia, Colombia

2022

NOTA DE ACEPTACIÓN

El trabajo de grado titulado

_____, Cumple con

los requisitos para optar

Al título de _____.

Firma del Tutor

Firma Jurado

Firma Jurado

Resumen

De las enfermedades infecciosas que afectan a los seres humanos, la caries dental es probablemente la más prevalente. Se describe la caries dental como un proceso dinámico de desmineralización y remineralización, producto del metabolismo bacteriano sobre la superficie dentaria, que con el tiempo puede producir una pérdida neta de minerales y posiblemente, aunque no siempre, resultará en la presencia de una cavidad. Las bacterias orales pertenecen a una comunidad compleja de numerosas especies que participan en la formación de la placa bacteriana (biofilm o biopelículas) con todas sus funciones, interacciones y propiedades. El concepto actual contempla que varios microorganismos se incluyen en la patogénesis de la caries dental, siendo el *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) es el agente más importante asociado a ella.

El *Streptococcus mutans* tiene diferentes proteínas involucradas en la formación de biofilm. Las estrategias bioinformáticas para la búsqueda de fármacos que sirvan para el tratamiento de diferentes enfermedades, pueden ser utilizados en la odontología, por eso con este trabajo se logró evaluar *In silico* la afinidad de doce moléculas sobre proteínas involucradas en la formación de biofilm del *Streptococcus mutans*. Se seleccionaron doce moléculas previamente reportadas por (Rivera-Quiroga et al., 2021) y se realizaron acoplamiento remoto con seis proteínas GBP-C, esterasa CE4, GTF-C, sortasa A y dos dominios del Ag I/II para identificar la afinidad de estas moléculas sobre dichas proteínas.

PALABRAS CLAVES: Caries dental, bioinformática, *S. mutans*, proteínas GBP-C, esterasa CE4, GTF-C, sortasa A, Ag I/II.

Abstract

Of the infectious diseases affecting humans, dental caries is probably the most prevalent. Dental caries is described as a dynamic process of demineralization and remineralization, a product of bacterial metabolism on the tooth surface, which over time can produce a net loss of minerals and possibly, but not always, result in the presence of a cavity. Oral bacteria belong to a complex community of numerous species that participate in the formation of bacterial plaque (biofilm or biofilm) with all its functions, interactions and properties. The current concept contemplates that several microorganisms are included in the pathogenesis of dental caries, with *Streptococcus mutans* being the most important agent associated with it.

Streptococcus mutans has different proteins involved in biofilm formation. Bioinformatics strategies for the search of drugs for the treatment of different diseases can be used in dentistry, so with this work it was possible to evaluate *In silico* the affinity of twelve molecules on proteins involved in the biofilm formation of *Streptococcus mutans*. Twelve molecules previously reported by (Rivera-Quiroga et al., 2021) were selected and remote docking with six proteins GBP-C, CE4 esterase, GTF-C, sortase A and two Ag I/II domains were performed to identify the affinity of these molecules on these proteins

Table of Content

INTRODUCCIÓN	2
1. JUSTIFICACION.....	4
2. OBJETIVOS.....	5
2.1 OBJETIVO GENERAL	5
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
3. MARCO TEORICO	6
3.1 CARIES DENTAL	7
3.1.1 <i>Clasificación de caries</i>	8
3.2 BIOFILM DENTAL:.....	10
3.3 <i>STREPTOCOCCUS MUTANS</i> :.....	11
3.4 PROTEÍNAS DE ADHESIÓN DE <i>S. MUTANS</i> :	11
3.4.1 <i>Esterasa (PDB:2W3Z)</i>	11
3.4.2 <i>GBP-C (PDB:5UQZ)</i>	12
3.4.3 <i>Antígeno I/II (PDB:3IPK)</i>	12
3.4.4 <i>Sortasa A (PDB:4TQX)</i>	12
3.4.5 <i>GTF-C (PDB:3AIB)</i>	12
3.5 HERRAMIENTAS BIOINFORMÁTICAS.....	13
3.5.1 <i>Protein Data Bank</i>	13
3.5.2 <i>AutoDock</i>	13
3.5.3 <i>AutoDock Vina</i>	14
3.5.4 <i>Docking Molecular</i>	14
3.5.5 <i>Programa de visualización de estructuras cristalizadas Chimera</i>	15
3.5.5 <i>BIOVIA Discovery</i>	15
4. ANTECEDENTES	16
5.1 TIPO DE ESTUDIO:.....	19
ESTUDIO <i>IN SILICO</i>	19
5.2 DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO:.....	19
5.3 LOCALIZACIÓN DE LOS MEJORES SITIOS DE UNIÓN:.....	20
5.4 CORRER UN CÁLCULO DE ACOPLAMIENTO MOLECULAR USANDO AUTODOCK VINA	21
5.5 VISUALIZACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	21
6. RESULTADOS.....	22
6.1 COMPUESTOS SELECCIONADOS	22
6.2 SELECCIÓN DE SITIOS DE UNIÓN DE LIGANDO	25
6.3 COORDENADAS DE LA PROTEÍNA ESTERASA (2W3Z).....	25
6.3.1 <i>Resultados de docking para la proteína esterasa</i>	25
COACH-D PARA LA ESTERASA (2W3Z).	26
6.3.2 <i>Docking molecular de la proteína esterasa (2W3Z) con cada una de los 12 compuestos</i>	27
6.3.3 <i>Interacción 2D de los compuestos de mayor y menor afinidad por la proteína esterasa</i>	28
6.4 COORDENADAS DE LA PROTEÍNA GLUCOSILTRANSFERASAS (GTFS) (3AIB)	30
6.4.1 <i>Resultados del docking para la proteína glucosiltransferasa</i>	30
6.4.2 <i>Docking molecular de la proteína glucosiltransferasa (3AIB) con cada una de los 12 compuestos</i>	31
6.4.3 <i>Interacción 2D de los compuestos de mayor y menor afinidad por la proteína glucosiltransferasa</i>	33
6.5 COORDENADAS DE LA PROTEÍNA ANTÍGENO I/II (3IPK).....	35

6.5.1	<i>Resultados del docking para la proteína antígeno I/II.</i>	35
6.5.2	<i>Docking molecular de la proteína antígeno I/II (3IPK) con cada una de los 12 compuestos.</i>	36
6.5.3	<i>Interacción 2D de los compuestos de mayor y menor afinidad por la proteína glucosiltransferasa.</i>	38
6.6	COORDENADAS DE LA PROTEÍNA SORTASA (4TQX)	40
6.6.1	<i>Resultados del docking para la proteína sortasa</i>	40
6.6.2	<i>Docking molecular de la proteína sortasa (4TQX) con cada una de los 12 compuestos.</i>	41
6.6.3	<i>Interacción 2D de los compuestos de mayor y menor afinidad por la proteína sortasa.</i>	43
	44
6.7	COORDENADAS DE LA PROTEÍNA DE UNIÓN A GLUCANOS (GBPs)	45
6.7.1	<i>Resultados del docking para la proteína de unión a glucanos.</i>	46
6.7.2	<i>Docking molecular de la proteína de unión a glucanos (5UQZ) con cada una de los 12 compuestos.</i>	47
6.7.3	<i>Interacción 2D de los compuestos de mayor y menor afinidad por la proteína de unión a glucanos.</i>	48
	49
7.	DISCUSIÓN	50
8.	CONCLUSIONES	53
9.	ANEXOS	54
	INTERACCIÓN 2D DE LOS 12 COMPUESTOS CON CADA UNA DE LAS 5 PROTEÍNA (ESTERASA, GBP-C, AG I/II, SORTASA A, GTF-C) DEL <i>S. MUTANS</i>	54

Lista de Tablas

Tabla 1. Sitios susceptibles a caries.	8
Tabla 2. Estadios de la caries.	9
Tabla 3. Datos de los 12 compuestos utilizados en este trabajo en donde se incluye código ZINC, su estructura y su Smile.	22
Tabla 4: Aminoácidos asociados a los <i>pockets</i> de cada proteína.	25
Tabla 5: Datos de las coordenadas obtenidas en el predictor de sitios de unión a proteínas	26
Tabla 6. Resultados de energía de interacción obtenidos del <i>docking</i> para la interacción de la proteína esterasa (2W3Z) con los compuestos seleccionados.	26
Tabla 7: Datos de las coordenadas obtenidas en el predictor de sitios de unión a proteínas COACH-D para las Glucosiltransferasas (3AIB).	30
Tabla 8: Resultados de energía de interacción obtenidos del <i>docking</i> para la interacción de la proteína glucosiltransferasas (3AIB) con los compuestos seleccionados.	31
Tabla 9: Datos de las coordenadas obtenidas en el predictor de sitios de unión a proteínas COACH-D para el antígeno I/II.	35
Tabla 10: Resultados de energía de interacción obtenidos del <i>docking</i> para la interacción de la proteína antígeno I/II (3IPK) con los compuestos seleccionados.	36
Tabla 11: Datos de las coordenadas obtenidas en el predictor de sitios de unión a proteínas COACH-D para la sortasa.	40
Tabla 12: Resultados de energía de interacción obtenidos del <i>docking</i> para la interacción de la proteína sortasa (4TQX) con los compuestos seleccionados.	41
Tabla 13: Datos de las coordenadas obtenidas en el predictor de sitios de unión a proteínas COACH-D para la proteína de unión a glucanos (5UQZ).	45
Tabla 14: Resultados de energía de interacción obtenidos del <i>docking</i> para la interacción de la proteína de unión a glucanos (5UQZ) con los compuestos seleccionados.	46

Lista de Figuras

Figura 1: Visualización esquemática de los 12 compuestos acoplados en la proteína esterasa. ..	28
Figura 2: Interacción entre el compuesto ZINC70686498 con mayor afinidad y el sitio activo de la proteína esterasa.	29
Figura 3: Interacción entre el compuesto ZINC70669788 con menor afinidad y el sitio activo de la proteína esterasa.	29
Figura 4: Visualización esquemática de los 12 compuestos acoplados en la proteína glucosiltransferasa.	33
Figura 5: Interacción entre el compuesto ZINC34257514 de mayor afinidad y el sitio activo de la proteína glucosiltransferasas (Gtfs).....	33
Figura 6: Interacción entre el compuesto ZINC59608258 de menor interacción y el sitio activo de la proteína glucosiltransferasas (Gtfs)	34
Figura 7: Visualización esquemática de los 12 compuestos acoplados en la proteína antígeno I/II.	38
Figura 8: Interacción entre el compuesto ZINC70669789 (A) y ZINC68568370 (B) con mayor afinidad y el sitio activo de la proteína antígeno I/II.....	39
Figura 9: Interacción entre el compuesto ZINC70669788 y el sitio activo de la proteína antígeno I/II.....	39
Figura 10: Visualización esquemática de los 12 compuestos acoplados en la proteína sortasa. ..	43
Figura 11: Interacción entre el compuesto ZINC34257514 con mayor afinidad y el sitio activo de la proteína sortasa.....	44
Figura 12: Interacción entre el compuesto ZINC70669788 con menor afinidad y el sitio activo de la proteína sortasa.	45
Figura 13: Visualización esquemática de los 12 compuestos acoplados en la proteína de unión a glucanos.....	48
Figura 14: Interacción entre el compuesto ZINC68568370 con mayor afinidad y el sitio activo de la proteína de unión a glucano (Gbps).....	49
Figura 15: Interacción entre el compuesto ZINC12369546 con menor afinidad y el sitio activo de la proteína de unión a glucano (Gbps).....	49
Figura 16: Ubicación de las proteínas asociadas a <i>S. mutans</i> y sus características.	51

INTRODUCCIÓN

La caries dental es una enfermedad infecciosa de origen microbiano, localizada en los tejidos duros dentarios, que se inicia con una desmineralización del esmalte por ácidos orgánicos producidos por bacterias orales. La patogenicidad de ciertas especies microbianas como *Streptococcus mutans*, está inseparablemente asociada con su capacidad para formar *biofilm* en superficies sólidas. La formación de *biofilm* se inicia por interacciones entre bacterias planctónicas y una superficie oral en respuesta a señales ambientales apropiadas. (Krzyściak et al., 2014). Es una enfermedad multifactorial muy prevalente que afecta casi al 95% de la población. Los aspectos microbiológicos son fundamentales para el desarrollo de la enfermedad, pues una vez que las bacterias cariogénicas estén en boca tienen la oportunidad de comenzar a crecer, multiplicarse, sobrevivir y establecerse como miembros del microbiota oral, los cuales poseen diferentes factores de virulencia como proteínas GTF (Glicosiltransferasas), GBPs (proteínas de unión a glucanos) y adhesinas como Ag I/II (antígeno I/II), que permiten su adhesión al tejido dental para formar *biofilm* y finalmente generar una disminución en el pH bucal que causa el deterioro estructural de los dientes y aunque en la actualidad se han propuesto diversas estrategias para prevenir esta enfermedad, muchas de ellas están dirigidas a disminuir la carga bacteriana de manera general, afectando la microbiota normal oral (Scharnow et al., 2019).

El *Streptococcus mutans*, es un microorganismo bacteriano que produce proteínas, que promueven su adhesión. La prevalencia de enfermedades de *biofilm*, y la caries dental en particular, han alentado una investigación extensa sobre biopelículas de *S. mutans*, incluidos los métodos para prevenir su formación. Se han aislado y sintetizado numerosas moléculas pequeñas con actividad específica anti-*biofilm* frente a este patógeno; generalmente estas moléculas se

pueden caracterizar en tres categorías: anti-adhesión dependiente de sacarosa, anti-adhesión independiente de sacarosa e interferencia de señalización celular (Lemos et al., 2019).

En un estudio previo basado en estrategias computacionales se estudiaron 883.551 moléculas, de las cuales se evaluaron *in vitro* tres compuestos con alta afinidad a la proteína adhesina Ag I/II de *Streptococcus mutans* para tratar de inhibir la formación de la adhesión, estos compuestos presentaron un porcentaje de inhibición superior al 90% de adhesión. Por lo anterior, el grupo de investigación en salud oral realizó un estudio donde encontraron 4 compuestos con alta afinidad a la proteína adhesina Ag I/II de *Streptococcus mutans* para tratar de inhibir la adhesión, de los cuales, 3 fueron sometidos a evaluación *in vitro* presentando un alto porcentaje de inhibición de adhesión de esta bacteria (Rivera-Quiroga et al., 2021). Sin embargo, en este estudio no se exploraron otros blancos de estos compuestos, lo cual lleva a plantear la búsqueda de otras proteínas de *S. mutans* relacionadas a la adhesión y formación de *biofilm*. Por lo tanto, en este trabajo por medio del uso de la técnica de acoplamiento molecular, se amplió el estudio a 5 proteínas asociadas a la adhesión para evaluar las 12 mejores moléculas reportadas en dicho estudio, sugiriendo así, nuevos receptores interesantes para la búsqueda de compuestos anti-*biofilms* de *S. mutans.*, para estos compuestos no se conoce cuál podría ser la afinidad con otras adhesinas o proteínas que también estén involucradas en la formación de *biofilm*, por lo antes mencionado, nos lleva a cuestionar ¿Cuál es la afinidad que existe entre doce moléculas pequeñas por proteínas de *Streptococcus mutans* asociadas a la formación de *biofilm* dental?

1. JUSTIFICACION

La caries es una de las enfermedades que afecta a todo tipo de población y generara altos gastos en salud publica debido a las campañas de prevención y tratamiento que se realiza en una población con la finalidad de disminuir los casos, por ello, es muy importante generar mecanismos y estrategias para este fin, pues estudios confirman que tanto países industrializados y los que están en proceso de industrialización les ha resultado complejo acceder a un tratamiento oportuno para erradicar o disminuir dicha enfermedad (Gao et al., 2016).

Las herramientas bioinformáticas han demostrado que tienen una gran capacidad para encontrar moléculas que sean muy específicas en atacar un patógeno en particular y para *Streptococcus mutans* en los últimos años se han propuesto algunas moléculas promisorias para su actividad anticariógenicas. En el caso del trabajo realizado por (Rivera-Quiroga et al., 2021), se seleccionaron cuatro moléculas con afinidad a una proteína adhesina de *S. mutans* y se comprobó experimentalmente la capacidad, de tres de estas moléculas, de inhibir la adhesión de esta bacteria, por tanto se hace necesario evaluar si estas moléculas tienen una alta afinidad por otras proteínas involucradas en el proceso de formación de *biofilm* y que sustenten la posibilidad de realizar ensayos experimentales de la actividad inhibitoria de estas moléculas pequeñas en otras etapas de la maduración del *biofilm* dental.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Evaluar *In silico* la afinidad de 12 moléculas sobre proteínas involucradas en la formación de *biofilm* de *Streptococcus mutans*.

2.2 Objetivos Específicos

- Obtener las estructuras 3D de las proteínas de *S. mutans* y las pequeñas moléculas.
- Identificar los mejores sitios de unión de las proteínas de *S. mutans* para los ligandos.
- Evaluar los mejores sitios de unión entre las proteínas de *S. mutans* y las pequeñas moléculas.

3. MARCO TEORICO

La caries dental es la destrucción de los tejidos de los dientes causada por la presencia de ácidos producidos por las bacterias de la placa depositada en las superficies dentales. Este deterioro de los dientes está muy influenciado por el estilo de vida, es decir influye lo que comemos, la forma como cuidamos nuestros dientes (nuestros hábitos de higiene), la presencia de flúor en la sal y la pasta de dientes que utilizamos. La herencia también juega un papel importante en la susceptibilidad de sus dientes a las caries (Herrera, 2012). La prevención y conservación de la salud bucodental es primordial, ya que la mayoría de la población se halla afectada por caries dental, que es una enfermedad multifactorial la cual posee un origen infeccioso y además puede ser transmisible. Esta patología afecta a la mayor parte de la población en vías de desarrollo como a los no industrializados, se presenta desde lactantes hasta adultos mayores, por lo que representa un gran problema de salud pública en nuestro país.

Dicho padecimiento, es un proceso de desmineralización de los tejidos duros de los dientes y que por diversos factores puede trascender a un deterioro estructural de los dientes afectados, causando la formación de cavidades cariosas; entre otras complicaciones, la falta de información acerca de los diversos factores que causan esta enfermedad es el principal problema, ya que, al no tener el conocimiento, no se sabe de qué manera prevenirla (Mathur & Dhillon, 2018).

El origen de la caries es microbiano y el principal microorganismo presente en la placa dentobacteriana es el *Streptococcus mutans*; dicha placa también es llamada “biopelículas o *biofilm*”, está constituida por bacterias, además del *S. mutans* también se encuentran los *Actinomyces sp* y *Lactobacilos sp*, éstos se unen a la estructura del diente y, debido al consumo

excesivo de sacarosa, el pH salival baja y con esto se modifican las condiciones bucales, las cuales favorecen la influencia de bacterias cariogénicas (Scharnow et al., 2019).

La afinidad de las cuatro moléculas sobre proteínas involucradas en la formación de *biofilm* de *Streptococcus mutans*, elegidas para este proyecto es proteína C de unión a glucano, es un factor de virulencia dependiente de sacarosa del patógeno de caries dental *Streptococcus mutans*, estructura de una esterasa CE4, el primero, designado PgdA en este artículo muestra homología con los dominios catalíticos de peptidoglucanos desacetilasas de *Streptococcus pneumoniae* y *Listeria monocytogenes*, que se cree que están involucrados en el mecanismo de defensa bacteriano contra la lisozima de la mucosa humana y son parte de la familia de carbohidratos CAZY 4 esterasas, estructura cristalina de la glucanosucrasa, es un agente esencial en la patogénesis de la caries dental que sintetiza glucanos solubles e insolubles y es una glucósido hidrolasa y la sortasa A, que es una transpeptidasa que reconoce el motivo LPXTG C-terminal de las proteínas para escindir entre T y G (Rivera-Quiroga et al., 2021).

3.1 Caries dental

La caries dental es la consecuencia de cambios en el balance natural de la microflora de la placa dental causados por la alteración de las condiciones ambientales locales (homeostasis microbiana oral). El estudio de su participación en la colonización de tejidos dentales, implantación e interacción con otros microorganismos es de mucha importancia para la comprensión de la dinámica de el *biofilm* dentales (Clarke, 1975).

Se considera la caries como una enfermedad infecciosa y transmisible y la atención viró hacia los estreptococos, especialmente el *Streptococcus mutans*, aislado por primera vez en 1928. Además

de ser acidogénico y acidúrico, el *S. mutans* sintetiza un polisacárido extracelular pegajoso e insoluble a partir de la sacarosa que promueve la adhesión del organismo (Núñez & Bacallao, 2010).

3.1.1 Clasificación de caries

La caries se puede clasificar de acuerdo a:

Tabla 1. Sitios susceptibles a caries.

Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
Lesiones cariosas iniciadas en hoyos, fisuras, fosas en superficies oclusales, bucales y linguales de todos los dientes, y de otros defectos sobre las superficies planas de la corona (excepto las proximales).	Lesiones cariosas iniciadas sobre superficies proximales de todos los dientes.	Lesiones cariosas iniciadas sobre superficies coronarias o radiculares en el área.

Fuente: Dragana (Ajdić et al., 2002)

Tabla 2. Estadios de la caries.

Estadio de la progresión de la caries	Diagnóstico clínico	Opciones de tratamiento	Cociente restauración/diente
Estadio 0	Lesión actividad sin cavitación, sin necesidad de intervención.	Tratamiento de remineralización y/o sellante. Monitoreo subsiguiente de la lesión, lo que mostrará reversión o progresión	Cociente 0/5
Estadio 1	Lesión con alteraciones superficiales que han progresado hasta un punto en el cual la remineralización no es posible y el tratamiento restaurador está indicado	Preparación cavitaria mínimamente invasiva para una obturación adhesiva combinada con el tratamiento profiláctico en las superficies adyacentes	Cociente 1/5
Estadio 2	Lesión moderada con cavitación localizada que ha progresado en la dentina, sin debilitar cúspides, que requiere tratamiento	Preparación mínimamente invasiva para una cavidad mayor, combinada con el tratamiento profiláctico de las superficies adyacentes.	Cociente 2/5
Estadio 3	Lesión con cavitación extendida que ha progresado en la dentina que causa el debilitamiento de las y requiere tratamiento restaurador	Preparación cavitaria para una cúspides restauración directa o indirecta para el restablecimiento de la función, preservación y refuerzo de la unidad restauración/diente	Cociente 3/5

Estadio 4	Lesión que ha progresado hasta el punto que una o más cúspides están destruidas y se requiere tratamiento restaurador	Preparación cavitaria extendida para una restauración indirecta para el restablecimiento de la función, preservación y refuerzo de la unidad restauración/diente	Cociente 4/5
------------------	---	--	--------------

Fuente: Dragana (Ajdić et al., 2002)

3.2 Biofilm dental:

El *biofilm* son estructuras polimicrobianas tridimensionales, compuestas principalmente por la matriz de exopolisacáridos (EPS). Hay cuatro etapas principales en el ciclo de vida del *biofilm* dental. Las proteínas y glicoproteínas salivales forman una capa de película adquirida en la superficie del diente. Las bacterias orales, incluido el *S. mutans*, se adhieren a la película y secretan una matriz polimérica extracelular, seguida de la adhesión bacteriana, la coagregación y la encapsulación por la matriz EPS, lo que conduce a la maduración del *biofilm*. Por último, se produce la degradación del *biofilm* y su recolonización. La transición de las células planctónicas al *biofilm* puede realizarse mediante un mecanismo independiente o dependiente de la sacarosa. En ausencia de sacarosa, *S. mutans* se une a la película adquirida a través de factores de adhesión de superficie como el antígeno I/II y los correspondientes receptores salivales incluyen glicoproteínas, mucoproteínas, proteínas ricas en prolina, proteínas ricas en estaterina, proteínas ricas en histidina y amilasa. En presencia de sacarosa, *S. mutans* puede sintetizar glucanos a

través de las glucosiltransferasas (GTF). Los glucanos de unión para las bacterias son el principal componente de la matriz del *biofilm* junto con el ADNe, los ácidos lipoteicoicos (LTA) y las proteínas (Lin et al., 2021).

3.3 *Streptococcus mutans*:

Streptococcus mutans es uno de los principales agentes etiológicos de la caries dental humana y reside principalmente en el *biofilm* que se forman en la superficie de los dientes, también conocidas como placa dental. Además de la caries, *S. mutans* es responsable de casos de endocarditis infecciosa y un subconjunto de cepas está indirectamente implicado en la aparición de otras patologías extraorales. Durante las últimas cuatro décadas, los estudios funcionales de *S. mutans* se han centrado en la comprensión de los mecanismos moleculares que emplea el organismo para formar robustas *biofilm* en las superficies de los dientes, para metabolizar rápidamente una amplia variedad de carbohidratos obtenidos de la dieta del huésped y para sobrevivir a los numerosos (y frecuentes) desafíos ambientales que se encuentran en las *biofilm* orales (Lemos et al., 2019).

3.4 Proteínas de Adhesión de *S. mutans*:

3.4.1 Esterasa (PDB:2W3Z)

Las esterases son enzimas dependientes de metales que desacetilan polisacáridos como peptidoglucanos, quitina y acetilxilano. Por ejemplo, los peptidoglucanos desacetilasas bacterianas des-N-acetilan GlcNAc y los azúcares del ácido *N* - acetilmurámico (MurNAc) en la unidad repetida de disacárido presente en el peptidoglucano de la superficie celular (Deng et al., 2009).

4.4.2 GBP-C (PDB:5UQZ)

Las proteínas de unión a glucano (Gbps) se clasificaron como factores de virulencia dependientes de sacarosa, del patógeno de la caries dental *Streptococcus mutans*. GbpC comparte no sólo similitudes estructurales con las regiones V de AgI/II y SspB, sino también adherencia funcional a la aglutinina salival (Mieher et al., 2018).

4.4.3 Antígeno I/II (PDB:3IPK)

El antígeno I/II de *S. mutans* se ha implicado en la adherencia bacteriana a los constituyentes de la película salival y ha sido estudiado durante las últimas tres décadas como un objetivo para la inmunidad protectora contra la caries dental. Además de la adherencia, Ag I/II influye en la formación de *biofilm* y promueve la agregación plaquetaria, la invasión bacteriana de la dentina dependiente del colágeno y la cariogenicidad (Larson et al., 2010).

4.4.4 Sortasa A (PDB:4TQX)

Las sortasas son una familia de transpeptidasas asociadas a la membrana que están altamente conservadas en bacterias Gram positivas. Son un objetivo prometedor para los inhibidores que tienen el potencial de usarse como terapias anti-infecciosas contra bacterias patógenas. Son responsables de la unión covalente de proteínas superficiales involucradas en la adherencia a las células huésped, la adquisición de hierro, la formación de biopelículas, la invasión, la señalización y la formación de Pili en la pared celular bacteriana (Wallock-Richards et al., 2015).

4.4.5 GTF-C (PDB:3AIB)

Las glucosiltransferasas (Gtfs) de *S. mutans* desempeñan papeles críticos en el desarrollo de la placa dental virulenta. Las Gtfs se absorben para producir glucanos in situ sobre el esmalte,

proporcionando los sitios para la colonización ávida por microorganismos y una matriz insoluble para la formación de la placa. Las Gtfs también se absorben a las superficies de otros microorganismos orales convirtiéndolos en productores de glucanos (Ito et al., 2011).

3.5 Herramientas Bioinformáticas

3.5.1 Protein Data Bank

Protein Data Bank (PDB: <http://www.rcsb.org/>) es una base de datos sobre las formas tridimensionales de proteínas, ácidos nucleicos y ensamblajes complejos que ayuda a los estudiantes e investigadores a comprender todos los aspectos de la biomedicina y la agricultura, desde la síntesis de proteínas hasta la salud y la enfermedad (Berman et al, 2000).

3.5.2 AutoDock

AutoDock es un conjunto de herramientas de acoplamiento automático. Está diseñado para predecir cómo moléculas pequeñas, como sustratos o fármacos candidatos, se unen a un receptor de estructura tridimensional conocida.

Las distribuciones actuales de AutoDock consisten en dos generaciones de software: AutoDock y AutoDock Vina (<http://autodock.scripps.edu/AutoDockTools>). Se implementa en el lenguaje de programación orientado a objetos Python y está construido a partir de componentes de software reutilizables. Los componentes de software reutilizables se utilizan para representar el ligando flexible, los conjuntos de parámetros y el cálculo de acoplamiento, lo que permite una gama de usos desde un solo uso hasta miles de experimentos de acoplamiento que involucran muchos conjuntos diferentes de moléculas, facilitando aplicaciones automatizadas de alto rendimiento. Proporciona un método interactivo para definir el árbol de torsión para un ligando y

receptor dados (Allouche, 2012).

3.5.3 *AutoDock Vina*

Es un programa para el acoplamiento molecular y el cribado virtual. Logra una aceleración de aproximadamente dos órdenes de magnitud, al tiempo que mejora significativamente la precisión de las predicciones del modo vinculante. Se logra una aceleración adicional a partir del paralelismo, mediante el uso de subprocesamiento múltiple en máquinas de múltiples núcleos. AutoDock Vina calcula automáticamente los mapas de cuadrícula y agrupa los resultados de una manera transparente para el usuario (Allouche, 2012).

4.5.4 *Docking Molecular*

En cuanto al diseño de fármacos basado en la estructura, el acoplamiento molecular es el método más común que se ha utilizado ampliamente desde principios de la década de 1980. (...) “Es un nuevo algoritmo de escalamiento bidimensional no supervisado, que emplea descriptores basados en vectores o no basados en vectores para visualizar el espacio químico.

El enfoque de acoplamiento molecular puede usarse para modelar la interacción entre una molécula pequeña y una proteína a nivel atómico, lo que nos permite caracterizar el comportamiento de las moléculas pequeñas en el sitio de unión de las proteínas diana, así como dilucidar los procesos bioquímicos fundamentales. El proceso de acoplamiento implica dos pasos básicos: la predicción de la conformación del ligando, así como su posición y orientación dentro de estos sitios y la evaluación de la afinidad de unión. Estos dos pasos están relacionados con los métodos de muestreo y los esquemas de puntuación, respectivamente (Meng et al., 2012).

3.5.4 Programa de visualización de estructuras cristalizadas Chimera

Chimera (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>) es un programa para la visualización interactiva y análisis de estructuras moleculares. Está basado en una arquitectura que garantiza que el mecanismo de extensión satisfaga las demandas de los desarrolladores externos que deseen incorporar nuevas características. Se presentan dos extensiones inusuales: Multiescala, que añade la capacidad de visualizar conjuntos moleculares a gran escala, como las capas virales, y Collaboratory, que permite a los investigadores compartir una sesión de Chimera de forma interactiva a pesar de estar en lugares distintos. Otras extensiones incluyen Multalign Viewer, para mostrar alineaciones de secuencias múltiples y estructuras asociadas; ViewDock, para examinar las orientaciones de los ligandos acoplados; Movie, para reproducir trayectorias de dinámica molecular; y Volume Viewer, para mostrar y analizar datos volumétricos. Chimera incluye una completa documentación para el usuario, es gratuito para los usuarios académicos y sin ánimo de lucro (Pettersen et al., 2004).

3.5.5 BIOVIA Discovery

Discovery Studio (<https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>) es un paquete de software completo para analizar y modelar moléculas estructuras, secuencias y otros datos de relevancia para los investigadores de ciencias de la vida. El producto incluye funcionalidad para ver y editar datos junto con herramientas para realizar análisis de datos básicos. Está diseñado para ofrecer un entorno interactivo para visualización y edición de estructuras moleculares, secuencias, datos de reflexión de rayos X, guiones y otros datos. Eso también proporciona un amplio conjunto de visores para mostrar gráficos y otras representaciones gráficas de datos (Accelrys, 2006).

COACH D

COACH D (<https://yanglab.nankai.edu.cn/COACH-D/>) Es una versión mejorada del servidor COACH para la predicción del sitio de unión proteína-ligando. En primer lugar, se utilizan cinco métodos individuales para predecir los bolsillos y residuos de unión a ligandos. Luego, los ligandos se acoplan en los bolsillos de unión. Una de las principales mejoras de COACH-D sobre COACH es que las poses de unión de ligandos se refinaron para hacerlas físicamente más realistas, utilizando el eficiente algoritmo de acoplamiento molecular AutoDock Vina. Además, COACH-D tiene una nueva opción para aceptar el envío de ligando.

4. ANTECEDENTES

Se han encontrado diversas investigaciones donde se describe que el *S. mutans* tiene diferentes proteínas involucradas en la formación de *biofilm* que contribuyen en su adhesión. Crowley y colaboradores (1999) en su estudio “Virulence of a spaP Mutant of *Streptococcus mutans* in a Gnotobiotic Rat Model” donde describe la importancia de proteínas conocidas como antígeno I / II que promueve la adherencia como primer paso a la colonización a la superficie dental. El estudio buscó “determinar qué efecto tiene la eliminación del gen para P1, spaP, tiene sobre la colonización y posterior cariogenicidad de este organismo *in vivo*” (Crowley et al., 1999). Otros estudios como el de Koo y colaboradores (2006) investigaron inhibidores como la apigenina que contribuyen a disminuir el efecto de la actividad de la glucosiltransferasa que afecta la acumulación de *biofilm* de *S. mutans*. Dicho estudio tuvo como resultado que “a apigenina modula la expresión genética de factores de virulencia en *S. mutans*” (Koo et al., 2006) teniendo un efecto positivo en la disminución de la colonización.

En el 2013, Hu y colaboradores mencionaron en su estudio la enzima sortasa A que es responsable de la modulación de las propiedades de la superficie y la formación de *biofilm* e influye en la cariogenicidad de *S. mutans*. Tuvieron como objetivo investigar la capacidad inhibidora de la curcumina contra la sortasa A de *S. mutans* y el efecto de esta. Los resultados indicaron que la curcumina es un inhibidor de la sortasa A de *S. mutans* y tiene características anticariogénicas prometedoras a través de un mecanismo mediado por la anti-adherencia (Hu et al., 2013). En el 2014, Robinette y colaboradores realizaron un estudio del antígeno I/II como candidato para la elaboración de una vacuna contra la caries dental en esta investigación se encontró que “que los anticuerpos monoclonales inmunomoduladores (MAbs) anti-AgI/II ejercían sus efectos al desestabilizar la estructura de la proteína nativa” (Robinette et al., 2014). Por otro lado, en el 2016, Ren y colaboradores realizaron un estudio el cual fue diseñado para identificar moléculas novedosas que se dirijan a Gtfs, inhibiendo así al *S. mutans* y su formación de *biofilm* ya que tiene el potencial de prevenir la caries dental. Obteniendo como resultado, “un compuesto de molécula pequeña dirigido a las glucosiltransferasas de *S. mutans* con la capacidad de inhibir la formación de *biofilm* y la cariogenicidad y representa una aplicación de detección virtual basada en estructuras en el campo de la investigación dental. Con su bajo peso molecular y su favorable eficacia in vitro e in vivo, el compuesto tiene el potencial de convertirse en una preparación para la prevención de la caries dental” (Ren et al., 2016). En el año 2019, Matsumoto escribió un artículo titulado Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for *biofilm* formation donde menciona que se ha descubierto un sistema de detección de quórum mediado por un péptido señal codificado por comCDE es un sistema regulador que responde a la densidad celular y a ciertas tensiones ambientales al excretar una molécula de señal peptídica denominada CSP (péptido estimulante de la competencia, en este se estudio dio a conocer “Los sistemas de transducción de señales de dos componentes son comúnmente utilizados por las bacterias para

regular la expresión del gen de la bacteriocina y también están relacionados con la formación de biopelículas por parte de *S. mutans*”(Matsumoto-Nakano, 2018) un año más adelante, en el 2019 Scharnow y colaboradores mencionaron las moléculas pequeñas con actividad anti-biopelícula específica frente a este patógeno, el *S. mutans* las cuales se caracterizan en tres categorías: anti-adherencia dependiente de sacarosa, anti-adherencia independiente de sacarosa e interferencia de señalización celular. Esta revisión tiene como objetivo proporcionar una descripción general de las estrategias actuales de moléculas pequeñas utilizadas para atacar el *biofilm* de *S. mutans* y una perspectiva del futuro para el campo.”(Scharnow et al., 2019). En este mismo año, Wang y colaboradores dieron a conocer la importancia de la SrtA, que es un atractivo para inhibir la caries dental causada por la fermentación ácida asociada a *S. mutans*, estudiaron un compuesto llamado astilbina de flavanona extraído de *Rhizoma Smilacis Glabrae*, tiene una potente actividad inhibitoria frente patógeno. “Los resultados de este estudio demuestran el potencial del uso de astilbina como agente no bactericida para modular la patogenicidad de *S. mutans* mediante la inhibición de la actividad de SrtA.” (Wang et al., 2019). En el mismo año, Guohui Bai y colaboradores construyeron una vacuna de ADN anti-caries de fusión (PAcA-ctxB) mediante la fusión de la región A del gen codificante de la proteína de superficie celular PAc (PAcA) de *streptococos mutans* con el gen codificante de la subunidad B de la toxina del cólera (CTB). Los plásmidos se integraron en genomas de tomate mediante tecnología de transformación de plantas mediada por agro-bacterias, obteniendo como resultado” que los tomates transgénicos pueden proporcionar un sistema útil para la producción de antígeno de caries humana”(Bai et al., 2019). En el 2021, Rivera y colaboradores realizaron un cribado virtual de 883.551 moléculas; análisis de citotoxicidad en células de fibroblastos, *S. mutans*. También se realizaron estudios de adhesión, análisis de microscopía electrónica de barrido para la integridad bacteriana y simulación de dinámica molecular, encontrando tres moléculas ZINC19835187 (ZI-187),

ZINC19924939 (ZI-939) y ZINC19924906 (ZI-906) sin actividad citotóxica, que inhibieron alrededor del 90% la adhesión de *S. mutans* a las microplacas de poliestireno. Este trabajo proporciona “nuevas moléculas que se dirigen a Ag I/II y tienen la capacidad de inhibir in vitro la adhesión de *S. mutans* en microplacas de poliestireno” (Rivera-Quiroga et al., 2021).

5. METODOLOGIA

5.1 Tipo de estudio:

Estudio *In silico*

5.2 Descripción del procedimiento:

Estructuras 3D de las proteínas de *S. mutans* y de pequeñas moléculas:

Para la selección de las proteínas de *S. mutans* se realizó una búsqueda de cuáles eran las proteínas involucradas en la formación de el *biofilm*, se identificaron cuales se encontraban resueltas cristalográficamente y depositadas en el banco de datos de proteínas (PDB:

<http://www.rcsb.org/>), seleccionando las proteínas GBP-C (Mieher et al., 2018), Esterasa (Deng et al., 2009), GTFs (Ito et al., 2011), Sortasa A (Wallock-Richards et al., 2015) y Ag I/II (Larson et al., 2010).

Por otro lado, para las estructuras 3D de los ligandos se tuvieron en cuenta las moléculas que se obtuvieron en el trabajo publicado por Rivera et al. 2019 (Rivera- Quiroga et al., 2021), las cuales se obtuvieron de la base de datos ZINC (<https://zinc.docking.org/>).

5.3 Localización de los mejores sitios de unión:

Se tomaron las cinco proteínas anteriormente mencionadas de *S. mutans* y fueron procesadas en Chimera, para eliminar todos los ligandos, aguas, iones y demás moléculas que no fueran aminoácidos, dejando las proteínas sin ningún tipo de ligando que pudiera interferir posteriormente. Por medio del servidor COACH-D, se realizó la predicción del mejor sitio de unión y se obtuvieron las coordenadas al mejor sitio predicho. De este modo tuvimos las proteínas listas para ser usadas en Autodock Tools. Se procedió a adicionar todos los hidrógenos polares y cargas de Kollman para las proteínas y Gasteiger para los ligandos, para terminar, se guardaron las proteínas en formato pdbqt.

Para la selección del sitio de unión, se ubicó la caja sobre la proteína abarcando algunos aminoácidos de nuestro interés. Después se visualizaron los ligandos en las proteínas, para diseñar la caja de tal manera que el ligando quedara en el centro de ella. Los valores para cada dimensión (X, Y, Z) y las dimensiones (X center, Y center, Z center) fueron utilizadas al momento de correr el cálculo de acoplamiento molecular.

Posterior a esto, se prepararon los ligandos (similar a la preparación de las proteínas). Se abrió el archivo en formato .pdb de los ligandos en Autodock Tools; una vez abierto adicionamos los hidrógenos polares, para así agregar las cargas Gasteiger. Después de añadir los hidrógenos polares, las cargas de Gasteiger con las torsiones se guardó en formato.pdbqt. Las letras Q y T agregadas a la extensión PDB nos indican que fueron agregadas las cargas y las torsiones al archivo.

5.4 Correr un cálculo de acoplamiento molecular usando Autodock Vina

Para esta parte fue necesario tener instalado Autodock Vina. Acá se usaron los archivos e información obtenida anteriormente: receptor.pdbqt, ligando.pdbqt y los datos de coordenadas y dimensiones de la caja. Se corrieron los cálculos de acoplamiento usando como sistema operativo Windows; antes de empezar fue necesario tener en una carpeta los tres documentos a usar: receptor.pdbqt, ligand.pdbqt y config.txt, luego se seleccionaron en la carpeta en la cual están los tres archivos (usando los comandos cd, cd.. y dir) y en la terminal se observó el progreso del acoplamiento, cuando fue terminado el cálculo, se procedió a la visualización de los resultados.

5.5 Visualización y análisis de resultados

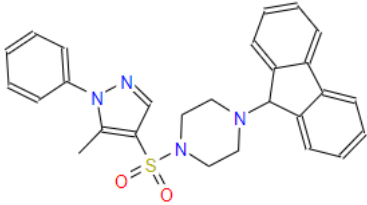
Para analizar los resultados de un cálculo de Autodock Vina realizados de forma remota se inició abriendo el receptor.pdbqt en el programa Chimera, para posteriormente abrir el archivo de salida entregado por Autodock Vina. Se abrió una ventana que solicita buscar y se selecciona el archivo de salida Autodock Vina, el cual se guardará como salida.pdbqt. Una vez hecho esto se abrió una ventana que nos mostró cada una de las poses calculadas acompañadas con su valor de energía libre de unión dada en kcal/mol, para la selección de la pose del ligando; en este caso se seleccionó la primera posición y para guardar el complejo proteína-ligando.

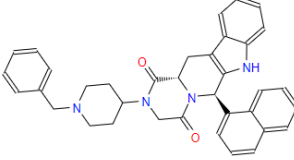
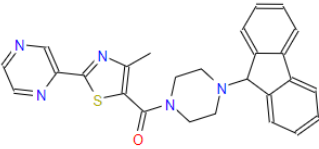
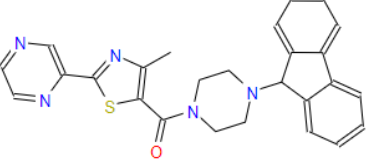
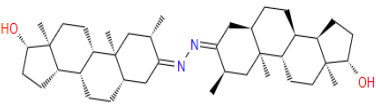
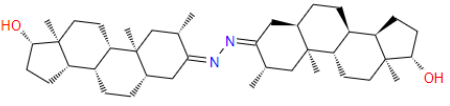
6. RESULTADOS


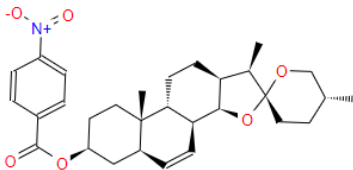
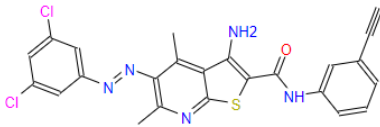
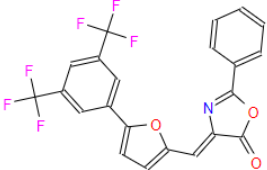
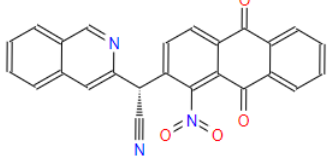
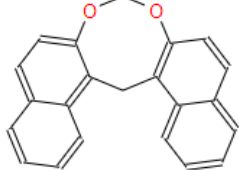
6.1 Compuestos seleccionados

Los compuestos incluidos en este trabajo fueron seleccionados del estudio de Rivera y colaboradores (Rivera-Quiroga et al., 2021), están alojados en la base de datos ZINC (<https://zinc.docking.org>) la cual es una base de datos gratuita de compuestos disponibles comercialmente para la análisis virtuales. ZINC contiene más de 230 millones de compuestos adquiribles en formatos 3D listos para acoplar, también contiene más de 750 millones de compuestos adquiribles que puede buscar análogos en menos de un minuto <https://zinc.docking.org> (Sterling & Irwin, 2015). A continuación, se presentan las estructuras de los 12 compuestos que fueron utilizados para la evaluación de la interacción con las proteínas. En la siguiente tabla se muestran los nombres que se asignaron para cada compuesto, los cuales serán usados de aquí en adelante (Tabla 3).

Tabla 3. Datos de los 12 compuestos utilizados en este trabajo en donde se incluye código ZINC, su estructura y su Smile.

Compuestos	Label	Estructura	Código SMILES
ZINC1992493 9	A		<chem>Cc1c(S(=O)(=O)N2CCN(C3c4ccccc4-c4ccccc43)CC2)cnn1-c1ccccc1</chem>

ZINC7068649 8	B		<chem>O=C1[C@@H]2Cc3c([nH]c4cccc34)[C@@H](c3cccc4cccc34)N2C(=O)CN1C1CCN(Cc2cccc2)CC1</chem>
ZINC1992490 6	C		<chem>Cc1nc(-c2nccn2)sc1C(=O)N1CCN(C2c3cccc3-c3cccc32)CC1.</chem>
ZINC1983518 7	D		<chem>O=C(c1csc(-c2ccc3c(c2)CCO3)n1)N1CCN(C2c3cccc3-c3cccc32)CC1</chem>
ZINC7066978 8	E		<chem>C[C@H]1C[C@@]2(C)[C@@H](CC[C@@H]3[C@@H]4CC[C@H](O)[C@@]4(C)CC[C@@H]32)C/C1=N/N=C1\C[C@H]2CC[C@@H]3[C@H](CC[C@]4(C)[C@@H](O)CC[C@H]34)[C@@]2(C)C[C@H]1C</chem>
ZINC7066978 9	F		<chem>C[C@H]1C[C@@]2(C)[C@@H](CC[C@@H]3[C@@H]4CC[C@H](O)[C@@]4(C)CC[C@@H]32)C/C1=N/N=C1\C[C@H]2CC[C@@H]3[C@H](CC[C@]4(C)[C@@H](O)CC[C@H]34)[C@@]2(C)C[C@@H]1C</chem>

Compuestos	Label	Estructura	Código SMILES
ZINC6856837 0	G		<chem>c1c2ccc(cc2)c2ccccc2c2ccc(c#cc3ccc(cc3)c3ccc3c3ccc(c#1)cc3)cc2</chem>
ZINC3425751 4	H		<chem>C[C@@H]1CC[C@@]2(OC1)O[C@H]1[C@H]3C=C[C@H]4C[C@@H](OC(=O)c5ccc([N+](=O)[O-])cc5)CC[C@]4(C)[C@@H]3CC[C@H]1[C@H]2C</chem>
ZINC5960825 8	I		<chem>C#Cc1cccc(NC(=O)c2sc3nc(C)c(/N=N\c4cc(C1)cc(Cl)c4)c(C)c3e2N)c1</chem>
ZINC1236954 6	J		<chem>O=C1OC(c2ccccc2)=N/C1=C\c1ccc(-c2cc(C(F)(F)F)cc(C(F)(F)F)c2)o1</chem>
ZINC0864796 4	K		<chem>N#C[C@H](c1cc2ccccc2cn1)c1ccc2c(c1[N+](=O)[O-])C(=O)c1ccccc1C2=O</chem>
ZINC0097051 7	L		<chem>c1ccc2c3c(ccc2c1)OCOc1ccc2ccccc2c1C3</chem>

6.2 Selección de sitios de unión de ligando

Para cada una de las 5 proteínas se definió un sitio de unión a ligando que se usaron en el programa COACH-D (<https://yanglab.nankai.edu.cn/COACH-D>) para la predicción de estos “*pockets*” correspondientes a los aminoácidos, donde se organizo la caja del *docking* de cada compuesto y la selección del mejor sitio de unión para cada proteína.

Tabla 4: Aminoácidos asociados a los *pockets* de cada proteína.

Código PDB	Aminoácidos asociados al <i>pocket</i>
2W3Z	ASP41, ASP42, SER93, VAL97, GLY140, GLY141, LYS208
3AIB	PRO186, ALA192, GLY236, ASP237, VAL714
3IPK	SER312, ASN314, GLU321, TRP431
4TQX	LYS66, SER71, ALA78, ALA92, ILE93, PRO94, GLY138, MET139, THR140, GLY141, SER142, SER143, MET145, GLU158, TYR160, VAL165, VAL168
5UQZ	SER224, ASN226, GLU237, TRP328

6.3 Coordenadas de la proteína esterasa (2W3Z).

La proteína esterasa 2W3Z fue procesada en el programa en línea COACH-D, en el cual se obtuvieron las coordenadas 38,478, 56,305 y 25,901 para los ejes X, Y y Z, respectivamente, los cuales se usaron para la ubicación de los sitios de unión de los compuestos (Tabla 5).

6.3.1 Resultados de *docking* para la proteína esterasa.

Para la proteína esterasa (**2W3Z**) se realizó el *docking* con los 12 compuestos seleccionados, encontrando las afinidades que oscilan en un rango de -7 a -10 kcal/mol, obteniendo para el compuesto E (ZINC70669788) una energía de interacción de -7, siendo el de menor afinidad y el compuesto B (ZINC70686498) fue el de mayor afinidad con una energía de -10 (Tabla 6).

Tabla 5: Datos de las coordenadas obtenidas en el predictor de sitios de unión a proteínas COACH-D para la esterasa (2W3Z).

ESTERASA-2W3Z							
Config.	Center x	Center y	Center z	Size x	Size y	Size z	Exhaustiveness
	38.478	56.305	25.901	26	26	26	20

Tabla 6. Resultados de energía de interacción obtenidos del *docking* para la interacción de la proteína esterasa (2W3Z) con los compuestos seleccionados.

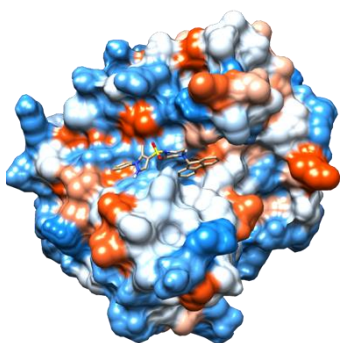
PROTEÍNA	COMPUESTO	VALOR DE ENERGÍA (kcal/mol)
ESTERASA- 2W3Z	A. ZINC19924939	-9
	B. ZINC70686498	-10
	C. ZINC19924906	-8,3
	D. ZINC19835187	-8,9
	E. ZINC70669788	-7
	F. ZINC70669789	-9,1
	G. ZINC68568370	-8,9
	H. ZINC34257514	-8,9
	I. ZINC59608258	-7,2

J.	ZINC12369546	-7,1
K.	ZINC08647964	-8,2
L.	ZINC00970517	-7,1

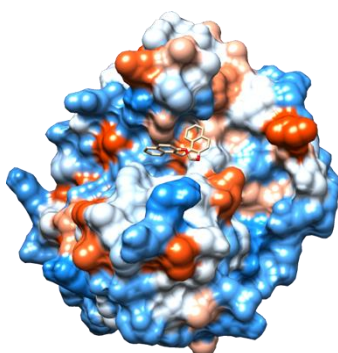
6.3.2 *Docking* molecular de la proteína esterasa (2W3Z) con cada una de los 12 compuestos.

A continuación, se muestra la conformación adoptada por cada ligando en la proteína esterasa. La proteína se muestra en superficie con una escala de color dependiendo de la escala de hidrofobicidad, siendo azul muy hidrofílico y rojo muy hidrofóbico. Esta misma representación se usará para las demás proteínas.

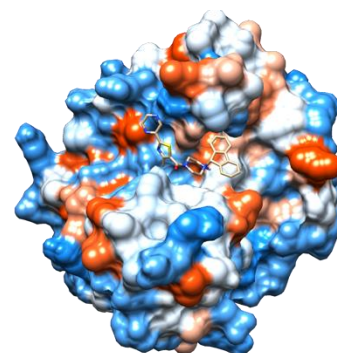
A.



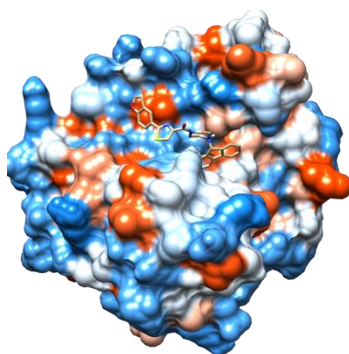
B.



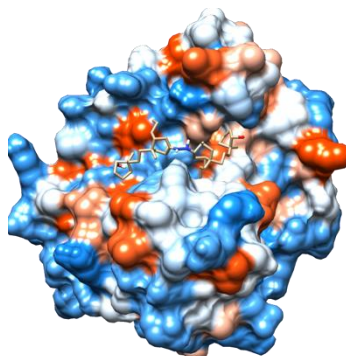
C.



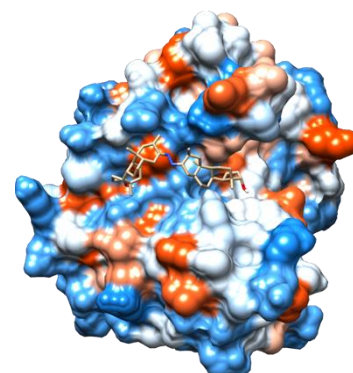
D.



E.



F.



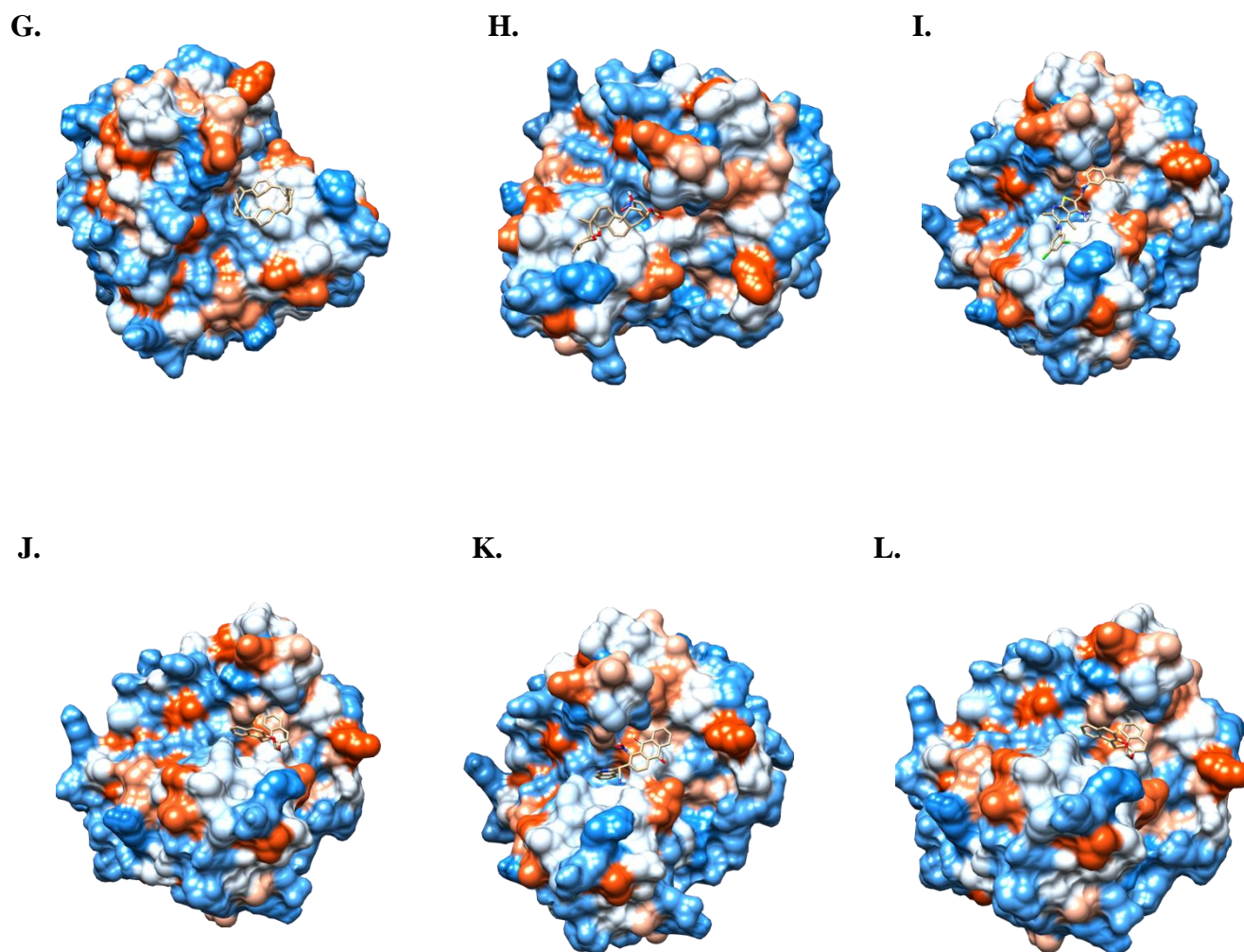


Figura 1: Visualización esquemática de los 12 compuestos acoplados en la proteína esterasa.

6.3.3 Interacción 2D de los compuestos de mayor y menor afinidad por la proteína esterasa.

En la figura 2, se pudo identificar que el compuesto ZINC70686498 tuvo unas interacciones de van der Waals con los aminoácidos GLU:247, PHE:262, GLY:244 y 214, HIS:281 y TRY:172, ALA:246, SER:218, también con unos enlaces Pi-Sigma LEU:279, ALA:246, un enlace Pi-Pi T-shaped con TRP:239 y Pi-Alkyl con ALA:242

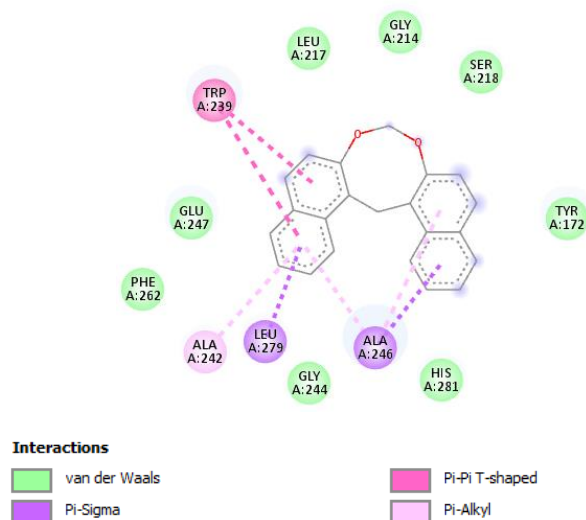


Figura 2: Interacción entre el compuesto ZINC70686498 con mayor afinidad y el sitio activo de la proteína esterasa.

En la figura 3, se pudo identificar que el compuesto ZINC70669788 tuvo unas interacciones de van der Waals con los aminoácidos GLY:244 y 214, HIS:166, GLU:247, SER:218, ASP:114 y 115, LYS:286, ARG:211, TYR:172, HIS:166, ILE:283 también con unos enlaces de hidrógeno convencional con ASN:144, un enlace Alkyl y Pi-Alkyl con TRP:239, ALA:242 y 246, LEU:279, HIS:279, HIS:170 y VAL:141.

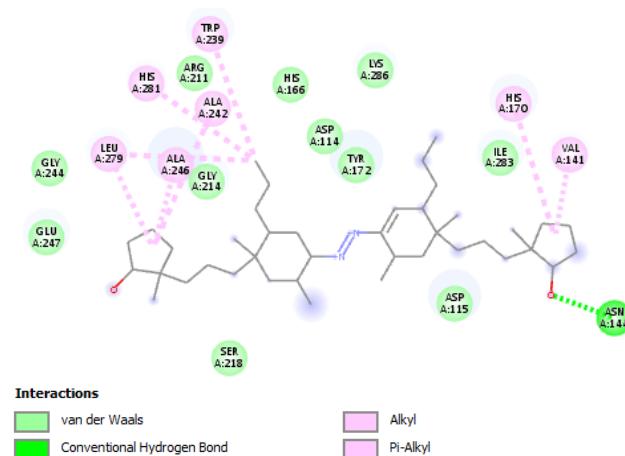


Figura 3: Interacción entre el compuesto ZINC70669788 con menor afinidad y el sitio activo de la proteína esterasa.

6.4 Coordinadas de la proteína Glucosiltransferasas (GTFS) (3AIB)

La proteína glucosiltransferasa (3AIB) fue procesada en el programa en línea COACH-D, en el cual se obtuvieron las coordenadas 184,830, 52,563 y 193,473 para los ejes X, Y y Z, respectivamente, los cuales se usaron para la ubicación de los sitios de unión de los compuestos (Tabla 7).

6.4.1 Resultados del *docking* para la proteína glucosiltransferasa

Para la proteína glucosiltransferasa (3AIB) se realizó el *docking* con los 12 compuestos seleccionados, encontrando las afinidades que oscilan en un rango de -8,3 a -10,8 kcal/mol, obteniendo para el compuesto I (ZINC59608258) una energía de interacción de -8,3, siendo el de menor afinidad y el compuesto H (ZINC34257514) fue el de mayor afinidad con una energía de -10 (Tabla 8).

Tabla 7: Datos de las coordenadas obtenidas en el predictor de sitios de unión a proteínas COACH-D para las Glucosiltransferasas (3AIB).

3AIB							
Config.	Center x	Center y	Center z	Size x	Size y	Size z	Exhaustiveness
	184.830	52.563	193.473	26	26	26	20

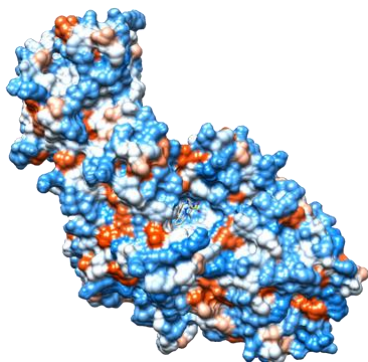
Tabla 8: Resultados de energía de interacción obtenidos del docking para la interacción de la proteína glucosiltransferasas (3AIB) con los compuestos seleccionados.

PROTEÍNA	COMPUESTO	VALOR DE ENERGÍA (kcal/mol)
GLUCOSILTRANSFERASAS (GTFS) (3AIB)	A. ZINC19924939	-9,5
	B. ZINC70686498	-9,9
	C. ZINC19924906	-9,4
	D. ZINC19835187	-9,7
	E. ZINC70669788	-8,8
	F. ZINC70669789	-9
	G. ZINC68568370	-10
	H. ZINC34257514	-10,8
	I. ZINC59608258	-8,3
	J. ZINC12369546	-9,3
	K. ZINC08647964	-9,4
	L. ZINC00970517	-9,3

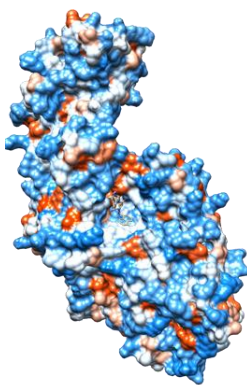
6.4.2 Docking molecular de la proteína glucosiltransferasa (3AIB) con cada una de los 12 compuestos.

A continuación, se muestra la conformación adoptada por cada ligando en la proteína glucosiltransferasa.

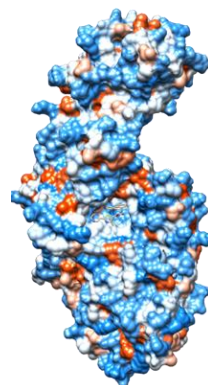
A.



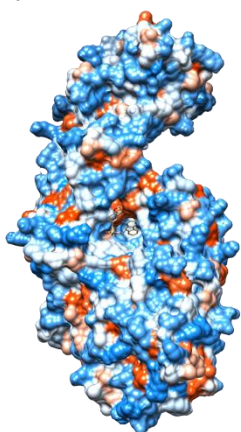
B.



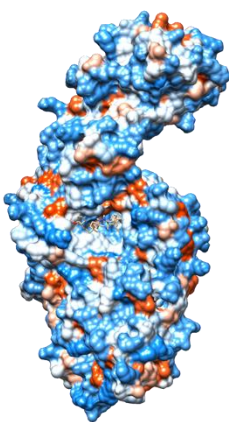
C.



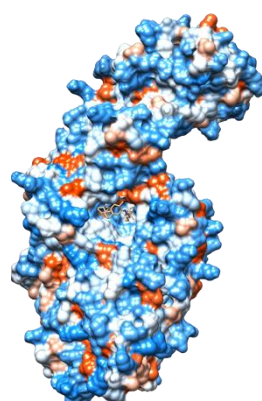
D.



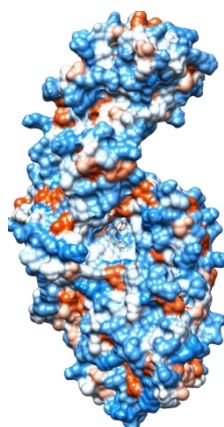
E.



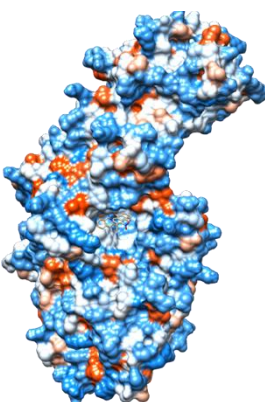
F.



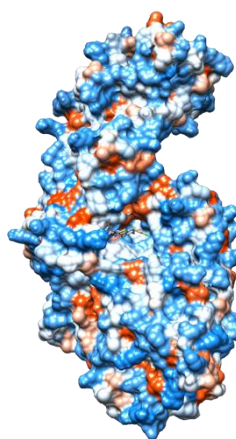
G.



H.



I.



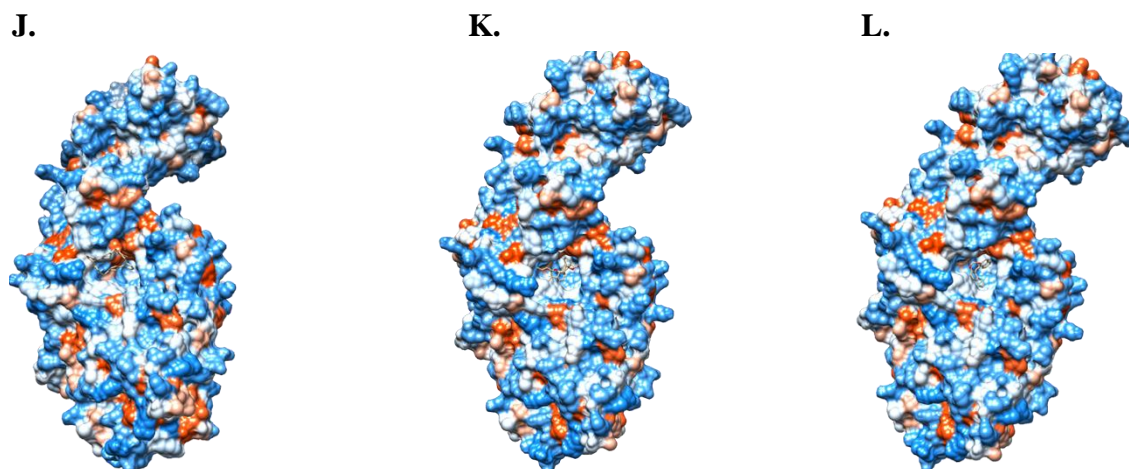


Figura 4: Visualización esquemática de los 12 compuestos acoplados en la proteína glucosiltransferasa.

6.4.3 Interacción 2D de los compuestos de mayor y menor afinidad por la proteína glucosiltransferasa.

En la figura 5, se pudo identificar que el compuesto ZINC34257514 tuvo unas interacciones de van der Waals con los aminoácidos THR:246, GLY:429, VAL:957, ASP: 959, 588 y 477, ALA:478, LEU:382, 433, 908 y 434, PHE: 907, HIS:587, GLU:515, ASN:862, un enlace Pi-Anion con ASP:909 y un enlace Pi-Alkyl con TYR:430 y TRP:517.

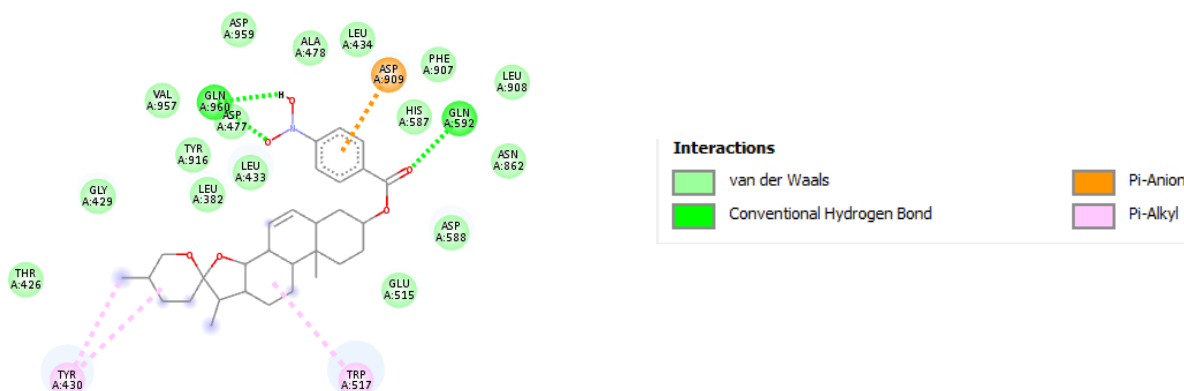


Figura 5: Interacción entre el compuesto ZINC34257514 de mayor afinidad y el sitio activo de la proteína glucosiltransferasas (Gtfs)

En la figura 6, se pudo identificar que el compuesto ZINC59608258 tuvo unas interacciones de van der Waals con los aminoácidos THR:426, ASP:480, GLU:515, ALA:478, LEU:433, 434 Y 382, GLN:960 y 592, ASP:909, ASN:862 Y 914, TYR, también con unos enlaces de hidrogeno de carbono con GLY:429, un enlace de donante-donante desfavorable con ASN:481, un enlace de Pi-Anion con el aminoácido ASP:477, un doble enlaces Pi-Pi T-shaped y Amide-Pi Stacked con GLY:428 y TYR:916 y unos enlaces Alkyl y Pi-Alkyl con VAL:957 y HIS:587.

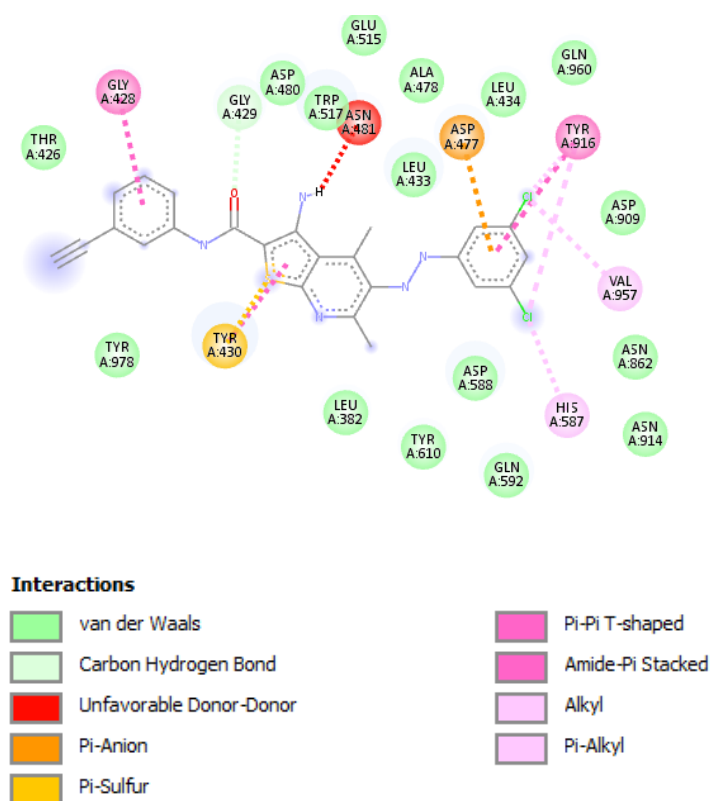


Figura 6: Interacción entre el compuesto ZINC59608258 de menor interacción y el sitio activo de la proteína glucosiltransferasas (Gtfs)

6.5 Coordenadas de la proteína Antígeno I/II (3IPK)

La proteína antígeno I/II (3IPK) fue procesada en el programa en línea COACH-D, en el cual se obtuvieron las coordenadas 8,442, 42,402 y 30,522 para los ejes X, Y y Z, respectivamente, los cuales se usaron para la ubicación de los sitios de unión de los compuestos.

6.5.1 Resultados del *docking* para la proteína antígeno I/II.

Para la proteína antígeno I/II (3IPK) se realizó el *docking* con los 12 compuestos seleccionados, encontrando las afinidades que oscilan en un rango de -7,7 a -11,9 kcal/mol, obteniendo para el compuesto E (ZINC70669788) una energía de interacción de -7,7, siendo el de menor afinidad y los compuestos F (ZINC70669789) y G (ZINC68568370) con mayor afinidad con una energía de -11,9 (Ver tabla 10).

Tabla 9: Datos de las coordenadas obtenidas en el predictor de sitios de unión a proteínas COACH-D para el antígeno I/II.

3IPK							
Config.	Center x	Center y	Center z	Size x	Size y	Size z	Exhaustiveness
	8.442	42.402	30.522	26	26	26	20

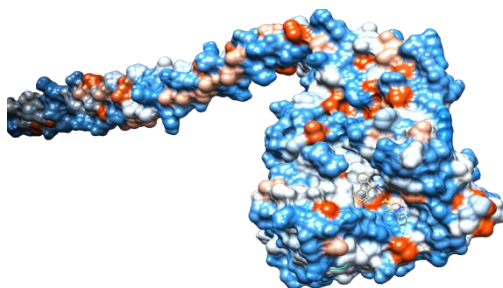
Tabla 10: Resultados de energía de interacción obtenidos del *docking* para la interacción de la proteína antígeno I/II (3IPK) con los compuestos seleccionados.

PROTEÍNA	COMPUESTO	VALOR DE ENERGÍA (kcal/mol)
ANTÍGENO I/II (3IPK)	A. ZINC19924939	-11,4
	B. ZINC70686498	-11
	C. ZINC19924906	-9,5
	D. ZINC19835187	-9,2
	E. ZINC70669788	-7,7
	F. ZINC70669789	-11,9
	G. ZINC68568370	-11,9
	H. ZINC34257514	-10,6
	I. ZINC59608258	-9,1
	J. ZINC12369546	-8,7
	K. ZINC08647964	-8,9
	L. ZINC00970517	-8,7

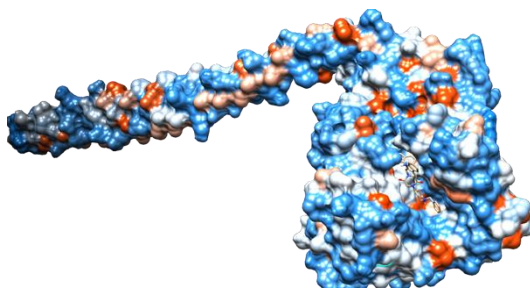
6.5.2 *Docking* molecular de la proteína antígeno I/II (3IPK) con cada una de los 12 compuestos.

A continuación, se muestra la conformación adoptada por cada ligando en la proteína antígeno I/II.

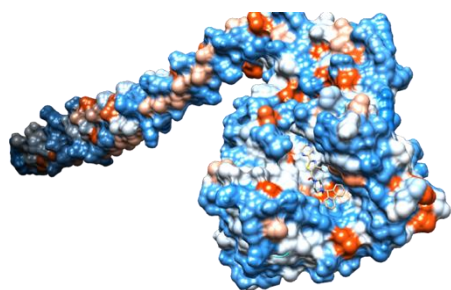
A.



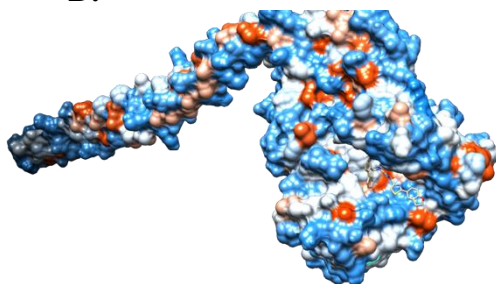
B.



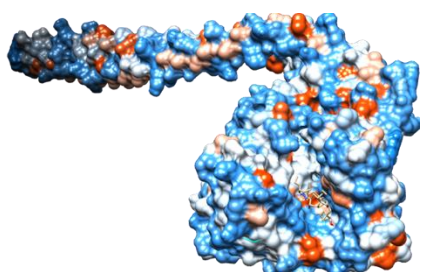
C.



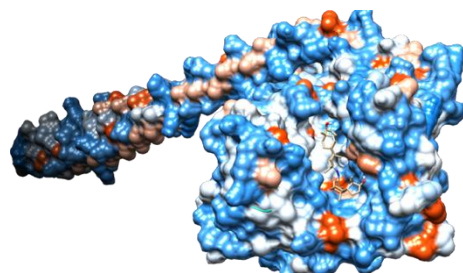
D.



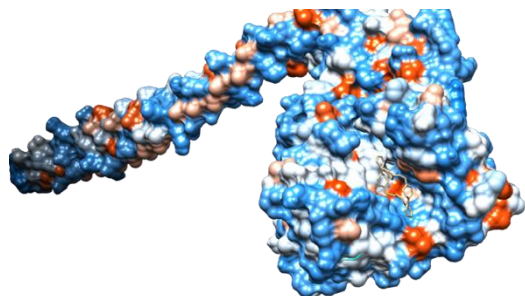
E.



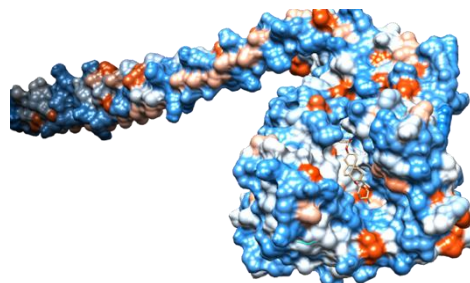
F.



G.



H.



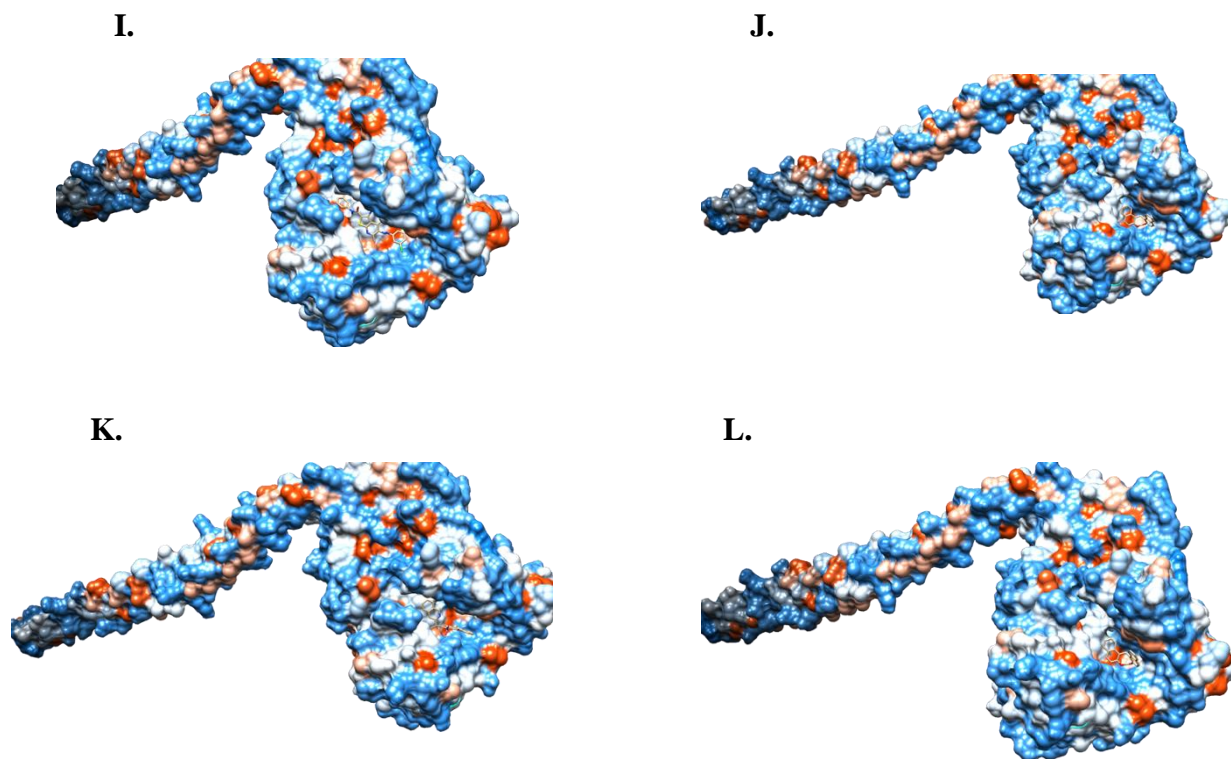


Figura 7: Visualización esquemática de los 12 compuestos acoplados en la proteína antígeno I/II.

6.5.3 Interacción 2D de los compuestos de mayor y menor afinidad por la proteína glucosiltransferasa.

En la figura 8, se pudo identificar que el compuesto ZINC70669789 tuvo unas interacciones de van der Waals con los aminoácidos ASP:760 y 554, SER:697, TRP: 816, PHE:656 y 738, ILE A:815, ASN:814, LYS:811, VAL:664, GLU:701 y MET: 749 y con el enlace Alkyl con LYS A:812 , por otro lado, el compuesto ZINC68568370 también tuvo interacciones de van de Waals con los aminoácidos HIS:702, ASP:554 y 760, MET:749, SER:761, 762, 697 y 704 VAL:587, THR:586, ASN:699, PHE:656, LYS:811, GLU:701 Y PHE:738, un enlace Alkyl y adicionalmente Pi-Alkyl con los aminoácidos LYS:812 y TRP:816.

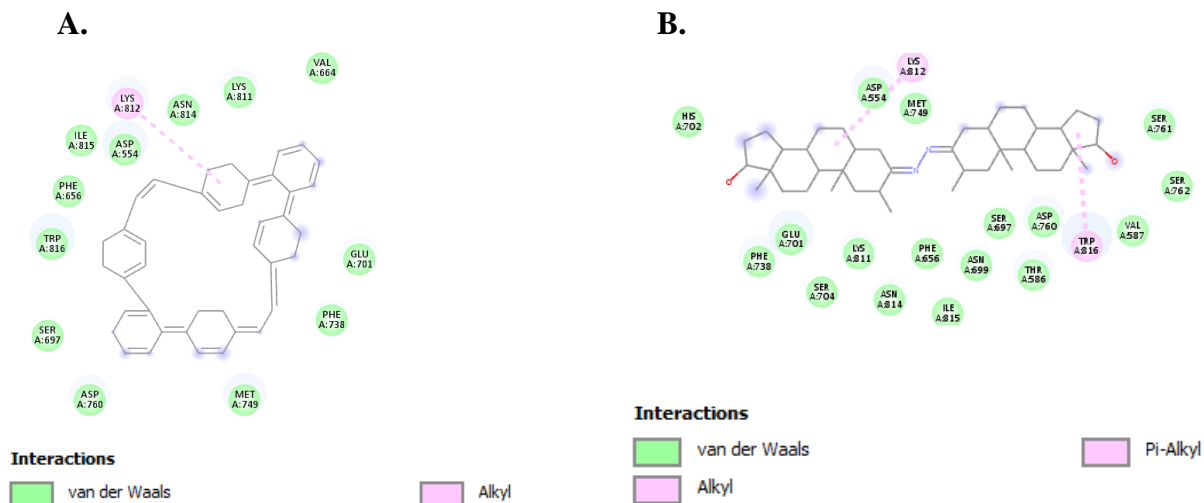


Figura 8: Interacción entre el compuesto ZINC70669789 (A) y ZINC68568370 (B) con mayor afinidad y el sitio activo de la proteína antígeno I/II.

En la figura 9, se pudo identificar que el compuesto ZINC70669788 tuvo unas interacciones de van der Waals con los aminoácidos LYS A:812 y 811, MET A:749, ASN A:699 y 814, GLU:706, ILE A:815, VAL A:587, PHE A:656, THR A:586 y GLN A:552, también tuvo interacciones con un puente de sal y una carga atractiva con ASP A:554, con enlaces de hidrogeno convencionales ASN A:703, SER A:704, GLU A:701, así mismo con enlaces de hidrogeno de carbono, y con enlaces de Alkyl y Pi-Alkyl con PHE:738, TYR:750, ALA:787 y TRP: 816.

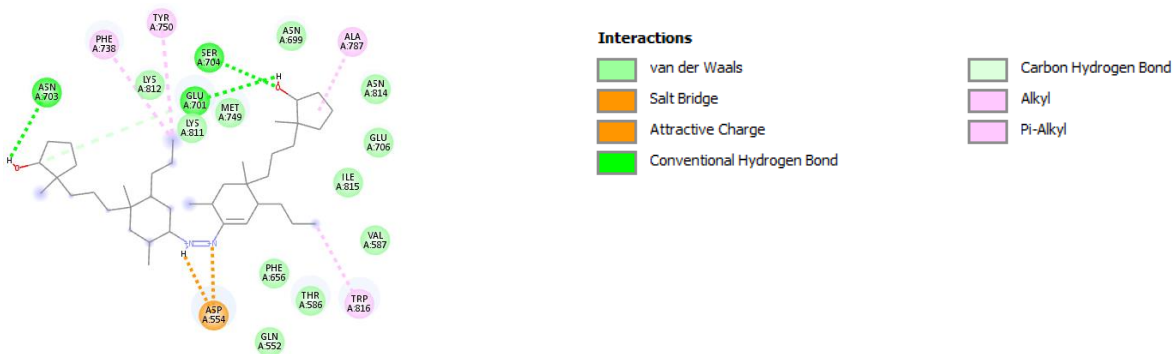


Figura 9: Interacción entre el compuesto ZINC70669788 y el sitio activo de la proteína antígeno I/II

6.6 Coordenadas de la proteína sortasa (4TQX)

La proteína sortasa (4TQX) fue procesada en el programa en línea COACH-D, en el cual se obtuvieron las coordenadas 7,905, 28,800 y -19,037 para los ejes X, Y y Z, respectivamente, los cuales se usaron para la ubicación de los sitios de unión de los compuestos (tabla 11).

6.6.1 Resultados del *docking* para la proteína sortasa

Para la proteína sortasa (4TQX) se realizó el *docking* con los 12 compuestos seleccionados, encontrando las afinidades que oscilan en un rango de -7,1 a -9,1 kcal/mol, obteniendo para el compuesto E (ZINC70669788) una energía de interacción de -7,1, siendo el de menor afinidad y el compuesto H (ZINC34257514) con mayor afinidad con una energía de -9,1 (Tabla 12).

Tabla 11: Datos de las coordenadas obtenidas en el predictor de sitios de unión a proteínas COACH-D para la sortasa.

4TQX							
Config.	Center x	Center y	Center z	Size x	Size y	Size z	Exhaustiveness
	7.905	28.800	-19.037	26	26	26	20

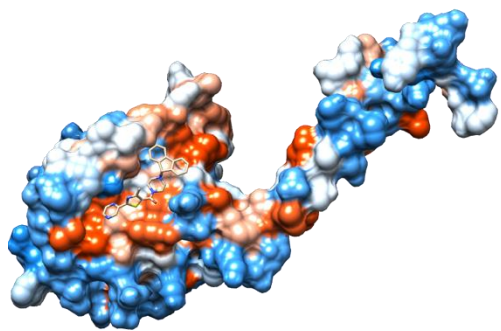
Tabla 12: Resultados de energía de interacción obtenidos del *docking* para la interacción de la proteína sortasa (4TQX) con los compuestos seleccionados.

PROTEÍNA	COMPUESTO	VALOR DE ENERGÍA (kcal/mol)
SORTASA (4TQX)	A. ZINC19924939	-8,3
	B. ZINC70686498	-8,9
	C. ZINC19924906	-7,8
	D. ZINC19835187	-8,4
	E. ZINC70669788	-7,1
	F. ZINC70669789	-8,9
	G. ZINC68568370	-8,4
	H. ZINC34257514	-9,1
	I. ZINC59608258	-8,4
	J. ZINC12369546	-8,4
	K. ZINC08647964	-8,2
	L. ZINC00970517	-8,4

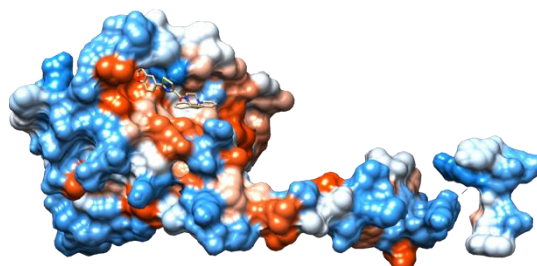
6.6.2 *Docking* molecular de la proteína sortasa (4TQX) con cada una de los 12 compuestos.

A continuación, se muestra la conformación adoptada por cada ligando en la proteína sortasa.

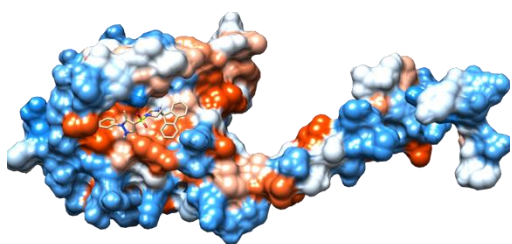
A.



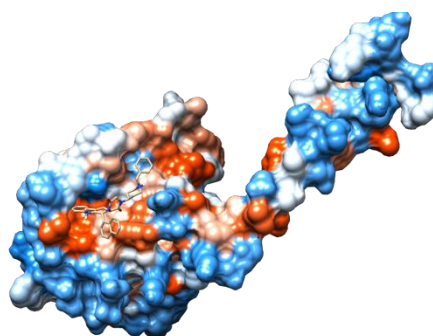
B.



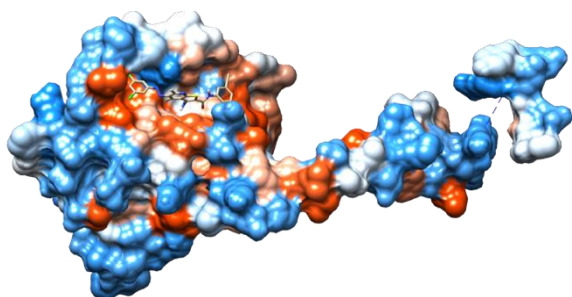
C.



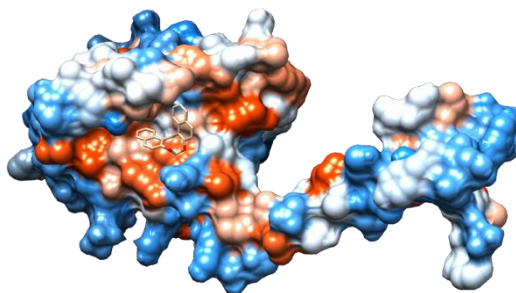
D.



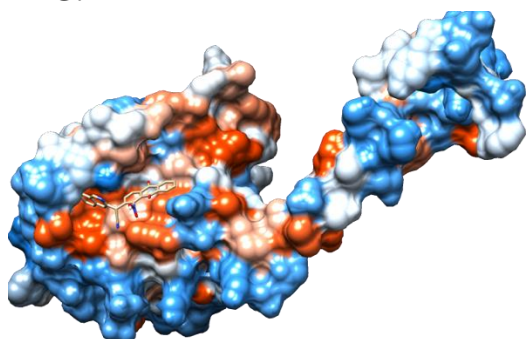
E.



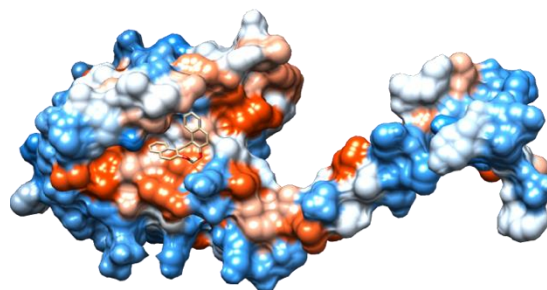
F.



G.



H.



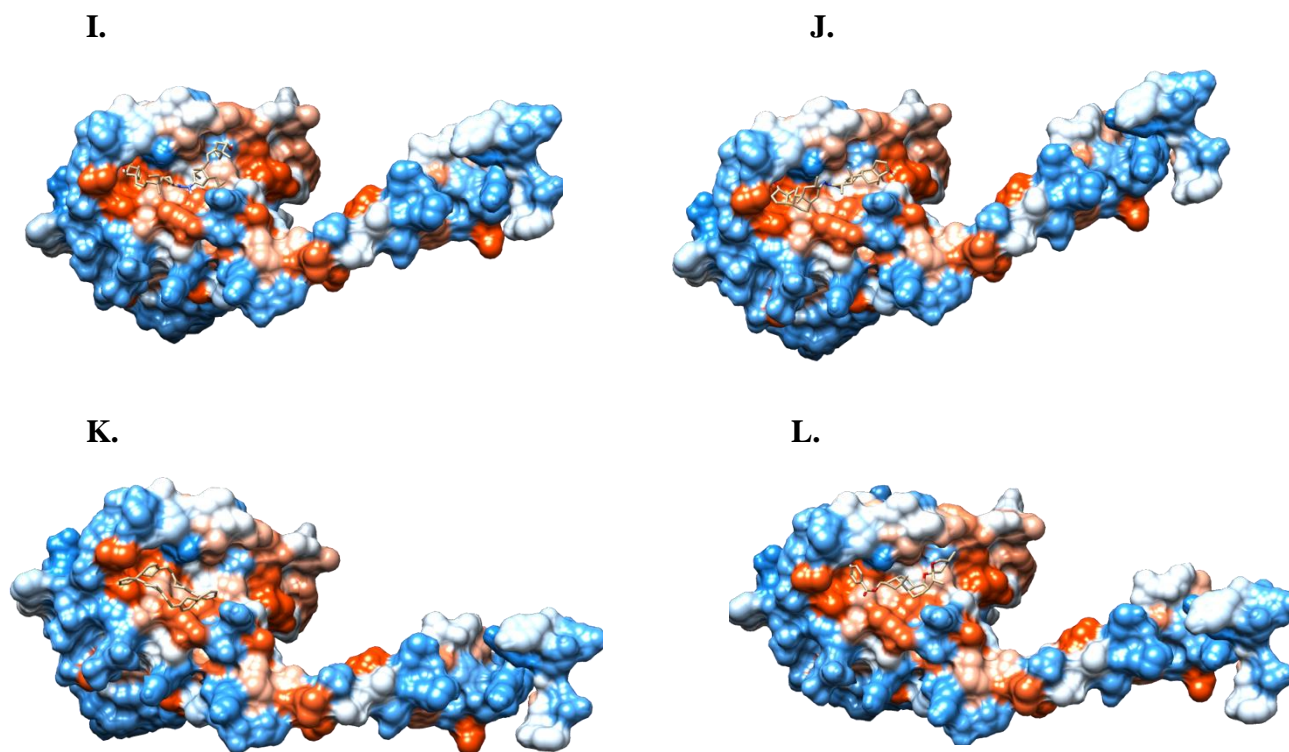


Figura 10: Visualización esquemática de los 12 compuestos acoplados en la proteína sortasa.

6.6.3 Interacción 2D de los compuestos de mayor y menor afinidad por la proteína sortasa.

En la figura 11, se pudo identificar que el compuesto ZINC34257514 tuvo unas interacciones de van der Waals con los aminoácidos GLU:186, PRO:185, LEU:111, ASN:113, HIS:140 y 187 ALA:210, CVS:205, SER:138, THR:204, MET:123, ILE:215, VAL:183, 188 y 190. Así mismo con unos enlaces de hidrogeno de carbono ALA:208, también con un receptor-aceptante desfavorable con THR:184, con enlaces de Alkyl y Pi-Alkyl con ALA:139 y 137, LEU:116, ARG:213 y VAL:203.

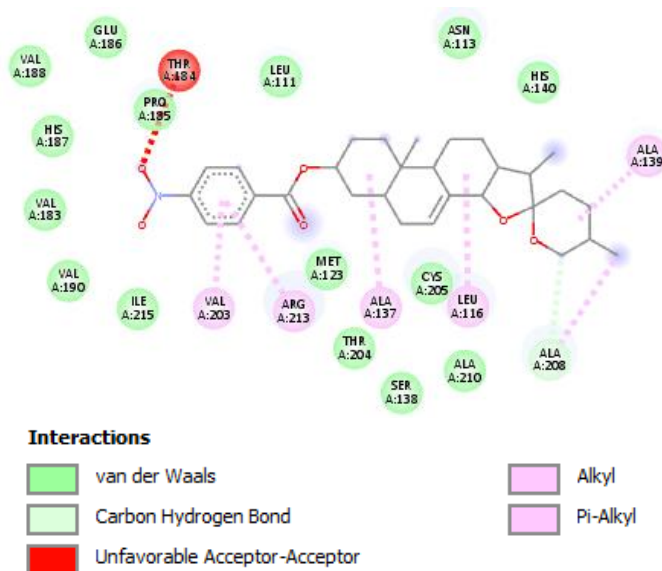


Figura 11: Interacción entre el compuesto ZINC34257514 con mayor afinidad y el sitio activo de la proteína sortasa.

En la figura 12, se pudo identificar que el compuesto ZINC70669788 tuvo unas interacciones de van der Waals con los aminoácidos ILE:191 y 215 ASN:113, THR:117, VAL:141,188 Y 183 PHE:142, ASP:207, ALA:210 y 137, SER:138, LEU:111, MET:123, PRO:185 y HIS: 187. También con un enlace de hidrogeno de carbono HIS:140, además con ARG:213, así mismo con un enlace Alkyl con VAL:190 y 203, LEU:116, ALA:139 y 208 y CVS:205.

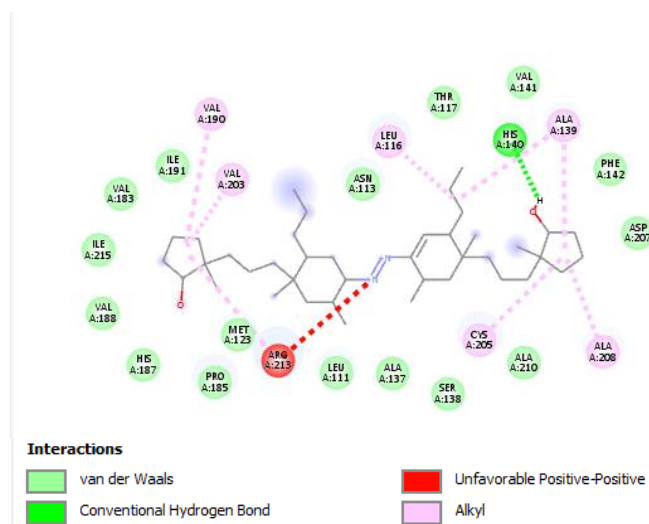


Figura 12: Interacción entre el compuesto ZINC70669788 con menor afinidad y el sitio activo de la proteína sortasa.

6.7 Coordenadas de la proteína de unión a glucanos (Gbps)

La proteína de unión a glucanos (5UQZ) fue procesada en el programa en línea COACH-D, en el cual se obtuvieron las coordenadas 75,062, 23,573 y 7,560 para los ejes X, Y y Z, respectivamente, los cuales se usaron para la ubicación de los sitios de unión de los compuestos (Tabla 13).

Tabla 13: Datos de las coordenadas obtenidas en el predictor de sitios de unión a proteínas COACH-D para la proteína de unión a glucanos (5UQZ).

5UQZ							
Config.	Center x	Center y	Center z	Size x	Size y	Size z	Exhaustiveness
	75.062	23.573	7.560	26	26	26	20

6.7.1 Resultados del *docking* para la proteína de unión a glucanos.

Para la proteína de unión a glucanos (5UQZ) se realizó el *docking* con los 12 compuestos seleccionados, encontrando las afinidades que oscilan en un rango de -8,7 a -11,5 kcal/mol, obteniendo para los compuestos J (ZINC12369546) y L (ZINC70669788) una energía de interacción de -8,7, siendo el de menor afinidad y el compuesto G (ZINC68568370) con mayor afinidad con una energía de -11,5 (Tabla 14).

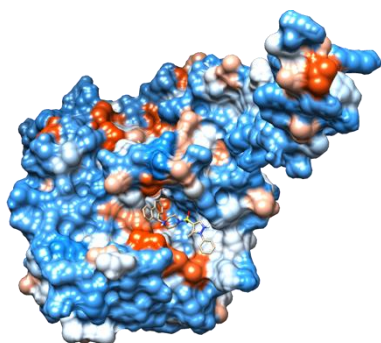
Tabla 14: Resultados de energía de interacción obtenidos del *docking* para la interacción de la proteína de unión a glucanos (5UQZ) con los compuestos seleccionados.

PROTEÍNA	COMPUESTO	VALOR DE ENERGÍA (kcal/mol)
PROTEINA DE UNIÓN A GLUCANO (GBPS) (5UQZ)	A. ZINC19924939	-11
	B. ZINC70686498	-11,4
	C. ZINC19924906	-9,3
	D. ZINC19835187	-10
	E. ZINC70669788	-9,1
	F. ZINC70669789	-10,7
	G. ZINC68568370	-11,5
	H. ZINC34257514	-11,2
	I. ZINC59608258	-10
	J. ZINC12369546	-8,7
	K. ZINC08647964	-9,7
	L. ZINC00970517	-8,7

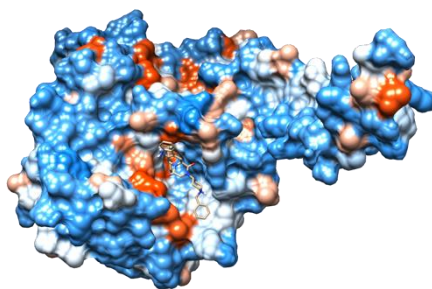
6.7.2 *Docking* molecular de la proteína de unión a glucanos (5UQZ) con cada una de los 12 compuestos.

A continuación, se muestra la conformación adoptada por cada ligando en la proteína de unión a glucanos.

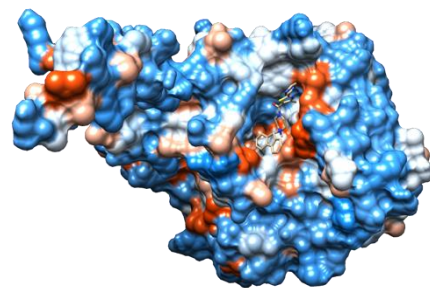
A.



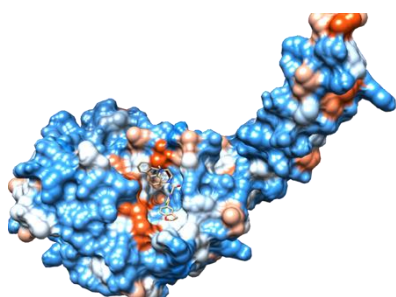
B.



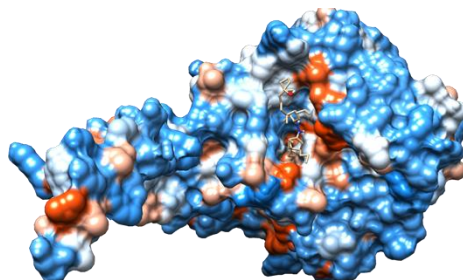
C.



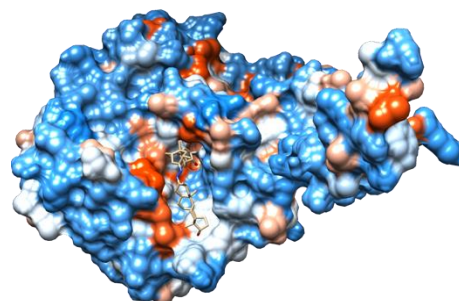
D.



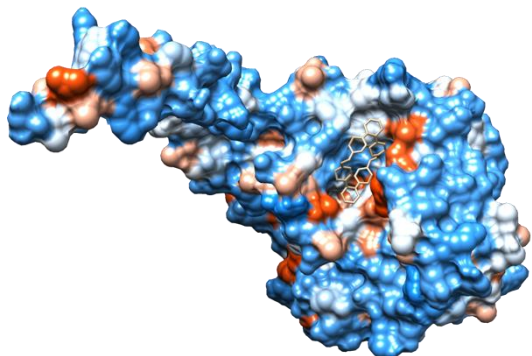
E.



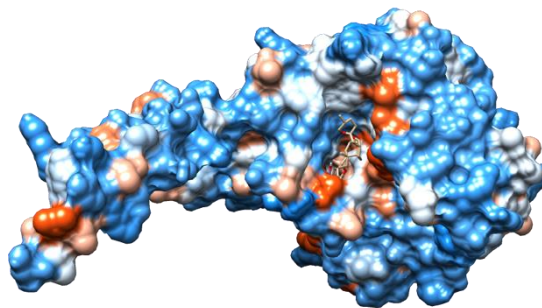
F.



G.



H.



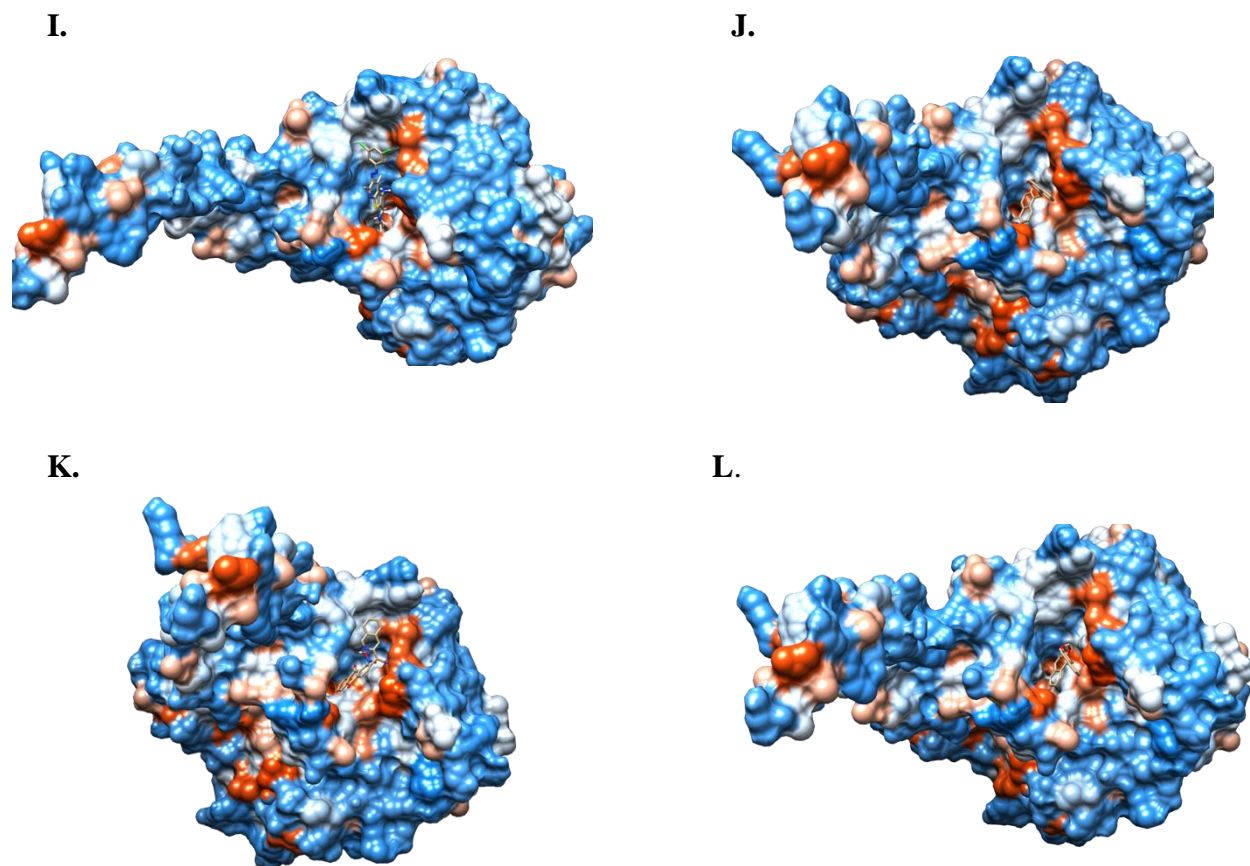


Figura 13: Visualización esquemática de los 12 compuestos acoplados en la proteína de unión a glucanos.

6.7.3 Interacción 2D de los compuestos de mayor y menor afinidad por la proteína de unión a glucanos.

En la figura 14, se pudo identificar que el compuesto ZINC68568370 tuvo unas interacciones de van der Waals con los aminoácidos ASN:349, GLU:360, ILE:450, THR:449, PHE:304 Y SER:347, también con enlaces Pi-Anion con ASP:408, así como con enlaces de Hidrogeno de Pi-Donor TRP:451, un enlace de Pi-Sigma ILE:219, y un enlace de Pi-Alkyl VAL:410.

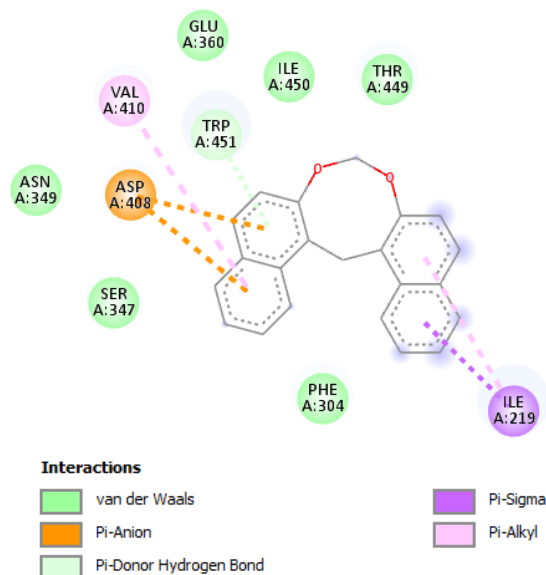


Figura 14: Interacción entre el compuesto ZINC68568370 con mayor afinidad y el sitio activo de la proteína de unión a glucano (Gbps).

En la figura 15, se pudo identificar que el compuesto ZINC12369546 tuvo unas interacciones de van der Waals con los aminoácidos ASP:402, GLY:403, VAL A:410, TRP:451, ILE:219, PHE:304, THR:449 y 353 HIS:358, ASN:442, LEU:442 y 442, TYR A:355 y 392, también enlaces de Alkyl y Pi-Alkyl con TRP:351 Y LEU:220.

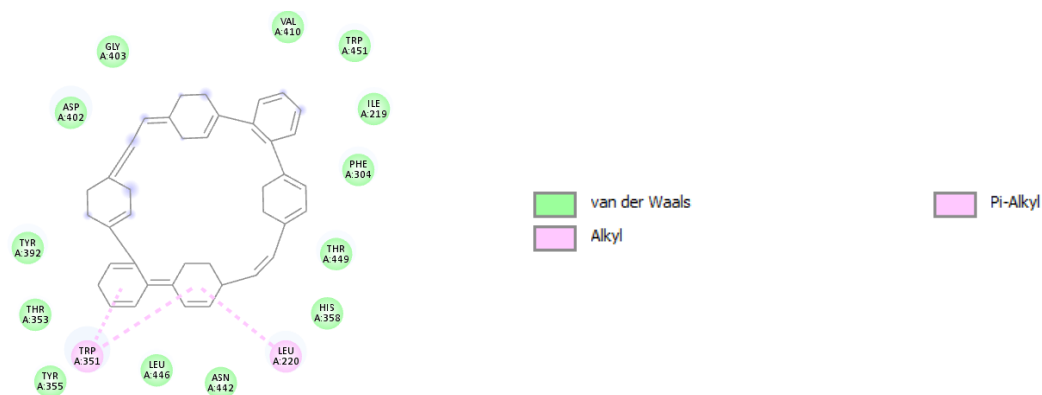


Figura 15: Interacción entre el compuesto ZINC12369546 con menor afinidad y el sitio activo de la proteína de unión a glucano (Gbps).

7. DISCUSIÓN

La caries dental es una enfermedad muy prevalente de carácter multifactorial donde participan una gran cantidad de bacterias cariogénicas, siendo *S. mutans* la más común. Bajo esta problemática se realizó una investigación con el objetivo de encontrar la afinidad que existe entre doce pequeñas moléculas por proteínas de *Streptococcus mutans* asociadas a la formación de *biofilm* dental, mediante el uso de herramientas bioinformáticas para la búsqueda y selección de compuestos con alta afinidad a estas proteínas. En relación a los resultados de las homologías estructurales de las proteínas esterasa, GBP-C, AG I/II, Sortasa A, GTF-C del *S. mutans* a través de un método computacional, lo que aporta a futuras investigaciones sobre inhibición de adhesión a glucosa de *S. mutans*.

La esterasa desempeña un papel en el ajuste de las propiedades de la superficie celular y en las interacciones con la aglutinina (saliva), un componente esencial del sistema inmunitario innato, muy probablemente a través de la desacetilación de un polisacárido aún no identificado (Deng et al., 2009). Así también la proteína de unión a glucanos, esta anclada en la superficie que contiene el motivo característico LPXTG, un dominio hidrofóbico y una cola cargada positivamente, es procesado por sortasas (Mieher et al., 2018). De forma similar, el antígeno I/II es una proteína adhesina localizada en la superficie celular que interactúa con los componentes salivales dentro de la película salival, contribuye a la virulencia y se ha estudiado como un objetivo inmunológico y estructural (Larson et al., 2010). Por otro lado, la sortasa, es responsable de la unión covalente de proteínas superficiales involucradas en la adherencia a las células huésped, la adquisición de hierro, la formación de biopelículas, la invasión, la señalización y la formación de pili en la pared

celular bacteriana (Wallock-Richards et al., 2015). Por otra parte, la glucosiltransferasa es un agente esencial en la patogenia de la caries dental (Ito et al., 2011). Son proteínas de gran tamaño que se encuentran, bien unidas a la membrana bacteriana o bien en el medio extracelular (Sánchez, 2004).

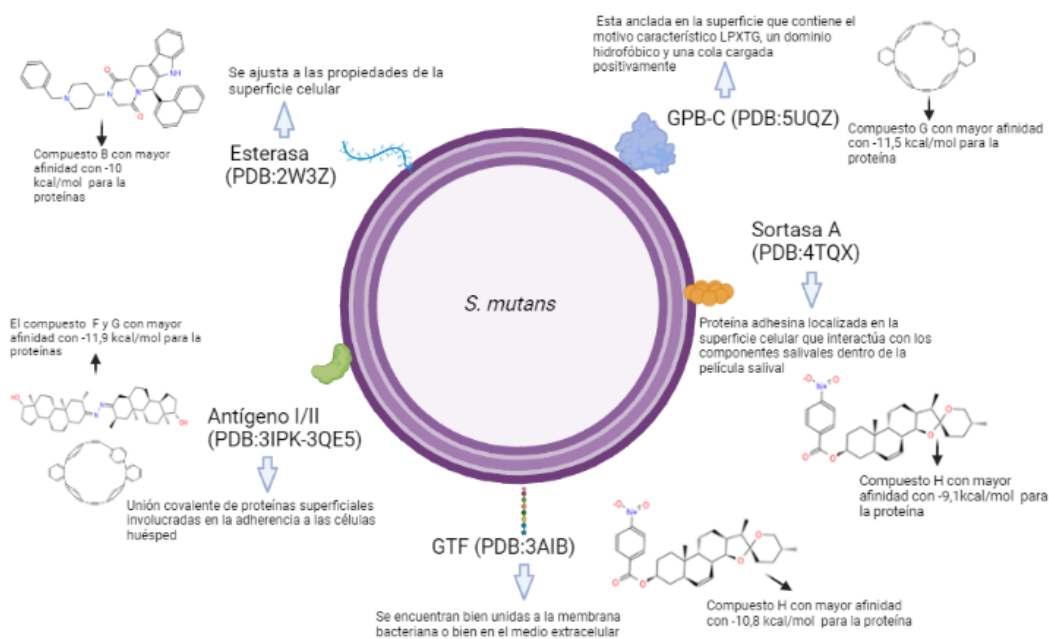


Figura 16: Ubicación de las proteínas asociadas a *S. mutans* y sus características.

La obtención de las proteínas se realizó a través de una búsqueda de la literatura de proteínas disponibles en el PDB del *S. mutans* relacionadas con la formación del *biofilm*, las proteínas mencionadas anteriormente ya estaban cristalizadas. Se realizaron simulaciones de acoplamiento molecular y con el servidor COACH-D encontramos los ligandos que presentaron sitios de interacción con la glucosa, es decir, la ubicación de la proteína en donde se direcciona el acoplamiento, ya que estos sitios deben tener unas características típicas como ser cóncavos, tener una variedad de donantes y aceptores de puentes de hidrógenos y características hidrofóbicas.

Adicionalmente, es muy importante tener en cuenta que los cristales de las proteínas 3IPK y 2W3Z, son fragmentos que desempeñan un papel muy importante en el proceso de adhesión de *S. mutans* al diente, ya que están ubicados en los extremos de la adhesina AgI/II están implicados en el reconocimiento del SAG humano (Larson et al., 2010).

De acuerdo a lo anterior, para los blancos de la selección de compuestos para la inhibición de la adhesión de *S. mutans*, la molécula con mejor afinidad fue la G que obtuvo mejores resultados con dos proteínas 3IPK y 5UQZ de las cinco, también la molécula F obtuvo uno de los mejores resultados con la proteína 3IPK. Por otro lado, la molécula con menor afinidad fue la E en tres proteínas 2W3Z, 3IPK y 4TQX.

Los resultados de la proteína antígeno I/II con los compuestos de mayor afinidad ZINC70669789 y ZINC68568370, obtuvieron interacciones con enlaces de Van de Waals, que ejercen fuerzas de atracción y repulsión por medio de cargas, permitiendo a las moléculas no estar muy dispersas o muy juntas, así siendo conveniente para una interacción. También, presento interacciones de Alkyl y Pi-Alkyl, denominadas como interacciones hidrofóbicas. Normalmente, se ubican en regiones donde se encuentran carbonos.

8. CONCLUSIONES

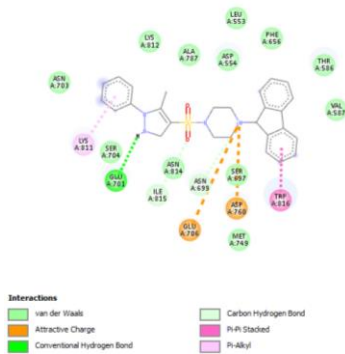
- Este estudio arrojó que los compuestos ZINC70669789 y ZINC68568370 tuvieron mejor afinidad con la proteína antígeno I/II (3IPK), teniendo así mayor probabilidad para ser usado como blanco. Se sugiere continuar buscando compuestos que sean selectivos y seguros, tratando de evitar algún efecto adverso sobre el paciente y sobre la microbiota oral saludable.
- Este trabajo contribuye al conocimiento de nuevos blancos para compuestos previamente evaluados en *S. mutans*, también permite profundizar y mejorar el diseño de compuestos con un potencial *anti-biofilms* en bacterias de la cavidad oral.
- Debido a la energía de interacción que se encontró con los compuestos, el utilizar estos compuestos *in vitro* podría ser promisorios para bloquear esa unión entre las proteínas antígeno I/II y la esterasa con la aglutinina salival (SAG).

9. ANEXOS

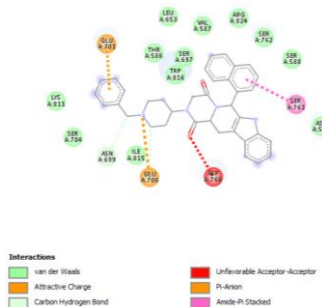
Interacción 2D de los 12 compuestos con cada una de las 5 proteína (esterasa, GBP-C, AG I/II, Sortasa A, GTF-C) del *S. mutans*

3IPK: Antígeno I/II

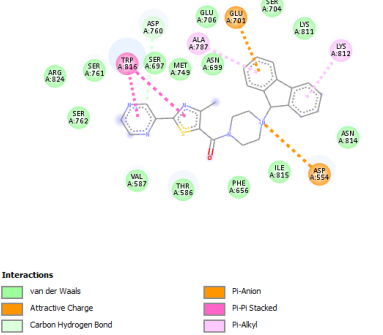
A



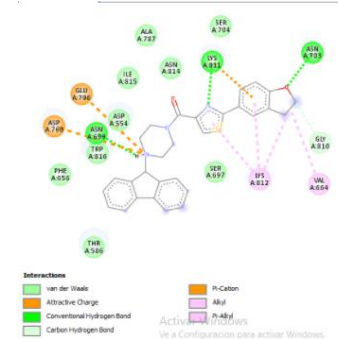
B



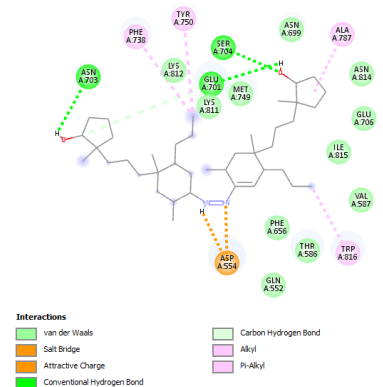
C



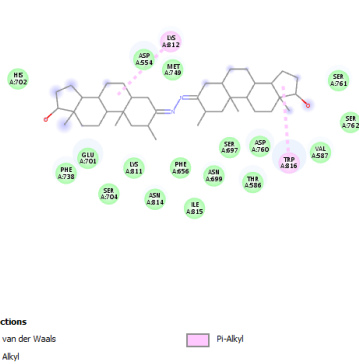
D



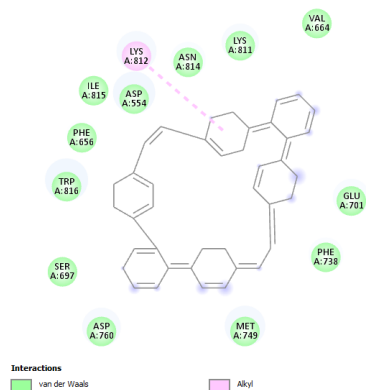
E



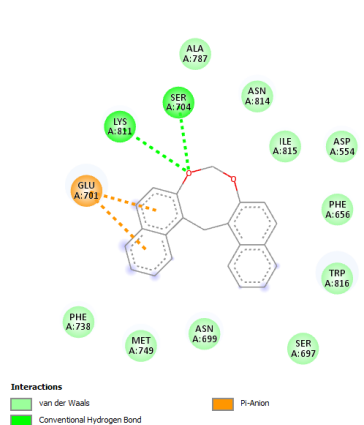
F



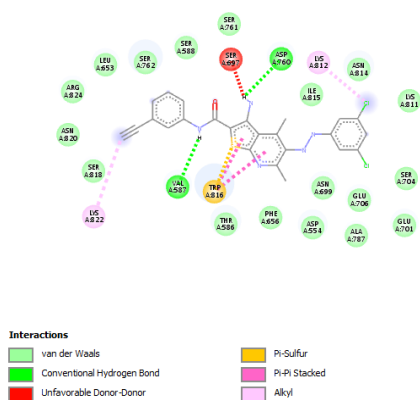
G



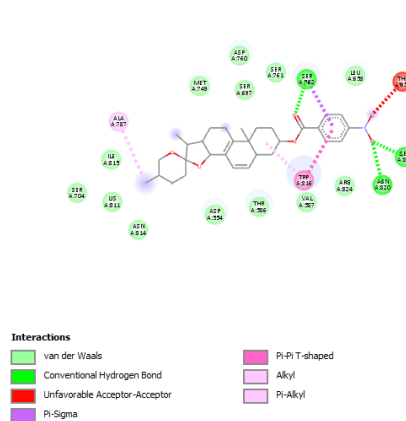
H



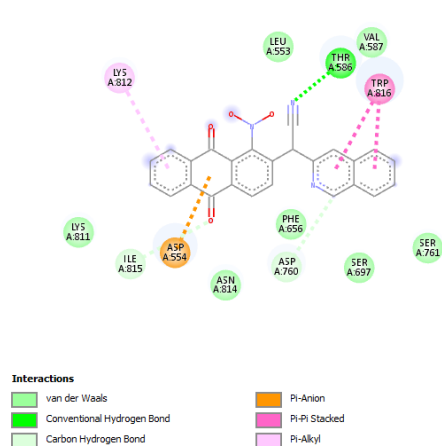
I



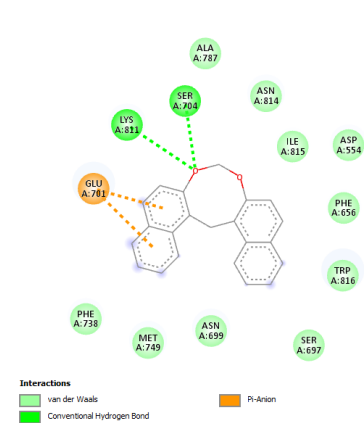
J



K

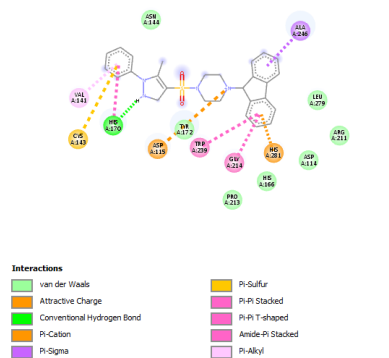


L

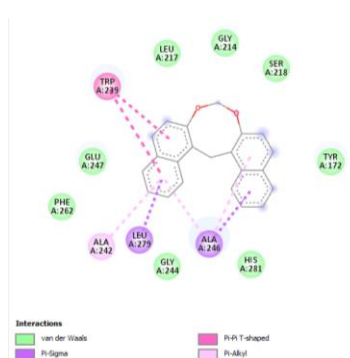


2W3Z: Esterasa

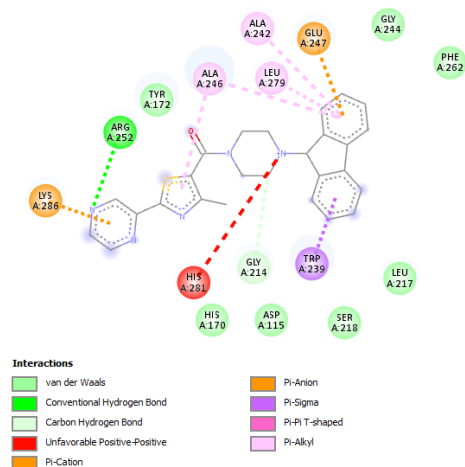
A



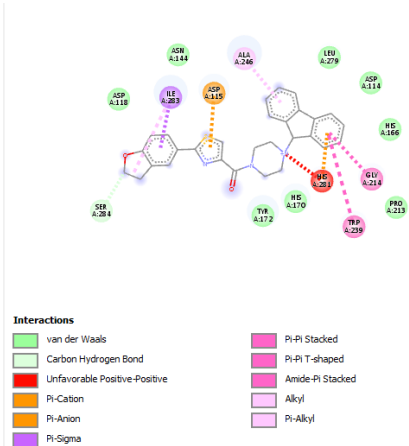
B



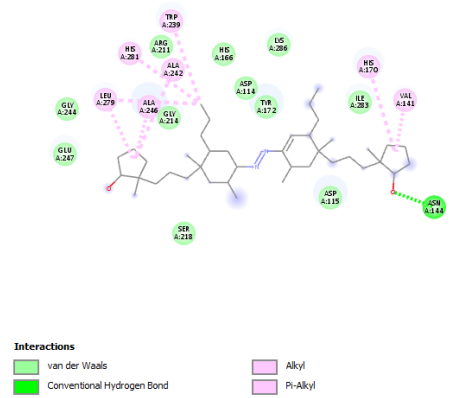
C



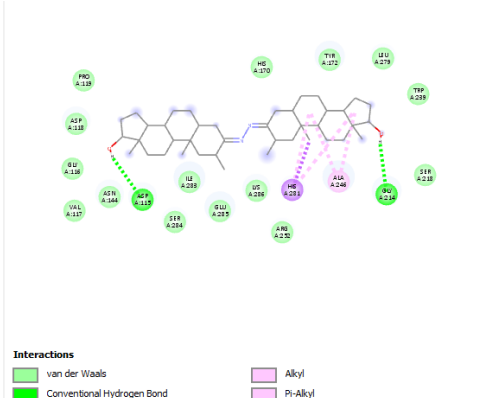
D



E



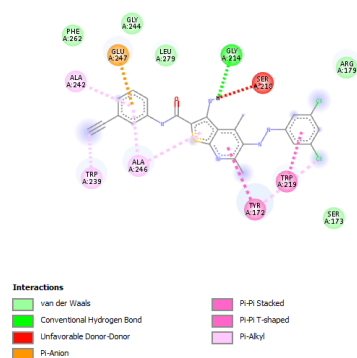
F



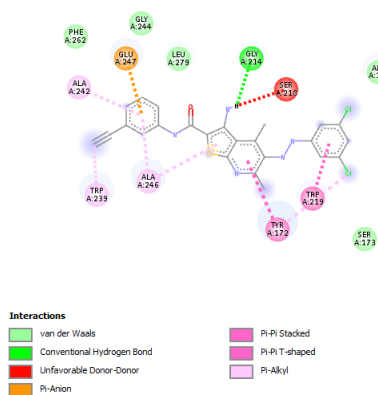
G



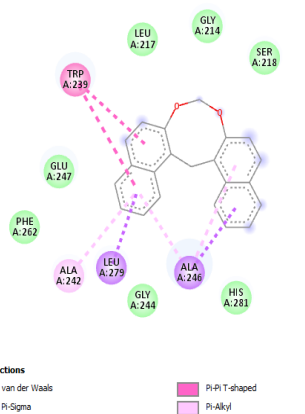
H



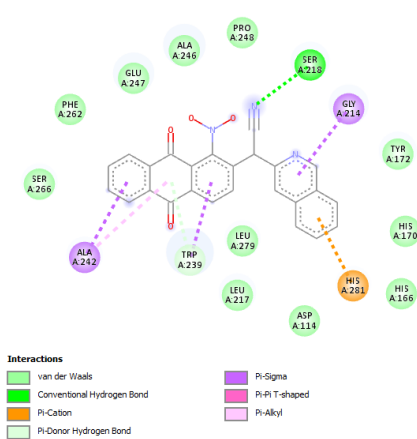
I



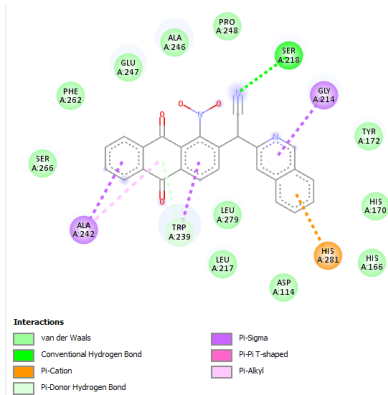
J



K

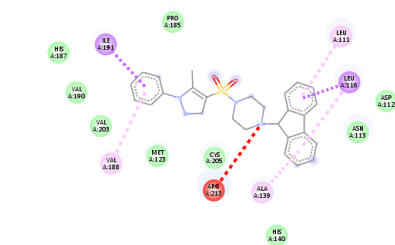


L



4TQX: Sortasa A

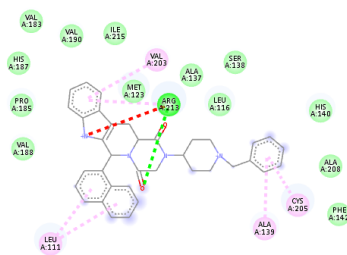
A



Interactions

- van der Waals
- Unfavorable Positive-Positive
- Pi-Sigma
- Pi-Alkyl

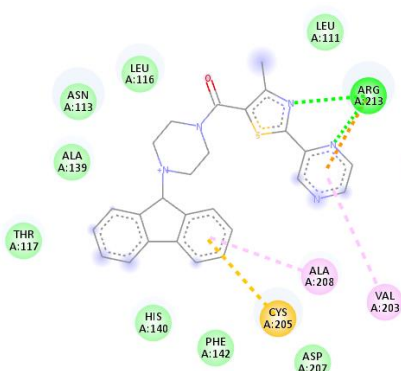
B



Interactions

- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond
- Unfavorable Positive-Positive
- Pi-Alkyl

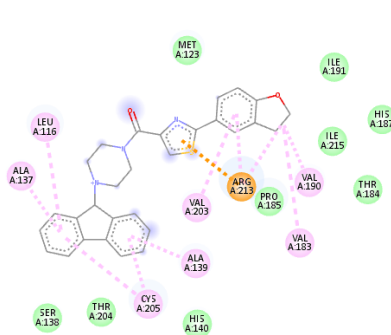
C



Interactions

- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond
- Pi-Cation
- Pi-Sulfur
- Pi-Alkyl

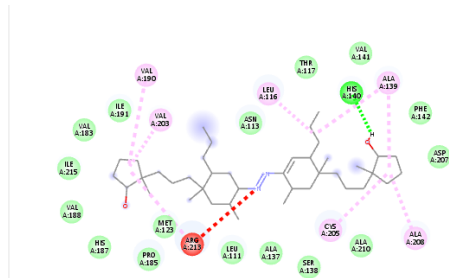
D



Interactions

- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond
- Pi-Cation
- Alkyl
- Pi-Alkyl

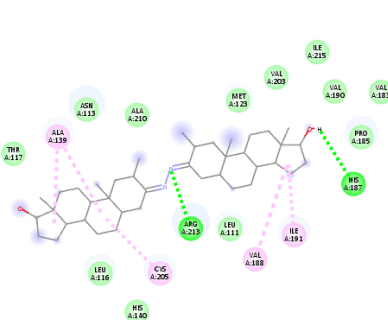
E



Interactions

- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond
- Unfavorable Positive-Positive
- Alkyl

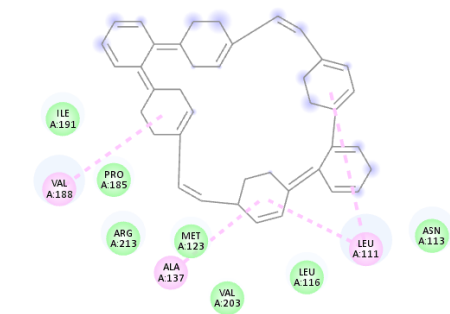
F



Interactions

- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond
- Alkyl

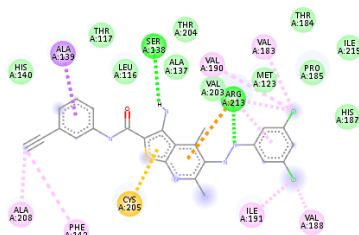
G



Interactions

van der Waals Alkyl

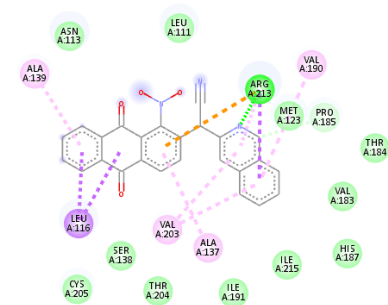
I



Interactions

van der Waals Conventional Hydrogen Bond Pi-Cation Pi-Sigma Pi-Sulfur Alkyl Pi-Alkyl

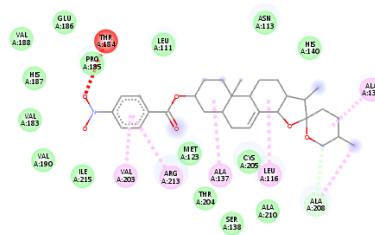
K



Interactions

van der Waals Conventional Hydrogen Bond Carbon Hydrogen Bond Pi-Cation Pi-Sigma Pi-Alkyl

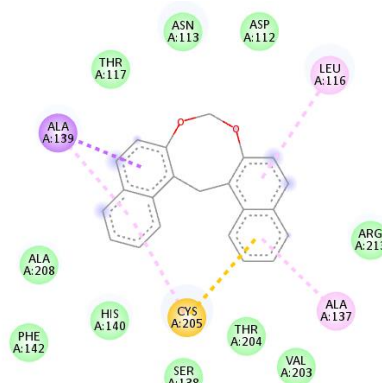
H



Interactions

van der Waals Carbon Hydrogen Bond Unfavorable Acceptor-Acceptor Alkyl Pi-Alkyl

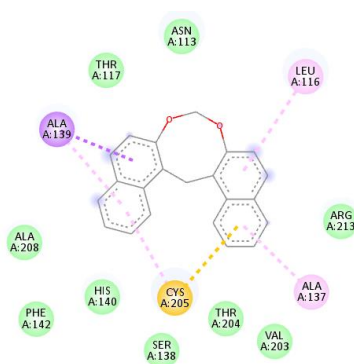
J



Interactions

van der Waals Pi-Sigma Pi-Sulfur Pi-Alkyl

L

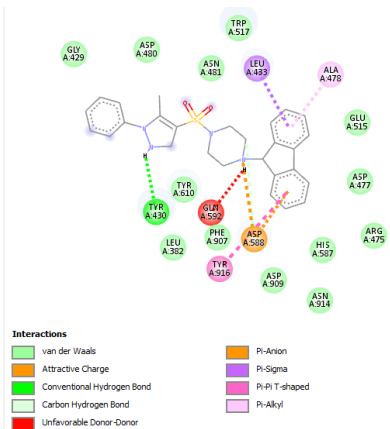


Interactions

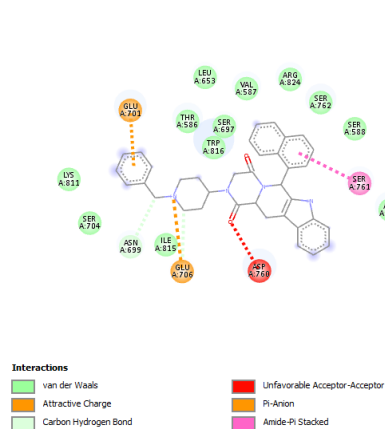
van der Waals Pi-Sigma Pi-Sulfur Pi-Alkyl

3ipk: GTF-C

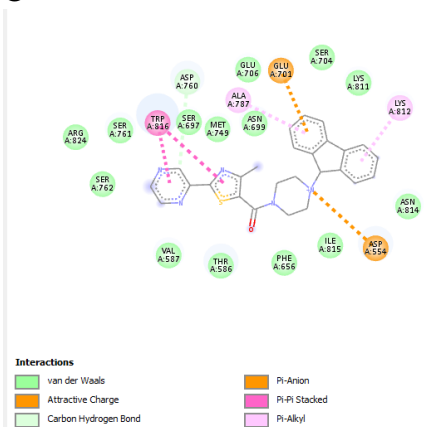
A



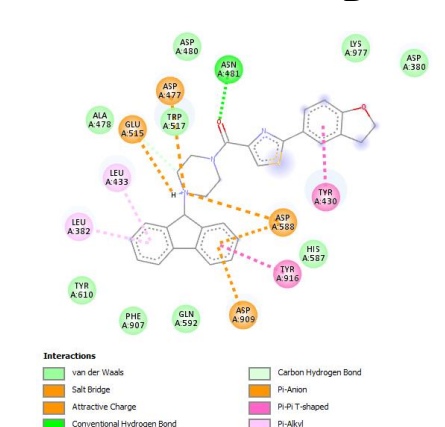
B



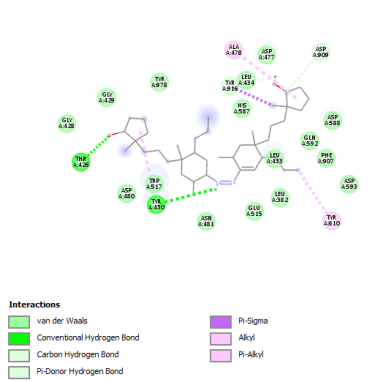
C



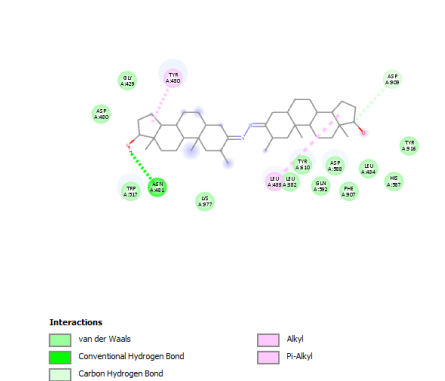
D



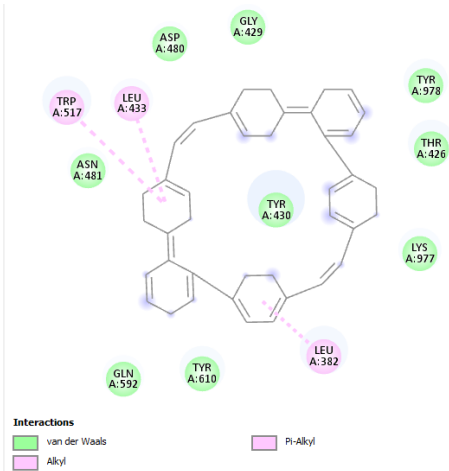
E



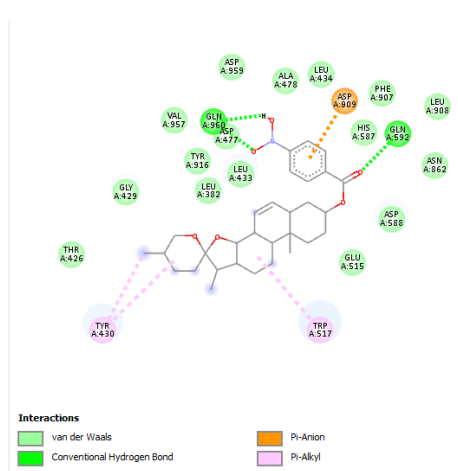
F



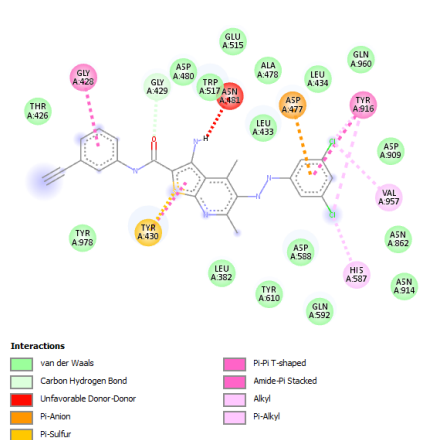
G



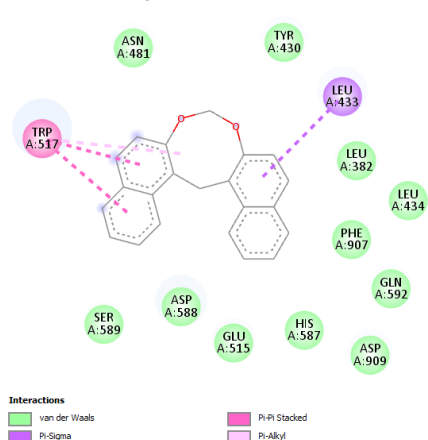
H



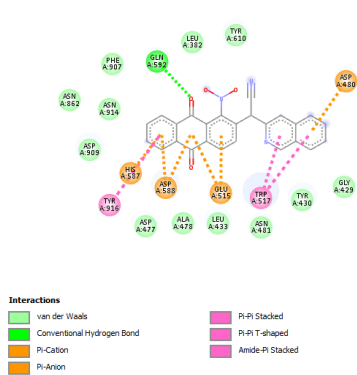
I



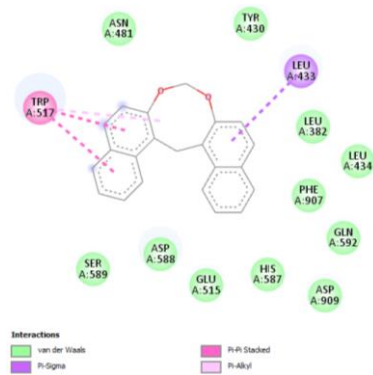
J



K

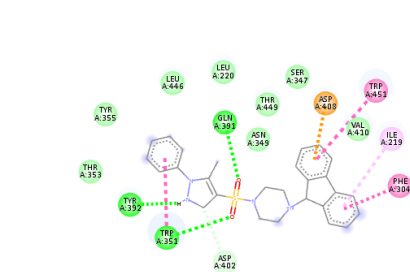


L

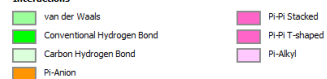


5UQZ: GBP-C

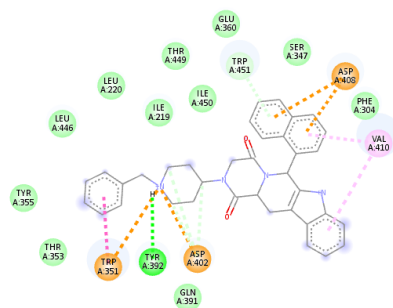
A



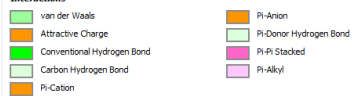
Interactions



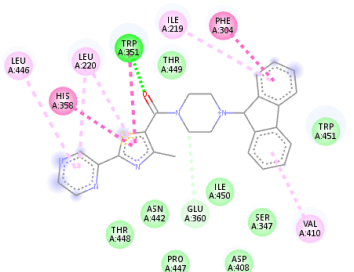
B



Interactions



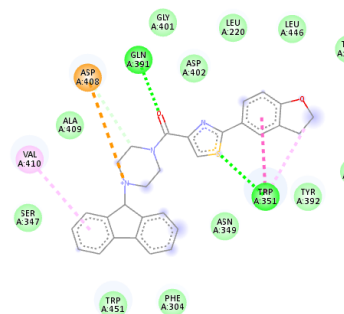
C



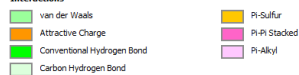
Interactions



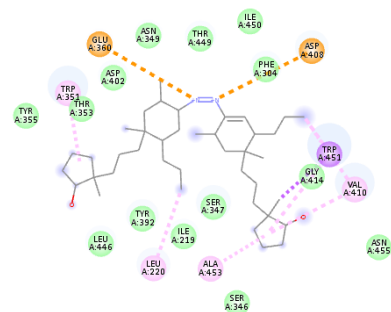
D



Interactions



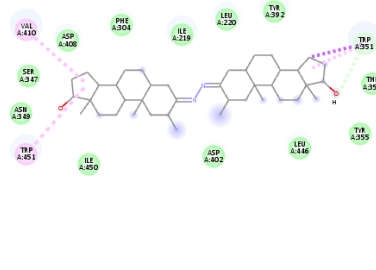
E



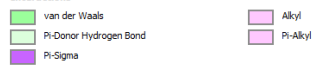
Interactions



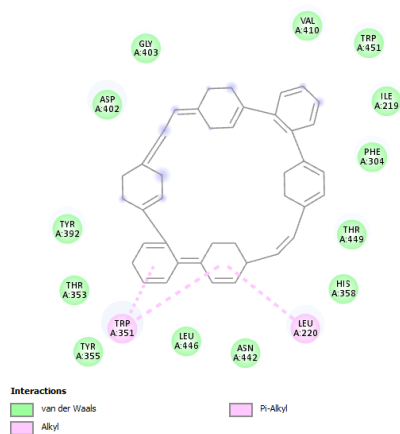
F



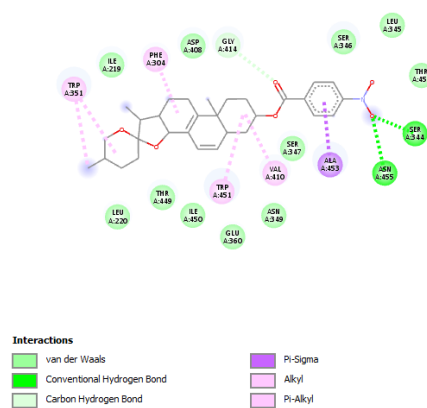
Interactions



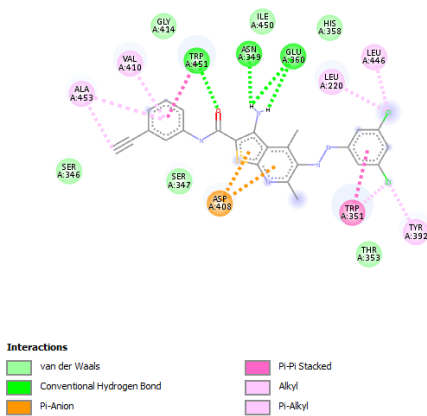
G



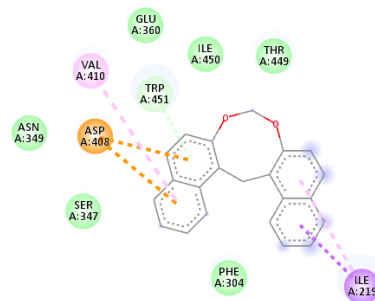
H



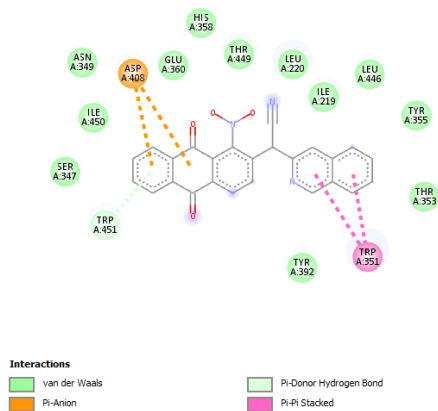
I



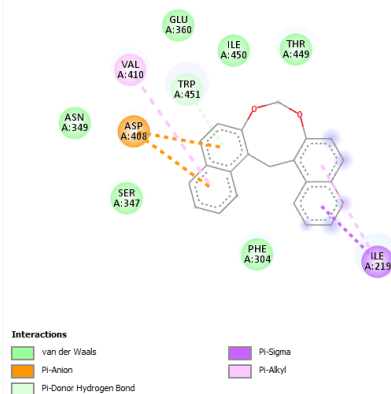
J



K



L



Referencias Bibliográficas

Accelrys. (2006). *Introduction to the Discovery Studio Visualizer*. 1–31.

Ajdić, D., McShan, W. M., McLaughlin, R. E., Savić, G., Chang, J., Carson, M. B., Primeaux, C., Tian, R., Kenton, S., Jia, H., Lin, S., Qian, Y., Li, S., Zhu, H., Najjar, F., Lai, H., White, J., Roe, B. A., & Ferretti, J. J. (2002). Genome sequence of *Streptococcus mutans* UA159, a cariogenic dental pathogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*(22), 14434–14439. <https://doi.org/10.1073/pnas.172501299>

Allouche, A. (2012). Software News and Updates Gabedit — A Graphical User Interface for Computational Chemistry Softwares. *Journal of Computational Chemistry*, *32*, 174–182. <https://doi.org/10.1002/jcc>

Bai, G., Tian, Y., Wu, J., Gu, Y., Chen, Z., Zeng, F., & Liu, J. (2019). Construction of a fusion anti-caries DNA vaccine in transgenic tomato plants for PAcA gene and cholera toxin B subunit. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, *66*(6), 924–929. <https://doi.org/10.1002/bab.1806>

Berman. (2000). The Protein Data Bank. *2000 Oxford University Press*, *28*(5), 235–242. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-00473-z>

Clarke, T. K. (1975). *Streptococcus mutans* and dental caries. *British Medical Journal*, *4*(5997), 647–648. <https://doi.org/10.1136/bmj.4.5997.647-d>

Crowley, P. J., Brady, L. J., Michalek, S. M., & Bleiweis, A. S. (1999). Virulence of a spaP mutant of *Streptococcus mutans* in a gnotobiotic rat model. *Infection and Immunity*, *67*(3), 1201–1206. <https://doi.org/10.1128/iai.67.3.1201-1206.1999>

Deng, D. M., Urch, J. E., ten Cate, J. M., Rao, V. A., van Aalten, D. M. F., & Crielaard, W. (2009). *Streptococcus mutans* SMU.623c codes for a functional, metal-dependent polysaccharide deacetylase that modulates interactions with salivary agglutinin. *Journal of Bacteriology*, *191*(1), 394–402. <https://doi.org/10.1128/JB.00838-08>

Gao, X., Jiang, S., Koh, D., & Hsu, C. Y. S. (2016). Salivary biomarkers for dental caries. *Periodontology 2000*, *70*(1), 128–141. <https://doi.org/10.1111/prd.12100>

- Herrera, I. R. (2012). Prevalencia de caries dental y factores de riesgo asociados. *Revista Cubana de Medicina Militar*.
- Hu, P., Huang, P., & Chen, M. W. (2013). Curcumin reduces *Streptococcus mutans* biofilm formation by inhibiting sortase A activity. *Archives of Oral Biology*, 58(10), 1343–1348. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2013.05.004>
- Ito, K., Ito, S., Shimamura, T., Weyand, S., Kawarasaki, Y., Misaka, T., Abe, K., Kobayashi, T., Cameron, A. D., & Iwata, S. (2011). Crystal Structure of Glucansucrase from the Dental Caries Pathogen *Streptococcus mutans*. *Journal of Molecular Biology*, 408(2), 177–186. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2011.02.028>
- Koo, H., Seils, J., Abranches, J., Burne, R. A., Bowen, W. H., & Quivey, R. G. (2006). Influence of apigenin on gtf gene expression in *Streptococcus mutans* UA159. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(2), 542–546. <https://doi.org/10.1128/AAC.50.2.542-546.2006>
- Krzyściak, W., Jurczak, A., Kościelniak, D., Bystrowska, B., & Skalniak, A. (2014). The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 33(4), 499–515. <https://doi.org/10.1007/s10096-013-1993-7>
- Larson, M. R., Rajashankar, K. R., Patel, M. H., Robinette, R. A., Crowley, P. J., Michalek, S., Brady, L. J., & Deivanayagam, C. (2010). Elongated fibrillar structure of a streptococcal adhesin assembled by the high-affinity association of α - and PPII-helices. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(13), 5983–5988. <https://doi.org/10.1073/pnas.0912293107>
- Lemos, J. A., Palmer, S. R., Zeng, L., Wen, Z. T., Kajfasz, J. K., Freires, I. A., Abranches, J., & Brady, L. J. (2019). The biology of streptococcus mutans. *Gram-Positive Pathogens*, 435–448. <https://doi.org/10.1128/9781683670131.ch27>
- Lin, Y., Chen, J., Zhou, X., & Li, Y. (2021). Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilm formation by strategies targeting the metabolism of exopolysaccharides. *Critical Reviews in Microbiology*, 47(5), 667–677. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2021.1915959>
- Mathur, V. P., & Dhillon, J. K. (2018). Dental Caries: A Disease Which Needs Attention. *Indian Journal of Pediatrics*, 85(3), 202–206. <https://doi.org/10.1007/s12098-017-2381-6>
- Matsumoto-Nakano, M. (2018). Role of *Streptococcus mutans* surface proteins for biofilm formation. *Japanese Dental Science Review*, 54(1), 22–29.

<https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2017.08.002>

Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., & Cui, M. (2012). Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer Aided-Drug Design*, 7(2), 146–157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>

Mieher, J. L., Larson, M. R., Schormann, N., Purushotham, S., Wu, R., Rajashankar, K. R., Wu, H., & Deivanayagam, C. (2018). Glucan binding protein C of *Streptococcus mutans* mediates both sucrose-independent and sucrose-dependent adherence. *Infection and Immunity*, 86(7). <https://doi.org/10.1128/IAI.00146-18>

Núñez, D. P., & Bacallao, L. G. (2010). Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Medicas*, 9(2), 156–166.

Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., & Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera - A visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13), 1605–1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>

Ren, Z., Cui, T., Zeng, J., Chen, L., Zhang, W., Xu, X., Cheng, L., Li, M., Li, J., Zhou, X., & Li, Y. (2016). Molecule targeting glucosyltransferase inhibits *Streptococcus mutans* biofilm formation and virulence. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(1), 126–135. <https://doi.org/10.1128/AAC.00919-15>

Rivera-Quiroga, R. E., Cardona, N., Padilla, L., Rivera, W., Rocha-Roa, C., Diaz De Rienz, M. A., Morales, S. M., & Martinez, M. C. (2021). In silico selection and in vitro evaluation of new molecules that inhibit the adhesion of streptococcus mutants through antigen i/ii. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/ijms22010377>

Robinette, R. A., Heim, K. P., Oli, M. W., Crowley, P. J., McArthur, W. P., & Brady, L. J. (2014). Alterations in immunodominance of *Streptococcus mutans* AgI/II: Lessons learned from immunomodulatory antibodies. *Vaccine*, 32(3), 375–382. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.11.023>

Sánchez, S. B. (2004). *Especial : Investigación básica en caries dental Glucosiltransferasas : su importancia en el desarrollo de la caries Glucosyltransferases : their role in cariogenesis*. 132–136.

Scharnow, A. M., Solinski, A. E., & Wuest, W. M. (2019). Targeting: *S. mutans* biofilms: A

perspective on preventing dental caries. *MedChemComm*, 10(7), 1057–1067.
<https://doi.org/10.1039/c9md00015a>

Sterling, T., & Irwin, J. J. (2015). ZINC 15 - Ligand Discovery for Everyone. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 55(11), 2324–2337.
<https://doi.org/10.1021/acs.jcim.5b00559>

Wallock-Richards, D. J., Marles-Wright, J., Clarke, D. J., Maitra, A., Dodds, M., Hanley, B., & Campopiano, D. J. (2015). Molecular basis of *Streptococcus mutans* sortase A inhibition by the flavonoid natural product trans-chalcone. *Chemical Communications*, 51(52), 10483–10485. <https://doi.org/10.1039/c5cc01816a>

Wang, J., Shi, Y., Jing, S., Dong, H., Wang, D., & Wang, T. (2019). Astilbin Inhibits the Activity of Sortase A from *Streptococcus mutans*. *Molecules*, 24(3), 1–11.
<https://doi.org/10.3390/molecules24030465>