



Benemérita Universidad Autónoma

De Puebla

Facultad de Ciencias Químicas

Instituto de Ciencias

Posgrado en Ciencias Químicas

La interferencia molecular *in silico* entre los anestésicos locales con los canales de sodio dependiente de voltaje 1.4, 1.5 y 1.6.

Tesis para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias Químicas en el Área de Bioquímica y Biología Molecular

Presenta:

Q.F.B. Jordan Edilberto Ruiz Castelán

Directores de Tesis

Dr. Thomas Scior (Laboratorio de Simulaciones Moleculares Computacionales y Posgrado de Ciencias Químicas, BUAP)

Dr. Eduardo M. Salinas Stefanón (Laboratorio de Biofísica Cardíaca, Instituto de Fisiología, BUAP)



AGRADECIMIENTOS

A mi Mamá, por todo su apoyo incondicional por su paciencia, amor y por todo lo que ha hecho por mí. TE QUIERO MUCHO MA.

A mi tía Anita por todo el apoyo, por las preocupaciones y molestias que le he dado. Gracias Tía la quiero

A mis padrinos Eugenio y María gracias por sus preocupaciones su apoyo por todo, muchas gracias. Los quiero mucho

A mis primos (casi hermanos), Mary, Cesar, Mario, Rafa y Lili. Los quiero mucho y gracias por el apoyo.

A mis amigos de laboratorio Jorge, Israel, Itzel, Kenia muchas gracias por su apoyo y preocupación y gracias por los momentos divertidos.

Al Dr. Tom Scior por su apoyo incondicional, las preocupaciones y molestias que le di y siempre responder ante el más mínimo correo, nunca olvidare su frase que me dijo una vez “el conocimiento es el universo, tú sabes lo que tomas y conoces de él”, eso me ha servido de mucho. MUCHAS GRACIAS.

Al Dr. Eduardo Salinas gracias por sus correcciones en el ámbito laboral, disculpe por todas las molestias ocasionadas.

A mis sinodales, Dra. Lourdes Millán, Dr. Emilio Salceda, Dr. Julián Yunes, Dr. Ángel Islas. Primero gracias por su apoyo, puntos de vista en el escrito.



Agradecimiento especial al **CONACYT** por la beca otorgada con número 582241, ya que me ha ayudado a continuar con mis estudios y un sueño que había querido realizar. Muchas gracias.



BUAP

A QUIEN CORRESPONDA:

Por este conducto la Comisión Revisora formada por la Dra. Lourdes Millán Pérez Peña, Dr. José Emilio Salceda Ruanova, Dr. Ángel Adonai Islas Navarrete y el Dr. Alejandro Julián Yunes Rojas, informan haber leído y aprobado para su impresión, la tesis denominada **“La interferencia molecular in silico entre los anestésicos locales con los canales de sodio dependiente de voltaje 1.4, 1.5 y 1.6”**, que presenta el alumno **Jordán Edilberto Ruiz Castelán** para obtener el grado de Maestría en Ciencias Químicas.

Se extiende la presente a los veintitrés días del mes de noviembre del año dos mil diecisiete.

ATENTAMENTE

Dra. Lourdes Millán Pérez Peña

Dr. José Emilio Salceda Ruanova

Dr. Ángel Adonai Islas Navarrete

Dr. Julián Alejandro Yunes Rojas

80 AÑOS

DE UNIVERSIDAD

Posgrado en Ciencias Químicas
Facultad de Ciencias Químicas
Instituto de Ciencias (ICUAP)

Edificio FCQ 10,
Ciudad Universitaria
Col. San Manuel, Puebla, Pue. C.P. 72570
01 (222) 229 55 00 Ext. 7397
posgrado.quimica@correo.buap.mx

INDICE

	Pag.
1. INTRODUCCION	11
1.1 NOMENCLATURA DE LOS CANALES	11
1.1.1 CANAL DE SODIO	12
1.2 ESTRUCTURA DEL CANAL DE SODIO	13
1.3 FENESTRACION	14
1.4 SENSOR DE VOLTAJE	15
1.5 INACTIVACION DEL CANAL DE SODIO	15
1.5.1 INACTIVACION RAPIDA	15
1.5.2 INACTIVACION LENTA	16
1.6 CANAL DE SODIO DEPENDIENTE DE VOLTAJE DE MUSCULO ESQUELETICO (hNav1.4)	16
1.6.1 CANALOPATIAS	17
1.6.1.1 PARAMIOTONIA CONGENITA DE VON EULENBURG (PMC)	17
1.6.1.2 PARALISIS PERIODICA HIPERCALCEMICA (HYPP)	18
1.6.1.3 PARALISIS PERIODICA HIPOCALCEMICA 2 (HOKPP2)	18
1.6.1.4 PARALISIS PERIODICA NORMOCALCEMICA (NKPP)	19
1.6.1.5 MIOTONIA RELACIONADA AL GEN SCN4A (MYOSCN4A)	19
1.6.1.6 SINDROME MIASTENICO CONGENITO 16 (CMS16)	20
1.6.2 MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES	20
1.7 CANAL DE SODIO DEPENDIENTE DE VOLTAJE DE MUSCULO CARDIACO (hNav1.5)	21
1.7.1 CANALOPATIAS	21
1.7.1.1 SINDROME QT LARGO TIPO 3 (LQT3)	21
1.7.1.2 SINDROME DE BRUGADA 1 (BRGDA1)	22
1.7.1.3 SINDROME DEL SENO SINUSAL 1 (SSS1)	24
1.7.1.4 FIBRILACION VENTRICULAR PAROXISMAL FAMILIAR 1 (VF1)	25
1.7.1.5 SINDROME DE MUERTE REPENTINA INFANTIL (SIDS)	25
1.7.1.6 PARALIZACION AURICULAR 1 (ATRST1)	26
1.7.1.7 CARDIOMIOPATIA DILATADA 1E (CMD1E)	26
1.7.1.8 FIBRILACION ATRIAL FAMILIAR 10 (ATFB10)	26
1.7.2 MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES	27
1.8 CANAL DE SODIO DEPENDIENTE DE VOLTAJE DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (hNav1.6)	27
1.8.1 CANALOPATIAS	27
1.8.1.1 DETERIORO CONGNITIVO CON O SIN ATAXIA CEREBELOSA (CIAT)	27
1.8.1.2 ENCEFALOPATIA EPILEPTICA EN INFANCIA TEMPRANA 13 (EIEE13)	28
1.8.1.3 CONVULSION INFALTIL FAMILIAR BANIGNA 5 (BFIS5)	29
1.8.2 MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES	29
1.9 ANESTESICOS LOCALES	29
1.9.1 PROPIEDADES GENERALES DE LOS ANESTESICOS LOCALES	30
1.9.2 EL BLOQUEO DEL CANAL INACTIVADO Y EL RECEPTOR DE LOS ANESTESICOS LOCALES	31
1.9.3 LOS ANESTESICOS LOCALES BLOQUEAN EL CANAL ABIERTO	32
1.9.4 VIAS HIDROFILICAS E HIDROFOBAS PARA LOS ANESTESICOS LOCALES	33
1.9.5 MECANISMO DE ACCION DE LOS ANESTESICOS LOCALES	33
1.9.6 BUPIVACAÍNA	33
1.9.7 LIDOCAÍNA	34
1.10 FARMACOS ANTIARRITMICOS	35

1.10.1 CLASIFICACION DE LOS FARMACOS ANTIARRITMICOS	35
1.10.2 MEXILETINA	36
2. ANTECEDENTES	38
3. JUSTIFICACIÓN	39
4. HIPOTESIS DE TRABAJO	39
5. OBJETIVO GENERAL	39
5.1 OBJETIVOS PARTICULARES	39
6. METODOLOGÍA	40
6.1 ALINEAMIENTO DE SECUENCIAS	40
6.2 MODELADO POR HOMOLOGÍA	41
6.3 ACOPLAMIENTO MOLECULAR	41
6.4 RELACIÓN CUANTITATIVA ESTRUCTURA-ACTIVIDAD (QSAR)	42
7. RESULTADOS	43
7.1 SITIO DE UNION DE ANESTESICOS LOCALES EN LAS ISOFORMAS DEL CANAL DE SODIO DEPENDIENTE hNav1.4, hNav1.5, hNav1.6	43
7.2 MODELAJE DEL CANAL	44
7.3 VALIDACION Y ESTUDIO DE LAS POSICIONES DE LOS AMINOACÍDOS DE LOS CANALES DE SODIO	47
7.4 CONFORMACIONES DEL CANAL	48
7.5 INTERACCION DE LOS ANESTESICOS LOCALES CON LOS CANALES DE SODIO DEPENDIENTES DE VOLTAJE	49
7.5.1 3RVY (canal en estado preactivado)	49
7.5.2 4DXW (canal en estado inactivado)	49
7.5.3 5GJV (canal en estado inactivado)	49
7.6 ACOPLAMIENTO DE LOS ANESTESICOS LOCALES CON LOS CANALES DE SODIO	50
7.6.1 R-BUPIVACAÍNA EN EL CANAL DE SODIO EN ESTADO PRACTIVADO (3RVY)	50
7.6.1.1 hNav1.4	50
7.6.1.2 hNav1.5	51
7.6.1.3 hNav1.6	51
7.6.2 S-BUPIVACAÍNA EN EL CANAL DE SODIO EN ESTADO PRACTIVADO (3RVY)	53
7.6.2.1 hNav1.4	54
7.6.2.2 hNav1.5	54
7.6.2.3 hNav1.6	54
7.6.3 LIDOCAÍNA EN EL CANAL DE SODIO EN ESTADO PRACTIVADO (3RVY)	56
7.6.3.1 hNav1.4	57
7.6.3.2 hNav1.5	57
7.6.3.3 hNav1.6	57
7.6.4 R-BUPIVACAÍNA EN EL CANAL DE SODIO EN ESTADO INACTIVADO (4DXW)	61
7.6.4.1 hNav1.4	61
7.6.4.2 hNav1.5	61
7.6.4.3 hNav1.6	64
7.6.5 S-BUPIVACAÍNA EN EL CANAL DE SODIO EN ESTADO INACTIVADO (4DXW)	65
7.6.5.1 hNav1.4	65
7.6.5.2 hNav1.5	65
7.6.5.3 hNav1.6	66
7.6.6 LIDOCAÍNA EN EL CANAL DE SODIO EN ESTADO INACTIVADO (4DXW)	68

7.6.6.1 hNa _v 1.4	69
7.6.6.2 hNa _v 1.5	69
7.6.6.3 hNa _v 1.6	69
7.6.7 R-BUPIVACAÍNA EN EL CANAL DE SODIO EN ESTADO INACTIVADO (5GJV)	71
7.6.7.1 hNa _v 1.4	72
7.6.7.2 hNa _v 1.5	72
7.6.7.3 hNa _v 1.6	72
7.6.8 S-BUPIVACAÍNA EN EL CANAL DE SODIO DE EN ESTADO INACTIVADO (5GJV)	75
7.6.8.1 hNa _v 1.4	76
7.6.8.2 hNa _v 1.5	76
7.6.8.3 hNa _v 1.6	76
7.6.9 LIDOCAÍNA EN EL CANAL DE SODIO EN ESTADO INACTIVADO (5GJV)	78
7.6.9.1 hNa _v 1.4	79
7.6.9.2 hNa _v 1.5	79
7.6.9.3 hNa _v 1.6	79
7.7 IDENTIFICACIÓN DE LOS SITIO DE UNIÓN DE MEXILETINA Y SUS ANÁLOGOS	83
7.7.1 DESCRIPCION DEL MODO DE UNIÓN DE LA MEXILETINA Y SUS ANÁLOGOS	83
7.8 RELACIÓN CUANTITATIVA ESTRUCTURA-ACTIVIDAD (QSAR) DE MEXILETINA Y SUS ANÁLOGOS	85
8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	88
9. CONCLUSIÓN	91
10. REFERENCIAS	92
11. APENDICE	96
11.1 APENDICE 1 (VALIDACIÓN CANALES MODELADOS)	96
11.2 APENDICE 2 (DOCKINGS FARMACOS-CANALES)	144

INDICE DE FIGURAS

- Figura 1:** Representación de las conformaciones abierta y cerrada del canal de sodio.
- Figura 2.** Representación de los canales de sodio dependientes de voltaje.
- Figura 3. A)** Representación de la distribución de residuos aminoacídicos en los segmentos transmembrana S4 de cada dominio en el canal de sodio. **B)** Al movimiento realizado por los segmentos transmembrana S4 para que el canal de sodio pase del estado cerrado a abierto.
- Figura 4.** Estructura del canal de sodio que conforma a la partícula de inactivación, la cual es el asa intracelular que se encuentra entre los dominios DIII y DIV.
- Figura 5.** Estructura de los anestésicos locales
- Figura 6.** Estructura de R- y S-bupivacaína, el asterisco muestra el carbono quiral.
- Figura 7.** Estructura de lidocaína
- Figura 8.** Estructura de Mexiletina
- Figura 9. A)** Trazos representativos de la corriente de Na⁺ (INa) registrada en ovocitos de *X. laevis* (a un potencial de -20 mV) que fueron transfectados con la isoforma Nav1.4, en ausencia y en presencia de lidocaína. **B)** INa normalizada en presencia de 700 μM de lidocaína registrada en ovocitos que expresan canales Nav1.4 nativo y la mutante F1579A (sitio de anestésicos locales)
- Figura 10.** Alineamiento de las secuencias aminoacídicas de las 9 isoformas de los canales de sodio dependientes de voltaje, en la que se presentan los segmentos S6 de los dominios del DI-DIV. Se somborean los residuos aminoacídicos que forman parte del sitio de unión de anestésicos locales (LABS). La nomenclatura es de acuerdo con la secuencia Nav1.4 de rata
- Figura 11.** Superposición de los canales modelados (verde) y las plantillas obtenidas de la base de datos de proteínas cristalizadas (azul). **A)** Modelo generado con la plantilla 3RVY (estado preactivado). **B)** Modelo generado con la plantilla 4DXW (estado inactivado). **C)** Modelo generado con la plantilla 5GJV (estado inactivado).
- Figura 12.** Representación de las distancias entre los segmentos S4 de todos los dominios confirmando que los modelos generados con la plantilla **A)** 3RVY se encuentran en conformación preactivada, mostrando distancias similares a las obtenidas por Bezanilla y colaboradores. **B)** Los modelos generados con la plantilla 4DXW se encuentran en conformación inactivada, presentan una distancia mayor a la medida por Bezanilla. **C)** Los modelos generados con la plantilla 5GJV se encuentran en conformación inactivada.
- Figura 13. A)** Representación de la interacción de R-bupivacaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación preactivada
- Figura 14. A)** Representación de la interacción de S-bupivacaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación preactivada.
- Figura 15. A)** Representación de la interacción de lidocaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación preactivada.
- Figura 16. A)** Representación de la interacción de R-bupivacaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación inactivada (bacterial)
- Figura 17. A)** Representación de la interacción de S-bupivacaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación inactivada (bacterial).
- Figura 18. A)** Representación de la interacción de lidocaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación inactivada (bacterial).
- Figura 19. A)** Representación de la interacción de R-bupivacaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación inactivada (mamífero).

Figura 20. A) Representación de la interacción de S-bupivacaína con los canales de sodio hNav1.4, hNav1.5 y hNav1.6 en conformación inactivada (mamífero).

Figura 21. A) Representación de la interacción de lidocaína con los canales de sodio hNav1.4, hNav1.5 y hNav1.6 en conformación inactivada (mamífero)

Figura 22. Representación de los sitios de unión de la mexiletina en el hNav1.4. Interacción de mexiletina y sus análogos con el LABS, presentando los residuos aminoacídicos que permiten la interacción, en negro los residuos aminoacídicos identificados previamente en la literatura que forman parte del LABS.

Figura 23. Relación Cuantitativa Estructura Actividad (QSAR) de la mexiletina y sus análogos, producto del acoplamiento molecular al canal Nav1.4 en estado abierto e inactivado, con datos experimentales de actividad.

1. INTRODUCCIÓN

Los canales iónicos dependientes de voltaje son proteínas que llevan a cabo el movimiento de los iones a través de la membrana. Como su nombre sugiere, regulan la diferencia de iones a través de la membrana. El movimiento de iones, como el sodio, potasio, calcio y cloro (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , y Cl^-), así como la dependencia de voltaje para que se lleve a cabo su respuesta dando como resultado una respuesta eléctrica en el cuerpo.

Una clase de los canales de iónicos dependientes de voltaje son los canales de sodio. La cinética de los canales de sodio fue estudiada por Hodgkin y Huxley en axón de calamar en 1952. Se ha descubierto que los canales de sodio comprenden una gran familia desde el $\text{Na}_v1.1$ al $\text{Na}_v1.9$. Muchos de los canales presentan actividad eléctrica en tejidos incluyendo células neuronales, células del tejido muscular cardíaco y esquelético. En estas células los canales de sodio llevan el flujo de iones sodio desde una solución extracelular hacia el citosol, esto causando la despolarización de la membrana celular. Diferentes tipos de tejidos expresan diferentes isoformas de los canales de sodio. $\text{Na}_v1.1$, $\text{Na}_v1.2$, $\text{Na}_v1.3$ y $\text{Na}_v1.6$ están expresados principalmente en el sistema nervioso central (SNC); $\text{Na}_v1.4$ está localizado predominantemente en musculo esquelético; $\text{Na}_v1.5$ en tejido muscular cardíaco; y $\text{Na}_v1.7$, $\text{Na}_v1.8$ y $\text{Na}_v1.9$ se encuentran en sistema nervioso periférico (SNP).

1.1 Nomenclatura de los canales

El nombramiento de los canales iónicos no ha sido sistemático. Los primeros biofísicos intentaron distinguir los diferentes componentes de la permeabilidad de la membrana mediante curvas cinéticas utilizadas en farmacología, y en respuesta a la sustitución iónica. Los modelos cinéticos fueron hechos expresando matemáticamente cada componente. Así se asumió que cada modelo matemático era la representación de cada tipo de canal. Esta clasificación es de acuerdo con el flujo de iones, y esto fue descrito en los primeros estudios realizados en axones de calamar gigante. Hodgkin y Huxley (1952) reconocieron tres diferentes componentes, los que fueron llamados de sodio, potasio y de salida. Hoy en día se conocen universalmente como “canales de sodio y potasio” a los canales iónicos correspondientes [1].

1.1.1 Canal de sodio.

La familia de canales de sodio dependientes de voltaje (Na_v) es menos diversa. La diversificación funcional ha sido estudiada en los canales de sodio en células excitables. Sin embargo, presentan diferentes cinéticas:

- Los canales de Na^+ rápidos que son sensibles a tetrodotoxina (TTX) que se encuentran en inervaciones de músculo esquelético de vertebrados y
- Los canales de Na^+ lentos que son insensibles a TTX presentes en la glía.

Los canales de Na^+ presentan una función primaria, que es la generación de un aumento rápido del potencial de acción. En las membranas, contribuyen al aumento y a la dispersión de los potenciales. No todas las células excitables usan canales de Na^+ , pero también existen en ellas (como en los cuerpos de las células neuronales, músculo esquelético y músculo cardíaco y muchas células endocrinas) y tienen la misma función aun estando en diferentes células. Estos canales presentan un rango de activación y desactivación de 10 a 20 mV en los diferentes tipos de membranas. El canal de sodio es un canal típico, es un complejo multimérico que se ensambla desde la formación de un poro formado por la subunidad α , y es asistida por otras subunidades β , γ y δ . Cada subunidad α está compuesta por seis α hélices, en mamíferos, los canales de sodio son heterotetrámeros (**Figura 2A y B**).

En los canales existen tres tipos de conformaciones o estados: un abierto y dos cerrados, uno de los estados cerrados se denomina estado de reposo, en donde el canal puede abrirse ante un estímulo; y el otro estado cerrado se denomina estado inactivado o estado refractario, en el que el canal no se abre ante un estímulo.

Los canales de Na^+ tienen subunidades β que se caracterizan por tener una función moduladora de la apertura y cierre del canal, y también regulan la expresión del canal en la membrana [2,3]. Esta subunidad confiere diferentes actividades dependiendo en la isoforma del canal y al tipo de tejido donde encuentra expresado. Esta subunidad acelera la inactivación y la recuperación desde el estado de inactivación [2].

Generalmente estos estados de transición se engloban en un ciclo (**Figura 1**)

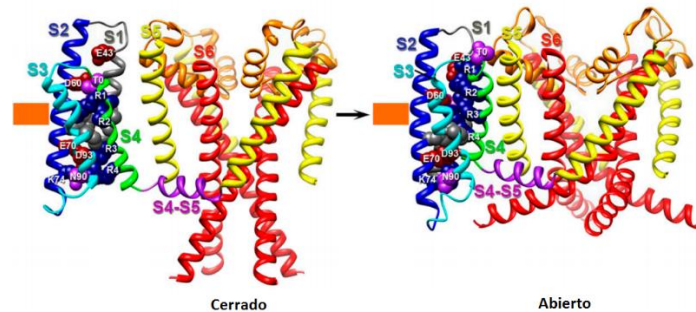
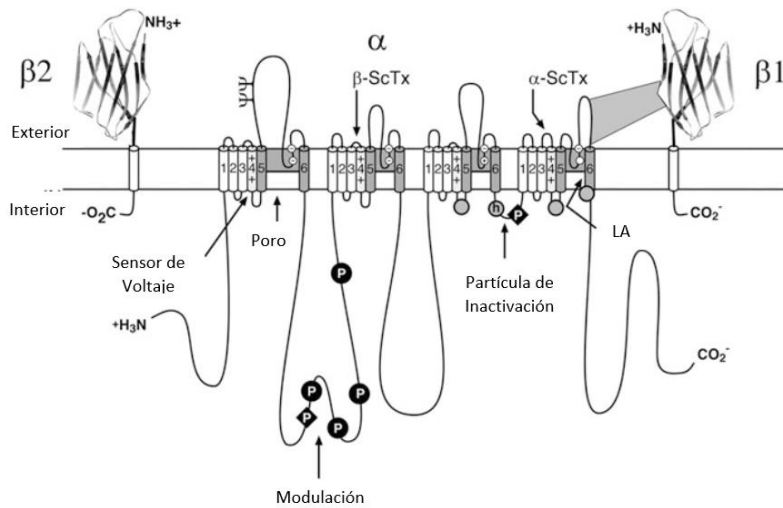


Figura 1. Representación de las conformaciones abierta y cerrada del canal de sodio [4].

1.2 ESTRUCTURA DEL CANAL DE SODIO

Los canales de sodio son proteínas de membrana que presentan variantes estructurales. La subunidad más grande del canal de sodio es la subunidad alfa (α) y las subunidades beta (β) son más pequeñas y están asociadas con la modulación del canal. Sin embargo, la subunidad α es suficiente para conducir el sodio a través de la membrana [1,5]. Estructuralmente la subunidad α está formada por 24 segmentos α hélices transmembranales agrupados en cuatro dominios. Estos cuatro dominios no son idénticos (DI-DIV) y forman una sola proteína de aproximadamente 2000 aminoácidos [5]. Cada dominio está estructurado en dos partes, la sección del sensor del voltaje formada por los cuatro primeros segmentos transmembrana (S1-S4) y la que forman el poro conformada por los segmentos cinco y seis (S5-S6) [5,6] y además el asa extracelular que se encuentra entre estos segmentos (asa P). Gracias a la resolución estructural del cristal del canal de sodio proveniente de bacteria se conoce la organización del canal, mostrando que se conforma por cuatro sensores de voltaje que rodean al poro. El filtro de selectividad del canal está formado por varios residuos aminoacídicos cargados en el asa P de cada dominio (DI ácido aspártico, DII ácido glutámico, DIII lisina y DIV alanina). El filtro es la región más estrecha del poro midiendo aproximadamente $6 \times 4 \text{ \AA}$; y el interior del poro está compuesto mayoritariamente por residuos aminoacídicos hidrófobos. Los segmentos transmembrana S4 contienen varios residuos aminoacídicos cargados que son responsables del cambio en el potencial de membrana (**Figura 2A**) [6].

A)



B)

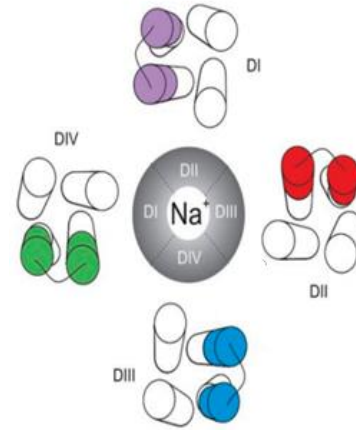


Figura 2. Representación de los canales de sodio dependientes de voltaje. **A)** Se muestra la posición de las subunidades beta 1 y 2 (β_1 y β_2). En la subunidad α , se muestra el sensor de voltaje del segmento S4 (tiene signos “+”) de cada dominio, la partícula de inactivación que se encuentra entre los dominios tres y cuatro, los sitios de unión de las toxinas alfa y beta de escorpión (α y β ScTx), el sitio de unión a anestésicos locales (LA), sitios de fosforilación en el asa intracelular que se encuentra entre los dominios 1 y 2 (DI y DII) [5]. **B)** Representación de la organización de los cuatro dominios de los canales de sodio, mostrándose que los segmentos 5 y 6 (en color gris) de cada dominio forman el poro y los primeros cuatro segmentos se encuentran alrededor del poro (en color morado, rojo, azul y verde).

1.3 FENESTRACIONES

La estructura del canal de sodio presenta aperturas entre los distintos dominios, a estas aperturas se les denomina fenestraciones. Estas fenestraciones son interfaces o áreas que se encuentran entre el segmento S5 del dominio DI y el S6 del dominio DII; el segmento S5 del dominio DII y el segmento S6 del dominio DIII; el segmento S5 del DIII y el segmento S6 del dominio DIV; y entre el segmento S5 del dominio DIV y el segmento S6 del dominio DI [6]. Estas fenestraciones sirven como vía alterna de entrada para los anestésicos locales al canal, las dimensiones que presentan estas fenestraciones son de $8 \times 10 \text{ \AA}$. Estas aperturas se encuentran ocupadas por cadenas acilo de la membrana lipídica; cuyas características fisicoquímicas median la entrada de los anestésicos locales [7].

1.4 SENSOR DE VOLTAJE

La función crucial del canal de sodio es la habilidad para abrir y cerrar el poro en respuesta a los cambios del potencial transmembrana, un proceso llamado compuerta voltaje dependiente. El canal se cierra al censar el potencial de reposo, y se abre en el proceso de despolarización[8]. Cambios en la conformación del segmento S6 están relacionados al movimiento de las cargas positivas en el segmento S4, así, el sensor de voltaje se mueve hacia la superficie extracelular de la membrana durante la despolarización. En la primera clonación del canal de sodio, se mostró que hay residuos de lisina y arginina espaciados en cada segmento transmembrana S4 del canal de sodio, varía la cantidad de residuos cargados positivamente (**Figura 3A**) [9]. Cada conjunto de segmentos S4 jala del extremo citoplasmático S4-S5, el cual es adyacente al poro haciendo que los segmentos S5-S6 se muevan y se abra el poro (**Figura 3B**).

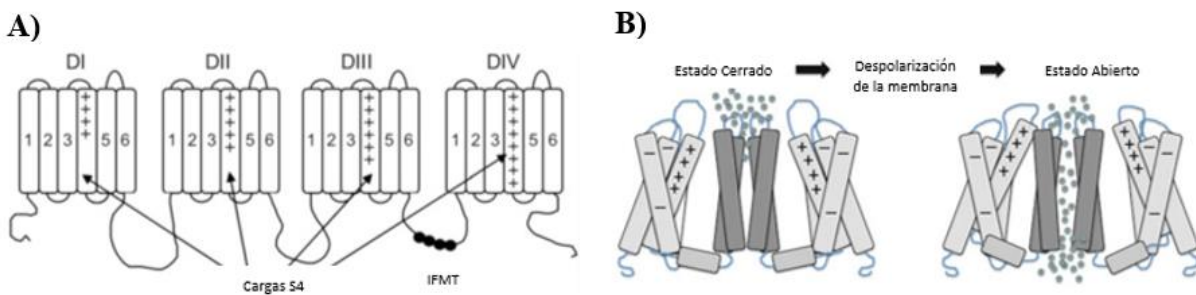


Figura 3. A) Representación de la distribución de residuos aminoacídicos en los segmentos transmembrana S4 de cada dominio en el canal de sodio. **B)** Al movimiento realizado por los segmentos transmembrana S4 para que el canal de sodio pase del estado cerrado a abierto [9].

1.5 INACTIVACION DEL CANAL DE SODIO

1.5.1 INACTIVACION RÁPIDA

La compuerta de inactivación de los canales de sodio está localizada en la porción final citoplasmática del poro, donde todos los segmentos S6 convergen, la forma de inactivación del canal es por el movimiento del segmento intracelular que une a los dominios III y IV, denominada la partícula de inactivación [7,10]. Este proceso se lleva a cabo en la superficie del canal que da hacia el citoplasma, la partícula de inactivación está conformada por cuatro residuos aminoacídicos isoleucina, fenilalanina, metionina y treonina (IFMT) (**Figura 4**) [11]. Esta partícula de inactivación actúa como una tapa que bloquea el lado intracelular del poro del canal de sodio,

previniendo el movimiento del sodio a través del canal hacia el citosol. Capes y colaboradores, observaron que el movimiento del segmento transmembrana S4 del dominio DIV es el paso limitante en la inactivación rápida. Después que la célula se repolariza, la partícula de inactivación se desacopla, la recuperación a partir de la inactivación rápida está también mediada por el movimiento del segmento transmembrana S4 del DIV [10].

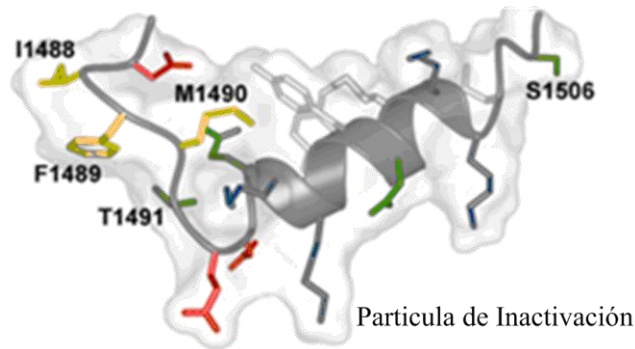


Figura 4. Estructura del canal de sodio que conforma a la partícula de inactivación, la cual es el asa intracelular que se encuentra entre los dominios DIII y DIV [modificado de Catterall, W.A. et al 2000].

1.5.2 INACTIVACION LENTA

En neuronas y musculo, el inicio del potencial de acción está regulado por la rápida apertura y cierre de los canales de sodio que producen un aumento en la corriente y así la despolarización de la membrana. La inactivación lenta, reduce el número de canales que están abiertos y al final regular la excitabilidad. La inactivación lenta afecta dos parámetros, la excitabilidad y la velocidad de conducción, jugando un papel importante en la fisiología, por ejemplo, modulando la memoria neuronal o el mantenimiento de una arritmia; por este hecho, este tipo de inactivación ha sido un blanco para agentes terapéuticos como: anticonvulsivante, insecticidas, antiarrítmicos y anestésicos locales [13].

1.6 CANAL DE SODIO DEPENDIENTE DE VOLTAJE DE MUSCULO ESQUELETICO (hNav1.4)

El canal de sodio dependiente de voltaje 1.4 (Nav1.4), se expresa en musculo esquelético y es el responsable de la propagación del potencial de acción en la placa neuromuscular, provocando la contracción del musculo [14].

1.6.1 CANALOPATIAS

El canal de sodio dependiente de voltaje 1.4 que se expresa en musculo esquelético, ha sido ligado a enfermedades como: paramiotonía congénita o paramiotonía congénita de Von Eulenburg (PMC), parálisis periódica hipercalcémica (HYPP), parálisis periódica hipocalcémica (HOKPP2), parálisis periódica normocalcémica (NKPP), miotonía relacionada al SCN4A (MYOSCN4A), síndrome miasténico (CMS16).

1.6.1.1 PARAMIOTONIA CONGENITA DE VON EULENBURG (PMC)

Las parálisis periódicas son un grupo de enfermedades musculares dominantes autosómicas que tienen en común algunos eventos de parálisis episódica. Esta miotonía empeora por la ingestión de potasio y a la respuesta al tratamiento por acetazolamida. Anteriormente era referida como “miotonía del canal de sodio”, “miotonía fluctuante”, “miotonía permanens” o “miotonía congénita en respuesta a acetazolamida”. El termino paramiotonía congénita fue conocido y aceptado en “miotonias no distroficadas y parálisis periódicas” por el Centro Europeo Neuromuscular en Naarden, en 1995. La paramiotonía congénita, usualmente ocurre cuando el musculo se expone al frío. Las mutaciones que causan esta parálisis (**Tabla 1**), se encuentran a lo largo del Nav1.4 desde el dominio I (DI), hasta las asas citoplasmáticas (partícula de inactivación) [15-22].

Tabla 1. Residuos aminoacídicos mutados del canal de sodio hNav_v1.4 que causan Paramiotonía Congénita de Von Eulenburg

Posición	Nativo - Mutación
270	Q-K
693	I-T
704	T-M
804	S-F
1152	A-D
1156	A-T
1293	V-I
1306	G-A; G-E; G-V

1313	T-M
1433	L-R
1436	L-P
1448	R-C; R-H; R-L
1456	G-E
1473	F-S
1589	V-M
1705	F-I

1.6.1.2 PARÁLISIS PERIÓDICA HIPERCALCÉMICA (HYPP)

La parálisis periódica incluye varias condiciones en episodios de debilidad en las extremidades, estos episodios son provocados por varios estímulos incluyendo: elevación en la concentración de potasio en plasma, enfriamiento del musculo y actividad muscular constante. Algunos pacientes con este tipo de parálisis presentan miotonía (es una forma de actividad eléctrica anormal que consiste en potenciales de acción repetitivos, y está asociado a un retraso en la relajación del musculo después de una contracción voluntaria). La enfermedad HYPP esta generalmente ligada al $Na_v1.4$, y estudios por Ptáček y colaboradores demostraron que esta enfermedad altera la inactivación y el proceso de apertura del canal de sodio. Los residuos aminoacídicos que están mutados en la parálisis periódica hipercalcémica están enlistados abajo (**Tabla 2**) [21, 23-27].

Tabla 2. Residuos aminoacídicos que al estar mutados en el $hNa_v1.4$ causan la parálisis periódica hipercalcémica

Posición	Nativo - Mutación
704	T-M
1156	A-T
1433	L-R
1592	M-V

1.6.1.3 PARÁLISIS PERIÓDICA HIPOCALCEMICA 2 (HOKPP2)

La parálisis periódica hipocalcémica tipo 2 es un desorden del musculo esquelético heredado causado por mutaciones sin sentido en el canal de sodio dependiente de voltaje. La mayoría de las mutaciones que se presentan en este desorden se encuentran en los residuos de arginina del sensor de voltaje del segmento 4 (S4) del dominio II (DII), las mutaciones causan que se pierda la carga positiva, cambiando por residuos aminoacídicos aromáticos hidrófobos y polares neutros (**Tabla 3**). La parálisis periódica hipocalcémica está caracterizada por flacidez muscular que puede tardar horas o días, está caracterizada por una disminución de potasio en suero y orina. Esta es una enfermedad autosómica dominante que se presenta mayoritariamente en hombres [21, 28 - 31].

Tabla 3. Residuos aminoacídicos que al estar mutados en el hNav_v1.4 causan parálisis periódica hipocalcémica

Posición	Nativo - Mutación
222	R-W
669	R-H
672	R-C; R-G; R-H; R-S
1129	R-Q
1132	R-Q
1135	R-C; R-H
1158	P-S

1.6.1.4 PARÁLISIS PERIÓDICA NORMOCALCÉMICA (NKPP)

Este tipo de parálisis periódica está caracterizado por tener los niveles de potasio normales y presenta las siguientes mutaciones en el canal de sodio dependiente de voltaje. Los residuos aminoacídicos que están mutados se muestran abajo (**Tabla 4**) [21, 32, 33].

Tabla 4. Residuos aminoacídicos que al estar mutados en el hNav_v1.4 causan parálisis periódica normocalcémica.

Posición	Nativo - Mutación
675	R-G; R-Q; R-W
1129	R-Q
1592	M-V

1.6.1.5 MIOTONIA RELACIONADA AL GEN SCN4A (MYOSCN4A)

La miotonía es un desorden heredado de la excitabilidad del musculo esquelético. La miotonía es desencadenada o empeorado por repeticiones de ejercicio y pueden presentar debilidad flácida durante la exposición a frio (Fournier y colaboradores (2006)). Este desorden está relacionado principalmente con las mutaciones del canal de calcio, estudios por Ptacek y colaboradores (1994), demostraron que este desorden también está relacionada al canal de sodio. Se han encontrado diferentes mutaciones en el canal de sodio de musculo esquelético (Na_v1.4) que están enlistadas abajo (**Tabla 5**) [21, 34-39].

Tabla 5. Residuos aminoacídicos que al estar mutados en el hNav1.4 causan miotonía relacionada a SCN4A.

Posición	Nativo - Mutación		
141	I-V	1156	A-T
225	R-W	1160	I-V
445	V-M	1297	N-K
452	E-K	1306	G-E
671	F-S	1310	I-N
715	A-T	1476	M-I
804	S-N	1481	A-D
		1633	Q-E

1.6.1.6 SINDROME MIASTENICO CONGENITO 16 (CMS16)

Es una forma de síndrome miasténico congénito, que es caracterizado por la falla de la transmisión neuromuscular, cabe aclarar que no son de origen autoinmune. En una transmisión neuromuscular normal, primero se realiza la activación de los receptores de acetilcolina, que dan la formación de la meseta final de potencial (EPP) activando al canal de sodio dependiente de voltaje $Na_v1.4$, dando paso a la formación y propagación del potencial de acción en la placa neuromuscular. Al tener mutaciones este canal de sodio, y no tener una buena propagación del potencial de acción, dan como resultado procesos de debilidad muscular que tienen como característica una rápida inactivación del $Na_v1.4$. Las mutaciones que presenta el canal de sodio dependiente de voltaje ($Na_v1.4$) se muestran abajo (**Tabla 6**) [21, 40, 41].

Tabla 6. Mutaciones de los residuos aminoacídicos del Nav1.4. todas estas mutaciones se encuentran en el asa extracelular entre el segmento 3 y 4 del dominio IV (S3-S4 DIV)

Posición	Nativo - Mutación
1442	V-E
1454	R-W
1457	R-H

1.6.2 MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES

El canal de sodio dependiente de voltaje $Na_v1.4$, presenta diferentes modificaciones post-traduccionales como glicosilaciones y puentes disulfuro (**Tabla 7**). Este canal del musculo esquelético, se encuentra acoplado con una subunidad beta, la cual puede ser la subunidad beta 2 (SCN2B) o la subunidad beta 4 (SCN4B) [21].

Tabla 7. Modificaciones postraduccionales que sufre el Na_v1.4

Residuo	Posición	Modificación
Asparagina	214, 288, 291, 297, 303, 315, 321, 333, 362, 1191, 1205,	Glicosilación
Cisteína	769-778	Puente Disulfuro
Serina	1328	Fosforilación ¹ por PKC

1.7 CANAL DE SODIO DEPENDIENTE DE VOLTAJE DE MUSCULO CARDIACO (hNav1.5)

El canal de sodio dependiente de voltaje Na_v1.5, se encuentra codificado en el gen SCN5A para la subunidad alfa. Este canal tiene como función el control de la excitabilidad cardiaca provocando el potencial de acción [42].

1.7.1 CANALOPATIAS

El canal de sodio dependiente de voltaje 1.5 que se expresa en musculo cardiaco ha sido relacionado con enfermedades como: Síndrome QT Largo 3 (LQT3), Síndrome de Brugada 1 (BRGDA1), Síndrome del Seno Sinusal 1 (SSS1), Fibrilación Ventricular Paroxismal Familiar 1 (VF1), Síndrome de muerte repentina infantil (SIDS), Paralización Auricular 1 (ATRST1), Cardiomiopatía dilatada 1E (CMD1E) y Fibrilación auricular, familiar, 10 (ATFB10).

1.7.1.1 SINDROME QT LARGO TIPO 3 (LQT3)

El síndrome QT Largo tipo 3 está relacionado con varias mutaciones (**Tabla 8**) dentro del canal de sodio, desencadenando corrientes de sodio persistentes y retrasando la repolarización; así creando una predisposición hacia una taquicardia ventricular polimórfica, y puntas torcidas² [21, 43-50].

¹ La Fosforilación del residuo aminoacídico Serina 1328 es altamente conservada, este residuo aminoacídico se encuentra en un asa citoplasmática; esta fosforilación se llevada a cabo por PKC dando como resultado la disminución de la inactivación del canal de sodio, y la reducción de los picos de corriente de los canales.

² Torsades de pointes es una forma de taquicardia ventricular con frecuentes variaciones, presentando un aspecto sinusoidal.

Tabla 8. Residuos aminoacídicos que al estar mutados en el hNa_v1.5 causan el síndrome QT largo tipo 3.

Posición	Nativo - Mutación				
9	G-V	680	R-H	1501	L-V
18	R-Q	689	R-C; R-H	1505	K-N
27	R-H	701	P-L	1532	V-I
30	E-G	731	T-I	1560	L-F
43	R-Q	750	Q-R	1593	I-M
48	E-K	772	D-N	1594	F-S
52	P-S	816	F-Y	1595	D-N
53	R-Q	848	I-F	1596	F-I
104	R-G	941	S-N	1609	S-W
115	S-G	960	Q-K	1620	T-K
125	V-L	965	R-L	1623	R-L; R-Q
212	L-P	971	R-C	1626	R-H; R-P
222	R-Q	981	C-F	1644	R-C; R-H
225	R-Q; R-W	997	A-S	1645	T-M
240	V-M	1004	C-R	1650	L-F
245	Q-K	1053	E-K	1652	M-R; M-T
247	V-L	1069	T-M	1660	I-V
275	N-K	1100	A-V	1667	V-I
289	G-S	1114	D-N	1723	T-N
340	R-W	1166	D-N	1739	R-W
367	R-C	1193	R-Q	1761	L-F; L-H
370	T-M	1199	Y-S	1763	V-M
397	I-T	1225	E-K	1766	M-L
404	L-Q	1231	F-L	1767	Y-C
406	N-K	1283	L-M	1768	I-V
409	L-V	1295	E-K	1777	V-M
411	V-M	1304	T-M	1779	T-M
413	A-E; A-T	1325	N-S	1784	E-K
462	E-A; E-K	1326	A-S	1790	D-G
530	F-V	1330	A-P; A-T	1795	Y-C; Y-D
535	R-Q	1332	P-L	1819	D-N
569	R-W	1333	S-Y	1825	R-H
571	S-I	1334	I-V	1826	R-H
572	A-D; A-S; A-V	1338	L-V	1839	D-G
573	Q-E	1432	R-S	1849	H-R
579	G-R	1458	S-Y	1897	R-W
615	G-E	1472	N-S	1901	E-Q
619	L-F	1473	F-C	1904	S-L
637	P-L	1481	G-E	1909	Q-R
639	G-R	1486	F-L	1913	R-H
648	P-L	1487	M-L	1949	A-S
654	E-K	1488	T-R	1951	V-L
673	L-P	1489	E-D	1977	Y-N
		1493	K-R	2004	F-L; F-V
		1495	Y-S	2012	R-C
		1498	M-V		

1.7.1.2 SÍNDROME DE BRUGADA 1 (BRGDA1)

El síndrome brugada 1 es un síndrome arritmogénico heredado que puede llevar a la muerte por fallo cardíaco, y se encuentra parcialmente asociado con mutaciones autosómicas dominantes en el gen SCN5A [50]. Este síndrome presenta una elevación del segmento ST, causando arritmias ventriculares sin la alteración morfológica del corazón [51]. Las mutaciones encontradas en el Nav1.5 dan como resultado que sea un síndrome altamente variable, hasta el momento se han encontrado alrededor de 300 mutaciones causando esta afección (**Tabla 9**), dentro de los efectos que se han descrito, es la disminución de corriente [21, 51-53].

Tabla 9. Residuos aminoacídicos que al estar mutados en el hNav1.5 causan el síndrome brugada 1.

Posición	Nativo - Mutación	204	A-V	532	F-C
18	R-Q	212	L-Q	543	F-L
27	R-H	220	T-I	552	G-R
70	N-K	222	R-Q	567	L-Q
84	D-N	223	V-L	615	G-E
93	F-S	225	R-W	619	L-F
94	I-S	226	A-V	620	R-C
95	V-I	230	I-V	632	T-M
104	R-Q; R-W	232	V-I	640	P-A
109	N-K	240	V-M	647	A-D
121	R-Q; R-W	270	Q-K	648	P-L
126	K-E	276	L-Q	661	R-W
136	L-P	278	H-D	681	H-P
146	V-M	282	R-C; R-H	683	C-G
161	E-K; E-Q	294	V-M	701	P-L
175	K-N	300	V-I	717	P-L
178	A-G	315	L-P	735	A-E; A-V
182	C-R	319	G-S	746	E-K
185	A-V	320	T-N	752	G-R
187	T-I	325	L-R	758	G-E
204	A-V	336	P-L	764	M-R
212	L-Q	351	G-D; G-V	772	D-N
220	T-I	353	T-I	773	P-S
222	R-Q	356	D-N	789	V-I
223	V-L	367	R-C; R-H; R-L	808	R-P
225	R-W	369	M-K	812	L-Q
226	A-V	374	W-G	814	R-Q
136	L-P	376	R-H	817	K-E
146	V-M	386	G-R	839	L-P
161	E-K; E-Q	396	V-A; V-L	851	F-L
175	K-N	406	N-S	867	E-Q
178	A-G	439	E-K	878	R-C; R-H
182	C-R	501	D-G	886	H-P
185	A-V	514	G-C	892	F-I
187	T-I	526	R-H	893	R-C; R-H
				896	C-S

901	E-K
910	S-L
915	C-R
917	L-R
927	N-S
928	L-P
935	L-P
965	R-C; R-H
997	A-T
1023	R-H
1053	E-K
1055	D-G
1079	S-Y
1079	S-Y
1113	A-V
1140	S-T
1193	R-Q
1219	S-N
1225	E-K
1228	Y-H
1232	R-Q; R-W
1236	K-N
1239	L-P
1240	E-Q
1243	D-N
1249	V-D
1253	E-G
1262	G-S
1271	W-C
1275	D-N
1288	A-G
1293	F-S
1311	L-P
1319	G-V
1323	V-G
1332	P-L
1344	F-L; F-S
1346	L-I; L-P

1351	M-R
1353	V-M
1358	G-W
1359	K-N
1360	F-C
1363	C-Y
1382	S-I
1405	V-L
1406	G-E; G-R
1408	G-R
1409	Y-C
1412	L-F
1419	K-E
1420	G-R
1427	A-S
1428	A-V
1432	R-G; R-S
1433	G-V
1438	P-L
1441	I-L; I-T
1448	I-L; I-T
1449	Y-C
1451	V-D
1463	N-Y
1468	V-F
1494	Y-N
1501	L-V
1502	G-S
1512	R-W
1521	I-K
1525	V-M
1527	K-R
1548	E-K
1569	A-P
1571	F-C
1574	E-K
1582	L-P
1583	R-C; R-H

1604	V-M
1613	Q-L
1620	T-M
1623	R-Q
1629	R-Q
1642	G-E
1644	R-C
1649	A-V
1660	I-V
1661	G-R
1667	V-I
1672	S-Y
1680	A-T
1690	D-N
1698	A-T
1709	T-M; T-R
1712	G-S
1714	D-G
1722	N-D
1728	C-R; C-W
1740	G-R
1743	G-E; G-R
1748	G-D
1764	V-F
1779	T-M
1784	E-K
1795	Y-H; Y-D
1832	Q-E
1850	C-S
1861	V-I
1872	K-N
1903	V-L
1924	A-T
1935	G-S
1938	E-K
1951	V-L
1968	I-S
2004	F-L; F-V

1.7.1.3 SÍNDROME DEL SENO SINUSAL 1 (SSS1)

El síndrome del seno sinusal fue descrito como una complicación arrítmica. Este síndrome está caracterizado por bradicardia sinusal (síndrome taquicardia-bradicardia) y taquicardia atrial [54]. Este síndrome se encuentra asociado principalmente a pacientes pediátricos, además está relacionado con intolerancia al ejercicio y pérdida parcial o total de la conciencia. Las mutaciones asociadas a este síndrome se encuentran en los dominios II, III y IV (**Tabla 10**) [20, 55].

Tabla 10. Residuos aminoacídicos que al estar mutados en el hNa_v1.5 causan el síndrome del seno sinusal 1.

Posición	Nativo - Mutación
220	T-I
735	A-V
1298	P-L
1408	G-R
1792	D-N

1.7.1.4 FIBRILACIÓN VENTRICULAR PAROXISMAL FAMILIAR 1 (VF1)

La fibrilación ventricular paroxismal familiar está relacionado con el síndrome de brugada, del mismo modo está caracterizada por una elevación del segmento ST; la mutación de serina a leucina en la posición 1710 presenta una aceleración en el decaimiento de la corriente, alteraciones en el estado inactivado y activado; resultando posiblemente en la disminución de la amplitud de corriente de sodio [56]. La mutación que causa esta fibrilación es S1710L, se encuentra en el asa reentrante del dominio IV (DIV).

1.7.1.5 SÍNDROME DE MUERTE REPENTINA INFANTIL (SIDS)

El síndrome de muerte repentina infantil se presenta en infantes menores a 1 año de edad, el episodio fatal ocurre mientras el paciente se encuentra durmiendo. Este síndrome es multifactorial, se expresa al combinarse varios factores como el genético y el ambiental. Conjuntamente relacionado con las mutaciones presentes en el canal de sodio (**Tabla 11**), también se ha observado que el fumar mientras se presenta el embarazo y comida baja en grasa se consideran factores de riesgo [21, 57].

Tabla 11. Residuos aminoacídicos que al estar mutados en el hNa_v1.5 causan el síndrome de muerte repentina infantil

Posición	Nativo - Mutación
532	F-C
941	S-N
1084	G-S
1333	S-Y
1705	F-S

1.7.1.6 PARALIZACIÓN AURICULAR 1 (ATRST1)

La paralización auricular es una arritmia extraña que se encuentra genéticamente determinada. En la paralización auricular 1 se encontró que presenta una mutación del ácido aspártico por una asparagina en la posición 1275 (D1275N) presentando ausencia de la actividad mecánica y eléctrica en el área auricular; así como bradicardia y bajo porcentaje de formación y conducción del potencial de acción [21, 58].

1.7.1.7 CARDIOMIOPATÍA DILATADA 1E (CMD1E)

La cardiomiopatía dilatada está caracterizada por la mutación de un ácido aspártico a asparagina en la posición 1275 (D1275N). Causando defecto en la conducción eléctrica cardíaca (síndrome Lenegre) provocando dilatación ventricular y disfunción sistólica, fallo cardíaco congestivo, disfunción del nodo sinusal, taquiarritmia supraventricular, decaimiento en la conducción intraventricular y disminución en la conducción atrioventricular progresiva (AV), dilatación atrial hacia la progresión y disfunción del ventrículo derecho, todo esto produce arritmia [21, 59].

1.7.1.8 FIBRILACIÓN ATRIAL FAMILIAR 10 (ATFB10)

La fibrilación atrial es la arritmia cardíaca más común en la práctica clínica, también es causada por mutaciones en el canal de sodio dependiente de voltaje 1.5 (**Tabla 12**) [21, 60].

Tabla 12. Residuos aminoacídicos que al estar mutados en el hNav1.5 causan fibrilación atrial familiar 10.

Posición	Nativo - Mutación
138	M-I
428	E-K
445	H-D
470	N-K
572	A-D

655	E-K
1053	E-K
1131	T-I
1826	R-C
1951	V-M
1987	N-K

1.7.2 MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES

El canal $Na_v1.5$ presenta diversas modificaciones postraduccionales (**Tabla 13**) [21].

Tabla 13. Modificaciones postraduccionales que se llevan a cabo en el $hNa_v1.5$.

Residuo	Posición	Modificación
Asparagina	214, 283, 288, 291, 318, 328, 740, 803, 864, 1365, 1374, 1380, 1388 y 1736	Glicosilación
Cisteína	280-335, 906-915	Puentes Disulfuro
Serina	1503	Fosforilación ³ por PKC

1.8 CANAL DE SODIO DEPENDIENTE DE VOLTAJE DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL ($hNa_v1.6$)

El canal de sodio dependiente de voltaje $Na_v1.6$, es codificado en el gen *SCN8A*, encontrándose en el cerebro humano. Su función está relacionada en la generación del potencial de acción, disparo repetitivo neuronal; tiene una localización subcelular en el segmento inicial del axón (AIS) en los nodos de Ranvier [61]

1.8.1 CANALOPATIAS

El canal de sodio dependiente de voltaje 1.6 ($Nav1.6$) se encuentra en el sistema nervioso central (SNC). La pérdida de función del canal provoca la generación de enfermedades que son: deterioro cognitivo con o sin ataxia cerebelosa (CIAT), encefalopatía epiléptica en infancia temprana 13 (EIEE13) y convulsión infantil familiar benigna 5 (BFIS5)

1.8.1.1 DETERIORO CONGNITIVO CON O SIN ATAXIA CEREBELOSA (CIAT)

El deterioro cognitivo con o sin ataxia cerebelosa (CIAT) está caracterizado por disminución del desarrollo cognitivo y motor, ambliopía estrabismática y nistagmo; resultando en déficit de atención. Lo que provoca todos estos problemas es la evidencia de que en el canal de sodio dependiente de voltaje ocurre una deleción de un nucleótido de timina, provocando que el marco

³ La Fosforilación del residuo aminoacídico Serina1503 es altamente conservado, este residuo aminoacídico se encuentra en un asa citoplasmática; esta fosforilación se llevada a cabo por PKC dando como resultados la disminución de la inactivación del canal de sodio y la reducción de los picos de corriente de los canales.

de lectura se corra y no codifique el residuo aminoacídico de prolina en la posición 1719 que se encuentra en el asa reentrante entre los dominios III y IV [21, 62].

1.8.1.2 ENCEFALOPATIA EPILEPTICA EN INFANCIA TEMPRANA 13 (EIEE13)

La encefalopatía epiléptica se refiere a una condición severa donde la actividad epiléptica en si misma puede contribuir a la disfunción motora y cognitiva. Las mutaciones (**Tabla 14**) que se presentan en el canal de sodio dependiente de voltaje 1.6 (Nav1.6) provocan encefalopatía, episodios de convulsiones; además de que estas mutaciones también provocan ataxia, bradicardia y apnea [21, 63].

Tabla 14. Residuos aminoacídicos que al estar mutados en el hNav_v1.6 causan encefalopatía epiléptica en infancia temprana 13.

Posición	Nativo - Mutación
58	D-N
210	F-L
215	N-R
216	V-D
223	R-G
260	F-S
307	N-S
407	L-F
408	A-T
410	V-L
479	E-V
662	R-C
767	T-I
846	F-S
850	R-Q
890	A-T
960	V-D
978	S-G
984	N-K
1279	L-V
1323	A-S
1327	I-V
1331	L-V
1451	G-S
1466	N-K; N-T
1475	G-R
1479	I-V
1592	V-L
1596	S-C
1605	I-R
1617	R-Q

1650	A-T
1754	F-S
1768	N-D
1801	Q-E
1865	L-P
1872	R-L; R-Q; R-W
1877	N-S

1.8.1.3 CONVULSION INFANTIL FAMILIAR BENIGNA 5 (BFIS5)

La convulsión infantil familiar benigna es causada por convulsiones afebriles focales; Gardenella y colaboradores proponen que este tipo de convulsiones responden bien al tratamiento y pueden desaparecer o parar después de meses con una buena medicación. Los pacientes muestran una disminución en el desarrollo psicomotor y en algunas ocasiones sufren de episodios cortos de epilepsia en algún momento de la vida. Esta patología es provocada por la mutación E1483K que se encuentra en la partícula de inactivación, y la mutación N1877S en la porción del C-terminal [21, 64, 65].

1.8.2 MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES

El Nav1.6 presenta diferentes modificaciones postraduccionales (**Tabla 15**). También puede interacciona con las subunidades beta -1 (SCN1B), beta-2 (SCN2B), beta -3 (SCN3B) y beta -4 (SCN4B). presentando solo las subunidades beta -2 y -4 que se unen mediante puentes disulfuro [21].

Tabla 15. Modificaciones postraduccionales que se llevan a cabo en el hNav1.5.

Residuo	Posición	Modificación
Asparagina	215, 289, 295, 308, 326, 1358, 1372 y 1383.	Glicosilación
Cisteína	281-333, 944-953,	Puente Disulfuro
Serina	1497	Fosforilación ⁴ por PKC

1.9 ANESTESICOS LOCALES

Los anestésicos locales fueron introducidos a la clínica hace un siglo para el control de dolor quirúrgico. Ellos continúan siendo importantes para la analgesia local y regional, así como también por su acción como antiarrítmicos cardiacos. Su blanco biomolecular son los canales de sodio dependientes de voltaje, teniendo un sitio de unión dentro del poro del canal. Además de las arritmias cardiacas, el canal de sodio juega un importante papel en muchos

⁴ La Fosforilación del residuo aminoacídico Serina1497 es altamente conservado, este residuo aminoacídico se encuentra en un asa citoplasmática; esta fosforilación se llevada a cabo por PKC dando como resultados la disminución de la inactivación del canal de sodio y reducción de los picos de corriente de los canales.

procesos fisiopatológicos, incluyendo dolor y epilepsia. Los anestésicos locales previenen el dolor mediante la interrupción del potencial de acción, disminuyendo el flujo de iones sodio que pasan directamente por el canal de sodio dependiente de voltaje. En las nueve isoformas de los canales de sodio dependientes de voltaje, se encuentran los residuos aminoacídicos que pertenecen a los segmentos S6 de cada dominio (DI-DIV). Los cuales forman el sitio de unión a anestésicos locales (LABS) [66].

1.9.1 PROPIEDADES GENERALES DE LOS ANESTESICOS LOCALES

Los anestésicos locales bloquean el poro del canal de sodio, entrando a su sitio de unión principalmente o enteramente desde el citoplasma o través del poro. Ellos contienen dominios hidrofóbicos e hidrofílicos que están separados por un intermediario que contiene un grupo amida o un grupo éster (**Figura 5**) [67].

El dominio hidrofóbico incluye un anillo aromático, que puede estar sustituido por dos grupos metilos colocados en las posiciones 2 y 6 del anillo aromático; y la parte hidrofílica que es usualmente una amina terciaria, algunas veces sola y otras veces en un anillo de piperidina, que puede contener sustituyentes alifáticos en el grupo amino. El pKa de la amina terciaria de los anestésicos locales se encuentra entre 8 y 9. A pH fisiológico (7.4), se muestra protonada y soluble en membranas lipídicas, también tiene acceso al interior del poro desde el exterior [67] (**Figura 5**).

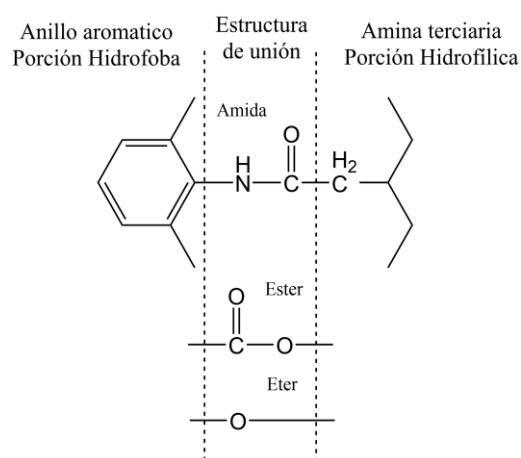


Figura 5. Estructura de los anestésicos locales [67]

El mapeo del sitio de unión de anestésicos locales (AL) en los canales de sodio fue reportado por primera vez en 1994 por el grupo de Catterall usando una técnica de escaneo de alanina [68]. Catterall y colaboradores encontraron que en el segmento 6 del dominio IV (DIVS6) hay dos residuos aminoacídicos aromáticos (fenilalanina en la posición 13, y una tirosina en la posición 20) que son críticos para la unión de los anestésicos locales. En particular, la afinidad de unión de los anestésicos locales hacia el estado de inactivación de los canales de sodio fue drásticamente reducida cuando cada uno de los dos residuos se sustituyeron por alanina. Al mutarse, sin embargo, tiene menos efectos. Mostrando una disminución de la afinidad de unión de los anestésicos locales. Es interesante notar que esos dos residuos aromáticos son conservados en las nueve isoformas α [68].

Estudios más detallados han demostrado que el residuo de fenilalanina es el residuo más importante para la unión de los anestésicos locales. La sustitución de un residuo de lisina, el cual induce una carga positiva en esta posición de la fenilalanina, reduce drásticamente las afinidades de unión de los anestésicos locales, probablemente debido a la repulsión entre carga y carga que tiene el residuo de lisina y la porción amina protonada. La incorporación de derivados de fenilalanina no naturales mostró la interacción con la porción de la amina terciaria de los AL (carga positiva o protonada) a través de una interacción π [68].

El sitio de unión a anestésicos locales desde el mapeo inicial del receptor sugiere que la región DIVS6 es la principal para la unión a los anestésicos locales, esta noción se basa en la probabilidad de que el C-terminal de los cuatro segmentos S6 actúa como una compuerta de activación y pueden alinearse en la proximidad. Subsecuentemente, el mapeo del receptor ha identificado un número de residuos en los segmentos DIS6 y DIIS6 que son también críticos para la unión de los anestésicos locales [68].

1.9.2 EL BLOQUEO DEL CANAL INACTIVADO Y EL RECEPTOR DE LOS ANESTÉSICOS LOCALES

Los anestésicos locales aparentan unirse más rápido al estado de inactivación con una alta afinidad comparada al estado cerrado. La evidencia sugiere que los segmentos S6 de los canales de sodio dependientes de voltaje contienen motivos estructurales cruciales que están

envueltos en el canal abierto, en la inactivación rápida, y en la inactivación lenta. La información del bloqueo de las corrientes de sodio por los anestésicos locales indica la presencia de una dinámica en el sitio de unión de estos, probablemente rodeando la cavidad interior del canal de sodio. De acuerdo con la apertura de la compuerta de inactivación y durante el movimiento hacia afuera de los segmentos S4 deben tener un efecto significativo en la conformación que toma el receptor de los anestésicos locales. En adición, se demostró que la fenilalanina (posición 13 del segmento D4S6) para el sitio de unión fue crítico para la inactivación rápida. Sustituciones de varios residuos, creado mutantes en DIS6, DIIS6, y DIIS6 generan corrientes de sodio deficientes de inactivación durante la despolarización. Este descubrimiento sugiere la posibilidad de que la compuerta de inactivación en el receptor puede estar también localizada en la región múltiple S6 (C-terminal). Por lo tanto, es probable que el sitio de unión a anestésicos locales con los segmentos S6 module lentamente la compuerta de voltaje del canal de sodio [66, 68].

1.9.3 LOS ANESTÉSICOS LOCALES BLOQUEAN EL CANAL ABIERTO

Ciertamente a lo que se menciona en el párrafo anterior, hay evidencia directa de que el bloqueo que ejercen los anestésicos locales al canal de sodio en conformación abierta es con una alta afinidad. El canal de sodio dependiente de voltaje solo se abre una vez por un corto tiempo (alrededor de 0.5 ms) y con una inactivación rápida después de la despolarización. Sin embargo, al prolongar el tiempo de apertura usando químicos, como la cloramina T, para estudiar el bloqueo del canal abierto, observaron que hay una alta afinidad de interacción entre el canal abierto y los anestésicos locales. Otras evidencias demuestran que la unión de anestésicos locales a los canales de sodio es dependiente a la inactivación del canal. Por ejemplo, se encontró que la lidocaína bloquea el canal abierto con una afinidad menor que el canal de sodio en estado inactivado [67].

1.9.4 VÍAS HIDROFÍLICAS E HIDRÓFOBAS PARA LOS ANESTÉSICOS LOCALES

Desde que se conoce que el sitio de unión a anestésicos locales está situado dentro del canal de sodio y que los anestésicos locales se encuentran permanentemente cargados; las aplicaciones clínicas de los anestésicos locales requieren que la parte de la amina terciaria penetre a la membrana en una forma neutra. La forma neutra puede entrar o salir del sitio de unión que se encuentra en los segmentos transmembrana S6 del canal de sodio en un ambiente lipídico. De cómo la vía hidrofóbica atraviesa la membrana, no se ha definido y la significancia de esta vía hidrofóbica directa no ha sido evaluada, pero puede jugar un papel importante para los anestésicos locales neutros, ejemplo benzocaína. Después del paso a través de la membrana, los anestésicos locales neutros pueden moverse a la superficie intracelular y volverse anestésicos locales protonados, la protonación permite el acceso al sitio de acción por la vía hidrofílica intracelular. Esto demuestra que la forma protonada de los anestésicos locales es más potente en el bloqueo de los canales de sodio que la forma neutra [66, 67].

1.9.5 MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS ANESTÉSICOS LOCALES

A través de ciertos residuos, existe evidencia de que los anestésicos locales durante su actividad se unen a la fenilalanina 1579 (Phe1579), tirosina 1586 (Tyr1586) en el DIVS6; leucina 1280 (Leu1280) en DIIS6, y asparagina 434 (Asn434) en DIS6; con la fenilalanina 1579 (Phe1579) es la que contribuye con la energía de interacción con el canal Nav1.4 [66].

1.9.6 BUPIVACAÍNA

La bupivacaína es un anestésico local usado en la actualidad (**Figura 6**), su estructura es similar a la lidocaína, siendo diferente en la porción hidrofílica, puesto que tiene una estructura butilpiperidina [67]; dentro de sus propiedades fisicoquímicas: su nombre IUPAC es 1-Butil-N-(2,6-dimetilfenil)-2-piperidincarboxamida, su fórmula química es $C_{18}H_{28}N_2O$ (**Figura 6**), su peso molecular 288.4277 g/mol, se une a proteínas en un 95 % [69], tiene un Log P 3.41 en forma de sal [71], su pKa es de 8.1 [71, 72], superficie de área polar (PSA) es de 22.7-25.4 Å², área de superficie no polar (nPSA) es de 537-566 Å². En la clínica, bupivacaina es usada como una mezcla racémica; de este modo bupivacaina tiene dos

enantiómeros (R- y S-) [73, 74], implicando que bupivacaína sea usado en pocos tratamientos.

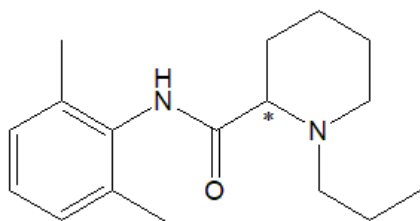


Figura 6. Estructura de R- y S-bupivacaína, el asterisco muestra el carbono quiral [69].

1.9.7 LIDOCAÍNA

La lidocaína se comenzó a usar en la clínica hace 60 años, siendo uno de los anestésicos locales más usados; por sus efectos también es empleado en el tratamiento de arritmias ventriculares. Dentro de sus propiedades fisicoquímicas, su nombre químico IUPAC es 2-(Dietilamino)-N-(2,6-dimetilfenil)-acetamida, su fórmula química es $C_{14}H_{22}N_2O$ (**Figura 7**), tiene un peso molecular de 234.1732 g/mol, presenta un volumen de distribución 0.7-2.7 L/Kg, se une a proteínas en un 60-80 % [76], tiene un Log P de 2.359 [77], su pKa 8.01, área de superficie polar (PSA) es de 48.8 \AA^2 y el área de superficie apolar (nPSA) es de 422 \AA^2 . El mecanismo de acción de lidocaína es ampliamente estudiado, pero dentro de los principales esta su interacción con los canales de sodio dependientes de voltaje. La lidocaína se une en una relación 1:1 respecto al canal [78], presentando una IC_{50} de $700 \mu\text{M}$ [79]. Se puede proponer que este anestésico local se une al canal de sodio disminuyendo la cantidad de iones que pasan a través de él, aumentando el periodo de recuperación y disminuyendo el periodo refractario; debido a esto es usado para el tratamiento de arritmias y dolor [80].

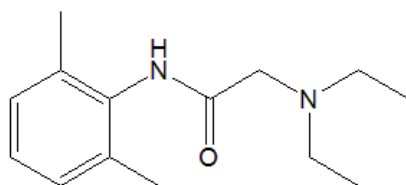


Figura 7. Estructura de lidocaína [76].

1.10 FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS

Todos los fármacos que se encuentran en el mercado para el tratamiento de arritmias fueron desarrollados en ausencia del conocimiento de los efectos que las moléculas específicas podrían generar. Sin embargo, el uso de estos fármacos y para la caracterización de los efectos de estos, se procedió con la combinación de experimentos *in vitro* e *in vivo* ayudando al mejoramiento de estructuras y como consecuencia a la generación de nuevos fármacos.

1.10.1 CLASIFICACIÓN DE LOS FÁRMACOS ANTIARRÍTMICOS

Hay un sistema de clasificación para los fármacos antiarrítmicos, el esquema Vaughan-Williams inicialmente propuesto en 1971 [77], este sistema muestra una clasificación de los fármacos de acuerdo a los canales que se unen o bloquean en la membrana celular (véase **Tabla 16**).

Clase I: Bloquea los canales de sodio disminuyendo la velocidad de conducción.

Clase II: Fármacos que bloquean los receptores adrenérgicos.

Clase III Fármacos que bloquean los canales de potasio e incrementan los periodos refractarios.

Clase IV: Fármacos que bloquean los canales de calcio y afectan las áreas en las cuales la primera vía de despolarización son los canales de calcio (ejemplo nodos SA y AV).

Tabla 16. Clasificación sistemática Vaughan-Williams

Clase I fármacos que se unen al canal de sodio
Clase IA. Conducción moderadamente lenta y prolongación en la duración del potencial de acción
Quinidina
Procainamida
Disopiramida
Clase IB Conducción lenta mínima y duración corta del potencial de acción
Lidocafina

Mexiletina
Tocainida
Fenitoína
Clase IC. Conducción lenta y duración mínima del potencial de acción
Flecainida
Encainida
Propafenona
Moricizina
Clase II Fármacos beta bloqueadores
Clase III Prolongación en la duración del potencial de acción
Amiodarona
Sotalol
Ibutilida
Dofetilida
Clase IV Fármacos bloqueadores de canales de calcio

1.10.2 MEXILETINA

Mexiletina 1-(2,6-dimetilfenoxi)-2-propanamina (**Figura 8**), su fórmula química es $C_{11}H_{17}NO$, su peso molecular 179.2588 g/mol, se une a proteínas en un 50-60 %, presenta un Log P 2.15, y su pKa es de 9.2 [78]. Mexiletina es un fármaco conocido de la clase de los antiarrítmicos IB. Este fármaco actúa de forma rápida cuando los iones sodio entran a la célula, es decir, cuando se lleva a cabo la fase de despolarización [79]. Es usado primariamente para el tratamiento de arritmias ventriculares, pero también es usado contra el dolor crónico y miotonía. Es de gran uso clínico por su habilidad de bloquear los canales de sodio de forma más potente cuando ocurren grandes procesos del potencial de acción (bloqueo fásico⁵) [80]. Esto ocurre en enfermedades más que en situaciones de excitabilidad fisiológica (bloqueo tónico⁶). Tiene una vida media de 8-12 h, Presenta una IC50 500 μ M en

⁵ El bloqueo fásico o también denominado “uso dependiente” es cuando el fármaco actúa sobre el canal de sodio cuando se está llevando a cabo el potencial de acción.

⁶ El bloqueo tónico es cuando el fármaco actúa cuando el potencial de acción está en reposo.

Nav1.4. Y sufre una mínima biotransformación hepática de primer paso [81]. La Mexiletina nos permite estudiar las relaciones estructura-actividad de manera cuantitativa (numérica), gracias a la disposición de 5 derivados y sus datos experimentales publicados por Desaphy y cols (2012) [82].

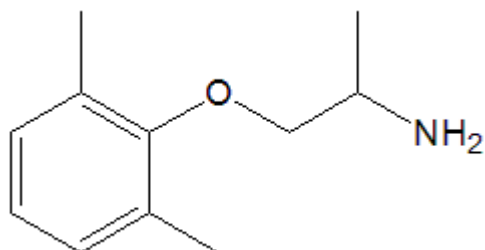


Figura 8. Estructura de Mexiletina [83]

2. ANTECEDENTES

Mediante el registro electrofisiológico de canales iónicos expresados en sistemas heterólogos se puede caracterizar el efecto de un fármaco, por ejemplo, bloqueo tónico de la corriente (**Figura 9A**), a partir de este estudio experimental se requiere de simulaciones de *docking* para predecir el sitio de unión del fármaco al canal, es decir el residuo o residuos que contribuyan esencialmente a la unión fármaco-receptor. Dicha predicción *in silico* se corrobora mediante la mutagénesis sitio dirigida y el posterior registro electrofisiológico, donde la sustitución de un residuo esencial disminuirá significativamente el efecto del fármaco, en este caso la comparación de las potencias de bloqueo corrobora que la fenilalanina del sitio de los anestésicos locales es crítica para el bloqueo con lidocaína en canales $\text{Na}_v1.4$ (**Figura 9B**).

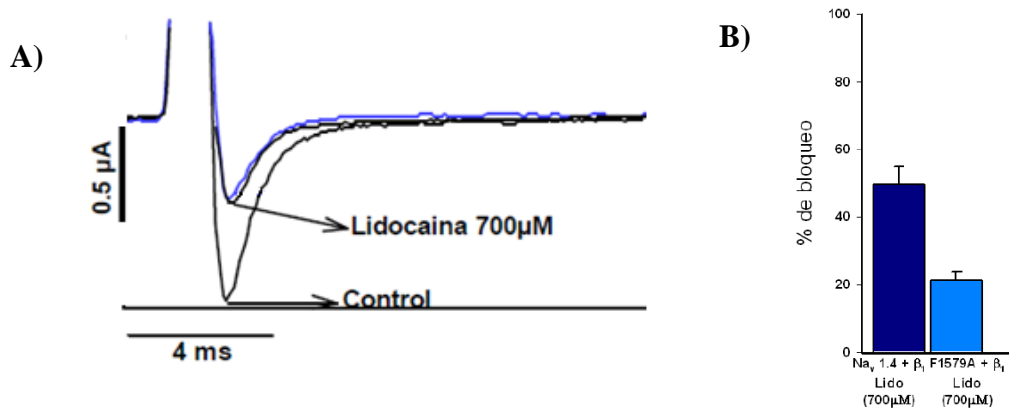


Figura 9. **A)** Trazos representativos de la corriente de Na^+ (I_{Na}) registrada en ovocitos de *X. laevis* (a un potencial de -20 mV) que fueron transfectados con la isoforma $\text{Na}_v1.4$, en ausencia y en presencia de lidocaína. **B)** I_{Na} normalizada en presencia de $700 \mu\text{M}$ de lidocaína registrada en ovocitos que expresan canales $\text{Na}_v1.4$ nativo y la mutante F1579A (sitio de anestésicos locales) [84].

3. JUSTIFICACIÓN

Los canales iónicos Na_v son vitales en diferentes procesos biológicos, como la comunicación celular, la secreción, la contracción del tejido muscular y la homeostasis [85]. Su disfunción provoca un gran número de enfermedades que incluyen arritmias cardíacas, epilepsia, dolor neuropático e inflamatorio, parálisis periódica, migraña y cáncer [86]. La elucidación del mecanismo de acción de fármacos que afectan los canales de sodio dependientes de voltaje precisa de la combinación de métodos *in silico* e *in vitro*, incluyendo dentro de los primeros, la generación de modelos moleculares y simulaciones de acoplamiento molecular; y en los segundos, la realización de registros electrofisiológicos y mutaciones sitio dirigidas.

4. HIPOTESIS DE TRABAJO

Se pueden correlacionar las diferencias estructurales de los anestésicos locales por modelado computacional con las actividades biológicas experimentales de la literatura (inhibición del canal de sodio medido por IC_{50}).

5. OBJETIVO GENERAL

Generar modelos atomísticos de la interacción (interferencia molecular computacional) ligando-receptor entre diferentes moduladores del canal de sodio de mamífero mediante el uso de simulaciones de acoplamiento molecular (*in silico docking*). Estos modelos se correlacionan con valores de IC_{50} para explicar las diferencias a nivel molecular.

5.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- a) Realizar un alineamiento de las secuencias aminoacídicas de las nueve isoformas del canal de sodio.
- b) Generar mediante modelado por homología las isoformas de los canales de sodio dependientes de voltaje $\text{Nav}1.4$, $\text{Nav}1.5$ y $\text{Nav}1.6$.

- c) Preparar modelos 3D y correr simulaciones de acoplamiento molecular (*docking*) entre los ligandos (fármacos) y receptores (canales Na_v1.4 musculo esquelético, 1.5 músculo cardiaco y 1.6 SNC),
- d) Hacer estudios de relación cuantitativa estructura cuantitativa (QSAR) de mexiletina y análogos con el fin de validar modelos de interacción entre los ligandos y los canales de Na⁺.

6. METODOLOGIA

6.1 ALINEAMIENTO DE SECUENCIAS

El alineamiento de secuencias es una herramienta bioinformática, el procedimiento fundamental es ayudar a comparar dos secuencias biológicas (ADN, ARN o proteínas). Este procedimiento sirve para identificar y cuantificar las regiones conservadas de motivos funcionales y realizar análisis filogenéticos entre ambas secuencias, a esto se le denomina “homología”. La homología es la similitud en estructura o posición que indica un origen en común [87]

Existen dos tipos de alineamientos:

El algoritmo BLAST (*basic local alignment search tool*) es una herramienta de alineamiento básico local, es útil para comparar secuencias de diferente longitud, el modo de uso es principalmente en bancos de datos, debido a que busca secuencias relacionadas con áreas conservadas en la secuencia. En este tipo de algoritmo existen tres tipos de matrices para realizar el alineamiento, para lo cual se debe de saber la secuencia aminoacídica y la función que tiene la proteína, sabiendo esto se puede inferir que matriz usar debido a que cada una trabaja mejor con proteínas que no están relacionadas (BLOSUM-42), proteínas que están medianamente relacionadas (BLOSUM-62) y muy relacionadas, tanto estructural como funcional (BLOSUM-80) [87].

El algoritmo Needleman-Wunsch es una herramienta bioinformática que ayuda a comparar secuencias con un mayor grado de similitud (longitud), algunas veces este tipo de algoritmo

puede considerar la similitud de estructuras secundarias, debido a esto, este tipo de algoritmo no es usado en bases de datos [87].

6.2 MODELADO POR HOMOLOGÍA

El estudio de una proteína en su forma funcional es uno de los problemas que más se presentan en la biología molecular. En la actualidad el estudio de una proteína se apoya con la generación de modelos en tercera dimensión (3D), estos modelos ayudan a proporcionar la estructura en ausencia de experimentos *in vitro*. Para la generación de modelos por homología, es necesario tener: 1) la secuencia de interés del blanco biomolecular (*target*) y 2) la secuencia y estructura tridimensional de la plantilla (*template*). Existen varios programas en la web que ayudan a evaluar los modelos: CAMEO, CASP [88 - 91].

El modelado consiste en cuatro pasos [88]:

- 1) Revisión de plegamiento: Identifica similitudes entre un blanco y una estructura plantilla.
- 2) Realizar un alineamiento de la secuencia del blanco biomolecular y de la plantilla.
- 3) Construcción del modelo basado en el alineamiento en la plantilla elegida.
- 4) Predecir errores del modelado.

6.3 ACOPLAMIENTO MOLECULAR

El área del acoplamiento molecular surgió hace tres décadas debido a la necesidad en las áreas de la biología estructural molecular y en el diseño de nuevos fármacos [92]. El objetivo general del método *docking* es analizar la unión del ligando (fármaco) con un blanco biomolecular (receptores, enzimas, canales, proteínas), así como el sitio de unión, la orientación y la posición que el ligando toma al unirse con el sitio activo del blanco, así como dilucidar los aminoácidos que hacen posible esta interacción entre ligando-receptor. En el *docking* hay términos que se deben de conocer: El lugar de interacción entre el ligando con su receptor se llama sitio de unión (*binding site*), que describe todos los acontecimientos de unión. También se usa el termino de modo de unión (*binding mode*) que describe todas las interacciones átomo por átomo del ligando con los aminoácidos que lo rodean.

Back docking (acoplamiento hacia atrás). Es el acoplamiento de control positivo; es decir, cuando se extrae un ligando del complejo con su “receptor” conocido y se coloca en una orientación y posición aleatoria al inicio del ensayo, y al final del acoplamiento, el ligando debería situarse en su orientación y posición conocidas por observaciones cristalográficas dentro del sitio de unión.

Blind docking (acoplamiento a ciegas). Simula el acoplamiento del receptor con ligandos, cuya orientación y posición de dicho ligando en el sitio activo del receptor no se conoce por falta de estudios cristalográficos. El estudio de *docking* necesita que las moléculas a estudiar o con las que se va a experimentar, tengan una gran resolución (alta calidad de resolución del canal) para que el estudio tenga un buen resultado, así se asegura que el resultado es verídico.

El procedimiento usado para realizar los dockings fue un *blind docking*, de este modo podemos observar los sitios de afinidad que presentan los anestésicos locales por el canal de sodio. Los parámetros que se usaron fueron:

- Tomar todo el canal para realizar el cálculo, generar una caja lo suficientemente grande para que el canal quede dentro de la caja; en nuestro caso generamos una caja con dimensiones $x=128$, $y=128$, $z=128$.
- Permitir una exhaustividad de 2000, esta exhaustividad va a permitir que el programa asegure que las posiciones que arroja sean confiables.
- Hacer presentes todos los hidrógenos de los residuos aminoacídicos de los canales.
- El anestésico local debe estar protonado.
- El anestésico local debe de colocarse en el centro del canal.
- Permitir que todos los enlaces de los anestésicos locales sean rotables.

6.4 RELACIÓN CUANTITATIVA ESTRUCTURA-ACTIVIDAD (QSAR)

Es una metodología que relaciona numéricamente las estructuras químicas con las actividades biológicas de éstas (*Quantitative Structure-Activity Relationships QSAR*). Ésta reúne un conjunto de técnicas computacionales relacionadas con el diseño, cálculo de propiedades fisicoquímicas moleculares llamadas descriptores, la bioinformática y la estadística (regresión lineal múltiple) [93]. Todo esto ayuda a la predicción teórica de la

actividad biológica que permitirá el diseño de futuros fármacos. Para realizar un estudio QSAR se necesitan tres tipos de información [94,95]:

- 1) Estructura molecular de los diferentes compuestos que tengan un mismo mecanismo de acción.
- 2) Datos de la actividad biológica de cada uno de los ligandos incluidos en el estudio (DE_{50} , DL_{50} , K_i , IC_{50}).
- 3) Propiedades fisicoquímicas de los ligandos calculados por medios computacionales a partir de la estructura molecular generada de forma *in silico*..

7. RESULTADOS

En el presente trabajo se estarán usando las metodologías de alineamiento múltiple de secuencias aminoacídicas, modelado por homología, acoplamiento molecular (*docking*) y estudios de relación cuantitativa estructura actividad (QSAR).

7.1 SITIO DE UNIÓN DE ANESTÉSICOS LOCALES EN LAS ISOFORMAS DEL CANAL DE SODIO DEPENDIENTE DE VOLTAJE hNav1.4, hNav1.5 y hNav1.6

El sitio de unión de anestésicos locales (LABS) se encuentra altamente conservado en las nueve isoformas de los canales de sodio dependientes de voltaje, encontrándose en todos los segmentos S6 de cada dominio (DI-DIV) (**Figura 10**). La especie estudiada es la humana. Los residuos aminoacídicos coloreados en gris muestran el sitio de unión a anestésicos locales, los cuales se encuentran distribuidos en los segmentos S6 de los canales de sodio, en amarillo se colocan residuos aminoacídicos que son diferentes. En el segmento S6 del dominio IV se muestran en amarillo y verde los residuos aminoacídicos aromáticos (fenilalanina y tirosina) que son críticos para la interacción con los anestésicos locales y que al mutarlos se ha observado que éstos disminuyen su potencia de bloqueo.

DOMINIO DI SEGMENTO S6		DOMINIO DII SEGMENTO S6	
I424; I425; G428;		N434; L437	S1273
hNav1.1 FFVLVIFLGSF 412	hNav1.1 YLINLILAV 462	hNav1.1 FIIFGSF 1472	hNav1.1 FTLNLFIVGII 1522
hNav1.2 FFVLVIFLGSF 414	hNav1.2 YLINLILAV 463	hNav1.2 FIIFGSF 1462	hNav1.2 FTLNLFIVGII 1512
hNav1.3 FFVLVIFLGSF 413	hNav1.3 YLVNLIILAV 461	hNav1.3 FIIFGSF 1457	hNav1.3 FTLNLFIVGII 1507
hNav1.4 FFVVIIFLGSF 436	hNav1.4 YLINLILAV 486	hNav1.4 FIIFGSF 1284	hNav1.4 FTLNLFIVGII 1334
hNav1.5 FFMLVIFLGSF 402	hNav1.5 YLVNLIILAV 452	hNav1.5 FIIFGSF 1459	hNav1.5 FTLNLFIVGII 1509
hNav1.6 FFVLVIFVGSF 400	hNav1.6 YLVNLIILAV 450	hNav1.6 FIIFGSF 1453	hNav1.6 FTLNLFIVGII 1503
hNav1.7 FFVVVIFLGSF 391	hNav1.7 YLINLILAV 441	hNav1.7 FIIFGSF 1446	hNav1.7 FTLNLFIVGII 1496
hNav1.8 FFVLVIFLGSF 386	hNav1.8 YLVNLIILAV 436	hNav1.8 FIIFGSF 1407	hNav1.8 FTLNLFIVGII 1457
hNav1.9 FFIVVIFLGSF 389	hNav1.9 YLINLILAV 439	hNav1.9 FIIFGSF 1297	hNav1.9 FTLNLFIVGII 1347
			L1280; N1281
DOMINIO DII SEGMENTO S6		DOMINIO DIV SEGMENTO S6	
I782; V786		F1579; V1586	
hNav1.1 MVMVIGNLVVLNLF 987	hNav1.1 IISFLVVVNMIIA 1820		
hNav1.2 MVMVIGNLVVLNLF 978	hNav1.2 IISFLVVVNMIIA 1810		
hNav1.3 LVMVIGNLVVLNLF 979	hNav1.3 IISFLVVVNMIIA 1805		
hNav1.4 MVMVIGNLVVLNLF 797	hNav1.4 IISFLIVVNMIIA 1632		
hNav1.5 LVMVIGNLVVLNLF 934	hNav1.5 IISFLIVVNMIIA 1806		
hNav1.6 MVMVIGNLVVLNLF 972	hNav1.6 IISFLIVVNMIIA 1800		
hNav1.7 MVMVIGNLVVLNLF 963	hNav1.7 IISFLVVVNMIIA 1794		
hNav1.8 TVMVIGNLVVLNLF 885	hNav1.8 IISFLIMVNMIIA 1756		
hNav1.9 LITVIGKLVVLNLF 806	hNav1.9 IISFLIVVNMIIA 1638		

Figura 10. Alineamiento de las secuencias aminoacídicas de las 9 isoformas de los canales de sodio dependientes de voltaje, en la que se presentan los segmentos S6 de los dominios del DI-DIV. Se somborean los residuos aminoacídicos que forman parte del sitio de unión de anestésicos locales (LABS). La nomenclatura es de acuerdo con la secuencia Na_v1.4 de rata [66].

7.2 MODELAJE DEL CANAL

Se obtuvieron las tres secuencias de las isoformas de los canales de sodio de humano, con los siguientes códigos de entrada en UNIPROT: Na_v1.4 (P35499) [97], Na_v1.5 (Q14524) [98] y Na_v1.6 (Q9UQD0) [99]; posteriormente se realizó un alineamiento para quitar las porciones que no se alinean y se procedió a realizar el modelado tridimensional de las tres isoformas del canal de sodio de humano incluyendo los 6 segmentos transmembrana de cada dominio del canal usando el programa Modeller9.10 [83]. Para realizar el modelado se usaron como plantilla tres proteínas cristalizadas, dos canales de sodio bacteriales (Na_vAb y Na_vRh) y un canal de calcio dependiente de voltaje (Ca_v1.1). Con códigos de entrada de PDB (*protein data bank*) 3RVY [100], 4DXW [101] y 5GJV [102], respectivamente. Los estados de transición que los canales de sodio y el canal de calcio presentan son: preactivado (3RVY) e inactivados (4DXW y 5GJV)

La comparación entre los canales modelados y los cristalizados (**Figura 11**) se hizo mediante la superposición de los cristales y los modelados, obteniéndose diferentes valores de RMSD. Teniendo en cuenta que todos los modelos generados tienen un RMSD⁷ menor a 1 Å; existe una condición para un buen modelo, al compararse se deben obtener valores menores a 3 Å,

⁷ El RMSD (*Root Mean Square Distance* o Distancia cuadrática media) es un promedio que se obtiene al comparar estructuras químicas, modelos generados por medio *in silico*. Entre menor sea el RMSD mejor es el modelo debido a que muestra menores distancias respecto a la referencia.

mostrando de forma matemática que el modelo generado es igual al cristalizado. El porcentaje de residuos aminoacídicos modelados fue 44-48 % en los modelos generados en base a 3RVY, 45-49 % con el canal 4DXW y 61-70 % con el canal 5GJV. La identidad entre los canales cristalizados y los modelos es menor con el canal de sodio bacterial y mayor con el canal de calcio de mamífero, y esto se ve reflejado en los modelos realizados, todas estas similitudes representan que se hicieron buenos modelos (**Tabla 17**).

Tabla 17. Comparación entre los modelos generados y las plantillas. Los recuadros que se encuentran en color verde son para los modelos realizados para el canal en estado preactivado, y los recuadros que se encuentran en color amarillo son para los modelos realizados para el canal en estado inactivado.

Blancos Bio-moleculares Plantillas	Modelos (RMSD, % identidad, % similitud, % modelado, # a.a. modelados)		
	hNav1.4 1834 a.a. de longitud	hNav1.5 2016 a.a. de longitud	hNav1.6 1980 a.a. de longitud
Na_vAb Homotetrámero 2011 <i>Archobacter butzleri</i> 3RVY	0.50 Å 25% Identidad 31% Similitud 48% Cobertura (Modelado) 890 a.a.	0.47 Å 24% Identidad 28% Similitud 44% Cobertura (Modelado) 890 a.a.	0.46 Å 24% Identidad 28% Similitud 45% Cobertura (Modelado) 892 a.a.
Na_vRh Homotetrámero 2012 <i>Alpha proteobacterium</i> <i>HIMB114</i> 4DXW	1 Å 25% Identidad 28% Similitud 49% Cobertura (Modelado) 911 a.a.	1 Å 25% identidad 25% Similitud 45% Cobertura (Modelado) 919 a.a.	1 Å 24% Identidad 21% Similitud 46% Cobertura (Modelado) 921 a.a.
Ca_v1.1 Heterotetrámero 2016 <i>Oryctolagus cuniculos</i> 5GJV	1 Å 26% Identidad 40% Similitud 70% Cobertura (Modelado) 1282 a.a.	1 Å 28% Identidad 35% Similitud 63% Cobertura (Modelado) 1266 a.a.	1 Å 30% Identidad 35% Similitud 61% Cobertura (Modelado) 1213 a.a.

En la **(Figura 11)** se muestra la superposición de los canales modelados (verde) y las plantillas (azul) (**Apéndice 1**)

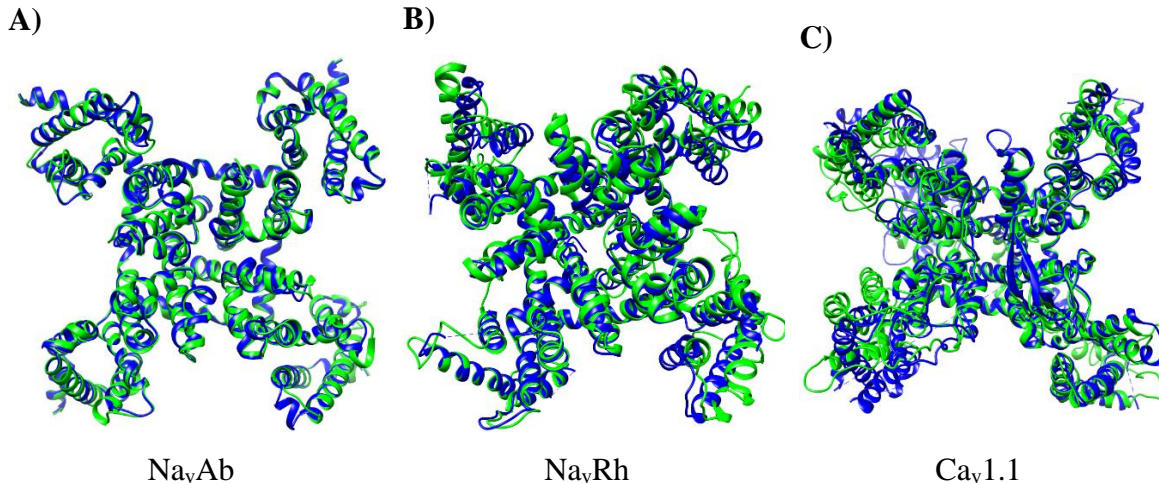


Figura 11. Superposición de los canales modelados (verde) y las plantillas obtenidas de la base de datos de proteínas cristalizadas (azul). **A)** Modelo generado con la plantilla 3RVY (estado preactivado). **B)** Modelo generado con la plantilla 4DXW (estado inactivado). **C)** Modelo generado con la plantilla 5GJV (estado inactivado).

7.3 VALIDACIÓN Y ESTUDIO DE LAS POSICIONES DE LOS AMINOÁCIDOS DE LOS CANALES DE SODIO

Para la validación de los modelos, se realizó una cuantificación del número de residuos aminoacídicos que son similares tanto en el cristal como en el modelo, y para las cadenas laterales se realizó el cálculo de posición (**Apéndice 1**). También se muestran los alineamientos entre el cristal y el modelo, los residuos aminoacídicos en la posición que se encuentran entre el cristal y el modelo, y se muestran las imágenes de la superposición de los cristales y los canales, así como también los residuos aminoacídicos que se encuentran en la misma posición. Se realizaron los cuadros de Ramachandran (**Apéndice 1**) para mostrar la conformación que tomaron los residuos aminoacídicos, teniendo en cuenta que los canales son alfa hélices transmembranales en su mayoría, así mismo, se muestran las posiciones de los residuos aminoacídicos entre los cristales y los modelos generados.

7.4 CONFORMACIONES DEL CANAL

Las conformaciones estructurales de los canales de sodio cristalizados en los estados preactivado de bacteria concuerdan con las medidas obtenidas por Bezanilla y colaboradores (2017) [102], sus experimentos fueron realizados con el canal hNav1.4. Obtuvieron mediciones entre los segmentos S4 de cada dominio mediante técnicas de inmunofluorescencia. Los datos obtenidos en nuestros modelos fueron de 45.8 Å en hNav1.4 y hNav1.5; 45.9 Å para el hNav1.6, presentado una distancia similar entre los segmentos S4 estudiados por Bezanilla (44.4 Å). Los segmentos S4 de los canales en estado inactivado presentan una mayor distancia (49.7 Å y 53.2 Å) respecto a los resultados de Bezanilla. Del mismo modo, el segmento S4 de cada dominio hace un giro sobre sí mismo provocando que la alfa hélice gire sobre sí misma y que los residuos aminoacídicos se muevan hacia la derecha, el modelo realizado a base del canal preactivado (3RVY) muestra este giro, los otros modelos en estado inactivado no presentan este giro del segmento (**Figura 12**). Este estudio de conformaciones se realizó con las tres isoformas.

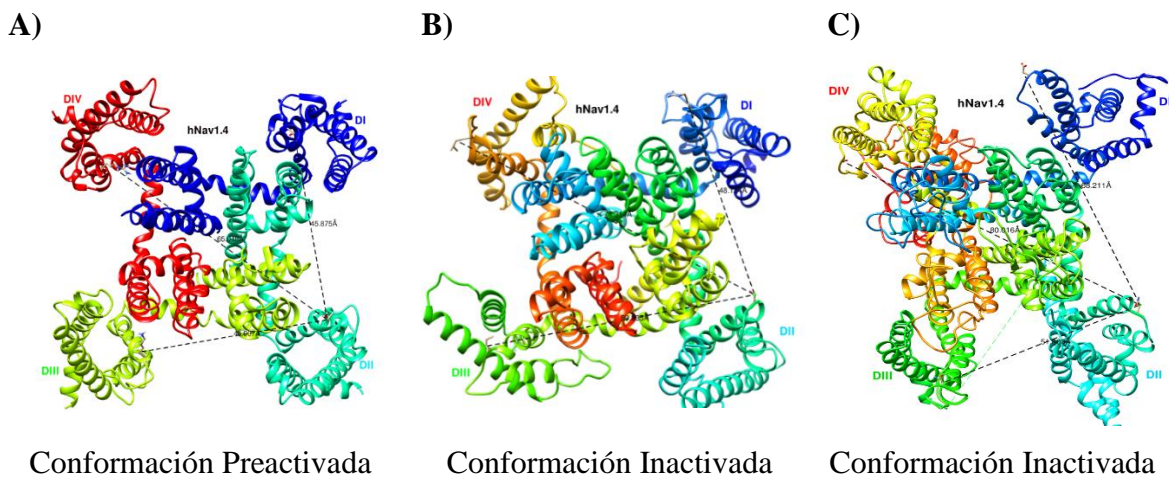


Figura 12. Representación de las distancias entre los segmentos S4 de todos los dominios confirmando que los modelos generados con la plantilla **A)** 3RVY se encuentran en conformación preactivada, mostrando distancias similares a las obtenidas por Bezanilla y colaboradores. **B)** Los modelos generados con la plantilla 4DXW se encuentran en conformación inactivada, presentan una distancia mayor a la medida por Bezanilla. **C)** Los modelos generados con la plantilla 5GJV se encuentran en conformación inactivada.

7.5 INTERACCIÓN DE LOS ANESTÉSICOS LOCALES CON LOS CANALES DE SODIO DEPENDIENTES DE VOLTAJE

Los canales se están usando en dos conformaciones (preactivado e inactivado) para observar la afinidad y el modo de unión de los anestésicos locales por los canales de sodio.

7.5.1 3RVY (canal en estado preactivado)

El cristal del canal de sodio bacteriano Na_vAb con número identificador en PDB (*proteína data bank*) 3RVY, se encuentra en la región del poro en estado cerrado, pero con los segmentos S4 de cada dominio en posición activada (preactivado) [100]. En esta posición los segmentos S5 y S6 se encuentran abiertos, de forma contraria, la parte del filtro de selectividad se encuentra cerrado. Para saber la afinidad de los anestésicos locales con el canal que resultó del modelado por homología, se procedió a realizar cálculos de acoplamiento molecular a ciegas (*blind-docking*). Los anestésicos locales usados se describen arriba (véase introducción anestésicos locales y antiarrítmicos).

7.5.2 4DXW (canal en estado inactivado)

Los canales se modelaron con base al canal cristalizado bacteriano 4DXW que se encuentra en estado inactivado, en el cual el poro está en estado cerrado, los segmentos S4 de cada dominio se encuentran dirigidos hacia la parte extracelular [101]. En esta posición los segmentos S5 y S6 se encuentran cerrados en la parte interna del poro. Para saber la afinidad de los anestésicos locales con el canal resultado del modelado por homología, se procedió a realizar cálculos de acoplamiento molecular a ciegas (*blind-docking*). Los anestésicos locales usados se describen arriba (véase introducción anestésicos locales y antiarrítmicos).

7.5.3 5GJV (canal en estado inactivado)

El cristal del canal de calcio de conejo $Ca_v1.1$ con número identificador en PDB 5GJV, se encuentra en estado inactivado mostrando a la subunidad alfa en estado cerrado y los cuatro sensores adoptando una conformación elevada [102]. Para saber la afinidad de los anestésicos locales con el canal resultado del modelado por homología, se procedió a realizar

cálculos de acoplamiento molecular a ciegas (*blind-docking*). Los anestésicos locales usados se describen arriba (véase introducción anestésicos locales y antiarrítmicos).

Los resultados de la interacción de bupivacaína y lidocaína con los canales de sodio dependientes de voltaje se describen a continuación.

7.6 ACOPLAMIENTO DE LOS ANESTESICOS LOCALES CON LOS CANALES DE SODIO

Se propone el uso de estos tres fármacos R-bupivacaína, S-bupivacaína y lidocaína. Esto para saber las diferencias en las interacciones entre bupivacaína y lidocaína que son anestésicos locales que presenta diferente afinidad por los canales.

7.6.1 R-Bupivacaína en los canales de sodio en estado preactivado (3RVY)

En la (**Figura 13A**) se representan los modelos de cada canal y la estructura de la R-bupivacaína y abajo se describe la interacción a detalle con cada canal.

7.6.1.1 hNav1.4

Nuestros resultados muestran que la R-bupivacaína interacciona por debajo del filtro de selectividad entre los dominios DIII y DIV. Interaccionando con los residuos aminoacídicos F1170, W1171, V1240, A1241, T1252, F1243, F1278, I1279, G1282, S1283, T1286, **L1287** (LABS) del dominio DIII; y **F1586** (LABS) del dominio DIV (**Figura 13B**). La R-bupivacaína presenta una interacción *cation- π* con el anillo de **F1586** (LABS) mediante el ciclo de butilpiperidina que se encuentra cargado en el átomo de nitrógeno y se coloca a una distancia de 4.2 Å. La porción hidrofóbica se posiciona entre los dominios DIV y DIII en una bolsa hidrofóbica (color verde), esta bolsa hidrofóbica está formada por los residuos aminoacídicos I1279, F1278, F1170, W1171, e interacciona directamente con el anillo de la F1278 mediante un apareamiento π - π colocándose a una distancia de 3 Å; y al posicionarse en este sitio presenta una energía de interacción de -8 kcal/mol, Forma un puente de hidrógeno entre el -H del grupo butilpiperidina con el C=O terminal de A1241 (**Tabla 18**).

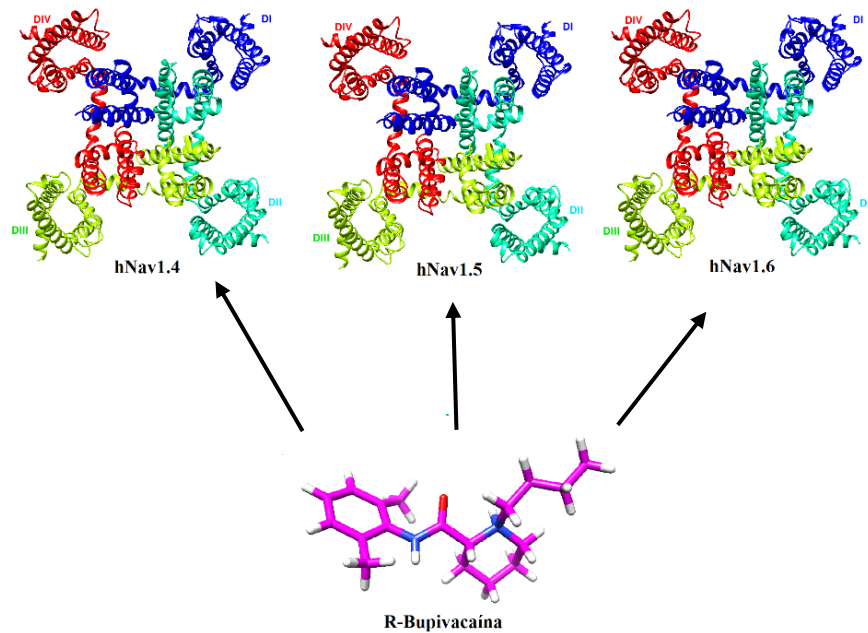
7.6.1.2 hNav1.5

La R-bupivacaína interacciona por debajo del filtro de selectividad, posicionándose entre los dominios DIII y DIV. Al colocarse en este lugar, R-bupivacaina orienta su grupo butilpiperidina cargado hacia la **F1760** del LABS posicionándose a una distancia de 5 Å, e interaccionando con la bolsa hidrofóbica que se localiza entre los dominios DIII y DIV; los residuos aminoacídicos que interactúan con R-bupivacaína son S1458, T1461, G1457, L1338 y W1345. Estos dos últimos son los que interaccionan con el anillo aromático de R-bupivacaína (**Figura 13C**), forma dos puentes de hidrógeno, el primero entre el -H del butilpiperidina con el -OH de T1461, y el segundo entre el -NH del grupo amida (grupo de unión) con el -OH de T1461; al posicionarse en este sitio presenta una energía de interacción de -7 kcal/mol (**Tabla 18**).

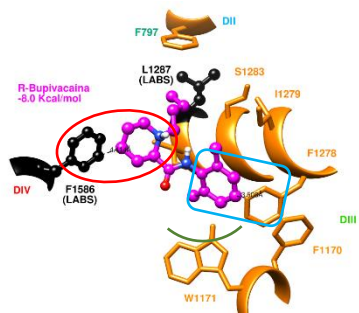
7.6.1.3 hNav1.6

La R-bupivacaína interacciona por debajo del filtro de selectividad, y se posiciona entre los dominios DIII y DIV. Al posicionarse en este sitio interacciona con C1334, F1337, W1338, V1409, A1410, F1412, F1453, I1454, F1456, G1457, S1458, F1460, T1461 y L1464 del dominio DIII; **F1754** (LABS) del dominio DIV (**Figura 13D**). R-bupivacaína orienta su porción hidrofóbica hacia el filtro de selectividad e interacciona en un área hidrófoba conformada por W1338, V1409, A1410, F1412, F1453 y I1454. La porción hidrofílica interacciona hacia el fondo del canal con los aminoácidos L1464, T1461, F1460, forma un puente de hidrógeno entre el -H del grupo butilpiperidina y el -OH T1461, el grupo amida interacciona formando un puente de hidrógeno entre -NH del grupo amida con el O=C carboxilo terminal de G1457. Y al posicionarse en este sitio presenta una energía de interacción de -8 kcal/mol (**Tabla 18**).

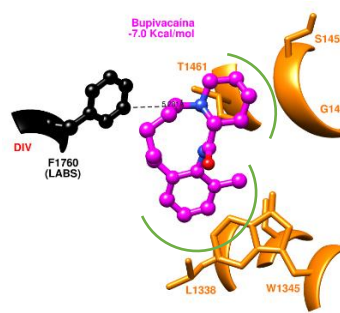
A)



B) hNav_v1.4



C) hNav_v1.5



D) hNav_v1.6

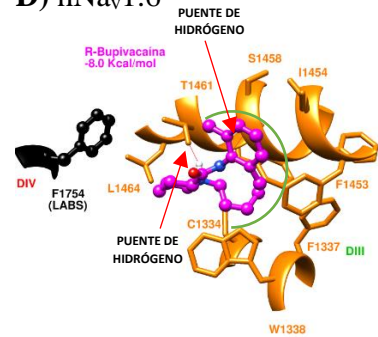


Figura 13. A) Representación de la interacción de R-bupivacaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación preactivada **B)** R-bupivacaína interactúa con el canal hNav_v1.4 en el sitio de unión del LABS. Presenta una interacción *cación-π* (círculo en rojo) con **F1578** (LABS), interactuando de forma hidrofóbica (curva verde) con los residuos aminoacídicos del dominio DIII y presenta un apareamiento π - π con F1278 (cuadro en azul). **C)** R-bupivacaína en el canal hNav_v1.5 interactúa cerca del LABS y se orienta hacia el dominio DIII; la butilpiperidina se orienta hacia el fondo del canal presentando interacciones hidrofóbicas con S1458, T1461, G1457, L1338 y W1345 (color verde). **D)** R-bupivacaína interactúa en el canal hNav_v1.6 y se orienta hacia un área hidrofóbica que se encuentra en el dominio DIII (color verde), forma dos puentes de hidrógeno con residuos aminoacídicos del dominio DIII con el grupo la estructura de unión de la R-bupivacaína.

Tabla 18. Recopilación de los datos de las interacciones de R-bupivacaína con los canales de sodio en estado preactivado.

Parámetro	hNav1.4	hNav1.5	hNav1.6
Energía de interacción (kcal/mol)	-8	-7	-8
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	11	7	11
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	4	5	8
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	19	16	17
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	11	13	16
Distancia entre el anestésico local con la lisina del DEKA (Å)	34	15	15
Número de puentes de hidrógeno formados	1	2	2
Número de residuos aminoacídicos que permiten la interacción hidrofoba	12	10	14

R-bupivacaína presenta interacciones más estables en hNav1.4 y hNav1.6, debido a que la porción aromática se orienta hacia el dominio DIII mostrando mayores distancias hacia la cadena lateral de la fenilalanina del LABS. En el hNav1.5 se coloca más cerca de la fenilalanina del LABS, pero presenta una energía de unión más desfavorable a causa de que orienta sus porciones hidrofílica e hidrofóbica hacia el dominio DIII.

7.6.2 S-bupivacaína en los canales de sodio en estado preactivado (3RVY)

En la (**Figura 14A**) se representan los modelos de cada canal y la estructura de la S-bupivacaína y abajo se describe la interacción a detalle con cada canal.

7.6.2.1 hNav1.4

Se determinó que la S-bupivacaína interacciona por debajo del filtro de selectividad y con los dominios DIII y DIV, lo cual está de acuerdo con los resultados obtenidos por Tikhonov y Zhorov en el 2017 [97]; interaccionando con los residuos aminoacídicos A1241, T1242, F1243 del dominio DIII; y I1532, T1533, T1534, S1535, I1582, S1585, F1586, V1589, Y1593 del dominio DIV. La S-bupivacaína interacciona con la cadena lateral de la **F1586** del LABS colocándose a una distancia de 3.6 Å y presenta una interacción *cación- π* con el anillo de butilpiperidina que es la porción hidrofílica de la molécula; del mismo modo, forma un puente de hidrógeno entre el grupo O=C del carboxilo terminal de la parte hidrofóbica del residuo aminoacídico T1242 (**Tabla 19**); al colocarse en esta posición presenta una energía de interacción de -7 kcal/mol (**Figura 14B**).

7.6.2.2 hNav1.5

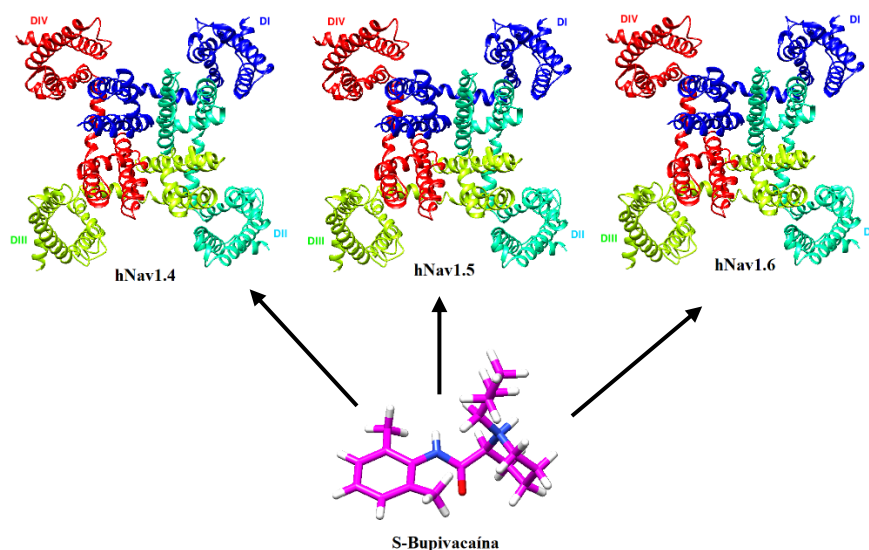
La S-bupivacaína presenta una mayor afinidad al canal de sodio dependiente de voltaje 1.5, se posiciona por debajo del filtro de selectividad entre los dominios DIII y DIV, interaccionando con los residuos aminoacídicos A1416, T1417 y F1418 del dominio DIII; y con I1707, T1708, T1709, S1710, I1756, S1759, **F1760** (LABS), V1763 y **Y1767** (LABS) del dominio DIV (**Figura 14C**). La s-bupivacaína se posiciona a una distancia de 3.7 Å, y de tal forma que su grupo butilpiperidina interacciona de forma *cación- π* con **F1760** del LABS; forma un puente de hidrógeno entre -NH del grupo butilpiperidina con O=C de T1417, la porción hidrofóbica se orienta hacia la interface que se forma por los dominios DI y DIV, al posicionarse en este sitio de unión, presenta una energía de interacción de -8 kcal/mol (**Tabla 19**).

7.6.2.3 hNav1.6

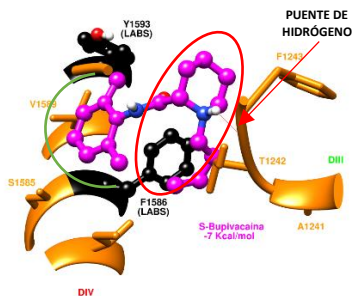
La s-bupivacaína interacciona por debajo del filtro de selectividad, se posiciona entre los dominios DIII y DIV y ligeramente orientado a la vía de permeación, La s-bupivacaína interacciona con los residuos aminoacídicos V403, I406 y L407 del dominio DI; L969 y F972 del dominio DII, T1455, L1456 y F1459 del dominio DIII; F1754, V1758, Y1761 y I1765

del dominio DIV. La s-bupivacaína presenta una interacción π - π con **F1754** LABS colocándose a una distancia de 3.2 Å, la nube de densidad electrónica permite la interacción con T1455, F1459 del dominio DIII (**Figura 14D**). La porción hidrofílica se orienta hacia los dominios DI y DII. Presentando una interacción catión- π con **Y1761** del LABS colocándose a una distancia de 3.3 Å (**Tabla 19**).

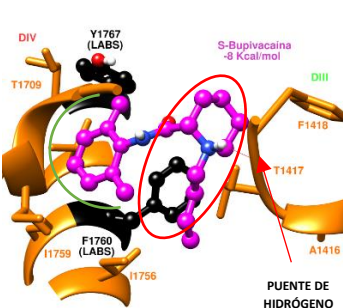
A)



B) hNav_v1.4



C) hNav_v1.5



D) hNav_v1.6

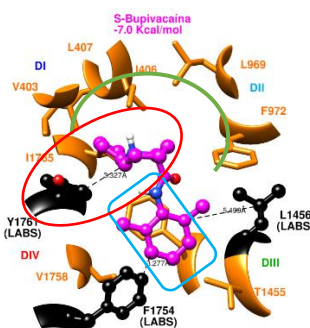


Figura 14. A) Representación de la interacción de S-bupivacaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación preactivada. B) S-bupivacaína en el canal hNav_v1.4 interacciona en el sitio de unión del LABS, se posiciona entre los dominios DIII y DIV. Presenta una interacción *catión- π* (círculo en rojo) con **F1586** (LABS), interaccionando de forma hidrofóbica (curva verde) con los residuos aminoácidos del dominio DIV. C) S-bupivacaína en el canal hNav_v1.5 interacciona cerca del LABS presentando interacción *catión- π* (círculo en rojo) y se orienta más hacia el dominio DIV su porción hidrofóbica se orienta hacia el dominio DIV. D) S-bupivacaína interacciona por debajo del filtro de selectividad y se orienta hacia un área hidrofóbica que se encuentra en el dominio DIII presentando interacciones π - π (cuadro en azul), se posiciona a 5.4 Å de la **L1456** del LABS, el anillo butilpiperidina presenta interacciones *catión- π* con la **Y1761** del LABS (círculo rojo).

Tabla 19. Recopilación de los datos de las interacciones de S-bupivacaína con el canal de sodio en estado preactivado.

Parámetro	hNav1.4	hNav1.5	hNav1.6
Energía de interacción (kcal/mol)	-7	-8	-7
Distancias entre porción hidrofóbica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	7	7	4
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	5	5	8
Distancias entre porción hidrofóbica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	7	8	8
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	10	11	5
Distancia entre el anestésico local con la lisina del DEKA (Å)	12	13	20
Número de puentes de hidrógeno formados	1	1	0
Número de residuos aminoacídicos que permiten la interacción hidrófoba	13	11	12

S-bupivacaína interacciona de manera muy similar en los canales de sodio en estado preactivado. En los canales hNav1.4 y hNav1.5 orienta su porción hidrofóbica hacia el dominio DIV y la porción hidrofílica interaccionando con la tirosina del LABS. En hNav1.6 se orienta más hacia el fondo del canal e interacciona preferentemente con residuos aminoacídicos del dominio DIII.

7.6.3 Lidocaína en los canales de sodio en estado preactivado (3RVY)

En la (Figura 15A) se representan los modelos de cada canal y la estructura de la lidocaína y abajo se describe la interacción a detalle con cada canal.

7.6.3.1 hNav1.4

La lidocaína presenta una interacción con el canal de sodio hNav_v1.4 por debajo del filtro de selectividad entre los dominios DIII y DIV. La lidocaína interacciona con los residuos aminoacídicos F1170, W1171, L1238, V1240, A1241, T1242, F1243, F1278, I1279, G1282, S1283 y T1286 que son residuos aminoacídicos del dominio DIII y con **F1586** (LABS) residuo aminoacídico del dominio DIV (**Figura 15B**). Este fármaco interacciona del mismo modo que menciona Fozzard y colaboradores en 2011 [6] con la cadena lateral de **F1586** (LABS) mediante una interacción *cación- π* con la porción de la amina cuaternaria y se coloca a una distancia de 4.7 Å. De forma contraria a lo dicho por Fozzard y colaboradores la parte hidrofóbica no interacciona con la **Y1593** (LABS), la porción hidrofóbica interacciona entre los dominios DIII y DIV con los residuos aminoacídicos F1278, I1279, F1170, L1238 y W1171; forma un puente de hidrógeno entre el -H del grupo amino (porción hidrofílica) con -OH de T1286. Al posicionarse en este sitio presenta una energía de interacción de -6 kcal/mol (**Tabla 20**).

7.6.3.2 hNav1.5

Lidocaína interacciona por debajo del filtro de selectividad y entre los dominios DIII y DIV, de forma horizontal como mencionan Tikhonov y Zhorov. La interacción es a través de la porción hidrofóbica con la cadena lateral de **F1760** (LABS) que forma parte del LABS mediante un acercamiento π - π del dominio DIV posicionándose a una distancia 3.2 Å el fármaco de la cadena lateral, esta porción de la molécula también interacciona con T1417 un residuo aminoacídico que forma parte del segmento S6 del dominio DIII. La porción hidrofílica, interacciona con los residuos aminoacídicos V1763, S1759 y I1756 (**Figura 15C**), presentando una energía de interacción de -6 kcal/mol. La lidocaína al interaccionar con el canal de sodio y posicionarse en este sitio forma dos puentes de hidrógeno (**Tabla 20**).

7.6.3.3 hNav1.6

La lidocaína interacciona por debajo del filtro de selectividad, colocándose entre los dominios DIII y DIV. Se coloca en esta posición y permite el posicionamiento directamente

de la porción hidrofóbica con la cadena lateral de la **F1754** (LABS) del dominio DIV, llevándose a cabo una interacción π - π a una distancia de 4 Å, la porción hidrofílica se posiciona hacia la interface que se encuentra entre los dominios DI y DIV, interaccionando con V1757, S1753 y I1750 (**Figura 15D**), presentando una energía de interacción de -6 kcal/mol (**Tabla 20**).

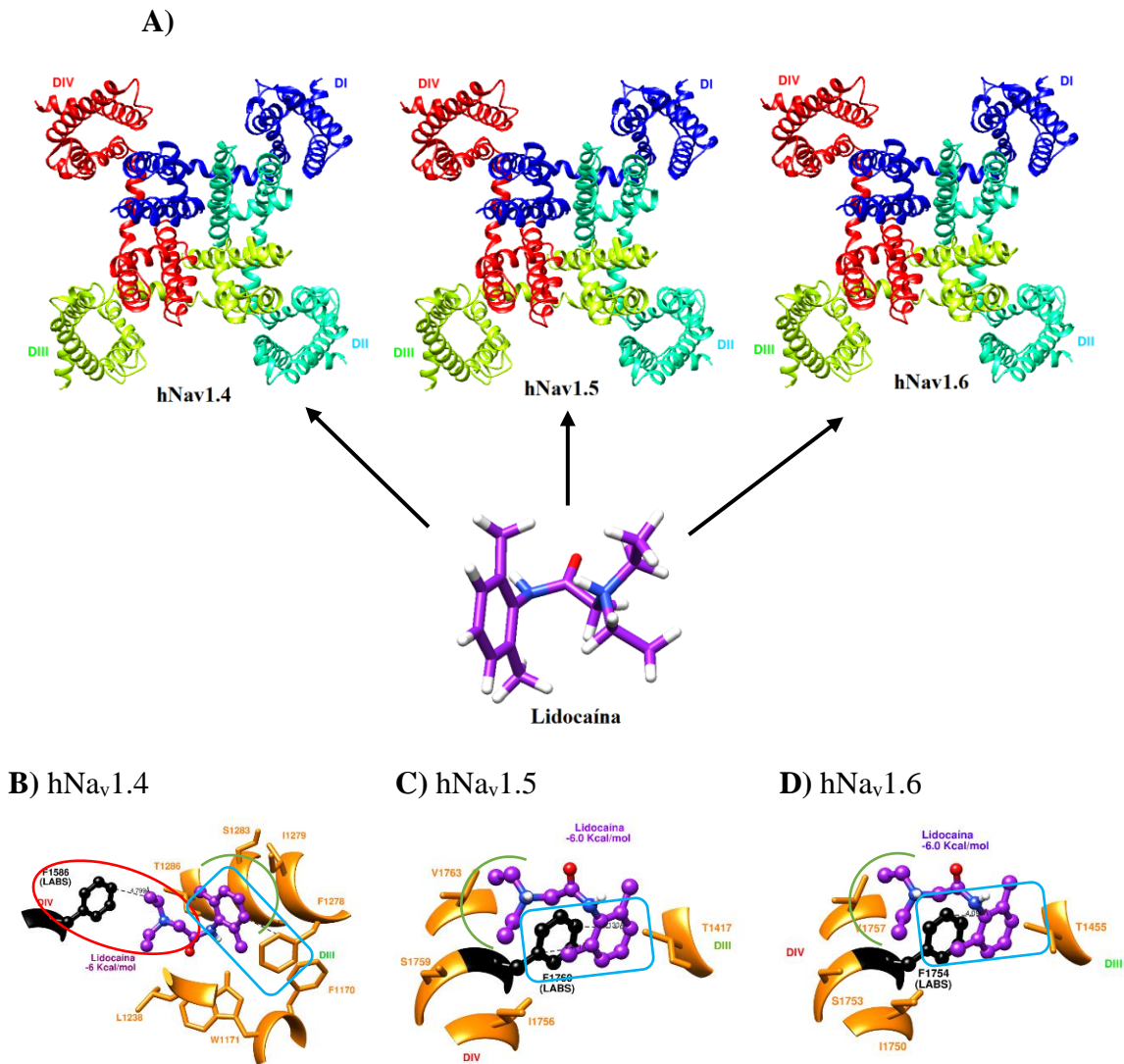


Figura 15. A) Representación de la interacción de lidocaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación preactivada. B) La lidocaína en el canal hNav_v1.4 interacciona en el sitio de unión del LABS, se posiciona entre los dominios DIII y DIV, presenta una interacción *cation-π* (círculo en rojo) con **F1586** (LABS) y el grupo amino cuaternario, interacciona de forma hidrofóbica (curva verde) con los residuos aminoácidos del dominio DIII, presenta una interacción π - π con F1278 (cuadro azul). C) La lidocaína en el canal hNav_v1.5 interacciona cerca del LABS presentando interacción π - π (cuadro azul) entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la **F1760** (LABS) y se orienta más hacia el dominio DIV su porción hidrofílica interacciona de forma hidrofóbica con los residuos aminoácidos del dominio DIV (curva verde). D) Lidocaína interacciona por debajo del filtro de selectividad y se orienta hacia el dominio DIV presentando interacciones π - π (cuadro en azul) con la cadena lateral de la **F1754** (LABS), se posiciona a 4 Å de ésta, la porción hidrofílica interacciona con los residuos aminoácidos del dominio DIV mediante fuerzas de van der Waals (curva verde).

Tabla 20. Recopilación de los datos de las interacciones de lidocaína con el canal de sodio en estado preactivado.

Parámetro	hNav1.4	hNav1.5	hNav1.6
Energía de interacción (kcal/mol)	-6	-6	-6
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	11	4	5
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	5	6	7
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	17	11	12
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	13	8	9
Distancia entre el anestésico local con la lisina del DEKA (Å)	17	11	10
Número de puentes de hidrógeno formados	1	2	2
Número de residuos aminoacídicos que permiten la interacción hidrofoba	11	12	9

La lidocaína toma la misma posición de interacción en los canales de sodio hNav1.5 y hNav1.6. presentando distancias similares y la misma energía de unión. En el canal hNav1.4 la lidocaína orienta su porción hidrofóbica hacia el dominio DIII alejándose de la cadena lateral de la fenilalanina del LABS.

7.6.4 R-Bupivacaína en los canales de sodio en estado inactivado (4DXW)

En la (Figura 16A) se representan los modelos de cada canal y la estructura de la R-bupivacaína y abajo se describe la interacción a detalle con cada canal.

7.6.4.1 hNav1.4

La R-bupivacaína interacciona por debajo del filtro de selectividad, posicionándose en la parte más interna de la ruta de permeación al sodio. La r-bupivacaína interacciona con los segmentos S6 de los dominios DI, DII, DIII y DIV. La posición que toma R-bupivacaína al interaccionar con el LABS, el anillo butilpiperidina (porción hidrofílica) presenta una interacción *cación- π* tanto con **F1586** y **Y1593** (LABS) posicionándose a una distancia de 5 y 4 Å, respectivamente. La sustitución butil del anillo hidrofílico presentan interacciones con los residuos aminoacídicos V1589 y V1590 del segmento S6 del dominio DIV, I439 y I442 segmento S6 del DI. El anillo aromático se posiciona directamente hacia el dominio DIII interaccionando con los residuos aminoacídicos **L1287** (LABS), I1291, F1290; con este último presenta una interacción π - π (Figura 16B), al colocarse en esta posición presenta una energía de interacción de -9 kcal/mol (Tabla 21).

7.6.4.2 hNav1.5

La R-bupivacaína interacciona al fondo del canal, en una localización en donde los segmentos S6 de cada dominio se acercan cerrando la parte interna del canal. La posición que la r-bupivacaína adquiere al interaccionar de manera *cación- π* con el canal, permite que la porción hidrofílica interaccione con cadena lateral de la **F1760** (LABS) a una distancia de 4.3 Å, y con los residuos aminoacídicos V1763, V1764 y T1461; la porción hidrofóbica se posiciona hacia el fondo del canal interaccionando de manera π - π con la cadena lateral de **Y1767** (LABS) a una distancia de 5 Å, y con los residuos aminoacídicos I408, I412, L931, L935, F934 y L938; la estructura de unión (grupo amida) interacciona con **L1462** (LABS) (Figura 16C), al colocarse en esta posición presenta una energía de interacción de -9 kcal/mol (Tabla 21).

7.6.4.3 hNav1.6

La r-bupivacaína interacciona por debajo del filtro de selectividad, se coloca en la vía de permeación e interacciona con los segmentos S6 de los cuatro dominios. La r-bupivacaína al tomar esta posición interacciona con las nubes de densidad electrónica de los anillos aromáticos de la cadena lateral de **Y1761** LABS y el anillo aromático de r-bupivacaína posicionándose a una distancia de 3.7 Å, al anillo aromático presenta interacciones de Van der Waals con I406, V410 del dominio DI, L973, L969, L976 y F972 del dominio DII. El grupo butilpiperidina (porción hidrofílica) interacciona **L1456** LABS, T1455 y F1459 con el que presenta una interacción *cación- π* del dominio DIII (**Figura 16D**) posicionándose a una distancia de 3.8 Å; al posicionarse en este sitio presenta una energía de interacción de -8 kcal/mol (**Tabla 21**).

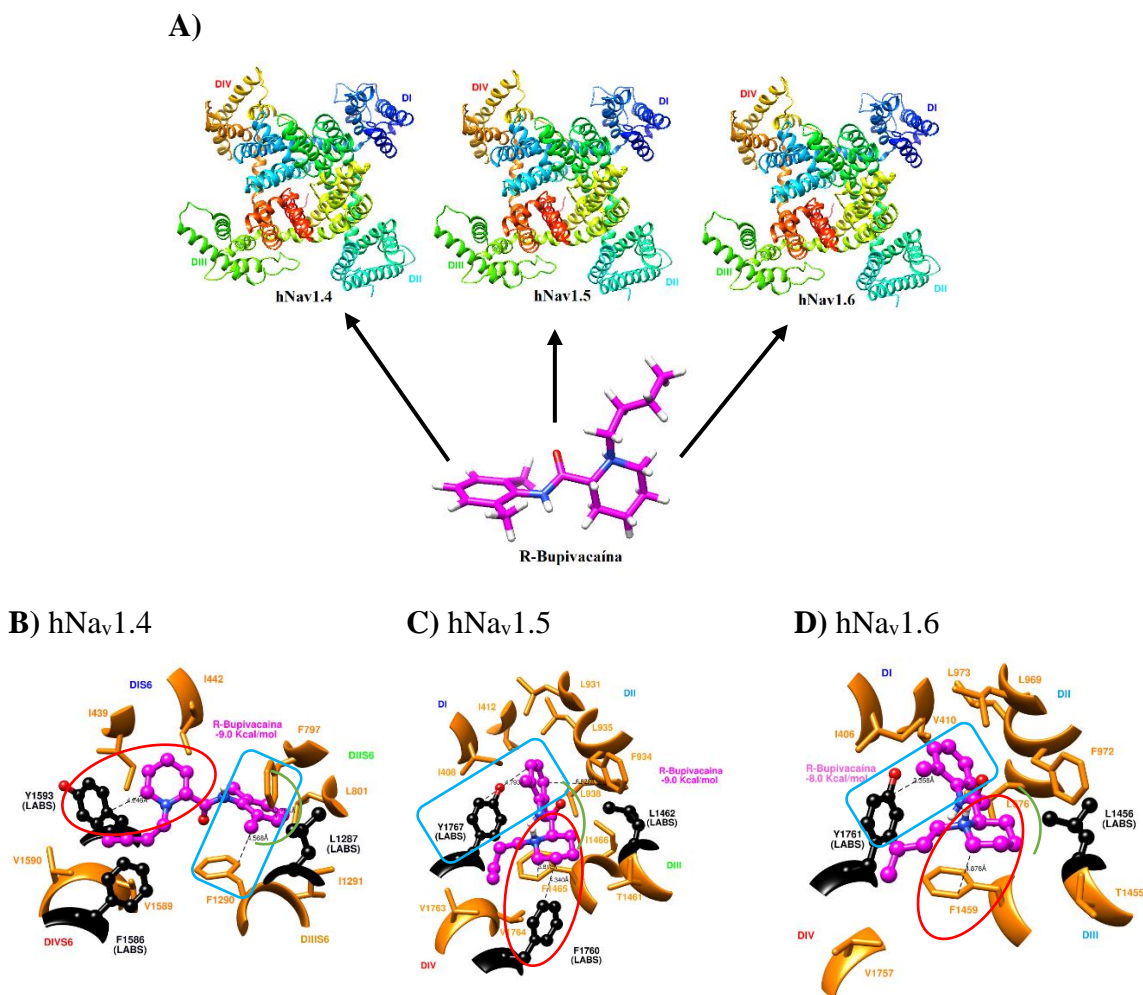


Figura 16. **A)** Representación de la interacción de R-bupivacaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación inactivada (bacterial). **B)** La R-bupivacaína en el canal hNav_v1.4 interacciona en el sitio de unión del LABS, interacciona con los segmentos S6 de los cuatro dominios, presenta una interacción *cación- π* (círculo en rojo) con **Y1593** (LABS) y el grupo butilpiperidina, interacciona de forma hidrofóbica (curva verde) con los residuos aminoacídicos de los dominios DII y DIII, presenta una interacción π - π con F1290 (cuadro azul). **C)** La R-bupivacaína en el canal hNav_v1.5 interacciona cerca del LABS presentando interacción π - π (cuadro azul) entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la **Y1767** (LABS) y se orienta más hacia el dominio DIV su porción hidrofílica interacciona de forma hidrofóbica con los residuos aminoacídicos del dominio DIII (curva verde), presenta una interacción *cación- π* (círculo rojo) entre el grupo butilpiperidina con la cadena lateral de la **F1760** (LABS). **D)** Lidocaína interacciona por debajo del filtro de selectividad y se orienta hacia el dominio DIV presentando interacciones π - π (cuadro en azul) con la cadena lateral de la **Y1761** (LABS), se posiciona a 3.3 Å de ésta, la porción hidrofílica presenta una interacción *cación- π* (círculo rojo) entre el grupo butilpiperidina con la cadena lateral de la F1459 del dominio DIII e interacciona con los residuos aminoacídicos del dominio DIII mediante fuerzas de van der Waals (curva verde).

Tabla 21. Recopilación de los datos de las interacciones de R-bupivacaína con el canal de sodio en estado inactivado (bacterial).

Parámetro	hNav1.4	hNav1.5	hNav1.6
Energía de interacción (kcal/mol)	-9	-9	-8
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	11	13	13
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	6	6	6
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	14	4	4
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	6	6	6
Distancia entre el anestésico local con la lisina del DEKA (Å)	20	22	20
Número de puentes de hidrógeno formados	0	0	0
Número de residuos aminoacídicos que permiten la interacción hidrofoba	20	18	19

R-bupivacaína se coloca de forma horizontal al interactuar con los canales, diferenciándose en los canales hNav1.4 y hNav1.5 interactúan con la cadena lateral de la fenilalanina del LABS del dominio DIV y en el hNav1.6 no presenta esta interacción debido a que la molécula se posiciona más hacia el dominio DIII, no interactuando con la fenilalanina del LABS.

7.6.5 S-Bupivacaína en los canales de sodio en estado inactivado (4DXW)

En la (**Figura 17A**) se representan los modelos de cada canal y la estructura de la S-bupivacaína y abajo se describe la interacción a detalle con cada canal.

7.6.5.1 hNav1.4

La S-bupivacaína, contrariamente a lo mencionado por Nau y colaboradores si presenta diferencias en la interacción con el canal de sodio dependiente de voltaje. Éste se posiciona por debajo del filtro de selectividad, situándose entre los dominios DIII y DIV conforme a lo mencionado por Tikhonov y Zhorov en el 2017. S-bupivacaína interacciona al fondo del canal con residuos aminoacídicos que pertenecen a los dominios DIII y DIV. Uno de los residuos aminoacídicos con los que interacciona es **F1586** (LABS) que en la literatura menciona que forma parte del sitio de unión de anestésicos locales, la forma de interacción de s-bupivacaina es mediante un acercamiento *perpendicular* π - π mediante el anillo aromático (**Tabla 22**). La porción hidrofílica se orienta hacia los segmentos S6 del dominio DIII, interaccionando directamente con: F1285, W1171, F1281, T1242, V1240, I1279 (**Figura 17B**).

7.6.5.2 hNav1.5

La S-bupivacaína interacciona por debajo del filtro de selectividad y se coloca en el fondo del canal bloqueando la ruta de permeación. Cuando se posiciona ahí, S-bupivacaína interacciona con I408 del dominio DI; con L931, F934, L935 y L937 del dominio DII; con L1462, F1465, I1466 y I1469 del dominio DIII; con F1760, V1763, V1764, Y1767 y I1771 del dominio DIV. S-bupivacaína posiciona su porción hidrofóbica hacia el dominio DIII y DIV, colocándose entre las cadenas laterales de **F1760** y **Y1767** mediante interacciones π - π con ambos residuos aminoacídicos que forman parte del LABS, posicionándose a una distancia de 3 Å y 4 Å (**Tabla 22**) respectivamente. De igual manera, interacciona con V1763, V1764, F1465 en un área hidrofóbica. El grupo butilpiperidina (porción hidrofílica) se orienta hacia el dominio DI y DII presentando interacciones de Van der Waals con I408, L1462, F1465, I1466, I1469, L1462, I1466 y I1469, al interaccionar en este sitio presenta una energía de interacción de -8 kcal/mol (**Figura 17C**).

7.6.5.3 hNav1.6

La S-bupivacaína interacciona por debajo del filtro de selectividad e interacciona con los segmentos S6 de los cuatro dominios. Al interaccionar en este sitio interacciona con los residuos aminoacídicos I406, V410 y Y414 del dominio DI; con L969, F972, L973 y L976 del dominio DII; con T1455, L1456, F1459 y I1460 del dominio DIII; **Y1761** del dominio DIV. La porción hidrofóbica interacciona mediante fuerzas de van der Waals con los residuos aminoacídicos I406, V410, Y414, L969, F972, L973 y L976 del dominio DI y DII; la porción hidrofílica se orienta hacia los dominios DIII y DIV, interaccionando con F1459, I1460 y **Y1761** que forma parte del LABS colocándose a una distancia de 5 Å (**Tabla 22**), y presenta una energía de interacción de -7 kcal/mol (**Figura 17D**).

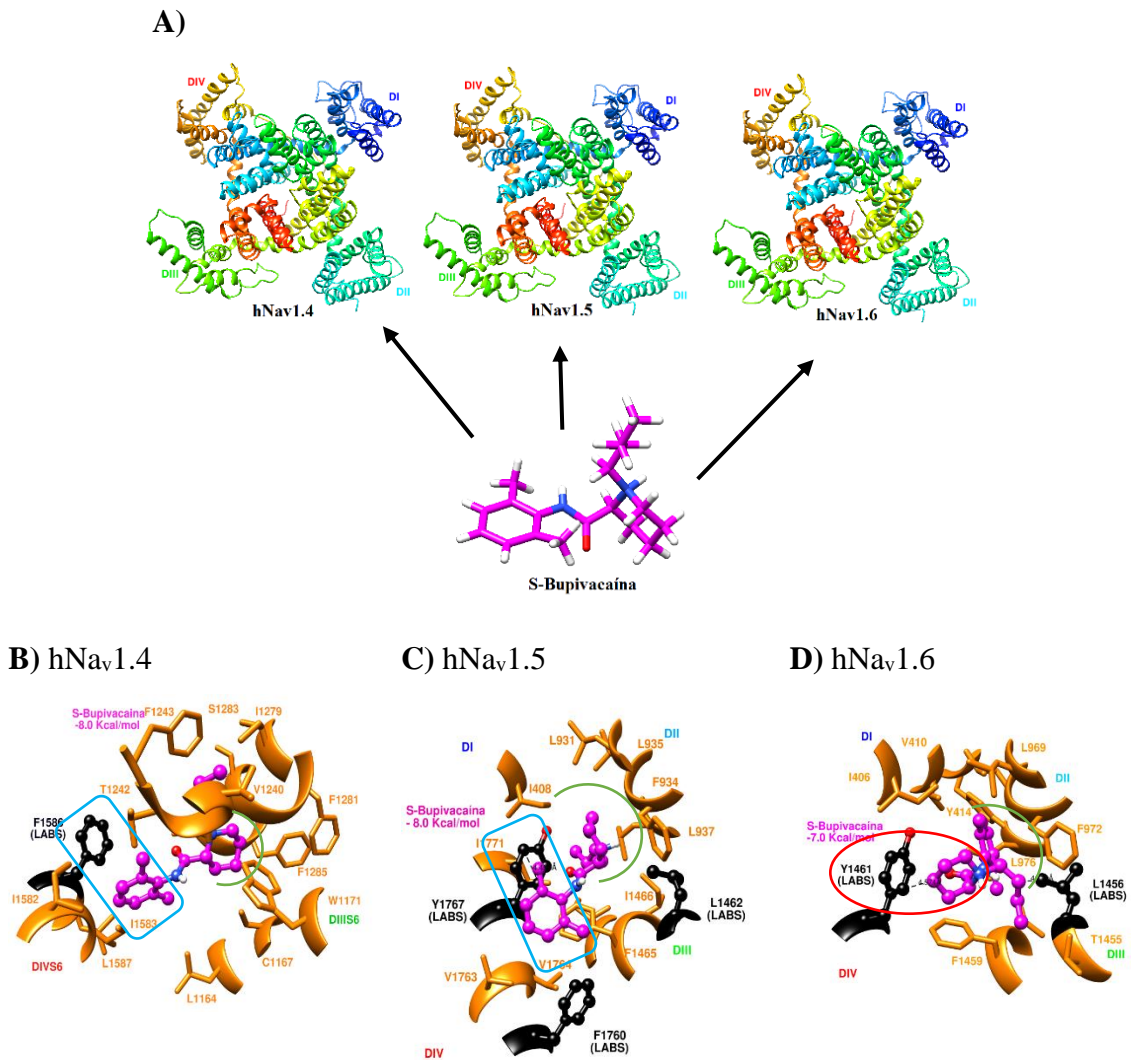


Figura 17. **A)** Representación de la interacción de S-bupivacaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación inactivada (bacterial). **B)** La S-bupivacaína en el canal hNav_v1.4 interacciona en el sitio de unión del LABS, interacciona con los segmentos S6 de los cuatro dominios, presenta una interacción π - π (cuadro azul) con **F1586** (LABS) y el grupo butilpiperidina, interacciona de forma hidrofóbica (curva verde) con los residuos aminoácidos de los dominios DIII. **C)** La S-bupivacaína en el canal hNav_v1.5 interacciona cerca del LABS presentando interacción π - π (cuadro azul) entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la **Y1767** (LABS) y se orienta más hacia el dominio DIV su porción hidrofílica interacciona de forma hidrofóbica con los residuos aminoácidos del dominio DII (curva verde). **D)** S-bupivacaína interacciona con el canal hNav_v1.6 por debajo del filtro de selectividad y se orienta hacia el dominio DIV presentando una interacción *cation*- π (círculo rojo) con la cadena lateral de la **Y1761** (LABS), se posiciona a 4.5 Å de ésta, la porción hidrofóbica interacciona con los residuos aminoácidos de los dominios DII y DIII mediante fuerzas de Van der Waals (curva verde).

Tabla 22. Recopilación de los datos de las interacciones de S-bupivacaína con los canales de sodio en estado inactivado (bacterial).

Parámetro	hNav1.4	hNav1.5	hNav1.6
Energía de interacción (kcal/mol)	-8	-8	-7
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	6	6	13
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	9	10	7
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	14	7	7
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	17	5	6
Distancia entre el anestésico local con la lisina del DEKA (Å)	14	20	20
Número de puentes de hidrógeno formados	2	0	0
Número de residuos aminoacídicos que permiten la interacción hidrofoba	18	21	17

S-bupivacaína presenta mejores energías de interacción cuando orienta su porción hidrofóbica hacia la cadena lateral de fenilalanina del LABS como se muestran en el hNav1.4 y hNav1.5, de forma contraria en el hNav1.6 interacciona hacia el dominio DIII y por esta razón presenta una energía de unión mas desfavorable.

7.6.6 Lidocaína con los canales de sodio en estado inactivado (4DXW)

En la (**Figura 18A**) se representan los modelos de cada canal y la estructura de la lidocaína y abajo se describe la interacción a detalle con cada canal.

7.6.6.1 hNav1.4

La lidocaína interacciona con el canal hNav1.4 por debajo del filtro de selectividad y se posiciona directamente en la ruta de permeación. Orienta su porción hidrofílica hacia el dominio DIV interaccionando con **F1586** e **Y1593** que forman parte del LABS, colocándose a 6 Å y 7 Å respectivamente (**Tabla 23**); dos residuos aminoacídicos del dominio DIII F1290 y **L1287** que también forma parte del LABS; de forma contraria a lo que mencionan Lipkind y Fozzard (2005), el ciclo aromático se orienta hacia la boca externa del canal, interaccionando con F797 colocándose a una distancia de 3.2 Å (**Figura 18B**).

7.6.6.2 hNav1.5

La lidocaína en el canal hNav1.5 se posiciona al fondo del canal interaccionando con residuos aminoacídicos de los cuatro dominios, el grupo aromático se orienta hacia el fondo del canal interaccionando con V412, L935, L937, I1469 e I1771. El grupo amonio interacciona con la cadena lateral de **Y1767** LABS mediante una interacción *cación- π* posicionándose a una distancia de 4.1 Å, también presenta una interacción *cación- π* con la F1465 del dominio DIII posicionándose a una distancia de 5 Å (**Tabla 23**). El grupo amida (estructura de unión) interacciona también con la **L1462** (LABS) del dominio DIII (**Figura 18C**), al posicionarse en este sitio presenta una energía de interacción de -6 kcal/mol.

7.6.6.3 hNav1.6

La lidocaína al interaccionar con el canal de sodio hNav1.6 se coloca por debajo del filtro de selectividad e interacciona con los segmentos S6 de los cuatro dominios. La porción hidrofóbica se coloca hacia el fondo del canal presentando interacciones con V410 del dominio DI, L976 del dominio DII, F1459 del dominio DIII y con **Y1761** (LABS) colocándose a una distancia de 5 Å y 7 Å (**Tabla 23**), con estos dos últimos interacciona por medio de las nubes de densidad electrónica de los anillos aromáticos tanto de lidocaína como de F1459 e **Y1761**. El grupo amonio (porción hidrofílica) se orienta hacia la boca exterior del canal, interaccionando con **I406** LABS del dominio DI, L969 y F972 del dominio DII

(Figura 18D), al colocarse en esa posición presenta una energía de interacción de -7 kcal/mol.

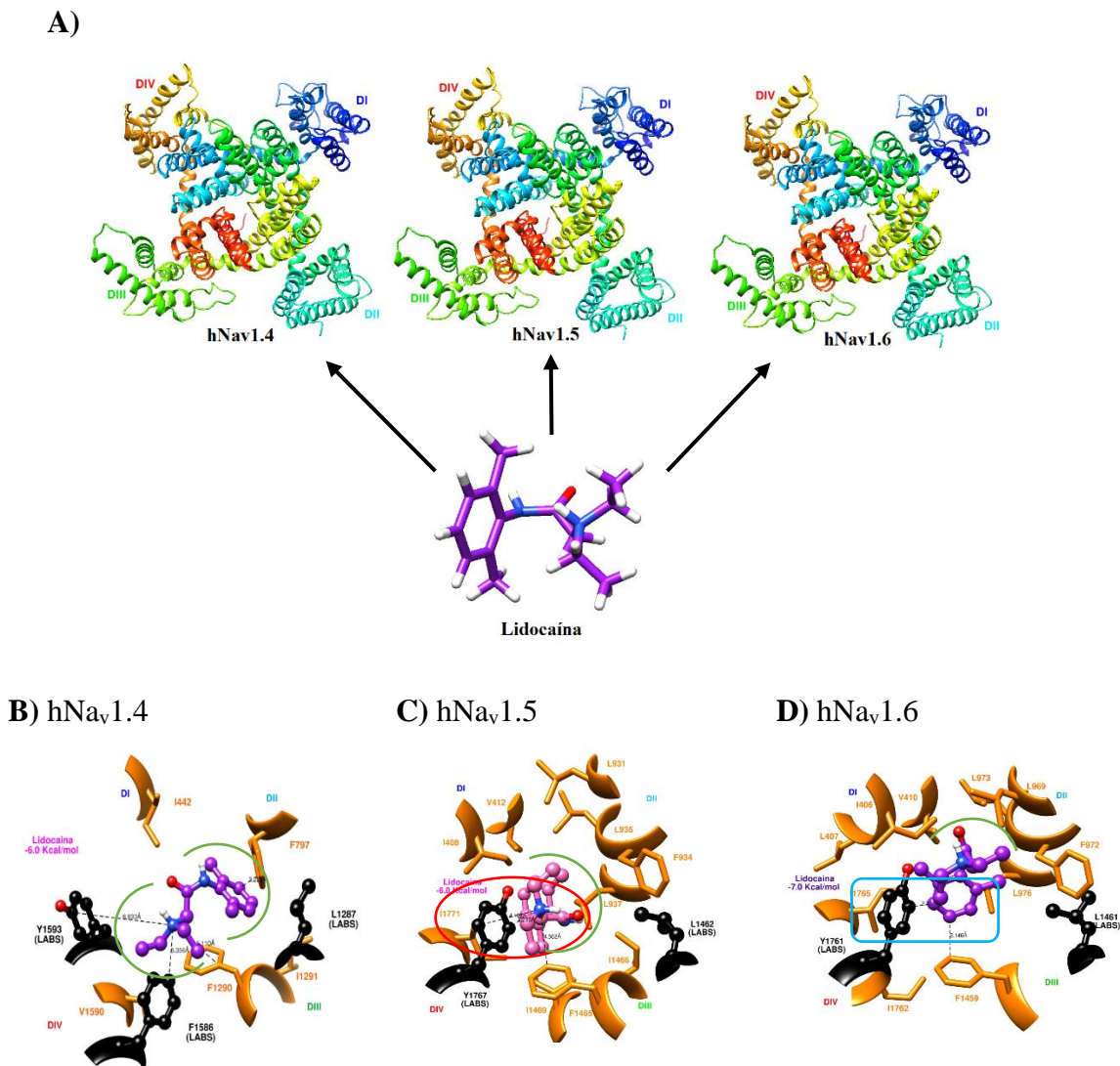


Figura 18. A) Representación de la interacción de lidocaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación inactivada (bacterial). **B)** La lidocaína en el canal hNav_v1.4 interacta en el sitio de unión del LABS interactando de forma hidrofóbica (curva verde) con los residuos aminoácidos de los dominios DII, DIII y DIV. **C)** La lidocaína en el canal hNav_v1.5 interacta cerca del LABS presentando interacción *cation-π* (círculo rojo) entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la **Y1767** (LABS) y se orienta más hacia el fondo del canal e interactando de manera hidrofóbica con los residuos aminoácidos de los dominios DII y DIII (curva verde). **D)** Lidocaína interacta con el hNav_v1.6 por debajo del filtro de selectividad y se orienta hacia el dominio DIV presentando una interacción π - π (cuadro azul) con la cadena lateral de la **Y1761** (LABS), se posiciona a 3.2 Å de ésta, la porción hidrofílica interacta con los residuos aminoácidos de los dominios DI y DII mediante fuerzas de Van der Waals (curva verde).

Tabla 23. Recopilación de los datos de las interacciones de lidocaína con los canales de sodio en estado inactivado (bacterial).

Parámetro	hNav1.4	hNav1.5	hNav1.6
Energía de interacción (kcal/mol)	-6	-6	-7
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	11	14	10
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	5	9	10
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	13	4	4
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	7	4	5
Distancia entre el anestésico local con la lisina del DEKA (Å)	20	25	22
Número de puentes de hidrógeno formados	0	0	0
Número de residuos aminoacídicos que permiten la interacción hidrófoba	15	13	17

La lidocaína al interactuar con los canales de sodio en estado inactivado presentando una mejor energía de unión en el hNav1.6, esta es debido a que interactúa con la tirosina del LABS, esta interacción no se lleva a cabo en los canales hNav1.4 y hNav1.5 y por eso presentan menor energía de unión.

7.6.7 R-Bupivacaína con los canales de sodio en estado inactivado (5GJV)

En la (**Figura 19A**) se representan los modelos de cada canal y la estructura de la R-bupivacaína y abajo se describe la interacción a detalle con cada canal.

7.6.7.1 hNav1.4

La R-bupivacaína interacciona con el canal hNav1.4 por debajo del filtro de selectividad, al posicionarse entre los dominios DI y DIV, interacciona con los residuos aminoacídicos Q405, **I431** (LABS), F432 y S435 del dominio DI; con L1489, V1492, M1493, I1526, L1529, F1530, T1533, T1534, Y1581, S1585, I1588, V1589 y M1592 del dominio DIV. La porción aromática se acerca a F432 formando una interacción π - π . Forma dos puentes de hidrogeno entre el grupo -OH de T1533 y el H del grupo butilpiperidina (porción hidrofílica) y entre el H del grupo amida de la estructura de unión (**Figura 19B**) al colocarse en ese sitio presenta una energía de interacción de -9 kcal/mol (**Tabla 24**).

7.6.7.2 hNav1.5

La R-bupivacaína interacciona con el canal hNav1.5 por debajo del filtro de selectividad y entre los dominios DIII y DIV. Al posicionarse entre estos dominios, interacciona con los residuos aminoacídicos K1265, N1269, W1273, L1311, L1314, M1320, V1324, L1327, V1328 e I1331 del dominio DIII; L1663, I1757, F1760, L1761 y N1765 del dominio DIV. R-bupivacaína orienta su porción hidrofóbica hacia el segmento S5 del dominio DIV y presentando interacciones hidrófobas con W1273, L1311, L1314 y M1320; R-bupivacaína orienta su butilpiperidina hacia el segmento S6 del dominio DIV e interacciona con la **F1760** del LABS mediante la porción hidrofílica presentando una atracción *cation*- π , y formando un puente de hidrógeno entre el -H del grupo amonio con el -OH de N1269; el grupo amida (estructura de unión) forma un puente de hidrógeno, el cual se forma entre el O=C del grupo amida con el -NH de N1269 (**Figura 19C**), al colocarse en esta posición presenta una energía de interacción de -9 kcal/mol (**Tabla 24**).

7.6.7.3 hNav1.6.

La R-bupivacaína interacciona con el canal hNav1.6 por debajo del filtro de selectividad entre los dominios DI y DIV, al colocarse entre estos sitios permite la interacción con los residuos aminoacídicos Q369, I395, F396, S399 y V403 del dominio DI; con L1658, V1661, M1662, L1698, F1699, T1702, T1703, Y1749, S1753, I1756, V1757, M1760 e **Y1761** (LABS) del

dominio DIV. Al posicionarse entre estos dos dominios, R-bupivacaína orienta su porción hidrófoba hacia el dominio DIV, interaccionando mediante fuerzas de Van der Waals con L1658, V1661, M1662, S1753, I1756 y V1757; y con la cadena lateral de Y1749 mediante sus nubes electrónicas. El grupo butilpiperidina se posiciona hacia el dominio DIV, interaccionando con Q369, I395, F396, S399, V403, F1699 y T1703. Forma dos puentes de hidrógeno entre el grupo -OH con el residuo T1702 y con el -H de piperidina y con el -H del grupo amida (estructura de unión) (**Figura 19D**), al colocarse en este sitio presenta una energía de interacción de -8 kcal/mol (**Tabla 24**).

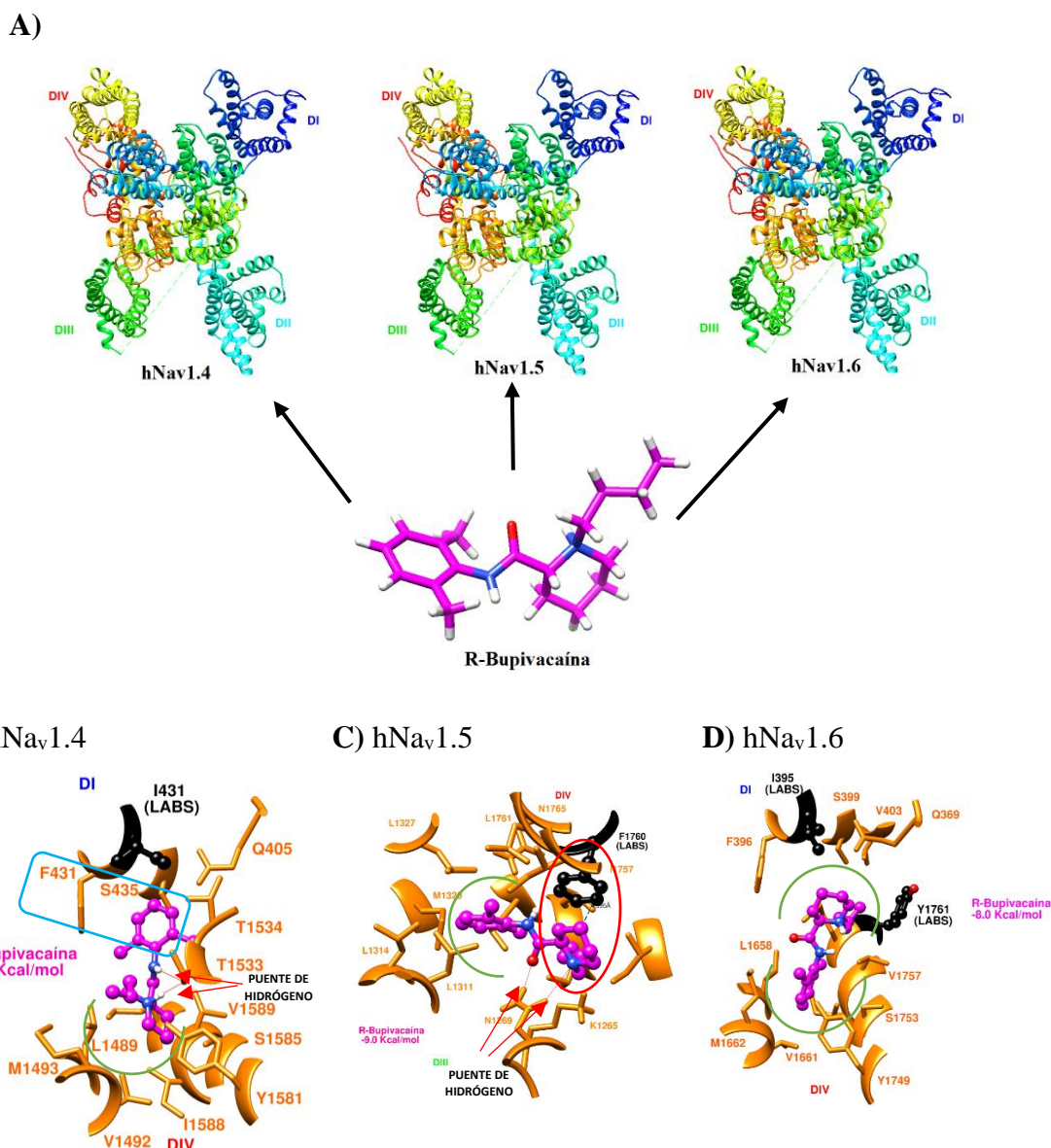


Figura 19. **A)** Representación de la interacción de R-bupivacaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación inactivada (mamífero). **B)** R-bupivacaína en el canal hNav_v1.4 interacciona en el sitio de unión del LABS interacciona mediante su porción hidrofóbica y la cadena lateral de la F431 del dominio DI (cuadro en azul) la porción butilpiperidina interacciona de forma hidrofóbica (curva verde) con residuos aminoacídicos del dominio DIII y DIV. **C)** R-bupivacaína en el canal hNav_v1.5 interacciona cerca del LABS presentando una interacción *cation-π* (círculo rojo) entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la **F1760** (LABS) y se orienta hacia la interfaz de los dominios DIII y DIV, presentando interacciones hidrofobas (curva en verde). **D)** R-bupivacaína interacciona con el canal hNav_v1.6 por debajo del filtro de selectividad e interacciona con los residuos aminoacídicos de los dominios DI y DII mediante fuerzas de Van der Waals (curva verde).

Tabla 24. Recopilación de los datos de las interacciones de R-bupivacaína con los canales de sodio en estado inactivado (mamífero).

Parámetro	hNav1.4	hNav1.5	hNav1.6
Energía de interacción (kcal/mol)	-9	-9	-8
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	13	7	11
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	12	4	9
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	10	18	13
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	12	18	10
Distancia entre el anestésico local con la lisina del DEKA (Å)	17	25	15
Número de puentes de hidrógeno formados	2	2	2
Número de residuos aminoacídicos que permiten la interacción hidrofoba	12	9	9

R-bupivacaína presenta mayores energías de interacción para el canal hNav1.4 al posicionarse entre los dominios DI y DIV; a diferencia del hNav1.6, esto es debido a que posiciona su porción hidrofóbica más cercana a la I431 que forma parte del LABS. En el hNav1.5 se posiciona entre los dominios DIII y DIV interaccionando directamente con la fenilalanina del LABS;

7.6.8 S-Bupivacaína con los canales de sodio en estado inactivado (5GJV)

En la (**Figura 20A**) se representan los modelos de cada canal y la estructura de la S-bupivacaína y abajo se describe la interacción a detalle con cada canal.

7.6.8.1 hNav1.4

La S-bupivacaína interacciona con el canal hNav_v1.4 por debajo del filtro de selectividad y entre los dominios DI y DIV. S-bupivacaína al posicionarse entre los dominios DI y DIV, interacciona con los residuos aminoacídicos Q405, I431, F432, S435, F436 e I439 del dominio DI; con L1489, F1530, T1533, T1534, V1589, M1592 e **Y1593** (LABS) del dominio DIV. Al posicionarse en este sitio, S-bupivacaína interacciona mediante las nubes electrónicas de los anillos aromáticos de F439 y la porción aromática de la molécula, situándose un anillo enfrente del otro a una distancia de 3.2 Å y 4.3 Å de la **Y1593** del LABS (**Tabla 25**), forma dos puentes de hidrógeno entre el -OH de T1533 y el -H del grupo butilpiperidina, y con el grupo -OH de S435 y el grupo =O del grupo amida (estructura de unión) (**Figura 20B**).

7.6.8.2 hNav1.5

La S-bupivacaína interacciona con el canal hNav_v1.5 por debajo del filtro de selectividad entre los dominios DIII y DIV. Al establecerse en este sitio, interacciona con los residuos aminoacídicos L1327, I1331, I1334, V1337, L1338, C1341, F1460, T1461, L1464 y V1468 del dominio DIII; I1756, S1759, F1760 y V1764 del dominio DIV. S-bupivacaína orienta su porción hidrofóbica hacia el dominio DIII interaccionando mediante fuerzas de Van der Waals con I1334, V1337, L1338, C1341, F1460, T1461 y L1464. El grupo butilpiperidina (porción hidrofílica) se orienta hacia el dominio DIV interaccionando mediante fuerzas de Van der Waals con I1756, S1759, **F1760** (LABS) colocándose a una distancia de 4 Å y V1764 (**Figura 20C**), al colocarse en este sitio presenta una energía de interacción de -8 kcal/mol (**Tabla 25**).

7.6.8.3 hNav1.6.

La S-bupivacaína interacciona con el canal hNav_v1.6 por debajo del filtro de selectividad y se coloca entre los dominios DI y DIV, interaccionando con los residuos aminoacídicos **I395** (LABS), F396, S399, F400 y V403 del dominio DI; con L1651, I1654, M1760, A1763 e I1764 del dominio DIV. Al interaccionar entre estos dos dominios, la porción hidrofóbica de

la S-bupivacaína forma interacciones de Van der Waals con los residuos del dominio DIV; la porción hidrofílica interactúa con los residuos aminoacídicos del dominio DI, posicionándose entre F396 y F400 (**Figura 20D**) colocándose a una distancia de 3.7 Å y 4.3 Å respectivamente, al posicionarse en este sitio presenta una energía de unión de 7 kcal/mol (**Tabla 25**).

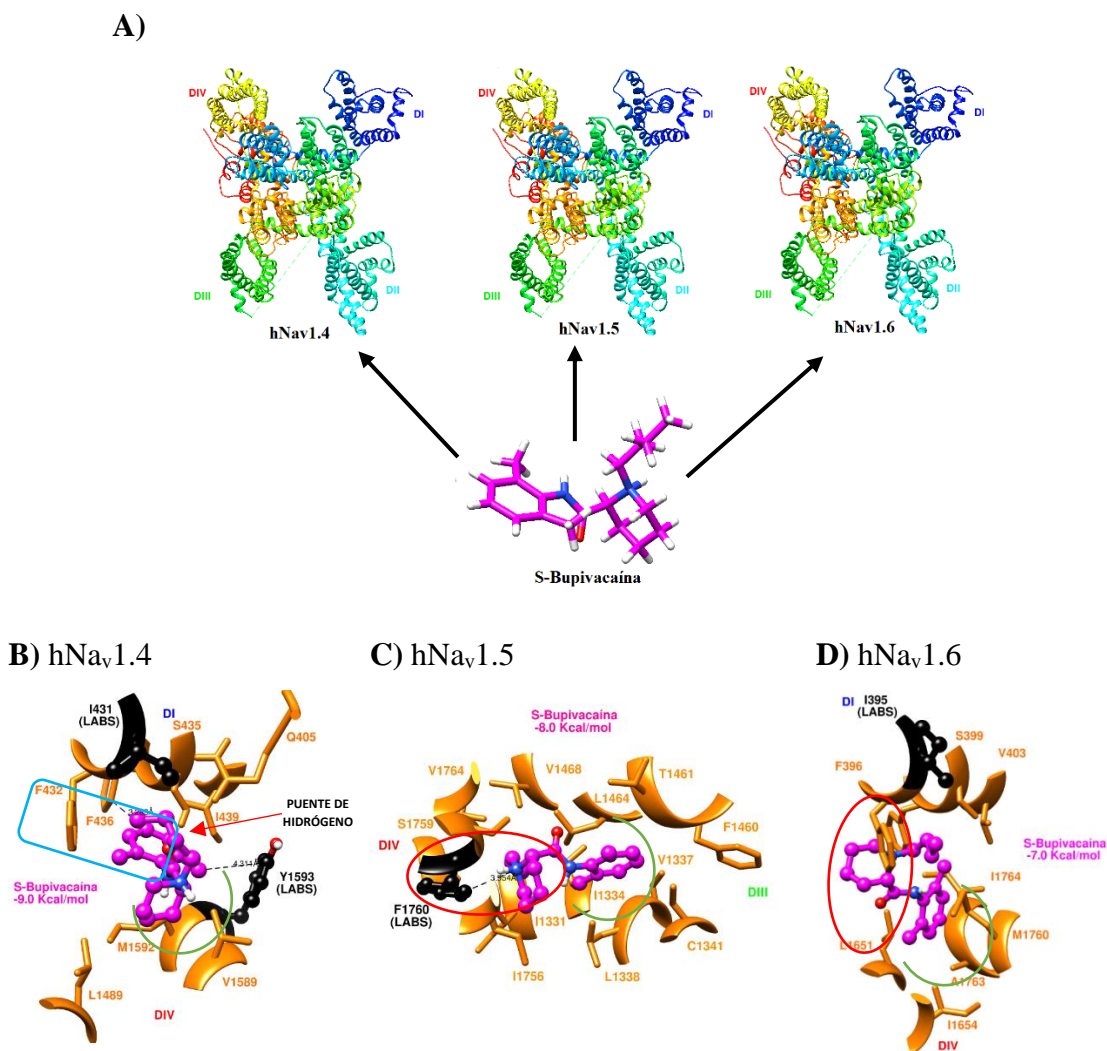


Figura 20. **A)** Representación de la interacción de S-bupivacaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación inactivada (mamífero). **B)** S-bupivacaína con el canal hNav_v1.4 interactúa en el sitio de unión del LABS interactúa mediante su porción hidrofóbica y la cadena lateral de la F432 del dominio DI colocándose a una distancia de 3.2 Å (cuadro en azul), la porción butilpiperidina interactúa de forma hidrofóbica (curva verde) con residuos aminoacídicos del dominio DIV. **C)** S-bupivacaína interactúa con el canal hNav_v1.5 interactúa cerca del LABS, presentando una interacción *cation-π* (círculo rojo) entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la **F1760** (LABS) y se orienta hacia la interface del dominio DIII y DIV, presentando interacciones hidrofobas (curva en verde). **D)** S-bupivacaína interactúa con el canal hNav_v1.6 por debajo del filtro de selectividad mediante una atracción *cation-π* (círculo rojo) entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la F396 del dominio DI. La porción hidrofóbica interactúa con los residuos aminoacídicos del dominio DII mediante fuerzas de Van der Waals (curva verde).

Tabla 25. Recopilación de los datos de las interacciones de S-bupivacaína con los canales de sodio en estado inactivado (mamífero).

Parámetro	hNav1.4	hNav1.5	hNav1.6
Energía de interacción (kcal/mol)	-9	-8	-7
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	13	13	17
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	11	6	16
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	7	15	9
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	9	12	11
Distancia entre el anestésico local con la lisina del DEKA (Å)	19	19	23
Número de puentes de hidrógeno formados	1	0	0
Número de residuos aminoacídicos que permiten la interacción hidrofoba	8	10	11

S-bupivacaína interacciona en el canal hNav1.4 más cerca de la tirosina del LABS, al colocarse a una distancia promedio de 12 Å de la fenilalanina del LABS promueve una mejor energía de interacción por el canal de sodio hNav1.4. De forma contraria, S-bupivacaína interacciona con el hNav1.5 y hNav1.6, presenta mayor distancia respecto a la fenilalanina y tirosina del LABS, esto afectando energía de unión.

7.6.9 Lidocaína con los canales de sodio en estado inactivado (5GJV)

En la (Figura 21A) se representan los modelos de cada canal y la estructura de la lidocaína y abajo se describe la interacción a detalle con cada canal.

7.6.9.1 hNav1.4

La lidocaína interacciona con el canal hNav_v1.4 por debajo del filtro de selectividad entre los dominios DIII y DIV. Al posicionarse en este sitio, conforme a lo predicho por Tikhonov y Zhorov en el 2017, interacciona con los residuos aminoacídicos L1164, C1167, L1168, W1171, L1238, A1241, T1242 y L1289 del dominio DIII; y con C1579, I1582, I1583, **F1586** (LABS) y L1587 del dominio DIV. En esta posición, lidocaína no forma puentes de hidrógeno, orienta su porción aromática hacia el filtro de selectividad interaccionando con T1242 y L1289 del DIII en la parte superior, en la parte anterior interacciona con C1579 e I1582 del DIV; la porción hidrofílica (grupos etilo) se orientan hacia el fondo del canal interaccionando con los residuos aminoacídicos L1164, C1167 y L1168 del dominio DIII y L1587 del dominio DIV (**Figura 21B**) al colocarse en este sitio presenta una energía de interacción de -7 kcal/mol (**Tabla 26**).

7.6.9.2 hNav1.5

La lidocaína interacciona con el canal hNav_v1.5 por debajo del filtro de selectividad entre los dominios DIII y DIV. Al posicionarse en este sitio, lidocaína interacciona con los residuos aminoacídicos W1273, F1276, L1305, L1308, L1311 del dominio DIII; Y1671, F1752, T1753, T1754, I1756, I1757 y **F1760** (LABS) del dominio DIV. Lidocaína interacciona de forma horizontal, y orienta su porción hidrofóbica entre los segmentos S6 y S4 del dominio DIV y DIII respectivamente, presentando interacciones de van der Waals con los residuos aminoacídicos W1273, L1305, L1308, L1311, Y1671, I1757 y **F1760** (LABS), colocándose a una distancia de 3.6 Å. La porción hidrofílica interacciona mediante fuerzas de van der Waals con F1276, F1752 e I1757; el grupo amida (estructura de unión) forma dos puentes de hidrógeno, el primero entre el -NH del grupo amida y el O=C de T1753, y el segundo entre el O=C del grupo amida con el -OH de T1753 (**Figura 21C**), al colocarse en este sitio presenta una energía de interacción de -6 kcal/mol (**Tabla 26**).

7.6.9.3 hNav1.6.

La lidocaína al interactuar con el canal de sodio hNav1.6 se posiciona por debajo del filtro de selectividad y entre los dominios DI y DIV. Al colocarse en ese sitio interactúa con los residuos aminoacídicos Q369, **I395** (LABS), F396 y S399 del dominio DI; L1458, F1699, T1702, T1703, S1704, **F1754** (LABS), V1757 y M1760 del dominio DIV. Lidocaína al colocarse en este sitio orienta su porción hidrofóbica interactuando con S399, L1458 y M1760, presentando una interacción π - π con las cadenas laterales de F396 y de F1699; además, orienta su porción hidrofílica hacia la ruta de permeación a iones, interactuando con Q369, T1703 y S1704. Lidocaína al interactuar entre estos dos dominios forma 2 puentes de hidrógeno; el primero se forma entre el O=C de la amida (estructura de unión) y el grupo -OH de la treonina T1702, y el segundo entre el -H del grupo amonio (porción hidrofílica) y el grupo O=C (grupo carboxilo terminal, con el que forma el enlace peptídico) de T1702 (**Figura 21D**), al posicionarse en este sitio presenta una energía de interacción de -5 kcal/mol (**Tabla 26**).

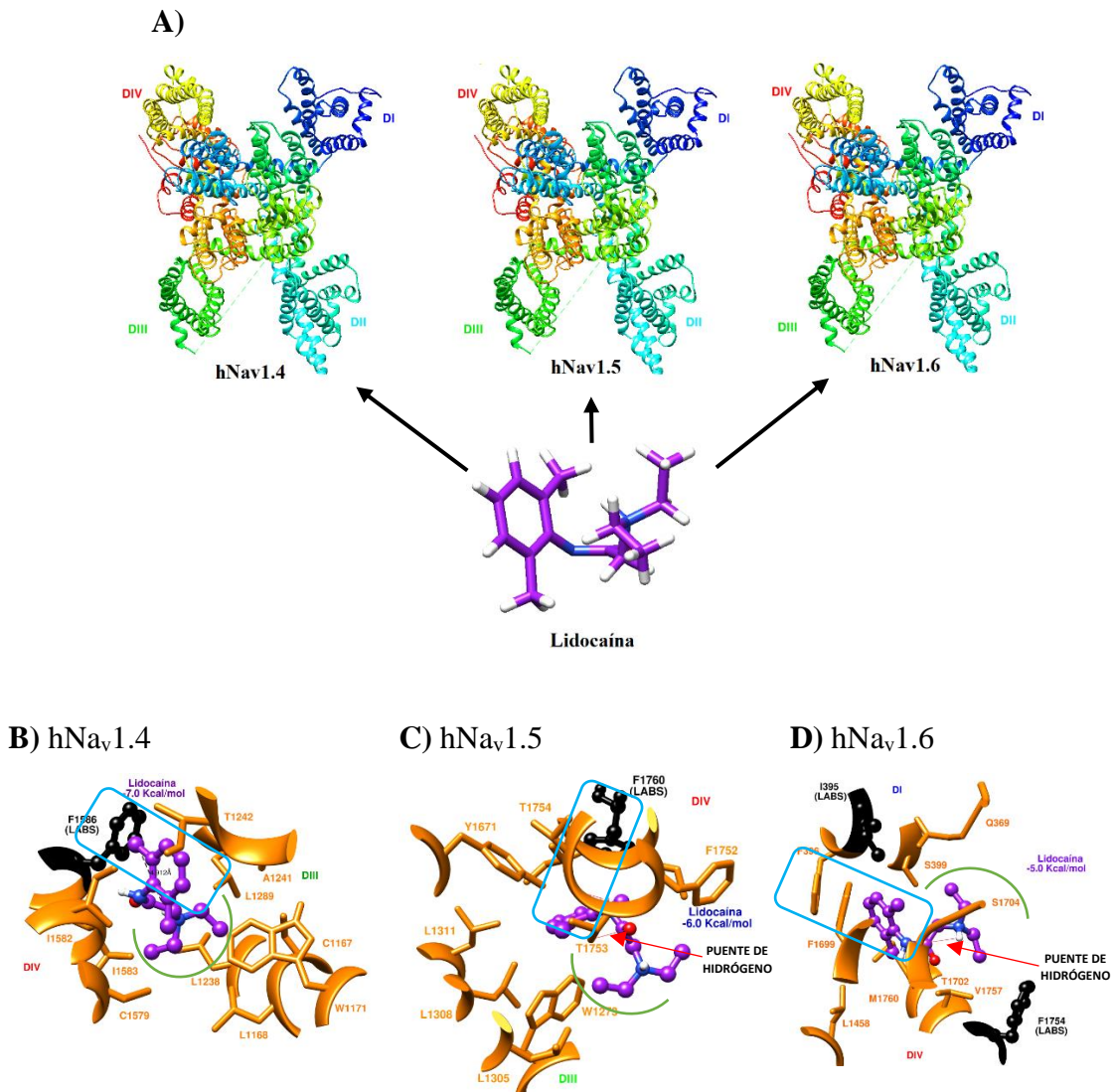


Figura 21. A) Representación de la interacción de lidocaína con los canales de sodio hNav_v1.4, hNav_v1.5 y hNav_v1.6 en conformación inactivada (mamífero). B) Lidocaína interacciona con el canal hNav_v1.4 interacciona en el sitio de unión del LABS interacciona mediante su porción hidrofóbica y la cadena lateral de la **F1586** (LABS) del dominio DIV colocándose a una distancia de 4.9 Å (cuadro en azul), la porción de la amina cuaternaria alifática interacciona de forma hidrofóbica (curva verde) con residuos aminoácidos del dominio DIII. C) Lidocaína interacciona con el canal hNav_v1.5 interacciona cerca del LABS presentando una interacción π - π (cuadro azul) entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la **F1760** (LABS) y se orienta hacia la interface del dominio DIII y DIV, presentando interacciones hidrofobas (curva en verde). D) La lidocaína interacciona con el canal hNav_v1.6 por debajo del filtro de selectividad e interacciona presentando una atracción π - π (cuadro azul) entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la F396 del dominio DI. La porción hidrofóbica interacciona con los residuos aminoácidos del dominio DIV mediante fuerzas de van der Waals (curva verde).

Tabla 26. Recopilación de los datos de las interacciones de lidocaína con los canales de sodio en estado inactivado (mamífero).

Parámetro	hNav1.4	hNav1.5	hNav1.6
Energía de interacción (kcal/mol)	-7	-6	-5
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	8	8	12
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la fenilalanina (LABS) (Å)	6	12	6
Distancias entre la porción hidrofóbica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	15	19	10
Distancias entre la porción hidrofílica y la cadena lateral de la tirosina (LABS) (Å)	13	22	8
Distancia entre el anestésico local con la lisina del DEKA (Å)	16	20	14
Número de puentes de hidrógeno formados	0	1	1
Número de residuos aminoacídicos que permiten la interacción hidrofoba	12	11	13

La lidocaína se coloca más lejos de la fenilalanina y de la tirosina del LABS en el hNav1.5 y hNav1.6, esto muestra una energía de unión más positiva por el canal hNav1.5 y hNav1.6. En el hNav1.4 se coloca entre los dominios DIII y DIV interaccionando más cerca de la fenilalanina del LABS, por esta razón, presenta una energía de unión mas favorable.

7.7 IDENTIFICACIÓN DE LOS SITIOS DE UNIÓN DE MEXILETINA Y SUS ANÁLOGOS

Los resultados del acoplamiento molecular indican modos de unión favorables al sitio de unión de anestésicos locales (LABS) del canal $Na_v1.4$ para todas las moléculas incluidas. La mexiletina ocupó el LABS (**Figura 22A**), el cual constituye una cavidad hidrófoba que se localiza entre los segmentos S6 del dominio DIV y el S5 del dominio DIII por debajo del filtro de selectividad. El uso de mexiletina y estos análogos es debido a que presentan resultados experimentales, así como, las IC_{50} de cada molécula. Con el uso de estos datos se propone validar las interacciones de las moléculas que usamos.

7.7.1 Descripción del modo de unión de la mexiletina y sus análogos

Los resultados computacionales indican que la mexiletina y sus análogos: meta-hidroxi-mexiletina (mHM), para-hidroxi-mexiletina (pHM), hidroximetil-mexiletina (HMM) y bis-hidroximetil-mexiletina (bHMM); ocupan el LABS por debajo del filtro de selectividad cercano al lumen hidrofílico del canal $hNa_v1.4$ interactuando con los siguientes residuos aminoacídicos: Y1586 (del dominio DIV) L1280, F1236, T1235 (del dominio DIII). El grupo ariloxi del fármaco establece interacciones π - π de forma perpendicular con el anillo aromático de la cadena lateral de F1579 (**Figura 22A**), la nube de electrones π de los anillos se reacomodan permitiendo su interacción. El grupo amino de todas las moléculas se orientan hacia el lumen del poro acuoso del canal, situándose a 8.4 Å de la lisina del anillo DEKA, pudiendo interactuar electrostáticamente con T1235 del dominio. (**Figura 22B**) El grupo hidroxilo de mHM produce un leve reacomodo de la nube de densidad electrónica, esto debido a que se encuentra más cerca del grupo amino del compuesto. (**Figura 22C**) El grupo hidroxilo del análogo pHM produce una repulsión estérica con el anillo aromático de Y1586 del LABS lo que podría explicar la disminución de la potencia con respecto a mexiletina. (**Figura 22D**) Las sustituciones -OH de HMM y bHMM producen interacciones desfavorables en el LABS con F1579 del LABS. (**Figura 22E**), al poseer mayor cantidad de sustituciones en el anillo forman interacciones polares con el T1279 del dominio DIII.

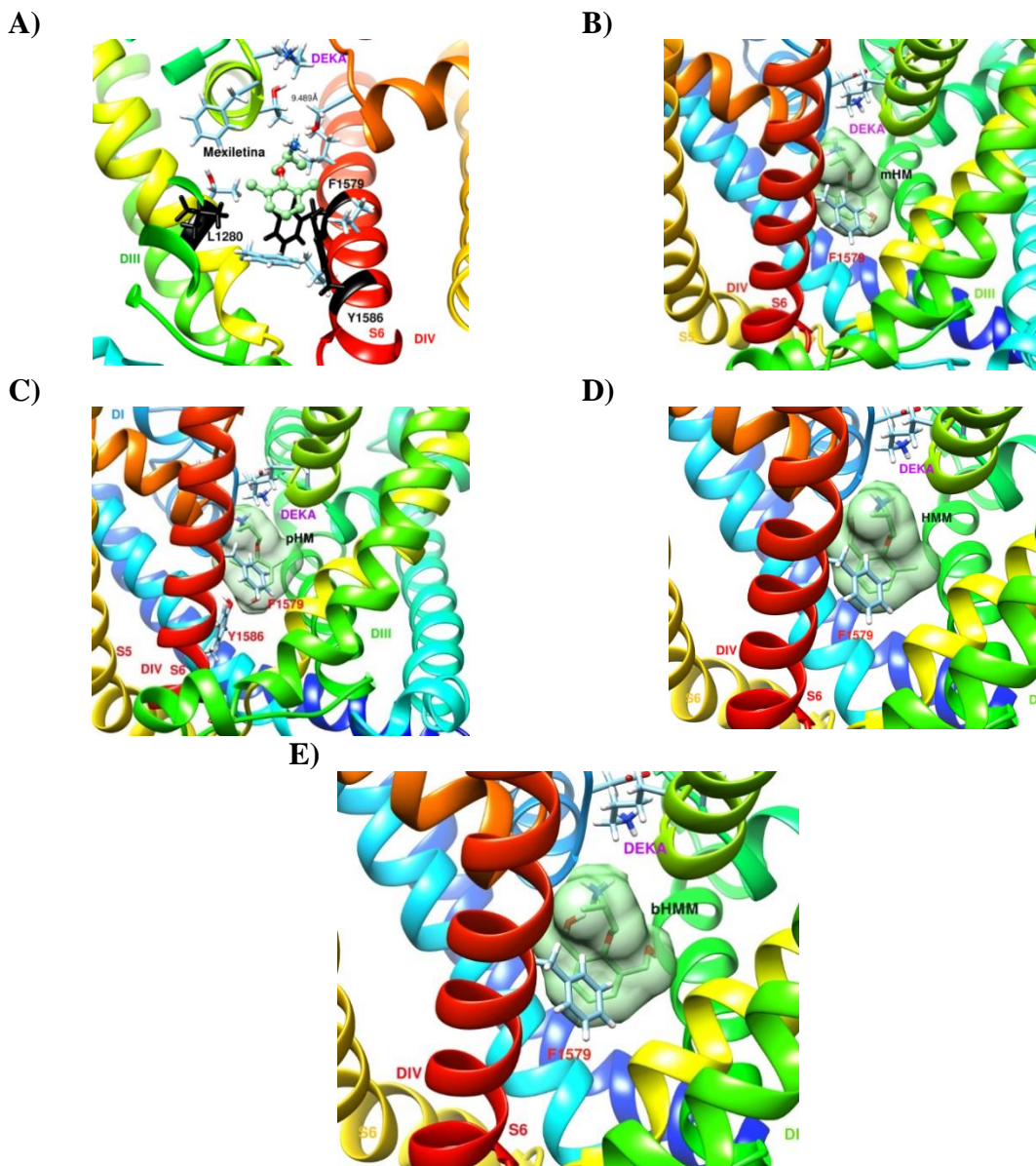


Figura 22. Representación de los sitios de unión de la mexiletina en el hNa_v1.4. Interacción de mexiletina y sus análogos con el LBS, presentando los residuos aminoacídicos que permiten la interacción, en negro los residuos aminoacídicos identificados previamente en la literatura que forman parte del LBS. **A)** la mexiletina interacciona en el LBS (color negro), posicionando su porción hidrofóbica hacia el fondo del canal; y la porción hidrofílica se orienta hacia el filtro de selectividad, sufriendo una repulsión con la lisina del DEKA. **B)** mHM interacciona con la F1579 del LBS y por debajo de la lisina del DEKA, mostrando su nube de densidad electrónica al interactuar con estos dos residuos. **C)** pHM orienta su porción hidrofóbica hacia el fondo del canal, su grupo hidroxilo interacciona con el grupo -OH de la Y1586 del LBS y su porción hidrofílica sufre un proceso de repulsión levándose a cabo con la lisina del DEKA. **D)** HMM interacciona con la F1579 del LBS presentando interacciones π - π , su porción hidrofílica sufre una repulsión con la lisina del DEKA. **E)** bHMM interacciona con la F1579 del LBS y sufre una repulsión con la lisina del DEKA.

7.8 RELACIÓN CUANTITATIVA ESTRUCTURA-ACTIVIDAD (QSAR) DE MEXILETINA Y SUS ANÁLOGOS

Las dosis efectivas medias de inhibición (IC_{50}) para los canales $hNa_v1.4$ reportadas en la literatura para cada molécula realizado por Desaphy y colaboradores: mexiletina 246 y 24.4 μM , mHM 259 y 40.9 μM ; pHM 1086 y 394 μM , HHM 2028 y 790 μM , 11883 y 5190 μM [114] para los estados activado e inactivado respectivamente, (**Figura 23A**) fueron directamente proporcionales a los valores calculados de energía libre de unión al LABS, lo que indica una buena correlación cuantitativa entre los resultados *in silico* y los datos experimentales, donde las potencias inhibitorias de los compuestos están en función de la afinidad al LABS, tanto para el canal en estado activado (**Figura 23B**), como para el canal en estado inactivado (**Figura 23C**). Una vez encontrada la posición final de mexiletina en el sitio de unión, se generaron los 5 modelos de sus análogos en superposición con Mexiletina. Con este estudio, se pueden analizar directamente las diferencias estructurales de los fármacos, relacionarlas con las afinidades y energías de unión; y posteriormente generar un tipo de farmacóforo.

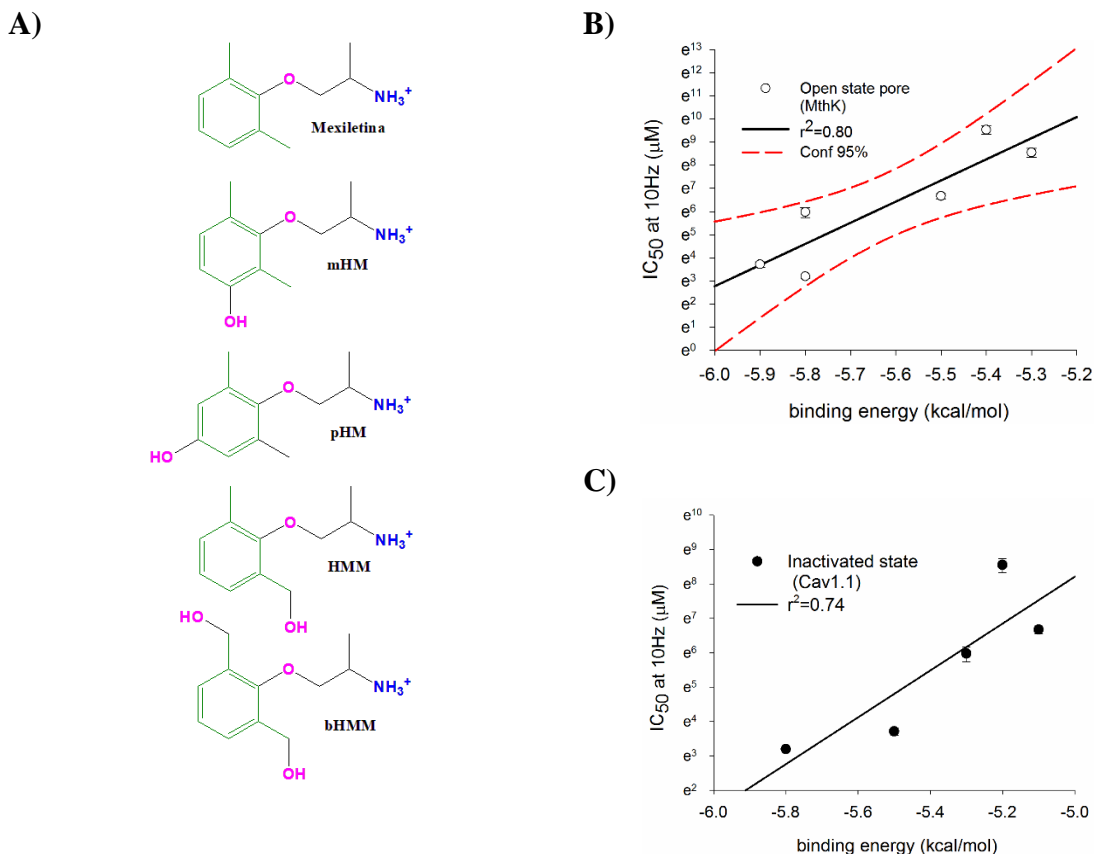


Figura 23. Relación Cuantitativa Estructura Actividad (QSAR) de la mexiletina y sus análogos, producto del acoplamiento molecular al canal $\text{Na}_v1.4$ en estado abierto e inactivado, con datos experimentales de actividad. **A)** Estructuras químicas de las moléculas incluidas en el estudio. El grupo amino primario de la cadena alifática en la sustancia madre (Mexiletina), tiene un grupo polar permanentemente cargado con una carga total positiva $1+$ (NH_3^+). El pKa del grupo amino primario alifático es de 10 a 11, que corresponde a casi 100% de protonación. **B)** Correlación entre el menor valor de energía libre de cada molécula que interacciona con la F1579 en el sitio de anestésicos locales (LABS) y su concentración inhibitoria efectiva 50 en un modelo del canal de sodio en estado activado (base de canal de potasio). **C)** Correlación entre el porcentaje de moléculas que se unieron al LABS y su concentración inhibitoria efectiva 50 en el modelo del canal de sodio en estado inactivado de conejo.

Con respecto a las estructuras de los fármacos, en azul se marcan los centros polares iónicos, el color verde se marca la lipofilidad (región no polar), y en color rosa se marcan los centros de actividad de formación de puentes de hidrógeno. Estas tres zonas constituyen la base mínima estructural para garantizar la función/efecto farmacológico, lo que se define como **farmacóforo**. Otra propiedad del farmacóforo es su carácter anfotérico, este carácter se refiere a una cabeza iónica contra una cola lipofílica, esta propiedad es típica de jabones y tensoactivos. Esta característica física es de importancia en la tecnología farmacéutica puesto que se pueden formar micelas estables, mostrando en su superficie las porciones polares y

hacia dentro las partes lipofílicas o viceversa. Esta característica física repercute en el efecto farmacológico, ya que al ejercer su acción en las células excitables, inhiben la trasmisión de señales produciendo anestesia. Este proceso es indiscriminado, actuará sobre todas las células excitables, lo cual determina la potencia del efecto del anestésico local.

8. DISCUSION DE RESULTADOS

Los anestésicos locales (AL) interaccionan con el canal de sodio con diferente afinidad debido a sus diferentes conformaciones en las que se encuentra el canal. Como menciona la literatura los anestésicos locales presentan diferentes afinidades por el canal de sodio.

En los *blind dockings* se pudo observar que los anestésicos locales tienen diferentes afinidades por las tres conformaciones de los canal estudiadas, concordando con la teoría del receptor modulado, esta teoría menciona que los anestésicos locales presentan diferentes afinidades hacia las conformaciones de los canales de sodio; en los *dockings* observamos que los AL tienen mayor afinidad al canal en estado inactivado esto es debido a que las distancias entre los segmentos S6 en la parte citoplasmática disminuye, generando un área de unión mayor. También los AL muestran diferentes afinidades al interaccionar en diferentes áreas en el canal. Estas áreas son: el sitio de unión denominado LABS (sitio de unión de anestésicos locales) por el cual presentan mayor afinidad; el segundo sitio de afinidad es la interfaz que se encuentra entre los dominios DI y DIV; el tercer sitio de afinidad se encuentra hacia el fondo de los dominios DI y DIV; y el cuarto sitio de afinidad es en el filtro de selectividad. Solo nos enfocamos al sitio de mayor afinidad y donde se encuentra un residuo aminoacídico crucial para la interacción de los AL, el residuo aminoacídico crucial para la interacción es una fenilalanina que se encuentra en el segmento S6 del dominio DIV de los tres canales estudiados.

Las diferencias estructurales de los anestésicos locales median la afinidad que presentan por los canales de sodio. Estructuralmente se puede observar que lidocaína es más pequeña que bupivacaína (R- y S-) y en su porción hidrofílica presenta una amina cuaternaria alifática a diferencia de la bupivacaína que contiene un heterociclo con una sustitución de cuatro carbonos. Mediante sus características fisicoquímicas se pueden deducir las formas de interacción que van a presentar y así mismo su posible sitio de unión. Una de las características fisicoquímicas es el área de superficie apolar (nPSA), que para bupivacaína es de (537-566), lo cual indica que puede presentar un número mayor de interacciones hidrófobas comparada a lidocaína (422 Å²), que tiene una mayor área de superficie polar (PSA). Cabe recalcar esta propiedad fisicoquímica puede deducir el número de puentes de hidrógeno que tendrá la molécula al interaccionar, hay una condición que a mayor PSA

mayor cantidad de puentes de hidrógeno se formarán al momento de la interacción. También se puede observar que a mayor Log P hay más interacciones con las cavidades hidrófobas o que estén más cercanos a las cadenas lipofílicas de la membrana citoplasmática, así, el Log P para bupivacaína es mayor (3.41) que para lidocaína (2.359). Las diferencias en las posiciones de los grupos funcionales hacen que R-bupivacaína tenga mayor afinidad por los canales de sodio en estado inactivado, pero a su vez en experimentos *in vitro* muestran mayor cardiotoxicidad esto último es mencionado por Nau y colaboradores en 2010, ellos realizaron estudios en células HEK293t tanto para el canal hNav1.4 como para el hNav1.5. Nuestros resultados muestran que la afinidad en orden creciente en nuestros resultados logramos encontrar que en orden de afinidad de mayor a menor es: *R-bupivacaína* > *S-bupivacaína* > *Lidocaína*, con las tablas en estado inactivado se puede observar que R-bupivacaína presenta una menor energía de unión presentándose más estable, esta unión puede ser tan estable que posiblemente la unión de R-bupivacaína con el canal se prolongue durante más tiempo haciendo que los pacientes tengan mayores efectos tóxicos. S-bupivacaína al presentar una menor afinidad al canal respecto a R-bupivacaína puede ser usada para el tratamiento de canalopatías de los canales de sodio hNav1.4 y hNav1.6, para el canal hNav1.5 se propone el uso de lidocaína, ya que presenta una afinidad similar por este canal que la mexiletina, presentando energías de unión de -6 kcal/mol; puesto que la mexiletina es usada comúnmente en el tratamiento de canalopatías como ATRST1, SSS1, CMD1E; con los resultados de la interacción de lidocaína con el canal de sodio hNav1.5 proponemos su uso terapéutico para el tratamiento de canalopatías presentes en el canal de sodio cardíaco como el síndrome QT 3 largo.

La mexiletina al tener una estructura similar a la de lidocaína, se describe su forma de interacción con el canal hNav1.4, así mismo, la mexiletina tiene análogos (mHM, pHM, HMM, bHMM) de las que tenemos resultados experimentales publicados por Desaphy y colaboradores y lo correlacionamos con las energías de unión que obtenemos del *docking*. Los resultados del *docking* de mexiletina y sus análogos toman posiciones que fueron previamente publicados por Tikhonov y Zhorov en cuanto a que i) interaccionan con **F1579**, **L1280** y **Y1586** forman parte del LABS, ii) los sustituyentes hidrofílicos en el anillo

aromático disminuyen la afinidad aparente (energía de unión) del fármaco. La mexiletina interactúa directamente con F1579, de acuerdo con lo sugerido por Desaphy y cols. Además, se sitúa entre la ruta de permeación del sodio, pudiendo sufrir un efecto de repulsión electrostática con el grupo amonio de la lisina del DEKA. Los determinantes moleculares encontrados contribuyen a explicar el hecho de que la adición de grupos hidroxilo a la mexiletina, disminuye su potencia de bloqueo tónico, donde los residuos aminoacídicos del dominio DIV: Y1586, F1579 ejercen una repulsión estérica a los sustituyentes hidroxilo.

Para aumentar el estudio de los anestésicos locales, también se realizó el estudio de *blind docking* para ver la forma de interacción con los canales de sodio hNa_v1.4, hNa_v1.5 y hNa_v1.6. Las moléculas que se usaron fueron benzocaína, R- y S-etidocaína, R- Y S-mepivacaína, procaína, QX-314, tetracaína (**Apéndice 2**). Las diferencias estructurales muestran diferencias en la porción hidrofílica, haciendo que interaccionen hacia la interfaz canal-lípidos.

9. CONCLUSION

El sitio de unión para los anestésicos locales se encuentra distribuido dentro de los canales de sodio dependientes de voltaje, el sitio con mayor afinidad es el sitio denominado LABS que contiene el residuo aminoacídico fenilalanina que se encuentra en el segmento S6 del dominio DIV. Los residuos aminoacídicos cercanos al LABS proporcionan un área hidrofóbica para la interacción y posicionamiento de los AL.

La R-bupivacaína se propone para el uso de canalopatías que afectan a los canales $hNa_v1.4$ ya que este presenta una alta afinidad por los canales de sodio tanto en estado preactivado como en estado inactivado.

La S-bupivacaína se propone para el uso de canalopatías que afectan a los canales $hNa_v1.4$ y $hNa_v1.6$ ya que presenta afinidades elevadas por el canal de sodio, pero mostrando bajos efectos tóxicos.

La lidocaína se propone como una nueva forma de tratamiento para las canalopatías que se originan a cabo en el canal $hNa_v1.5$ debido a que presenta bajos o nulos efectos tóxicos y una afinidad similar a mexiletina.

El QSAR sirve como una forma de validar el *docking*, teniendo una correlación lineal entre las energías de unión y las IC_{50} de Mexiletina y sus 4 análogos, concordando con los datos publicados y con la hipótesis del receptor modulado. El QSAR no es para mostrar una tendencia, realizando un QSAR retrospectivo que nos sirve para una validación de datos. Con este QSAR también se validan los otros *dockings* ya que de ellos no se tienen datos experimentales, como en el caso de Mexiletina y sus 4 análogos.

10. REFERENCIAS

1. Hille, B., *Ionic Channels of Excitable Membrans*. Second Edition ed. SINAUER ASSOCIATES. 1984.
2. Scior, T., et al., Predicting a double mutant in the twilight zone of low homology modeling for the skeletal muscle voltage-gated sodium channel subunit beta-1 (Nav1.4 beta1). *Comput Struct Biotechnol J*, 2015. 13: p. 229-40.
3. Isom, L.L., Sodium channel beta subunits: anything but auxiliary. *Neuroscientist*, 2001. 7(1): p. 42-54.
4. Yarov-Yarovoy, V., et al., Structural basis for gating charge movement in the voltage sensor of a sodium channel. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012. 109(2): p. E93-102.
5. Peters, C.H.R., P. C., *Introduction to Sodium Channels*. Vol. 221. 2014: Springer.
6. Kaczmarek, J. and Corry, B. Investigating the size and dynamics of voltage-gated sodium channels fenestrations A molecular dynamics study. *Channels*. 2014. 8(3): 1-14.
7. O'Reilly, A., et al., Bisphenol A binds to the local anesthetic receptor site to block the human cardiac sodium channel. *PLoS one*. 2012. 7(7): e41667.
8. Fozzard, H.A., M.F. Sheets, and D.A. Hanck, The sodium channel as a target for local anesthetic drugs. *Front Pharmacol*, 2011. 2: p. 68.
9. Groome, J.R., *Voltage Gated Sodium Channels*. Vol. 221. 2014: Springer.
10. Capes, D.L., et al., Domain IV voltage-sensor movement is both sufficient and rate limiting for fast inactivation in sodium channels. *J Gen Physiol*, 2013. 142(2): p. 101-12.
11. Groome, J., F. Lehmann-Horn, and B. Holzherr, Open- and closed-state fast inactivation in sodium channels: differential effects of a site-3 anemone toxin. *Channels (Austin)*, 2011. 5(1): p. 65-78.
12. Catterall, W. From ionic currents to molecular mechanism: The structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron*. 2000. 26: p. 13-25.
13. Silva, J., *Slow Inactivation of Na⁺ Channels*. Vol. 221. 2014: Springer.
14. Yu F.H., & Catterall, W. A, Overview of the Voltage-gated sodium channel family. Vol 4. 2003: *Genome Biology*.
15. McClatchey, A. I. et al., Nover mutations in families with unusual and variable disorders of the skeletal muscle sodium channel. *Nature genetics* 1992. 2. 148-152.
16. McClatchey, A. I. et al., Temperature-sensitive mutations in the III-IV cytoplasmic loop region of the skeletal muscle sodium channel gene in paramyotonia congenita. 1992. *Cell*. 68: 769-774.
17. Ptacek, L.J. et al., Sodium channel mutations in paramyotonia congenita and hyperkalemic periodic paralysis. 1993. *Ann. of Neuro*, 33(3): p. 300-307.
18. Dice, M.S. et al., Temperature-sensitive defects in paramyotonia congenita mutants R1448C and T1313M. 2004. *Muscle Nerv*, 30: p. 277-288.
19. Bouhours, M. et al., A1152D mutation of the Na⁺ channel causes paramyotonia congenita and emphasizes the role of DIII/S4-S5 linker in fast inactivation. *J. Physiol*. 2005. 565: p. 415-427.
20. Groome, J.R. Differential effects of paramyotonia congenita mutations F1473S and F1705I on sodium channel gating. *Channels*. 2008. 2: p. 39-50.
21. The Universal Protein Resource Uniprot. <http://www.uniprot.org/uniprot/P35499>.
22. Lerche, H. et al., Human sodium channel myotonia: slowed channel inactivation due to substitutions for a glycine within the III.IV linker. 1993. 470: p. 13-22.
23. Groome, J.R. et al., NaV1.4 mutations cause hypokalemic periodic paralysis by disrupting IIIS4 movement during recovery. *Brain*. 2014. 137: p. 998-1008.
24. Ptacek, L.J. et al., Identification of a mutation in the gene causing Hyperkalemic Periodic Paralysis. *Cell*. 1991. 67: p. 1021-1027.
25. Cummins, T.R. et al., Functional Consequences of a Na⁺ Channel Mutation causing hyperkalemic periodic paralysis. *Neuron*. 1993. 10: p. 667-678.
26. Rojas C.V. et al., A Met-to-Val mutation in the skeletal muscle Na⁺ channel a-subunit in hyperkalemic periodic paralysis. *Nature*. 1991. 354: p. 387-389.
27. Plassart, E. et al., Paramyotonia congenita: genotype to phenotype correlations in two families and report of a new mutation in the sodium channel gene. *J. Neurol Science*. 1996. 142: p. 126-133.
28. Carle, T. et al., Gating defects of a novel Na⁺ channel mutant causing hypokalemic periodic paralysis. *BBRC*. 2006. 348: p. 953-661.
29. Bulman, D.E. et al., A novel sodium channel mutation in a family with hypokalemic periodic paralysis. *Neurology*. 1999. 53: p. 1932-1936.

30. Jurkat-Rott, K. et al., Voltage-sensor sodium channel mutations cause hypokalemic periodic paralysis type 2 by enhanced inactivation and reduced current. *PNAS*. 2000. 97: p. 9549-9554.
31. Bendahhou, S. et al., Sodium channel inactivation defects are associated with acetazolamide-exacerbated hypokalemic periodic paralysis. *Ann Neurol*. 2001. 50: p. 417-420.
32. Vicart, S. et al., New mutations of SCN4A cause a potassium-sensitive normokalemic periodic paralysis. *Neurology*. 2004. 63: p. 2120-2127.
33. Hong, D. et al., Both hypokalaemic and normokalaemic periodic paralysis in different members of a single family with novel R1129Q mutation in SCN4A gene. *J. Neurol. Neurosurg Psychiatry*. 2010. 81: p. 703-704.
34. Ptacek, L.J. et al., Sodium channel mutations in acetazolamide-responsive myotonia congenita, paramyotonia congenita, and hyperkalemic periodic paralysis. *Neurology*. 1994. 44: p. 1500-1503.
35. Fournier, E. et al., Cold extends electromyography distinction between ion channel mutations causing myotonia. *Ann Neurol*. 2006. 60: 356-365.
36. Wang, D.W. et al., Functional consequences of a domain 1/S6 segment sodium channel mutation associated with painful congenital myotonia. *FEBS*. 1999. 448: 231-234.
37. Gay, S. Severe neonatal non-dystrophic myotonia secondary to a novel mutation of the voltage-gated sodium channel (SCN4A) gene. *J. Med*. 2008. 146: p. 380-383.
38. Patitprez, S. et al., A novel dominant mutation of the Nav1.4 alpha-subunit domain I leading to sodium channel myotonia. *Neurology*. 2008. 71: p. 1669-1675.
39. Lee, S.C. et al., Clinical diversity of SCN4A-mutation-associated skeletal muscle sodium channelopathy. *J. Clin. Neurol*. 2009. 5: p. 186-191.
40. Tsujino, A. et al., Myasthenic syndrome caused by mutation of the SCN4A sodium channel. *Proc. Natl. Acad.* 2003. 100: p. 7377-7382.
41. Habbout, K. et al., A recessive Nav1.4 mutation underlies congenital myasthenic syndrome with periodic paralysis. *Neurology*. 2016. 86: p. 161-169.
42. Meregalli, P.G. et al., Type of SCN5A mutation determines clinical severity and degree of conduction slowing in loss-of-function sodium channelopathies. *Heart Rhythm*. 2009. 6(3). p. 341-348.
43. Wang, D.W. et al., Clinical, genetic and biophysical characterisation of SCN5A mutations associated with atrioventricular conduction block. *Circulation*. 2002. 105: p. 341-346.
44. Bezzina, C.R. et al., Compound heterozygosity for mutations (W156X and R225W) in SCN5A associated with severe cardiac conduction disturbances and degenerative changes in the conduction system. *Circ. Res*. 2003. 92: p. 159-168.
45. Ye, B. et al., A common human SCN5A polymorphism modifies expression of an arrhythmia causing mutation. *Physio Genomics*. 2003. 12: p. 187-193.
46. Wang, Q. et al., SCN5A mutations associated with an inherited cardiac arrhythmia, long QT syndrome. *Cell*. 1995. 80: p. 805-811.
47. Wang, Q. et al., Cardiac sodium channel mutations in patients with long QT syndrome, an inherited cardiac arrhythmia. *Hum Mol. Genet*. 1995. 4: 1603-1607.
48. Bennett, P.B. et al., Molecular mechanism for an inherited cardiac arrhythmia. *Nature*. 1995. 376: p. 683-685.
49. An, R.H. et al., Novel LQT-3 mutation affects Na⁺ channel activity through interactions between alpha- and beta1-subunits. *Circ Res*. 1998. 83: p. 141-146.
50. Makita, N. et al., A de novo missense mutation of human cardiac Na⁽⁺⁾ channel exhibiting novel molecular mechanisms of long QT syndrome. *FEBS*. 1998. 423: p. 5-9.
51. Zeng, Z. et al., Electrophysiological characteristics of a SCN5A voltage sensor mutation R1629Q associated with Brugada syndrome. *PLoS ONE*. 2013. 8(10): e78382.
52. Smits, J.P.P. et al., Genotype-Phenotype relationship in Brugada Syndrome: Electrocardiographic features differentiate SCN5A-Related patients from Non-SCN5A-Related patients. *JACC*. 2002. 40: 350-356.
53. Chen, Q. et al., Genetic basis and molecular mechanism for idiopathic ventricular fibrillation. *Nature*. 1998. 392: 293-296.
54. Rook, M.B. et al., Human SCN5A gene mutations alter cardiac sodium channel kinetics and are associated with the Brugada syndrome. *Cardiovasc. Res*. 1999. 44: 507-517.
55. Benson, D.W. et al., Congenital sick sinus syndrome caused by recessive mutations in the cardiac sodium channel gene (SCN5A). *JCI*. 2003. 112: 1019-1028.

56. Akai, J. et al., A novel SCN5A mutation associated with idiopathic ventricular fibrillation without typical ECG findings of brugada syndrome. *FEBS*. 2000. 479: 29-34.
57. Otagiri, T. et al., Cardiac ion channel gene mutations in sudden infant death syndrome. *Pediatr Res*. 2008. 64: p. 482-487.
58. Groenewegen, W.A. et al., A cardiac sodium channel mutation cosegregates with a rare connexin40 genotype in familiar atrial standstill. *Circ Res*. 2003. 92: p. 41-22.
59. McNair, W.P. et al., SCN5A mutation associated with dilated cardiomyopathy conduction disorder, and arrhythmia. *Circulation*. 2004. 110: 2163-2167.
60. Darbar, D. et al., Cardiac sodium channel (SCN5A) variants associated with atrial fibrillation. *Circulation*. 2008. 117: p. 1927-1935.
61. O'Brien, J. et al., Sodium channel SCN8A (Nav1.6): properties and de novo mutations in epileptic encephalopathy and intellectual disability. *Front in Gen*. 2013. 4: p. 213-222.
62. Trudeau, M.M. et al., Heterozygosity for a protein truncation mutation of sodium channel SCN8A in a patient with cerebellar atrophy, ataxia, and mental retardation. *J. Med. Genet*. 2006. 46: p. 527-530.
63. Vaheer, U. et al., De novo SCN8A mutation identified by whole-exome sequencing in a boy with neonatal epileptic encephalopathy multiple congenital anomalies, and movement disorders. *J. Child. Neurol*. 2013. 29(12): NP202-NP206.
64. Gardella, E. et al., Benign Infantile Seizures and Paroxysmal Dyskinesia Caused by an SCN8A Mutation. *Ann Neurol*. 2016. 79: p. 428-436.
65. Anand, G. et al., Autosomal dominant SCN8A mutation with an unusually mild phenotype. *European J. Paediatric Neurol*. 2016. 20: p. 761-765.
66. Wang, G.K. and Strichartz, G.R. State-Dependent inhibition of sodium channels by Local Anesthetics: A 40-Year Evolution. *Biochem (Mosc) Suppl Ser A Membr Cell Biol*. 2012. 6(2): p. 120-127.
67. Becker, D.E. and K.L. Reed, Local anesthetics: review of pharmacological considerations. *Anesth Prog*, 2012. 59(2): p. 90-101; quiz 102-3.
68. Ragsdale, D.S. et al., Molecular determinants of state-dependent block of Na⁺ channels by local anesthetics. *Science*. 1994. 265(5179): p. 1724-8.
69. Goodman & Gilman-Catterall-pag573
70. DrugBank: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00297>
71. DrugBank: <https://www.drugbank.ca/salts/DBSALT000202>
72. PubChem: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2474#section=Vapor-Pressure>
73. Valenzuela, C. et al., Stereoselective Block of Cardiac sodium channels by Bupivacaine in Guinea Pig ventricular myocytes. *Circulation*. 1995. 92: p. 3014-3024.
74. Nau, C. et al., Point mutations at L1280 in Nav1.4 channel D3-S6 Modulate Binding Affinity and stereoselectivity of Bupivacaine Enantiomers. *Mol. Pharm*. 2003. 63(6): p. 1398-1406.
75. Nau, C. et al., Block of Human hH1 Sodium channels by the Enantiomers of Bupivacaine. *Anesthesiology*. 2000. 93: p. 1022-33.
76. DrugBank: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00281>
77. ChemSpider: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.3548.html>
78. DrugBank: (<https://www.drugbank.ca/drugs/DB01086>)
79. Catalano, A., et al., An improved synthesis of m-hydroxymexiletine, a potent mexiletine metabolite. *Drug Metab Lett*, 2012. 6(2): p. 124-8.
80. DrugBank: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00379>
81. Manolis, A.S., et al., Mexiletine: pharmacology and therapeutic use. *Clin Cardiol*, 1990. 13(5): p. 349-
82. Katritsis, D. and Camm, J. Antiarrhythmic Drug classifications and the clinician: A Gambit in the Land of Chaos. *Clin. Cardiol*. 1994. 17: p. 142-148.
83. Desaphy, J.F. et al., Molecular insights into the local anesthetic receptor within voltage-gated sodium channels using hydroxylated analogs of mexiletine. *Front Pharmacol*. 2012. 17(3): 1-12.
84. Martinez, E. Efectos de mexiletina, lidocaína, y benzocaína sobre el canal de sodio de músculo esquelético Nav 1.4, expresado en ovocitos de rana *Xenopus laevis*. Tesis (maestría). 2008.
85. Gargus, J.J. Unraveling monogenic Channelopathies and their implications for complex polygenic disease. *Am J Hum Genet*. 2003. 72(4). p. 785-803.
86. Brackenbury, W.J. and Isom, L.L. Na channel β subunits: Overachievers of the ion channel family. *Front Pharmacol*. 2011. 28(2): 53.
87. Rosenberg, M.S. Sequence Alignment (chapter 1). p. 1-22.
88. Fiser, A. et al., Modeling of loops in protein structures. *Protein Science*. 2000. 9: p. 1753-1773.

89. Webb, B. and Sali, A. Comparative protein structure modeling using MODELLER. *Curr Protoc. Bioinformatics*. 2014. 5.6.1-5.6.32.
90. Eswar, N. et al., Comparative Protein Structure Modeling Using Modeller. *Curr. Protoc. Bioinformatics*. 2006. p. 1-47.
91. Wahab, H.A. et al., Elucidating isoniazid resistance using molecular modeling. *J Chem Inf Model*. 2009. 49(1): p. 97-107.
92. Morris, G.M. and Lim-Wilby, M. Molecular Docking. *Methods in Molecular Biology*, 443. 365-382
93. Scior, T. et al., Antiprotozoal nitazoxanide Derivates: Synthesis, Bioassays and QSAR Study Combined with Docking for Mechanistic Insight. *Current Computed-Aided Drug Design*. 2015. 11: p. 21-31.
94. Lozano-Aponte, J. and Scior, T ¿Qué sabe Ud. acerca de...QSAR?. *Rev Mex Cienc Farm*. 2012. 43(3): 82-84.
95. Scior, T. et al., How to recognize and workaroud pitfalls in QSAR studies: a critical review. *Curr Med Chem*. 2009. 16(32): p. 4297-313.
96. UniProt: <http://www.uniprot.org/uniprot/P35499>
97. UniProt: <http://www.uniprot.org/uniprot/Q14524>
98. UniProt: <http://www.uniprot.org/uniprot/Q9UQD0>
99. Payandeh, J. et al., The crystal structure of a voltage-gated sodium channel. *Nature*. 2011. 475: p. 353-359
100. Zhang, X. et al., Crystal structure of an orthologue of the NaChBac voltage-gated sodium channel. *Nature*. 2012. 486: p. 130-135.
101. Wu, J. et al., Structure of the voltage-gated calcium channel Cav1.1 at 3.6 Å resolution. *Nature*. 2016. 537: p. 190-197.
102. Kubota, T. et al., Mapping of voltage sensor positions in resting and inactivated mammalian sodium channels by LRET. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017. 114(10): E1857-E1865.
103. Tikhonov, D.B. and Zhorov, B.S. Mechanism of sodium channel block by local anesthetics, antiarrhythmics, and anticonvulsivants. *J Gen Physiol*. 2017. 149(4): p. 465-481

11. APÉNDICE

11.1 APÉNDICE 1

MODELADO DE CANALES

1. COMPARACIÓN DEL CANAL CRISTALIZADO (3RVY) CON LOS CANALES DE SODIO DEPENDIENTES DE VOLTAJE MODELADOS

Para la comparación de los canales cristalizados y los modelos generados, se realiza el alineamiento de la secuencia aminoacídica del canal cristalizado y del canal modelado

1.1 Canal cristalizado bacteriano 3RVY con el canal de sodio dependiente de voltaje 1.4 (hNav1.4)

1.1.1. Comparación del dominio I (DI) del canal bacteriano y el hNav1.4

3rvy.pdb, chain A	1001	1	MYLRITNIVE	11	SSFFTKFIY	21	LIVLNGITMG	31	LETSKTFMQS	41	FGVYTTLFNQ
001_Nav14_Align...do.pdb, chain A	1	1	IFRAAIKVLV	11	HALFSMFI	21	TILTNCVFMT	31	MSDPP	41	PWSKNVEY
3rvy.pdb, chain A	1051	51	IVITFTTIEI	61	ILRIY	71	VHRISFFKDP	81	WSLFDFFVVA	91	ISLVPTS
001_Nav14_Align...do.pdb, chain A	44	44	TFTGIYTFES	54	LKILARGFC	64	VDDFTFLRDP	74	WNWLDFFSVIM	84	MAYLTFVD
3rvy.pdb, chain A	1093	101	SGFEILRVL	111	RVLRFRFRLVT	121	AVPQMRKIVS	131	ALISVIPGML	141	SVIALMTLFF
001_Nav14_Align...do.pdb, chain A	93	93	LGNISALRTF	103	RVLRALKTIT	113	VIPGLKTIVG	123	ALIQSVKKLS	133	DVMILTVFCL
3rvy.pdb, chain A	1142	151	YIFAIMATQL	161	FGERFPEWFG	171	TLGESFYTLF	181	QVMTLESWSM	191	GIVRPLMEVY
001_Nav14_Align...do.pdb, chain A	143	143	SVFALVGLQL	153	FMGNLRQLFD	163	TFSWAFLALF	173	RLMTQDYWE	183	NLFQLTLRAAG
3rvy.pdb, chain A	1192	201	PYAWVFFIPF	211	IFVVTFVMIN	221	LVVAICVDAM				
001_Nav14_Align...do.pdb, chain A	193	193	KTYMIFVVI	203	IFLGSFYLIN	213	LILAVVAMAY				

Figura 1. Alineamiento de los residuos aminoacídicos del dominio DI de los canales bacteriano y del dominio DI del hNav1.4. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 Chimera 1.11.2.

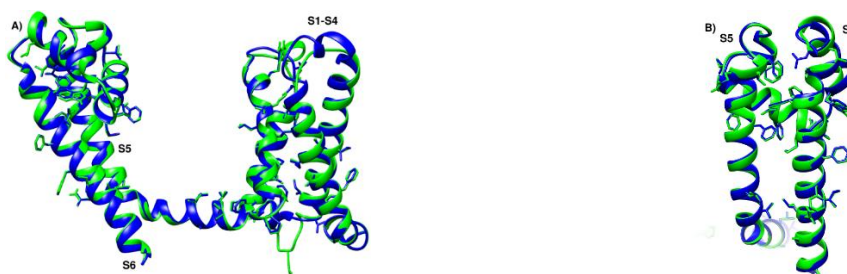


Figura 2. Representación en listón de la superposición del dominio DI del canal bacteriano cristalizado 3RVY (azul) con el DI del canal de sodio dependiente de voltaje 1.4 de humano (hNav1.4) (verde). En donde se muestran los residuos aminoacídicos que están tanto en el canal cristalizado como en el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6). **B)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 1. Residuos aminoácidos que se encuentran en el DI tanto en el canal bacterial como en el hNav1.4.

Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F14	F17	I18	I22	N25	M29	I55	T57	E59	I64
Residuos aminoácidos hNav1.4	F133	F136	I137	I141	N144	M148	I167	T169	E171	I176
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	V71	F76	D79	P80	W81	D85	F86	V88	L107	R108
Residuos aminoácidos hNav1.4	V183	F188	D191	P192	W193	D197	F198	V200	L218	R219
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	R111	V112	L113	R114	T120	P123	I128	V129	A131	L132
Residuos aminoácidos hNav1.4	R222	V223	L224	R225	T231	P234	I239	V240	A242	L243
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	I133	V142	L145	F153	A154	Q159	L160	F161	T171	F176
Residuos aminoácidos hNav1.4	I244	V253	L256	F264	A265	Q270	L271	F272	T391	F396
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	L179	F180	M183	T184	W188	L196	F206	F207	I211	F212
Residuos aminoácidos hNav1.4	L399	F400	M403	T404	W408	L416	F426	F427	I431	F432
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F216	I219	N220	L221	A224	A229				
Residuos aminoácidos hNav1.4	F436	I439	N440	L441	A444	A449				

1.1.2. Comparación del dominio II (DII) del canal bacterial y el hNav1.4

3rvy.pdb, chain B	2001	MYLRITNIVE	SSFFTKFIY	LIVLNGITMG	LET	SKTFMQS	FGVYTTLFNQ
001_Nav14_Alin...do.pdb, chain B	223	FKNIIHLIVM	DPFVDLGITI	CIVLNTLFMA	ME	HYPMTEH	FDNVLTVGNL
3rvy.pdb, chain B	2051	IVITIFTIEI	ILRIYVHR	SFFKDPWSLF	DFVVAISL	VPTSSGF	
001_Nav14_Alin...do.pdb, chain B	272	VFTGIFTAEM	VLKLIAMD	PYEYFQQGWNIF	DSIIIVTLSLV	ELGLANVQGL	
3rvy.pdb, chain B	2096	EILRVLRVLR	LFRLVTAVPQ	MRKIVSALIS	VIPGMLSVIA	LMTLFFYIFA	
001_Nav14_Alin...do.pdb, chain B	322	SVLRSFRLLR	VFKLAKSWPT	LNMLIKIIGN	SVGALGNLTL	VLAIIVFIFA	
3rvy.pdb, chain B	2146	IMATQLFGER	FPEWFGTLGE	SFYTLFQVMT	LESWSMGIVR	PLMEVYYP	
001_Nav14_Alin...do.pdb, chain B	372	VVGMQLFGKS	YKECKIALD	SFLIVFRILC	GEW	IETMWDCMEVAGQAM	
3rvy.pdb, chain B	2194	AWVFFIPFIF	VVTFVMINLV	VAICVDAM			
001_Nav14_Alin...do.pdb, chain B	419	CLTVFLMVMV	IGNLVVLLNF	LALLLSSF			

Figura 3. Alineamiento de los residuos aminoácidos del DII del canal bacterial y el DII del hNav1.4. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2.



Figura 4. Representación en listón de la superposición del dominio DII del canal bacteriano cristalizado 3RVY (azul) con el DII del canal de sodio dependiente de voltaje 1.4 de humano (hNav1.4) (verde). En donde se muestran los residuos aminoácidos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6) . **B)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 2. Residuos aminoácidos que se encuentran en el DII tanto en el canal bacteriano como en el hNav1.4.

Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	I5	I8	V9	F13	I18	I22	V23	L24	N25	M29
Residuos aminoácidos hNav1.4	I571	I574	I575	F579	I584	I588	V589	L590	N591	M595
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	E32	F41	T46	N49	I55	F56	T57	E59	L62	F73
Residuos aminoácidos hNav1.4	E598	F606	T611	N614	I620	F621	T622	E624	L627	F638
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	W77	F80	D81	V85	S88	L89	G99	L103	R104	R107
Residuos aminoácidos hNav1.4	W642	F645	D646	V650	S653	L654	G664	L668	R669	R672
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	L109	R110	F112	L114	P119	I148	F49	A150	Q155	L156
Residuos aminoácidos hNav1.4	L674	R675	F677	L679	P684	I713	F714	A715	Q720	L721
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F157	G158	E163	S171	F172	F176	E182	W184	M193	E194
Residuos aminoácidos hNav1.4	F722	G723	E728	S750	F751	F755	E761	W762	M770	E771
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	V195	F205	V215	N218	L219	A222				
Residuos aminoácidos hNav1.4	V772	F782	V792	N795	L796	A799				

1.1.3. Comparación del dominio III (DIII) del canal bacterial y el hNa_v1.4

3rvy.pdb, chain C	1001	MYLRITNIVE	SSFFTKEFIY	LIVLNGITMG	LETISKTFMQS	FGVYTTLFN
001_Nav14_Alin...do.pdb, chain C	447	LRRACFKIVE	HNWFETFIVF	MILLSSGALA	FEDIYIEQRR	VRTILEYAD
3rvy.pdb, chain C	1050	QIVITIFTIE	TILRIYVH	RISFFKDPWS	LFDFVVAIS	LVPTSS...G
001_Nav14_Alin...do.pdb, chain C	497	KVFTYIFIME	MLLKWVAYG	KVYFTNAWC	WLDFLIVDVS	IISLVANWLG
3rvy.pdb, chain C	1095	FEILRVLRVL	RLFRLVAVP	QMRKIVSALI	SVIPGMLSVI	ALMTLFFYIF
001_Nav14_Alin...do.pdb, chain C	546	YKSLRTLRL	RPLRALSRFE	GMRVVVNALL	GAIPSIMNVL	LVCLIFWLI
3rvy.pdb, chain C	1145	AIMATQLFGE	RFPEWFGTLG	ESFYTLFQVM	TLESWSMGIV	RPLMEVYPYA
001_Nav14_Alin...do.pdb, chain C	596	SIMGVNLFAG	KFYCYCIDNVG	LGYLSLLQVA	TFKQWMDIMY	QPQYEVNLYM
3rvy.pdb, chain C	1195	WVFFIPFIFV	VTFVMINLVV	AICVDAM		
001_Nav14_Alin...do.pdb, chain C	646	YLYFVIFIF	GSFFTLNLF	GVIIDNF		

Figura 5. Alineamiento de los residuos aminoacídicos del dominio DIII del canal bacterial y el dominio DIII del hNa_v1.4. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2

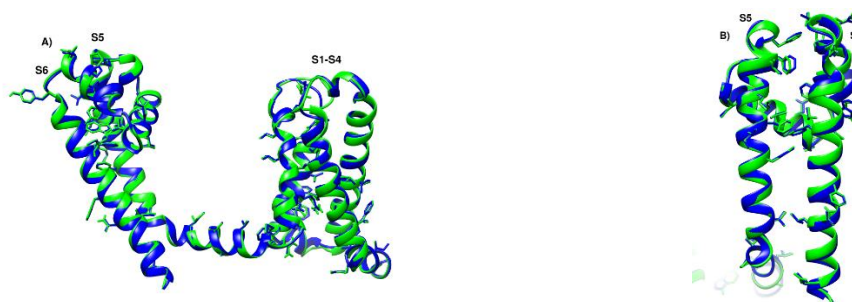


Figura 6. Representación en listón de la superposición del dominio DIII del canal bacteriano cristalizado 3RVY (azul) con el DIII del canal de sodio dependiente de voltaje 1.4 de humano (hNa_v1.4) (verde). En donde se muestran los residuos aminoacídicos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6). **B)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 3. Residuos aminoacídicos que se encuentran en el DIII tanto en el canal bacteriano como en el hNa_v1.4.

Residuos aminoacídicos Bacterial (3RVY)	I8	V9	E10	F14	F17	I18	I22	L24	E32	I56
Residuos aminoacídicos hNa _v 1.4	I1027	V1028	E1029	F1033	F1036	I1037	I1041	L1043	E1051	I1075
Residuos aminoacídicos Bacterial (3RVY)	F57	E60	L63	F75	W79	D83	F84	V87	S90	G100
Residuos aminoacídicos hNa _v 1.4	F1076	E1079	L1082	F1093	W1097	D1101	F1102	V1105	S1108	G1118

Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	L104	R105	L107	R108	L110	R111	R114	M122	R123	V126
Residuos aminoácidos hNav1.4	L1128	R1129	L1131	R1132	L1134	R1135	R1138	M1146	R1147	V1150
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	A128	L129	I133	P134	V139	F146	I149	F150	I152	M153
Residuos aminoácidos hNav1.4	A1152	L1153	I1158	P1159	V1164	F1171	I1174	F1175	I1177	M1178
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	L157	F158	F162	G170	L176	Q178	V179	T181	W185	P192
Residuos aminoácidos hNav1.4	L1182	F1183	F1186	G1131	L1137	Q1139	V1140	T1142	W1146	P1163
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	E195	V196	Y199	F204	F206	I207	F213	N217	L218	D225
Residuos aminoácidos hNav1.4	E1166	V1167	Y1170	F1175	F1178	I1179	F1184	N1188	L1189	D1196

1.1.4. Comparación del dominio IV (DIV) del canal bacterial y el hNav1.4

3rvy.pdb, chain D	2001	1	11	21	31	41
001_Nav14_Align...do.pdb, chain D	673	1	11	21	31	41
3rvy.pdb, chain D	2051	51	61	71	81	91
001_Nav14_Align...do.pdb, chain D	722	51	61	71	81	91
3rvy.pdb, chain D	2101	101	111	121	131	141
001_Nav14_Align...do.pdb, chain D	772	101	111	121	131	141
3rvy.pdb, chain D	2151	151	161	171	181	191
001_Nav14_Align...do.pdb, chain D	822	151	161	171	181	191
3rvy.pdb, chain D	2200	201	211	221		
001_Nav14_Align...do.pdb, chain D	869	201	211	221		

Figura 7. Alineamiento de los residuos aminoácidos del DIV del canal bacterial y el DIV del hNav1.4. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2.

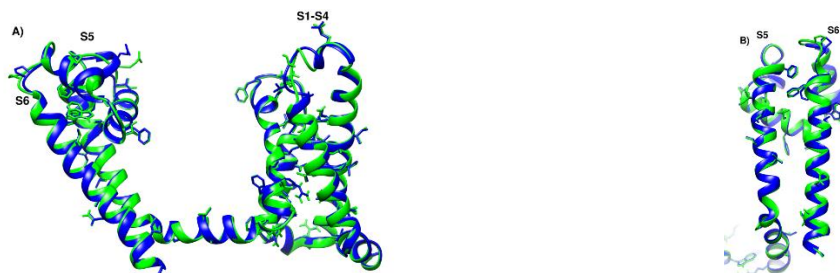


Figura 8. Representación en listón de la superposición del dominio DIV del canal bacteriano cristalizado 3RVY (azul) con el DIV del canal de sodio dependiente de voltaje 1.4 de humano (hNav_v1.4) (verde). En donde se muestran los residuos aminoácidos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6) . **B)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 4. Residuos aminoácidos que se encuentran en el DVI tanto en el canal bacteriano como en el hNav_v1.4.

Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	V9	F14	I18	L21	I22	L24	N25	T28	M29	E32
Residuos aminoácidos hNav _v 1.4	V1350	F1355	I1359	L1362	I1363	L1365	N1366	T1368	M1369	E1372
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	T33	Q39	N49	I51	I53	I55	F56	T57	E59	L62
Residuos aminoácidos hNav _v 1.4	T1373	Q1378	N1389	I1391	I1393	I1395	F1396	T1397	E1399	L1402
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	R68	F72	W76	F79	D80	F81	V83	V84	S87	V89
Residuos aminoácidos hNav _v 1.4	R1408	F1412	W1416	F1419	D1420	F1421	V1423	V1424	S1427	V1429
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F95	R99	R102	R105	R108	L109	R117	A122	L123	P128
Residuos aminoácidos hNav _v 1.4	D1447	R1451	R1454	I1457	R1460	L1461	R1469	A1474	L1475	P1480
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	L136	L139	I143	I146	F152	E158	T161	G163	S165	L170
Residuos aminoácidos hNav _v 1.4	L1488	L1491	I1495	I1498	F1504	E1510	T1520	G1523	S1525	L1529

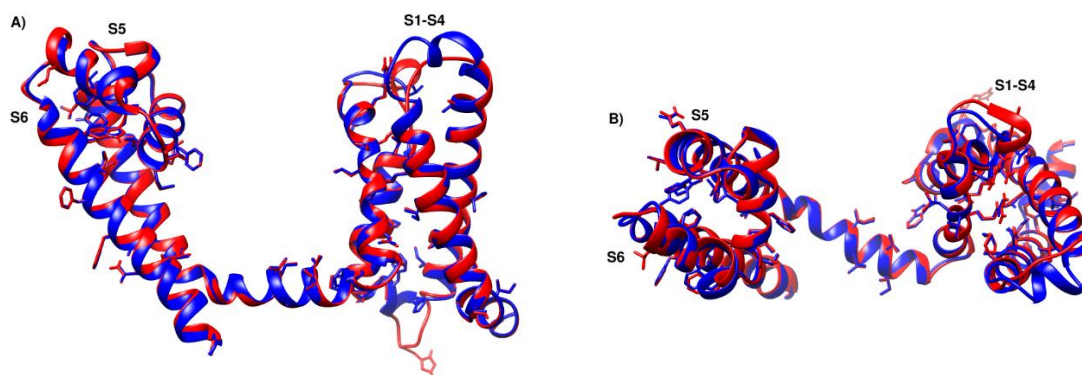
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F171	T175	W179	G182	P186	P193	F198	F199	I203	N212
Residuos aminoácidos hNav _v 1.4	F1530	T1534	W1538	G1540	P1544	P1551	F1577	F1578	I1582	N1591
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	A216	I217								
Residuos aminoácidos hNav _v 1.4	A1595	I1596								

1.2 Canal cristalizado bacterial 3RVY con el canal de sodio dependiente de voltaje 1.5 (hNav_v1.5)

1.2.1. Comparación del dominio I (DI) del canal bacterial y el hNav_v1.5

RMSD: ca	1	11	21	31	41	
3rvy.pdb, chain A	1001	MYLRITNIVE	SSFFTKFIY	LIVLNGITMG	LETSKTFMQS	FGVYTTLFNQ
002_Nav15Alig_...as.pdb, chain A	1	IFRAAVKILV	HSLFNMLIMC	TILTNCVFMA	QHPPP.....	..PWTKYVEY
RMSD: ca	51	61	71	81	91	
3rvy.pdb, chain A	1051	IVITIFTIEI	TLRIVY	VHRTSFFKDP	WSLFDFVVA	ISLVPTS...
002_Nav15Alig_...as.pdb, chain A	44	TFTAITYTES	LVKILARCF	LHAFITLRDP	WNWLDPSVII	MAYT.TEFVD
RMSD: ca	101	111	121	131	141	
3rvy.pdb, chain A	1093	SGFEILRVL	RVLRLFRVLT	AVPQMRKIVS	ALISVIPGML	SVIALMTLFF
002_Nav15Alig_...as.pdb, chain A	93	LGNVSALRTF	RVLRALKTIS	VISGLKTIVG	ALIQSVKKLA	DVMVLTVFCL
RMSD: ca	151	161	171	181	191	
3rvy.pdb, chain A	1142	YIFAIMATQL	FGERFPEWFG	TLGESFYTLF	QVMTLESWSM	GIVRPLMEVY
002_Nav15Alig_...as.pdb, chain A	143	SVFALIGLQL	FMGNLRALFD	SFAWAFLALF	RLMTQDCWER	LYQQTLRSAG
RMSD: ca	201	211	221			
3rvy.pdb, chain A	1192	PYAWVFFIPF	IFVVTFVMIN	LVVAICVDAM		
002_Nav15Alig_...as.pdb, chain A	193	KIYMIFFMLV	IFLGSFYLVN	LILAVVAMAY		

Figura 9. Alineamiento de los residuos aminoácidos del dominio DI del canal bacterial y el dominio DI del hNav_v1.5. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.



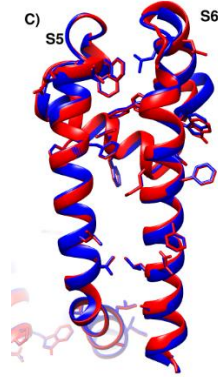


Figura 10. Representación en listón de la superposición del dominio DI del canal bacteriano cristalizado 3RVY (azul) con el DI del canal de sodio dependiente de voltaje 1.5 de humano (hNav_v1.5) (rojo). En donde se muestran los residuos aminoácidos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** y **B)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6) . **C)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 5. Residuos aminoácidos que se encuentran en el DI tanto en el canal bacteriano como en el hNav_v1.5.

Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	I8	S12	F14	I18	I22	N25	M29	T45	I55	T57
Residuos aminoácidos hNav _v 1.5	I127	S131	F133	I137	I141	N144	M148	T157	I167	T169
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	E59	I64	H72	F76	D79	P80	W81	D85	F86	V88
Residuos aminoácidos hNav _v 1.5	E171	I176	H184	F188	D191	P192	W193	D197	F198	V200
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	T96	L107	R108	R111	V112	L113	R114	I128	V129	A131
Residuos aminoácidos hNav _v 1.5	T203	L218	R219	R222	V223	L224	R225	I239	V240	A242
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	L132	T133	V142	L145	F153	A154	Q159	L160	F161	F169
Residuos aminoácidos hNav _v 1.5	L243	T244	V253	L256	F264	A265	Q270	L271	F272	F355

Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F176	L179	F180	M183	T184	W188	L196	F206	F207	I211
Residuos aminoácidos hNa _v 1.5	F362	L365	F366	M369	T370	W374	L382	F392	F393	I397
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F212	F216	N220	L221	A224					
Residuos aminoácidos hNa _v 1.5	F398	F402	N406	L407	A410					

1.2.2. Comparación del dominio II (DII) del canal bacterial y el hNa_v1.5

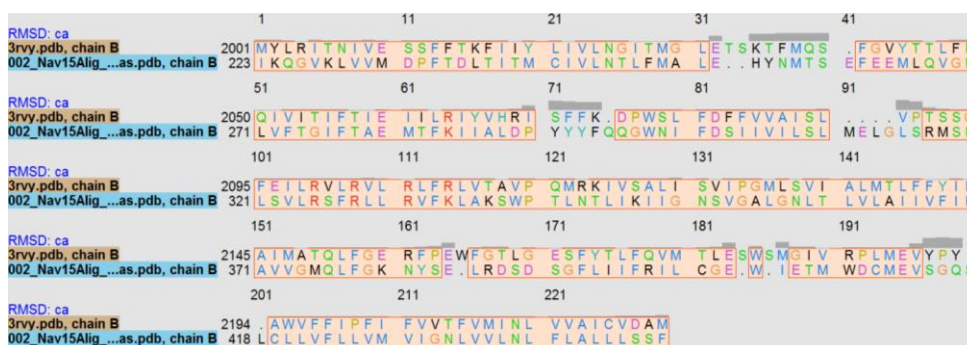


Figura 11. Alineamiento de los residuos aminoácidos del DII del canal bacterial y el DII del hNa_v1.5. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2.

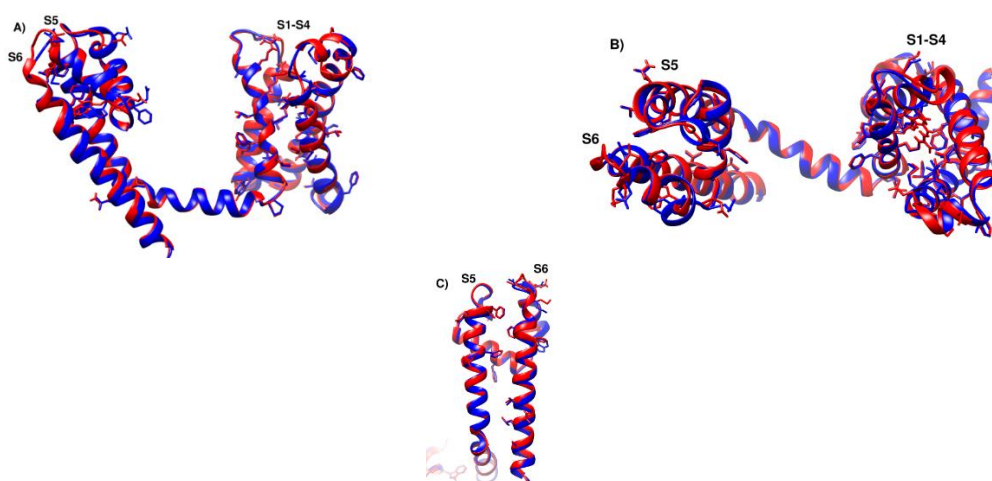


Figura 12. Representación en listón de la superposición del dominio DII del canal bacterial cristalizado 3RVY (azul) con el DII del canal de sodio dependiente de voltaje 1.5 de humano (hNa_v1.5) (rojo). En donde se muestran los residuos aminoácidos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** y **B)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la

posición de los segmentos 1-6 (S1-S6) . C) Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 6. Residuos aminoácidos que se encuentran en el DII tanto en el canal bacterial como en el hNa_v1.5.

Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	V9	F13	I18	I22	V23	L24	N25	M29	L31	E32
Residuos aminoácidos hNa _v 1.5	V714	F718	I723	I727	V728	L729	N730	M734	L736	E737
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	M38	S40	F42	N50	I56	F57	T58	E60	I65	W78
Residuos aminoácidos hNa _v 1.5	M741	S743	F745	N753	I759	F760	T761	E763	I768	W781
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F81	D82	V86	S89	L90	S99	L104	R105	R108	L110
Residuos aminoácidos hNa _v 1.5	F784	D785	V789	S792	L793	S802	L807	R808	R811	L813
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	R111	F113	L115	P120	I149	F150	A151	Q156	L157	F158
Residuos aminoácidos hNa _v 1.5	R814	F816	L818	P823	I852	F853	A854	Q859	L860	F861
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	G159	E163	F173	F177	E183	W185	M194	E195	V196	F206
Residuos aminoácidos hNa _v 1.5	G862	E867	F888	F892	E898	W899	M907	E908	V909	F919
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	V216	N219	L220	A223						
Residuos aminoácidos hNa _v 1.5	V929	N932	L933	A936						

1.2.3. Comparación del dominio III (DIII) del canal bacterial y el hNa_v1.5

	1	11	21	31	41		
RMSD: ca							
3rvy.pdb, chain C	1001	MYLRITNIVE	SSFFTKEFIY	LIVLNGITMG	L.ETS	SKTFMQ	SFGVYTLFN
002_Nav15Alig...as.pdb, chain C	447	LRKTCYHIVE	HSWFETFIIF	MILLSSCALA	FEDI	YLEERK	TIKVLLEYAD
	51	61	71	81	91		
RMSD: ca							
3rvy.pdb, chain C	1050	QIVITIFTIE	IILRIYVH	RISFFKDPWSL	FDFVVAISL	...VPTS	SSGF
002_Nav15Alig...as.pdb, chain C	497	KMFTYVFVLE	MLLKWVAYG	GKKYFTNAWCW	LDFLIVDVSL	VSLVANT	LGF
	101	111	121	131	141		
RMSD: ca							
3rvy.pdb, chain C	1096	EILRVLRVLR	LFRLVTAVPQ	MRKIVSALIS	VIPGMLSVIA	LMTLFFYIFA	
002_Nav15Alig...as.pdb, chain C	547	KSLRTLRLALR	PLRALSRFEG	MRVVVNALVG	AIPSIMNVLL	VCLIFWLIFS	
	151	161	171	181	191		
RMSD: ca							
3rvy.pdb, chain C	1148	IMATQLFGER	FPEWFGTLGE	SFYTLFQVMT	LESWSMGIVR	PLMEVYPYAW	
002_Nav15Alig...as.pdb, chain C	597	LMGVNLFAGK	FGRCIDNVGA	GYLALLQVAT	FKGWM	DIIMYQ	PQWEYNLYMY
	201	211	221				
RMSD: ca							
3rvy.pdb, chain C	1196	VFFI	PFTFVV	TFVM	INLVVA	TCVDA	M
002_Nav15Alig...as.pdb, chain C	647	IYFV	FIFIFG	SFFT	LNLFIG	VIIDNF	

Figura 13. Alineamiento de los residuos aminoacídicos del DIII del canal bacterial y el DIII del hNav1.5. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2

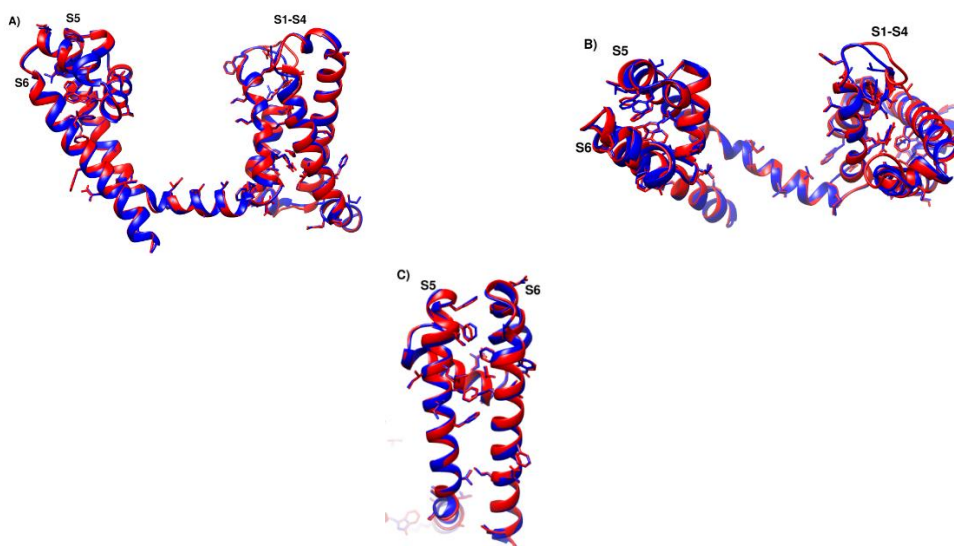


Figura 14. Representación en listón de la superposición del dominio DIII del canal bacteriano cristalizado 3RVY (azul) con el DII del canal de sodio dependiente de voltaje 1.5 de humano (hNa_v1.5) (rojo). En donde se muestran los residuos aminoácidos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** y **B)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6) . **C)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 7. Residuos aminoácidos que se encuentran en el DIII tanto en el canal bacteriano como en el hNa_v1.5.

Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	I8	V9	E10	S12	F14	F17	I18	I19	I22	L24
Residuos aminoácidos hNa _v 1.5	I1201	V1202	E1203	S1205	F1207	F1210	I1211	I1212	I1215	L1217
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	V44	F57	E60	L63	F74	W78	D82	F83	S89	L90
Residuos aminoácidos hNa _v 1.5	V1237	F1250	E1253	L1256	F1267	W1271	D1275	F1276	S1282	L1283
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	V94	G99	F100	L103	R104	L106	R107	L109	R110	R113
Residuos aminoácidos hNa _v 1.5	V1287	G1292	F1293	L1302	R1303	L1305	R1306	L1308	R1309	R1312
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	M121	R122	V125	A127	L128	I132	P133	V138	F145	I148
Residuos aminoácidos hNa _v 1.5	M1320	R1321	V1324	A1326	L1327	I1331	P1332	V1337	F1344	I1347
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F149	I151	M152	L156	F157	F161	G169	L175	Q177	V178
Residuos aminoácidos hNa _v 1.5	FF1348	I1350	M1351	L1355	F1356	F1360	G1406	L1412	Q1414	V1415
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	T180	W184	E194	F203	F206	I207	F212	N216	L217	D224
Residuos aminoácidos hNa _v 1.5	T1417	W1421	E1441	F1450	F1453	I1454	F1459	N1463	L1464	D1471

1.2.4. Comparación del dominio IV (DIV) del canal bacterial y el hNa_v1.5

RMSD: ca	1	11	21	31	41	
3rvy.pdb, chain D	2001	MYLRITNIVE	SSFFTKEIY	LIVLNGITMG	LETSKTFMQS	FGVYTTLFNQ
002_Nav15Alig...as.pdb, chain D	673	YQGFIFDIVT	KQAFDVTIMF	LICLNMVTMM	VEDDQ.SPE	KINILAKINL
RMSD: ca	51	61	71	81	91	
3rvy.pdb, chain D	2051	IVITIFTIEI	ILRIYVHRIS	FFKDPWSLFD	FFVVAISLVP	TSSGFEILRV
002_Nav15Alig...as.pdb, chain D	722	LFVAIFTGEC	IVKLAALRHY	YFTNSWNIFD	FVVVILSIVG	TVLLFRVIRL
RMSD: ca	101	111	121	131	141	
3rvy.pdb, chain D	2101	LRVLRFRFLV	TAVPQMRKIV	SALISVIPGM	LSVIALMTLF	FYIFAIMATQ
002_Nav15Alig...as.pdb, chain D	772	ARIGRILRLI	RGAKGIRTLI	FALMMSLPAL	FNIGLLFLV	MFIYSIFGMA
RMSD: ca	151	161	171	181	191	
3rvy.pdb, chain D	2151	LFGERFPEWF	GTLGESFYTL	FQVMTLESWS	MGIVRPLMEV	YPYAWVFFI
002_Nav15Alig...as.pdb, chain D	822	NFA..YVKWF	QTFANSMCL	FQITTSAGW.	DGLLSPIINT	GPPYGILFFT
RMSD: ca	201	211	221			
3rvy.pdb, chain D	2200	PFIFVVTFVM	INLVVAICVD	AM		
002_Nav15Alig...as.pdb, chain D	869	TYIIISFLIV	VNMYAIIIE	NF		

Figura 15. Alineamiento de los residuos aminoacídicos del DIV del canal bacterial y el DIV del hNa_v1.5. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2

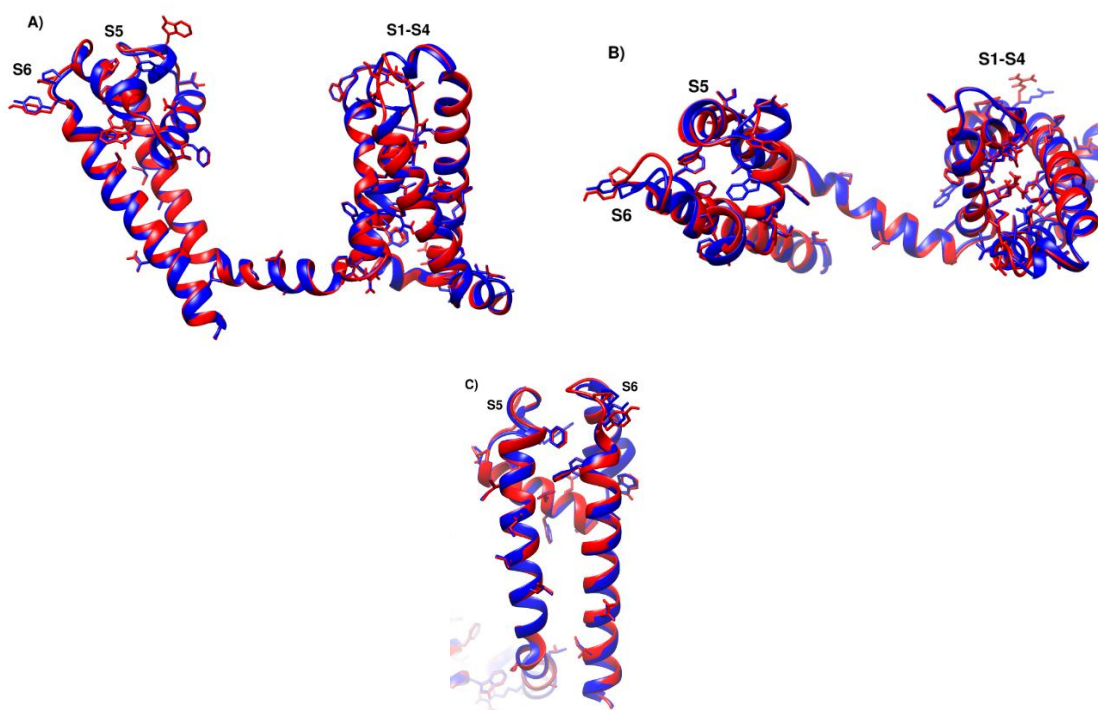


Figura 16. Representación en listón de la superposición del dominio DIV del canal bacteriano cristalizado 3RVY (azul) con el DIV del canal de sodio dependiente de voltaje 1.5 de humano (hNa_v1.5) (rojo). En donde se muestran los residuos aminoacídicos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** y **B)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6). **C)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 8. Residuos aminoacidicos que se encuentran en el DIV tanto en el canal bacterial como en el hNa_v1.5.

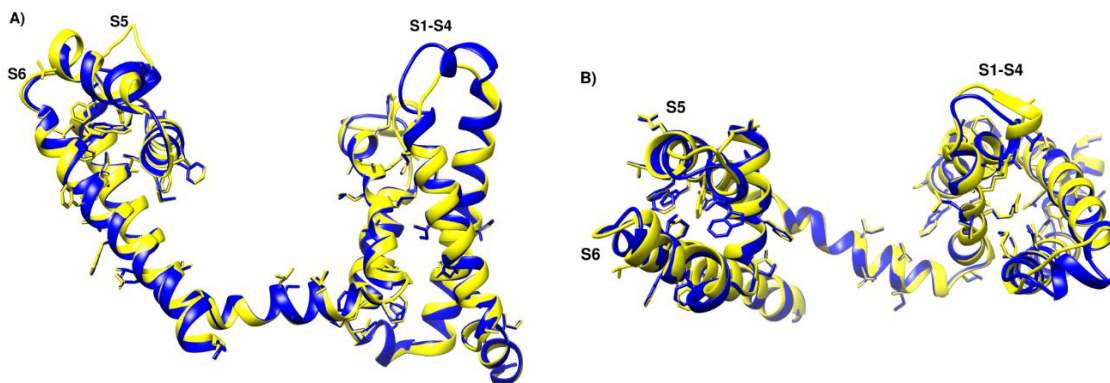
Residuos aminoacidicos Bacterial (3RVY)	I5	I8	V9	F14	I18	L21	I22	L24	N25	T28
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	I1521	I1524	V1525	F1530	I1534	L1537	I1538	L1540	N1541	T1544
Residuos aminoacidicos Bacterial (3RVY)	M29	E32	T33	N49	I55	F56	T57	E59	I61	R68
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	M1545	E1548	T1549	N1564	I1570	F1571	T1572	E1576	I1576	R1583
Residuos aminoacidicos Bacterial (3RVY)	F72	W76	F79	D80	F81	V83	V84	S87	V89	T91
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	F1587	W1591	F1594	D1595	F1596	V1598	V1599	S1602	V1604	T1606
Residuos aminoacidicos Bacterial (3RVY)	F95	R99	R102	R105	R108	L109	R117	A122	L123	P128
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	F1622	R1626	R1629	R1632	R1635	L1636	R1644	A1649	L1650	P1655
Residuos aminoacidicos Bacterial (3RVY)	L136	L139	I143	I146	F152	W159	T162	L170	F171	Q172
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	L1663	L1666	I1670	I1673	F1679	W1684	T1696	L1704	F1705	Q1706
Residuos aminoacidicos Bacterial (3RVY)	T175	W179	G182	P186	P193	Y194	F198	F199	I203	N212
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	T1709	W1713	G1715	P1719	P1726	Y1727	F1751	F1752	I1756	N1765
Residuos aminoacidicos Bacterial (3RVY)	A216	I217								
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	A1769	I1770								

1.3 Canal cristalizado bacterial 3RVY con el canal de sodio dependiente de voltaje 1.6 (hNav1.6)

1.3.1. Comparación del dominio I (DI) del canal bacterial y el hNav1.6

3rvy.pdb, chain A	1001	1	11	21	31	41
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain A	1	MYLRITNIVE	SSFFTKFIY	LIVLNGITMG	LETSKTFMQS	FGVYTTLFNQ
		FIRIAIKILI	HSVFSMIIMC	TILTNCVFMT	FSNPP.....	..DWSKNVEY
3rvy.pdb, chain A	1051	51	61	71	81	91
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain A	44	IVITIFTIEI	ILRIYVHRIS	FFKDPWSLFD	FFVVAISLVP	TS.....SGFE
		TFTGIYTFES	ARGFCIDGFT	FLRDPWNWLD	FSVIMMAYI.	TEFVNLGNVS
3rvy.pdb, chain A	1097	101	111	121	131	141
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain A	93	ILRVLRVLRRL	FRLVTAVPQM	RKIVSALISV	IPGMLSVAL	MTLFFYIFAI
		ALRTFRVLRA	LKTISVIPGL	KTIVGALIQS	VKKLSDVMIL	TVFCLSVFAL
3rvy.pdb, chain A	1147	151	161	171	181	191
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain A	143	MATQLF.....	GERFPEWFGT	LGESFYTLFQ	VMTLESWSMG	IVRPLMEVYP
		IGLQLFMGNL	RNKCVVW.DT	FSWAFLLALFR	LMTQDYWENL	YQLTLRAAGK
3rvy.pdb, chain A	1193	201	211	221		
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain A	192	YAWVFFIPFI	FVVTFVMINL	VVAICVDAM		
		TYMIFFVLVI	FVGSFYLVNL	ILAVVAMAY		

Figura 17. Alineamiento de los residuos aminoacídicos del DI del canal bacterial y el DI del hNav1.6. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2



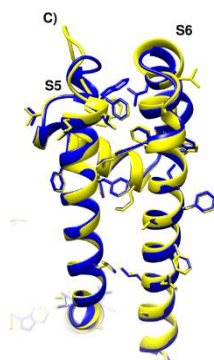


Figura 18. Representación en listón de la superposición del dominio DI del canal bacteriano cristalizado 3RVY (azul) con el DI del canal de sodio dependiente de voltaje 1.6 de humano (hNav1.6) (amarillo). En donde se muestran los residuos aminoácidos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** y **B)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6) . **C)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 9. Residuos aminoácidos que se encuentran en el DI tanto en el canal bacteriano como en el hNav1.6.

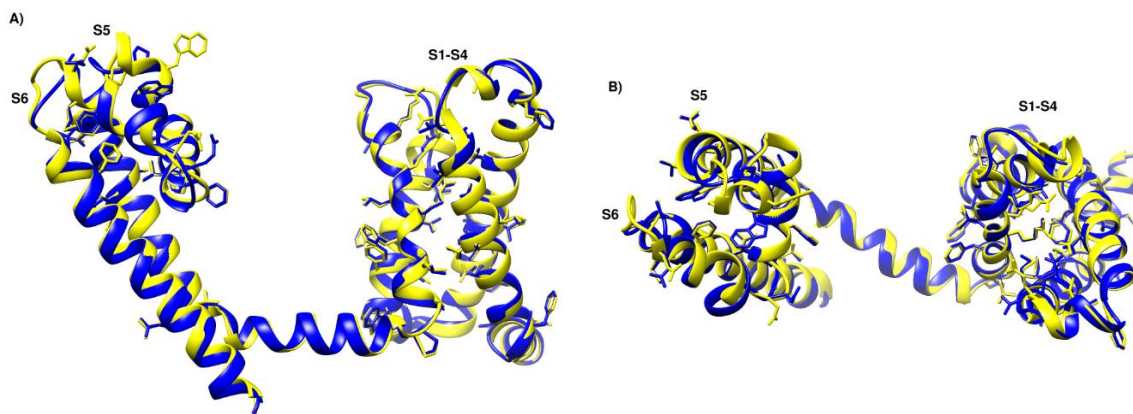
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	I8	S12	F14	I18	I22	N25	M29	I55	T57	E59
Residuos aminoácidos hNav1.6	I128	S132	F134	I138	I142	N145	M149	I168	T170	E172
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F71	D74	P75	W76	D80	F81	V83	T91	L102	R103
Residuos aminoácidos hNav1.6	F189	D192	P193	W194	D198	F199	V201	T208	L219	R220
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	R106	V107	L108	R109	P118	I123	V124	A126	L127	T128
Residuos aminoácidos hNav1.6	R223	V224	L225	R226	P235	I240	V241	A243	L244	T245
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	L140	F148	A149	Q154	L155	F156	W167	T170	F175	L178
Residuos aminoácidos hNav1.6	L257	F265	A266	Q271	L272	F273	W284	T355	F360	L363

Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F179	M182	T183	W187	L195	F205	F206	I210	F211	V212
Residuos aminoácidos hNav1.6	F364	M367	T368	W372	L379	F390	F391	I395	F396	V397
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F215	N219	L220	A223						
Residuos aminoácidos hNav1.6	F400	N404	L405	A408						

1.3.2. Comparación del dominio II (DII) del canal bacterial y el hNav1.6

3rvy.pdb, chain B	2001	1	11	21	31	41
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain B	221	1	11	21	31	41
3rvy.pdb, chain B	2047	51	61	71	81	91
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain B	266	51	61	71	81	91
3rvy.pdb, chain B	2092	101	111	121	131	141
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain B	316	101	111	121	131	141
3rvy.pdb, chain B	2142	151	161	171	181	191
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain B	366	151	161	171	181	191
3rvy.pdb, chain B	2191	201	211	221	231	
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain B	414	201	211	221	231	

Figura 19. Alineamiento de los residuos aminoácidos del DII del canal bacterial y el DII del hNav1.6. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2



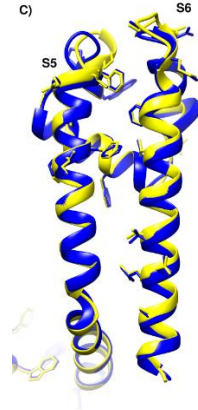


Figura 20. Representación en listón de la superposición del dominio DII del canal bacteriano cristalizado 3RVY (azul) con el DII del canal de sodio dependiente de voltaje 1.6 de humano (hNav1.6) (amarillo). En donde se muestran los residuos aminoácidos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** y **B)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6) . **C)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 10. Residuos aminoácidos que se encuentran en el DII tanto en el canal bacteriano como en el hNav1.6.

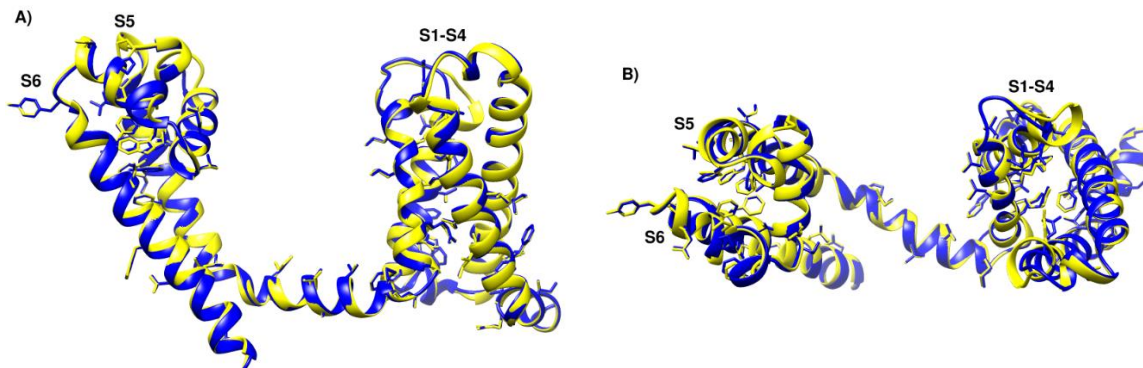
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	I8	V9	F13	I18	I22	V23	L24	N25	M29	E32
Residuos aminoácidos hNav1.6	L66	V750	F754	I759	I763	V764	L765	N766	M770	E773
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	T37	F45	N53	I59	F60	T61	E63	L66	W81	F84
Residuos aminoácidos hNav1.6	T778	F781	N789	I795	F796	T797	E799	L802	W817	F820
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	D85	F87	V89	S92	L93	G103	L107	R108	R111	L113
Residuos aminoácidos hNav1.6	D821	F823	V825	S828	L829	G839	L843	R844	R847	L849
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	R114	F116	L118	P123	I152	F153	A154	Q159	L160	F161

Residuos aminoácidos hNav _v 1.6	R850	F852	L854	P859	I888	F889	A890	Q895	L896	F897
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	G162	P166	W168	S176	F177	F181	V183	E187	M198	E199
Residuos aminoácidos hNav _v 1.6	G898	P915	W917	S925	F926	F930	V932	E936	M945	E946
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	V200	F210	V220	N223	L224	A227				
Residuos aminoácidos hNav _v 1.6	V947	F957	V967	N970	L971	A974				

1.3.3. Comparación del dominio III (DIII) del canal bacterial y el hNav_v1.6

3rvy.pdb, chain C	1001	1	11	21	31	41
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain C	447	1	11	21	31	41
3rvy.pdb, chain C	1050	51	61	71	81	91
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain C	497	51	61	71	81	91
3rvy.pdb, chain C	1096	101	111	121	131	141
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain C	547	101	111	121	131	141
3rvy.pdb, chain C	1146	151	161	171	181	191
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain C	597	151	161	171	181	191
3rvy.pdb, chain C	1195	201	211	221		
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain C	647	201	211	221		

Figura 21. Alineamiento de los residuos aminoácidos del DIII del canal bacterial y el DIII del hNav_v1.6. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2



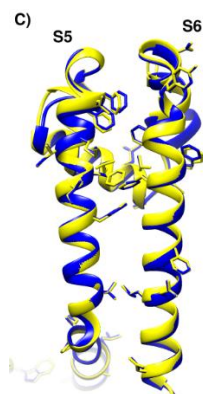


Figura 22. Representación en listón de la superposición del dominio DIII del canal bacteriano cristalizado 3RVY (azul) con el DIII del canal de sodio dependiente de voltaje 1.6 de humano (hNav_v1.6) (amarillo). En donde se muestran los residuos aminoácidos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** y **B)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6) . **C)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 11. Residuos aminoácidos que se encuentran en el DIII tanto en el canal bacteriano como en el hNav_v1.6.

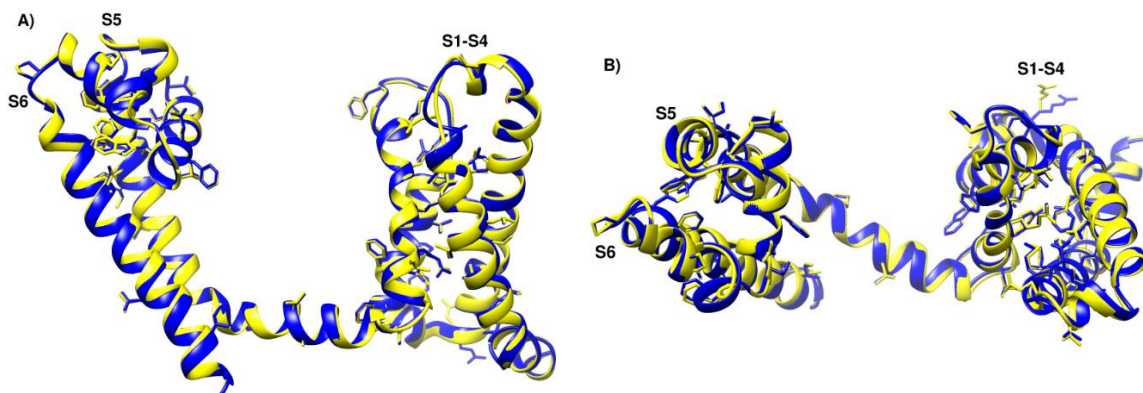
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	I8	V9	E10	F14	F17	I18	I19	I22	L24	E32
Residuos aminoácidos hNav _v 1.6	I1194	V1195	E1196	F1200	F1203	I1204	I1205	I1208	L1210	E1218
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	I56	F57	E60	L63	F73	F74	W78	D82	F83	V86
Residuos aminoácidos hNav _v 1.6	I1242	F1243	E1246	L1249	F1259	G1260	W1264	D1268	F1269	V1272
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	A87	S89	L90	V91	G99	L103	R104	L106	R107	L109
Residuos aminoácidos hNav _v 1.6	A1273	S1275	L1276	V1277	G1285	L1295	R1296	L1298	R1299	L1301
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	R110	R113	M121	R122	V125	A127	L128	I132	P133	V138
Residuos aminoácidos hNav _v 1.6	R1302	R1305	M1313	R1314	V1317	A1319	L1320	I1324	P1325	V1330

Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F145	I148	F149	I151	M152	L156	F157	F165	G170	L176
Residuos aminoácidos hNav _v 1.6	F1337	I1340	F1341	I1343	M1344	L1348	F1348	F1357	G1400	L1406
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	Q178	V179	T181	W185	P192	E195	Y199	F204	F207	I208
Residuos aminoácidos hNav _v 1.6	Q1408	V1409	T1411	W1415	I431	E1438	Y1440	F1443	F1446	I1447
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F213	N217	L218	D225						
Residuos aminoácidos hNav _v 1.6	F1453	N1457	L1458	D1465						

1.3.4. Comparación del dominio IV (DIV) del canal bacterial y el hNav_v1.6

3rvy.pdb, chain D	2001	1	11	21	31	41
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain D	674	1	11	21	31	41
		MYLRITNIVE	SSFFTKEFIY	LIVLNGITMG	LETSTTFMQS	FGVYTTLFNQ
		IQGIVDFDVT	QQAFDIVIMM	LICLNMVTMM	VETD	TQSKQ MENILYWINL
3rvy.pdb, chain D	2051	51	61	71	81	91
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain D	723	51	61	71	81	91
		IVITIFTIEI	ILRIYVHRIS	FFKDPWSLFD	FFVVAISLVP	TSSGFELRV
		VFVIFFTCEC	VLKMFALRHY	YFTIGWNIFD	FVVVILSIVG	MPTLFRVIRL
3rvy.pdb, chain D	2101	101	111	121	131	141
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain D	773	101	111	121	131	141
		LRVLRFLRLV	TAVPQMRKIV	SALISVIPGM	LSVIALMTLF	FYIFAIMATQ
		ARIGRILRLI	KGAKGIRTL	FALMMSLPAL	FNIGLLLFLV	MFIFSIFGMS
3rvy.pdb, chain D	2151	151	161	171	181	191
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain D	823	151	161	171	181	191
		LFGERFPEWF	GTLGESFYTL	FQVMTLESWS	MGIVRPLMEV	YPYAWVFFIP
		NFAIDDMFNF	ETFGNSMICL	FQITTSAGWD	GLLLPILNR	PPVGIFFFVS
3rvy.pdb, chain D	2201	201	211	221		
003_Nav6_sin_asas.pdb, chain D	872	201	211	221		
		FIFVVTFVMI	NLVVAICVDA	M		
		YIIISFLIVV	NMYIAIILEN	F		

Figura 23. Alineamiento de los residuos aminoácidos del DIV del canal bacterial y el DIV del hNav_v1.6. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2



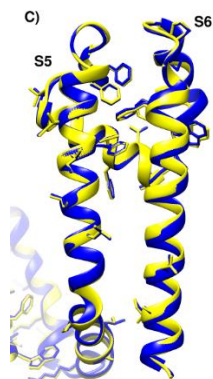


Figura 24. Representación en listón de la superposición del dominio DIV del canal bacteriano cristalizado 3RVY (azul) con el DIV del canal de sodio dependiente de voltaje 1.6 de humano (hNav1.6) (amarillo). En donde se muestran los residuos aminoácidos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** y **B)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6) . **C)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 12. Residuos aminoácidos que se encuentran en el DIV tanto en el canal bacteriano como en el hNav1.6.

Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	V9	F14	I18	L21	I22	L24	N25	T28	M29	E32
Residuos aminoácidos hNav1.6	V1519	F1524	I1528	L1531	L1532	L1534	N1535	T1538	M1539	E1542
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	T33	T36	N49	F56	T57	E59	L62	R68	F72	W76
Residuos aminoácidos hNav1.6	T1543	T1545	N1558	F1565	T1566	E1568	L1571	R1577	F1581	W1585
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F79	D80	F81	V83	V84	S87	V89	F95	R99	R102
Residuos aminoácidos hNav1.6	F1588	D1589	F1590	V1592	V1593	S1596	V1598	F1616	R1620	R1623
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	R105	R108	L109	R117	A122	L123	P128	L136	L139	I143
Residuos aminoácidos hNav1.6	R1626	R1629	L1630	R1638	A1643	L1644	P1649	L1657	L1660	I1664
Residuos aminoácidos Bacterial (3RVY)	F144	I146	F152	F160	T162	G164	S166	L170	F171	Q172

Residuos aminoacidicos hNav1.6	F1665	I1667	F1673	F1688	T1690	G1692	S1694	L1698	F1699	Q1700
Residuos aminoacidicos Bacterial (3RVY)	T175	W179	G182	P186	P192	F197	F198	I202	W211	A215
Residuos aminoacidicos hNav1.6	T1703	W1707	G1709	P1713	P1719	F1745	F1746	I1750	W1759	A1763
Residuos aminoacidicos Bacterial (3RVY)	I216									
Residuos aminoacidicos hNav1.6	I1764									

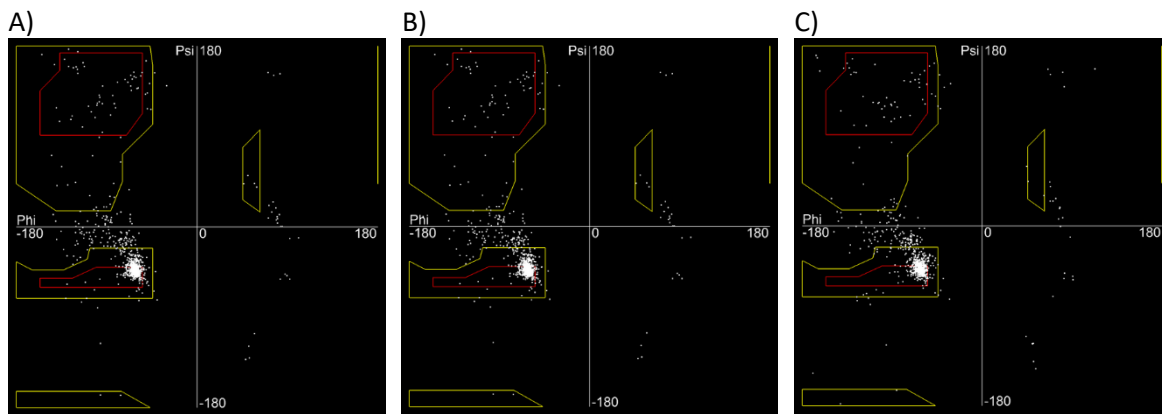


Figura 24a. Cuadros de Ramachandran, estos cuadros representan las posiciones de las cadenas laterales de acuerdo a los ángulos Phi (ángulo formado entre el Amino terminal y Carbono alfa) y Psi (ángulo formado entre el Carbono alfa y el carboxilo terminal). **A)** En el cuadro de Ramachandran del Nav1.4, nos muestra que la estructura del canal es mayoritariamente de alfa hélices. **B)** En el cuadro de Ramachandran del Nav1.5, la representación muestra que la estructura del canal es mayoritariamente de alfa hélices. **C)** En el cuadro de Ramachandran del Nav1.6, se presenta que la estructura del canal es mayoritariamente de alfa hélices.

2. COMPARACIÓN DEL CANAL CRISTALIZADO (4DXW) CON LOS CANALES DE SODIO DEPENDIENTES DE VOLTAJE MODELADOS

2.1 Canal cristalizado bacterial 4DXW con el canal de sodio dependiente de voltaje 1.4 (hNav1.4)

2.1.1. Comparación del dominio I (DI) del canal bacterial y el hNav1.4

001_4dxw-het_alig.pdb, chain A qseq1_A.B99990002.pdb	1	11	21	31	41
	2	12	22	32	42
	1	11	21	31	41
001_4dxw-het_alig.pdb, chain A qseq1_A.B99990002.pdb	51	61	71	81	91
	49	59	69	79	89
001_4dxw-het_alig.pdb, chain A qseq1_A.B99990002.pdb	101	111	121	131	141
	97	107	117	127	137
001_4dxw-het_alig.pdb, chain A qseq1_A.B99990002.pdb	151	161	171	181	191
	147	157	167	177	187
001_4dxw-het_alig.pdb, chain A qseq1_A.B99990002.pdb	201	211	221	231	
	175	185	195	205	
001_4dxw-het_alig.pdb, chain A qseq1_A.B99990002.pdb	197	207	217	227	

Figura 25. Alineamiento de los residuos aminoácidos del DI del canal bacteriano y el DI del hNa_v1.4. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 Chimera 1.11.2

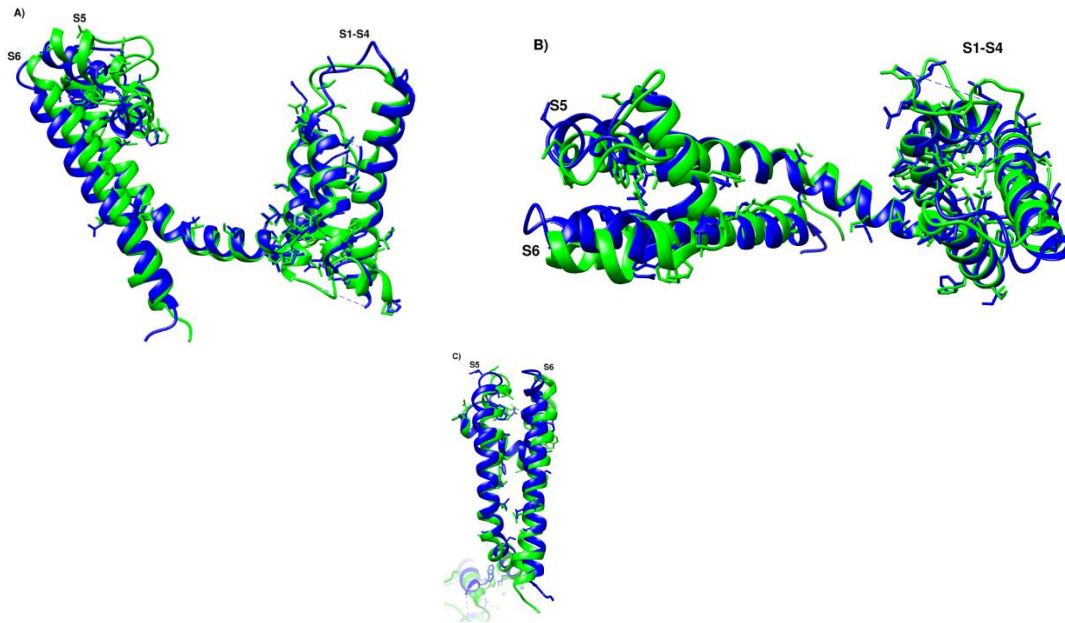


Figura 26. Representación en listón de la superposición del dominio DI del canal bacteriano cristalizado 4DXW (azul) con el DI del canal de sodio dependiente de voltaje 1.4 de humano (hNa_v1.4) (verde). En donde se muestran los residuos aminoácidos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6). **B)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 13. Residuos aminoácidos que se encuentran en el DI tanto en el canal bacteriano como en el hNa_v1.4.

Residuos aminoácidos Bacteriano (4DXW)	P3	S6	K9	I13	F14	F16	N25	V27	T32	P38
Residuos aminoácidos hNa _v 1.4	P85	S88	K91	I102	F103	F105	N144	V146	T149	P154

Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	T52	I57	I59	L60	R62	G65	W78	N79	D82	T92
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.4	T168	I173	I175	L176	R178	G179	W193	N194	D197	T207
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	V95	I100	L103	R104	R107	R110	L112	I115	V117	I118
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.4	V210	I215	L218	R219	R222	R225	L227	I230	V232	I233
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	P119	L121	K122	I124	A127	S131	V132	V138	L141	L146
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.4	P234	L236	K237	I239	A242	S246	V247	V253	L256	L261
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	A150	G153	L156	G159	N160	R167	W168	D174	L182	F183
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.4	A265	G268	L271	G274	N275	R282	W283	D289	L399	F400
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	T187	W191	E192	F210	I214	S218	N223	L224	A227	
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.4	T404	W408	E409	F427	I431	S435	N440	L441	A444	

1.1.2. Comparación del dominio II (DII) del canal bacterial y el hNa_v1.4

001_4dxw-het_alig.pdb, chain B	1	11	21	31	41
qseq1_B.B99990002.pdb	4 . . . F F S S L K D	N R I F Q F T V V S	I I I L N A V L I G	A T T Y E L D P L F	L E T I H L L D Y G
	1 C A P W L K L I V M	D P F V D L G I T I	C I V L N T L F M A	M E H Y P M T E H F	D N V L T V G N L V
001_4dxw-het_alig.pdb, chain B	51	61	71	81	91
qseq1_B.B99990002.pdb	51 I T I F F V I E I L	I R F I G . . . E K	Q K A S G W N I F D	T V I V A I S L I P	. . I P N N S S F L
	51 F T G I F T A E M V	L K L I A M D P Y E	Y F Q Q G W N I F D	S I I V T L S L V E	L G L A N V Q G L S
001_4dxw-het_alig.pdb, chain B	101	111	121	131	141
qseq1_B.B99990002.pdb	96 V L R L L R I F R V	L R L I S V I P E L	K Q I I E A I L E S	V R R V F F V S L L	L F I I L Y I Y A T
	101 V L R S F R L L R V	F K L A K S W P T L	N M L I K I I G N S	V G A L G N L T L V	L A I I V F I F A V
001_4dxw-het_alig.pdb, chain B	146	161	171	181	191
qseq1_B.B99990002.pdb	146 M G A I L F G N D D	P S R W G D L G I S	L I T L F Q V L T L	S S W E T V M L P M	Q E I . . Y W W S W
	151 V G M Q L F G K S Y	K E C V C K I A L D	F L I V F R I L C .	G E W I E T M W D C	M E V A G Q A M C L
001_4dxw-het_alig.pdb, chain B	201	211	221	231	
qseq1_B.B99990002.pdb	194 V Y F F S F I I I C	S I T I L N L V I A	T L V D V V I Q K K	L E	
	200 T V F L M V M V I G	N L V V L N L F L A	L L L S S F S A D S	L A	

Figura 27. Alineamiento de los residuos aminoacídicos del DII del canal bacterial y el DII del hNa_v1.4. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2

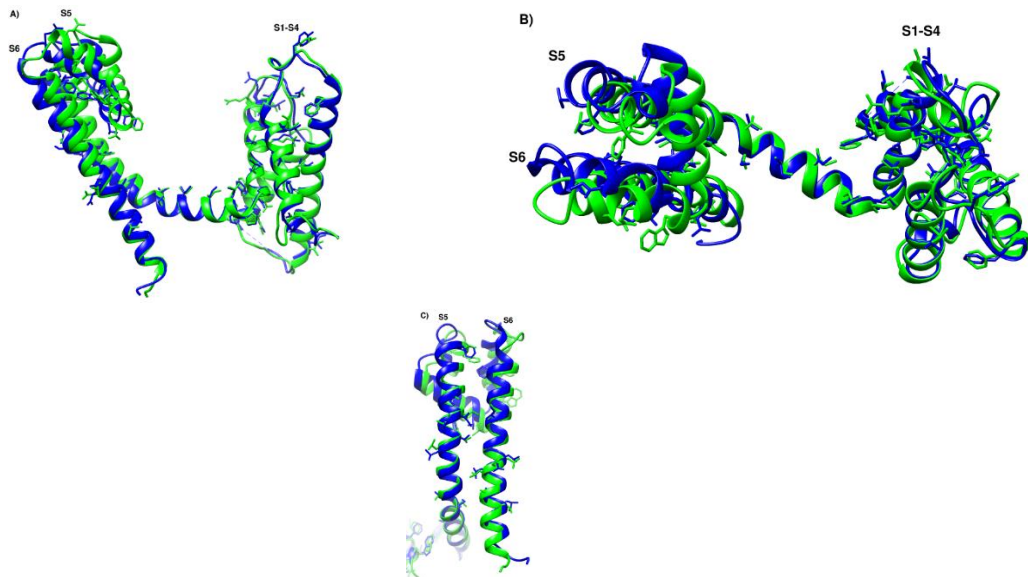


Figura 28. Representación en listón de la superposición del dominio DII del canal bacteriano cristalizado 4DXW (azul) con el DII del canal de sodio dependiente de voltaje 1.4 de humano (hNa_v1.4) (verde). En donde se muestran los residuos aminoacídicos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6). **B)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 14. Residuos aminoacidicos que se encuentran en el DII tanto en el canal bacterial como en el hNav1.4.

Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	I22	L24	N25	Y34	F40	T52	F55	E58	I64	G75
Residuos aminoacidicos hNav1.4	I588	L590	N591	Y600	F606	T618	F621	E624	I630	G641
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	W76	N77	I78	F79	D80	I83	V84	S87	L88	N95
Residuos aminoacidicos hNav1.4	W642	N643	I644	F645	D646	I649	V650	S653	L654	N661
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	V101	L102	R103	R106	R109	V110	L113	P118	L120	I124
Residuos aminoacidicos hNav1.4	V667	L668	R669	R672	R675	V676	L679	P684	L686	I690
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	I127	S130	V131	L139	L141	I143	I144	I147	A149	G152
Residuos aminoacidicos hNav1.4	I693	S696	V697	L705	L707	I709	I710	I713	A715	G718
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	L155	F156	G157	F175	L178	W183	M187	E192	F203	I209
Residuos aminoacidicos hNav1.4	L721	F722	G723	F755	L758	W762	M766	E771	F782	I788
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	L215	N216	L217	A220	L222					
Residuos aminoacidicos hNav1.4	L794	N795	L796	A799	L801					

1.1.3. Comparación del dominio III (DIII) del canal bacterial y el hNa_v1.4

4dxw-het.pdb, chain C	1	M	T	P	F	F	S	S	L	K	D	11	N	R	I	F	Q	F	T	V	V	S	21	I	I	I	L	N	A	V	L	I	G	31	A	T	T	Y	E	L	D	P	L	F	41	L	E	T	I	H	L	L	D	Y	G
qseq1_C.B99990003.pdb	1	R	R	A	C	F	K	I	V	E	H	N	W	F	E	T	F	I	V	F	M	I	L	L	S	S	G	A	L	A	F	E	D	I	Y	I	E	Q	L	E	Y	A	D	K	V	
4dxw-het.pdb, chain C	51	I	T	I	F	F	V	I	E	I	L	61	I	R	F	I	G	E	K	Q	K	A	71	D	F	F	K	S	G	W	N	I	F	81	D	T	V	I	V	A	I	S	L	I	91	P	I	P	N	N	S	S	F	L	V
qseq1_C.B99990003.pdb	45	F	T	Y	I	F	I	M	E	M	L	45	L	K	W	V	A	Y	G	F	K	V	55	Y	F	T	N	A	W	C	W	L	65	D	F	L	I	V	D	V	S	I	I	75	S	L	V	A	N	G	P	I	K	S	
4dxw-het.pdb, chain C	101	L	R	L	L	R	I	F	R	V	L	111	R	L	I	S	V	I	P	E	L	K	121	Q	I	E	A	I	L	E	S	V	131	R	R	V	F	F	V	S	L	L	L	141	F	I	L	Y	I	Y	A	T	M		
qseq1_C.B99990003.pdb	94	L	R	T	L	R	A	L	R	P	L	94	R	A	L	S	R	F	E	G	M	R	104	V	V	V	N	A	L	L	G	A	I	114	P	S	I	M	N	V	L	L	V	C	124	L	I	F	W	L	I	F	S	I	M
4dxw-het.pdb, chain C	151	G	A	I	L	F	.	G	N	D	D	161	P	S	R	W	G	D	L	G	I	S	171	L	I	T	L	F	Q	V	L	T	L	181	S	S	W	E	T	V	M	L	P	M	191	Q	E	I	Y	W	W	S	W	V	Y
qseq1_C.B99990003.pdb	144	G	V	N	L	F	A	G	K	T	G	144	K	V	N	Y	D	N	V	G	L	G	154	Y	L	S	L	L	Q	V	A	T	F	164	K	G	W	M	D	I	M	Y	P	Q	174	Y	E	V	N	L	Y	M	Y	L	Y
4dxw-het.pdb, chain C	200	F	F	S	F	I	I	C	S	I	210	T	I	L	N	L	V	I	A	I	L	220	V	D	V	V	I	Q	K	K	L	E	230																						
qseq1_C.B99990003.pdb	194	F	V	I	F	I	F	G	S	F	194	F	T	L	N	L	F	I	G	V	I	204	I	D	N	F	N	Q	Q	K	K	K	214																						

Figura 29. Alineamiento de los residuos aminoacídicos del DIII del canal bacterial y el DIII del hNa_v1.4. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2

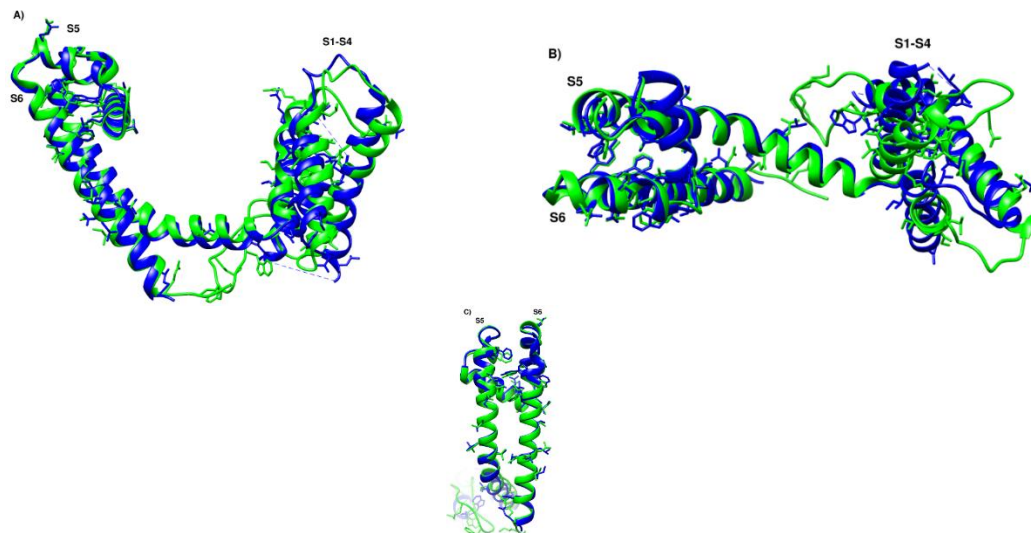


Figura 30. Representación en listón de la superposición del dominio DIII del canal bacterial cristalizado 4DXW (azul) con el DIII del canal de sodio dependiente de voltaje 1.4 de humano (hNa_v1.4) (verde). En donde se muestran los residuos aminoacídicos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6). **B)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 15. Residuos aminoacidicos que se encuentran en el DIII tanto en el canal bacterial como en el hNav_v1.4.

Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	I13	I23	L28	L41	E42	T59	F62	V63	E65	L67
Residuos aminoacidicos hNav _v 1.4	I1201	I1211	L1216	L1229	E1230	T1247	F1250	V1251	E1253	L1255
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	K76	F80	W84	D88	I91	V92	S95	L96	N102	L108
Residuos aminoacidicos hNav _v 1.4	K1264	F1267	W1271	D1275	I1578	V1279	S1282	L1283	N1289	L1302
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	R109	L111	R112	R115	L117	R118	S121	A132	V143	L145
Residuos aminoacidicos hNav _v 1.4	R1303	L1305	R1306	R1309	L1311	R1312	S1315	A1326	V1337	L339
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	I149	I153	M157	G158	L161	F162	G164	G175	L181	Q183
Residuos aminoacidicos hNav _v 1.4	I1343	I1347	M1351	G1352	L1355	F1356	G1358	G1406	L1412	Q1414
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	V184	T186	W190	M194	E199	Y207	F208	F211	I212	I213
Residuos aminoacidicos hNav _v 1.4	V1415	T1417	W1421	M1425	E1441	Y1449	F1450	F1453	I1454	I1455
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	S216	L220	N221	L222	I224	D229	Q223	K235		
Residuos aminoacidicos hNav _v 1.4	S1458	L1462	N1463	L1464	I1466	D1471	Q1475	K1477		

1.1.4. Comparación del dominio IV (DIV) del canal bacterial y el hNa_v1.4

4dxw-het.pdb, chain D	1	11	21	31	41																																													
qseq1_D.B99990003.pdb	1	11	21	31	41																																													
	M	T	P	F	F	S	S	L	K	D	N	R	I	F	Q	F	T	V	V	S	T	I	L	N	A	V	L	I	G	A	T	T	Y	E	L	D	P	L	F	L	E	T	I	H	L	L	D	Y	G	
	I	Q	G	M	V	D	L	V	T	K	Q	A	F	D	I	T	I	M	I	L	I	C	L	N	M	V	T	M	M	V	E	T	D	N	Q	S	Q	L	K	V	D	I	L	Y	N	I	N	M	I	
4dxw-het.pdb, chain D	51	61	71	81	91																																													
qseq1_D.B99990003.pdb	51	61	71	81	91																																													
	I	T	I	F	F	V	I	E	I	L	.	I	R	F	I	G	E	K	Q	K	A	D	F	F	K	S	G	W	N	I	F	D	T	V	I	V	A	I	S	L	I	P	I	P	N	N	S	S	F	L
	F	T	G	E	C	V	L	K	M	L	A	L	R	Q	Y	Y	F	T	V	G	W	N	I	F	D	F	V	V	V	I	L	S	I	V	G	L	A	L	P	T	L	F	R	
4dxw-het.pdb, chain D	101	111	121	131	141																																													
qseq1_D.B99990003.pdb	94	100	111	121	141																																													
	V	L	R	L	L	R	I	F	R	V	L	R	L	I	S	V	I	P	E	L	K	Q	I	E	A	I	E	L	S	V	R	R	V	F	F	V	S	L	L	L	F	I	I	L	Y	I	Y	A	T	
	V	I	R	L	A	R	I	G	R	V	L	R	L	I	R	G	A	K	G	I	R	T	L	L	F	A	L	M	M	S	L	P	A	L	F	N	I	G	L	L	L	F	L	V	M	F	I	Y	S	I
4dxw-het.pdb, chain D	151	161	171	181	191																																													
qseq1_D.B99990003.pdb	144	150	161	171	181																																													
	M	G	A	I	L	F	G	N	D	D	P	S	R	W	G	D	L	G	I	S	L	I	T	L	F	Q	V	L	T	L	S	S	W	E	T	V	M	L	P	M	Q	E	I	Y	W	W	S	W	V	Y
	F	G	M	S	N	F	.	I	D	D	M	F	N	F	E	T	F	G	N	S	I	I	C	L	F	E	I	T	T	S	A	G	W	D	G	L	L	N	P	I	L	N	S	G	S	I	G	I	C	F
4dxw-het.pdb, chain D	201	211	221	231																																														
qseq1_D.B99990003.pdb	193	201	211	231																																														
	F	F	S	F	I	I	C	S	I	T	I	L	N	L	V	I	A	I	L	V	D	V	V	I	Q	K	K	L	E											
	F	C	S	Y	I	I	S	F	L	I	V	V	N	M	Y	A	I	I	L	E	N	F	N	V	A	T	E	E	.	.												

Figura 31. Alineamiento de los residuos aminoacídicos del DIV del canal bacterial y el DIV del hNa_v1.4. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2

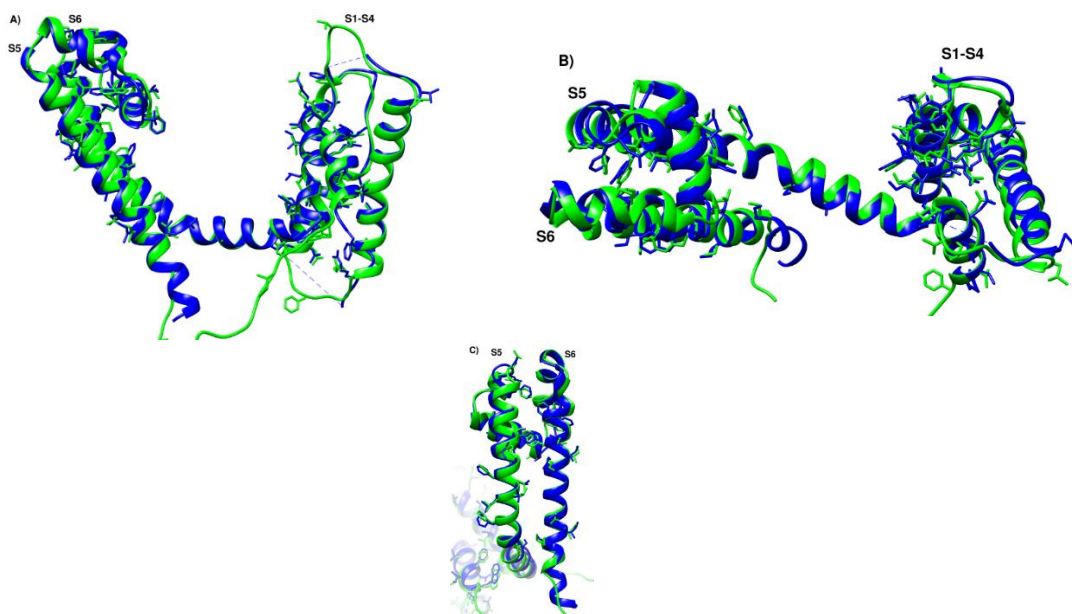


Figura 32. Representación en listón de la superposición del dominio DIV del canal bacteriano cristalizado 4DXW (azul) con el DIV del canal de sodio dependiente de voltaje 1.4 de humano (hNa_v1.4) (verde). En donde se muestran los residuos aminoacídicos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6) . **B)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 16. Residuos aminoácidos que se encuentran en el DVI tanto en el canal bacterial como en el hNav_v1.4.

Residuos aminoácidos Bacterial (4DXW)	L8	F14	T17	I22	L24	N25	V27	T33	L39	T52
Residuos aminoácidos hNav _v 1.4	L1349	F1355	T1358	I1363	L1365	N1366	V1368	T1374	L1380	T1397
Residuos aminoácidos Bacterial (4DXW)	V56	L60	R63	F74	G77	W78	N79	I80	F81	D82
Residuos aminoácidos hNav _v 1.4	V1401	L1405	R1408	F1412	G1415	W1416	N1417	I1418	F1419	D1420
Residuos aminoácidos Bacterial (4DXW)	V84	V86	S89	F99	V101	R103	L104	R106	I107	R109
Residuos aminoácidos hNav _v 1.4	V1422	V1424	S1427	F1447	V1449	R1451	L1452	R1454	I1455	R1457
Residuos aminoácidos Bacterial (4DXW)	V110	L111	R112	L113	I114	A126	S130	F135	L139	L140
Residuos aminoácidos hNav _v 1.4	V1458	L1459	R1460	L1461	I1462	A1474	S1478	F1483	L1487	L1488
Residuos aminoácidos Bacterial (4DXW)	L141	F142	I147	Y148	G152	F156	D159	D160	G168	S170
Residuos aminoácidos hNav _v 1.4	L1489	F1490	I1495	Y1496	G1500	F1504	D1514	D1515	G1523	S1525
Residuos aminoácidos Bacterial (4DXW)	I172	L174	F175	T179	W183	P189	F201	S203	I205	I206
Residuos aminoácidos hNav _v 1.4	I527	L1529	F1530	T1534	W1538	P1544	F1578	S1580	I1582	I1583
Residuos aminoácidos Bacterial (4DXW)	I207	N214	I217	A218	I219					
Residuos aminoácidos hNav _v 1.4	I1584	N1591	I1594I	A1545	I1596					

1.2 Canal cristalizado bacterial 4DXW con el canal de sodio dependiente de voltaje 1.5 (hNav1.5)

1.2.1. Comparación del dominio I (DI) del canal bacterial y el hNav1.5

001_4dxw-het_alig.pdb, chain A qseq1_A.B99990004.pdb	1 21	T P P F S S L K D L P F Y S T Q K G	11 NR I F Q F T V V S K T I F R F S A M C	21 I I I L N A V L I G T I L T N C V F M A	31 A T T Y E L D P L F Q H P P P W T K Y	41 L E T I H L L D Y G V E . . Y T F T A I
001_4dxw-het_alig.pdb, chain A qseq1_A.B99990004.pdb	51 49	I T I F F V I E I L Y T F E S L V K I L	I R F I A R G F C L H A F T G S G W N I F D F L R D P W N W L D F S V I I M A Y T T	V I V A I S L I P V E F V D L G N V S A
001_4dxw-het_alig.pdb, chain A qseq1_A.B99990004.pdb	84 99	L R L L R I F R V L L R T F R V L R A L	R L I S V I P E L K K T I S V I S G L K	Q I I E A I L E S V T I V G A L I Q S V	R R V F F V S L L L K K L A D V M V L T	F I I L Y I Y A T M V F C L S V F A L I
001_4dxw-het_alig.pdb, chain A qseq1_A.B99990004.pdb	134 149	G A I L F G N D D P G L Q L F M G N D G	S R W G D L G I S L L V W E S F A W A F	I T L F Q V L T L S L A L F R L M T Q D	S W E T V M L P M Q C W E R L Y Q Q T L	E I Y W . W S W V Y R S A G K I Y M I F
001_4dxw-het_alig.pdb, chain A qseq1_A.B99990004.pdb	183 199	F F S F I I I C S I F M L V I F L G S F	T I L N L V I A I L Y L V N L I L A V V	V D V V I Q K K L . A M A Y E E Q N I A		

Figura 33. Alineamiento de los residuos aminoacídicos del dominio DI del canal bacterial y el dominio DI del hNav_v1.5. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2 [referencia Chimera].

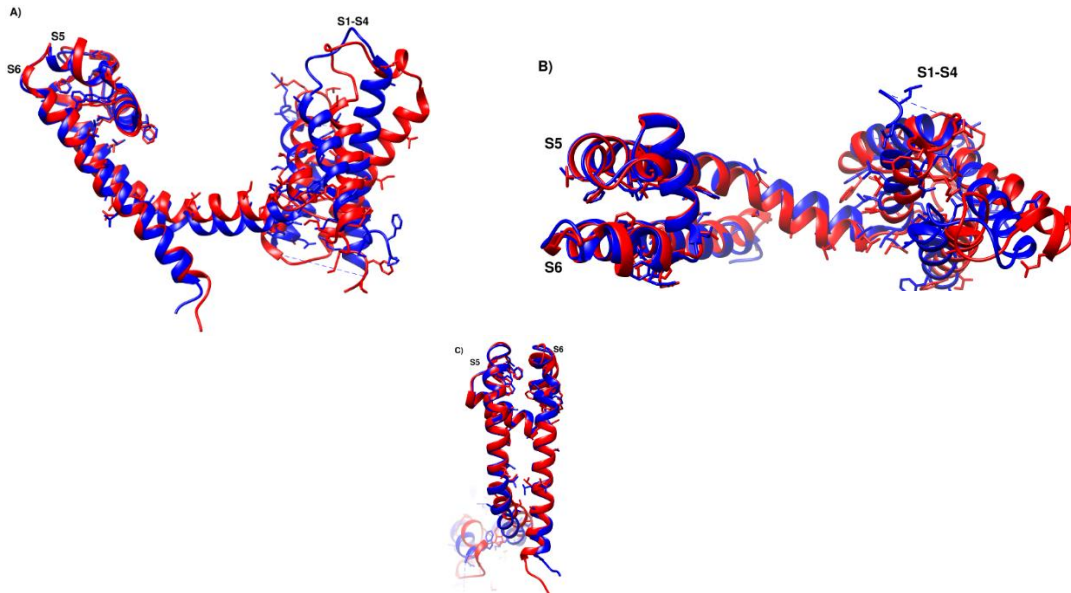


Figura 34. Representación en listón de la superposición del dominio DI del canal bacterial cristalizado 4DXW (azul) con el DI del canal de sodio dependiente de voltaje 1.5 de humano (hNav_v1.5) (rojo). En donde se muestran los residuos aminoacídicos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** y **B)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6). **C)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 17. Residuos aminoacidicos que se encuentran en el DI tanto en el canal bacterial como en el hNav_v1.5.

Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	P3	F4	S6	K9	I13	F14	F16	I22	N25	V27
Residuos aminoacidicos hNav _v 1.5	P85	F86	S88	K91	I102	F103	F105	I141	N144	V146
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	E42	T52	I59	L60	R62	W76	N77	D80	T90	V93
Residuos aminoacidicos hNav _v 1.5	E161	T169	I176	L177	R179	W193	N194	D197	T207	V210
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	L101	R102	R105	R108	L110	I113	S114	V115	I116	L119
Residuos aminoacidicos hNav _v 1.5	L218	R219	R222	R225	L227	I230	S231	V232	I233	L236
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	K120	I122	A125	S129	V130	V136	L139	L144	A148	G151
Residuos aminoacidicos hNav _v 1.5	K237	I239	A242	S246	V247	V253	L256	L261	A265	G268
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	L154	F155	D159	W163	L173	F174	T178	W182	E183	F201
Residuos aminoacidicos hNav _v 1.5	L271	F272	D297	W301	L365	F366	T370	W374	E375	F393
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	I205	S209	N214	L215	A218					
Residuos aminoacidicos hNav _v 1.5	I397	S401	N406	L407	A410					

1.2.2. Comparación del dominio II (DII) del canal bacterial y el hNa_v1.5

001_4dxw-het_alig.pdb, chain B	1	11	21	31	41
qseq1_B.B99990002.pdb	4 . . . F F S S L K D	N R I F Q F T V V S	I I I L N A V L I G	A T T Y E L D P L F	L E T I H L L D Y G
	1 C C P L W M S I K Q	G V F T D L T I T M	C I V L N T L F M A	L E H Y N M T S E F	E E M L Q V G N L V
001_4dxw-het_alig.pdb, chain B	51	61	71	81	91
qseq1_B.B99990002.pdb	51 I T I F F V I E I L	I R F I G E K Q K .	. . A S G W N I F D	T V I V A I S L . .	I P I P N N S S F L
	51 F T G I F T A E M T	F K I I A L D P Y Y	Y F Q Q G W N I F D	S I I V I L S L M E	L G L S R M S N L S
001_4dxw-het_alig.pdb, chain B	101	111	121	131	141
qseq1_B.B99990002.pdb	96 V L R L L R I F R V	L R L I S V I P E L	K Q I I E A I L E S	V R R V F F V S L L	L F I I L Y I Y A T
	101 V L R S F R L L R V	F K L A K S W P T L	N T L I K I I G N S	V G A L G N L T L V	L A I I V F I F A V
001_4dxw-het_alig.pdb, chain B	151	161	171	181	191
qseq1_B.B99990002.pdb	146 M G A I L F G N D D	P S R W G . . D L G	I S L I T L F Q V L	T L S S W E T V M L	P M Q E I . . Y W W
	151 V G M Q L F G K N Y	S E R W H M M D F F	H A F L I I F R I L	C . G E W I E T M W	D C M E V S G S L
001_4dxw-het_alig.pdb, chain B	201	211	221	231	
qseq1_B.B99990002.pdb	192 S W V Y F F S F I I	I C S I T I L N L V	T A I L V D V V I Q	K K L E	
	200 C L L V F L L V M V	I G N L V V L N L F	L A L L S S F S A	D N L T	

Figura 35. Alineamiento de los residuos aminoácidos del dominio DII del canal bacterial y el dominio DII del hNa_v1.5. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2 [referencia Chimera].

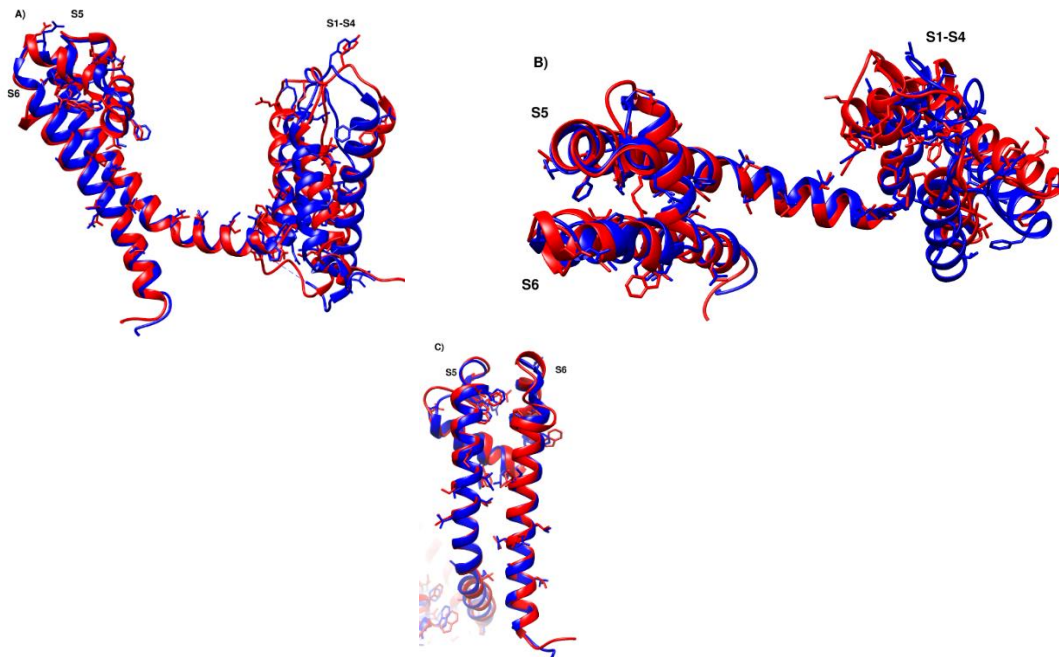


Figura 36. Representación en listón de la superposición del dominio DII del canal bacteriano cristalizado 4DXW (azul) con el DII del canal de sodio dependiente de voltaje 1.5 de humano (hNa_v1.5) (rojo). En donde se muestran los residuos aminoácidos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** y **B)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6). **C)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 18. Residuos aminoacidicos que se encuentran en el DII tanto en el canal bacterial como en el hNa_v1.5.

Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	S7	K9	T17	I22	L24	N25	Y34	F40	E42	T52
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	S705	K707	T722	I727	L729	N730	Y739	F745	E747	T757
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	F55	E58	I64	G75	W76	N77	I78	F79	D80	I83
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	F760	E763	I769	G780	W781	N782	I783	F784	D785	I788
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	V84	S87	L88	S97	V101	L102	R103	R106	R109	V110
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	V789	S792	L793	L802	V806	L807	R808	R811	R814	V815
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	L113	P118	L120	I124	I127	S130	V131	L139	L141	I143
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	L818	P823	L825	I829	I832	S835	V836	L844	L846	I848
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	I144	I147	A149	G152	L155	F156	G157	R163	W164	D168
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	I849	I852	A854	G857	L860	F861	G862	R878	W879	D883
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	F177	L180	W185	M189	E194	F205	I211	L217	N218	L219
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	F892	L895	W899	M903	E908	F919	I925	L931	N932	L933
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	A222	L224								
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	A936	L938								

1.2.3. Comparación del dominio III (DIII) del canal bacterial y el hNa_v1.5

4dxw-het.pdb, chain C	1	MTPFFSSL	KD	11	NRIFQFTVVS	21	IIILN AVL IG	31	ATTYELDPLF	41	LETIHLLDYG
qseq1_C.B99990004.pdb	1	RKTC		YHIVEHSWFE		TFIIFMILLS		SGALAFEDIY		LEERKTIKVL
4dxw-het.pdb, chain C	51	TI	61	FFVIEILIRF	71	IGEKQKADFF	81	KS GN IFDTV	91	I V AISLIP
qseq1_C.B99990004.pdb	45	LEYADKMF	TY		VFVLEMLLK		VAYGFKK		TNAWCWDLF		IVVSLVSLV
4dxw-het.pdb, chain C	101	NNSISFLVLR	L	111	LRI FRVLR LI	121	SVIP ELKQ II	131	EAL ESVRR V	141	FFV SLLL FII
qseq1_C.B99990004.pdb	94	ANTPIKSLRT			LRALRPLRAL		SREFGMRVVV		NALVGAIPSI		MNVLLVCLIF
4dxw-het.pdb, chain C	151	LYIYATMGA	I	161	LF GND DP	171	WGDLGISLIT	181	LFQVLTLS	191	ETVMLPMQE
qseq1_C.B99990004.pdb	144	WLIFSIMGVN			LFA GK FVKVN		FDNVGAGYLA		LLQVATFKGW		MDIMYAAVEY
4dxw-het.pdb, chain C	201	YWWSWVYFFS		211	FTIIC SIT IL	221	NLVIAILVDV	231	VI QK KL		E
qseq1_C.B99990004.pdb	193	NLYMYIYFVI			FIIFGSFFTL		NLFIGVIIDN		FNQQK		KKKL

Figura 37. Alineamiento de los residuos aminoacídicos del dominio DIII del canal bacterial y el dominio DIII del hNa_v1.5. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2

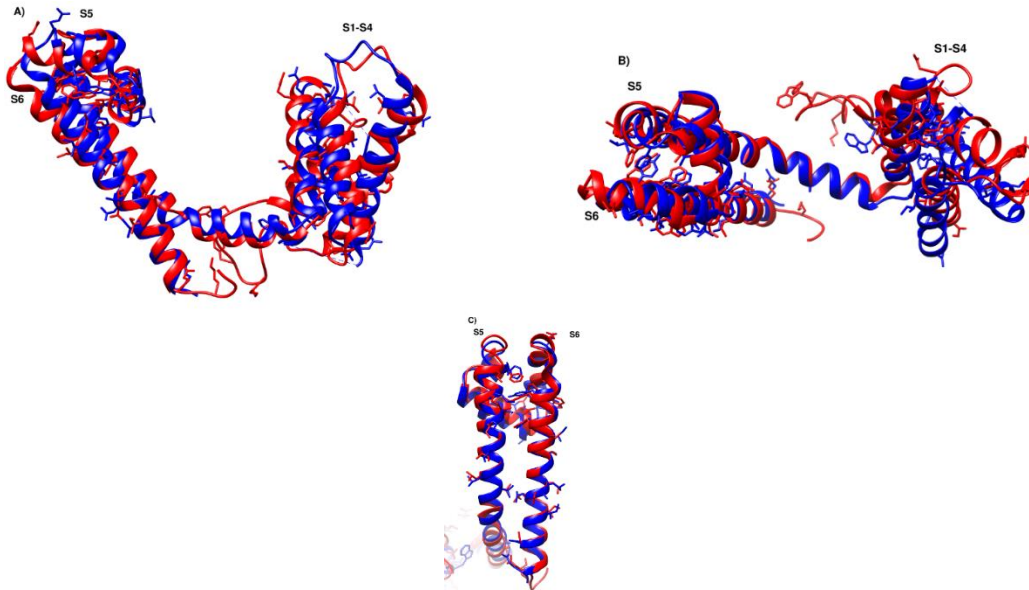


Figura 38. Representación en listón de la superposición del dominio DIII del canal bacterial cristalizado 4DXW (azul) con el DII del canal de sodio dependiente de voltaje 1.5 de humano (hNa_v1.5) (rojo). En donde se muestran los residuos aminoacídicos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** y **B)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6). **C)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 19. Residuos aminoacidicos que se encuentran en el dominio DIII tanto en el canal bacterial como en el hNa_v1.5.

Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	I13	I23	L28	L41	E42	T59	F62	V63	E65	L67
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	I1201	I1211	L1216	L1229	E1230	T1247	F1250	V1251	E1253	L1255
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	K76	F80	W84	D88	I91	V92	S95	L96	N102	L108
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	K1264	F1267	W1271	D1275	I1278	V1279	S1282	L1283	N1289	L1302
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	R109	L111	R112	R115	L117	R118	S121	A132	V143	L145
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	R1303	L1305	R1306	R1309	L1311	R1312	S1315	A1326	V1337	L1339
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	I149	I153	M157	G158	L161	F162	G164	G175	L181	Q183
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	I1343	I1347	M1351	G1352	L1355	F1356	G1358	G1406	L1412	Q1414
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	V184	T186	W190	M194	E199	Y207	F208	F211	I212	I213
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	V1415	T1417	W1421	M1425	E1441	Y1449	F1450	F1453	I1454	I1455
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	S216	L220	N221	L222	I224	D229	Q233	K235		
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	S1458	L1462	N1463	L1464	I1466	D1471	Q1475	K1477		

1.2.4. Comparación del dominio IV (DIV) del canal bacterial y el hNa_v1.5

4dxw-het.pdb, chain D	1	11	21	31	41																																																							
qseq1_D.B99990005.pdb	1	11	21	31	41																																																							
	M	T	P	F	F	S	S	L	K	D	N	R	I	F	Q	F	T	V	V	S	I	I	L	N	A	V	L	I	G	A	T	T	Y	E	L	D	P	.	.	.	L	F	L	E	T	I	H	L	L											
	Y	Q	G	F	I	F	D	I	V	T	K	Q	A	F	D	V	T	I	M	F	L	I	C	L	N	M	V	T	M	M	V	E	T	D	D	Q	S	P	E	K	I	N	I	L	A	K	I	N	L	L										
4dxw-het.pdb, chain D	51	61	71	81	91																																																							
qseq1_D.B99990005.pdb	51	61	71	81	91																																																							
	D	Y	G	I	T	I	F	F	V	I	E	.	.	I	L	I	R	F	I	G	E	K	Q	K	A	D	F	F	K	S	G	W	N	I	F	D	T	V	I	V	A	I	S	L	I	P	I	P	N	N										
	F	V	A	I	F	T	G	E	C	I	V	K	L	A	A	L	R	H	Y	Y	F	T	N	G	W	N	I	F	D	T	V	I	V	A	I	S	L	I	P	I	P	N	N
4dxw-het.pdb, chain D	101	111	121	131	141																																																							
qseq1_D.B99990005.pdb	101	111	121	131	141																																																							
	S	S	F	L	V	L	R	L	L	R	I	F	R	V	L	R	L	I	S	V	I	P	E	L	K	Q	I	E	A	I	L	E	S	V	R	R	V	F	F	V	S	L	L	L	F	I	I	L	Y											
	T	L	F	R	V	I	R	L	A	R	I	G	R	I	L	R	L	I	R	G	A	K	G	I	R	T	L	L	F	A	L	M	M	S	L	P	A	L	F	N	I	G	L	L	L	F	L	V	M	F										
4dxw-het.pdb, chain D	151	161	171	181	191																																																							
qseq1_D.B99990005.pdb	151	161	171	181	191																																																							
	I	Y	A	T	M	G	A	I	L	F	G	N	D	D	P	S	R	W	G	D	L	G	I	S	L	I	T	L	F	Q	V	L	T	L	S	S	W	E	T	V	M	L	P	M	Q	E	I	Y	W	W										
	I	Y	S	I	F	G	M	A	N	F	G	I	D	D	M	F	N	F	Q	T	F	A	N	S	M	L	C	L	F	Q	I	T	T	S	A	G	W	D	G	L	L	S	P	I	L	N	T	G	A	V										
4dxw-het.pdb, chain D	201	211	221	231																																																								
qseq1_D.B99990005.pdb	201	211	221	231																																																								
	S	W	V	Y	F	F	S	F	I	I	I	C	S	I	T	I	L	N	L	V	I	A	I	L	V	D	V	V	I	Q	K	K	L	E	.																									
	G	I	L	F	F	T	T	Y	I	I	I	S	F	L	I	V	V	N	M	Y	I	A	I	L	E	N	F	N	S	V	A	T	E	E	.																									

Figura 39. Alineamiento de los residuos aminoacídicos del DIV del canal bacterial y el DIV del hNa_v1.5. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2

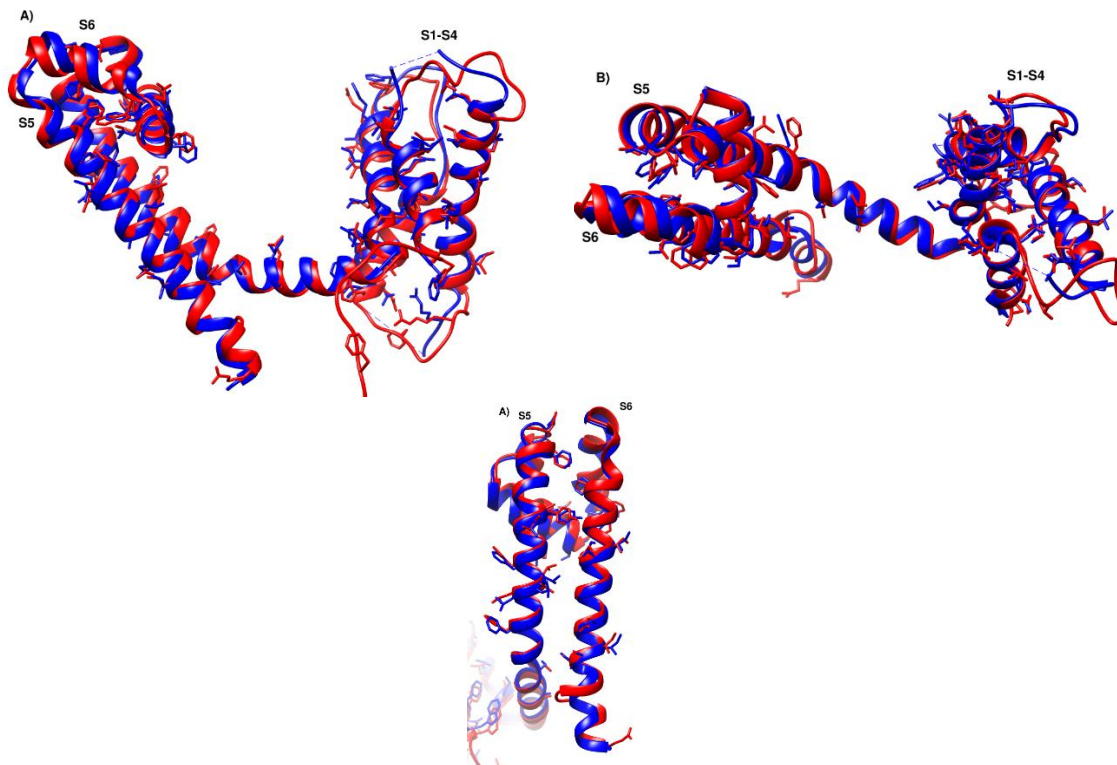


Figura 40. Representación en listón de la superposición del dominio DIV del canal bacterial cristalizado 4DXW (azul) con el DIV del canal de sodio dependiente de voltaje 1.5 de humano (hNa_v1.5) (rojo). En donde se muestran los residuos aminoacídicos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** y **B)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6). **C)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 20. Residuos aminoacidicos que se encuentran en el DIV tanto en el canal bacterial como en el hNa_v1.5.

Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	F4	F14	T17	I22	L24	N25	V27	T33	P38	L44
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	F1520	F1530	T1533	I1538	L1540	N1541	V1543	T1549	P1554	L1560
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	I47	L49	L50	I54	I60	R67	F78	W82	N83	I84
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	I1563	L1565	L1566	I1570	I1576	R1583	F1587	W1591	N1592	I1593
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	F85	D86	V88	V90	S93	F103	V105	R107	L108	R110
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	F1594	D1595	V1597	V1599	S1602	F1622	V1624	R1626	L1627	R1629
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	I111	R113	L115	R116	L117	I118	A130	S134	F139	L143
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	I1630	R1632	L1634	R1635	L1636	I1637	A1649	S1653	F1658	L1662
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	L144	L145	F146	I151	Y152	G156	F160	G161	D163	D164
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	L1663	L1664	F1665	I1670	Y1671	G1675	F1679	G1687	D1689	D1690
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	S174	L178	F179	Q180	T183	W187	P193	F205	I209	I210
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	S1700	L1704	F1705	Q1706	T1709	W1713	P1719	F1752	I1756	I1757
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	I211	N218	I221	A222	I223	E234				
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.5	I1758	N1765	I1768	A1769	I1770	E1781				

Tabla 21. Residuos aminoacidicos que se encuentran en el DI tanto en el canal bacterial como en el hNav1.6.

Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	T3	F14	F16	V19	S21	I23	I24	L29	T36	P41
Residuos aminoacidicos hNav1.6	T86	F104	F105	V133	S135	I137	I138	L143	T150	P155
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	G53	I54	F57	I64	G68	W81	N82	D85	L100	R110
Residuos aminoacidicos hNav1.6	G167	I168	F171	I178	G181	W194	N195	D198	L213	R223
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	R113	L115	I118	S119	V120	I121	P122	L124	K125	I127
Residuos aminoacidicos hNav1.6	R226	L228	I231	S232	V233	I234	P235	L237	K238	I240
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	A130	S134	V135	V141	L144	L149	A153	G156	L159	F160
Residuos aminoacidicos hNav1.6	A243	S247	V248	V254	L257	L262	A266	G269	L272	F273
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	W168	L178	F179	T183	W187	E188	F206	I210	S214	N219
Residuos aminoacidicos hNav1.6	W302	L363	F364	T368	W372	E373	F391	I395	S399	N404
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	L220	A223	Q231							
Residuos aminoacidicos hNav1.6	L405	A408	Q419							

1.3.2. Comparación del dominio II (DII) del canal bacterial y el hNav1.6

001_4dxw-het_alig.pdb, chain B	1	11	21	31	41	
iseq1_B.B99990001.pdb	4	FFSSLKD	NRIFQFTVVS	TIILNAVLIIG	ATTYELDPLF	LETIHLLDYIG
	1	CHPYWIKLKE	IPFVDLAITI	CIVLNTLFMA	MEHHPMTPQF	EHVLAVGNLV
001_4dxw-het_alig.pdb, chain B	51	61	71	81	91	
iseq1_B.B99990001.pdb	51	ITIFFVIEIL	IRFIGEKQK	ASGWNIFD	TVIVAISL	IPIPNNSSFL
	51	FTGIFTAEMF	LKLIAMDOPY	YFQEGWNIFD	GFIVSLSLME	LSLADVEGLS
001_4dxw-het_alig.pdb, chain B	101	111	121	131	141	
iseq1_B.B99990001.pdb	96	VLRLLRIFRV	LRLISVIPPEL	KQIEAILES	VRRVFFVSLL	LFIIILYIYAT
	101	VLRSFRLLRV	FKLAKSWPTL	NMLIKIIGNS	VGALGNLTLV	LAIIVFIFAV
001_4dxw-het_alig.pdb, chain B	151	161	171	181	191	
iseq1_B.B99990001.pdb	146	MGAIFLFGND	PSRW.GDLG	ISLITLFQVL	TLSSETVVML	PMQEI.YYWW
	151	VGMQLFGKSY	KERWHMDDFF	HSFLIVFRVL	C.GEWIETMW	DCMEVAGQAM
001_4dxw-het_alig.pdb, chain B	201	211	221	231		
iseq1_B.B99990001.pdb	192	SWVYFFSFII	ICSIITILNLV	TAILVDVVIQ	KKLE	
	200	CLIVFMMVMV	IGNLVVLNLF	LALLSSFSA	DNLA	

Figura 43. Alineamiento de los residuos aminoácidos del DII del canal bacterial y el DII del hNav1.6. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2

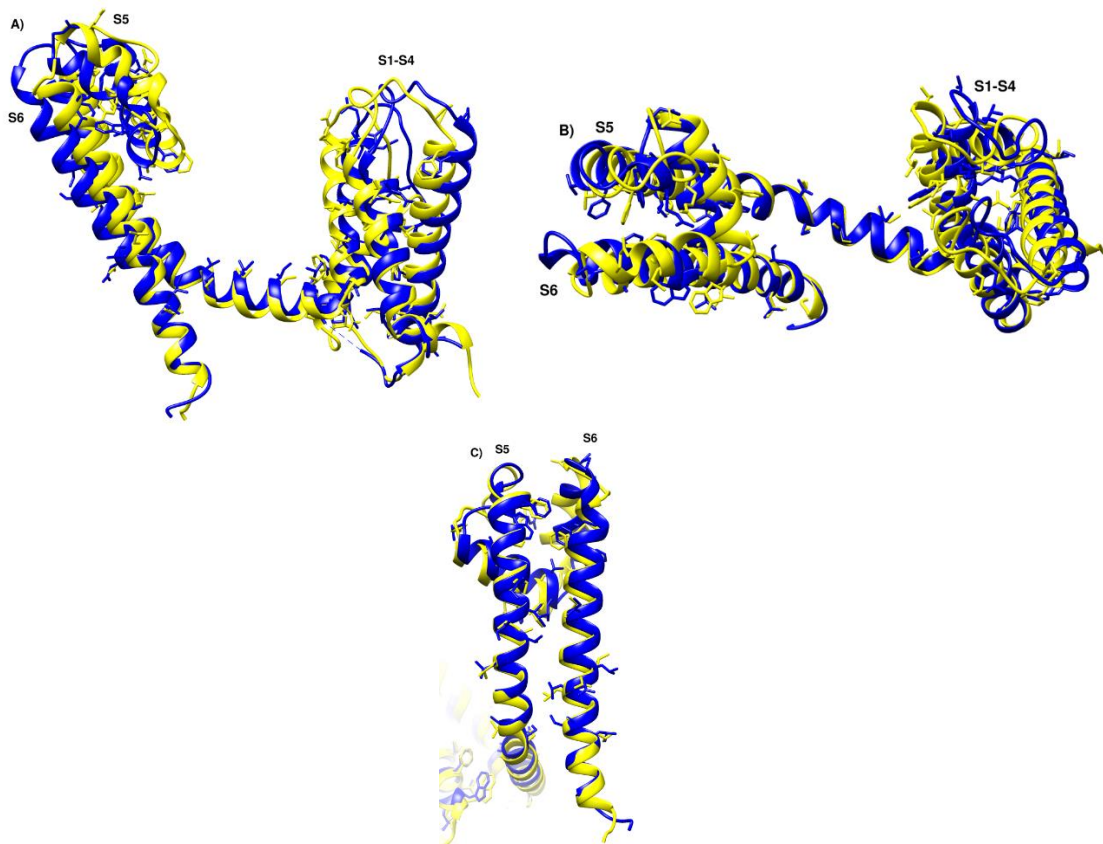


Figura 44. Representación en listón de la superposición del dominio DII del canal bacteriano cristalizado 4DXW (azul) con el DII del canal de sodio dependiente de voltaje 1.6 de humano (hNav1.6) (amarillo). En donde se muestran los residuos aminoácidos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** y **B)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6). **C)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 22. Residuos aminoacidicos que se encuentran en el DII tanto en el canal bacterial como en el hNav1.6.

Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	L8	K9	I22	L24	N25	P38	F40	T52	F55	E58
Residuos aminoacidicos hNav1.6	L742	K743	I763	L765	N766	P779	F781	T793	F796	E799
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	I64	G75	W76	N77	I78	F79	D80	I83	V84	S87
Residuos aminoacidicos hNav1.6	I805	G816	W817	N818	I819	F820	D821	I824	V825	S828
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	L88	V101	L102	R103	R106	R109	V110	L113	P118	L120
Residuos aminoacidicos hNav1.6	L829	V842	L843	R844	R847	R850	V851	L854	P859	L861
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	I124	I127	S130	V131	L139	L141	I143	I144	I147	A149
Residuos aminoacidicos hNav1.6	I865	I868	S871	V872	L880	L882	I884	I885	I888	A890
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	G152	L155	F156	G157	R163	W164	D168	S172	F177	V179
Residuos aminoacidicos hNav1.6	G893	L896	F897	G898	R916	W917	D921	S925	F930	V932
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	L180	W185	M189	E194	F205	I211	L217	N218	L219	A222
Residuos aminoacidicos hNav1.6	L933	W937	M941	E946	F957	I963	L969	N970	L971	A974
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	L224									
Residuos aminoacidicos hNav1.6	L976									

1.3.3. Comparación del dominio III (DIII) del canal bacterial y el hNa_v1.6

4dxw-het.pdb, chain C	1	M T P F F S S L K D	11	N R I F Q F T V V S	21	I I I L N A V L I .	31	. G A T T Y E	41	. . . L D P L F L E T
qseq1_C.B99990005.pdb	1 R K T C		F L I V E H N W F E		T F I I F M I L L S		S G A L A F E D I Y		I E Q R K T I R T I
4dxw-het.pdb, chain C	51	I H L L D Y G I T I	61	F F V I E I L I R F	71	I G E K Q K A D F F	81	K S G W N I F D T V	91	I V A I S L I P I P
qseq1_C.B99990005.pdb	45	L E Y A D K V F T Y		I F I L E M L L K W		T A . Y G F V K F F		T N A W C W L D F L		I V A V S L V S L I
4dxw-het.pdb, chain C	101	N N S S F L V L R L	111	L R I F R V L R L I	121	S V I P E L K Q I I	131	E A I L E S V R R V	141	F F V S L L L F I I
qseq1_C.B99990005.pdb	94	A N A A I K S L R T		L R A L R P L R A L		S R F E G M R V V V		N A L V G A I P S I		M N V L L V C L I F
4dxw-het.pdb, chain C	151	L Y I Y A T M G A I	161	L F G N D D P S R W	171	G D L G I S L I T L	181	F Q V L T L S S W E	191	T V M L P M Q E I Y
qseq1_C.B99990005.pdb	144	W L I F S I M G V L		M E G N N T E I R W		K N V G A G Y L A L		L Q V A T F K G W M		D I M Y A A Y E D N
4dxw-het.pdb, chain C	201	W W S W V Y F F S F	211	I I I C S I T I L N	221	L V I A I L V D V V	231	I Q K K L E I		
qseq1_C.B99990005.pdb	194	I Y M Y I Y F V I F		I I F G S F F T L N		L F I G V I I D N F		N Q Q K K K		

Figura 45. Alineamiento de los residuos aminoácidos del DIII del canal bacterial y el DIII del hNa_v1.6. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2

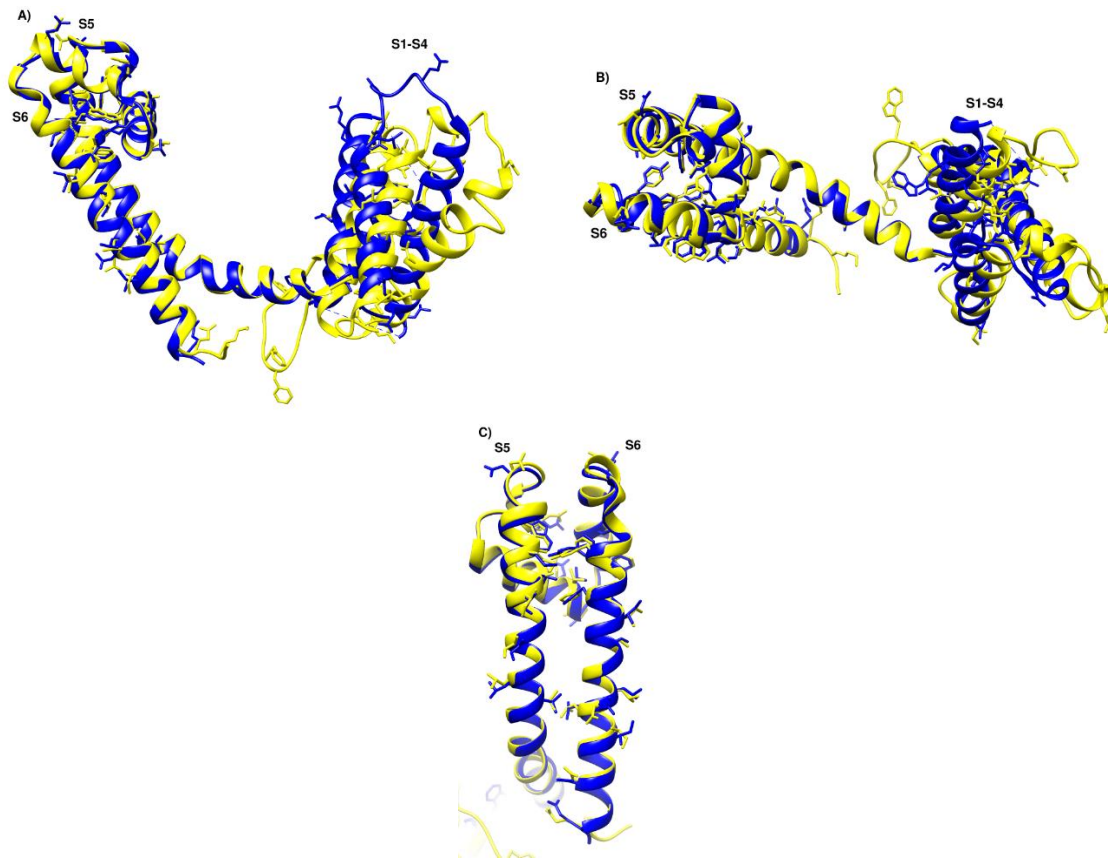


Figura 46. Representación en listón de la superposición del dominio DIII del canal bacteriano cristalizado 4DXW (azul) con el DIII del canal de sodio dependiente de voltaje 1.6 de humano (hNa_v1.6) (amarillo). En donde se muestran los residuos aminoácidos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** y **B)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6). **C)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 23. Residuos aminoacidicos que se encuentran en el DIII tanto en el canal bacterial como en el hNa_v1.6.

Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	I13	I23	L28	G32	A33	E37	D55	T59	F62	E65
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.6	I1194	I1204	L1209	G1213	A1214	E1218	D1236	T1240	F1243	E1246
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	L67	F79	F80	W84	D88	I91	V92	A93	S95	L96
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.6	L1248	F1259	F1260	W1264	D1268	I1271	V1272	A1273	S1275	L1276
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	N102	L108	R109	L111	R112	R115	L117	R118	S121	A132
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.6	N1282	L1295	R1296	L1298	R1299	R1302	L1304	R1305	S1308	A1319
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	V143	L145	I149	I153	M157	G158	G163	N164	R169	W170
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.6	V1330	L1332	I1336	I1340	M1344	G1345	G1382	N1383	R1388	W1389
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	G174	L180	Q182	V183	T185	W189	M193	E198	Y206	F207
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.6	G1400	L1406	Q1408	V1409	T1411	W1415	M1419	E1435	Y1443	F1444
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	F210	I211	I212	S215	L219	N220	L221	I223	D228	Q232
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.6	F1447	I1448	I1449	S1452	L1456	N1457	L1458	I1460	D1465	Q1469
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	K234									
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.6	K1471									

1.3.3. Comparación del dominio IV (DIV) del canal bacterial y el hNa_v1.6

4dxw-het.pdb, chain D	1	11	21	31	41																																														
qseq1_D.B99990003.pdb	1	11	21	31	41																																														
	M	T	P	F	F	S	S	L	K	D	N	R	I	F	Q	F	T	V	V	S	I	I	I	L	N	A	V	L	I	G	A	T	T	Y	E	L	D	P	L	F	L	E	T	I	H	L	L	D	I	Y	G
	Q	K	P	I	P	R	P	L	V	T	Q	Q	A	F	D	I	V	I	M	M	L	I	C	L	N	M	V	T	M	M	V	E	T	D	T	Q	S	K	Q	M	E	N	I	L	Y	W	I	N	L	V	
4dxw-het.pdb, chain D	51	61	71	81	91																																														
qseq1_D.B99990003.pdb	51	61	71	81	91																																														
	I	T	I	F	F	V	I	E	I	L	I	R	F	I	G	E	K	Q	K	A	D	F	F	K	S	G	W	N	I	F	D	T	V	I	V	A	I	S	L	I	P	I	P	N	N	S	S	F	L	V	
	F	V	I	F	F	T	C	E	C	V	L	K	M	F	A	L	R	H	Y	.	Y	F	T	I	G	W	N	I	F	.	D	F	V	V	V	I	L	S	I	V	G	M	F	S	P	T	L	F	R	V	
4dxw-het.pdb, chain D	101	111	121	131	141																																														
qseq1_D.B99990003.pdb	101	111	121	131	141																																														
	L	R	L	L	R	I	F	R	V	L	R	L	I	S	V	I	P	E	L	K	Q	I	I	E	A	I	L	E	S	V	R	R	V	F	F	V	S	L	L	L	F	I	L	Y	I	Y	A	T	M		
	I	R	L	A	R	I	G	R	I	L	R	L	I	K	G	A	K	G	I	R	T	L	L	F	A	L	M	M	S	L	P	A	L	F	N	I	G	L	L	L	F	L	V	M	F	I	F	S	I	F	
4dxw-het.pdb, chain D	151	161	171	181	191																																														
qseq1_D.B99990003.pdb	151	161	171	181	191																																														
	G	A	I	L	F	G	N	D	D	P	S	R	W	G	D	L	G	I	S	L	I	T	L	F	Q	V	L	T	L	S	S	W	E	T	V	M	L	P	M	Q	E	I	Y	W	W	S	W	V	Y	F	
	G	M	S	N	F	G	I	D	D	M	F	N	F	E	T	F	G	N	S	M	I	C	L	F	Q	I	T	T	S	A	G	W	D	G	L	L	L	P	I	L	N	R	P	P	V	G	I	F	F	F	
4dxw-het.pdb, chain D	201	211	221																																																
qseq1_D.B99990003.pdb	201	211	221																																																
	F	S	F	I	I	C	S	I	T	I	L	N	L	V	I	A	I	L	V	D	V	V	I	Q	K	K	L	E																							
	V	S	Y	I	I	S	F	L	I	V	V	N	M	Y	I	A	I	L	E	N	F	S	V	A	T	E	E																								

Figura 47. Alineamiento de los residuos aminoacídicos del DIV del canal bacterial y el DIV del hNa_v1.6. Realizado con el algoritmo Needleman-Wunsch y la matriz BLOSUM-62 de Chimera 1.11.2

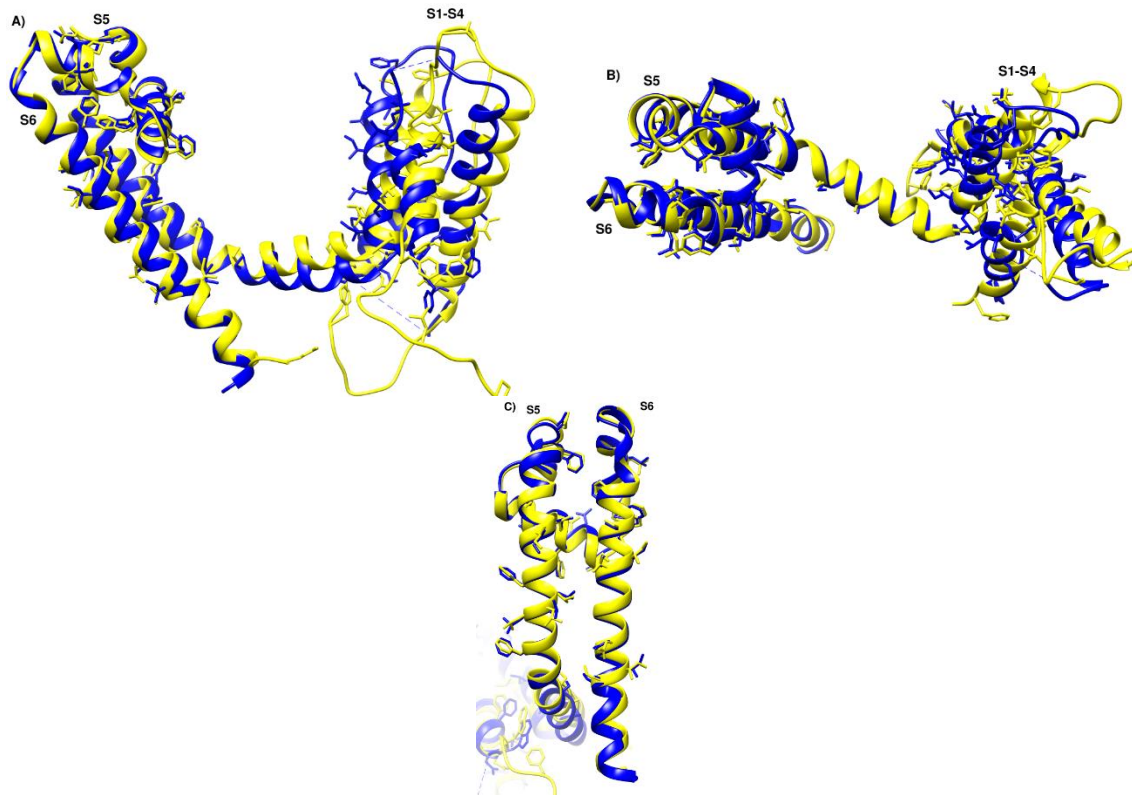


Figura 48. Representación en listón de la superposición del dominio DIV del canal bacteriano cristalizado 4DXW (azul) con el DIV del canal de sodio dependiente de voltaje 1.6 de humano (hNa_v1.6) (amarillo). En donde se muestran los residuos aminoacídicos que están tanto en el canal cristalizado y el modelo generado se encuentran en la misma posición. **A)** y **B)** Imagen de la comparación de los modelos mostrando la posición de los segmentos 1-6 (S1-S6). **C)** Imagen de la comparación de los segmentos 5 y 6 (S5 y S6) que conforman al poro.

Tabla 24. Residuos aminoacidicos que se encuentran en el DIV tanto en el canal bacterial como en el hNa_v1.6.

Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	P3	L8	F14	I22	L24	N25	V27	T33	I53	F54
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.6	P1503	L1508	F1524	I1532	L1534	N1535	V1537	T1543	I1563	F1564
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	F55	E58	F73	G76	W77	N78	I79	F80	D81	V83
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.6	F1565	E1568	F1581	G1584	W1585	N1586	I1587	F1588	D1589	V1591
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	V85	S88	F98	V100	R102	L103	R105	I106	R108	L110
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.6	V1593	S1596	F1616	V1618	R1620	L1621	R1623	I1624	R1626	L1628
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	R111	L112	I113	A125	S129	F134	L138	L139	L140	F141
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.6	R1629	L1630	I1631	A1643	S1647	F1652	L1656	L1657	L1658	F1659
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	I146	G151	F155	G156	D158	D159	G167	I171	L173	F174
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.6	I1664	G1669	F1673	G1681	D1683	D1684	G1692	I1696	L1698	F1699
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	Q175	T178	W182	L187	A188	F200	S202	I204	I205	I206
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.6	Q1700	T1703	W1707	L1712	A1713	F1746	S1748	I1750	I1751	I1752
Residuos aminoacidicos Bacterial (4DXW)	N213	I216	A217	I218	E229					
Residuos aminoacidicos hNa _v 1.6	N1759	I1762	A1763	I1764	E1775					

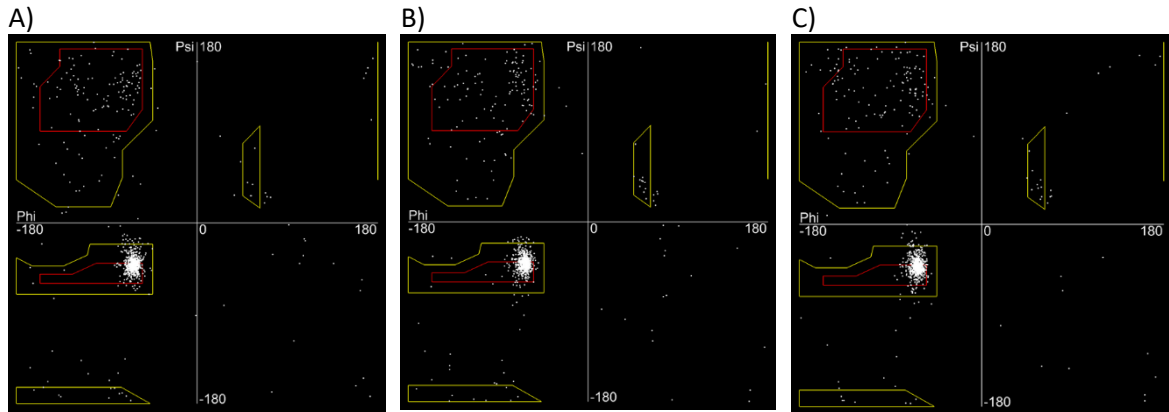


Figura 49. Cuadros de Ramachandran, estos cuadros representan las posiciones de las cadenas laterales de acuerdo a los ángulos Phi (ángulo formado entre el Amino terminal y Carbono alfa) y Psi (ángulo formado entre el Carbono alfa y el carboxilo terminal). **A)** En el cuadro de Ramachandran del Nav1.4, nos muestra que la estructura del canal es mayoritariamente de alfa hélices. **B)** En el cuadro de Ramachandran del Nav1.5, la representación muestra que la estructura del canal es mayoritariamente de alfa hélices. **C)** En el cuadro de Ramachandran del Nav1.6, se presenta que la estructura del canal es mayoritariamente de alfa hélices.

11.2 APÉNDICE 2

DOCKINGS ANESTÉSICOS LOCALES

Recopilando los resultados obtenidos en los *dockings*, se realizó una tabla (**Tabla 1**) en la que se engloba todos los resultados obtenidos que se unen en el LABS, mostrando energías libres de interacción y el número de posiciones que se colocan en este sitio.

Tabla 1. Interacciones de ligandos con los modelos de los canales de sodio dependientes de voltaje. *energía de unión, **número de posiciones en el LABS.

	Nav1.4						Nav1.5						Nav1.6					
	3RVY		4DXW		5GJV		3RVY		4DXW		5GJV		3RVY		4DXW		5GJV	
	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**
R-Bupivacaína	-8	12	-9	238	-9	23	-7	49	-9	210	-6	21	-8	10	-8	111	-8	9
S-Bupivacaína	-7	12	-8	203	-9	18	-8	20	-9	180	-8	13	-7	8	-8	40	-7	11
Procaína	-5	16	-6	150	-6	25	-6	15	-7	82	-6	9	-5	12	-7	32	-5	8
Lidocaína	-6	40	-6	107	-7	23	-6	29	-6	115	-6	18	-6	29	-8	47	-5	10
Mepivacaína	-6	7	-8	123	-7	31	-6	2	-8	182	-6	15	-7	19	-9	31	-6	8
QX-314	-5	35	-7	174	-7	28	-5	23	-6	122	-6	21	-5	14	-7	24	-6	21
Tetracaína	-5	30	-6	45	-6	14	-5	18	-7	93	-6	15	-5	9	-6	21	-6	21
Mexiletina	-6	67	-6	80	-6	9	-6	53	-6	3	-5	6	-6	57	-7	97	-6	9
R-Etidocaína	-6	63	-7	86	-7	14	-6	40	-7	157	-6	14	-6	62	-6	19	-6	5
S-Etidocaína	-7	45	-8	132	-7	16	-7	48	-8	112	-6	18	-7	50	-7	31	-6	10

RELACIÓN CUANTITATIVA ESTRUCTURA ACTIVIDAD (QSAR) DE ANESTÉSICOS LOCALES A LOS Na^vs

Las características fisicoquímicas de las moléculas estudiadas, se relaciona con la posición que toman en los canales de sodio: MM, PSA, Log P y el VD (**Tabla 2**) se relaciona con la posición que toman las moléculas, a mayor MM, Log P y VD muestra las interacciones preferentemente en áreas lipofílicas o cercanas a las cadenas acilo, el área de superficie polar (PSA) muestra la cantidad posible de puentes de hidrógeno que forman en el sitio de unión, y de esta forma aumenta la afinidad de las moléculas por el canal de sodio.

Tabla 2. Características fisicoquímicas de las moléculas usadas en el estudio

Molécula	Masa molecular (MM) g/mol	pKa	Log P	PSA (área de superficie polar) (Ansgtrom Å ²)	nPSA (área de superficie apolar) (ansgtrom Å ²)	VD (Volumen de distribución) L/persona
R-Bupivacaína	288	8.1	3.41	22.7	566	84
S-Bupivacaína	288	8.1	3.41	25.4	537	117
Lidocaína	234	7.9	2.3	48.8	422	4-6
R-Mepivacaína	246	7.6	1.95	55.8	411	84
S-Mepivacaína	246	7.6	1.95	49.8	408	84
Procaína	236	9	2.14	108.4	358	0.79
Tetracaína	264	8.2	3.54	91.9	423	56
QX-314	263	-	-1.84	18.8	504	
Mexiletina	179	9.2	2.15	79.6	332	5-9
R-Etidocaína	276	9.4	3.66	43.1	481	134
S-Etidocaína	276	9.4	3.66	39.2	485	134
Benzocaína	165	2.78	1.86	129.9	265	1.99

Gracias a las tablas 1 y 2 podemos relacionar propiedades y tendencias de los anestésicos locales con las partes atómicas que ejercen dicha propiedad (p.ej. una propiedad como área de superficie polar *PSA*, nos permite deducir posiblemente cuantos puentes de hidrogeno formará; mientras mayor sea el *PSA*, mayor el número de puentes de hidrógeno y viceversa). El peso molecular, el Log P, Masa molecular nos permite relacionarlo con el lugar de interacción o el lugar en el que se posiciona, más dentro del canal o más hacia la pared que se encuentra en contacto con las cadenas acilo (*backwall*). El volumen de distribución refleja las preferencias por el fármaco acerca de los compartimentos farmacocinéticos (que no siempre reflejan lugares anatómicos). Los datos de volumen de distribución reflejan una preferencia áreas hidrofílicas, y el *docking* muestra poses más en el *backwall* que en la luz del canal (esto en estados pre-activado e inactivado de conejo), y de forma contraria lo encontrado en el modelo inactivado bacterial. Las características del farmacóforo son simples mostrando que no hay especificidad por un tejido en específico, ya que se pega a varias biomoléculas indiscriminadamente.

Las moléculas que usamos en este estudio muestran sitios de interacción que reflejan las características fisicoquímicas de las moléculas.

Log P: Etidocaína > Tetracaína > Bupivacaína > Lidocaína >
 Mexiletina > Procaína > Mepivacaína > Benzocaína >
 QX-314.

Vd: Etidocaína > Bupivacaína > Mepivacaína > Tetracaína >
 Mexiletina > Lidocaína > Benzocaína > Procaína >
 QX-314

nPSA: Bupivacaína > QX-314 > Etidocaína > Tetracaína >
 Lidocaína > Mepivacaína > Procaína > Mexiletina >
 Benzocaína.

Energía de unión (inactivado): Bupivacaína > Mepivacaína = Etidocaína >
 QX-314 > Lidocaína = Procaína = Tetracaína

muestran que interaccionan en el *backwall* del canal de sodio.

De acuerdo con los datos experimentales que indican que los anestésicos locales tienen mayor afinidad por el estado inactivo, esto debido a que los cambios estructurales del canal generan un área de interacción en el fondo del canal que permite que la molécula interactúe con los segmentos S6 de los 4 dominios.