

ARTICULO ORIGINAL

Cálculo de propiedades moleculares de 5 cefalosporinas: cefradina, cefalexina, cefadroxilo, cefprozilo y ceftobiprole**Calculation of the molecular properties of five cephalosporins: cephadrine, cephalixin, cefadroxil, cefprozil and ceftobiprole**

Dr. C. Elso M. Cruz Cruz,⁽¹⁾ Lic. Esley Sánchez Domínguez.⁽²⁾

¹ Doctor en Ciencias Químicas. Profesor Asistente. ²Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. MSc. en Medicina Bioenergética y Natural. Profesora Asistente. Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta". Universidad de Ciencias Médicas. Las Tunas.

¹Ph.D in Chemistry. Assistant Profesor. ²Bachelor of Science in Pharmacy. Assistant Professor. Faculty of Medical Sciences. Medical Sciences University. Las Tunas.

RESUMEN

Fundamento: las cadenas laterales unidas al ácido 7-aminocefalosporánico, base estructural de las cefalosporinas, condiciona sus propiedades moleculares y provoca diferencias en su acción farmacológica. La modelación molecular contribuye a profundizar en los conocimientos acerca de esta relación. **Objetivo:** calcular propiedades estructurales y electrónicas de cinco cefalosporinas: cefradina, cefalexina, cefadroxilo, cefprozilo y ceftobiprole. **Métodos:** se realizó un estudio teórico empleando métodos de la mecánica cuántica para modelar la estructura y propiedades electrónicas de las cefalosporinas nombradas anteriormente. Se optimizaron las geometrías moleculares con cálculos semiempíricos, según el modelo parametrizado 3. Las propiedades moleculares se calcularon siguiendo la teoría del funcional de la densidad. Se analizaron las densidades de cargas atómicas y los orbitales de frontera. Se establecieron comparaciones para medir el efecto de los sustituyentes sobre las propiedades del anillo betalactámico. Todos los cálculos se ejecutaron en computadoras personales pertenecientes a la Universidad de Ciencias Médicas de Las Tunas, desde

noviembre de 2009 a marzo de 2010. **Resultados:** los parámetros estructurales del anillo betalactámico no cambian como consecuencia de las modificaciones en las cadenas laterales. El anillo tiene una marcada tendencia a la planaridad. El ceftobiprole se diferencia del resto por la disposición espacial de la cadena lateral, que facilita el acceso hasta el carbono carbonílico. No existen variaciones importantes en las densidades de carga, sobre todo en la carga positiva del referido carbono. **Conclusiones:** la estructura y propiedades electrónicas del anillo betalactámico no tienen modificaciones significativas entre las cefalosporinas modeladas. La estructura tridimensional del ceftobiprole potencia una mayor reactividad.

Palabras clave: Cefalosporinas; diseño de drogas

ABSTRACT

Background: The side chains attached to the 7-amino cephalosporanic acid, the structural basis of cephalosporin, condition its molecular properties and cause differences in its pharmacological action. Molecular modeling contributes to further knowledge about this relationship. **Objective:** To calculate

Recibido: 29 de agosto de 2010

Aprobado: 2 de septiembre de 2010

Correspondencia:

Dr. C. Elso M. Cruz Cruz.

Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta".

Avenida de la Juventud s/n.

Las Tunas. CP: 75 500.

Dirección electrónica: elso@cucalambe.ltu.sld.cu

structural and electronic properties of five cephalosporins: cephadrine, cephalexin, cefadroxil, cefprozil and ceftobiprole. **Methods:** A theoretical study using quantum mechanics methods to model the structure and electronic properties of the cephalosporins listed above was conducted. Molecular geometries were optimized with semi-empirical calculations, according to the parameterized number three model. The molecular properties were calculated following the density functional theory. The densities of atomic charges and the frontier orbitals were analyzed. Comparisons were established to measure the effect of substituents on the properties of the beta-lactam ring. All calculations were run on personal computers belonging to the Medical Sciences University of Las Tunas, from November 2009 to March 2010. **Results:** The structural parameters of the beta-lactam ring do not change as a result of changes in the side chains. The ring has a marked tendency to planarity. The ceftobiprole is different from the rest of the cephalosporins in the spatial disposition of the side chain, which facilitates access to the carbonyl carbon. There are no significant variations in the charge densities, especially in the positive charge of this carbon. **Conclusions:** The structure and electronic properties of the beta-lactam ring have no significant changes among modeled cephalosporins. The three dimensional structure of ceftobiprole favors a higher reactivity.

Key words: Cephalosporins; drug design

INTRODUCCIÓN

La utilización de la bencilpenicilina, en los años 40 del pasado siglo, marcó el inicio del uso terapéutico de los antibióticos. A finales de esa misma década fue aislada de cepas del hongo *Cephalosporium acremonium* la primera cefalosporina. En lo adelante, esta familia de compuestos ha estado en constante crecimiento hasta nuestros días. ⁽¹⁻⁵⁾

La base estructural de las cefalosporinas lo constituye el ácido 7-aminocefalosporánico, resultado de la fusión de los anillos betalactámico y dihidrotiacínico, con sustituyentes en las posiciones 3 y 7. Su actividad antibiótica se asocia directamente al anillo betalactámico, específicamente a la reactividad a través del carbono carbonílico. El grupo carboxilo, las insaturaciones en el anillo dihidrotiacínico y la presencia de radicales amino en la posición 7, también constituyen elementos estructurales importantes en su accionar antibacteriano. La conjunción de todos ellos se refleja en las conformaciones que definen estas moléculas en el espacio tridimensional. Las modificaciones en el radical amino del carbono 7 y la existencia de sustituyentes en el carbono 3, condicionan las propiedades moleculares y dan lugar a una gran variedad de cefalosporinas. ⁽¹⁾

Las cefalosporinas, al igual que el resto de los antibióticos betalactámicos, actúan a nivel de la pared celular de las bacterias. Mediante una inhibición competitiva se unen a las proteínas ligadoras de

penicilinas (PBPs, por las siglas en inglés de *Penicillin Binding Proteins*), imposibilitando que estas ejerzan su acción catalítica en la unión y entrecruzamiento de las cadenas de péptido glucan, sustancia que le confiere la forma, rigidez y estabilidad a la membrana celular de muchas bacterias de importancia médica. ^(6, 7) Con el paso del tiempo y en respuesta al uso indiscriminado de los antibióticos, las bacterias han reaccionado desarrollando mecanismos de resistencia que neutralizan su acción. ⁽⁷⁻¹³⁾ En el caso de las cefalosporinas el principal mecanismo está asociado a la ruptura del anillo betalactámico por la acción de enzimas betalactamasas, comúnmente denominadas cefalosporinasas. Otro mecanismo importante es la síntesis de nuevas PBPs con menor afinidad por los agentes antibacterianos. ^(1, 7, 8)

La resistencia a los antibióticos es un fenómeno que continúa en ascenso, convirtiéndose en un problema de salud a escala mundial. ^(2-6, 9) Ello ha motivado la búsqueda continua de nuevas fórmulas más potentes y generales. ⁽¹⁴⁻¹⁹⁾ Consecuentemente, se siguen incorporado a la práctica médica nuevos antibióticos activos frente a agentes patógenos muy resistentes. Según la literatura científica, uno de los más prometedores es el ceftobiprole (inicialmente BAL9141), cefalosporina de quinta generación que en los ensayos clínicos en fase III mostró ser reactiva frente a cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes (MRSA, por las siglas en inglés de *methicillin-resistant Staphylococcus aureus*). Además, tiene una elevada afinidad por algunos tipos de proteínas ligadoras de penicilinas que son responsables de la resistencia en estafilococos y neumococos. La efectividad de este compuesto continúa siendo investigada en varios ensayos clínicos, aunque en países como Canadá y Suiza ya han aprobado su uso clínico. ^(2, 3, 20, 21)

Los estudios de relación estructura - actividad biológica y las investigaciones a nivel molecular, incluyendo la modelación en computadoras de estructuras moleculares, propiedades electrónicas y mecanismos de reacción, constituyen herramientas muy utilizadas en la búsqueda de nuevos conocimientos acerca de los mecanismos de acción y resistencia que involucran a los antibióticos, así como en el diseño y síntesis de nuevos compuestos de este tipo. ^(13-15, 22-34)

En el presente trabajo se realiza la modelación molecular de una selección de cinco cefalosporinas: cefradina, cefalexina, cefadroxilo, cefprozilo y ceftobiprole, comparando sus propiedades estructurales, densidades de cargas atómicas y características de los orbitales de frontera, lo cual puede ser de mucha utilidad en la descripción de sus propiedades químicas y en consecuencia, de su comportamiento farmacológico.

MÉTODOS

Se realizó la modelación molecular de 5 cefalosporinas, utilizando computadoras personales IBM compatibles pertenecientes a la Universidad de Ciencias Médicas de Las Tunas, desde noviembre de 2009 a marzo de 2010.

Inicialmente se estudiaron 4 cefalosporinas de primera y segunda generación: cefradina, cefalexina, cefadroxilo y cefprozilo (Figura 1a), escogidas por poseer un número relativamente reducido de átomos, lo que permitió que se realizara la modelación molecular a un menor costo computacional; además, por tener estructuras químicas análogas o muy similares a la de compuestos pertenecientes a la familia de las penicilinas (Figura 1b). En esta selección de cefalosporinas existen diferencias que pueden afectar el radical amino en la cadena lateral unida a la posición C7 del anillo betalactámico y/o el carbono C3 del anillo dihidrotiacínico, en la estructura básica de este tipo de compuestos; aspectos relevantes para sus características farmacocinéticas. En una segunda etapa de la modelación se incluyó el ceftobiprole, cefalosporina de quinta generación alrededor de la cual se han creado numerosas expectativas por su reactividad frente a agentes patógenos muy resistentes.

Las estructuras tridimensionales se obtuvieron mediante

la optimización de las geometrías moleculares aplicando cálculos semiempíricos basados en la modificación de la negación a la superposición diatómica, específicamente el modelo parametrizado 3 (PM3, *Parametric Model 3*);⁽³⁵⁾ empleando para ello el paquete de programas MOPAC, versión 7.01.3 para Linux.⁽³⁶⁾ Una vez obtenidas las geometrías de equilibrio se calcularon las densidades de cargas naturales y los orbitales moleculares, mediante el análisis de los orbitales naturales de enlace según la teoría del funcional de la densidad (DFT, por las siglas en inglés de *Density Functional Theory*) a un nivel DFT / B3LYP/6-31G(d) // HF/PM3.⁽³⁷⁾ Se utilizó la teoría de los orbitales de frontera de Fukui para analizar la reactividad.^(38, 39) Estos cálculos se realizaron con el paquete de programas Gaussian 98 versión A.7 para Linux.⁽⁴⁰⁾ En la confección de las estructuras moleculares iniciales y la visualización de resultados se utilizaron los programas HyperChem 5.02 (versión de prueba)⁽⁴¹⁾ y MOLDEN versión 3.6.^(42, 43)

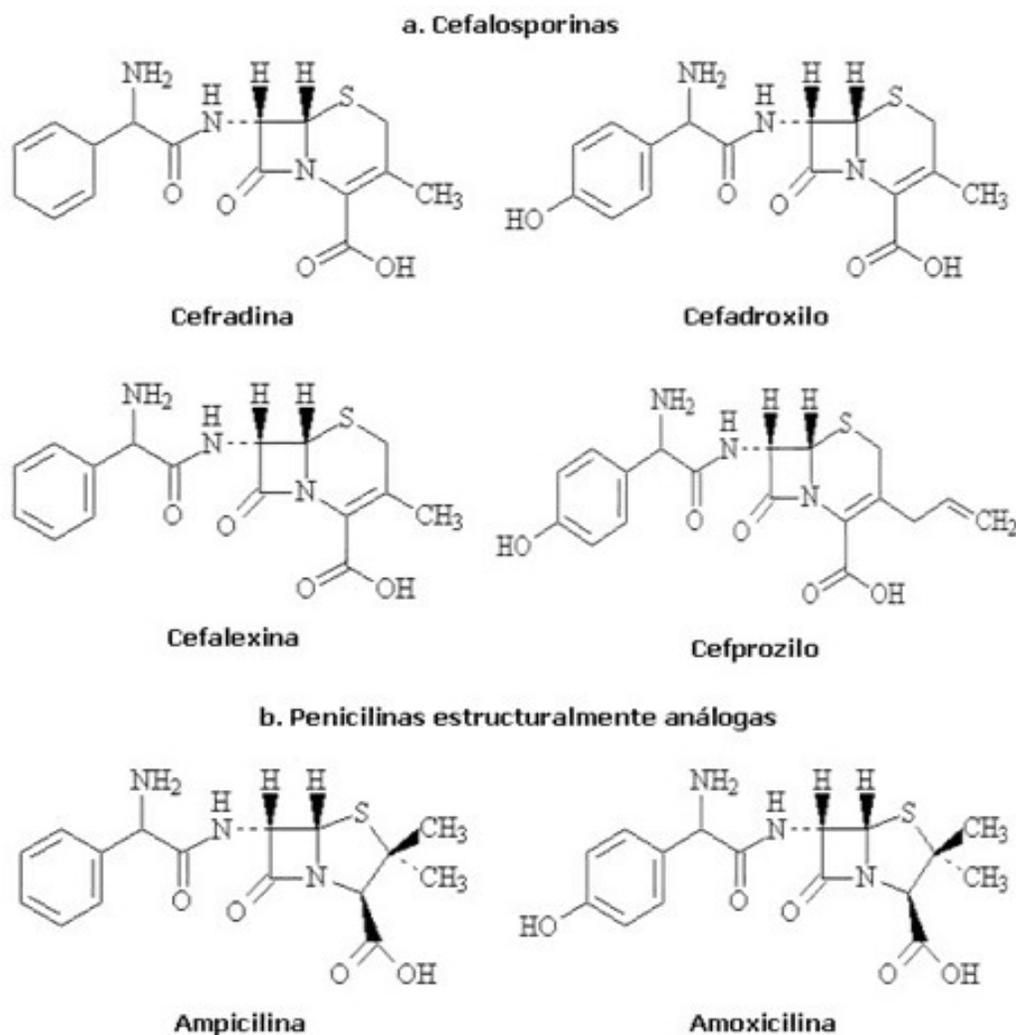


Figura 1. Estructuras químicas de: **a.** Cefalosporinas modeladas y **b.** Penicilinas estructuralmente análogas, estudiadas en un trabajo precedente.⁽⁴⁴⁾

RESULTADOS

Los parámetros geométricos del anillo betalactámico no tienen variaciones significativas cuando se modifica la cadena lateral unida al carbono C7. Solo existen pequeños cambios en el cefprozilo. Este compuesto es muy similar estructuralmente al cefadroxilo, pero con un grupo $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ en lugar del radical metilo ($-\text{CH}_3$) de la posición C3 (Figura 1a). Comparando el anillo betalactámico en ambas estructuras, es perceptible que en el cefprozilo las distancias de enlaces son ligeramente más cortas; específicamente, el enlace N1 – C8 es menor en 0,0156 nm y el C7 – C8 en 0,0031 nm. Por el contrario, existe un pequeño aumento de 2 grados en el ángulo de enlace con vértice en C8 y de 2,2 grados en la

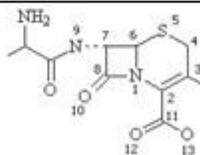
desviación del plano del anillo. Fuera del mismo, el ángulo de enlace que define la posición de la cadena radical en C7 se cierra 2,1 grados respecto al carbono carbonílico.

Descontando las pequeñas variaciones descritas para el cefprozilo, el resto de los parámetros estructurales del anillo betalactámico es muy similar entre todas las cefalosporinas modeladas. Este resultado se mantiene aunque se extienda la comparación a una cefalosporina patrón, modelada en otro trabajo precedente, con un grupo $-\text{NHCH}_3$ como radical amino en C7 e hidrógeno en lugar de $-\text{CH}_3$ en C3. ⁽⁴⁵⁾ En resumen, las modificaciones en las cadenas laterales no afectan significativamente la estructura del anillo betalactámico. (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros estructurales más relevantes del anillo betalactámico*

Parámetro**	Cefradina	Cefalexina	Cefadroxilo	Cefprozilo	Ceftobiprole
N1 – C8	0,1378	0,1469	0,1469	0,1313	0,1479
C7 – C8	0,1540	0,1552	0,1552	0,1521	0,1552
C7 – N9	0,1445	0,1465	0,1465	0,1470	0,1460
C8 – O10	0,1201	0,1195	0,1195	0,1220	0,1196
N1-C8-C7	91,5	90,5	90,5	92,5	91,0
C8-C7-N9	118,4	117,3	117,3	115,2	117,7
Desv. plano	0,7	1,4	1,4	3,6	0,4

Numeración empleada:



**Distancias de enlace en nanómetro (nm) y ángulos en grados.

*Por razones de espacio solo se incluyeron las variables de los átomos más directamente involucrados en el mecanismo de acción antibiótica. Las matrices Z con todos los datos estructurales pueden ser solicitadas a los autores.

Las estructuras tridimensionales obtenidas de las cuatro cefalosporinas de primera y segunda generación muestran como el oxígeno (en rojo) del grupo carbonilo en el radical amino (nitrógeno en azul) unido a C7, se orienta ligeramente en dirección del anillo betalactámico, pero en un plano por encima de este. Ello se refleja en las distancias atómicas entre el mencionado oxígeno y el carbono carbonílico del anillo (C8), átomo que define la futura unión del antibiótico al materializar su acción antibacteriana. Las referidas distancias se acercan hasta: 0,292 nm en cefadroxilo y cefalexina; 0,273 nm en cefradina y 0,232 nm en cefprozilo. No ocurre así con la cefalosporina de quinta generación. (Figura 2).

El ceftobiprole, optimizado según el modelo empleado, se muestra en la siguiente figura. En la parte superior (a) es posible ver la estructura de forma desplegada con el anillo betalactámico hacia el centro. En el extremo inferior izquierdo (b) se observa la molécula rotada, con

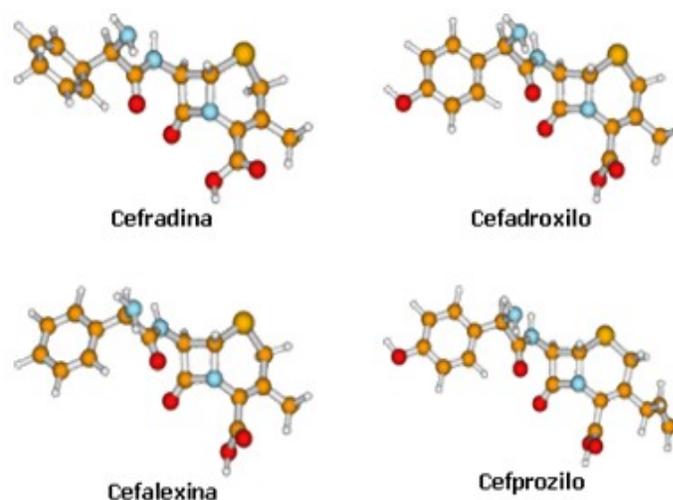


Figura 2. Estructuras tridimensionales obtenidas

el anillo betalactámico en el plano horizontal; es visible como el oxígeno (en rojo) del radical amino se alejó considerablemente del carbono C8 (a 0,443 nm). (Figura 3)

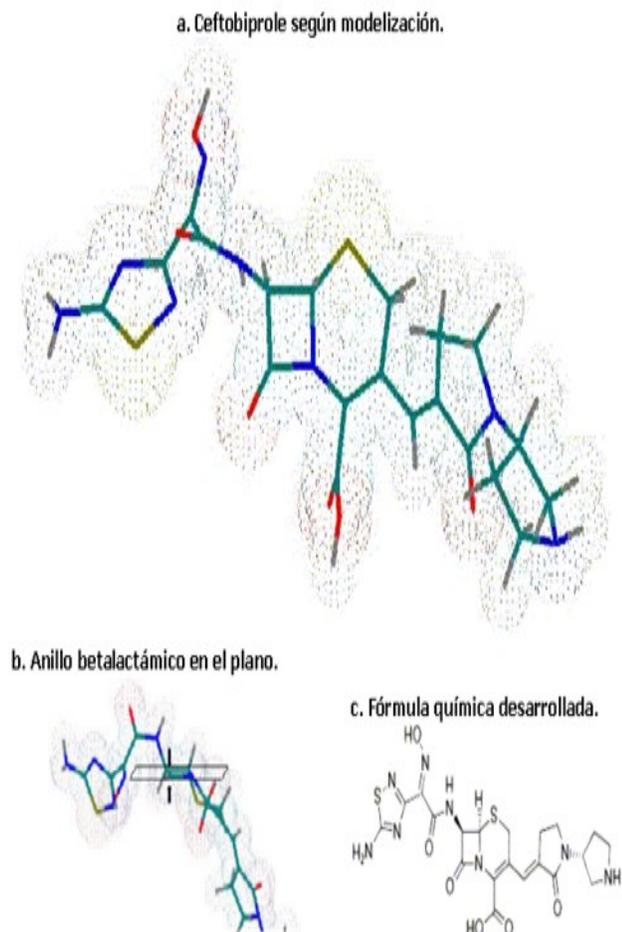


Figura 3. Cefotibiprole: a. Estructura tridimensional optimizada con cálculos semiempíricos PM3; b. Vista con el anillo betalactámico en el plano horizontal, las flechas señalan el carbono carbonílico (C8) y c. Fórmula química desarrollada.

En el anillo betalactámico de todos los compuestos las mayores densidades de cargas negativas recaen sobre los heteroátomos, nitrógeno (N1) y oxígeno (O10), mientras que el carbono carbonílico (C8) tiene la mayor densidad de carga positiva. Fuera de este anillo, el grupo carboxilo del anillo dihidrotiacínico representa otra zona importante por sus densidades de cargas. En general, los valores se corresponden con el entorno electrónico de los átomos en sus respectivas moléculas. Las variaciones en las cadenas laterales no afectan apreciablemente las densidades de cargas en la base estructural de las cefalosporinas. Las mayores diferencias se localizan en N1 al comparar la cefradina con el cefprozilo; este último es 0,104 unidades menos negativo; mientras que el O10 es 0,094 unidades menos negativo en el cefotibiprole, también al compararlo con la cefradina. (Tabla 2).

El análisis de los orbitales moleculares mostró diferencias

Tabla 2. Densidades de cargas atómicas más importantes

Átomos*	Cefradina	Cefalexina	Cefadroxilo	Cefprozilo	Cefotibiprole
N1	-0,530	-0,498	-0,498	-0,426	-0,483
C8	0,751	0,743	0,743	0,740	0,686
N9	-0,709	-0,659	-0,663	-0,670	-0,676
O10	-0,609	-0,602	-0,525	-0,536	-0,515
C11	0,868	0,874	0,876	0,840	0,866
O12	-0,631	-0,590	-0,591	-0,573	-0,577
O13	-0,537	-0,570	-0,570	-0,561	-0,565

*La numeración de los átomos coincide con la utilizada en la Tabla 1.

energéticas LUMO – HOMO muy similares entre todas las cefalosporinas modeladas. Los valores fueron menores a 0,2 eV, característicos de moléculas susceptibles a las transiciones electrónicas, fenómeno estrechamente relacionado con una alta reactividad química.

DISCUSIÓN

Estos resultados se enmarcan en la búsqueda de conocimientos acerca de las características moleculares de los antibióticos betalactámicos que resultan clave en la definición de sus capacidades para reaccionar, tanto al ejercer su acción antibacteriana como al ser inactivados por los agentes patógenos resistentes. Se utilizó la modelación molecular, convertida en una herramienta de elección en investigaciones de interés biomédico. ⁽⁴⁶⁻⁴⁸⁾ En este sentido, es reconocida la calidad de los métodos de la química cuántica (semiempíricos, *ab initio* y DFT) en el modelaje de propiedades moleculares. ^(49, 50)

En la parte metodológica se describió cómo se combinaron cálculos semiempíricos PM3 para optimizar las geometrías moleculares y DFT para las propiedades electrónicas. Esta forma de proceder fue empleada en nuestros estudios precedentes, donde se modelaron: una representación genérica de diferentes betalactámicos y una selección de penicilinas. En ambos casos se concluyó que el anillo betalactámico es muy estable geométrica y electrónicamente ante el efecto de las cadenas laterales. Sin embargo, se detectó que las diferencias en las conformaciones espaciales que implicaban una mayor o menor exposición del anillo betalactámico provocaban algunas variaciones en sus propiedades moleculares. ^(44, 45)

Es conocido que los antibióticos betalactámicos realizan su acción a nivel de la pared celular. El grupo –OH de la serina, presente en las proteínas ligadoras de penicilinas (PBPs) de las bacterias, ataca el carbono carbonílico del anillo betalactámico (C8). Se forma un complejo estable acil-enzima que imposibilita a las PBPs ejercer su acción catalítica en la unión y entrecruzamiento de las cadenas de péptido glucan, debilitando sustancialmente la pared

celular de las bacterias. Las características estructurales y electrostáticas del antibiótico resultan fundamentales en la formación del mencionado complejo. La planaridad del anillo betalactámico, la fortaleza de los enlaces que lo conforman, la magnitud de la carga positiva en el carbono carbonílico y la disposición espacial en las vecindades de ese carbono, son algunas de las características más relevantes.

Atendiendo a ello, el análisis de los resultados obtenidos enfatiza que la geometría del anillo betalactámico no se modifica significativamente por la acción del radical amino unido a C7, coincidiendo con los trabajos anteriores.^(44, 45) Esta afirmación no es posible extenderla a las cadenas unidas a C3, pues solo dos de las cefalosporinas estudiadas tienen sustituyentes diferentes al grupo $-CH_3$ en esa posición, el cefprozilo y el ceftobiprole. En el primero existen pequeñas variaciones geométricas descritas en los resultados, mientras que en el segundo los parámetros estructurales del anillo tienen características muy similares al resto de las cefalosporinas.

En el análisis estructural, el hecho más relevante es la conformación espacial apreciablemente diferente del ceftobiprole. La molécula se dispone de una forma más alargada, sobre todo por la cadena lateral en C7, dejando que el orbital atómico p desocupado del carbono carbonílico C8 (con hibridación sp^2) quede fácilmente accesible por ambas caras del plano del anillo. (Figura 3b). Otro aspecto importante en este compuesto es la cantidad de átomos de elevada electronegatividad que está presente en la estructura de las cadenas laterales. En el radical amino de C7, además de los $-NH$ y $-C=O$ característicos, de los otros 9 átomos diferentes de hidrógeno que conforman esa cadena, 6 son muy electronegativos: 1 oxígeno, 4 nitrógenos y 1 azufre. Por su parte, la cadena unida a C3 tiene 2 nitrógenos y 1 oxígeno. En la estructura tridimensional optimizada se observa que estos átomos quedan en posiciones muy expuestas, facilitando las interacciones electrostáticas a través de ellos. (Figura 3). Este aspecto es muy importante en el proceso de reconocimiento molecular por las PBPs y la preparación de la molécula del antibiótico para formar el complejo acil-enzima.^(51, 52)

Uniéndolo a ello la antes mencionada facilidad espacial para el acceso hasta el carbono carbonílico (C8), sitio a través del cual ocurren las transformaciones químicas asociadas a la acción antibacteriana, el ceftobiprole tiene una estructura molecular que potencia su reactividad. Existen varios trabajos donde se reportan reacciones de

este fármaco frente a PBPs menos reactivas elaboradas por algunos agentes patógenos como mecanismo de resistencia; por ejemplo, las PBP1a, PBP2a, PBP2b, PBP2x y PBP3 de estafilococos y neumococos.^(2, 3, 20, 21, 53-55)

Por otra parte, los resultados de las densidades de cargas atómicas y las diferencias energéticas entre los orbitales de frontera confirman lo discutido en el análisis estructural, las modificaciones en las cadenas laterales no afectan significativamente la estructura base de las cefalosporinas estudiadas. Al parecer, en las cadenas laterales están las causas directas de las diferencias farmacológicas existentes, en detrimento de la idea que son causas indirectas al inducir modificaciones en la base estructural del compuesto. En el análisis de la reactividad no se consideró la forma espacial de los orbitales de frontera por ser poco concluyente, caracterizadas por una elevada deslocalización sobre varios átomos.

El descubrimiento en este siglo de tres nuevas clases de antibióticos, oxazolidinonas, lipopéptidos y mutilinas, puso fin a un largo período de casi 40 años sin cambios estructurales trascendentales en estos fármacos. Sin embargo, esto no ha resuelto el fenómeno de la resistencia bacteriana. Nuevas expectativas vienen acompañadas de derivados de antibacterianos clásicos como las cefalosporinas y carbapenemas.⁽²⁻⁶⁾ Para enfrentar agentes patógenos resistentes pueden ser muy útiles antibióticos betalactámicos que establezcan interacciones fuertes con las PBPs en la etapa de reconocimiento molecular. Esto es posible lograrlo incorporando en las cadenas laterales sustituyentes donde existan varios átomos muy electronegativos e hidrógenos muy reactivos.

La prescripción adecuada de antibióticos, el control de su uso y la educación de la población para evitar la automedicación y el abuso en el consumo de estos medicamentos, constituyen elementos importantes que deben estar presentes en cualquier estrategia para enfrentar la resistencia bacteriana. Simultáneamente, es necesario continuar en la búsqueda y desarrollo de nuevos antibacterianos. En este sentido, la modelación molecular puede realizar aportes. En el presente trabajo, partiendo de las propiedades estructurales y electrónicas calculadas de la muestra de cefalosporinas objeto de estudio, se han llegado a conclusiones que aportan elementos a tener presente en la estructura química más idónea para este tipo de fármacos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sonawane VC. Enzymatic modifications of cephalosporins by cephalosporin acylase and other enzymes. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2006; 26(2):95-120.
2. Cornaglia G, Rossolini GM. Forthcoming therapeutic perspectives for infections due to multidrug-resistant Gram-positive pathogens. *Clin Microbiol Infect*. 2009; 15(3):218-23.
3. Aksoy DY, Unal S. New antimicrobial agents for the treatment of Gram-positive bacterial infections. *Clin Microbiol Infect*. 2008; 14(5):411-20.
4. French GL. What's new and not so new on the antimicrobial horizon? *Clin Microbiol Infect*. 2008; 14(Suppl. 6):19-29.
5. Fischbach MA, Walsh CT. Antibiotics for Emerging Pathogens. *Science*. 2009; 325(5944):1089-93.
6. Singh GS. β -Lactams in the new millennium. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2004; 4(1):69-92.
7. Zapun A, Contreras Martel C, Vernet T. Penicillin-binding proteins and β -lactam resistance. *FEMS Microbiol Rev*. 2008; 32(2):361-85.
8. Gniadkowski M. Evolution of extended-spectrum β -lactamases by mutation. *Clin Microbiol Infect*. 2008; 14(Suppl.1):11-32.
9. Erb A, Stürmer T, Marre R, Brenner H. Prevalence of antibiotic resistance in *Escherichia coli*: overview of geographical, temporal, and methodological variations. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2007; 26(2):83-90.
10. Nijssen S, Bootsma M, Bonten M. Potential confounding in evaluating infection-control interventions in hospital settings: changing antibiotic prescription. *Clinical Infectious Diseases*. 2006; 43(5):616-23.
11. Peterson LR. Squeezing the antibiotic balloon: the impact of antimicrobial classes on emerging resistance. *Clin Microbiol Infect*. 2005; 11(Suppl. 5):4-16.
12. Stefani S. Emergence of multi-drug resistance gram-positive bacteria and new active antibiotics. *Current Medicinal Chemistry - Anti-Infective Agents*. 2005; 4(3):235-57.
13. Yacobi I, Benhar I. Targeted anti bacterial therapy. *Infectious Disorders – Drugs Targets*. 2007; 7(3):221-29.
14. Biava M, Porretta GC, Deidda D, Pompei R. New trends in development of antimycobacterial compounds. *Infectious Disorders – Drugs Targets*. 2007; 6(2):159-72.
15. Zaiou M. Multifunctional antimicrobial peptides: therapeutic targets in several human diseases. *J Mol Med*. 2007; 85(4):317-29.
16. Vidailiac C, Guillon J, Moreau S, Arpin C, Lagardère A, Larrouture S, et al. Synthesis of new 4-[2-(alkylamino)ethylthio]pyrrolo[1,2-a]quinoxaline and 5-[2-(alkylamino)ethylthio]pyrrolo[1,2-e]thieno[3,2-e]pyrazine derivatives, as potential bacterial multidrug resistance pump inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2007; 22(5):620-31.
17. Li J, Tom Chang CW. Recent development in the synthesis of novel aminoglycoside antibiotics. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry*. 2006; 5(3):255-71.
18. Mateo C, Abian O, Grazú V, Fernández-Lorente G, Palomo JM, Fuentes M, et al. Recent advances in the industrial enzymatic synthesis of semi-synthetic β -Lactam antibiotics. *Medicinal Chemistry Reviews*. 2005; 2(3):207-18.
19. Coates AR, Hu Y. Novel approaches to developing new antibiotics for bacterial infections. *British Journal of Pharmacology*. 2007; 152(8):1147-54.
20. Bogdanovich T, Ednie LM, Shapiro S, Appelbaum PC. Antistaphylococcal activity of ceftobiprole, a new broad-spectrum cephalosporin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49(10):4210-9.
21. Kosowska K, Hoellman DB, Lin G, Clark C, Credito K, McGhee P, Dewasse B, et al. Antipneumococcal activity of ceftobiprole, a novel broad-spectrum cephalosporin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49(5):1932-42.
22. Zakeri B, Wright GD. Chemical biology of tetracycline antibiotics. *Biochemistry and Cell Biology*. 2008; 86(2):124-36.
23. Pappenberger G, Schulz-Gasch T, Kuszniir E, Müller F, Hennig M. Structure-assisted discovery of an aminothiazole derivative as a lead molecule for inhibition of bacterial fatty-acid synthesis. *Acta Cryst*. 2007; 63(12):1208-16.
24. Meroueh SO, Mobashery S. Conformational transition in the aminoacyl t-RNA site of the bacterial ribosome both in the presence and absence of an aminoglycoside antibiotic. *Chemical Biology and Drug Design*. 2007; 69(5):291-7.
25. Smith CA, Caccamo M, Kantardjieffc KA, Vakulenko S. Structure of GES-1 at atomic resolution: insights into the evolution of carbapenamase activity in the class A extended-spectrum β -lactamases. *Acta Cryst*. 2007; 63(9):982-92.
26. Smith PA, Romesberg FE. Combating bacteria and drug resistance by inhibiting mechanisms of persistence and adaptation. *Nature Chemical Biology*. 2007; 3(9):549-56.

27. Macheboeuf P, Fischer DS, Brown JrT, Zervosen A, Luxen A, Joris B, et al. Structural and mechanistic basis of penicillin-binding protein inhibition by lactivins. *Nature Chemical Biology*. 2007; 3(9):565-9.
28. Taboureau O, Hvilsted O, Duus Nielsen J, Raventos D, Holse Mygind P, Kristensen HH. Design of novispirin antimicrobial peptides by quantitative structure-activity relationship. *Chemical Biology and Drug Design*. 2006; 68(1):48-57.
29. Klein CD, Bachelier A. Molecular modeling and bioinformatical analysis of the antibacterial target enzyme MurA from a drug design perspective. *J Comput Aided Mol Des*. 2006; 20(10/11):621-8.
30. Fuda C, Heseck D, Lee M, Heilmayer W, Novak R, Vakulenko SB, Mobashery S. Mechanistic basis for the action of new cephalosporin antibiotics effective against methicillin and vancomycin resistant *Staphylococcus aureus*. *J Biol Chem*. 2006; 281(15):1035-41.
31. Hujer AM, Kania M, Germen T, Anderson VE, Buynak JD, Ge X, et al. Structure-activity relationships of different lactam antibiotics against a soluble form of *Enterococcus faecium* PBP5, a type II bacterial transpeptidase. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005; 49(2):612-8.
32. Jana S, Deb JK. Molecular targets for design of novel inhibitors to circumvent aminoglycoside resistance. *Current Drug Targets*. 2005; 6(3):353-61.
33. Fenollar-Ferrer C, Frau J, Vilanova B, Donoso J, Muñoz F. Molecular modelling studies on Henry-Michaelis complexes of a class C β -lactam compounds. *J Mol Struct (THEOCHEM)*. 2002; 578:19-28.
34. Vilanova B, Coll M, Frau J, Muñoz F, Donoso J. Kinetic and molecular-modelling study of the interaction between *Staphylococcus aureus* PC1 enzyme and imipenem. *Helv Chim Acta*. 2001; 84:3366-79.
35. Stewart JJP. Optimization of parameters for semiempirical methods IV: extension of MNDO, AM1, and PM3 to more main group elements. *Journal of Molecular Modeling*. 2004; 10(2):155-64.
36. MOPAC: Molecular Orbital Package [Programa para computadora] v 7.01.3. Debrecen: Institute of Nuclear Research, Hungary; 2000. Disponible en: <http://esca.atomki.hu/mopac7/LINUX>.
37. Levine IN. Ab initio and Density Functional treatments of molecules. En: *Quantum Chemistry*. 5^{ta} ed. New Jersey: Prentice-Hall Inc.; 2000. p. 480-593.
38. Fukui K, Fujimoto H. Frontier orbitals and reaction paths. En: *Selected Papers of Kenichi Fukui*. Tokio: Fukui K, Fujimoto H (ed); 1997. p. 103-167.
39. Lewis D. Frontier orbitals in chemical and biological activity: quantitative relationships and mechanistic implications. *Drug Metabolism Reviews*. 1999; 31(3):755-816.
40. Gaussian 98 [Programa para computadora] Revision A. 7. Pittsburgh PA: Gaussian Inc.; 1998. Disponible en: <http://www.gaussian.com>.
41. HyperChem: Molecular Modeling System [Programa para computadora] v 5.02 (versión de prueba). Gainesville FL: Hypercube Inc.; 1997. Disponible en: <http://www.hyper.com>.
42. Schaftenaar G, Noordik JH. Molden: a pre- and post-processing program for molecular and electronic structures. *J Comput Aided Mol Des*. 2000; 14:123-34.
43. MOLDEN [Programa para computadora] v 3.6. University of Nijmegen: CAOS/CAMM Center. The Netherlands; 2000. Disponible en: <http://www.caos.kun.nl/~schaft/molden/molden.html>.
44. Cruz Cruz EM, Sánchez Domínguez E. Modelación molecular de cuatro penicilinas: bencilpenicilina, fenoximetilpenicilina, ampicilina y amoxicilina. *Medisur [revista en Internet]*. 2009[citada: 2 de marzo de 2010]; 7(4): [aprox. 7 p.] Disponible en: <http://medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/viewArticle/788>.
45. Cruz Cruz EM, Díaz Ramón GM. Modelación molecular de antibióticos betalactámicos. *Medisur [revista en Internet]*. 2010[citada: 2 de marzo de 2010]; 8(1): [aprox. 6 p.] Disponible en: <http://medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/viewArticle/750>.
46. Hall LH, Hall LM. QSAR modeling based on structure-information for properties of interest in human health. *SAR and QSAR in Environmental Research*. 2005; 16(1-2):13-41.
47. Van Drie JH. Computer-aided drug design: the next 20 years. *J Comput Aided Mol Des*. 2007; 21(10-11):591-601.
48. Juan Wu W, Can Chen J, Qian L, Cheng Zheng K. QSAR and molecular design of benzo[b]acronycine derivatives as antitumor agents. *Journal of Theoretical and Computational Chemistry*. 2007; 6(2):223-31.
49. Gasteiger J. Modeling chemical reactions for drug design. *J Comput Aided Mol Des*. 2007; 21(1-3): 33-52.
50. Gasteiger J. Chemoinformatics: a new field with a long tradition. *Anal Bioanal Chem*. 2006; 384(1):57-64.
51. Guncheva M, Ivanov I, Galunsky B, Stambolieva N, Kaneti J. Kinetic studies and molecular modelling attribute a crucial role in the specificity and stereoselectivity of penicillin acylase to the pair ArgA145-ArgB263. *Eur J Biochem*. 2004; 271(11):2272-9.
52. Alkema WB, Dijkhuis A, de Vries E, Janssen D. The role of hydrophobic active site residues in substrate specificity

- and acyl transfer activity of penicillin acylase. Eur J Biochem. 2002; 269(8):2093-100.
53. Lemaire S, Glupczynski Y, Duval V, Joris B, Tulkens PM, Van Bambeke F. Activities of ceftobiprole and other cephalosporins against extracellular and intracellular (THP-1 macrophages and keratinocytes) forms of methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53(6):2289-97.
54. Davies TA, Page MG, Shang W, Andrew T, Kania M, Bush K. Binding of ceftobiprole and comparators to the penicillin-binding proteins of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2007; 51(7):2621-4.
55. Davies TA, Shang W, Bush K. Activities of ceftobiprole and other beta-lactams against *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates from the United States with defined substitutions in penicillin-binding proteins PBP1a, PBP2b, and PBP2x. Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50(7):2530-2.