

# **TRABAJO DE FIN DE GRADO**

## **MECANISMO DE ACCIÓN DE MOLÉCULAS PSICODÉLICAS**

Micaela Vidal Sánchez

Departamento de Química

Facultad de Ciencias- Universidad Autónoma de Madrid

Curso: 2023-2024

# ÍNDICE

1. ABSTRACT.....	3
2. RESUMEN.....	3
3. INTRODUCCIÓN .....	4
4. OBJETIVOS .....	7
5. PLAN DE TRABAJO .....	7
6. MÉTODOS .....	8
6.1 Teoría del Funcional de la Densidad .....	9
6.2 Dinámica molecular .....	10
6.2.1 Ecuaciones clásicas de movimiento .....	10
6.2.2 Campos de fuerza.....	11
6.2.3 Condiciones de contorno periódicas y control de Temperatura y Presión.....	12
6.3 Energía libre de interacción.....	13
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	14
7.1 Detalles computacionales.....	15
7.1.1 Cálculos con DFT .....	15
7.1.2 MD Clásica .....	15
7.1.3 Energía libre de interacción y su descomposición .....	17
7.2 Análisis de las Cargas de los Ligandos .....	17
7.3 Equilibrado con MD.....	19
7.4 Energía libre de interacción.....	20
7.5 Descomposición de la energía libre de interacción .....	24
8. CONCLUSIONES .....	27
9. BIBLIOGRAFÍA .....	29
10. ANEXO .....	30

## 1. ABSTRACT

Over the last couple of decades, classical psychedelics have been studied clinically due to their therapeutic effects on neuropsychiatric disorders, such as depression. Alongside this line of research, a new generation of psychedelics are being designed and investigated given their enhanced properties in comparison to classical psychedelics. Although the mechanism of action behind these compounds is not entirely understood, research has shown that psychedelics exert their therapeutic effects through the activation of the serotonin 2A receptor (5-HT<sub>2A</sub>). One of the main objectives of this project focuses on the interactions that occur between five different derivatives from the N-benzylphenethylamines series and the receptor 5-HT<sub>2A</sub>. To achieve this, molecular dynamics is used to computationally simulate how psychedelic compounds interact with the 5-HT<sub>2A</sub> receptor, thereby obtaining a series of geometries that allow for additional analyses. Subsequently, by using the end state method of Molecular Mechanics with Generalized Born Surface Area, the free interaction energies of each psychedelic with the 5-HT<sub>2A</sub> protein can be calculated. It could be observed that the addition of more than one aromatic ring to the N-benzyl group of the psychedelic increased its binding energy to the 5-HT<sub>2A</sub> receptor due to there being either more or stronger interactions with certain amino acids in the protein. Furthermore, the addition of a methoxy group in the N-benzyl ring decreases its affinity for the 5-HT<sub>2A</sub> protein because of steric and electrostatic reasons. In addition, the decomposition of the different contributions of free binding energy from the residues closest to each molecule is performed, thus identifying the residues that have the most relevant contributions to the free binding energy. In this decomposition, it can be observed that residue D122 is a fundamental residue as it significantly contribute to the free interaction energy of the psychedelic with the receptor. However, this interaction is only observed in bulky molecules with two fused aromatic rings to the N-benzyl ring. This branch of research is in continuous development: it would be important that further studies explored other psychedelic structures, with the aim of determining the factors that influence the binding to the 5-HT<sub>2A</sub> receptor.

## 2. RESUMEN

Durante las últimas décadas, se han estudiado clínicamente los psicodélicos clásicos debido a sus efectos terapéuticos en trastornos neuropsiquiátricos, como la depresión. Paralelamente a esta línea de investigación, los psicodélicos de nueva generación están siendo diseñados e investigados dadas sus propiedades mejoradas en comparación con sus compuestos clásicos análogos. Aunque el mecanismo de acción detrás de estos compuestos no está entendido completamente, algunas investigaciones ha demostrado que los psicodélicos ejercen sus efectos terapéuticos a través de la activación del receptor de serotonina 2A (5-HT<sub>2A</sub>). Uno de los principales objetivos de este proyecto

es investigar las interacciones que ocurren entre cinco derivados de la serie de N-bencilfenetilaminas y el receptor 5-HT<sub>2A</sub>. Para lograr esto, se utiliza la dinámica molecular que permite simular computacionalmente cómo interactúan los compuestos psicodélicos y el receptor 5-HT<sub>2A</sub> y a su vez obtener una serie de geometrías que permitan realizar análisis adicionales. A continuación, con el método de *Molecular Mechanics with Generalized Born Surface Area*, se calculan las energías libres de interacción de cada psicodélico con la proteína 5-HT<sub>2A</sub>. Se observa que la adición de más de un anillo aromático al grupo N-bencilo del psicodélico aumenta su energía de unión al receptor 5-HT<sub>2A</sub> debido a que existen más interacciones, o interacciones más fuertes, con ciertos aminoácidos en la proteína. Además, la adición de un grupo metoxilo al anillo N-bencilo disminuye su afinidad por la proteína 5-HT<sub>2A</sub> a causa de razones estéricas y electrostáticas. También, se realiza la descomposición de las distintas contribuciones de energía libre de interacción procedente de los aminoácidos más cercanos a cada molécula, de manera que se puedan identificar los residuos que tienen contribuciones más relevantes a la energía libre de interacción. En esta descomposición se observa principalmente que, el residuo D122 es un residuo fundamental, ya que aumenta considerablemente la energía libre de interacción del psicodélico con el receptor. Pero, esta interacción solo se observa en moléculas voluminosas, con dos anillos aromáticos fusionados al anillo N-bencilo. Esta rama de investigación está en continuo desarrollo: sería importante que futuras investigaciones explorasen otras estructuras de psicodélicos, con el objetivo de averiguar qué factores influyen más en la afinidad de los ligandos por el receptor 5-HT<sub>2A</sub>.

### **3. INTRODUCCIÓN**

Los trastornos neuropsiquiátricos como la depresión mayor, la esquizofrenia, la enfermedad maniaco-depresiva y el trastorno por déficit de atención con hiperactividad son condiciones que afectan tanto al sistema nervioso como a la salud mental. La depresión es uno de los trastornos psiquiátricos más comunes, con altos índices de morbilidad y mortalidad. Se estima que durante el 2019 aproximadamente 230 millones de personas tuvieron que lidiar con la depresión, incluyendo 23 millones de adolescentes y niños [1]. Uno de los tratamientos más utilizados para tratar la depresión son los antidepresivos, que tienen limitaciones significativas, siendo las más relevantes la lentitud de acción que poseen (desde un par de semanas hasta meses desde su toma) y las bajas tasas de respuesta a dichas drogas o incluso resistencia a ellas [2]. Por tanto, se siguen investigando nuevos métodos y tratamientos para combatir la depresión.

Los psicodélicos clásicos, como la dietilamida de ácido lisérgico (LSD) o la psilocibina, han sido estudiados clínicamente durante décadas debido a sus efectos terapéuticos en los trastornos neuropsiquiátricos como principalmente la depresión [3]. Los estudios con estos compuestos

empezaron en los años cincuenta a través de la serendipia y se fueron perfeccionando con modificaciones farmacológicas. Pero, en los años setenta, el uso recreacional de estas drogas se popularizó entre la gente joven y el LSD, junto con el resto de psicodélicos, fueron prohibidos. Debido a su enorme potencial terapéutico, en la última década se ha reestablecido la investigación de alguno de estos compuestos en unos pocos grupos de investigación alrededor del mundo [4]. Varios estudios clínicos han corroborado los hallazgos de los años cincuenta y han destacado que los psicodélicos podrían revolucionar el tratamiento actual de los trastornos neuropsiquiátricos [5].

A pesar de que los psicodélicos clásicos difieren en su perfil farmacológico, todos tienen un componente clave en común, que es la activación del receptor de serotonina (5-hidroxitriptamina) 2A (5-HT2A). Existe evidencia de que la activación de la proteína 5-HT2A conduce a un estado de conciencia profundamente alterado y a la disminución de la actividad de la red del cerebro, pero el mecanismo detrás de este fenómeno todavía no es del todo comprendido. Los resultados obtenidos con estos compuestos son extremadamente prometedores, ya que tienen una alta afinidad por el receptor 5-HT2A y, como consecuencia, los efectos de los psicodélicos son más rápidos y duraderos en comparación con los antidepresivos tradicionales. Después de una sola administración de estos psicodélicos, sus efectos terapéuticos pueden incluso llegar a durar meses [6].

En los últimos años se han empezado a diseñar psicodélicos de nueva generación a partir de los clásicos, con el fin de mejorar sus propiedades, por ejemplo, reducir sus efectos alucinógenos, que es una de las principales desventajas de emplear psicodélicos como tratamientos terapéuticos. Hoy en día, la administración de estas sustancias es necesario llevarla a cabo en clínicas debido a sus adversos efectos secundarios. Por tanto, diseñar compuestos que carezcan de estos efectos alucinógenos es altamente beneficioso, tanto económicamente como por la comodidad del paciente. También es importante sintetizar compuestos que sean altamente selectivos al receptor 5-HT2A y que realicen menos reacciones secundarias no deseadas [7].

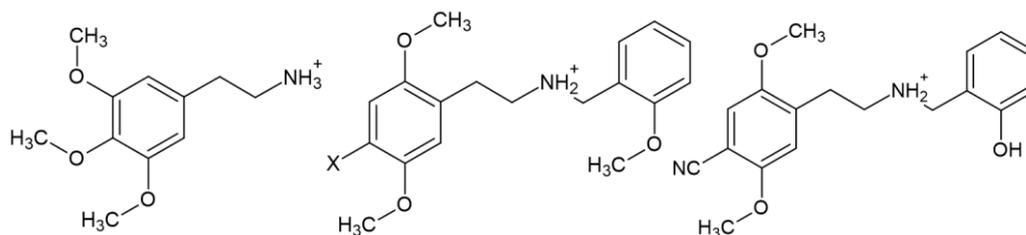


Figura 1. Estructuras de la mescalina (izquierda), NBOMe (centro) y 25CN-NBOH (derecha).

La mayoría de los compuestos psicodélicos sintéticos parten de la mescalina (Figura 1), que está formada por un grupo aromático, con tres grupos metoxilo, separado de un grupo amina básico por dos carbonos. A partir de la estructura de la mescalina se obtuvieron los compuestos N-bencilfenetilaminas (NBOMes), que se encuentran entre los psicodélicos más relevantes hoy en

día gracias a su alta afinidad por el receptor 5-HT<sub>2A</sub>. Dentro de este grupo de compuestos, el más estudiado ha sido el 25CN-NBOH (ver Figura 1), que ha demostrado ser de los compuestos más potentes y selectivos *in vitro* e *in vivo* [3].

Recientemente, se cristalizó la estructura del 25CN-NBOH unida al receptor 5-HT<sub>2A</sub>, lo que ha proporcionado una oportunidad única para utilizar, por primera vez, el estado activo del receptor en cálculos computacionales. En el presente estudio se emplea una combinación de simulaciones de dinámica molecular (MD) clásica y métodos de energía libre para determinar la energía libre de interacción de 25CN-NBOH con el receptor 5-HT<sub>2A</sub>. Además, se descompone esta energía libre en interacciones entre distintos aminoácidos del receptor y el ligando para caracterizar la fuerza y naturaleza de cada interacción. Siguiendo los resultados derivados para el ligando 25CN-NBOH, se aplica la misma metodología a una serie de compuestos que presentan diferentes sustituciones en el 25CN-NBOH, para poder comparar las distintas afinidades con el receptor. La Figura 2 ilustra las distintas estructuras estudiadas en este trabajo. Las especies derivadas del 25CN-NBOH son similares a aquellas estudiadas por Wallach *et al.* (2023) [8] y Soares *et al.* (2024) [9], pero no han sido investigadas previamente. Las estructuras que fueron recientemente cristalizadas por Wallach *et al.* tienen un grupo NO<sub>2</sub> en lugar de CN y las de Soares *et al.* presentan un grupo Br en vez de CN. Para las especies derivadas del 25CN-NBOH, se ha decidido continuar con el grupo CN, ya que el objetivo de este estudio es identificar las diferencias en el GA1 (Grupo Aromático 1, Figura 2), que presenta una posición de interacción única, y no las diferencias en el GA2 (Grupo Aromático 2, Figura 2).

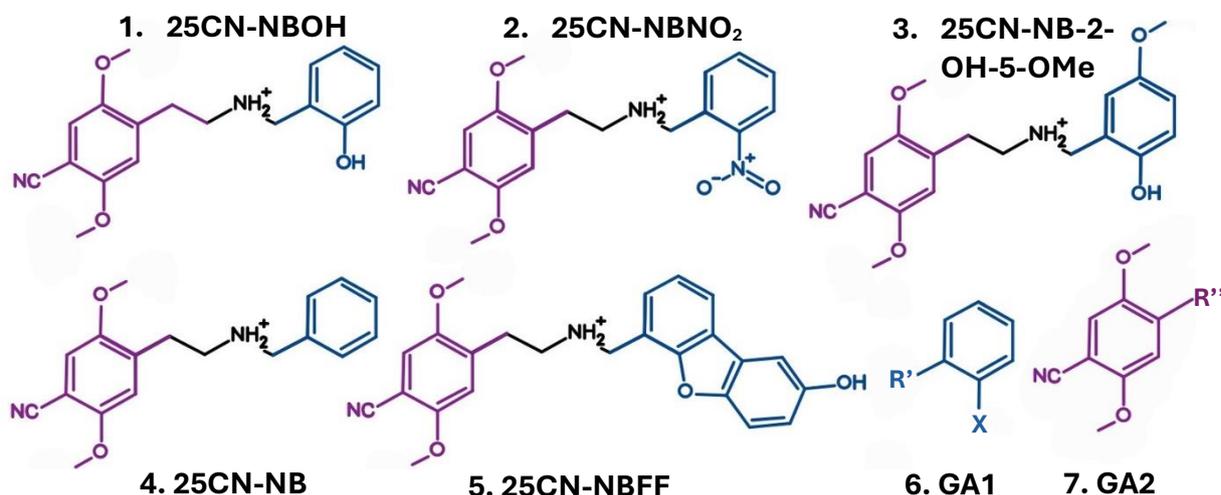


Figura 2. Estructura del 25CN-NBOH (estructura 1) y sus derivados (estructuras 2-5), que han sido investigados en este trabajo y los Grupos Aromáticos 1 y 2 (estructuras 6 y 7, respectivamente).

Como ya se ha comentado anteriormente, se ha decidido estudiar la molécula 25CN-NBOH porque es de las más potentes y selectivas del grupo de compuestos NBOMes [3]. Wallach *et al.* en 2023 [8] destaca que el grupo OH no es tan fundamental en el rol del psicodélico, como antes se creía, para poder interactuar con el receptor. Debido a esto, el estudio se ha centrado en variar el grupo OH para analizar cómo afectan distintos sustituyentes a la energía libre de interacción. La estructura 2

(25CN-NBNO<sub>2</sub>) de la Figura 2 reemplaza al grupo OH de la estructura 1 (25CN-NBOH) por un grupo NO<sub>2</sub>. De este modo se puede estudiar la diferencia entre un grupo dador de carga, como es el OH, por un grupo aceptor de carga, como es el grupo NO<sub>2</sub>. La estructura 3 (25CN-NB-2-OH-5-OMe) añade un grupo metoxilo en la posición *para* del OH en la estructura 25CN-NBOH, con el objetivo de analizar la diferencia que existe al añadir un grupo metoxilo y determinar si afecta la posición en que éste está. Wallach et al. (2023), describen que el grupo metoxilo en posición *para* podría llegar a inducir un choque estérico, disminuyendo la afinidad. La estructura 4 (25CN-NB) tiene un H en vez de un OH en la estructura 1, para observar si el grupo OH realmente es fundamental en la energía libre de interacción, como ha concluido Wallach et al. (2023) [8]. Por último, la estructura 5 (25CN-NBFF) reemplaza al grupo hidroxilo por los grupos furano y fenol fusionados al anillo de benceno, con el fin de ver si un grupo voluminoso afecta la energía libre de interacción. Como se puede ver en la Figura 2, solo se está modificando el anillo aromático que se encuentra a la derecha y a dos carbonos del grupo amina (el GA1), mientras que el GA2 y el resto de la molécula no varían. También cabe destacar, que solo se han realizado pequeñas modificaciones al GA1, ya que, de este modo, se puede identificar de forma más precisa cualquier tipo de cambio en la interacción con la proteína.

Esta investigación se va a llevar a cabo mediante modelos computacionales con la ayuda de MD clásica y métodos de energía libre para llegar a entender de forma clara y concisa las interacciones entre los ligandos y el receptor. Se discutirá la relevancia de los distintos sustituyentes de los ligandos a la hora de interactuar con el receptor y se describirá en detalle los aminoácidos más importantes en el proceso de interacción.

#### **4. OBJETIVOS**

El objetivo global de este proyecto es estudiar las interacciones de los compuestos 25CN-NBOH y derivados, con el receptor 5-HT<sub>2A</sub>, mediante simulaciones computacionales. Para ello, se perseguirán los siguientes objetivos específicos:

- Aprendizaje de métodos de mecánica clásica y cuántica en el área computacional y manejo de distintos programas para poder realizar simulaciones computacionales.
- Cálculo de las energías libres de Gibbs entre los compuestos y el receptor.
- Caracterización de las interacciones entre distintos psicodélicos y el receptor 5-HT<sub>2A</sub> en términos de tipo de energía y contribución de los aminoácidos más relevantes.
- Comparación de los resultados obtenidos para los distintos psicodélicos.

#### **5. PLAN DE TRABAJO**

El plan de trabajo que se ha llevado a cabo hasta el momento para este proyecto es el siguiente:

- Semana 1-4: Búsqueda bibliográfica sobre el receptor 5-HT2A y los distintos compuestos psicodélicos.
- Semana 2-3: Aprendizaje del sistema operativo Linux y los programas de software que se van a utilizar para llevar a cabo el proyecto: AMBER (programa de MD) [10], VMD (programa de visualización molecular) [11] y Gaussian (programa de química cuántica) [12].
- Semana 4: Presentación de un seminario en el grupo de investigación MoBioChem sobre los compuestos psicodélicos y su interacción con el receptor 5-HT2A.
- Semana 5-8: Simulación computacional de la interacción del ligando 25CN-NBOH con la proteína 5-HT2A.
- Semana 9-10: Obtención de la energía libre de interacción entre el ligando 25CN-NBOH y el receptor 5-HT2A.
- Semana 9-12: Realización de simulaciones computacionales con otros ligandos y el receptor 5-HT2A y cálculo de las energías libres de interacción.
- Semana 10-12: Descomposición de la energía libre de interacción en contribuciones electrostáticas y no electrostáticas y contribución de cada uno de los aminoácidos de la proteína a la energía de interacción total.
- Semana 12-14: Comparación entre los resultados obtenidos con los distintos ligandos.
- Semana 15-19: Redacción completa del trabajo de fin de grado y preparación de la presentación oral.

## 6. MÉTODOS

A lo largo de este proyecto se emplean distintos métodos de cálculo para cumplir con los objetivos descritos en el cuarto apartado. En primer lugar, se utiliza la mecánica cuántica (QM: '*quantum mechanics*' en inglés) y la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT: '*Density Functional Theory*' en inglés) para realizar una primera optimización geométrica de los ligandos y, posteriormente, calcular las cargas de las distintas moléculas. Estas cargas son necesarias para introducirlas en el campo de fuerzas que se utiliza en las simulaciones posteriores. A continuación, se emplea la MD para modelizar la evolución temporal de los ligandos interaccionando con el receptor de membrana solvatado, y obtener un conjunto de geometrías que permiten realizar análisis adicionales. En particular, sobre estas geometrías se aplica el método MMGBSA ('*Molecular Mechanics with Generalized Born Surface Area*' en inglés) para calcular la energía libre de interacción relativa entre las moléculas y el receptor 5-HT2A. A continuación, se describirán, de forma breve, las teorías mencionadas anteriormente que se encuentran detrás de los métodos de cálculo.

## 6.1 Teoría del Funcional de la Densidad

En primer lugar, se trabaja exclusivamente con el ligando para realizar una optimización geométrica de la molécula (geometría de energía potencial más baja) y obtener posteriormente sus cargas electrostáticas. Debido a que el ligando es un sistema pequeño, se utiliza la QM, concretamente el método de DFT, tanto para calcular sus cargas como la energía y el gradiente de la energía, este último necesario durante la optimización geométrica. La DFT expresa la energía electrónica como funcional de la densidad electrónica y se basa en los dos teoremas propuestos por Hohenberg y Kohn [13]. El primer teorema dicta que a partir de la densidad electrónica se puede calcular cualquier propiedad del estado fundamental. Esta densidad siempre debe de ser positiva, su integral a todo el espacio debe de dar como resultado el número total de electrones y también definir de manera única el potencial externo al que están expuestos los electrones. En una molécula, se define al potencial externo como la energía de interacción entre los núcleos y los electrones. De este modo, se puede expresar la energía electrónica con el Funcional de Hohenberg y Kohn de la siguiente manera:

$$E_e(\rho) = T_e(\rho) + E_{ee}(\rho) + E_{ext}(\rho) \quad (1)$$

Donde  $E_e(\rho)$  es la energía electrónica,  $T_e(\rho)$  es la energía cinética de los electrones,  $E_{ee}(\rho)$  es la interacción repulsiva interelectrónica y  $E_{ext}(\rho)$  es el potencial externo que describe la interacción entre los electrones y núcleos. Cabe destacar que se ha aplicado a la ecuación (1) la aproximación de Born-Oppenheimer, que dicta que los núcleos son 1000 veces más pesados que los electrones y, se considera que no se mueven. Por tanto, se aproxima que la energía cinética de los núcleos es cero y que la interacción repulsiva entre dos núcleos se mantiene constante, por lo que ya no se incluye en la ecuación por simplicidad.

El segundo teorema de Hohenberg y Kohn dicta que la densidad electrónica exacta del estado fundamental es aquella donde la derivada de la energía con respecto a la densidad electrónica es nula, es decir, la densidad electrónica para la cual la energía es mínima (teorema variacional). Debido a que la relación entre la energía cinética y la densidad electrónica es desconocida, no se puede calcular el valor de la energía de forma exacta. Por tanto, se emplea el Método de Kohn-Sham [14] que define un sistema de referencia en el que los electrones no interactúan:

$$E_{e,r}(\rho) = T_{e,r}(\rho) + E_{ext,r}(\rho) \quad (2)$$

Dado que en un sistema de electrones no interactuantes el término de la interacción repulsiva interelectrónica se desprecia, la energía de la ecuación (2) se puede calcular de forma exacta. La energía de correlación e intercambio,  $E_{xc}(\rho)$ , se conoce como la diferencia entre el sistema real y el sistema de referencia, y se expresa de la siguiente manera:

$$E_{xc}(\rho) = E_e(\rho) - E_{e,r}(\rho) \quad (3)$$

El problema del método DFT es que no permite calcular de manera exacta la energía de correlación e intercambio y, como consecuencia, se han desarrollado distintos funcionales empíricos para describir este término energético, que difieren entre sí en su relación con la densidad electrónica y su manera de parametrizarse. También es necesario escoger una base o conjunto de orbitales atómicos, que se utiliza para calcular la densidad electrónica del sistema. En el apartado 7.1.1, se especificarán el funcional y la base empleada en este proyecto.

## 6.2 Dinámica molecular

### 6.2.1 Ecuaciones clásicas de movimiento

El sistema objeto de estudio en este trabajo es un ligando interaccionando con un receptor proteico que se encuentra integrado en una membrana lipídica, y todo ello se encuentra solvatado. Por tanto, todo el sistema está formado por decenas de miles de átomos. Al tener un sistema con un elevado número de partículas, se emplean métodos de mecánica clásica para reducir el coste computacional [15]. Estos métodos consisten en cálculos iterativos de las fuerzas presentes en el sistema y los movimientos asociados a él. El sistema se mueve en respuesta a las interacciones que experimenta según las Leyes del movimiento de Newton. A partir de estas leyes se pueden formular las ecuaciones de movimiento de Hamilton [16], y obtener la evolución temporal de las coordenadas y los momentos de los átomos del sistema. Las ecuaciones son las siguientes:

$$\frac{dp_i}{dt} = -\frac{dV}{dq_i} \quad (4)$$

$$\frac{dq_i}{dt} = \frac{dT_i}{dp_i} \quad (5)$$

Donde  $p_i$  es el momento lineal del átomo  $i$ ,  $t$  es el tiempo,  $V$  es la energía potencial del sistema,  $q_i$  son las coordenadas del átomo  $i$  y  $T_i$  es la energía cinética asociada al átomo  $i$ . Las ecuaciones (4) y (5) no tienen solución exacta y necesitan ser resueltas numéricamente dada la naturaleza compleja de las interacciones entre partículas. Por tanto, se suelen resolver estas ecuaciones con el algoritmo de Verlet [17], que consiste en aplicar una expansión de Taylor de las ecuaciones (4) y (5) hasta el término de segundo orden. Con este algoritmo se obtienen las siguientes ecuaciones:

$$q_i(t + \Delta t) = q_i(t) + \Delta t v_i(t) - \frac{\Delta t^2}{2m} \frac{dV(t)}{dq_i} \quad (6)$$

$$v_i(t + \Delta t) = v_i(t) - \frac{\Delta t}{2m} \left( \frac{dV(t+\Delta t)}{dq_i} + \frac{dV(t)}{dq_i} \right) \quad (7)$$

Donde  $\Delta t$  es el incremento de tiempo,  $v_i$  es la velocidad del átomo  $i$ ,  $m$  es la masa. Para llevar a cabo la MD de un sistema, los pasos del algoritmo de Verlet a seguir son los siguientes: En primer lugar, calcular el diferencial  $\frac{dV(t)}{dq_i}$  para poder obtener el valor de  $q_i(t + \Delta t)$  de la ecuación (6). En segundo lugar, resolver el diferencial  $\frac{dV(t+\Delta t)}{dq_i}$  y calcular el valor de  $v_i(t + \Delta t)$  a partir de la ecuación (7). Por

último, se repite el procedimiento descrito hasta el final de la simulación. La ecuación de Verlet permite determinar las coordenadas y velocidades en un momento posterior, a partir de estas propiedades de tiempo anteriores.

Para iniciar la simulación usando este algoritmo, se necesitan unas coordenadas y velocidades iniciales. Las coordenadas iniciales se pueden adquirir con métodos experimentales o con métodos teóricos. En este proyecto se adquieren las coordenadas de la proteína de la base de datos ‘*Protein Data Bank*’ (<https://www.rcsb.org/>). Las velocidades iniciales se obtienen de una distribución de Maxwell-Boltzmann a una cierta temperatura deseada, y así, el sistema esté en equilibrio térmico [15]. Para poder resolver las ecuaciones (6) y (7), se necesita calcular el gradiente de la energía potencial,  $\frac{dV(t)}{dq_i}$ . Esta derivada se puede calcular de tres formas distintas: utilizando un campo de fuerzas (MD clásica), resolviendo la ecuación de Schrödinger (MD *Ab initio*: ‘*Ab initio Molecular Dynamics*’ en inglés) o combinando los dos métodos anteriores (QM/MM MD: ‘*Quantum Mechanics/Molecular Dynamics Molecular Dynamics*’ en inglés). En este trabajo se emplea la primera opción (MD clásica) para realizar la MD.

### 6.2.2 Campos de fuerza

Como se ha mencionado en el apartado anterior, en este trabajo se utiliza un campo de fuerzas para resolver las ecuaciones de movimiento y llevar a cabo la MD del sistema. Un campo de fuerzas es una expresión matemática que relaciona la energía potencial de un sistema únicamente con sus coordenadas internas [18]. La energía potencial se describe como la energía de interacción entre todos los átomos, en donde tanto los núcleos como los electrones se tienen en cuenta de manera implícita. Hay una gran cantidad de campos de fuerza disponibles con distintos grados de complejidad, pero la mayoría separan la energía potencial en interacciones enlazantes y no enlazantes [16]:

$$V_{total} = \sum_{i=1}^{N_{enlace}} V_{enlace} + \sum_{i=1}^{N_{ángulo}} V_{ángulo} + \sum_{i=1}^{N_{diedro}} V_{diedro} + \sum_{i=1}^{N_{No\ enlazante}} V_{No\ enlazante} \quad (8)$$

El primer término de la ecuación (8) describe la interacción entre átomos enlazados directamente, el segundo entre átomos separados por dos enlaces y el tercer termino describe el potencial diedro entre átomos separados por tres enlaces [18]. Los primeros dos términos se describen con potenciales armónicos y el tercero con potenciales de Fourier. El último término describe las interacciones no enlazantes (interacciones que se producen entre átomos con más de tres enlaces de diferencia), que incluyen los potenciales de Coulomb, las fuerzas de van der Waals y las interacciones repulsivas. Las últimas dos interacciones, (van der Waals y repulsivas) se pueden expresar con los potenciales de Lennard-Jones [16]. Teniendo en cuenta los potenciales armónicos, de Fourier y de Lennard-Jones, se puede reescribir la ecuación (8) para obtener la ecuación (9) [19]:

$$V_{total} = \sum_{i=1}^{N_{enlace}} \frac{1}{2} k_b (r - r_0)^2 + \sum_{i=1}^{N_{angulo}} \frac{1}{2} k_a (\theta - \theta_0)^2 + \sum_{i=1}^{N_{dihedro}} k_t (1 + \cos(n\omega - \gamma)) + \sum_{i>j} \frac{Q_i Q_j}{4\pi\epsilon r_{ij}} + 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (9)$$

Donde  $k_b$ ,  $k_a$  y  $k_t$  son las constantes de fuerza de la distancia de enlace, del ángulo de enlace y del ángulo de diedro, respectivamente.  $r$  es la distancia de enlace,  $r_0$  es la distancia de enlace en el equilibrio,  $\theta$  es el ángulo de enlace,  $\theta_0$  es el ángulo de enlace en el equilibrio. Los términos  $n$ ,  $\gamma$  y  $\omega$  están relacionados con la curva de energía potencial torsional del sistema:  $n$  es el número de mínimos,  $\gamma$  el ángulo que determina la posición del mínimo y  $\omega$  el ángulo de diedro [16]. Finalmente,  $Q_i$  y  $Q_j$  son las cargas de los átomos  $i$  y  $j$ ,  $\sigma_{ij}$  es la distancia entre  $i$  y  $j$  cuando el potencial de Lennard-Jones es cero,  $\epsilon_{ij}$  es la máxima energía potencial de atracción de Lennard-Jones entre  $i$  y  $j$  y  $\epsilon$  es la permeabilidad del vacío. Los parámetros del campo de fuerzas ( $k_b$ ,  $k_a$ ,  $k_t$ ,  $r_0$ ,  $\theta_0$ ,  $n$ ,  $\gamma$ ,  $Q_i$ ,  $\sigma_{ij}$  y  $\epsilon_{ij}$ ) varían dependiendo del tipo de átomo. Estas constantes se determinan empíricamente de tal forma que reproducen datos experimentales o calculados con niveles de teoría altos.

### 6.2.3 Condiciones de contorno periódicas y control de Temperatura y Presión

Los sistemas macroscópicos tienen un número tan elevado de átomos que no es factible simularlos computacionalmente. Pero, si se intenta simular un sistema macroscópico mediante un sistema de tamaño finito, también presentan problemas en las simulaciones, ya que en estos sistemas una gran proporción de átomos se encuentran en la superficie de la “caja” de simulación, mientras que en sistemas macroscópicos una pequeña minoría de los átomos están en la superficie. Por tanto, las colisiones que se producen entre los átomos del sistema microscópico y la caja no describen un sistema real. Para evitar este problema, la aplicación de condiciones de contorno periódicas permite estimar de forma más exacta propiedades generales de sistemas muy grandes a partir de simulaciones de sistemas finitos [15]. Estas condiciones implican que se repite el sistema finito en todas las direcciones del espacio. Se calculan las interacciones no enlazantes entre átomos dentro de una cierta región (dentro de límite ‘*cutoff*’) en lugar del sistema completo de modo que el cálculo sea viable en términos de tiempo y coste. Esta aproximación, sin embargo, presenta un principal problema: la aparición de discontinuidades en la energía potencial al aplicar el límite *cutoff*. El potencial de Lennard-Jones no presenta este problema, ya que decae rápidamente con la distancia y se aproxima a cero en el espacio límite. A su vez, se le añade una función de corrección al potencial para que disminuya de forma suave y gradual al límite. Por otro lado, las interacciones de Coulomb decaen muy lentamente con la distancia y presentan una contribución importante en el límite *cutoff*. Por tanto, emplear una función de corrección como la utilizada para el potencial de Lennard-Jones podría llevar a una gran fuente de error. Para corregir este problema, se utiliza la Sumatoria de Ewald [20], en la

que se aplican distribuciones de carga del signo opuesto para una carga puntual. Esto convierte las interacciones de largo alcance, que son difíciles de computar, en interacciones de corto alcance. Después, se incorporan distribuciones de carga del signo opuesto para contrarrestar las cargas de las distribuciones anteriores y así, poder calcular las interacciones de Coulomb.

Con el objetivo de poder simular las condiciones experimentales durante la MD, se emplean métodos de control de la temperatura y presión del sistema, denominados termostatos y baróstatos, respectivamente. Hay distintos tipos de métodos de control, pero entre los más comunes se encuentra el método estocástico [21]. El control estocástico consiste en actualizar las variables asociadas a las propiedades termodinámicas utilizando ecuaciones de movimiento adaptadas para poder controlar cada propiedad de forma aleatoria. Este proyecto emplea este método para controlar la temperatura y presión del sistema. Existen numerosos mecanismos de control de la temperatura, entre los más comunes se encuentran el termostato de Berendsen, el termostato de Andersen o el termostato de Langevin [22]. En este trabajo se emplea el termostato de Langevin, un método de control estocástico, que tiene como objetivo principal mantener una temperatura constante y prevenir expansiones anómalas. Esto se consigue intentando emular un baño térmico mediante simulaciones de colisiones entre partículas ficticias y el sistema, controlando de este modo su temperatura. Entre los distintos baróstatos que existen para controlar la presión del sistema, los más empleados son el de Monte Carlo o el de Berendsen [23]. En este proyecto se trabaja con el baróstato de Berendsen, que mantiene una presión constante al reescalar continuamente la caja de solvatación del sistema.

### 6.3 Energía libre de interacción

Una vez finalizadas las simulaciones de MD, se calculan las energías libres de interacción entre el receptor 5-HT<sub>2A</sub> y los distintos psicodélicos. Se emplea el método MMGBSA, diseñado por Kollman *et al.* [24], para obtener las energías libres de sistemas moleculares [25]. La energía libre de interacción se puede expresar de la siguiente manera:

$$\Delta G_{bind} = G_c - G_r - G_l \quad (10)$$

Donde  $\Delta G_{bind}$  es la energía libre de interacción entre el ligando y el receptor,  $G_c$  es la energía libre del complejo ligando-proteína,  $G_r$  la energía libre del receptor y  $G_l$  la energía libre del ligando. El término  $\Delta G_{bind}$  mencionado en la ecuación (10) se pueden descomponer en tres contribuciones:

$$\Delta G_{bind} = \Delta E_{MM} + \Delta G_{solv} - T\Delta S \quad (11)$$

Donde  $\Delta E_{MM}$  son los cambios producidos en la Mecánica Molecular (MM: ‘*Molecular Mechanics*’ en inglés) en el vacío,  $\Delta G_{solv}$  son los cambios de la energía libre de solvatación y  $-T\Delta S$  está relacionado con los cambios de la entalpía conformacional al unirse el ligando [26]. El término  $\Delta E_{MM}$

describe la interacción entre la proteína y el ligando en el vacío e incluye los cambios en la energía interna (energías de distancias de enlace, ángulos de enlace y ángulos diedros), las energías electrostáticas y las energías de van der Waals.  $\Delta G_{solv}$  es la suma de las contribuciones de solvatación polar y no polar, donde la contribución polar se calcula con el modelo de disolvente continuo de Born y la contribución no polar se estima generalmente utilizando el área de superficie accesible del disolvente (SASA: ‘*solvent-accessible surface area*’ en inglés) [27]. Por tanto, al expandir la ecuación (11) en sus distintas contribuciones, se obtiene la siguiente ecuación:

$$\Delta G_{bind} = \Delta E_{enlace} + \Delta E_{ángulo} + \Delta E_{diedro} + \Delta E_{el} + \Delta E_{vdW} + \Delta G_{pol} + \Delta G_{np} - T\Delta S \quad (12)$$

Donde  $\Delta E_{enlace}$ ,  $\Delta E_{ángulo}$ ,  $\Delta E_{diedro}$ ,  $\Delta E_{el}$  y  $\Delta E_{vdW}$  son las energías de distancias de enlace, ángulos de enlace, ángulos diedros, electrostáticas y van der Waals, respectivamente.  $\Delta G_{pol}$  y  $\Delta G_{np}$  son las contribuciones polares y no polares en la energía de solvatación, respectivamente. Debido al alto coste de computación del valor de  $T\Delta S$ , su término es despreciado y los valores de  $\Delta E_{MM}$  ( $\Delta E_{enlace}$ ,  $\Delta E_{ángulo}$  y  $\Delta E_{diedro}$ ) igualan a cero en los cálculos de una trayectoria. Por tanto, la ecuación (12) se puede descomponer en las contribuciones de las distintas interacciones: fuerzas van der Waals y electrostáticas y solvataciones polares y no polares:

$$\Delta G_{bind} = \Delta E_{el} + \Delta E_{vdW} + \Delta G_{pol} + \Delta G_{np} \quad (13)$$

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este apartado se discutirán los resultados obtenidos en este proyecto, centrándose en las interacciones de la proteína 5-HT2A con los distintos psicodélicos. Como se ha mencionado en la introducción, esta investigación estudia el psicodélico 25CN-NBOH y 4 de sus variantes en detalle. Se trabaja con cada uno de ellos individualmente, para posteriormente poder comparar los resultados obtenidos entre ellos.

En primer lugar, se realizan cálculos de los ligandos individuales, donde se determinan cuánticamente sus cargas electrostáticas y se representan sus superficies de potencial electrostático. Esto permite realizar una comparación de la densidad electrónica de las distintas estructuras de los psicodélicos. A continuación, se realiza la MD para comprobar si la interacción entre el psicodélico y la proteína es estable a lo largo de un cierto periodo de tiempo. Finalmente, se realiza un análisis de la energía libre de interacción de los distintos psicodélicos mediante el método MMGBSA y se comparan los valores obtenidos entre los distintos ligandos. El método MMGBSA también proporciona la descomposición de los residuos de la proteína con mayores interacciones con la molécula. Esto permite estudiar de forma más detallada las interacciones que existen entre los residuos con los psicodélicos y así llegar a entender las diferencias en las energías libres de unión entre los ligandos. Este apartado se ha

dividido en varias secciones para facilitar la comprensión, de forma clara y concisa, de los pasos dados en este proyecto.

## 7.1 Detalles computacionales

Antes de poder exponer los resultados obtenidos en este trabajo, se explican los detalles computacionales de los métodos y cálculos empleados. Se comentará sobre los cálculos con DFT y los distintos pasos llevados a cabo en la MD.

### 7.1.1 Cálculos con DFT

Como se ha mencionado anteriormente, en primer lugar, se debe realizar una optimización de las estructuras de los ligandos, para obtener posteriormente sus cargas electrostáticas. La estructura experimental del ligando 25CN-NBOH se obtiene de la base de datos '*Protein Data Bank*' (<https://www.rcsb.org/>). El resto de las estructuras de los ligandos se obtienen modificando la del 25CN-NBOH en Gaussview [12]. Se empleará el *General Amber Force Field 2* (GAFF2) [28] para describir al ligando en la MD. Pero, debido a que las interacciones de Coulomb son las interacciones más relevantes, se han calculado las cargas del ligando cuánticamente para describir estas interacciones de manera más exacta. Para ello, primero se optimiza la geometría de la molécula para encontrar una geometría de mínima energía y después, se calculan las cargas de la molécula en esa geometría, con DFT. Como se ha comentado en el apartado 6.1, al no conocer la relación exacta entre la energía y la densidad electrónica, hay que utilizar funciones empíricas, denominadas funcionales. En esta investigación se emplea el funcional B3LYP [29], junto con la base cc-pVDZ [30] y el programa Gaussian [12], tanto para la optimización de la molécula como para la obtención de las cargas. El funcional híbrido B3LYP aproxima la energía de intercambio-correlación de la teoría de DFT incluyendo una parte del término de intercambio con un valor exacto calculado con Hartree-Fock y el resto del intercambio de manera empírica [31]. La base cc-pVDZ es una base correlativa de Dunning que incluyen funciones de correlación y polarización [32].

### 7.1.2 MD Clásica

Una vez obtenidas las cargas de todos los ligandos, se realiza una simulación de MD clásica para el complejo completo, que consiste en la proteína 5-HT2A y el psicodélico. La estructura experimental del complejo, que consiste en la proteína 5-HT2A y el psicodélico 25CN-NBOH, se obtiene de la base de datos '*Protein Data Bank*' (<https://www.rcsb.org/>), como se ha descrito en el apartado 6.2.1. Después, a la estructura del complejo se le añade la membrana (concretamente una bicapa lipídica de 1-palmitoil-2-oleoil-sn-glicero-3-fosfocolina (POPC), con longitud xy: 100 × 100 componentes de lípidos) y una capa de solvatación en una caja rectangular, en un disolvente acuoso y con concentración de NaCl de 0,15 mol L<sup>-1</sup> (las dimensiones de la caja son: x: 95,5 Å, y: 95,5 Å y z: 117,2

Å), con la herramienta online 'CHARMM-GUI' (<https://charmm-gui.org/>). Las moléculas de agua están a 12 Å del sistema con forma de rectángulo, ya que de este modo se aseguran las condiciones periódicas de contorno. Los campos de fuerzas empleados para los distintos componentes del sistema son los siguientes: TIP3P [33] para el agua, Lipid21 [34] para los lípidos, GAFF2 [28] para los ligandos y ff19SB [35] para la proteína.

Tras obtener la estructura del sistema solvatado, se lleva a cabo la MD con la ayuda del programa AMBER [10] en cuatro etapas: la minimización, el calentamiento, el equilibrado y la producción. La etapa de minimización tiene un total de 10000 ciclos, en el que los primeros 5000 se usa el método *steepest descent* para poder acercarse a la región del mínimo rápidamente y en los últimos 5000 pasos se utiliza el método *conjugated gradient* para que el sistema converja eficientemente cuando ya está cerca del mínimo.

Luego, se lleva a cabo una etapa de calentamiento durante 10 ns con un *time step* (tamaño de paso) de 2 fs, en donde el sistema se calienta hasta la temperatura deseada de 300,15 K. Esta etapa se realiza con un conjunto NVT, en el que se mantienen constantes el número de partículas, N, y el volumen, V, mientras que se calienta el sistema con un termostato de Langevin. El radio *cutoff* de las fuerzas van der Waals (vdW) se establece en 12 Å. Se emplea el algoritmo SHAKE [16] (también conocido como el método de Verlet con restricciones) para mantener fijas las longitudes de los enlaces en los que interviene un átomo de hidrógeno y también la Sumatoria de Ewald para calcular las interacciones electrostáticas.

A continuación, se realiza la fase de equilibrado. Durante esta fase, se le aplica una restricción armónica inicial de  $10 \text{ kcalmol}^{-1}\text{Å}^{-2}$  al conjunto proteína-membrana para evitar que inicialmente tengan lugar movimientos abruptos que puedan destruir el sistema. De este modo, se consiguen obtener unas condiciones iniciales controladas, estables y reproducibles. Estas restricciones se van reduciendo cada 125 ps, empezando por  $10 \text{ kcalmol}^{-1}\text{Å}^{-2}$ , siguiendo por  $5,0 \text{ kcalmol}^{-1}\text{Å}^{-2}$ ,  $2,5 \text{ kcalmol}^{-1}\text{Å}^{-2}$ ,  $1,0 \text{ kcalmol}^{-1}\text{Å}^{-2}$  y finalmente  $0,5 \text{ kcalmol}^{-1}\text{Å}^{-2}$ . Después, se realiza la última etapa de equilibrado durante unos 500 ps, en donde se libera el sistema de las restricciones impuestas y se equilibra la densidad del sistema. Para esta simulación se utiliza un conjunto NPT, en el que se mantienen constantes la presión (con el baróstato Monte Carlo), P, y la temperatura (con el termostato de Langevin), mientras se permite la variación del volumen, para llegar a una densidad deseada, que en este caso es  $1 \text{ g/cm}^3$ , ya que se está simulando una proteína y una membrana en agua.

Finalmente, se realiza la etapa de producción durante unos 200 ns y un *time step* de 2 fs, con el objetivo de analizar cómo el sistema evoluciona a lo largo del tiempo. Los pasos descritos en este apartado se realizan para todos los ligandos. Es importante mencionar que, en la base de datos, solo

está disponible la estructura experimental del complejo de la proteína 5-HT<sub>2A</sub> y el psicodélico 25CN-NBOH y, por tanto, se debe de modificar la estructura del complejo para el resto de los ligandos. Esto se realiza de manera relativamente sencilla, reemplazando el 25CN-NBOH por el derivado deseado en la misma pose antes de empezar las simulaciones, y después se siguen los pasos de la MD.

### 7.1.3 Energía libre de interacción y su descomposición

Tras realizar la MD, se estudian los últimos 100 ns de todas las simulaciones, en el que se imprime una geometría cada 0,1 ns, para calcular las energías libres de interacción entre los distintos conjuntos ligando-proteína con el método MMGBSA [24]. El método MMGBSA también proporciona la descomposición de la energía libre de interacción de los residuos que se encuentran dentro de un cierto radio del ligando. En este proyecto se ha escogido un radio de 5 Å. Se emplea CPPTRAJ [36] para analizar el tramo de 100 a 200 ns, dentro del cual hay 1000 pasos impresos, con el objetivo de encontrar los 10 residuos que más interaccionan con el ligando durante el tiempo total de la simulación.

## 7.2 Análisis de las Cargas de los Ligandos

Como se ha descrito en el apartado 7.1.1, una vez obtenidas las estructuras de los cinco ligandos, se empieza con la optimización de la estructura del ligando 25CN-NBOH para obtener sus cargas electrostáticas. Una vez finalizado este paso, se repite el mismo procedimiento para las moléculas 2-5 (Figura 2). Se anotan las cargas del GA1 para ver como varían al modificar la estructura del ligando. Es importante estudiar la carga total del GA1 para poder entender como estas moléculas interaccionan con la proteína y como difieren entre sí. La Figura 3 muestra las cargas totales del GA1 en unidades atómicas (u.a) para las estructuras 1-5. En la Figura 3 se puede ver que la estructura 25CN-NBOH tiene el valor más negativo para carga total del GA1 (-0,98 u.a), es decir, tiene la mayor carga electrónica en su anillo. Esto se puede deber a que el grupo OH es un muy buen dador de electrones, aumentando la densidad electrónica del anillo. La siguiente molécula con mayor densidad electrónica es el 25CN-NB, con un valor de -0,62 u.a, ya que la carga del anillo solo viene de los electrones  $\pi$ . Después va el ligando 25CN-NBNO<sub>2</sub>, con un valor de carga más positivo que el de 25CN-NBOH y 25CN-NB (-0,48 u.a), que puede ser causado por el grupo NO<sub>2</sub>, que, al ser un grupo aceptor de carga, retira la carga del anillo, disminuyendo la carga de su GA1. En las Figuras 11-15 del anexo, se pueden ver representadas las estructuras resonantes de todas las moléculas. Se puede ver también cómo el grupo OH aumenta la carga de la estructura 1, el grupo NO<sub>2</sub> disminuye la carga de la estructura 2 y la estructura 4 solo tiene resonancia con el anillo aromático.

La molécula 25CN-NB-2-OH-5-OMe tiene una carga total del GA1 de -0,28 u.a, un valor más positivo que las moléculas 1, 2 y 4. A priori, se podría llegar a pensar que, como el grupo metoxilo es

un grupo dador de carga, al incorporarlo a un grupo fenol en posición *para*, debería de aumentar su densidad electrónica. La Figura 13 del anexo muestra las estructuras resonantes del 25CN-NB-2-OH-5-OMe y se puede observar cómo los dos grupos donan carga al anillo. Pero, los resultados computacionales muestran justo lo contrario. Esto se puede razonar teniendo en cuenta que al añadir un grupo metoxilo en posición *para*, hay competencia entre el grupo OH y el grupo OMe para donar carga al anillo. Por tanto, esta competencia reduce la efectividad global de los dos sustituyentes para donar carga y la densidad global del anillo es menor. Este dato va a ser muy relevante en futuras discusiones donde se comparará como interaccionan los compuestos 25CN-NBOH y 25CN-NB-2-OH-5-OMe con los residuos de la proteína 5-HT2A. Por último, la molécula 25CN-NBFF tiene el valor más positivo de carga (0,10 u.a) y la menor cantidad de densidad electrónica de todas las moléculas. Esto es debido a que la densidad de carga está distribuida principalmente en el furano y en el fenol, como se puede ver ilustrado en la Figura 15 del anexo. La Figura 3 muestra los mapas de potencial electrostático del GA1 sustituido de los 5 ligandos para simplificar el modelo teórico y analizar de manera más clara los cambios en la densidad de carga del GA1.

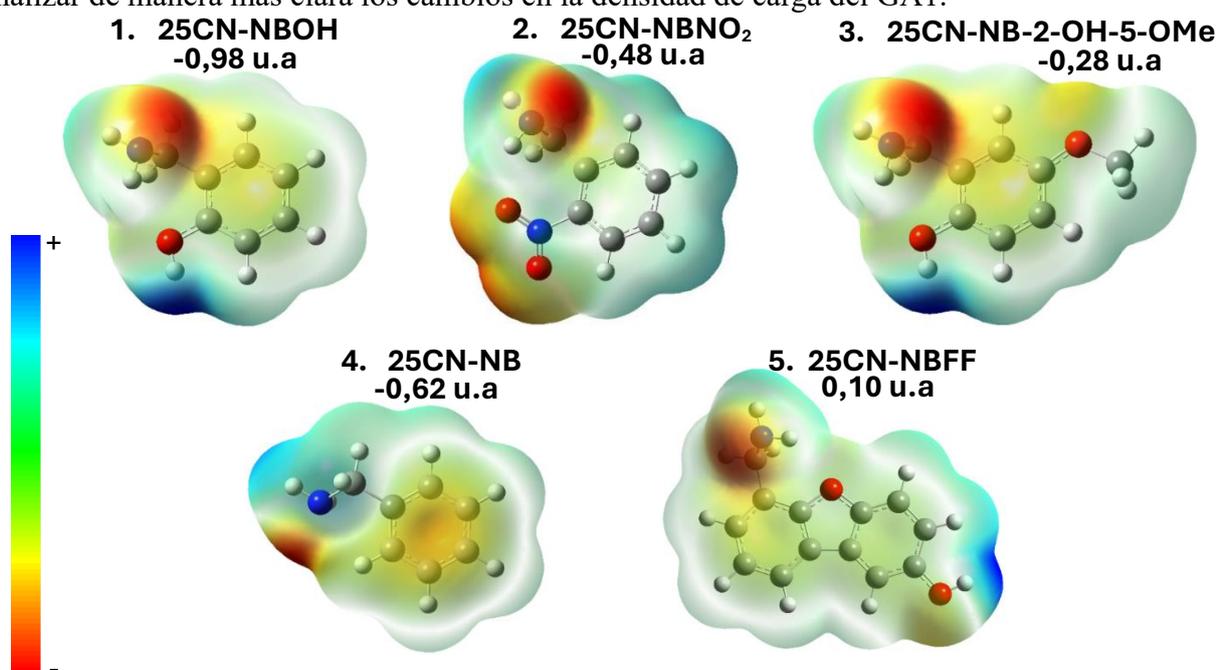


Figura 3. Las cargas en unidades atómicas (u.a) y los mapas de potencial electrostático para los GA1 de los ligandos 1-5.

En la Figura 3, la densidad electrónica se representa en un rango de colores, que varía desde el color azul hasta el color rojo, de menor a mayor cantidad de densidad electrónica. Los rangos de colores son únicos para cada molécula y, por tanto, no se pueden comparar los colores de las distintas estructuras entre sí. Se puede observar, como regla general, que sustituyentes como el NO<sub>2</sub> (en caso del ligando 25CN-NBNO<sub>2</sub>) que aceptan carga, retiran la carga del anillo aromático. Y se puede ver el anillo de un color más azul-verdoso en comparación con el resto de la estructura. También se puede observar que los sustituyentes que donan carga al anillo, como es el caso del OH en el 25CN-NBOH,

aumentan la densidad electrónica del GA1 y, como consecuencia, el anillo aromático presenta un color más amarillento-naranja.

### 7.3 Equilibrado con MD

Una vez obtenidas las cargas de los ligandos, se introduce en la membrana el complejo ligando-proteína, se solvata el sistema completo y se realizan las simulaciones de MD. Se lleva a cabo el procedimiento en cuatro etapas: la minimización, el calentamiento, el equilibrado y la producción. Cabe destacar que se lleva a cabo este mismo procedimiento para todos los ligandos interactuando con el receptor, y se obtienen resultados similares a aquellos mostrados en las Figuras 4 y 5, que son para el ligando 25CN-NBOH. La primera etapa de la dinámica es la minimización en donde el sistema se lleva a un mínimo local de energía, para que cuando se lleve a cabo la dinámica el sistema no tenga demasiada energía potencial debido a la poca calidad de la estructura inicial, y se adquiera configuraciones geométricas poco probables a la temperatura de interés. La Figura 4A representa gráficamente la energía del sistema frente al número de ciclos. En ella se puede observar que, a partir de 5000 ciclos, la variación de energía es mínima y se puede concluir que el sistema ha alcanzado un mínimo local. A continuación, se calienta el sistema hasta 300,15 K. La Figura 4B representa gráficamente la variación de temperatura frente al tiempo de simulación, y se puede observar que después de 5 ns la temperatura se mantiene constante a aproximadamente 300K durante otros 5 ns.

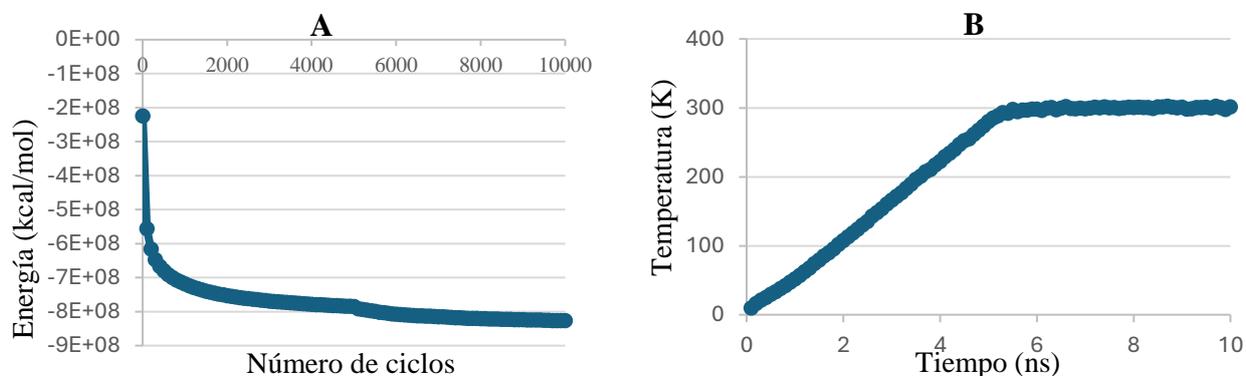


Figura 4. (A) Variación de la energía con respecto al número de ciclos en la minimización. (B) Variación de la temperatura respecto al tiempo en el calentamiento.

Una vez se ha llevado el sistema a la temperatura de interés, se lleva a cabo el equilibrado de la densidad hasta aproximadamente  $1 \text{ g/cm}^3$ , dado que el disolvente utilizado en este proyecto es el agua. La Figura 5A representa la densidad frente al tiempo y se puede ver que después de 50 ps, la densidad del sistema se mantiene constante a  $1,05 \text{ g/cm}^3$  durante otros 450 ps.

La última etapa de este proceso es la etapa de producción, en el que se analiza como el sistema evoluciona a lo largo del tiempo. En este paso se obtiene la desviación media cuadrática o “Root Mean Square Deviation” (RMSD), con el objetivo de analizar las fluctuaciones del sistema a lo largo del tiempo en comparación con la estructura inicial, ya que el RMSD calcula la diferencia estructural

entre la geometría de la proteína a distintos tiempos con respecto a la geometría inicial. El objetivo de este análisis es comprobar si la estructura de la proteína está equilibrado y se pueden llevar a cabo los análisis. La Figura 5B representa gráficamente el RMSD de la proteína frente al tiempo. Se puede observar que el RMSD oscila entre 2,5 y 3,0 Å después 100 ns, lo que significa que el sistema es estable. Los primeros 100 ns se consideran parte del equilibrado y se descartarán, y los últimos 100 ns serán los que se analicen. También se puede representar el RMSD del ligando para comprobar si es estable en el lugar de unión a la proteína. La Figura 6 ilustra gráficamente el RMSD de cada ligando frente al tiempo. Se puede observar que el RMSD de casi todos los ligandos oscila entre 0,5 y 2,1 Å durante toda la simulación. El RMSD del 25CN-NB-2-OH-5-OMe es el que más oscila de todos, y llega a un valor de 2,8 Å, que a primera vista puede llegar a parecer un valor muy alto. Pero, al visualizar la simulación en VMD, se puede comprobar que la conformación del ligando prácticamente no varía. Esto indica que las conformaciones de los ligandos son estables en sus respectivos sitios de unión a la proteína durante todo el transcurso de la simulación.

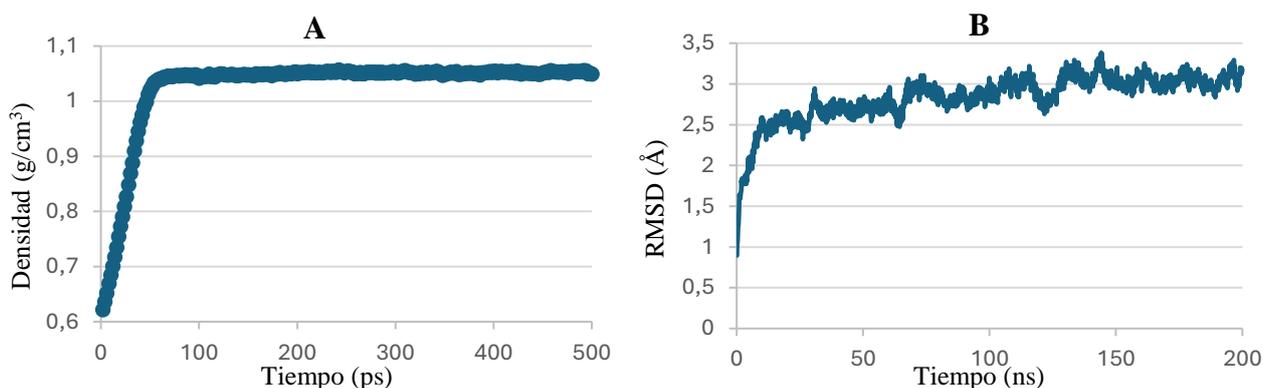


Figura 5. (A) Variación de la densidad frente al tiempo en el equilibrado. (B) Variación del RMSD de la proteína respecto al tiempo durante la producción.

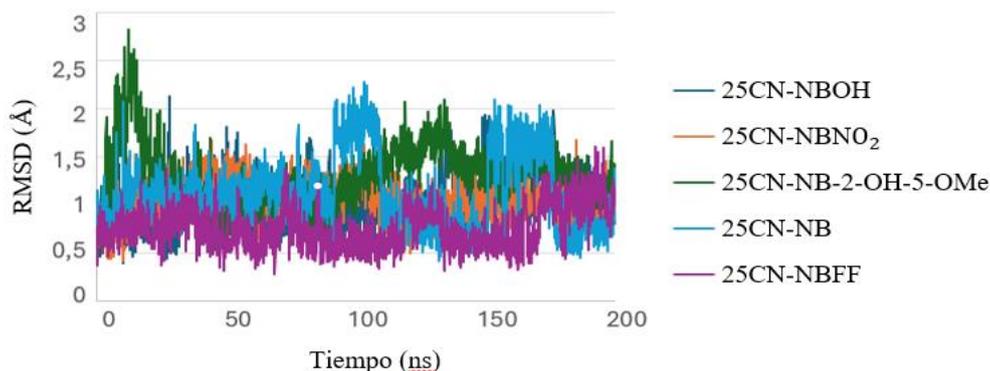


Figura 6. Variación del RMSD de los cinco ligandos respecto al tiempo durante la producción.

#### 7.4 Energía libre de interacción

Una vez finalizado el tramo donde todos los psicodélicos se han equilibrado y son estables en la proteína, se lleva a cabo el estudio de la energía libre de interacción entre cada uno de los ligandos con el receptor 5-HT<sub>2A</sub>. Se analizan las distintas contribuciones de la energía libre de interacción

total para comparar los resultados entre los psicodélicos y llegar a entender las diferencias entre los resultados. También, se representa la descomposición de la energía libre de interacción total por residuo para estudiar qué aminoácidos son los más relevantes y cómo interaccionan con los distintos ligandos.

Tras finalizar los cálculos de MD, se concluye que desde los 100 ns hasta los 200 ns (un intervalo en el que se han impreso 1000 geometrías), la proteína se encuentra estable con RMSD (Figura 5B). Se calculan, mediante el método MMGBSA [24], los valores de las cuatro contribuciones de la energía libre de interacción: las energías de vdW y electrostáticas (descritas por el potencial de Lennard-Jones y el potencial de Coulomb, respectivamente) en el vacío, y las interacciones de solvatación polar y no polar con el disolvente. Se recogen estos resultados en la Tabla 1.

Tabla 1. Las energías de vdW ( $\Delta E_{vdW}$ ), electrostáticas ( $\Delta E_{el}$ ), polares ( $\Delta G_{pol}$ ), no polares ( $\Delta G_{np}$ ) y totales ( $\Delta G_{bind}$ ) de los distintos compuestos.

kcal/mol	25CN-NBOH	25CN-NBNO <sub>2</sub>	25CN-NB-2-OH-5-OMe	25CN-NB	25CN-NBFF
$\Delta E_{vdW}$	-53,8	-57,9	-52,6	-54,2	-68,2
$\Delta E_{el}$	-106,3	-113,3	-102,5	-111,9	-113,7
$\Delta G_{pol}$	98,3	111,0	103,3	107,1	106,4
$\Delta G_{np}$	-6,9	-7,1	-7,0	-6,7	-8,4
$\Delta G_{bind}$	<b>-68,7</b>	<b>-67,3</b>	<b>-58,9</b>	<b>-65,7</b>	<b>-83,9</b>

Empezando con los valores de  $\Delta E_{vdW}$  y  $\Delta E_{el}$  de la Tabla 1, se puede ver que el valor de  $\Delta E_{el}$  es el doble que el valor de  $\Delta E_{vdW}$  para cada molécula, y esto implica que las fuerzas electrostáticas son más fuertes y predominantes que las de vdW. Esto es debido a que los residuos que interaccionan más fuertemente con los compuestos lo hacen principalmente a través de fuerzas electrostáticas. En el siguiente apartado se abordará este punto de forma más detallada. Tanto para  $\Delta E_{vdW}$  como para  $\Delta E_{el}$ , el orden de fuerza de interacción para estos dos componentes, de mayor interacción a menor interacción, es decir, de más negativo a menos negativo, es: 25CN-NBFF > 25CN-NBNO<sub>2</sub> > 25CN-NB > 25CN-NBOH > 25CN-NB-2-OH-5-OMe. Se racionalizarán a continuación brevemente estos resultados.

El 25CN-NBFF tiene los valores más favorables para los términos de energía libre de vdW (-68,2 kcal/mol) y electrostático (-113,7 kcal/mol), lo que significa que interacciona más fuertemente con la

proteína en comparación con el resto de las moléculas. Aunque el grupo voluminoso de su GA1 podría llegar a perjudicar su interacción con ciertos residuos (Figura 2), esta disminución es mínima y, como interacciona tan fuertemente con otros residuos, la consecuencia global es que es la molécula con mayor contribución electrostática y de vdW. También cabe mencionar que el 25CN-NBFF tiene un valor de  $\Delta E_{vdW}$  significativamente más negativo al resto de moléculas (casi 10 kcal/mol de diferencia con respecto a 25CN-NBNO<sub>2</sub>), que puede ser causado por interacciones  $\pi$ - $\pi$  *stacking* con residuos de la proteína, ya que dicha molécula tiene dos anillos fusionados al GA1. El 25CN-NBNO<sub>2</sub> es la siguiente molécula con valores más negativos, -57,9 kcal/mol y -113,3 kcal/mol para las contribuciones vdW y electrostáticas, respectivamente. Esto es debido a que el grupo NO<sub>2</sub> tiene dos oxígenos que pueden interaccionar con los residuos de su entorno, posiblemente mediante puentes de hidrógeno.

El 25CN-NB es el tercero de la lista (con valores de -54,2 kcal/mol y -111,9 kcal/mol), y esto es algo sorprendente, ya que a priori se podría pensar que el ligando 25-CN-NBOH, al tener un grupo OH (Figura 2), interaccionaría más con los residuos de su entorno debido a su posibilidad de formar puentes de hidrógeno. Pero, esto puede ser debido a que el grupo OH disminuye la efectividad de otros sustituyentes para interaccionar. Por este motivo, el 25CN-NB es el tercero en la lista y el 25CN-NBOH es el cuarto en el orden de fuerza de interacción de vdW y electrostática. El ligando 25CN-NBOH tiene una energía libre de vdW de -53,8 kcal/mol y electrostática de -106,3 kcal/mol. En el último lugar está el 25CN-NB-2-OH-5-OMe, que también es un resultado relativamente sorprendente, ( $\Delta E_{vdW}$  de -52,6 kcal/mol y  $\Delta E_{el}$  de -102,5 kcal/mol), porque, el grupo metoxilo en posición *para* podría interaccionar fuertemente con ciertos residuos. Sin embargo, su baja energía de vdW y electrostática podría ser causada por el impedimento estérico que presenta este sustituyente en su entorno.

En la Tabla 1 se puede observar que todas las contribuciones son negativas y favorables, menos el término  $\Delta G_{pol}$ . Este término describe las interacciones electrostáticas entre el disolvente y el soluto. Concretamente, es la diferencia entre la interacción del complejo receptor/ligando con el agua y las interacciones de los monómeros por separado con el agua. Al poner en contacto al ligando con la proteína, interaccionan entre sí y, como consecuencia, la interacción total del complejo con el agua es menor que si se aplicase la suma de los dos monómeros. Puesto que las energías de solvatación individuales son negativas, la diferencia entre ellas para dar lugar a la contribución total  $\Delta G_{pol}$  es positiva. Para tener energías  $\Delta G_{pol}$  lo menos desfavorables posible (poco positivas), es crucial que el ligando aislado interaccione lo menos posible con el agua. De esta manera, cuando se forma el complejo proteína/ligando la energía de desolvatación baja. Debido a esto, la molécula 25CN-NBNO<sub>2</sub>, con el sustituyente NO<sub>2</sub>, tiene el valor de  $\Delta G_{pol}$  más alto (111,0 kcal/mol), ya que es capaz

de formar la mayor cantidad de enlaces de hidrógeno con el agua, al tener dos oxígenos y un nitrógeno que pueden interaccionar con los hidrógenos del agua. Las tres moléculas 25CN-NBFF, 25CN-NB-2-OH-5-OMe y 25CN-NBOH, todas con un grupo OH, tienen valores de  $\Delta G_{pol}$  diferentes de 106,4, 103,3 y 98,3 kcal/mol, respectivamente, a pesar de que se habilidad para formar puentes de hidrógeno es similar. En este caso el factor más determinante es el tamaño del ligando. A medida que aumenta el tamaño de la molécula, aumenta también el valor de  $\Delta G_{pol}$ , ya que aumenta el número de interacciones que pueden existir entre ligando y agua. También se puede observar que estas tres estructuras tienen valores menos positivos que el ligando 25CN-NBNO<sub>2</sub>, ya que el grupo OH puede formar una menor cantidad de puentes de hidrógeno que el grupo NO<sub>2</sub> y se rompen, por lo tanto, menos enlaces de hidrógeno presentes con el agua cuando el ligando interacciona con la proteína.

El valor de  $\Delta G_{pol}$  de la molécula 25CN-NB (107,1 kcal/mol) no concuerda con el resto de los resultados, ya que a pesar de no tener un grupo OH en su estructura, interacciona fuerte con el agua y su contribución de solvatación polar es mayor de lo que cabría esperar. El valor de 25CN-NB es mayor que aquellas estructuras con un grupo OH (concretamente 1, 3 y 5). Esto implica que puede haber otros factores que expliquen las diferencias entre los distintos psicodélicos para el término  $\Delta G_{pol}$ . También hay que tener en cuenta que para obtener las energías libres de interacción se emplean métodos clásicos que utilizan aproximaciones y, por tanto, los resultados no son totalmente fiables. Cálculos adicionales utilizando métodos cuántico o híbridos podrían ayudar a caracterizar de manera más exacta las interacciones.

La contribución  $\Delta G_{np}$  es la energía de cavitación, dispersión y repulsión entre el soluto y disolvente. Se calcula como la diferencia entre la energía necesaria para introducir el complejo en una cavidad y la de los monómeros por separado. Este término es negativo en todos los casos, lo que significa que se requiere menos energía para crear una cavidad para el complejo que para los monómeros por separado. En los resultados obtenidos de la Tabla 1, se puede ver que a medida que aumenta el tamaño del ligando, la energía necesaria para introducir ese ligando en la cavidad aumenta y, por tanto, más negativa es la contribución de solvatación no polar. El 25CN-NBFF tiene el término más negativo, con un valor de -8,4 kcal/mol; y el 25CN-NB tiene el término menos negativo, con un valor de -6,7 kcal/mol. Estos resultados demuestran que a medida que aumenta el tamaño del ligando, disminuye el valor de  $\Delta G_{np}$ .

El término  $\Delta G_{bind}$  es la suma de las cuatro contribuciones,  $\Delta E_{vdW}$ ,  $\Delta E_{el}$ ,  $\Delta G_{pol}$  y  $\Delta G_{np}$ . El orden de la energía libre total de interacción, de mayor a menor, es el siguiente: 25CN-NBFF > 25CN-NBOH > 25CN-NBNO<sub>2</sub> > 25CN-NB > 25CN-NB-2-OH-5-OMe. El orden es similar a las contribuciones vdW y electrostáticas, con la diferencia de que el ligando 25CN-NBOH pasa a ser el segundo más

estable y no el cuarto. Este detalle es clave, ya que confirma que el grupo NO<sub>2</sub> desestabiliza al ligando 25CN-NBNO<sub>2</sub> al tener un alto valor del término  $\Delta G_{pol}$ , y, como consecuencia, reduciendo significativamente su valor de  $\Delta G_{bind}$ . El 25CN-NBFF es el más estable porque tiene la mayor contribución electrostática y de vdW y porque el término de  $\Delta G_{pol}$  no es muy grande al tener un grupo hidroxilo, que no interacciona tan fuertemente con el agua en comparación con el NO<sub>2</sub>. El siguiente ligando es el 25CN-NBOH que, aunque no tiene una de las mayores interacciones de vdW y electrostáticas, tiene la contribución más pequeña de  $\Delta G_{pol}$ , lo que hace que su  $\Delta G_{bind}$  sea la segunda más fuerte (negativa). En tercer lugar, está el 25CN-NBNO<sub>2</sub>, que al tener la mayor contribución de  $\Delta G_{pol}$ , su energía libre total es menor, aun, teniendo interacciones de vdW y electrostáticas muy fuertes, seguido de 25CN-NB. El 25CN-NB-2-OH-5-OMe es el último ligando, ya que sus interacciones de vdW y electrostáticas son de las más débiles en comparación con el resto de las moléculas.

### 7.5 Descomposición de la energía libre de interacción

A continuación, se proporciona la descomposición de la energía libre de interacción de los residuos del receptor que más interaccionan con el psicodélico mediante el método MMGBSA.

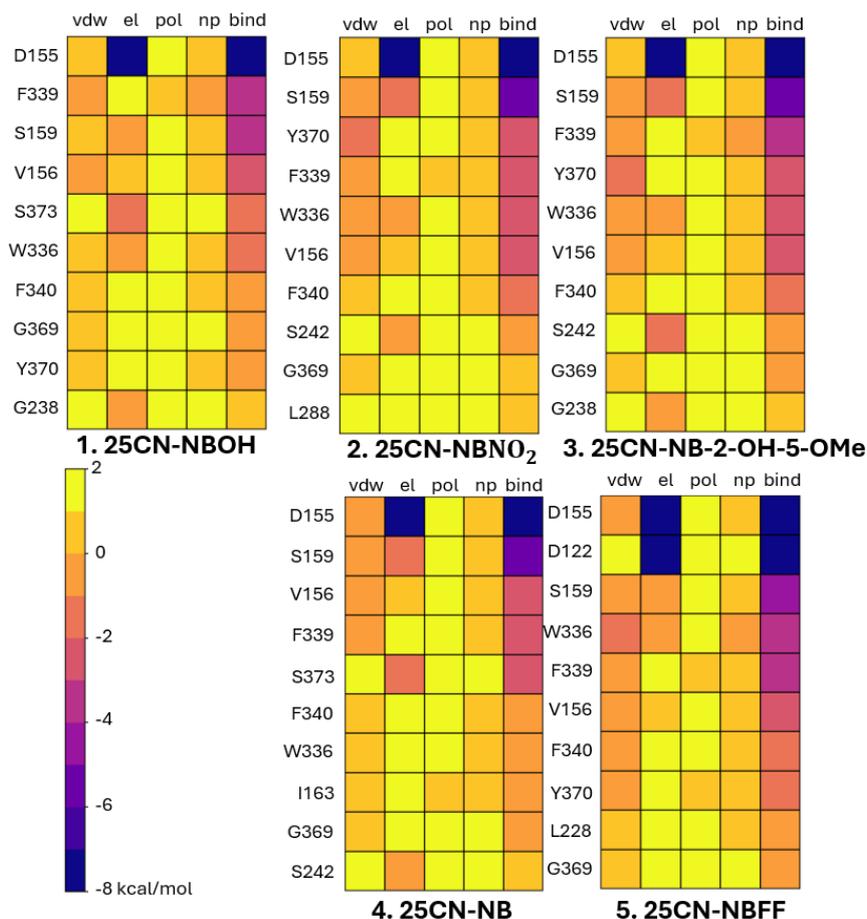


Figura 7. Descomposición por aminoácidos de la energía libre de interacción para los psicodélicos 1-5.

En la Figura 7 se pueden observar las distintas contribuciones de los 10 aminoácidos más cercanos a cada psicodélico, dividiéndose en contribuciones de vdW, electrostáticas, polares y no polares. La fuerza de la interacción varía desde 2 kcal/mol, que se representa con un color amarillo claro, hasta -8 kcal/mol, que se representa con un color azul oscuro. Las Figuras 8, 9 y 10 ilustran las interacciones entre los residuos más relevantes. A continuación, se van a discutir las interacciones con los residuos que son comunes a todos los psicodélicos, y más adelante se hablará de aquellas interacciones que son específicas a ciertas moléculas. En la Figura 8 se pueden observar las interacciones entre los residuos D155 y F339 con el ligando 25CN-NBOH como ejemplo representativo de todos los ligandos.

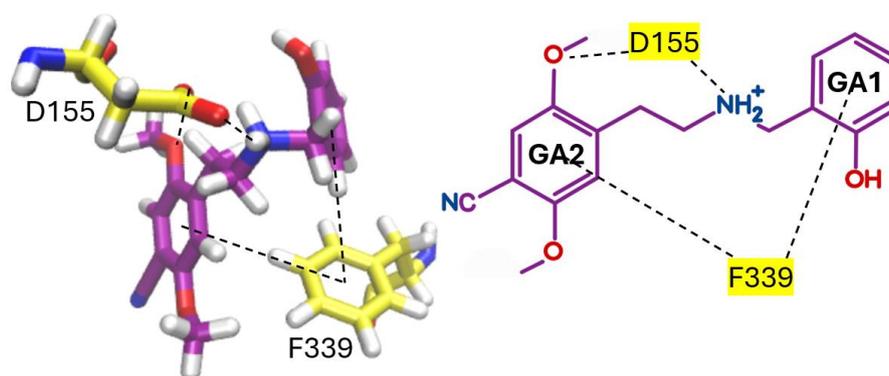


Figura 8. Representación de las interacciones entre los residuos D155 y F339 y el ligando 25CN-NBOH.

En la Figura 8 se puede ver que el residuo que interacciona más fuertemente con todos los psicodélicos es el D155 y, que las interacciones predominantes son las electrostáticas. En la Figura 8 también se puede comprobar que estas interacciones electrostáticas principalmente son ion-ion, entre el grupo amina protonado y los oxígenos cargados negativamente del residuo D155 e ion-dipolo, entre el grupo metoxilo del GA2 y el grupo amina protonado. Aparte de las interacciones electrostáticas, hay pequeñas contribuciones de vdW, que son principalmente alquilo- $\pi$  y alquilo-alquilo, entre el grupo CH<sub>2</sub> del D155 con el GA2 y entre los grupos CH<sub>2</sub> del ligando y D155, respectivamente. Debido a que estas interacciones son comunes a todos los psicodélicos y que son interacciones muy fuertes, no hay mucha diferencia entre ligandos.

Otro residuo que es común a todos los ligandos es el F339 y se puede ver ilustrado en la Figura 8. Sus interacciones son principalmente de vdW, y prácticamente no hay contribución electrostática. Las fuerzas de vdW son  $\pi$ - $\pi$  *stacking* (en forma de T) entre el anillo aromático del F339 con el GA1 y el GA2. El 25CN-NBOH es el ligando que interacciona más fuertemente con el F339, debido al aumento de densidad electrónica de su anillo por la presencia del grupo OH, lo que favorece las interacciones  $\pi$ - $\pi$  entre anillos. Además, el ligando 25CN-NBFF interacciona fuertemente con el F339 gracias a los dos anillos fusionados al GA1, que también pueden formar  $\pi$ - $\pi$  *stacking*. El 25CN-NB-2-OH-5-OMe

tiene una densidad electrónica del GA1 reducida por el grupo metoxilo en posición *para*, lo que implica que los  $\pi$ - $\pi$  *stacking* no son tan fuertes en este caso. Pero, el grupo metoxilo está en una posición favorable para formar interacciones dipolo- $\pi$  entre el grupo metoxilo y el anillo aromático del F339, lo que aumenta su energía libre con este residuo. Por último, las interacciones entre este residuo y los ligandos 25CN-NBNO<sub>2</sub> y 25CN-NB son más débiles que el resto, dado que el sustituyente NO<sub>2</sub> de la molécula 25CN-NBNO<sub>2</sub> es un aceptor de carga, lo que disminuye tanto la densidad electrónica del anillo como la interacción con F339. El 25CN-NB no tiene ningún sustituyente que pueda aumentar la carga del anillo para favorecer la interacción con F339.

Un residuo muy relevante es el Y319, ya que la fuerza de interacción varía enormemente entre los distintos psicodélicos. Esto es debido a que el aminoácido interactúa principalmente con el GA1 y, como este es el que se modifica de unos ligandos a otros, la fuerza de interacción presenta diferencias notables entre ligandos. La Figura 9 ilustra el residuo Y370 con el ligando 25CN-NBOH.

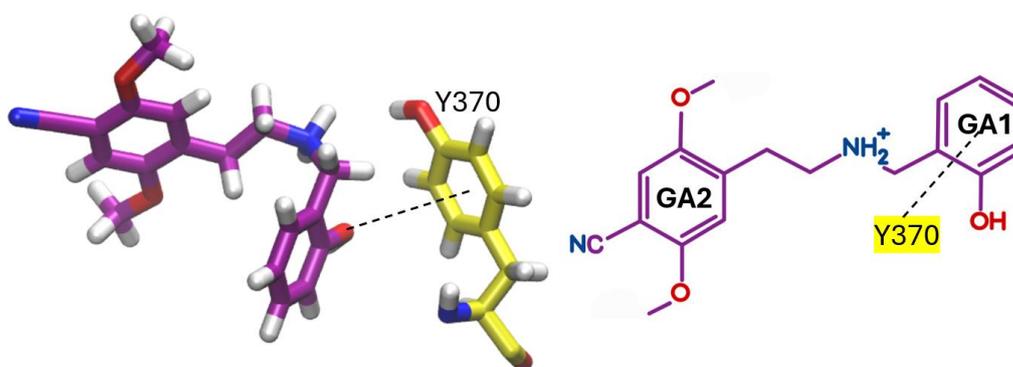


Figura 9. Representación de las interacciones entre el residuo Y370 y el ligando 25CN-NBOH.

En la Figura 9 se puede confirmar que las fuerzas que predominan en la interacción del Y370 con todos los psicodélicos son de vdW y la contribución electrostática es prácticamente nula en todos los casos. Las fuerzas de vdW son principalmente dipolo- $\pi$  entre el sustituyente de los ligandos que varía (como el grupo OH o NO<sub>2</sub>, por ejemplo) y el anillo aromático del Y370, ya que la orientación es favorable al estar muy próximos el uno al otro. A priori, se podría llegar a pensar que puede existir una contribución importante de  $\pi$ - $\pi$  *stacking* entre el GA1 y el anillo aromático del Y370, pero, si se analiza la Figura 7, se puede observar que para el 25CN-NB, el Y370 no está entre los 10 primeros residuos con mayor interacción. Por tanto, esto confirma que el  $\pi$ - $\pi$  *stacking* en este caso no es una contribución importante. Motivo de ello puede ser que la orientación de los anillos no es favorable, y al estar más cerca el sustituyente del GA1, predomina la interacción dipolo- $\pi$ . El 25CN-NBNO<sub>2</sub> es la molécula que interactúa más fuertemente con el Y370, ya que tiene dos oxígenos que pueden interactuar con su anillo aromático. El 25CN-NB-2-OH-5-OMe también tiene un valor de energía libre de interacción muy negativo con el Y370 porque la carga electrónica del grupo hidroxilo aumenta al tener un metoxilo en posición *para* (descrito en el apartado 7.2 en más detalle) y, por

tanto, es capaz de interactuar más fuertemente con el Y370 que el 25CN-NBOH. El 25CN-NBFF también puede interactuar con el Y370 a través del oxígeno del furano, pero esta interacción no es muy fuerte, ya que la carga del oxígeno está deslocalizada en los anillos que lo rodean. El 25CN-NBOH interactúa de forma muy débil con el Y370 ya que la carga del OH está muy deslocalizada en el GA1 debido a que el grupo OH es un muy buen dador de carga. Por tanto, la capacidad del psicodélico para interactuar con el Y370 depende del sustituyente que se presenta en el anillo GA1.

El resto de los aminoácidos que aparecen en la Figura 7 y que no están representados en las Figuras 9 y 10, siguen patrones similares de interacción a aquellos descritos con los residuos D155, F339 y Y390. Esto es debido a que solo se varía una pequeña parte de una molécula relativamente grande (tiene alrededor de 50 átomos). No obstante, la molécula 25CN-NBFF interactúa muy fuertemente con el residuo D122 y es la única de todas que presenta esta interacción. La Figura 10 muestra la interacción entre el residuo D122 y el ligando 25CN-NBFF.

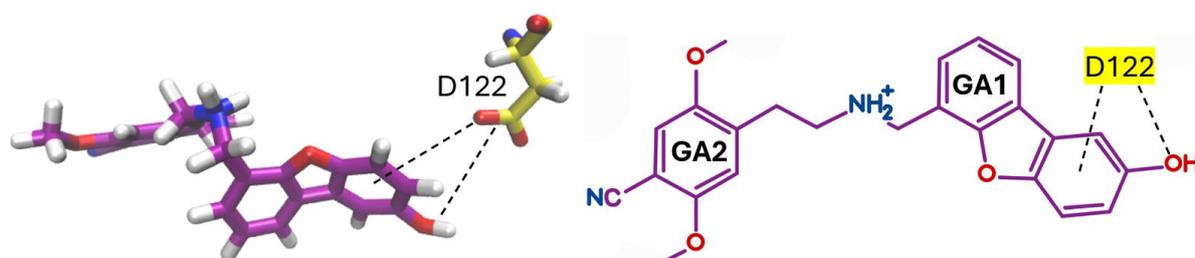


Figura 10. Representación de las interacciones entre el residuo D122 y el ligando 25CN-NBFF.

La Figura 7 muestra que la interacción entre el ligando 25CN-NBFF y D122 es principalmente electrostática, con una contribución de vdW prácticamente nula. Estas contribuciones pueden ser ion-dipolo entre el OH del grupo fenol y las cargas negativas de los oxígenos del D122 y anión- $\pi$  entre las cargas negativas del residuo D122 y los anillos aromáticos fusionados al GA1. Este dato es muy relevante ya que esta molécula es la única que interactúa con él y juega un papel fundamental en la energía libre total de unión con la proteína. Esto se puede ver en la Tabla 1, que muestra que el ligando 25-NBFF tiene los valores más negativos para  $\Delta E_{el}$ ,  $\Delta E_{vdW}$  y  $\Delta G_{bind}$ , y, por tanto, es la que más fuerte interactúa con la proteína.

## 8. CONCLUSIONES

Este proyecto estudia, mediante simulaciones de MD y cálculos de energía libre, las interacciones entre distintos psicodélicos con el receptor 5-HT<sub>2A</sub>. Para ello, en primer lugar, se obtienen las cargas de los ligandos mediante la DFT con el funcional B3LYP y la base cc-pVDZ. Estas cargas se utilizan el campo de fuerzas para calcular la energía de Coulomb durante las simulaciones de dinámica molecular clásica, que nos proporcionan la evolución temporal del complejo ligando/receptor. Por último, se emplea MMGBSA para calcular la energía libre de interacción entre los distintos

compuestos con la proteína teniendo en cuenta geometrías cogidas de la dinámica. Este mismo método también proporciona la descomposición de la energía libre en sus distintas contribuciones con los residuos proteicos más próximos al compuesto en cuestión. A partir del procedimiento descrito, se van a describir, a continuación, las conclusiones obtenidas en este trabajo.

Para comenzar, se calculan las cargas de los distintos ligandos cuánticamente para poder comparar entre ellas las cargas del GA1, con el objetivo de, posteriormente, razonar las diferencias de interacciones con la proteína entre ligandos. Mediante estos cálculos se puede ver que, el ligando 25CN-NBOH y el 25CN-NBFF tienen la mayor y la menor densidad electrónica en el GA1, respectivamente. También se observa que, el ligando 25CN-NB-2-OH-5-OMe, con un grupo metoxilo en posición *para*, tiene menor densidad electrónica que el ligando 25CN-NBOH. Estos detalles son cruciales para poder explicar las diferencias entre las energías libres de interacción.

A continuación, se llevan a cabo simulaciones de MD con el fin de obtener un conjunto de geometrías del sistema que permitan realizar análisis adicionales. Aquí, se minimiza la energía del sistema y se lo lleva a ciertas condiciones termodinámicas para simular, en la mayor medida posible, un sistema real. Se estudia el RMSD del sistema durante unos 200 ns y se concluye que la estructura converge después de los primeros 100 ns y, por tanto, se analizan los últimos 100 ns de la simulación.

Con el método MMGBSA se calcula la energía libre de interacción entre la proteína y los distintos compuestos, analizando sus cuatro principales componentes: las fuerzas de vdW, las fuerzas electrostáticas y las contribuciones de solvatación polar y no polar. Mediante estos análisis se observa que la molécula 25CN-NBFF tiene la mayor afinidad por la proteína, gracias a las interacciones favorables que tiene con ciertos residuos. También se ve que el 25CN-NB-2-OH-5-OMe tiene la menor afinidad por la proteína, lo que implica que el grupo metoxilo en posición *para* desfavorece la interacción con la proteína. Esto puede deberse al impedimento estérico que se produce al incorporar un grupo OMe. Asimismo, se comprueba que, aunque el ligando 25CN-NBNO<sub>2</sub> tiene fuertes interacciones con la proteína en términos electrostáticos y de vdW, la afinidad total es relativamente baja en comparación con otros ligandos, ya que el término  $\Delta G_{pol}$  es altamente positivo debido a la energía de desolvatación del ligando, que interacciona de manera muy fuerte con el agua.

Por último, se analiza con MMGBSA la descomposición de la energía libre de interacción por residuo entre la proteína y cada ligando. Se concluye que el residuo D155 es el que interacciona más fuertemente con todos los residuos. También se observa cómo, dependiendo de la estructura de la molécula, la afinidad que presenta por ciertos residuos como el F339 y especialmente el Y370 pueden llegar a variar. El dato más relevante de este análisis es la fuerte interacción que tiene lugar entre la molécula 25CN-NBFF y el residuo D122, ya que esta afinidad tan elevada es única para este

compuesto. La interacción con el residuo D122 es muy favorable y, por lo tanto, la energía libre de interacción total de esta molécula es la más elevada en comparación con el resto de moléculas.

Este estudio abarca una pequeña fracción de un área de investigación mucho más amplia. Se ha decidido trabajar con un pequeño y selecto grupo de compuestos, dado que el principal objetivo de este proyecto es identificar las diferencias que se presentan al variar el GA1. No obstante, sería de utilidad que futuros estudios investigaran otros compuestos o incluso distintas variantes del 25CN-NBOH para observar si concuerdan con las conclusiones obtenidas en este trabajo.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Lohoff, F. W. (2010). *Current psychiatry reports*, 12, 539-546.
- [2] Banasr, M., et al., (2011). *Current opinion in cell biology*, 23(6), 730-737.
- [3] Kim, K., et al., (2020). *Cell*, 182(6), 1574-1588.
- [4] Nutt, D., et al., (2020). *Cell*, 181(1), 24-28.
- [5] Märcher Rørsted, E., et al., (2021). *ChemMedChem*, 16(21), 3263-3270.
- [6] Castrén, E., et al., (2021). *Biological psychiatry*, 90(2), 128-136.
- [7] Poulie, C. B., et al., (2019). *ACS chemical neuroscience*, 11(23), 3860-3869.
- [8] Wallach, J., et al., (2023). *Nature Communications*, 14(1), 8221.
- [9] Soares, B. A., et al., (2024). *ACS Chemical Neuroscience* 15(3), 608-616.
- [10] Salomon-Ferrer, R., et al., (2013). *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 3(2), 198-210.
- [11] Humphrey, W., et al., (1996). *Journal of Molecular Graphics*, 14(1), 33-38.
- [12] Weedbrook, C., et al., (2012). *Reviews of Modern Physics*, 84(2), 621-669.
- [13] Bretonnet, J. L. (2017). *AIMS Materials Science*, 4(6), 1372-1405.
- [14] Shi, Y., et al., (2021). *The journal of physical chemistry letters*, 12(22), 5308-5318.
- [15] Prasad, S., et al., (2018). *Living Journal of Computational Molecular Science*, 1, 1-28.
- [16] Adcock, S. A., et al., (2006). *Chemical reviews*, 106(5), 1589-1615.
- [17] Huang, W., et al., (1997). *SIAM Journal on Scientific Computing*, 18(1), 239-256.
- [18] Guvench, O., et al., (2008). *Molecular modeling of proteins*, 63-88.
- [19] Monticelli, L., et al., (2013). *Biomolecular simulations: Methods and protocols*, 197-213.
- [20] Wells, B. A., et al., (2015). *Journal of chemical theory and computation*, 11(8), 3684-3695.
- [21] Sutmann, G. (2002). *Quantum simulations of complex many-body systems: from theory to algorithms*, 10, 211-254.
- [22] Hünenberger, P. H. (2005). *Advanced computer simulation: Approaches for soft matter sciences I*, 105-149.

- [23] Ke, Q., et al., (2022). *Journal of Molecular Liquids*, 365, 120116.
- [24] Kollman, P. A., et al., (2000). *Accounts of chemical research*, 33(12), 889-897.
- [25] Wang, E., et al., (2019). *Chemical reviews*, 119(16), 9478-9508.
- [26] Tuccinardi, T. (2021). *Expert opinion on drug discovery*, 16(11), 1233-1237.
- [27] Genheden, S., et al., (2015). *Expert opinion on drug discovery*, 10(5), 449-461.
- [28] Wang, J., et al., (2004). *Journal of computational chemistry*, 25(9), 1157-1174.
- [29] Paier, J., et al., (2007). *The Journal of chemical physics*, 127(22), 221103.
- [30] Hill, J. G. (2013). *International Journal of Quantum Chemistry*, 113(1), 21-34.
- [31] Becke, A. D. (1993). *The Journal of chemical physics*, 98(2), 1372-1377.
- [32] Laurent, A. D., et al., (2015). *Theoretical Chemistry Accounts*, 134, 1-11.
- [33] Mark, P., et al., (2001). *The Journal of Physical Chemistry A*, 105(43), 9954-9960.
- [34] Dickson, C. J., et al., (2022). *Journal of chemical theory and computation*, 18(3), 1726-1736.
- [35] Tian, C., et al., (2019). *Journal of chemical theory and computation*, 16(1), 528-552.
- [36] Roe, D. R., et al., (2013). *Journal of chemical theory and computation*, 9(7), 3084-3095.

## 10. ANEXO

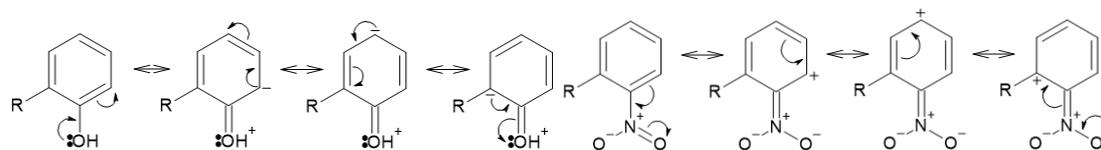


Figura 11. Estructuras resonantes del ligando 25CN-NBOH. Figura 12. Estructuras resonantes del ligando 25CN-NBNO<sub>2</sub>.

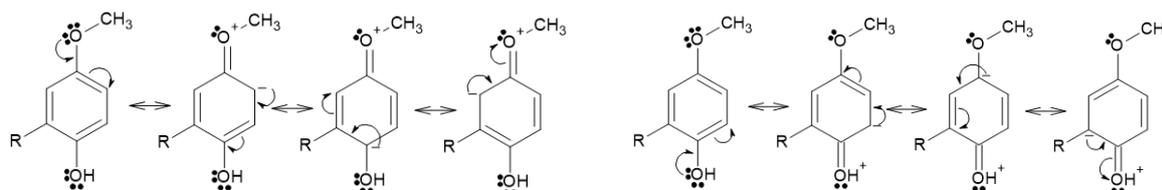


Figura 13. Estructuras resonantes del ligando 25CN-NB-2-OH-5-OMe.

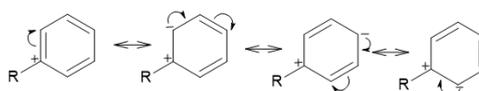


Figura 14. Estructuras resonantes del ligando 25CN-NB.

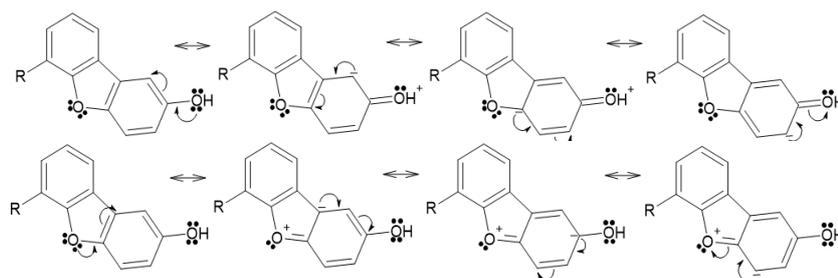


Figura 15. Estructuras resonantes del ligando 25CN-NBFF.