



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**HACIA LA IDENTIFICACIÓN SISTEMÁTICA DE COMPUESTOS BIOACTIVOS A
PARTIR DE PRODUCTOS NATURALES CON CRIBADO VIRTUAL**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

José de Jesús Chew Morales



CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX

2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: FRANCISCO HERNÁNDEZ LUIS**
VOCAL: **Profesor: MABEL CLARA FRAGOSO SERRANO**
SECRETARIO: **Profesor: JOSÉ LUIS MEDINA FRANCO**
1er. SUPLENTE: **Profesor: JOSÉ EDUARDO ROA CORIA**
2° SUPLENTE: **Profesor: PEDRO JOSUÉ TREJO SOTO**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, CIUDAD UNIVERSITARIA, FACULTAD DE QUÍMICA,
DEPARTAMENTO DE FARMACIA, DIFACQUIM, EDIFICIO F, CUBÍCULO 108.**

ASESOR DEL TEMA:

JOSÉ LUIS MEDINA FRANCO

SUSTENTANTE:

JOSÉ DE JESÚS CHEW MORALES

AGRADECIMIENTOS

Al colegio de profesores de la Facultad de Química y a la sección 024 del AAPAUNAM por el apoyo a través de la cátedra “Dr. Carlos Antonio Rius Alonso” (2017).

ÍNDICE GENERAL

Abreviaturas.....	v
Resumen.....	vi
Introducción.....	1
Objetivos.....	14
Metodología.....	15
Resultados y Discusión.....	20
Conclusiones.....	53
Bibliografía.....	54
Anexo I.....	56
Anexo II.....	78

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 y 2.....	16
Tabla 3.....	20
Tabla 4.....	22
Tabla 5 y 6.....	24
Tabla 7.....	27
Tabla 8.....	32
Tabla 9.....	33
Tabla 10 y 11.....	36
Tabla 12 y 13.....	37
Tabla 14.....	38
Tabla 15.....	39
Tabla 16.....	42
Tabla 17.....	43
Tabla 18.....	45
Tabla 19 y 20.....	46

	Índice
Tabla 21.....	47
Tabla 22 y 23.....	49
Tabla 24.....	51

ÍNDICE DE GRÁFICAS Y FIGURAS

Figura 1 y 2.....	10
Figura 3.....	11
Figura 4.....	12
Figura 5.....	13
Figura 6 y 7.....	21
Figura 8.....	22
Figura 9.....	23
Figura 10.....	25
Figura 11.....	26
Figura 12.....	29
Figura 13.....	30
Figura 14 y 15.....	50
Gráfica 1 y 2.....	51
Gráfica 3 y 4.....	52

ABREVIATURAS

2D:	Dos dimensiones
3D:	Tres dimensiones
CoMFA:	Del inglés <i>Comparative Molecular Field Analysis</i>
DBFP:	Del inglés <i>Database Fingerprint</i>
DIFAC:	Diseño de fármacos asistido por computadora
ECFP4:	Del inglés <i>Extended Connectivity Fingerprint</i> a cuatro átomos de diámetro
ECFP6:	Del inglés <i>Extended Connectivity Fingerprint</i> a seis átomos de diámetro
MACCS:	Del inglés <i>Molecular Access System</i>
MOE:	Del inglés <i>Molecular Operating Environment</i>
PCA:	Del inglés <i>Principal Components Analysis</i>
QSAR:	Del inglés <i>Quantitative structure-activity relationship</i>
ROCS:	Del inglés <i>Rapid Overlay of Chemical Structures</i>
TCM:	Del inglés <i>Traditional Chinese Medicine</i>
TPSA:	Del inglés <i>Topological Polar Surface Area</i>
USR:	Del inglés <i>Ultrafast Shape Recognition</i>

RESUMEN

La química computacional ha facilitado la búsqueda y diseño de fármacos debido a que ahorra tiempo y recursos económicos. Herramientas computacionales que se emplean con frecuencia son similitud molecular, acoplamiento molecular, relaciones cuantitativas estructura-actividad, modelado del farmacóforo, entre otras. Además, existen técnicas que ocupan una o más de estas técnicas para la búsqueda de fármacos como el cribado virtual y la llamada ‘pesca de dianas’ (*target fishing*). Los primeros fármacos usados por nuestros antepasados fueron remedios naturales. Con el tiempo, se ha logrado identificar y caracterizar las moléculas bioactivas de estos remedios. La aplicación de la química computacional puede ayudar encontrar la actividad biológica de moléculas provenientes de productos naturales para que eventualmente sean desarrolladas y empleadas en el tratamiento de enfermedades. Dentro de estos padecimientos esta la enfermedad de Chagas y la tuberculosis; la primera sólo se puede tratar con dos fármacos (benznidazol y nifurtimox), y la segunda ha causado muchas muertes en todo el mundo debido a la resistencia que adopta. La Organización Mundial de la Salud tiene planeado erradicar la tuberculosis para el año 2030. El objetivo de esta tesis fue identificar compuestos de origen natural con posible actividad contra la enfermedad de chagas y tuberculosis. Para alcanzar este objetivo, por medio del cribado virtual se filtraron más de 200 000 moléculas contenidas en una base de datos de productos naturales construida y curada en este estudio. Se obtuvieron 67 *hits* computacionales con alta similitud a estefimicina B y D-cicloserina, y 27 a ambrosina, glaucólido E e incomptina B. Estos últimos son compuestos líderes (*leads*) con afinidad a dianas terapéuticas contra tuberculosis y *Trypanosoma cruzi*, respectivamente. Como resultado se proponen 42 llamados ‘compuestos líderes seguros’ (*safe leads*) con alta afinidad calculada hacia dianas biológicas relevantes al tratamiento de la tuberculosis y con baja toxicidad. Se encontró que estos *safe leads* ocupan un lugar en el espacio químico único entre los fármacos aprobados por la FDA contra tuberculosis. Estos *safe leads* pueden ser ocupados en ensayos biológicos para comprobar su actividad. Este trabajo representa una de las primeras implementaciones de las llamadas “Huellas digitales de bases de datos” (*Database Fingerprint*), desarrollada recientemente.

INTRODUCCIÓN

Descubrimiento de fármacos

La Química Farmacéutica tiene como objetivo estudiar los fármacos desde un punto de vista químico. Esta ciencia también está relacionada con el diseño y descubrimiento de fármacos. La historia del descubrimiento de fármacos está íntimamente relacionada con el desarrollo de las ciencias experimentales, incluyendo de manera importante, a la química orgánica. Para conocer la estructura de las dianas biológicas y la relación estructura-actividad de un fármaco se necesita de la conexión de varias aplicaciones. Entre ellas la síntesis, la informática y la biología molecular (Morge 2001).

Desde hace más de cinco mil años las civilizaciones de diferentes partes del mundo se han empeñado en descubrir remedios para sanar a los enfermos. Las primeras surgieron a partir del uso de plantas y minerales. Pero la Química Farmacéutica surge propiamente con Paracelso que utilizó sales minerales en la terapéutica frente al uso de plantas. Hasta el siglo XIX comienza la era de los fármacos con los primeros hallazgos relacionados con la anestesia, como el óxido nitroso, el éter etílico y el cloroformo, y otros fármacos para diferentes indicaciones terapéuticas (Morge 2001).

Actualmente, el descubrimiento de fármacos se logra con la ayuda de la minería de bases de datos, el estudio de relaciones cuantitativas estructura-actividad y el aislamiento y la caracterización de dianas biológicas, entre otras estrategias (Morge 2001).

Identificación de la actividad biológica

Una de las formas de identificar la posible actividad biológica de una molécula es exponerla con la diana que puede contribuir con el efecto terapéutico (*in vitro*). Otra técnica es el ensayo con un modelo biológico en el que esté presente la diana biológica (*in vivo*). Con el desarrollo de técnicas como resonancia magnética nuclear y rayos X se facilitó el descubrimiento de fármacos, permitiendo conocer las disposiciones espaciales de las macromoléculas, especialmente las interacciones entre el compuesto activo (ligando) y su diana biológica. El desarrollo de técnicas computacionales, las espectroscopias, cálculos fisicoquímicos, y los programas de estadística, permitieron plantear la interrelación entre un ligando y su diana como algo medible, optimizable y visualizable (Morge 2001).

Aunque estas y otras técnicas son de gran ayuda para el descubrimiento de fármacos, no se puede asegurar que estos ligandos reúnen todas las características precisas de

solubilidad, biodisponibilidad, toxicidad o metabolismo para ser buenos candidatos para uso terapéutico.

En años recientes se han desarrollado nuevas metodologías del modelado molecular, que son capaces de representar las moléculas en tres dimensiones (3D), superponerlas y formar mapas que indiquen las diferentes regiones de espacio, e interacciones con la diana.

Estas herramientas pueden ayudar a revelar la actividad biológica del ligando, ya que pueden pronosticar la eventual unión con la diana terapéutica sobre la cual va a ejercer su mecanismo de acción. Además, estas herramientas tienen por objetivo identificar las cabezas de series, sobre las cuales se pueden hacer modificaciones estructurales, para optimizar las características del ligando y poder ser considerado como fármaco.

Química computacional

El diseño de fármacos asistido por computadora (DIFAC) es una integración de métodos de diferentes áreas de investigación como la quimioinformática, bioinformática, modelado molecular, entre otras que pretende entender las relaciones estructura-actividad biológica o farmacológica de compuestos. El DIFAC tiene como objetivos diseñar o identificar nuevas moléculas con un efecto biológico; seleccionar los mejores candidatos entre las moléculas estudiadas para un efecto biológico; y optimizar aquellas moléculas “líderes”, mejorando sus propiedades farmacológicas y disminuyendo las toxicológicas (Saldívar-González et al., 2017).

Corwin Hansch fue el pionero en esta área de la ciencia, desarrollando el método de relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR, por sus siglas en inglés), relacionó las propiedades fisicoquímicas de las moléculas con su actividad biológica. Posteriormente aparecieron nuevos métodos como el uso de gráficas moleculares generadas por computadoras, hasta el desarrollo del modelado molecular en 3D (Medina-Franco et al., 2015).

Las estrategias del DIFAC para la búsqueda y descubrimiento de nuevos fármacos se pueden clasificar en dos grupos principales:

- a) Diseño basado en el ligando. El enfoque principal de estas estrategias es el estudio de la estructura química del ligando con las moléculas que pretendemos estudiar.
- b) Diseño basado en el receptor. El enfoque principal de estas estrategias es el análisis de la estructura espacial de la macromolécula con la que interactúa el ligando.

Dependiendo de los conocimientos que tenemos sobre el ligando o el receptor, se puede elegir el método más adecuado y eficiente para nuestra investigación. Si se conocen las características tanto del ligando, como del receptor, se recomienda hacer la combinación de estos métodos para un mejor desempeño (Medina-Franco et al., 2015).

Pesca de dianas (“target fishing”)

El *target fishing* es un conjunto de métodos diseñados para identificar la diana a la cual la molécula tenga mayor afinidad. El conjunto de estos métodos permite pronosticar la actividad biológica de la molécula, identificar el mecanismo de acción de fármacos conocidos, detectar la polifarmacología de fármacos, reposicionar fármacos para otras indicaciones terapéuticas, o predecir los efectos adversos de las moléculas (Cereto-Massague et al., 2015).

Estos métodos aportan distinta información que puede ser en base al ligando ya conocido de la diana (similitud molecular) o en base a la misma diana de interés (acoplamiento molecular). El *target fishing* da como resultado un cúmulo extenso de información. Esta información permite descartar moléculas no bioactivas y conservar los “hits computacionales”, identificar las interacciones diana-ligando, establecer un farmacóforo y obtener las propiedades de las moléculas (Cereto-Massague et al., 2015).

Similitud molecular

El fundamento de este método es relacionar las estructuras de varias moléculas con la estructura de un ligando conocido de la diana biológica. Los métodos más simples para la predicción de la diana se basan en la similitud química y el uso de los conocimientos sobre la bioactividad de millones de moléculas pequeñas, mediante el “principio de similitud química”, estableciendo la probabilidad de que moléculas similares tengan propiedades similares. Por lo tanto, las dianas de las moléculas estudiadas se pueden predecir mediante la identificación de proteínas con ligandos conocidos que son muy similares a la molécula de referencia (Cereto-Massague et al., 2015).

Este método es muy sencillo y práctico, ya que sólo se requiere del cálculo de la similitud entre los compuestos. Para esto el ligando conocido se representa con frecuencia como una huella digital molecular, constituida por varios componentes en su estructura, por ejemplo, sus grupos funcionales. Las huellas digitales más comunes son una serie de dígitos binarios (2D) que representan la presencia o ausencia de subestructuras

particulares en la molécula representadas por los números 1 y 0 (1=presente; 0=ausente). Entre este tipo de estrategias están las basadas en diccionario, la radial y farmacofóricas. Para comparar las huellas entre dos moléculas en forma consistente se puede ocupar el coeficiente de Tanimoto o cualquier otra métrica de similitud. En varias bases de datos se pueden describir la bioactividad de miles o incluso millones de moléculas pequeñas. O las actividades de los fármacos conocidos se pueden utilizar para la predicción de sus dianas (Cereto-Massague et al., 2015).

Además de las huellas digitales moleculares en 2D, también existen las 3D, las cuales pueden ser basadas en el volumen de las moléculas o en el modelo del farmacóforo. Sin embargo, este cálculo computacional es más costoso, debido a que contiene mayor información. En principio las predicciones basadas en descriptores 3D serían mejores que aquellas basadas en 2D, ya que el reconocimiento molecular ocurre en 3D. Sin embargo, debido a que hay que conocer las conformaciones bioactivas de compuestos activos puede ser muy inexacto. En algunos casos los métodos en 2D han remplazado satisfactoriamente a los 3D para una correcta predicción. En general, descriptores 3D trabajan mejor en casos de menor similitud molecular.

Una de las limitaciones conocidas de la similitud molecular es que algunas veces los compuestos inactivos pueden demostrar una alta similitud con moléculas activas. Esto puede ocurrir cuando se hace una modificación pequeña de un compuesto activo en alguna posición que era crucial para sus interacciones (*activity cliffs*). Estos compuestos inactivos pueden ser resultado de predicciones falsas positivas de los métodos de pesca de dianas. Cabe señalar que en algunos casos se pueden esperar una gran cantidad de falsos positivos, debido a que no todos los compuestos activos han sido identificados para su diana específica (Cereto-Massague et al., 2015).

Algunos de los programas que pueden llevar a cabo este tipo de similitud molecular en 3D son *Rapid Overlay of Chemical Structures* (ROCS), *Phase Shape*, ESHAPE3D, PARAFIT, ShaEP y *Ultrafast Shape Recognition* (USR). Estos programas también pueden proporcionar información acerca del farmacóforo y algunas otras huellas digitales moleculares como espectróforo y farmacóforo. Sin embargo, para estudios de cribado virtual, los métodos basados en las huellas digitales moleculares en 2D pueden ser más eficientes que los métodos basados en la estructura en 3D (Cereto-Massague et al., 2015).

Una vez seleccionados los compuestos que presentan alta similitud con una estructura de referencia, se hace la evaluación de la significancia estadística de la similitud. Por ejemplo,

cuando se emplean MACCS keys, dos estructuras se consideran usualmente similares cuando su coeficiente de Tanimoto es igual o mayor a 0.85 (Cereto-Massague et al., 2015).

Acoplamiento molecular (molecular docking)

Este método requiere conocer la estructura tridimensional de la diana terapéutica. El objetivo del acoplamiento molecular es encontrar la orientación y conformación espacial del ligando en el sitio de unión (sitio con menor energía libre de unión), y en la posición del ligando con la mejor evaluación.

Su objetivo principal es encontrar el modo de unión más favorecido de un ligando con el receptor. La predicción o el cálculo del modo de unión del ligando con la diana que el programa nos arroja, permite visualizar los tipos de interacciones entre la diana y el ligando, y así entender el mecanismo de acción del ligando con la diana.

Actualmente hay varios programas computacionales con los que se puede hacer acoplamiento molecular; hay programas tanto gratuitos (dentro de los cuales hay servidores en internet) como comerciales. Entre los gratuitos se encuentran AutoDock, Dock o FRED. GLIDE, GOLD e ICM-Docking son ejemplos de programas comerciales y como servidores existen Dock-Blaster y la base de datos de TCM (*Traditional Chinese Medicine*) (Cereto-Massague et al., 2015).

Cribado virtual

Una técnica que implica el aporte de un método basado en el ligando y otro basado en la diana es el cribado virtual. Esta técnica tiene por objetivo seleccionar compuestos, que por medio de programas predicen el modo de unión en una diana biológica. Esta técnica filtra una serie de compuestos obtenidos de bases de datos, mediante similitud molecular con el ligando de la diana terapéutica obteniendo *hits* computacionales. Posteriormente, se lleva a cabo un acoplamiento molecular con los compuestos presuntamente activos y la diana terapéutica, y así obtener líderes computacionales (*leads*) (Klebe, 2006).

El cribado virtual tiene por objetivo identificar nuevos compuestos bioactivos para una diana terapéutica conocida. El *target fishing* también puede ser utilizado para la identificación de compuestos bioactivos a partir de productos naturales, solo que este método lleva a cabo el acoplamiento molecular de un compuesto conocido con diferentes dianas terapéuticas, para identificar la actividad del ligando. Ambos métodos dependen de la información experimental disponible de los productos naturales (Medina-Franco, 2015).

Relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR)

Este método está basado en obtener información de los compuestos de estudio, mediante el uso de descriptores, los cuales proporcionan información cuantitativa de los compuestos. Los efectos hidrófobos, estéricos y electrostáticos son algunas de las propiedades que se pueden obtener a partir de estos descriptores. Por otro lado, se obtiene información sobre la actividad biológica de cada compuesto estudiado (Saldívar-González et al., 2017).

Al tener toda la información organizada se procede a aplicar métodos matemáticos y estadísticos para desarrollar ecuaciones que puedan correlacionar la actividad biológica de los compuestos con una o más propiedades.

A los estudios QSAR clásicos se les denominan análisis de Hansch. Existen otros métodos en dos dimensiones (QSAR 2D), los cuales se basan en características cuantitativas de las formulas estructurales. Además, se han desarrollado estudios QSAR en tres dimensiones (QSAR 3D) los cuales, se basan en los descriptores obtenidos de la representación tridimensional de las moléculas, como lo es el Análisis Comparativo de Campos Moleculares (del inglés *Comparative Molecular Field Analysis* CoMFA) (Medina-Franco et al., 2006).

Modelado del farmacóforo

El modelo del farmacóforo es un arreglo tridimensional de las características mínimas necesarias estéricas y electrónicas para asegurar interacciones óptimas con una diana terapéutica, y desencadenar un efecto biológico. Un farmacóforo no es una molécula real o la asociación real de grupos funcionales; es el conjunto de grupos funcionales necesarios en la estructura de una molécula para que estos interaccionen con ciertos grupos en la diana terapéutica y observar un efecto biológico (Saldívar-González et al., 2017).

Regla de Lipinski

La regla de Lipinski permite evaluar cualitativamente que tan adecuado podría resultar un fármaco ingerido como medicamento por vía oral en seres humanos. Lipinski formuló esta regla en 1997, basándose en la observación de que la mayoría de los fármacos utilizados en medicamentos eran moléculas pequeñas y lipofílicas (Lipinski et al., 2001).

Esta regla es importante para el desarrollo de fármacos a partir de compuestos con propiedades farmacológicas previamente demostradas para obtener mejores actividades y selectividades.

Consideraciones propuestas por Lipinski:

- No debe contener más de 5 donadores de enlaces por puentes de hidrógeno.
- No debe contener más de 10 aceptores de enlaces por puentes de hidrógeno.
- Debe tener un peso molecular inferior a 500 uma.
- Debe poseer un coeficiente de reparto octanol-agua ($\log P$) inferior a 5.
- Debe tener no más de 10 enlaces rotables.

Productos naturales

La farmacognosia es una de las ciencias farmacéuticas más antiguas. En un inicio se refería a la investigación de sustancias medicinales de plantas, animales o minerales. Posteriormente los compuestos químicos de las drogas crudas comenzaron a ser estudiados a mayor detalle. Actualmente, la farmacognosia es un tema interdisciplinario en el que se pueden incluir aspectos de química analítica, química orgánica, bioquímica, biología molecular y microbiología. La documentación actual del origen de los fármacos derivados de productos naturales proviene del mundo occidental (Kingham 2008).

El nacimiento de la química orgánica como ciencia, fue el punto de partida para comprender la razón del uso de productos naturales para ciertos tratamientos, ya que, gracias a esta ciencia, se logró purificar a la morfina a partir del opio. Posteriormente se descubrieron nuevos compuestos bioactivos que provienen de productos naturales como la atropina, cafeína, cocaína, nicotina, quinina, entre otros. En los últimos años ha surgido un entendimiento más profundo sobre los aspectos químicos y biológicos de plantas usadas en la medicina tradicional de países como China, India, Indonesia, Japón, y recientemente de América Latina y África (Kingham 2008).

Los productos naturales, ya sean procedentes de organismos terrestres o acuáticos, son tradicionalmente ocupados como fuente de compuestos activos relacionados a la salud (Medina-Franco, 2015). Además, poseen una gran diversidad de compuestos estructural y químicamente que no se han logrado obtener mediante síntesis, o sintetizar compuestos similares en bibliotecas de moléculas pequeñas, y siguen siendo inspiración para nuevos descubrimientos en química, biología y medicina (Shen, 2015).

Se definen como metabolitos primarios a todos aquellos compuestos que son generados por todos los seres vivos para su crecimiento, desarrollo y reproducción de estos. Estos metabolitos se encuentran en mayor cantidad y principalmente son proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos y lípidos.

Los metabolitos secundarios, aunque no son necesarios para el crecimiento de un organismo son importantes, ya que entre sus funciones están defenderse de otros organismos, atracción, y protección. Estos metabolitos son sintetizados en los tejidos jóvenes del organismo. Además, algunos de estos resultan ser bioactivos, por lo tanto, son los más importantes terapéuticamente.

Al ser algunos de los metabolitos secundarios sintetizados por el organismo para defensa, pueden resultar ser tóxicos para el ser humano, y por lo tanto no pueden ser utilizados en la terapéutica.

En general los productos naturales tienen un mayor tamaño, mayor complejidad 3D, menor hidrofobicidad, una polaridad más alta y menos anillos aromáticos que otros compuestos de bibliotecas.

Entre 1970 y 2006 se han descubierto 24 compuestos líderes para convertirse en fármacos aprobados a partir de productos naturales, de los cuales la mitad de estos radican en lo que se llama el Universo de Lipinski. La regla de 5 es violada una sola vez por los 12 compuestos, muchos de estos compuestos están en los límites de la regla de Lipinski, 10 de los otros 12 compuestos presentan más de 2 alertas de Lipinski (Ganesan, 2008).

Puede que estos fármacos no cumplan la Regla de Lipinski, pero mientras estos fármacos resulten tener el efecto terapéutico deseado, y demostrar ser seguros no se presenta algún problema mayor para aprobarlos (Ganesan, 2008).

La búsqueda de compuestos activos a partir de productos naturales ha comenzado a combinarse con métodos computacionales para acelerar la identificación de compuestos novedosos y posibles candidatos de origen natural (Medina-Franco, 2015).

Medicina Tradicional China

Entre las bases de datos de compuestos derivados de productos naturales se puede encontrar la de la Medicina Tradicional China (TCM), la cual contiene más de 100,000 compuestos derivados de productos herbolarios, animales y minerales. La medicina tradicional china ha tenido gran importancia para el diagnóstico y terapia de enfermedades en Asia por miles de años, pero también ha tenido importancia en el tratamiento de enfermedades que se presentan en todo el mundo (Chen, 2011).

Por ejemplo, la fitoquímica China Tu Youyou descubrió la actividad de la artemisinina presente en *Artemisia annua*, la única planta de la cual se logró extraer a este compuesto. Posteriormente Campbell y Omura aislaron productos naturales de cultivos de

Streptomyces, purificando la avermectina, que posteriormente se modificó para obtener la ivermectina, un compuesto más eficaz para el tratamiento de la malaria (Shen, 2015).

Metabolitos de hongos

Los hongos son otro recurso importante para la obtención de metabolitos secundarios bioactivos. De estos organismos se han logrado obtener una gran cantidad de fármacos de diferentes tipos. Antibióticos como la penicilina, cefalosporinas, vancomicina, estatinas como atorvastatina, antifúngicos, inmunosupresores, anticancerígenos y fungicidas son ejemplos de fármacos descubiertos a partir de hongos. Recientemente el metabolito secundario miriocina del hongo *Mycelia sterilia*, fue la base para el descubrimiento del Fingolimod, como el primer fármaco administrado por vía oral para el tratamiento de esclerosis múltiple (González-Medina et al., 2016).

Se estima que existen entre 1.5 y 5.5 millones especies de hongos en el mundo, pero solamente se han descrito entre 75,000 y 100,000 especies. Estos organismos continúan siendo un recurso importante para el descubrimiento de fármacos. Existe una gran posibilidad de descubrir nuevas moléculas líderes en aquellas especies de hongos, que aún no se han estudiado (González-Medina et al., 2016).

Productos naturales y química computacional

Los productos naturales bioactivos tradicionalmente se han descubierto aleatoriamente o de manera accidental. El estudio de productos naturales mediante métodos computacionales mutuamente puede proporcionar información crucial para obtener compuestos bioactivos, además de proporcionar información sobre su toxicidad y evitar riesgos a la salud (Medina-Franco, 2015). Como se mencionó anteriormente, algunos metabolitos producidos por los organismos pueden ser tóxicos para los humanos, por lo tanto, antes de probar productos naturales en humanos, se pueden llevar a cabo evaluaciones por química computacional para confirmar la baja toxicidad de estos compuestos.

Enfermedades

Enfermedad de Chagas

Esta es una enfermedad causada por el parásito protozoo *Trypanosoma cruzi*, transmitida por insectos de la familia Triatominae (chinchas) que portan el parásito y fungen como vectores para transmitirlo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) esta enfermedad estaba solo se detectaba en América Latina y México, pero se ha propagado a otros continentes (OMS).

El tratamiento actual para esta enfermedad se restringe a solo dos medicamentos benznidazol y nifurtimox (Figura 1), los cuales han demostrado ser eficaces en etapas tempranas de la infección, pero su eficacia disminuye cuando la infección es muy avanzada. Además, cerca del 40% de los pacientes en tratamiento con estos medicamentos han presentado reacciones adversas (30% presentan alteraciones cardíacas y hasta un 10% alteraciones digestivas y/o neurológicas) (OMS).

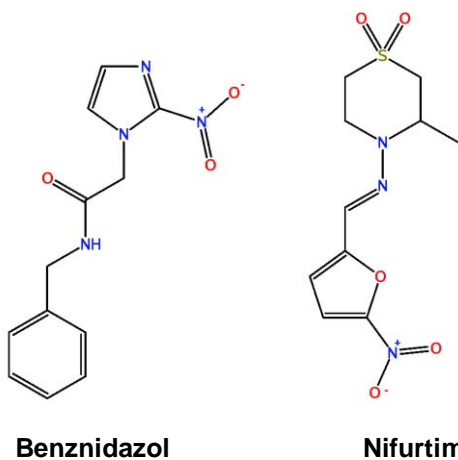


Figura 1. Fármacos aprobados por FDA para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

Estos medicamentos no se pueden administrar a mujeres embarazadas ni a personas con insuficiencia renal o hepática. El nifurtimox también está contraindicado en personas con antecedentes de enfermedades del sistema nervioso neurológicas o trastornos psiquiátricos (OMS).

Estudios recientes demuestran que compuestos como la ambrosina, incomptina B y glaucólido E presentan actividad contra este parásito (Figura 2).

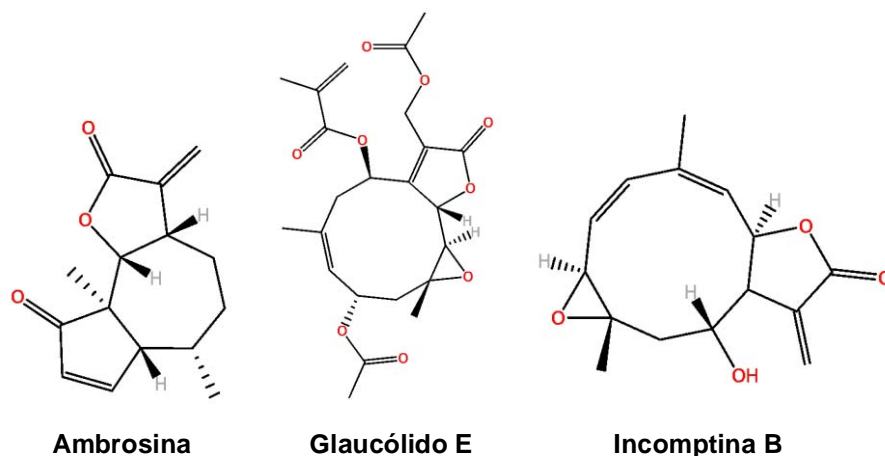


Figura 2. Ejemplo de compuestos con actividad antiparasitaria contra *Trypanosoma cruzi*.

Tuberculosis

Mycobacterium tuberculosis es la principal bacteria responsable de provocar esta enfermedad, la cual es una de las 10 principales causas de muerte en el mundo. La OMS estima que en 2015, 480 000 personas desarrollaron tuberculosis mutiresistente en todo el mundo. La OMS tiene como objetivo acabar con la epidemia de tuberculosis para el año 2030.

El tratamiento para este padecimiento consta de cuatro medicamentos (Figura 3) durante seis meses para el caso de bacterias sensibles a los antibióticos.

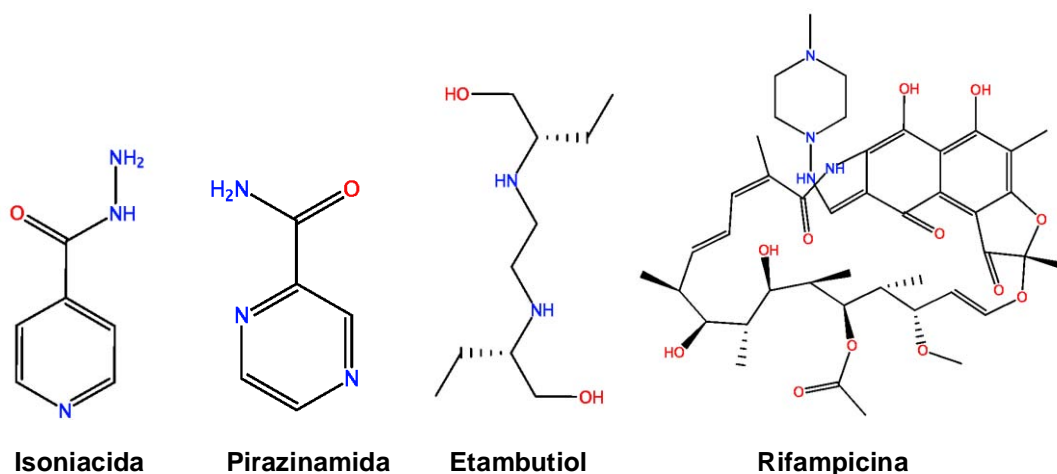


Figura 3. Fármacos de primera línea para el tratamiento de tuberculosis.

Para el caso de tuberculosis multiresistente requiere un tratamiento de dos años con medicamentos de segunda línea (Figura 4), que además de ser más costosos son tóxicos.

Por último, no hay opción de tratamiento para tuberculosis que no responde al tratamiento de segunda línea (ultrarresistente) (Global Tuberculosis Report 2016).

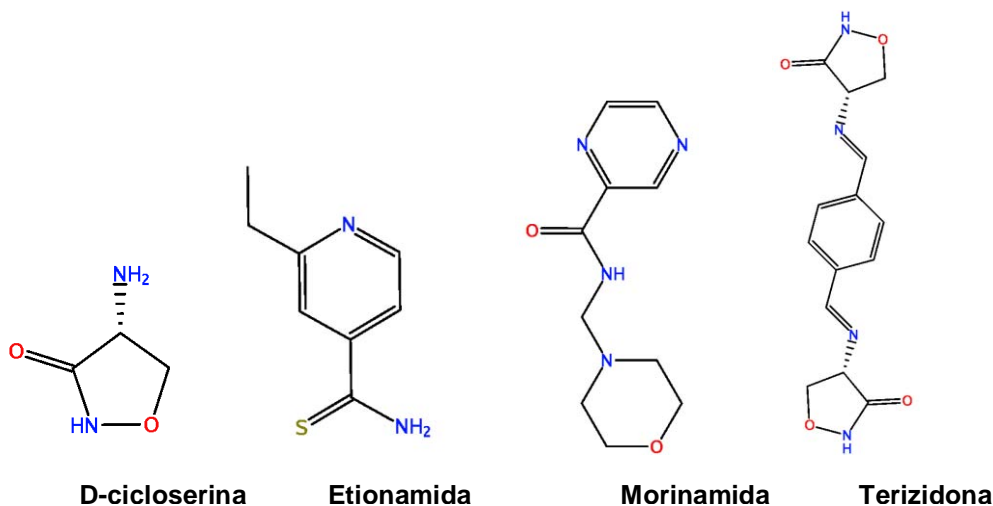
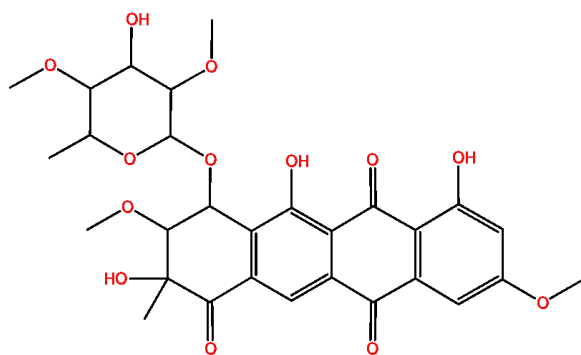


Figura 4. Algunos fármacos de segunda línea para el tratamiento de tuberculosis

Recientemente se han validado dos nuevas dianas terapéuticas contra *M. tuberculosis*. Una de ellas es una cisteína sintasa que participa en la transformación de la O-fosfocisteína en L-cisteína, aminoácido esencial para la síntesis de micotiol. Este último, protege a la micobacteria de oxidantes tóxicos y antibióticos, por eso es indispensable para la supervivencia de la micobacteria (Brunner et al., 2016).

La otra enzima es la β -cetoacil sintasa, encargada de sintetizar ácidos grasos a partir acetyl-CoA. De hecho, esta podría ser una de las dianas sobre las que ejerce su efecto terapéutico la isoniazida. La inhibición de esta enzima detiene la formación de la pared celular de la micobacteria, necesaria para sobrevivir. La empresa *GlaxoSmithKline* ha identificado esta diana y actualmente tienen un compuesto que ha demostrado ser efectivo contra esta enfermedad, ejerciendo su mecanismo de acción en esta diana terapéutica (Abrahams et al., 2016).

Estefimicina B (Figura 5) ha demostrado ser un posible fármaco contra tuberculosis (Intaraudom et al., 2015). Actualmente se utilizan fármacos orales de primera línea como isoniazida y rifampicina para el tratamiento de tuberculosis. Y D-cicloserina y etionamida como fármacos orales de segunda línea (Global Tuberculosis Report 2016).



Estefimicina B

Figura 5. Compuesto bioactivo sobre *M. tuberculosis*.

OBJETIVOS

General

Identificar compuestos potencialmente bioactivos sobre dianas biológicas moleculares contra *Trypanosoma cruzi* y tuberculosis y seguros a partir de productos naturales.

Particulares

1. Seleccionar productos naturales con alto grado de similitud molecular con ligandos con actividad conocida contra la enfermedad de Chagas y tuberculosis.
2. Identificar interacciones moleculares entre el compuesto natural potencialmente bioactivo contra tuberculosis y dianas biológicas moleculares relevantes al tratamiento de esta enfermedad.

METODOLOGÍA

Se planteó buscar compuestos activos sobre *Trypanosoma cruzi* y *Mycobacterium tuberculosis*, para obtener sus huellas digitales moleculares (*molecular fingerprints*) y compararlas con moléculas procedentes de productos naturales. Se realizó una búsqueda por similitud entre las huellas digitales de los compuestos activos y de los de productos naturales. Este proceso condujo a la selección de *hits* computacionales.

Posteriormente se buscaron dianas (o blancos) moleculares de *M. tuberculosis* y se realizó la validación de la diana con su ligando. Después se realizó un acoplamiento molecular de cada *hit* con la diana en su sitio de unión.

Para cada compuesto líder identificado se estimaron sus propiedades fisicoquímicas y toxicológicas. Aquellos compuestos líderes (*leads*) con posible efecto tóxico, se descartaron y los demás se clasificaron como 'compuestos líderes seguros' (*safe leads*).

Similitud molecular

Obtención de las bases de datos

1. Se descargaron 10 archivos en formato *standard data file* (.sdf) de 10 diferentes bases de datos de la página de ZINC <http://zinc.docking.org/> y una desde la base de datos <http://chimiotheque-nationale.cn.cnrs.fr> (Tabla 1).
2. Con el programa *Molecular Operating Environment* (MOE), se importaron a archivos en formato *molecular database* de MOE (.mdb).
3. En los archivos con extensión .mdb se identificó en columnas: la Base de Datos provenientes de todas las moléculas y se extrajo el nombre de cada molécula en otra columna.
4. Se lavaron las moléculas y se eliminaron todas las moléculas repetidas en cada base de datos. El 'lavado' o preparación de las estructuras consistió en: desconectar grupos metálicos alcalinos en compuestos que se presentan como sales simples, mantener únicamente el fragmento más largo de la molécula, neutralizar el estado de protonación de cada molécula y agregar hidrógenos explícitos en las moléculas que no los muestren.
5. Se importaron todos los archivos .mdb en un archivo central 'maestro': (*Masterfile.mdb*), conteniendo el número total de todas las moléculas descargadas y limpiadas.
6. Se eliminaron todas las moléculas repetidas entre todas las bases de datos dentro del *Masterfile* (ver Tabla 2).
7. Con MOE se obtuvieron los descriptores de las huellas digitales moleculares (*fingerprints*) de cada molécula por *Molecular Access System Keys* (MACCS Keys), y

por *Extended Connectivity Fingerprint* (ECFP) a 2 y 3 átomos de radio en el archivo Masterfile.mdb, y se agruparon en tres columnas.

Tabla 1. Número total de moléculas contenidas en cada base de datos y moléculas únicas (no duplicadas) después de preparar los archivos en formato .sdf.

Base de datos	Fuente	Moléculas totales	Moléculas únicas
AnalytiCon Discovery NP (ACD)	http://zinc.docking.org/catalogs/acdiscnp	11247	11220
AfroDb Natural Products (ADNP)	http://zinc.docking.org/catalogs/afronp	885	884
Chimiothèque Nationale (CN)	http://chimiotheque-nationale.cn.cnrs.fr	62824	62824
Herbal Ingredients In-Vivo Metabolism (HIIVM)	http://zinc.docking.org/catalogs/himnp	663	659
InterBioScreen NP (IBSNP)	http://zinc.docking.org/catalogs/ibsnp	84215	83884
Nubbe Natural Products (NNP)	http://zinc.docking.org/catalogs/nubbenp	643	586
Naturally occurring Plant based Anticancerous Compound-Activity-Target DataBase (NPACTD)	http://zinc.docking.org/catalogs/npactnp	1423	1422
Specs Natural Products (SNP)	http://zinc.docking.org/catalogs/specsnp	1489	1488
Traditional Chinese Medicine (TCM)	http://zinc.docking.org/catalogs/tcmnp	225667	185083
Universidade Estadual de Feira de Santana Natural Products (UEFSNP)	http://zinc.docking.org/catalogs/uefsnp	473	473

Tabla 2. Compuestos totales de todas las bases de datos, y compuestos totales sin repetirse de todas las bases de datos.

	Número de Compuestos
Compuestos totales entre todas las bases de datos	348523
Compuestos únicos entre todas las bases de datos	264438

Tripanosoma cruzi

1. Las tres moléculas activas contra *T. cruzi* ambrosina, incomptina B y glaucólido E proporcionadas por el Instituto de Investigaciones Biomédicas se descargaron desde PubChem, y se agruparon todas juntas en el archivo '*References.mdb*'.

2. Con MOE se obtuvieron los descriptores de las huellas digitales moleculares (*fingerprints*) de las cinco moléculas de referencia por MACCS Keys, y por ECFP a 2 y 3 átomos de radio.
3. Con el programa MOE se calculó la similitud molecular usando el coeficiente de Tanimoto entre las moléculas del archivo *Masterfile.mdb* con cada molécula de referencia.
4. Del *Masterfile.mdb* se seleccionaron aquellas moléculas con similitud mayor a 0.8 y 0.85 para cada molécula de referencia por MACCS keys (ver Tabla 3).

Mycobacterium tuberculosis

1. En PubChem se descargó la estructura de la estefimicina B, además de otras estructuras de fármacos contra tuberculosis (entre ellas D-cicloserina).
2. Con MOE se prepararon las moléculas de referencia, y se calcularon sus descriptores de huellas digitales moleculares (*fingerprints*) por MACCS keys y por ECFP a 2 y 3 átomos de radio.
3. Se calculó la similitud molecular de acuerdo al coeficiente de Tanimoto de las moléculas del *Masterfile.mdb*. Para esto se consideraron como referencia los *fingerprints* de la estefimicina b y D-cicloserina.
4. Se seleccionaron aquellas moléculas del *Masterfile.mdb* con similitud mayor a 0.8 y 0.85 para cada molécula de referencia por MACCS keys.
5. Se seleccionaron aquellas moléculas del *Masterfile.mdb* con un valor de similitud por ECFP con 4 átomos de diámetro, mayor a la media + 6 desviaciones estándar y con 6 átomos de diámetro, aquellos con valores mayores a la media + 5 desviaciones estándar.
6. En PubChem se descargaron 189 moléculas similares a la estefimicina B y se agruparon en un archivo en formato .sdf como referencia.
7. Con el programa Python se ejecutó el método de *Database Fingerprint* (DBFP) (Fernandez-de Gortari et al., 2017).
8. Se comparó el *fingerprint* obtenido de las 190 moléculas de referencia con 1500 moléculas de cada base de datos descargadas anteriormente.
9. Se seleccionaron aquellas moléculas con un valor de similitud mayor a 0.9 por DBFP.

Validación

Mycobacterium tuberculosis

1. Desde *Protein Data Bank* (PDB) (<http://www.rcsb.org/>) se descargó la proteína tipo transferasa cetoacil sintasa de *M. tuberculosis* con el identificador (PDB ID): 5LD8.
2. Con el programa MOE se preparó la estructura de la proteína, eliminando las moléculas de disolvente presentes en ella y de otras moléculas que no son de interés, conservando únicamente su ligando co-cristalizado.
3. Con MOE se identificó el sitio activo de la proteína y se llevó a cabo la validación con su ligando, utilizando los siguientes parámetros:

Placement: Triangle Matcher

Rescoring1: London dG

Refinamiento: Forcefield

Rescoring2: GBVI/WSA dG

4. Desde PDB (<http://www.rcsb.org/>) se descargó la diana con PDB ID: 5IWC.
5. Con el programa MOE se preparó la proteína, eliminando disolvente y otras moléculas y iones que no son de interés.
6. Con MOE se identificó el sitio activo de la proteína y se llevó a cabo la validación con su ligando, bajo los siguientes parámetros:

Placement: Triangle Matcher

Rescoring1: London dG

Refinement: Forcefield

Rescoring2: London dG

Acoplamiento molecular con dianas terapéuticas (*docking*)

Mycobacterium tuberculosis

Se llevó a cabo el acoplamiento molecular con los hits computacionales obtenidos por MACCS keys, ECFP y DBFP, utilizando los mismos parámetros que en la validación, solo con *Placement* y *Rescoring1* para cada una de las dianas.

Propiedades fisicoquímicas y toxicológicas

Mycobacterium tuberculosis

1. Con el programa DataWarrior se estimaron las propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de los leads para cada diana.
2. Se clasificaron a todos los leads que no presentaran posibles efectos adversos como *safe leads*.

Acoplamiento molecular con dianas metabólicas y tóxicas

1. De PDB se descargaron las dianas con PDB ID: 4HLW, 1SKX y 5A5I
2. Con MOE se prepararon las proteínas, eliminando disolvente y otras moléculas y iones que no son de interés.
3. Con MOE se identificó el sitio activo de cada proteína y se llevó a cabo la validación con su ligando, bajo los siguientes parámetros:

Placement: Triangle Matcher

Rescoring1: London dG

Refinement: Forcefield

Rescoring2: London dG

Por último, se llevó a cabo el acoplamiento molecular de los *safe leads* con cada una de las dianas únicamente bajo los mismos parámetros de *Placement* y *Rescoring1*.

The Pathogen Box

1. Se descargó desde <https://www.pathogenbox.org/> un archivo con las estructuras y actividades biológicas sobre *M. tuberculosis* de 98 compuestos.
2. Se desarrolló el método DBFP con Python.
3. Se comparó el *fingerprint* obtenido de las 98 moléculas de referencia con 1500 moléculas de cada base de datos descargadas anteriormente.

Espacio químico

1. Con MOE se calculó el peso molecular, coeficiente de partición, número de enlaces rotables, número de átomos aceptores de puente de hidrógeno, número de átomos donadores de puente de hidrógeno y TPSA (*topological polar surface area*).
2. Se calculó el valor de PCA (*principal components analysis*) de cada propiedad fisicoquímica y se obtuvieron los valores de varianza.
3. Con DataWarrior se graficó PCA1, PCA2, y PCA3.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tripanosoma cruzi

Similitud molecular

MACCS keys

La siguiente tabla muestra el número de *hits* encontrados a diferentes valores de similitud de Tanimoto y para cada compuesto activo.

Tabla 3. Número de Hits computacionales obtenidos comparándolos con los compuestos activos contra *T. cruzi*.

Compuesto activo	Compuestos con similitud de acuerdo a Tanimoto >0.8	Compuestos con similitud de acuerdo a Tanimoto >0.85
Ambrosina	22	3
Glaucólido E	102	17
Incomptina B	17	7
Hits totales	141	27

De las 264,428 moléculas estudiadas en el *Masterfile.mdb*, 22 de ellas obtuvieron un coeficiente de Tanimoto mayor a 0.8, comparándolas con la ambrosina, 102 con el glaucólido E, y 17 para incomptina B. A partir de estos resultados se redujo este número tomando en cuenta solamente aquellas moléculas con coeficiente mayor a 0.85. De esta forma se obtuvieron solo 3 moléculas similares a ambrosina, 17 a glaucólido E y 7 a incomptina B. La Figura 6 representa el tipo de compuestos clasificados como *hits*, de acuerdo a su similitud con la ambrosina.

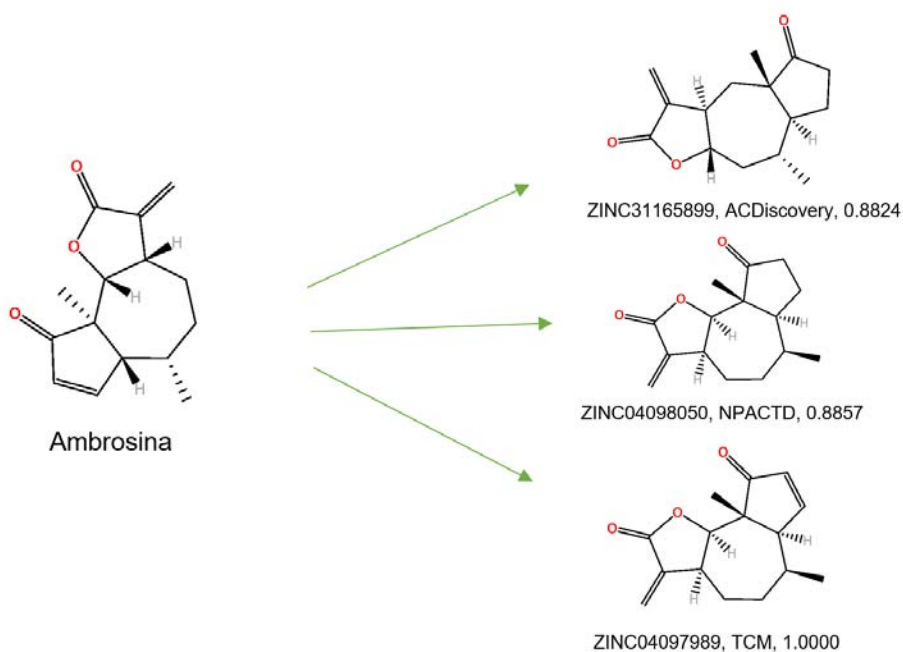


Figura 6. Moléculas con alta similitud a ambrosina. En cada molécula se describe el nombre de identificación de la molécula, la base de datos proveniente y el valor del coeficiente de Tanimoto.

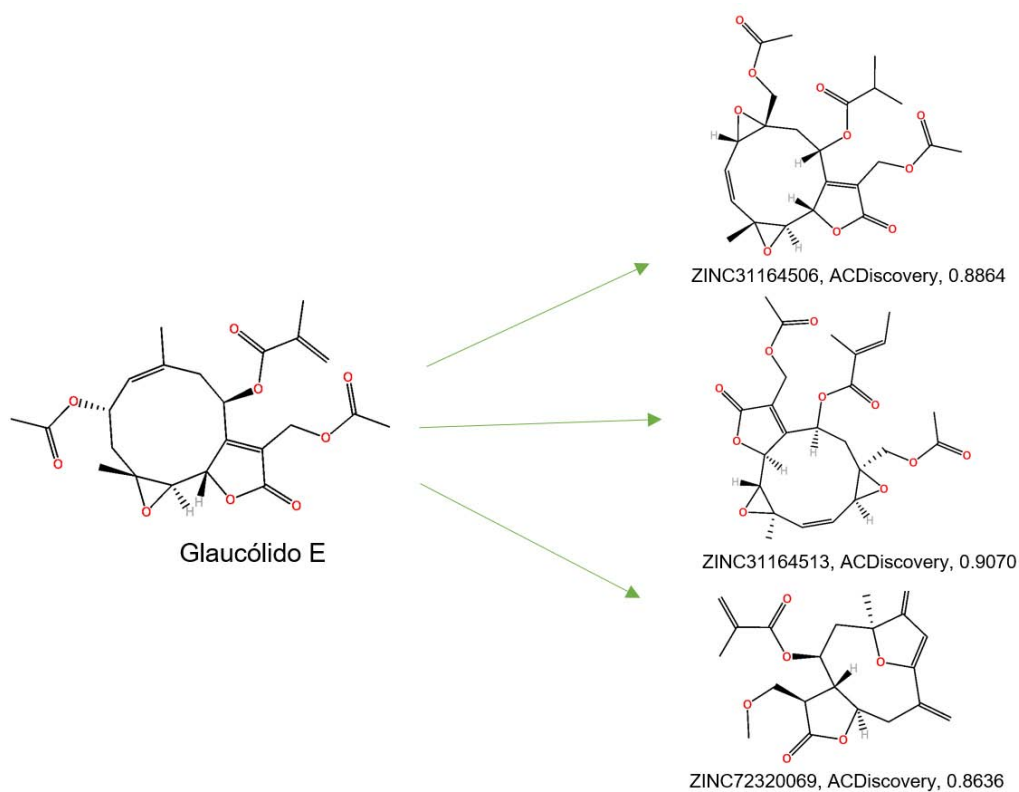


Figura 7. Moléculas con alta similitud a glaucólido E. En cada molécula se describe el nombre de identificación de la molécula, la base de datos proveniente y el valor del coeficiente de Tanimoto.

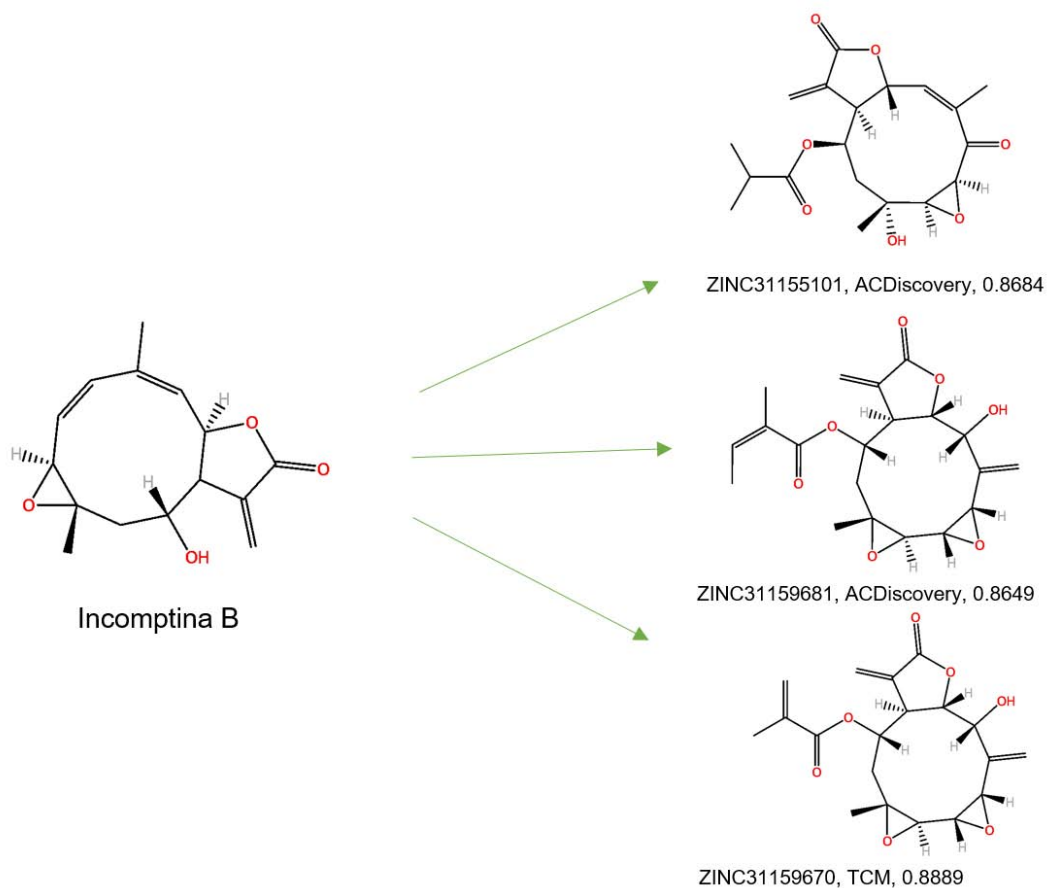


Figura 8. Moléculas con alta similitud a Incomptina B. En cada molécula se describe el nombre de identificación de la molécula, la base de datos proveniente y el valor del coeficiente de Tanimoto.

Mycobacterium tuberculosis

Similitud molecular

MACCS keys

Tabla 4. Hits computacionales con alta similitud a estefimicina y D-cicloserina.

Compuesto(s) activo(s)	Hits computacionales con coeficiente de Tanimoto ss ^a >0.85	Hits computacionales con coeficiente de Tanimoto >0.85
Estefimicina B	30631	152
Estefimicina B y D- cicloserina	56	0

^a ss se refiere a subestructura.

De las 264,438 moléculas disponibles en el *Masterfile.mdb* se obtuvieron 30,631 moléculas con un coeficiente de Tanimoto ss mayor a 0.85, comparándolas con la Estefimicina B, y

152 con un coeficiente de Tanimoto mayor a 0.85. Ocupando a la D-cicloserina como otra molécula de referencia, junto con la estefimicina, se redujo el número de 30,980 a solo 56 moléculas con un coeficiente de Tanimoto ss mayor a 0.85. El tipo de moléculas encontradas como *hits* se muestran en la Figura 9, de acuerdo a su similitud por su subestructura.

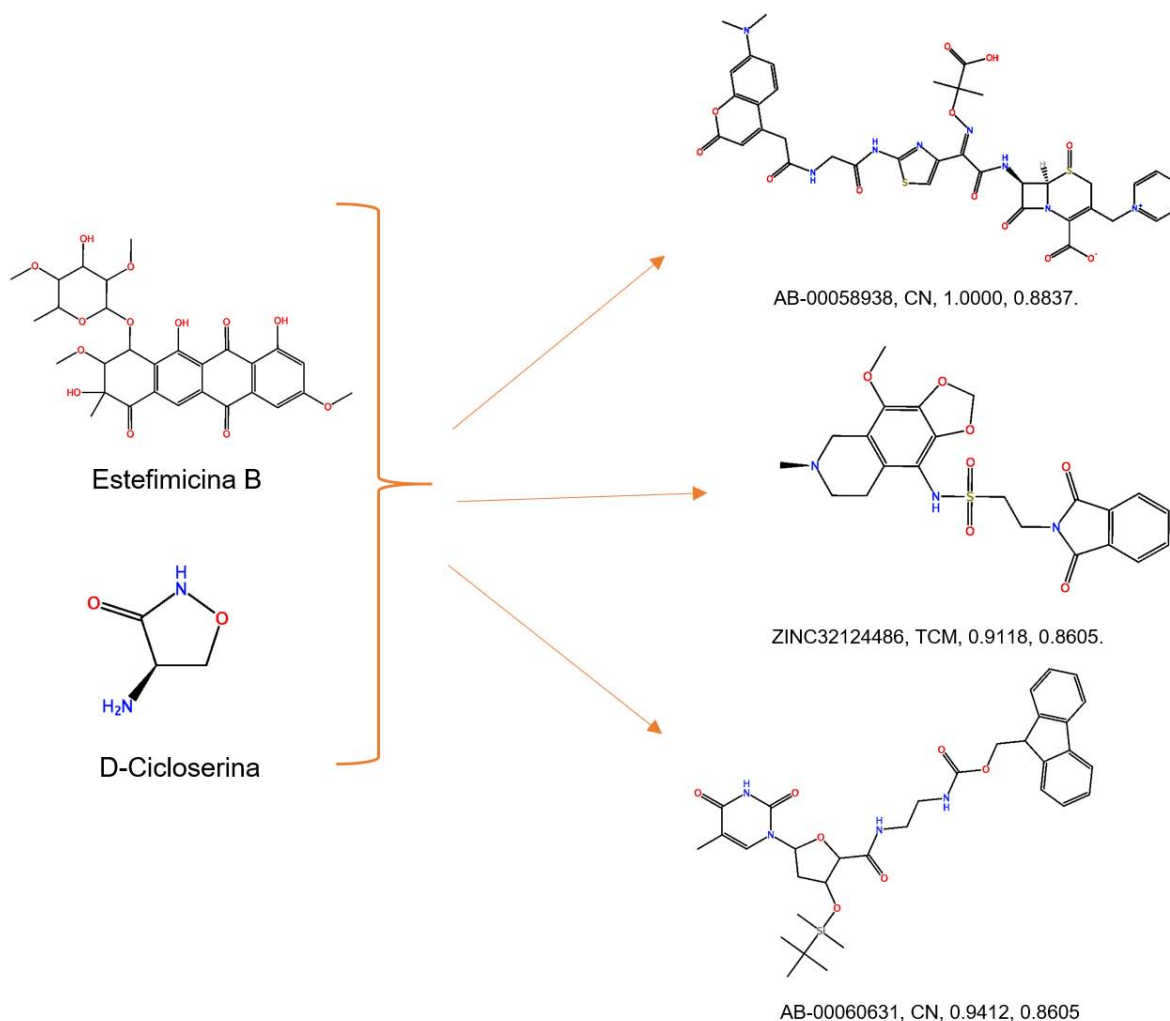


Figura 9. Moléculas representativas con alta similitud a estefimicina B y D-cicloserina. En cada molécula se describe el nombre de identificación de la molécula, la base de datos proveniente y el valor del coeficiente de Tanimoto obtenido para estefimicina B y D-cicloserina respectivamente.

*Extended Connectivity fingerprint***Tabla 5.** Hits computacionales con similitud mayor al promedio y 5 (a 3 átomos de radio) y 6 (a 2 átomos de radio) desviaciones estándar para estefimicina B.

Referencia	Hits computacionales con similitud mayor a 0.2821 por ECFP4	Hits computacionales con similitud mayor a 0.1602 por ECFP6
Estefimicina B	36	18

*Database Fingerprint***Tabla 6.** Hits computacionales encontrados por el método de DBFP.

Referencia	Hits computacionales con similitud mayor a 0.9
Estefimicina B + 189 compuestos similares	34

Validación

PDB ID: 5IWC

En la Figura 10 se muestra la conformación especial del ligando co-cristalizado (6EQ) de la diana 5IWC en su sitio de unión y superpuesta la conformación encontrada por el programa, además las interacciones de cada conformación.

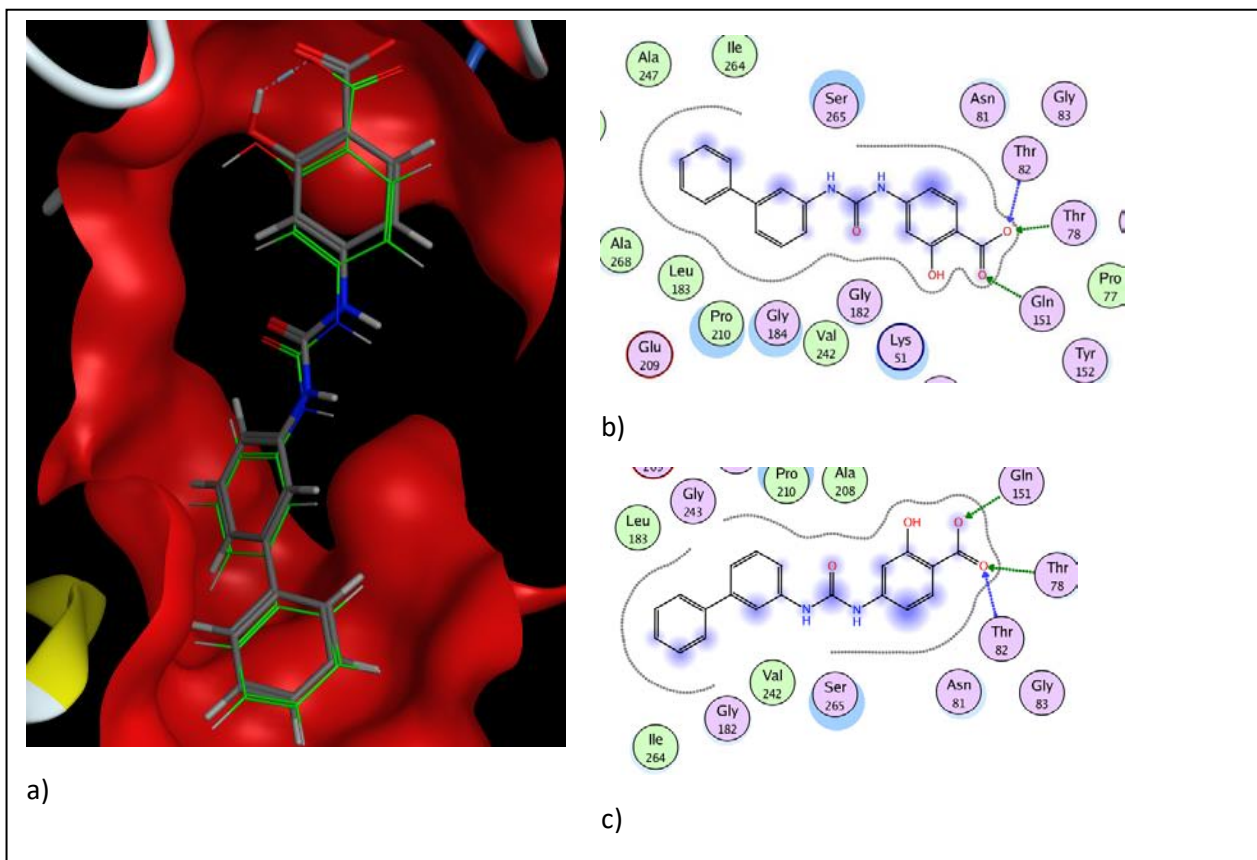


Figura 10. (a) Resultado de la validación de la diana 5IWC, se observa de color gris los átomos del ligando en su conformación original descargado en el sitio activo (rojo), y en verde los átomos del ligando en la conformación que el programa encontró. (b) Interacciones del ligando de la diana 5IWC en su conformación original. (c) Interacciones del ligando con la diana 5IWC en la conformación encontrada por el programa.

El resultado de la validación con la diana 5IWC presentada en la Figura 10a indica que la conformación encontrada por el programa es casi idéntica a la original. Además, se obtuvieron los valores de *rmsd* y *rmsd refine*, los cuales son de 0.4331 y 1.1454, respectivamente. Estos valores representan la exactitud del programa para reproducir la misma conformación del ligando en su sitio de unión.

Se evaluaron diferentes parámetros para lograr reproducir la conformación espacial original del sitio activo de la diana con su ligando. Por esta razón se seleccionaron los parámetros

descritos en la metodología, debido a que, con estos la conformación espacial del ligando en el sitio de unión es muy semejante a la conformación original, y tanto el valor del rmsd, como el del rmsd refine son coherentes y aceptables.

De las 30 conformaciones que el programa evaluó, se eligió la número 2, la cual reproduce mejor la manera de unión del ligando con la diana. Como se puede observar en la Figura 10b, las interacciones del ligando con la diana en su sitio de unión son exactamente las mismas: la flecha azul indica una interacción de tipo puente de hidrógeno con la cadena principal de la Thr82 y las flechas verdes indican una interacción de tipo puente de hidrógeno con la cadena lateral de la Thr78 y Gln151.

PDD ID: 5LD8

La Figura11 muestra la conformación original del ligando co-cristalizado (6U5) de la diana 5LD8, y superpuesta la conformación encontrada por el programa. Además, contiene las interacciones de cada conformación.

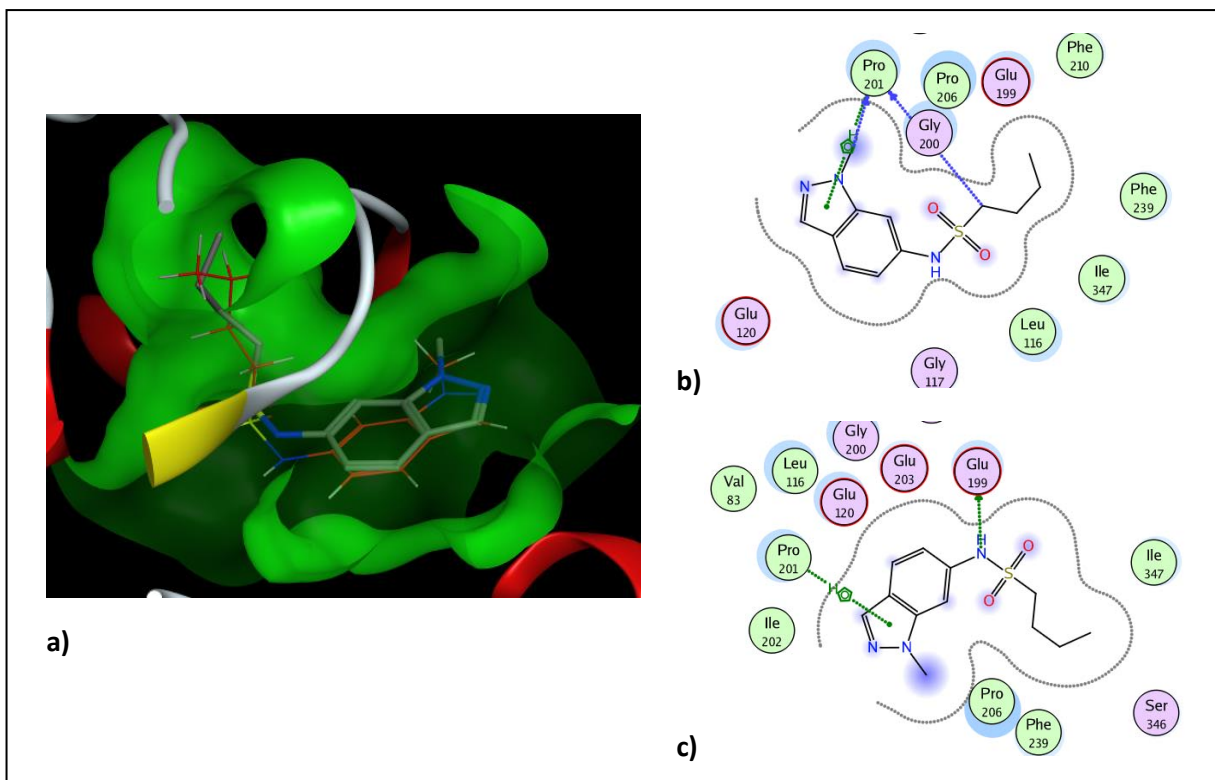


Figura 11. (a) Resultado de la validación de la diana 5LD8 con su ligando en su conformación espacial original (átomos grises), y la conformación del ligando que el programa encontró (átomos rojos). (b) Interacciones del ligando con la diana 5LD8 en su conformación original. (c) Interacciones del ligando con la diana 5LD8 en la conformación encontrada por el programa.

La Figura 11a muestra que el modelo de acoplamiento es similar al cristalográfico. Aunque la conformación que encontró el programa está un poco desviada a la original obtuvo valores de *rmsd* y *rmsd refine* de 0.671 y 1.536, respectivamente. Por lo tanto, se pueden aceptar esos resultados de la predicción del modo de unión.

La validación de la diana PDB ID: 5LD8 se hizo con los parámetros descritos en la Metodología, debido a que, cuando se ocuparon los parámetros empleados para la diana PDB ID: 5IWC, se presentaron resultados inconsistentes. Así, se eligió la conformación número 7 (de las 30 calculadas), debido a que obtuvo el *rmsd* y *rmsd refine* más coherente y aceptable, de 0.671 y 1.536, respectivamente.

En la Figura 11b se observa que en la conformación original de la diana con su ligando hay interacciones del tipo puente de hidrógeno (donador) con la cadena principal de la Pro201 y π -H con la Pro201. Aunque en la conformación encontrada por el programa (Figura 11c) solamente persiste la interacción del tipo π -puente de hidrógeno con la cadena lateral de Pro201, también hay una interacción de tipo puente de hidrógeno (aceptor) con la cadena lateral de Glu199.

Acoplamiento molecular con dianas terapéuticas

La Tabla 7 resume el número de *leads* encontrados después del acoplamiento molecular con las estructuras PDB ID: 5IWC y 5LD8 a partir de los *hits* obtenidos por similitud.

Tabla 7. *Leads* obtenidos con las dianas 5IWC y 5LD8 por acoplamiento molecular.

Método	<i>Leads</i> 5IWC	<i>Leads</i> 5LD8
MACCS keys	20	14
ECFP4	8	7
ECFP6	18	18
DBFP	27	16

El acoplamiento molecular se realizó con los 56 *hits* obtenidos por MACCS keys, tomando como base a la estefimicina B y la D-cicloserina. Además, se llevó a cabo con los 36 y 18 *hits* encontrados por Extended Connectivity a 2 y 3 átomos de radio respectivamente.

Por MACCS keys de los 56 *hits* se identificaron 20 y 14 *leads* para las dianas 5IWC y 5LD8, respectivamente. De los 20 *hits* obtenidos a 2 átomos de radio por Extended Connectivity,

se encontraron 8 y 7 *leads* para 5IWC y 5LD8, respectivamente. De los 18 *hits* a 3 átomos de radio por Extended Connectivity todos resultaron ser *leads* para ambas dianas.

PDB ID: 5IWC

La Figura 12 presenta los resultados del acoplamiento molecular entre los *safe leads* **TCM540439**, **TCM559804** y **ZINC33832610** en el sitio de unión de la estructura 5IWC. La figura también muestra las interacciones de cada molécula en el sitio de unión.

La Figura 13 muestra los resultados del acoplamiento molecular entre los *safe leads* **ECFP6_1**, **TCM540439** y **AB-00061618** en el sitio de unión de PDB ID: 5LD8. También se presentan las interacciones entre cada molécula y los residuos del sitio de unión.

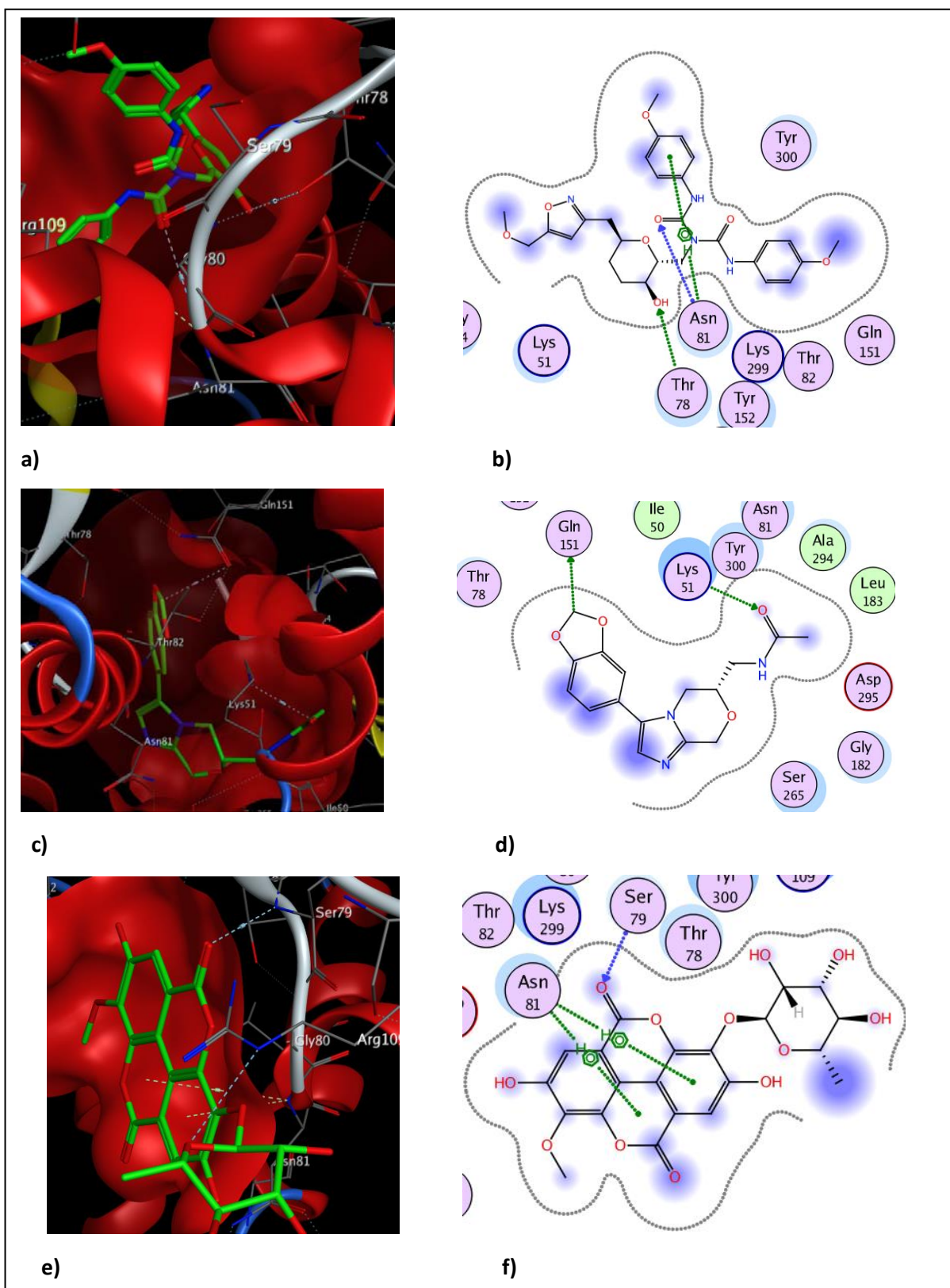


Figura 12. Conformación espacial de la molécula **TCM540439** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **TCM540439** con los residuos de la diana **5IWC** (b). Conformación espacial de la molécula **TCM559804** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (c); Interacciones de la molécula **TCM559804** con los residuos de la diana **5IWC** (d). Conformación espacial de la molécula **ZINC33832610** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (e); Interacciones de la molécula **ZINC33832610** con los residuos de la diana **5IWC** (f).

PDB ID: 5LD8

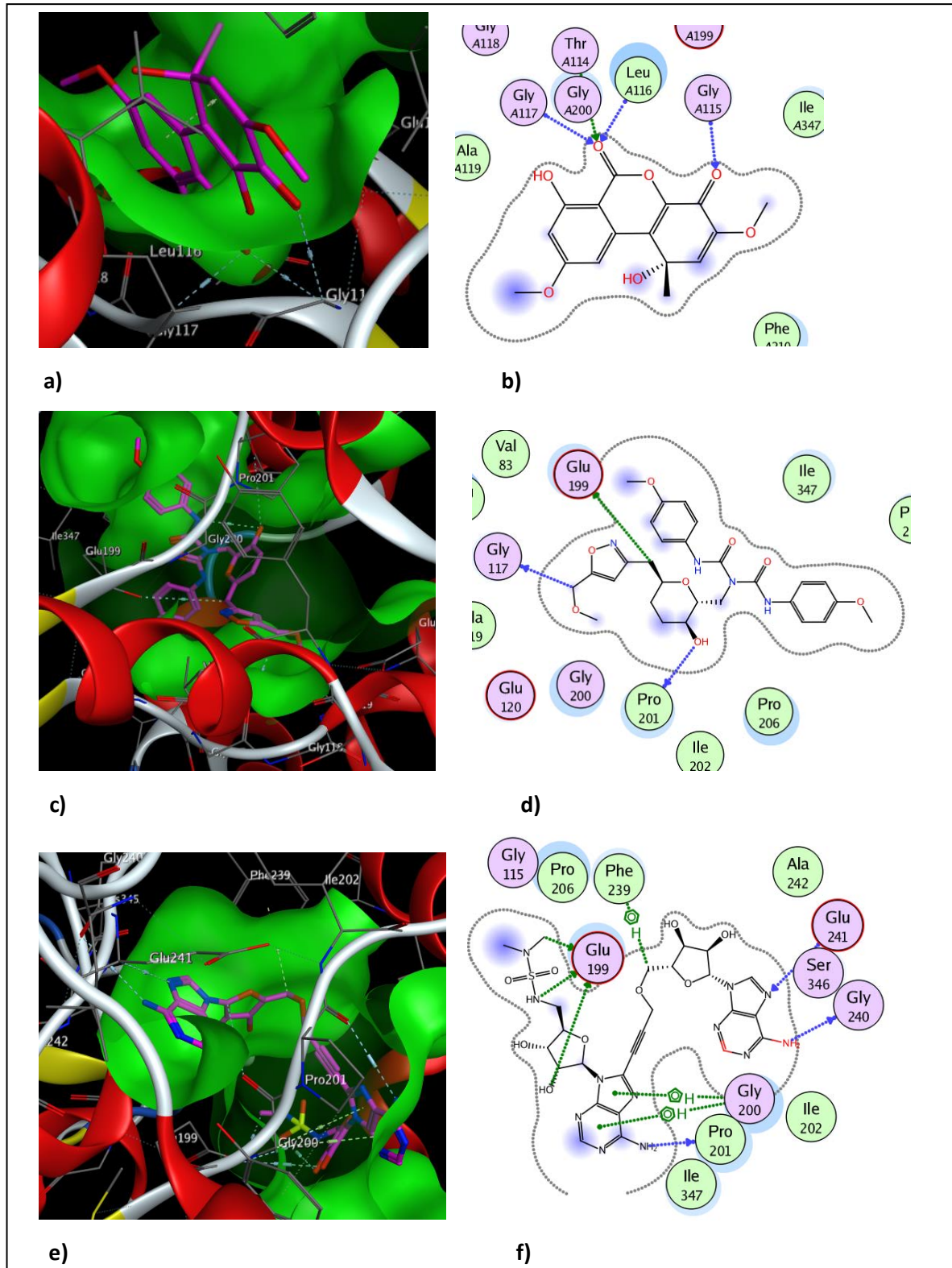


Figura 13. Conformación espacial de la molécula **ECFP6_1** en el sitio de unión de la diana **5LD8** (a); Interacciones de la molécula **ECFP6_1** con los residuos de la diana **5LD8** (b). Conformación espacial de la molécula **TCM540439** en el sitio de unión de la diana **5LD8** (c); Interacciones de la molécula **TCM540439** con los residuos de la diana **5LD8** (d). Conformación espacial de la molécula **AB-00061618** en el sitio de unión de la diana **5LD8** (e); Interacciones de la molécula **AB-00061618** con los residuos de la diana **5LD8** (f).

En la Figura 12a se observa que la molécula **TCM540439** (verde) interacciona con el sitio de unión (rojo) de la diana PDB ID: 5IWC. Se aprecia que un oxígeno de la cadena lateral de Thr78 forma un puente de hidrógeno con el único alcohol que contiene el *safe lead*. Además, se observa que la amina de la cadena principal de la Asn81 actúa como donador de puente de hidrogeno con un grupo ceto de la molécula. La misma amina forma un enlace pi-puente de hidrogeno con un anillo de benceno de la molécula. La Figura 12b ilustra a estas interacciones mediante su representación 2D.

En la Figura 12c se observa que **TCM559804** interacciona con la diana PDB ID: 5IWC en su sitio de unión. El metileno que se encuentra en medio de los dos oxígenos del dioxolano de la molécula forma un puente de hidrogeno con el oxígeno de la amida de la cadena lateral de la Gln151. Además, se observa que un metilo de la Lys51 funge como donador de puente de hidrogeno con el oxígeno de la amida del *safe lead*. La Figura 12d presenta las mismas interacciones en 2D.

La Figura 12f muestra las interacciones en 2D entre la molécula **ZINC33832610** con la diana 5IWC en su sitio de unión, aunque en la figura 12e no se logra apreciar muy bien. Se observa que la Asn81 forma una interacción de tipo pi-puente de hidrogeno con un anillo bencílico y un tetrahidropirano. Además, la figura muestra que la amina del enlace peptídico de la Ser79 forma un puente de hidrogeno con un oxígeno de un grupo ceto del *safe lead*.

En la Figura 13a se observa el modo de unión del *safe lead* **ECFP6_1** en el sitio de unión de la diana 5LD8. En este modelo de acoplamiento la cadena principal de GlyA117 y LeuA116 participan como donadores de puentes de hidrógeno con un oxígeno del grupo ceto de la molécula. También la cadena lateral del residuo ThrA114, forma un puente de hidrógeno con el mismo oxígeno. Además, la cadena principal de la GlyA115 forma un puente de hidrogeno con otro oxígeno del otro grupo ceto de la molécula.

La Figura 13c muestra la conformación espacial del *safe lead* **TCM540439** con el sitio de unión de la diana 5LD8. Se observa que el metileno entre el isoxazol y el tetrahidropirano forma un puente de hidrógeno con el alcohol del ácido carboxílico de la cadena lateral del Glu199. Además, el alcohol del tetrahidropirano forma un puente de hidrógeno con la cadena principal de Pro201. Lo mismo sucede con el metileno que esta entre el isoxazol y el éter de la molécula con la cadena principal de Gly117.

La interacción entre el *safe lead* **AB-00061618** con el sitio de unión de la diana 5LD8 se representa en la Figura 13e y 13f. En las figuras se observa la interacción de tipo pi-puente de hidrogeno entre el metileno y la Phe239. También se aprecia que la cadena principal del Glu141 forma un puente de hidrogeno con un nitrógeno de un imidazol de la molécula.

La amina sustituyente en los dos anillos de pirimidina forman puentes de hidrogeno con Gly240 y Pro201. Además, la cadena lateral de Glu199 funge como aceptor de tres puentes de hidrogeno formados por un metilo, una amina secundaria y un alcohol sustituido en el núcleo de tetrahidrofurano. Por último, Gly200 forma interacciones del tipo pi-puente de hidrógeno con los anillos una purina presente en la molécula.

Las figuras con los resultados del acoplamiento molecular de otros *safe leads* están en el Anexo I.

Propiedades fisicoquímicas y toxicológicas

La Tabla 8 muestra la cantidad de compuestos *leads* que parecen no producir algún daño toxicológico (*safe leads*) obtenidos por DataWarrior. Para ninguno de estos compuestos se predice algún tipo de toxicidad.

Tabla 8. *Safe leads* obtenidos con las dianas 5IWC y 5LD8 por propiedades toxicológicas.

Método	Safe Leads 5IWC	Safe Leads 5LD8
MACCS keys	17	11
ECFP4	1	2
ECFP6	3	3
DBFP	18	9
Total	39	25

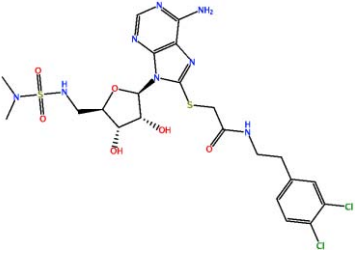
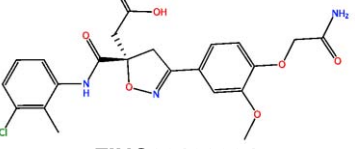
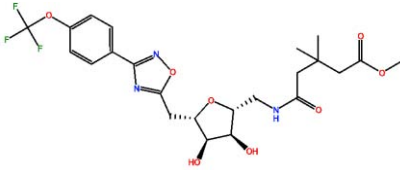
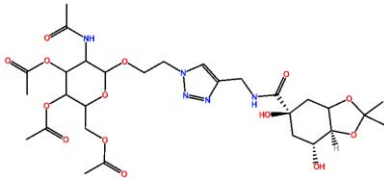
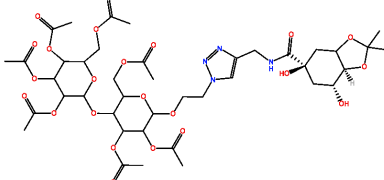
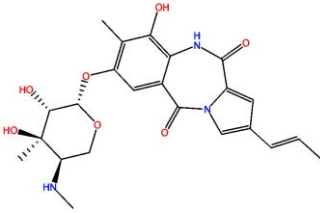
Para cada uno de los *leads*, obtenidos por acoplamiento molecular, se estimaron las propiedades fisicoquímicas y toxicológicas con DataWarrior. Aquellos compuestos que no presentaron posibles efectos tóxicos se denominaron *safe leads*.

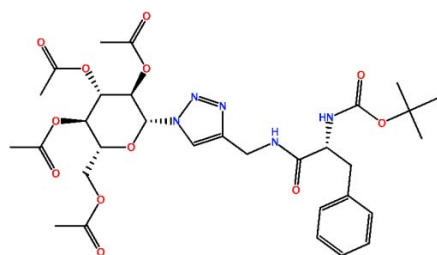
Para los compuestos seleccionados con acoplamiento con la estructura PDB ID: 5IWC, se encontraron 17 *safe leads* por MACCS keys de los 20 *leads*. Por Extended Connectivity a 2 átomos de radio, solamente un compuesto resultó ser *safe lead* (de los 8 compuestos iniciales). De los 18 *leads* obtenidos con Extended Connectivity a 3 átomos de radio, sólo se clasificaron 3 como *safe leads*. Y 18 de los 27 *leads* obtenidos por DBFP se clasificaron como *safe leads*.

Para la diana 5LD8 se encontraron 11 *safe leads* de los 14 *leads* obtenidos por MACCS keys. Además, se encontraron 2 *safe leads* de los 7 *leads* por Extended Connectivity a 2 átomos de radio, y 3 *safe leads* de los 18 compuestos identificados a 3 átomos de radio. Y de los 16 *leads* encontrados por DBFP, 9 de ellos se clasificaron como *safe leads*.

La Tabla 9 resume los 17 *safe leads* obtenidos por MACCS keys. También muestra los valores de similitud con estefimicina B y D-cicloserina, y el valor del *score* obtenido en el acoplamiento molecular.

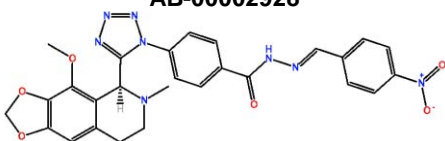
Tabla 9. Resultados de similitud y *score* de los *safe leads* obtenidos por MACCS keys para 5IWC.

Molécula	Similitud		Score
	Estefimicina B	D-cicloserina	
 AB-00061610	0.8529	0.9302	-14.0904
 ZINC09130284	0.8824	0.9070	-13.2634
 FPMACCS_1	0.8824	0.8604	-14.4977
 AB-00054348	0.8824	0.8837	-14.3608
 AB-00054349	0.8824	0.8605	-12.9958
 ZINC71404411	1.0000	0.8605	-14.3306



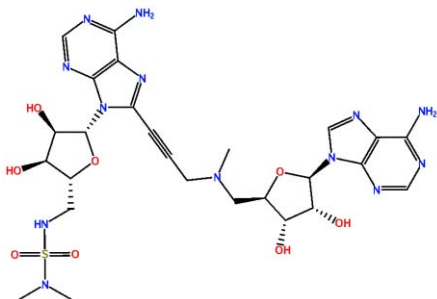
AB-0002928

0.8529 0.8605 -12.7147



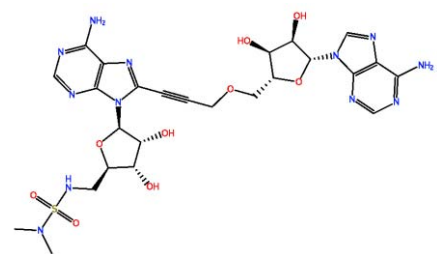
ZINC70670122

0.8529 0.8837 -13.5531



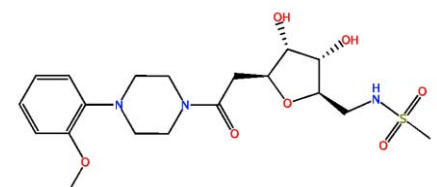
AB-00061619

0.8529 0.8605 -17.3055



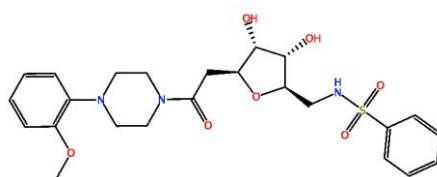
AB-00061618

0.8529 0.8837 -19.8997



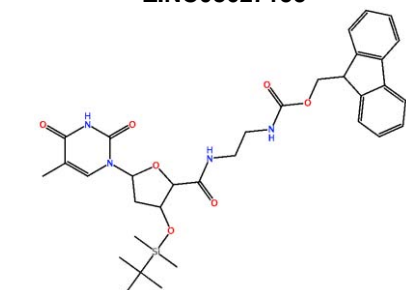
ZINC08636299

0.8529 0.8605 -13.7813



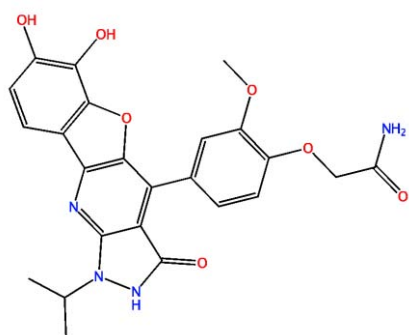
ZINC08627155

0.8529 0.8605 -13.0851

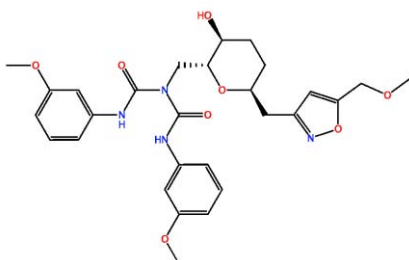


AB-00060631

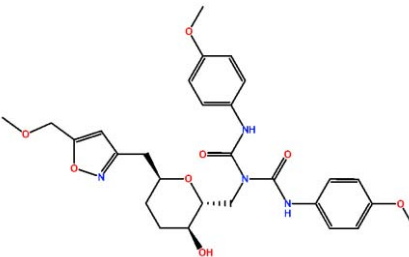
0.9412 0.8605 -13.1859

**ZINC85876851**

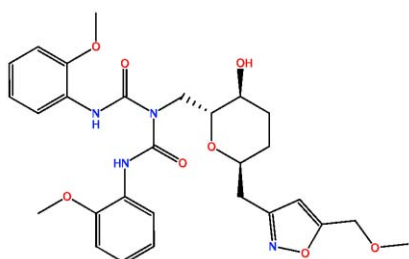
0.9118	0.8605	-13.2122
--------	--------	----------

**TCM540438**

0.8529	0.8605	-14.0340
--------	--------	----------

**TCM540439**

0.8529	0.8605	-13.5477
--------	--------	----------

**TCM540442**

0.8824	0.8605	-13.0264
--------	--------	----------

En la Tabla 9 se observa que todas estas moléculas tienen un valor *score* menor a -12, lo cual indica que provoca un cambio conformacional a la proteína y la puede inhibir. Además, todas las moléculas tienen heterociclos con oxígeno y/o nitrógeno. También presentan grupos funcionales oxigenados como éteres, alcoholes, y cetonas.

La Tabla 10 describe las propiedades estimadas por *DataWarrior* de cada molécula en la Tabla 9.

Tabla 10. Propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de los *safe leads* obtenidos por MACCS keys para la diana 5IWC.

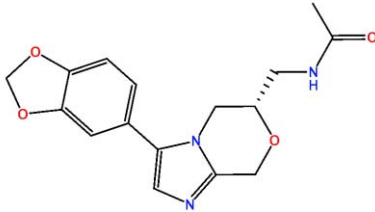
Molécula	cLogP	cLogS ^b	Mutagénico	Tumorigénico	Daño Reproductivo	Irritante
AB-00061610	0.9624	-5.327	NO	NO	NO	NO
ZINC09130284	2.3387	-4.968	NO	NO	NO	NO
FPMACCS_1	2.2338	-4.527	NO	NO	NO	NO
AB-00054348	-3.0796	-1.905	NO	NO	NO	NO
AB-00054349	-2.9887	-2.971	NO	NO	NO	NO
ZINC71404411	0.9387	-4.021	NO	NO	NO	NO
AB-00002928	0.9718	-4.840	NO	NO	NO	NO
ZINC70670122	2.0299	-5.616	NO	NO	NO	NO
AB-00061619	-3.1710	-3.954	NO	NO	NO	NO
AB-00061618	-2.9633	-4.452	NO	NO	NO	NO
ZINC08636299	-0.6432	-1.995	NO	NO	NO	NO
ZINC08627155	0.6072	-2.241	NO	NO	NO	NO
AB-00060631	1.6256	-5.781	NO	NO	NO	NO
ZINC85876851	2.6184	-5.005	NO	NO	NO	NO
TCM540438	2.6184	-5.005	NO	NO	NO	NO
TCM540439	2.6184	-5.005	NO	NO	NO	NO
TCM540442	2.4581	-4.179	NO	NO	NO	NO

^b cLogS está expresado en mol/l.

De acuerdo al valor del logP, se observa que 12 de las 17 moléculas presentan valores positivos, por lo cual se consideran como hidrofóbicas.

La Tabla 11 muestra el único *safe lead* obtenido por *Extended Connectivity* a 2 átomos de radio para la diana 5IWC.

Tabla 11. Resultados de similitud y score del *safe lead* obtenido por *Extended Connectivity* a 4 átomos de diámetro para la diana 5IWC.

Molécula	Similitud	Score
 TCM559804	0.2840	-12.3339

Al igual que los *safe leads* obtenidos por MACCS keys, **TCM559804** en la Tabla 11 contiene heterociclos de oxígeno y nitrógeno, así como una amida secundaria. Aunque su valor de similitud es pequeño, es mayor al promedio y cinco desviaciones estándar de todos los demás compuestos presentes en el *Masterfile*.

Se encontraron en total tres *safe leads* por este método, pero solamente se escogió a **TCM559804** porque tiene varias conformaciones con un *score* menor a -12. La Tabla 12 muestra propiedades fisicoquímicas y toxicológicas predichas para este *safe lead*.

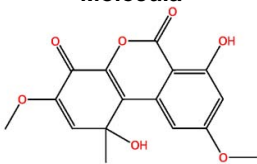
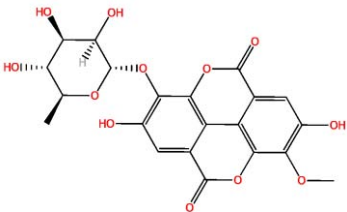
Tabla 12. Propiedades fisicoquímicas y toxicológicas del *safe lead* obtenido por *Extended Connectivity* a 4 átomos de diámetro para la diana 5IWC.

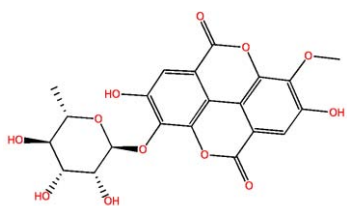
Molécula	cLogP	cLogS	Mutagénico	Tumorogénico	Daño Reproductivo	Irritante
TCM559804	1.1198	-1.875	NO	NO	NO	NO

Por sus propiedades fisicoquímicas se considera al *safe lead* **TCM559804** como una molécula ligeramente hidrofóbica, y una buena solubilidad, además no presenta ningún tipo de toxicidad.

La siguiente tabla contiene las estructuras de los tres *safe leads* encontrados por *Extended Connectivity* a tres átomos de radio para las dianas con PDB IDs: 5IWC y 5LD8.

Tabla 13. Resultados de similitud y score de los *safe leads* obtenidos por *Extended Connectivity* a 6 átomos de diámetro para las dianas 5IWC y 5LD8.

Molécula	Similitud	Score 5IWC	Score 5LD8
 ECFP6_1	0.1667	-10.6990	-10.6045
 ZINC33832610	0.1692	-17.2854	-12.7315



ZINC33832610

0.1606

-16.0097

-13.5937

A pesar de que por *Extended Connectivity* no se encuentren resultados de similitud muy cercanos a uno, se encontraron 3 moléculas muy prometedoras de acuerdo a su *score*. Las moléculas con el identificador **ZINC33832610** son isómeros. Estas tres moléculas no presentan heterociclos de nitrógeno, pero siguen presentando heterociclos con oxígeno y grupos funcionales oxigenados.

La Tabla 14 describe propiedades fisicoquímicas y toxicológicas calculadas para los tres *safe leads* encontrados por *Extended Connectivity* a 3 átomos de radio.

Tabla 14. Propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de los *safe leads* obtenidos por *Extended Connectivity* a 6 átomos de diámetro para las dianas 5IWC y 5LD8.

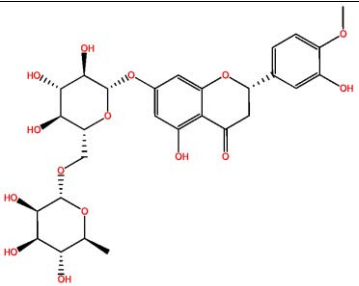
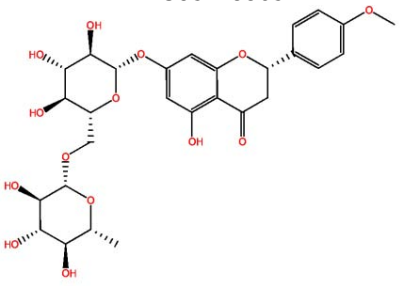
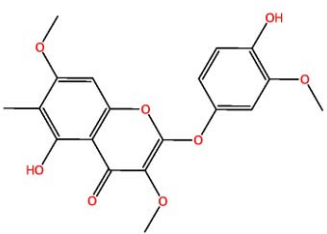
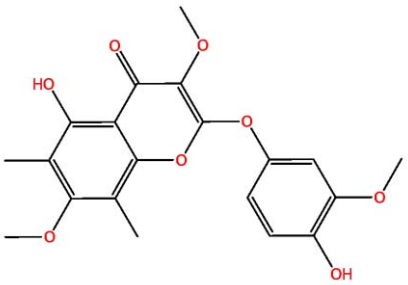
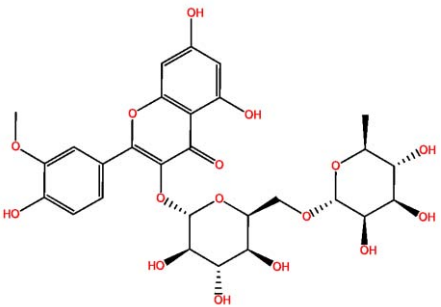
Molécula	CLogP	cLogS	Mutagénico	Tumorigénico	Daño Reproductivo	Irritante
ECFP6_1	0.396	-2.219	NO	NO	NO	NO
ZINC33832610	0.4905	-3.993	NO	NO	NO	NO
ZINC33832610	-1.0875	-3.993	NO	NO	NO	NO

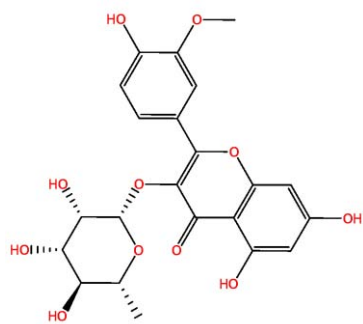
Las dos primeras moléculas de la Tabla 14 parecen ser ligeramente hidrofóbicas. En cambio la tercera molécula es más hidrofílica. Esto último debido a la conectividad de los átomos (isómeros).

En cuanto a la solubilidad, las tres presentan valores muy similares, aunque la molécula **ECFP6_1** es más soluble que las otras dos (que tienen la misma masa molecular).

La siguiente tabla contiene los *safe leads* obtenidos para la diana 5IWC por DBFP, así como sus valores de similitud y *score*.

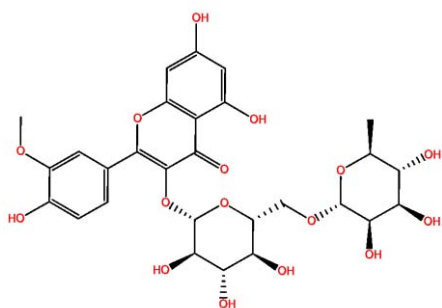
Tabla 15. Resultados de similitud y *score* de los *safe leads* obtenidos por DBFP para la diana 5IWC.

Molécula	Similitud	Score
 <p>ZINC08143568</p>	0.90	-15.7349
 <p>ZINC095099219</p>	0.90	-13.1986
 <p>ZINC95486287</p>	0.90	-13.8643
 <p>ZINC95486282</p>	0.90	-13.5001
 <p>ZINC96316280</p>	0.90	-16.2374

**ZINC85948413**

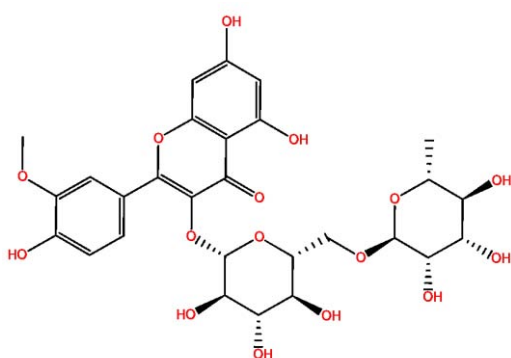
0.90

-14.8385

**ZINC04349406**

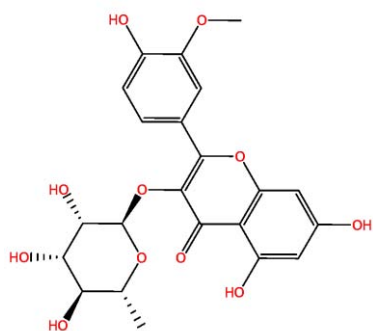
0.90

-16.2499

**ZINC28816556**

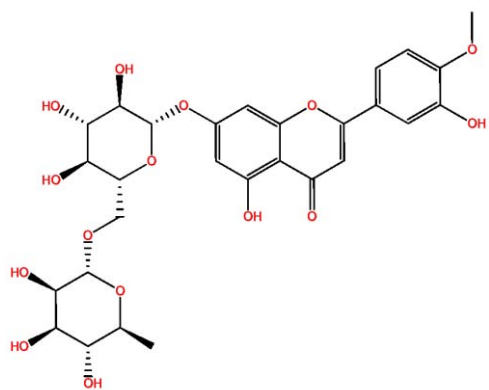
0.90

-15.1951

**ZINC84154202**

0.90

-14.8320



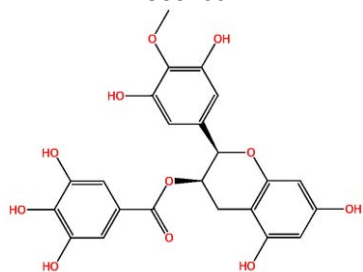
0.90 -14.3023

ZINC04098512



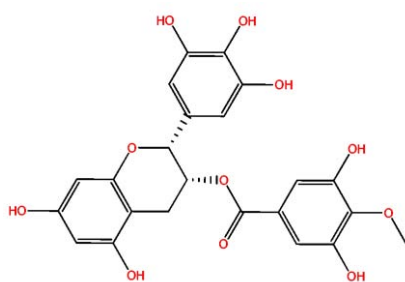
0.92 -13.8940

ZINC95486127



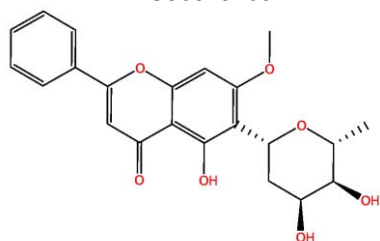
0.91 -15.3902

ZINC49115270



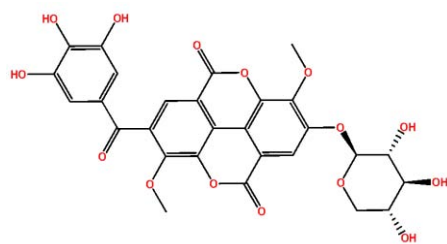
0.91 -17.2069

ZINC06040160



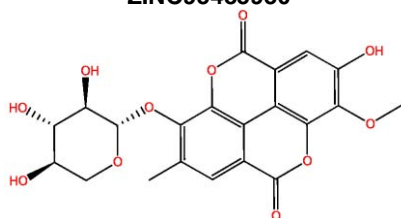
0.91 -12.2864

ZINC34729381



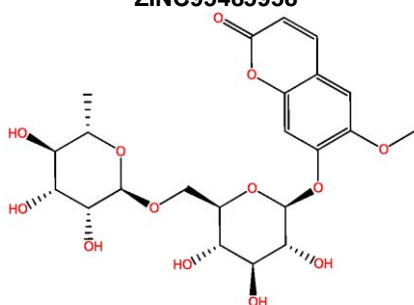
0.91

-15.4273

ZINC95485930

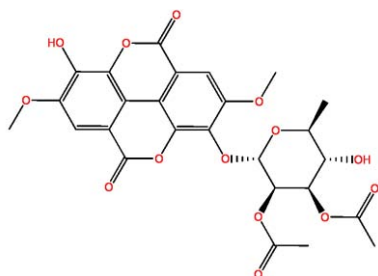
0.91

-14.4357

ZINC95485958

0.90

-16.0821

ZINC95098970

0.90

-13.9966

ZINC95098967

Al igual que las moléculas encontradas por MACCS keys, éstas presentan heterociclos. Únicamente presentan heterociclos de oxígeno, debido a que solo se tomó como referencia a la estefimicina b y compuestos similares.

Tabla 16. Propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de los *safe leads* obtenidos por *DBFP* para 5IWC.

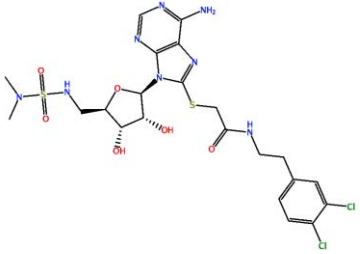
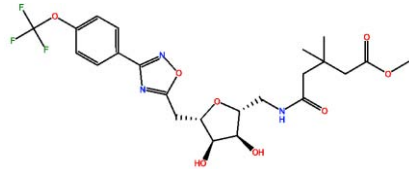
Molécula	cLogP	cLogS	Mutagénico	Tumorigénico	Daño Reproductivo	Irritante
ZINC08143568	-0.814	-2.751	NO	NO	NO	NO
ZINC095099219	-0.4683	-3.047	NO	NO	NO	NO
ZINC95486287	2.9952	-4.953	NO	NO	NO	NO
ZINC95486282	3.3291	-5.297	NO	NO	NO	NO
ZINC96316280	-0.9816	-2.712	NO	NO	NO	NO

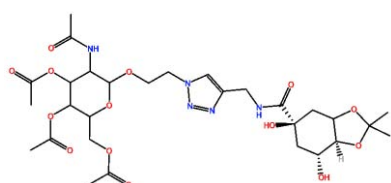
ZINC85948413	0.8555	-3.012	NO	NO	NO	NO
ZINC04349406	-0.9816	-2.712	NO	NO	NO	NO
ZINC28816556	-0.9816	-2.712	NO	NO	NO	NO
ZINC84154202	0.8555	-3.012	NO	NO	NO	NO
ZINC04098512	-0.6340	-2.967	NO	NO	NO	NO
ZINC95486127	-0.2952	-2.760	NO	NO	NO	NO
ZINC49115270	2.3300	-2.474	NO	NO	NO	NO
ZINC06040160	2.3300	-2.474	NO	NO	NO	NO
ZINC34729381	2.3222	-3.785	NO	NO	NO	NO
ZINC95485930	0.8801	-5.437	NO	NO	NO	NO
ZINC95485958	0.8554	-4.255	NO	NO	NO	NO
ZINC95098970	1.4597	-4.813	NO	NO	NO	NO
ZINC95098967	1.7354	-5.127	NO	NO	NO	NO

La Tabla 16 muestra que ninguno de los *safe leads* obtenidos por DBFP presentan un coeficiente de reparto muy alto, a pesar de tener varias sustituciones de oxígeno. Tres de los 18 *safe leads* son muy poco solubles (**ZINC95486282**, **ZINC95485930**, **ZINC95098967**). Por lo tanto se sugiere optimizarlas antes de llevar a cabo un estudio *in vitro* o *in vivo*.

La Tabla 17 muestra las estructuras de los *safe leads* y sus valores de similitud y *score* encontradas por MACCS keys para la diana 5LD8.

Tabla 17. Resultados de similitud y score de los *safe leads* obtenidos por MACCS keys para 5LD8.

Molécula	Similitud		Score
	Estefimicina	D-Cicloserina	
 AB-00061610	0.8529	0.9302	-14.4127
 FPMACCS_1	0.8824	0.8605	-14.1001

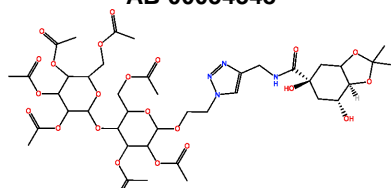


AB-00054348

0.8824

0.8837

-13.7190

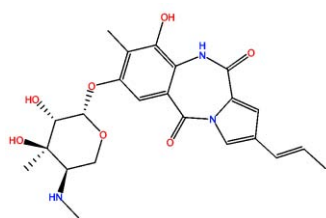


AB-00054349

0.8824

0.8605

-12.9438

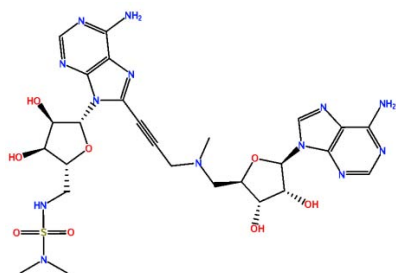


ZINC71404411

1.0000

0.8605

-12.4872

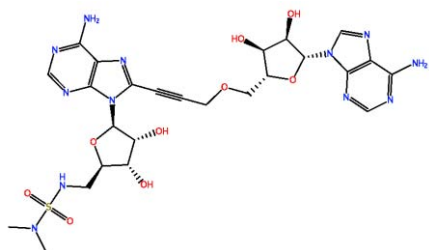


AB-00061619

0.8529

0.8605

-16.0089

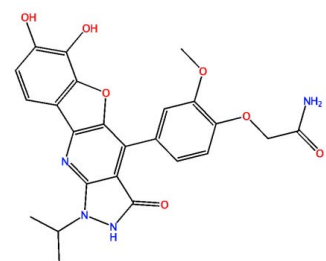


AB-00061618

0.8529

0.8837

-16.0227

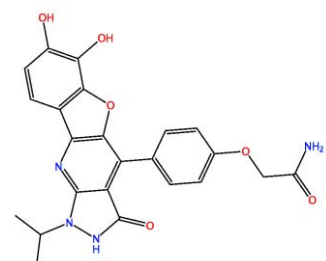


ZINC85876851

0.9118

0.8605

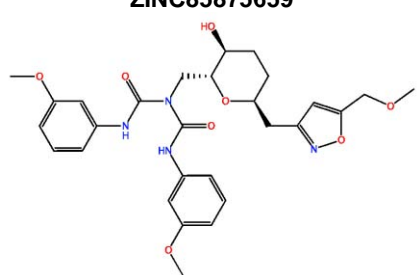
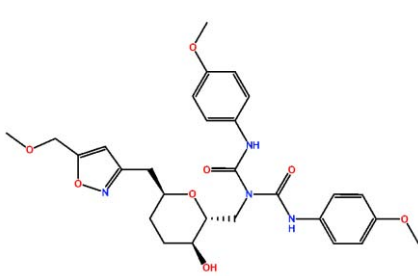
-13.8422



0.8529

0.8605

-13.7148

ZINC85875659 	0.8529	0.8605	-13.3511
TCM540438 	0.8529	0.8605	-13.7868
TCM540439			

Al igual que los *safe leads* encontrados para 5IWC, los *safe leads* en la Tabla 17 presentan heterociclos de oxígeno y/o nitrógeno y grupos funcionales oxigenados. Además, contienen valores de similitud mayores a 0.85 a estefimicina B y D-cicloserina. Por último, todos presentaron un *score* en acoplamiento molecular menor a -12.

En la Tabla 18 se muestran los resultados de toxicidad y las propiedades fisicoquímicas de los *safe leads* de la Tabla 17.

Tabla 18. Propiedades calculadas de los *safe leads* obtenidos por MACCS keys para 5LD8.

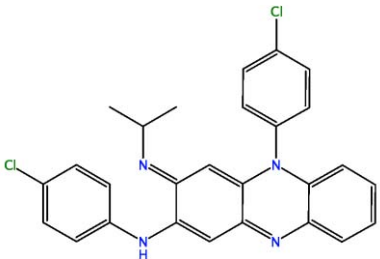
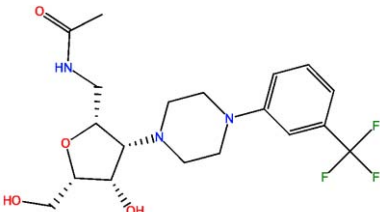
Molécula	cLogP	cLogS	Mutagénico	Tumorigénico	Daño reproductivo	Irritante
AB-00061610	0.9624	-5.327	NO	NO	NO	NO
FPMACCS_1	2.2338	-4.527	NO	NO	NO	NO
AB-00054348	-3.0796	-1.905	NO	NO	NO	NO
AB-00054349	-2.9887	-2.971	NO	NO	NO	NO
ZINC71404411	0.9368	-4.021	NO	NO	NO	NO
AB-00061619	-3.171	-3.954	NO	NO	NO	NO
AB-00061618	-2.9633	-4.452	NO	NO	NO	NO
ZINC85876851	1.6256	-5.826	NO	NO	NO	NO
ZINC85875659	1.6956	-5.808	NO	NO	NO	NO
TCM540438	2.6184	-5.005	NO	NO	NO	NO

TCM540439	2.6184	-5.005	NO	NO	NO	NO
-----------	--------	--------	----	----	----	----

De los once *safe leads*, cuatro de ellos tienen un coeficiente de partición negativo, lo cual indica que son hidrofílicos, y los siete restantes son hidrofóbicos.

La Tabla 19 muestra los dos *safe leads* encontrados para la diana 5LD8 con sus respectivos valores de similitud y *score*. Estos compuestos son muy diferentes entre sí, poseen diferentes grupos funcionales como amidas y alcoholes, aunque también presentan grupos funcionales similares entre sí como el anillo de piperazina, unido a un anillo aromático con halógenos. Al ser compuestos comparados por *Extended Connectivity*, el compuesto **ZINC17953024** presenta una gran similitud con la estefimicina B.

Tabla 19. Resultados de similitud y score de los *safe leads* obtenidos por *Extended Connectivity* a 4 átomos de diámetro para la diana 5LD8.

Molécula	Similitud	Score
 <p>ZINC17953024</p>	0.6949	-11.4877
 <p>ZINC20465426</p>	0.2857	-10.5348

En la Tabla 20 se presentan las propiedades fisicoquímicas y toxicológicas obtenidas por *DataWarrior* de las moléculas presentes en la tabla anterior.

Tabla 20. Propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de los *safe leads* obtenidos por *Extended Connectivity* a 4 átomos de diámetro para la diana 5LD8.

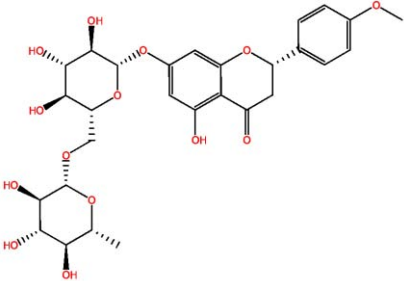
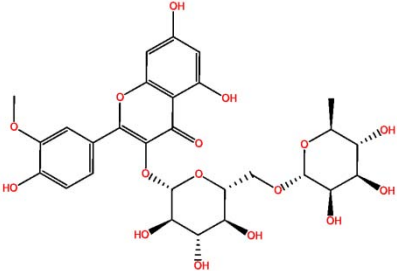
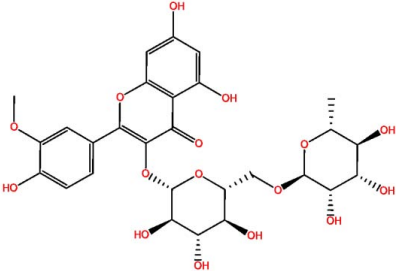
Molécula	cLogP	cLogS	Mutagénico	Tumorogénico	Daño Reproductivo	Irritante
----------	-------	-------	------------	--------------	-------------------	-----------

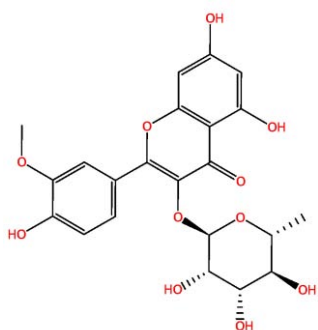
ZINC17953024	6.0542	-8.192	NO	NO	NO	NO
ZINC20465426	0.2903	-2.031	NO	NO	NO	NO

La Tabla 20 muestra que el compuesto **ZINC17953024** es demasiado hidrofóbico (con un valor que incluso sobrepasa la regla de Lipinski). Por su solubilidad se puede decir que es muy difícil de solubilizar. Por su parte, **ZINC20465426** presenta una ligera polaridad, aunque por su coeficiente de partición tiende a considerarse hidrofóbico. Pero su solubilidad es mejor que la de la molécula **ZINC17953024**. Modificaciones estructurales de ambas moléculas, pueden llegar a mejorar el coeficiente de partición y la solubilidad de ambas moléculas.

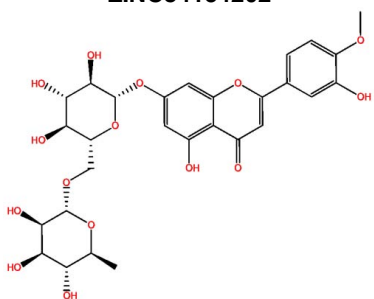
La Tabla 21 contiene las estructuras y valores de similitud y score de los *safe leads* encontrados por DBFP para la diana 5LD8.

Tabla 21. Resultados de similitud y *score* de los *safe leads* obtenidos por *DBFP* para la diana 5LD8.

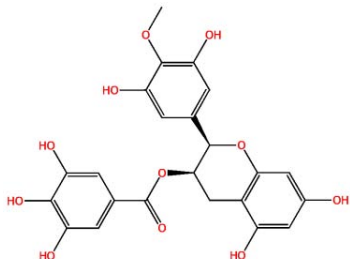
Molécula	Similitud	Score
 <p>ZINC95099219</p>	0.90	-13.0990
 <p>ZINC04349406</p>	0.90	-12.9993
 <p>ZINC28816556</p>	0.90	-12.5601

**ZINC84154202**

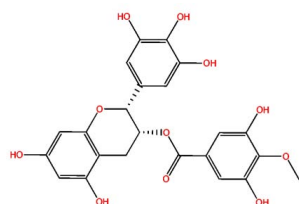
0.90 -12.7290

**ZINC04098512**

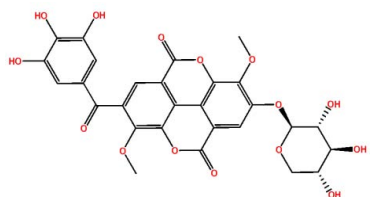
0.90 -13.1427

**ZINC49115270**

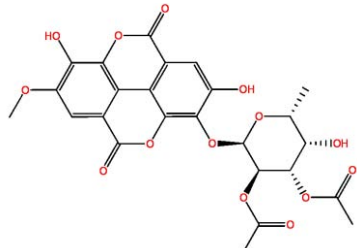
0.91 -14.2362

**ZINC06040160**

0.91 -15.4312

**ZINC95485930**

0.91 -14.4731

**ZINC95098970**

0.90 -12.6787

Estos *safe leads* solo contienen heterociclos de oxígeno debido a que solo se ocupó la estefimicina b y compuestos similares para compararlos.

Tabla 22. Propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de los *safe leads* obtenidos por *DBFP* para 5LD8.

Molécula	cLogP	cLogS	Mutagénico	Tumorigénico	Daño Reproductivo	Irritante
ZINC95099219	-0.4683	-3.047	NO	NO	NO	NO
ZINC04349406	-0.9816	-2.712	NO	NO	NO	NO
ZINC28816556	-0.9816	-2.712	NO	NO	NO	NO
ZINC84154202	0.8555	-3.012	NO	NO	NO	NO
ZINC04098512	-0.6340	-2.967	NO	NO	NO	NO
ZINC49115270	2.3300	-2.474	NO	NO	NO	NO
ZINC06040160	2.3300	-2.474	NO	NO	NO	NO
ZINC95485930	0.8801	-5.437	NO	NO	NO	NO
ZINC95098970	1.4597	-4.813	NO	NO	NO	NO

Cuatro de los nueve *safe leads* presentan un coeficiente de reparto ligeramente negativo, por lo tanto, se consideran hidrofílicos. Mientras que los cinco restantes al tener valores positivos se consideran hidrofóbicos. Solo uno de los nueve *safe leads* se predice poco soluble (**ZINC95485930**).

Acoplamiento molecular con dianas metabolizadoras y tóxicas

La Tabla 23 muestra los *safe leads* que no interaccionaron con las dianas metabolizadoras (receptor X de pregnano y citocromo P450 2C9) y/o tóxicas (receptor de andrógenos).

Tabla 23. *Safe leads* que no presentan afinidad sobre dianas metabolizadoras o tóxicas.

	1SKX	5A5I	4HLW
Safe leads 5IWC	1	29	37
Safe leads 5LD8	1	16	24

De los 39 *safe leads* obtenidos para la diana 5IWC, solo dos de ellos no presentaron unión predicha con el receptor X de pregnano. Diez presentaron afinidad sobre citocromo P450 2C9. Y solo dos presentaron actividad sobre el receptor de andrógenos.

Por parte de los 25 *safe leads* obtenidos para la diana 5LD8, solamente uno no presentó afinidad predicha sobre el receptor X de pregnano. Dieciséis de ellos no presentaron

actividad sobre el citocromo P450 2C9. Y solo uno de ellos presento actividad sobre el receptor de andrógenos.

La Figura 14 muestra a las estructuras de los compuestos **AB-00054349** y **AB-00002928** que no presentaron afinidad calculada sobre alguna de las dianas metabolizadoras o tóxicas. Por lo tanto, estas dos moléculas pueden ser las primeras en evaluarse experimentalmente en pruebas biológicas.

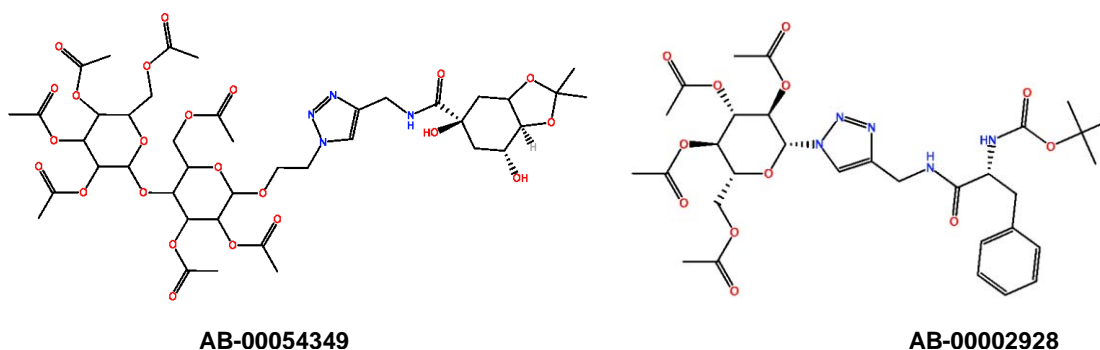


Figura 14. *Safe leads* que no presentan afinidad frente a dianas tóxicas (4HLW) ni a dianas metabolizadoras (1SKX y 5A5I).

La Figura 15 muestra a la única molécula que presenta afinidad sobre la diana tóxica (4HLW) receptor de andrógenos y sobre la diana metabolizadora (5A5I) citocromo P450 2C9. Esta molécula se debe de optimizar antes de ser usada en estudios *in vitro* o *in vitro* debido a los efectos tóxicos que pueden presentarse al unirse al receptor de andrógenos.

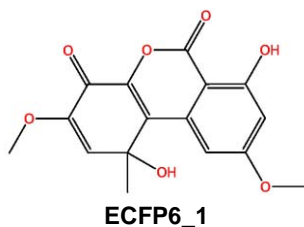


Figura 15. Única molécula con afinidad calculada al receptor de andrógenos.

The Pathogen Box

Los resultados de similitud con estos compuestos fueron muy bajos. Por lo tanto, no se continuó con la identificación de *hits*.

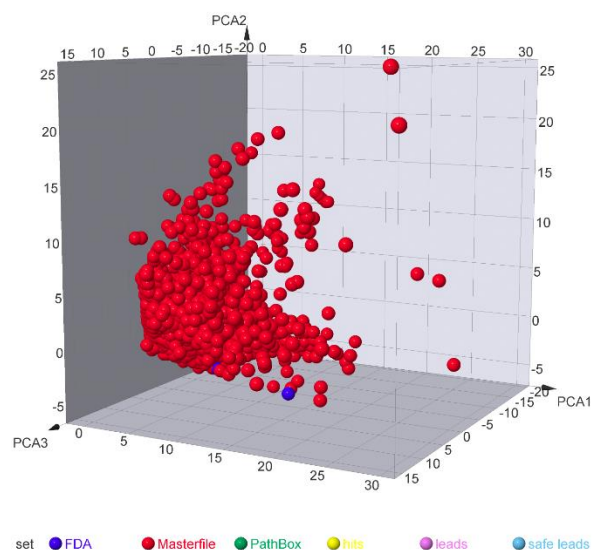
Espacio químico

La Gráfica 1 presenta los compuestos estudiados (*Masterfile*, *Hits*, *Leads*, *Safe Leads*, *PathBox* y *FDA*) distribuidos espacialmente de acuerdo a sus valores de PCA. La Tabla 24 presenta los valores de varianza obtenidos al calcular el PCA. Por lo tanto, al graficar PCA1, PCA2 y PCA3 la gráfica proporciona el 90.3% de la información de todas las moléculas analizadas.

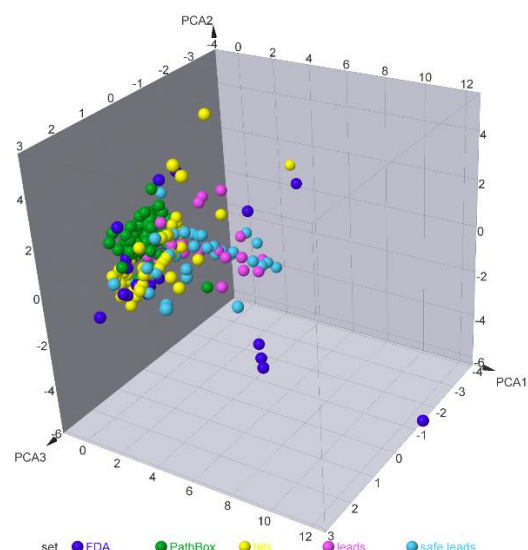
Tabla 24. Varianza del análisis de componentes principales.

PC	% Varianza
1	56.954
2	82.532
3	90.338
4	96.340
5	98.663
6	100.000

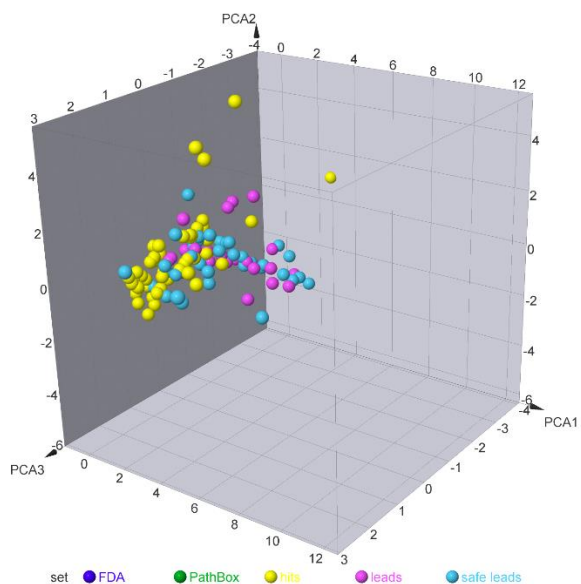
En la Gráfica 1 solo se visualizan a las moléculas del *Masterfile*, debido a la gran cantidad de compuestos. Se pueden observar dos fármacos aprobados por la FDA (en color azul). La Gráfica 2 presenta los compuestos estudiados (excepto los del *Masterfile*). En esta gráfica se observa que todas las moléculas presentan una complejidad química similar, exceptuando algunos *hits* (amarillos) y algunos fármacos aprobados por la FDA (azul).



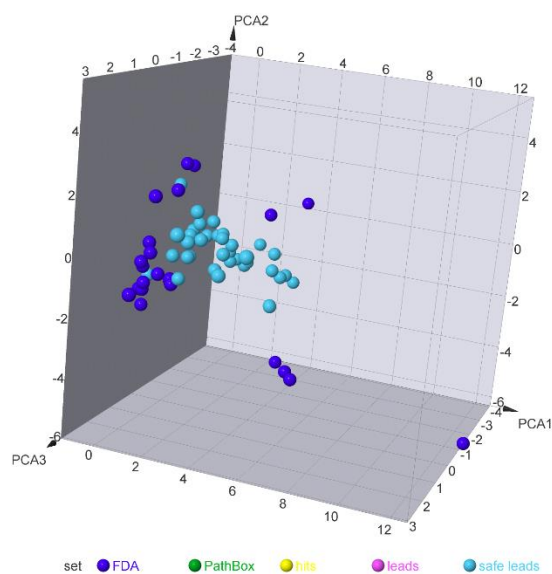
Gráfica 1. Visualización de espacio químico de todas las moléculas.



Gráfica 2. Espacio químico de todas las moléculas estudiadas, excepto las del *Masterfile*.



Gráfica 3. Espacio químico de los *hits*, *leads* y *safe leads*.



Gráfica 4. Espacio químico de *safe leads* y fármacos aprobados por la FDA para el tratamiento de la tuberculosis.

La Gráfica 3 contiene a los compuestos *hits*, *leads* y *safe leads* distribuidos de acuerdo a su complejidad química. Esta gráfica sugiere que los compuestos que encontraron en este trabajo son similares de acuerdo a su complejidad química. Además, los *safe leads* forman un subconjunto que está sobrepuesto sobre el espacio de los *leads*. La Gráfica 4 compara a los *safe leads* obtenidos con los fármacos aprobados por la FDA para el tratamiento de tuberculosis. Esta gráfica muestra que los *safe leads* obtenidos en este trabajo son similares de acuerdo a su complejidad química. En cambio, los fármacos aprobados por la FDA se encuentran en diferentes zonas. El grupo de *safe leads* se encuentra en medio de las zonas que ocupan los fármacos aprobados por la FDA. De esta manera es un grupo de compuestos que pueden tener las características adecuadas para continuarse desarrollando como moléculas con potencial actividad biológica.

CONCLUSIONES

- Se clasificaron 27 compuestos como *hits* computacionales con alta similitud a moléculas 'líderes' (*leads*) contra *T. cruzi* que podrían ser probados en ensayos biológicos.
- En total se clasificaron 42 moléculas como 'compuestos líderes seguros' (*safe leads*) que potencialmente serán activos contra *M. tuberculosis*.
- Utilizando MACCS keys y DBFP se identificaron más *safe leads* que usando *Extended Connectivity fingerprints*.
- Uno de los 42 *safe leads* presenta una posible afinidad al receptor de andrógenos. Por lo que se debe optimizar antes de evaluarlo en ensayos biológicos.
- 22 de los 42 *safe leads* actúan sobre las dianas biológicas de *M. tuberculosis*.
- Las interacciones más frecuentes entre los *safe leads* y el sitio de unión de las dianas son los puentes de hidrógeno e interacciones pi-puente de hidrógeno.
- Los compuestos con valores desfavorables de coeficiente de partición y/o de solubilidad, así como afinidad a dianas metabolizadoras, pueden optimizarse antes de realizar ensayos con estos.
- La complejidad estructural de los *safe leads* es muy similar entre ellos. Se determinó que su complejidad converge con la complejidad de los fármacos aprobados por la FDA contra tuberculosis.
- Los ensayos con los *safe leads* pueden contribuir en la búsqueda de nuevos fármacos contra tuberculosis y contribuir con el objetivo de la OMS de erradicar esta enfermedad en años próximos.

Bibliografía

- ABRAHAMAS, K. A., CHUNG, C. W., GHIDELLI-DISSE, S., RULLAS, J., REBOLLO-LOPEZ, M. J., GURCHA, S. S., COX, J. A., MENDOZA, A., JIMENEZ-NAVARRO, E., MARTINEZ-MARTINEZ, M. S., NEU, M., SHILLINGS, A., HOMES, P., ARGYROU, A., CASANUEVA, R., LOMAN, N. J., MOYNIHAN, P. J., LELIEVRE, J., SELENSKI, C., AXTMAN, M., KREMER, L., BANTSCHIEFF, M., ANGULO-BARTUREN, I., IZQUIERDO, M. C., CAMMACK, N. C., DREWES, G., BALLELL, L., BARROS, D., BESRA, G. S. & BATES, R. H. 2016. Identification of KasA as the cellular target of an anti-tubercular scaffold. *Nat Commun*, 7, 12581.
- BRUNNER, K., MARIC, S., RESHMA, R. S., ALMQVIST, H., SEASHORE-LUDLOW, B., GUSTAVSSON, A. L., POYRAZ, O., YOGEE SWARI, P., LUNDBACK, T., VALLIN, M., SRIRAM, D., SCHNELL, R. & SCHNEIDER, G. 2016. Inhibitors of the Cysteine Synthase CysM with Antibacterial Potency against Dormant Mycobacterium tuberculosis. *J Med Chem*, 59, 6848-59.
- CERETO-MASSAGUE, A., OJEDA, M. J., VALLS, C., MULERO, M., PUJADAS, G. & GARCIA-VALLVE, S. 2015. Tools for in silico target fishing. *Methods*, 71, 98-103.
- CHEN, C. Y.-C. 2011. TCM Database@Taiwan: The World's Largest Traditional Chinese Medicine Database for Drug Screening In Silico. *PLOS ONE*, 6, e15939.
- FERNANDEZ-DE GORTARI, E., GARCIA-JACAS, C. R., MARTINEZ-MAYORGA, K. & MEDINA-FRANCO, J. L. 2017. Database fingerprint (DFP): an approach to represent molecular databases. *J Cheminform*, 9, 9.
- GANESAN, A. 2008. The impact of natural products upon modern drug discovery. *Curr Opin Chem Biol*, 12, 306-17.
- GONZÁLEZ-MEDINA, M., PRIETO-MARTINEZ, F. D., NAVEJA, J. J., MÉNDEZ-LUCIO, O., EL-ELIMAT, T., PIERCE, C. J., OBERLIES, N. H., FIGUEROA, M. & MEDINA-FRANCO, J. L. 2016. Chemoinformatic expedition of the chemical space of fungal products. *Future Med Chem*, 8, 1399-1412.
- Global Tuberculosis Report 2016. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. ISBN 978 92 4 156539 4. Disponible en <http://www.who.int> (consultada el 30 de marzo de 2017).
- INTARAUDOM, C., BUNBAMRUNG, N., DRAMAE, A., DANWISSETKANJANA, K., RACHTAWEE, P. & PITTAYAKHAJONWUT, P. 2015. Antimalarial and

- antimycobacterial agents from *Streptomyces* sp. BCC27095. *Tetrahedron Lett*, 56, 6875-6877.
- KINGHORN, A. D. 2008. Drug discovery from natural products. En *Foye's principles of medicinal chemistry*. 12-25. Lippincott Williams & Wilkins.
- KLEBE, G. 2006. Virtual ligand screening: strategies, perspectives and limitations. *Drug Discov Today*, 11, 580-94.
- LIPINSKI, C. A., LOMBARDO, F., DOMINY, B. W. & FEENEY, P. J. 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings¹. *Adv Drug Delivery Rev*, 46, 3-26.
- MEDINA-FRANCO, J. L. 2015. Discovery and Development of Lead Compounds from Natural Sources Using Computational Approaches. En *Evidence-based validation of herbal medicine*. 455-475. Elsevier.
- MEDINA-FRANCO, J. L., FERNÁNDEZ-DE GORTARI, E. & NAVEJA, J. J. 2015. Avances en el diseño de fármacos asistido por computadora. *Educación Química*, 26, 180-186.
- MEDINA-FRANCO, J. L., LÓPEZ-VALLEJO, F. & CASTILLO, R. 2006. Diseño de fármacos asistido por computadora. *Educación Química*, 4, 452-457.
- MORGE, A. 2001. Evolución de los métodos de búsqueda y descubrimiento de fármacos. En *Introducción a la química farmacéutica*. 25-40. McGraw-Hill.
- OMS. Organización Mundial de la Salud. La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana). Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/es/> (consultada el 30 de marzo de 2017).
- SALDÍVAR-GONZÁLEZ, F., PRIETO-MARTÍNEZ, F. D. & MEDINA-FRANCO, J. L. 2017. Descubrimiento y desarrollo de fármacos: un enfoque computacional. *Educación Química*, 28, 51-58.
- SHEN, B. 2015. A New Golden Age of Natural Products Drug Discovery. *Cell*, 163, 1297-300.

ANEXO I

Acoplamiento molecular de los *safe leads* restantes.

Contenido

		Página
Figura A1	Interacción de las moléculas AB-00061610 , ZINC09130284 y FPMACCS_1 en el sitio de unión de la diana 5IWC	58
Figura A2	Interacción de las moléculas AB-00054348 , AB-00054349 y ZINC71404411 en el sitio de unión de la diana 5IWC	59
Figura A3	Interacción de las moléculas AB-00002928 , ZINC70670122 y AB-00061619 en el sitio de unión de la diana 5IWC	60
Figura A4	Interacción de las moléculas AB-00061618 , ZINC08636299 y ZINC08627155 en el sitio de unión de la diana 5IWC	61
Figura A5	Interacción de las moléculas AB-00060631 , ZINC85876851 y TCM540438 en el sitio de unión de la diana 5IWC	62
Figura A6	Interacción de las moléculas TCM540442 , FPEC6_1 y ZINC33832610 en el sitio de unión de la diana 5IWC	63
Figura A7	Interacción de las moléculas ZINC08143568 , ZINC095099219 y ZINC95486287 en el sitio de unión de la diana 5IWC	64
Figura A8	Interacción de las moléculas ZINC95486282 , ZINC96316280 y ZINC85948413 en el sitio de unión de la diana 5IWC	65
Figura A9	Interacción de las moléculas ZINC04349406 , ZINC28816556 y ZINC84154202 en el sitio de unión de la diana 5IWC	66
Figura A10	Interacción de las moléculas ZINC04098512 , ZINC95486127 y ZINC49115270 en el sitio de unión de la diana 5IWC	67
Figura A11	Interacción de las moléculas ZINC06040160 , ZINC34729381 y ZINC95485930 en el sitio de unión de la diana 5IWC	68
Figura A12	Interacción de las moléculas ZINC95485958 , ZINC95098970 y ZINC95098967 en el sitio de unión de la diana 5IWC	69

Figura A13	Interacción de las moléculas AB-00061610 , FPMACCS_1 y AB-00054348 en el sitio de unión de la diana 5LD8	70
Figura A14	Interacción de las moléculas AB-00054349 , ZINC71404411 y AB-00061619 en el sitio de unión de la diana 5LD8	71
Figura A15	Interacción de las moléculas ZINC85876851 , ZINC85875659 y TCM540438 en el sitio de unión de la diana 5LD8	72
Figura A16	Interacción de las moléculas ZINC17953024 , ZINC20465426 y ZINC28816556 en el sitio de unión de la diana 5LD8	73
Figura A17	Interacción de las moléculas ZINC33832610 , ZINC95099219 y ZINC04349406 en el sitio de unión de la diana 5LD8	74
Figura A18	Interacción de las moléculas ZINC28816556 , ZINC84154202 y ZINC04098512 en el sitio de unión de la diana 5LD8	75
Figura A19	Interacción de las moléculas ZINC49115270 , ZINC06040160 y ZINC95485930 en el sitio de unión de la diana 5LD8	76
Figura A20	Interacción de la molécula ZINC95098970 en el sitio de unión de la diana 5LD8	77

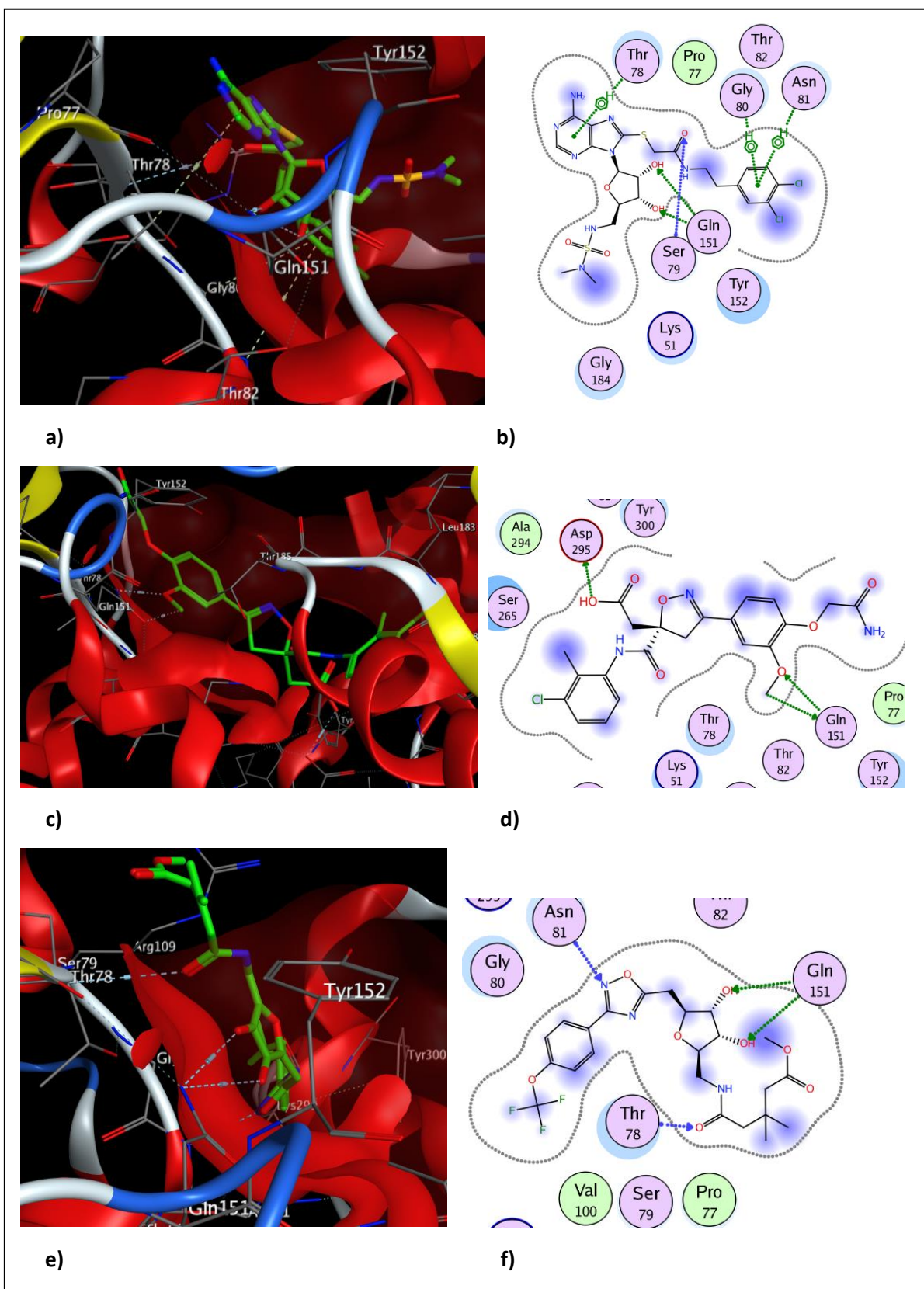


Figura A1. Conformación espacial de la molécula **AB-00061610** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **AB-00061610** con los residuos de la diana **5IWC** (b). Conformación espacial de la molécula **ZINC09130284** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (c); Interacciones de la molécula **ZINC09130284** con los residuos de la diana **5IWC** (d). Conformación espacial de la molécula **FPMACCS_1** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (e); Interacciones de la molécula **FPMACCS_1** con los residuos de la diana **5IWC** (f).

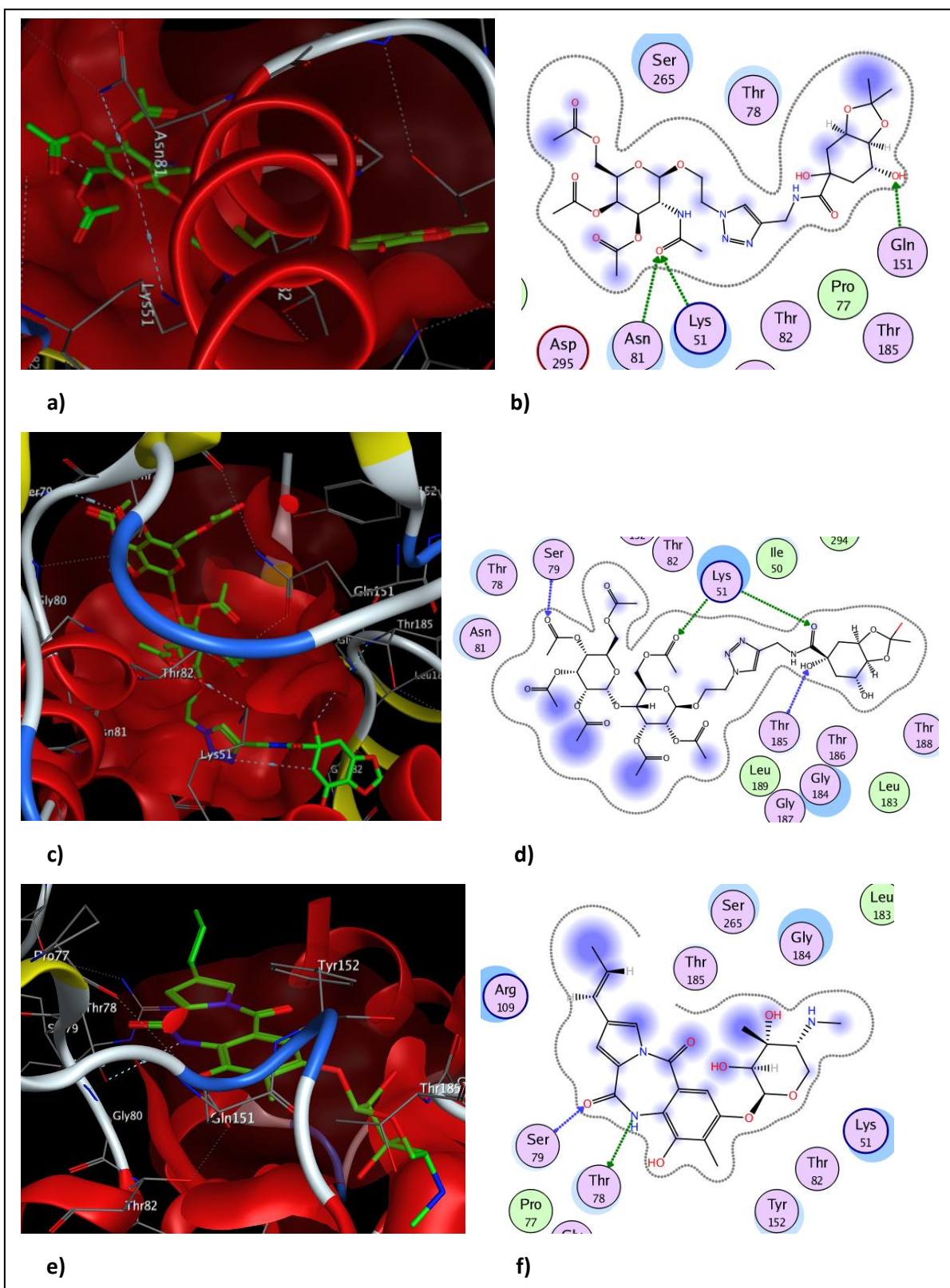


Figura A2. Conformación espacial de la molécula **AB-0005438** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **AB-0005438** con los residuos de la diana **5IWC** (b). Conformación espacial de la molécula **AB-0005439** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (c); Interacciones de la molécula **AB-0005439** con los residuos de la diana **5IWC** (d). Conformación espacial de la molécula **ZINC7140441** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (e); Interacciones de la molécula **ZINC7140441** con los residuos de la diana **5IWC** (f).

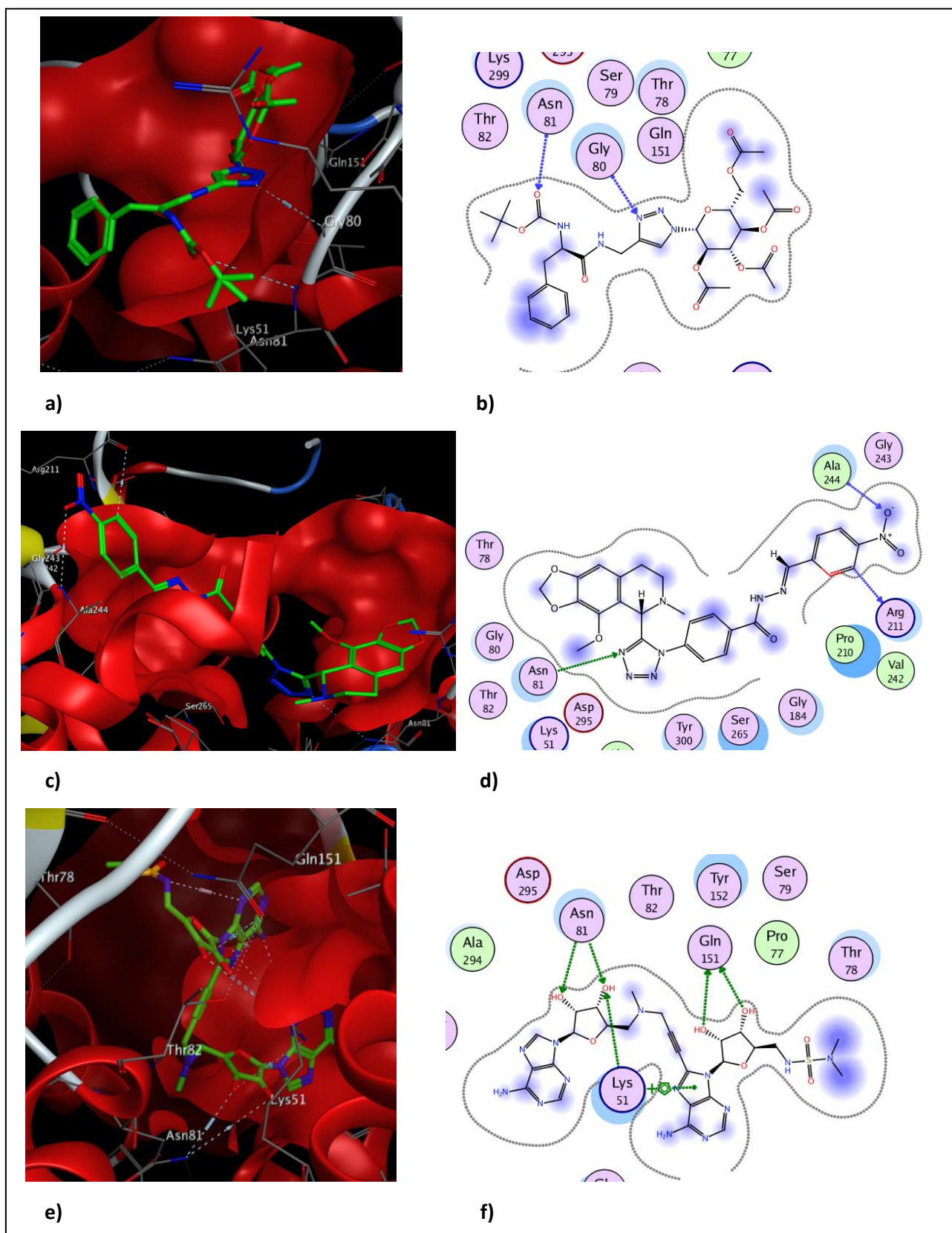


Figura A3. Conformación espacial de la molécula **AB-0002928** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **AB-0002928** con los residuos de la diana **5IWC** (b). Conformación espacial de la molécula **ZINC70670122** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (c); Interacciones de la molécula **ZINC70670122** con los residuos de la diana **5IWC** (d). Conformación espacial de la molécula **AB-00061619** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (e); Interacciones de la molécula **AB-00061619** con los residuos de la diana **5IWC** (f).

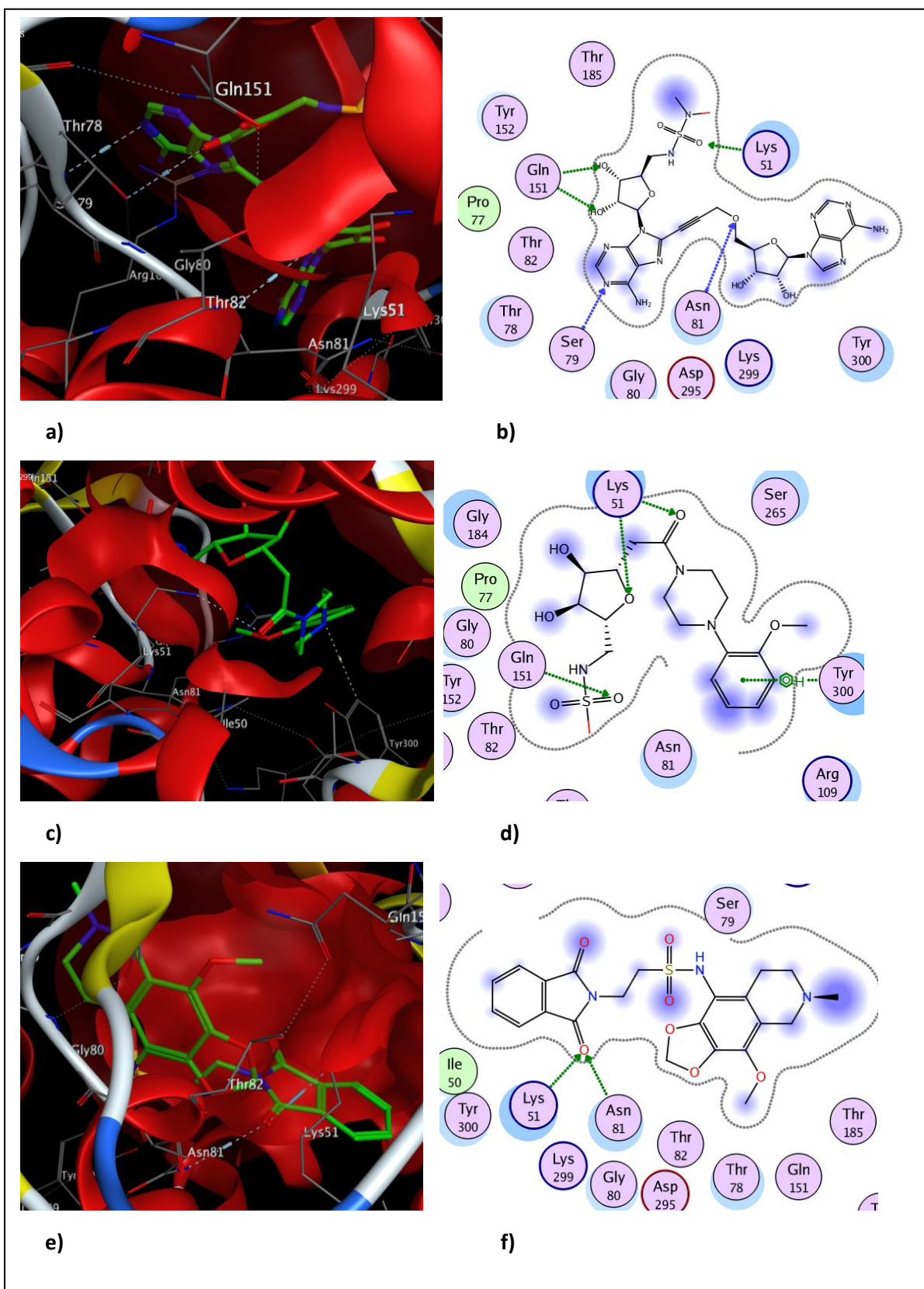


Figura A4. Conformación espacial de la molécula **AB-00061618** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **AB-00061618** con los residuos de la diana **5IWC** (b). Conformación espacial de la molécula **ZINC08636299** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (c); Interacciones de la molécula **ZINC08636299** con los residuos de la diana **5IWC** (d). Conformación espacial de la molécula **ZINC08627155** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (e); Interacciones de la molécula **ZINC08627155** con los residuos de la diana **5IWC** (f).

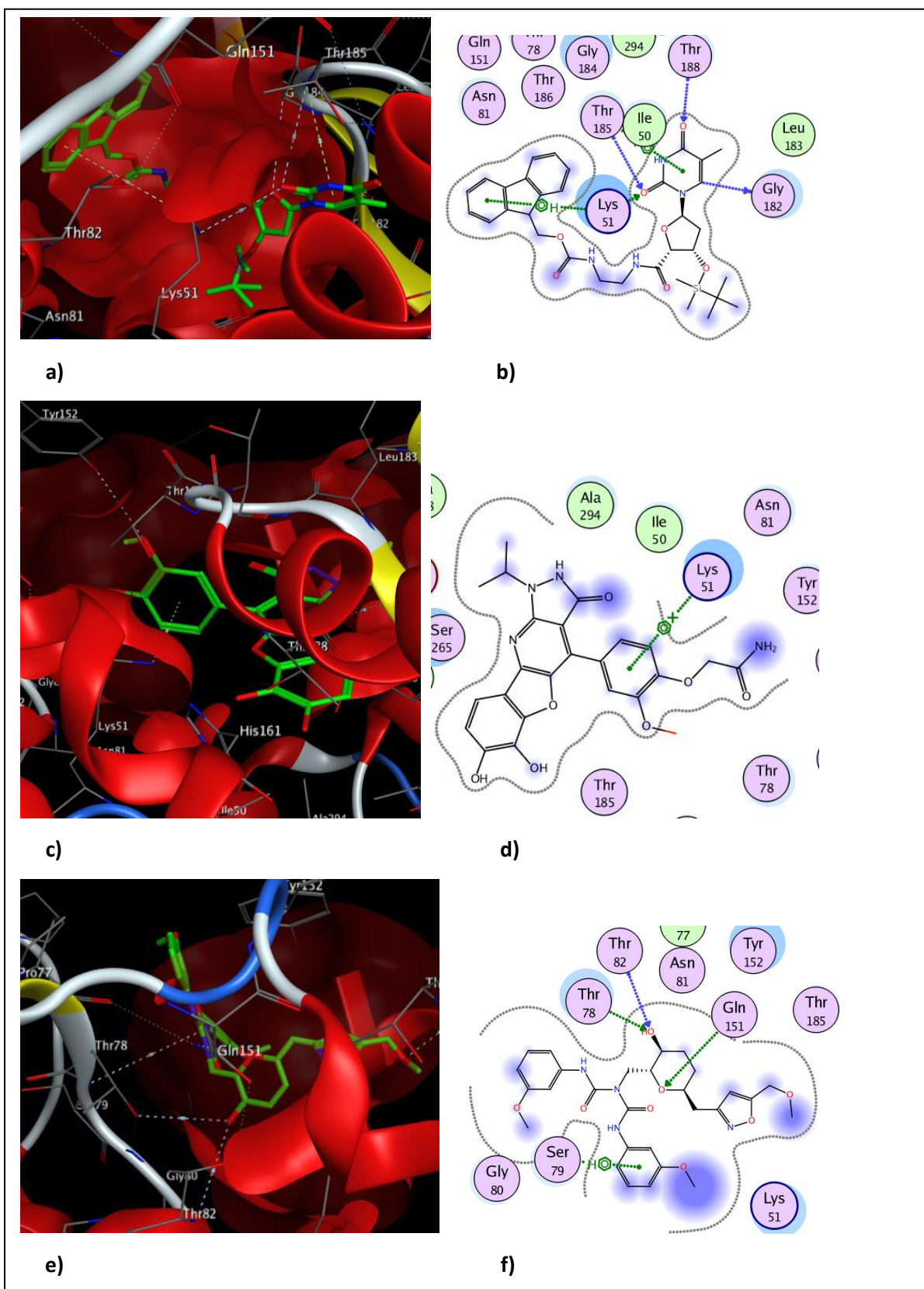


Figura A5. Conformación espacial de la molécula **AB-00060631** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **AB-00060631** con los residuos de la diana **5IWC** (b). Conformación espacial de la molécula **ZINC85876851** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (c); Interacciones de la molécula **ZINC85876851** con los residuos de la diana **5IWC** (d). Conformación espacial de la molécula **TCM540438** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (e); Interacciones de la molécula **TCM540438** con los residuos de la diana **5IWC** (f).

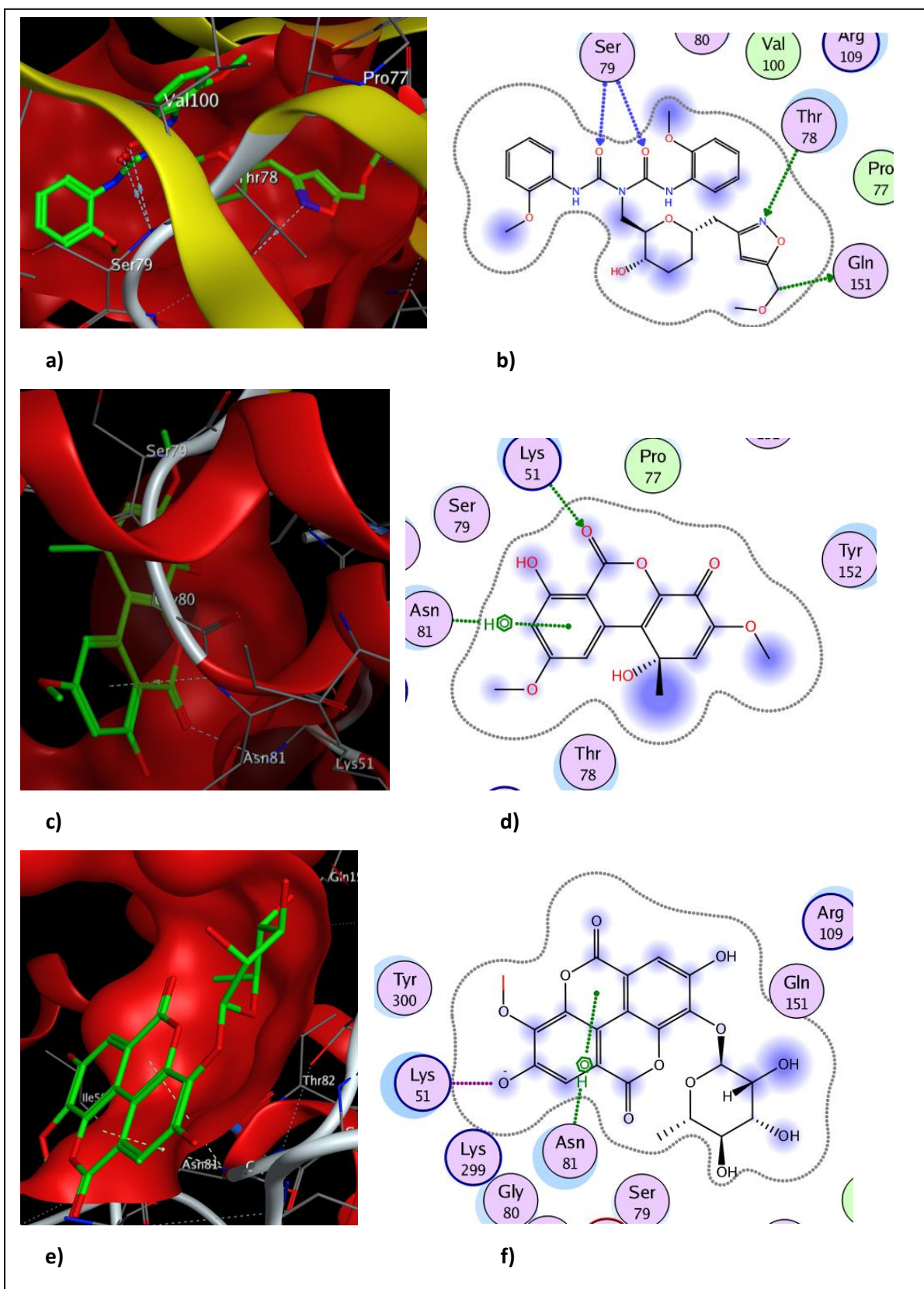


Figura A6. Conformación espacial de la molécula **TCM540442** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **TCM540442** con los residuos de la diana **5IWC** (b). Conformación espacial de la molécula **FPEC6_1** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (c); Interacciones de la molécula **FPEC6_1** con los residuos de la diana **5IWC** (d). Conformación espacial de la molécula **ZINC33832610** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (e); Interacciones de la molécula **ZINC33832610** con los residuos de la diana **5IWC** (f).

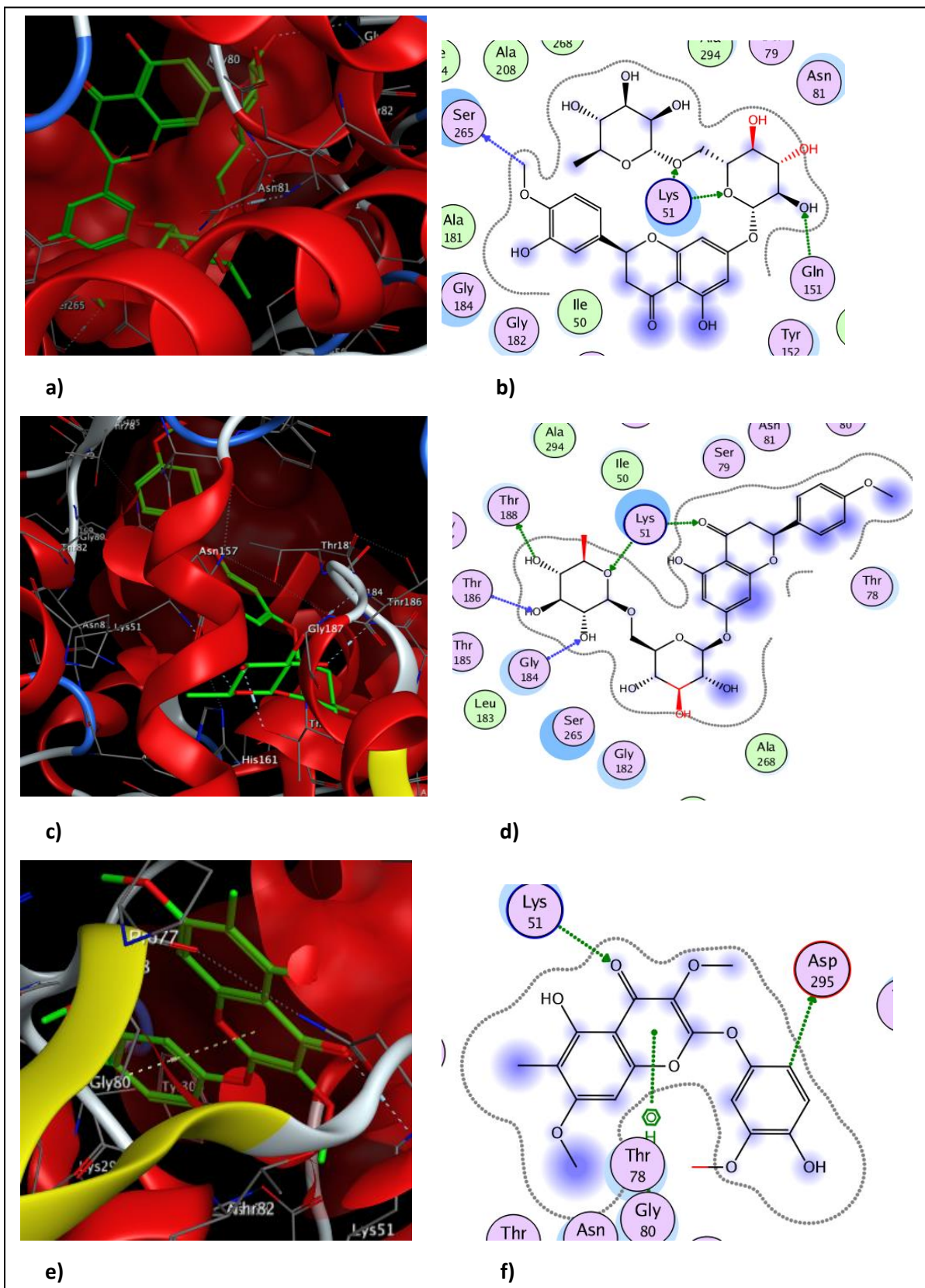


Figura A7. Conformación espacial de la molécula **ZINC08143568** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **ZINC08143568** con los residuos de la diana **5IWC** (b). Conformación espacial de la molécula **ZINC095099219** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (c); Interacciones de la molécula **ZINC095099219** con los residuos de la diana **5IWC** (d). Conformación espacial de la molécula **ZINC95486287** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (e); Interacciones de la molécula **ZINC95486287** con los residuos de la diana **5IWC** (f).

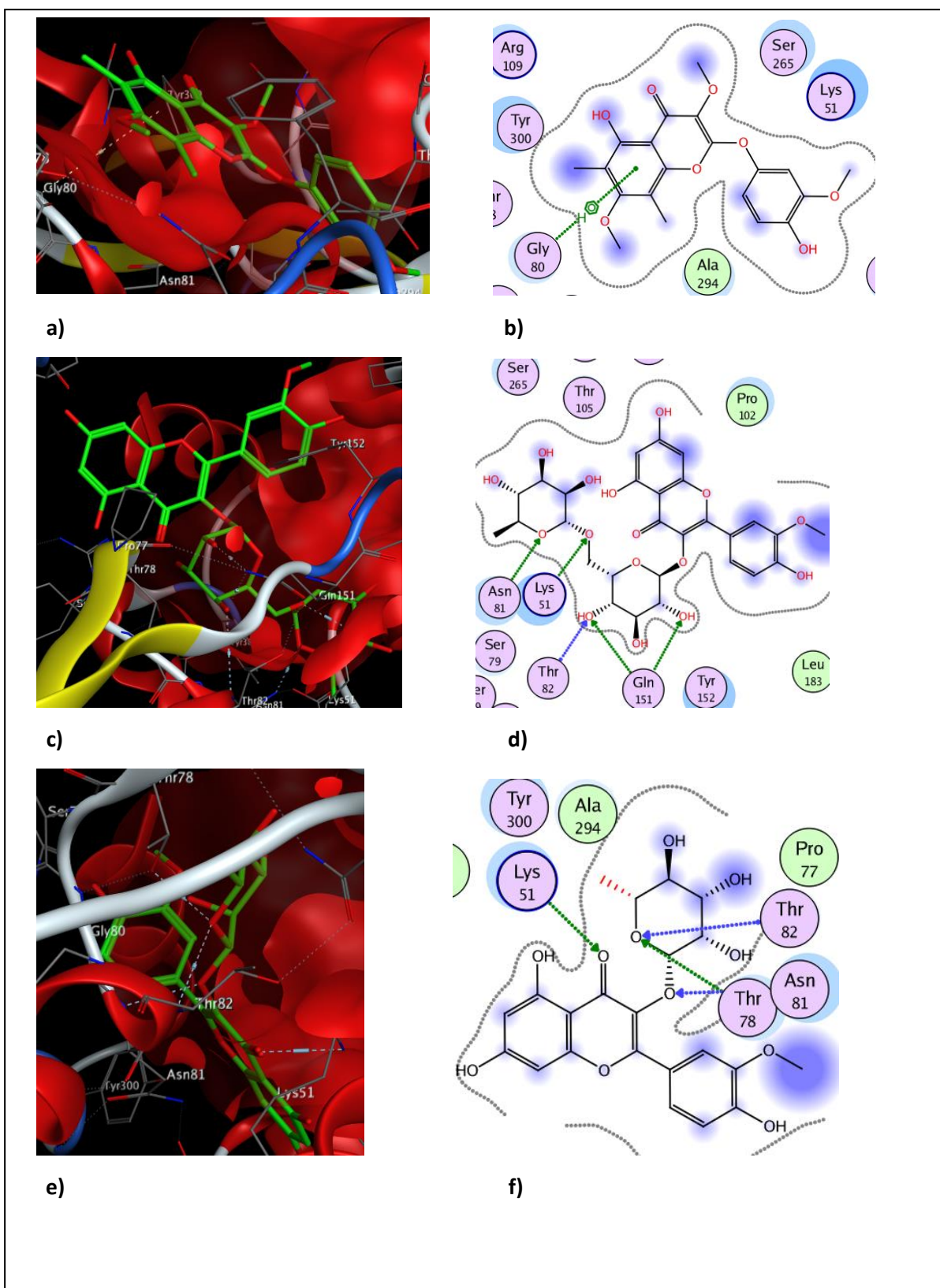


Figura A8. Conformación espacial de la molécula **ZINC95486282** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **ZINC95486282** con los residuos de la diana **5IWC** (b). Conformación espacial de la molécula **ZINC96316280** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (c); Interacciones de la molécula **ZINC96316280** con los residuos de la diana **5IWC** (d). Conformación espacial de la molécula **ZINC85948413** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (e); Interacciones de la molécula **ZINC85948413** con los residuos de la diana **5IWC** (f).

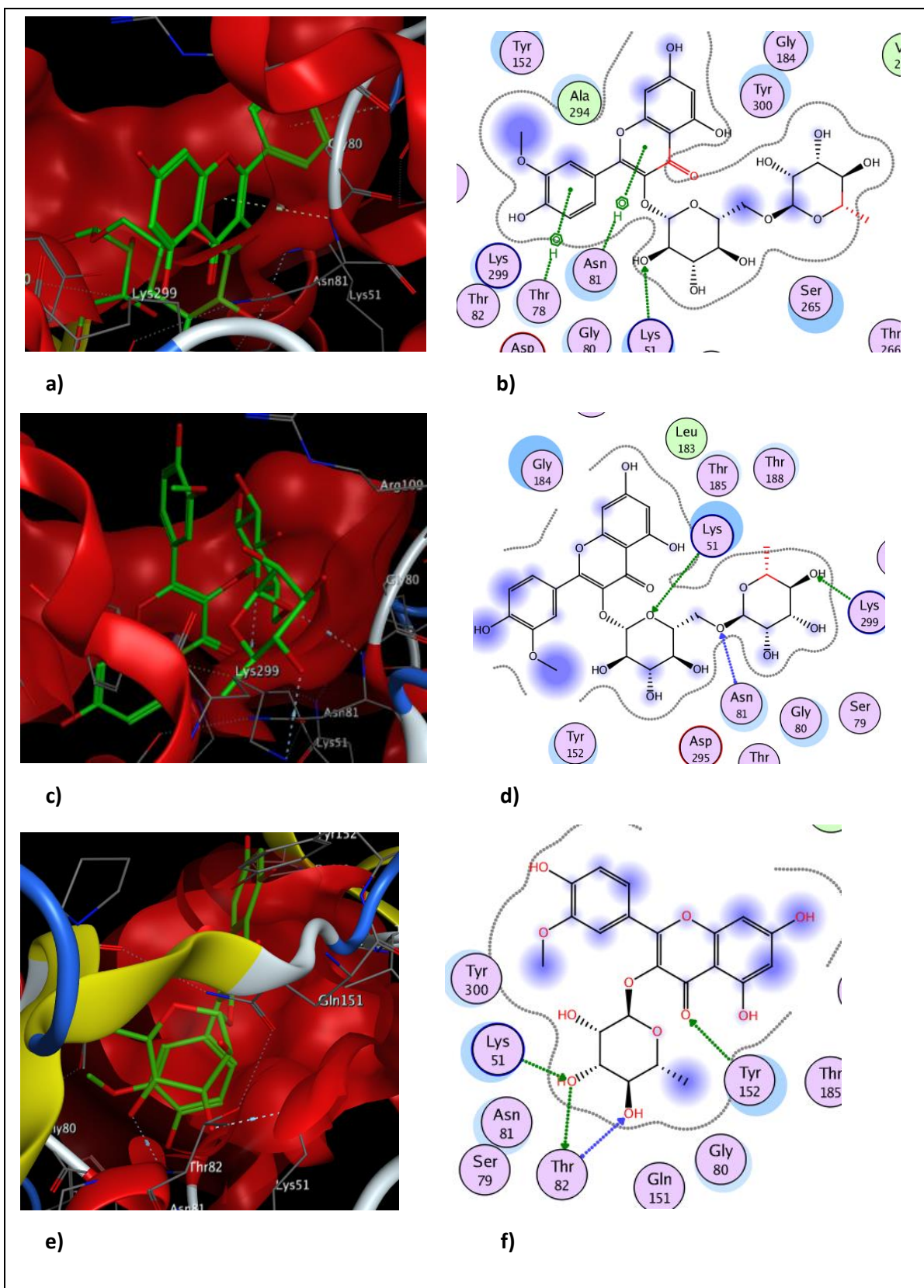


Figura A9. Conformación espacial de la molécula **ZINC04349406** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **ZINC04349406** con los residuos de la diana **5IWC** (b). Conformación espacial de la molécula **ZINC28816556** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (c); Interacciones de la molécula **ZINC28816556** con los residuos de la diana **5IWC** (d). Conformación espacial de la molécula **ZINC84154202** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (e); Interacciones de la molécula **ZINC84154202** con los residuos de la diana **5IWC** (f).

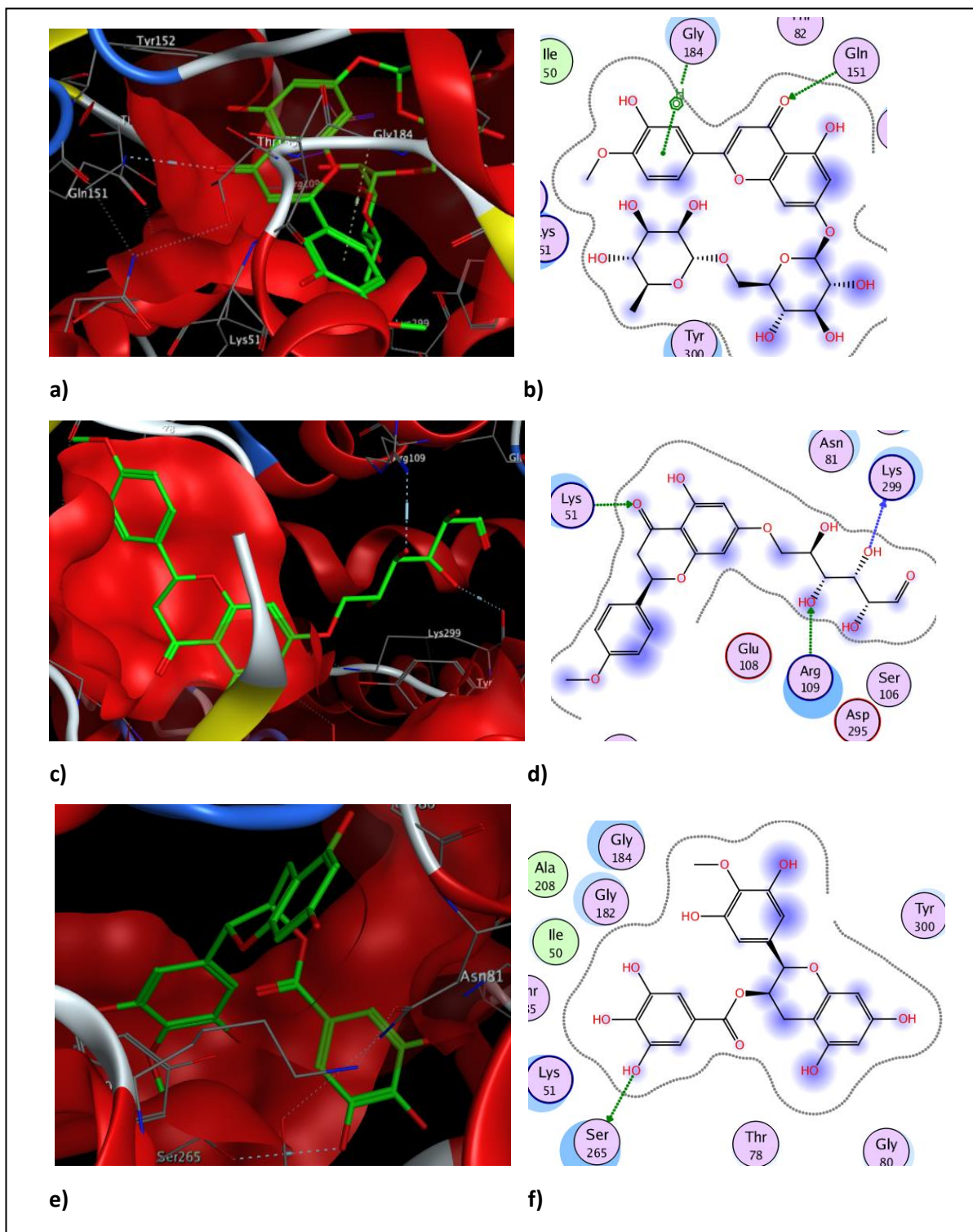


Figura A10. Conformación espacial de la molécula **ZINC04098512** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **ZINC04098512** con los residuos de la diana **5IWC** (b). Conformación espacial de la molécula **ZINC95486127** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (c); Interacciones de la molécula **ZINC95486127** con los residuos de la diana **5IWC** (d). Conformación espacial de la molécula **ZINC49115270** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (e); Interacciones de la molécula **ZINC49115270** con los residuos de la diana **5IWC** (f).

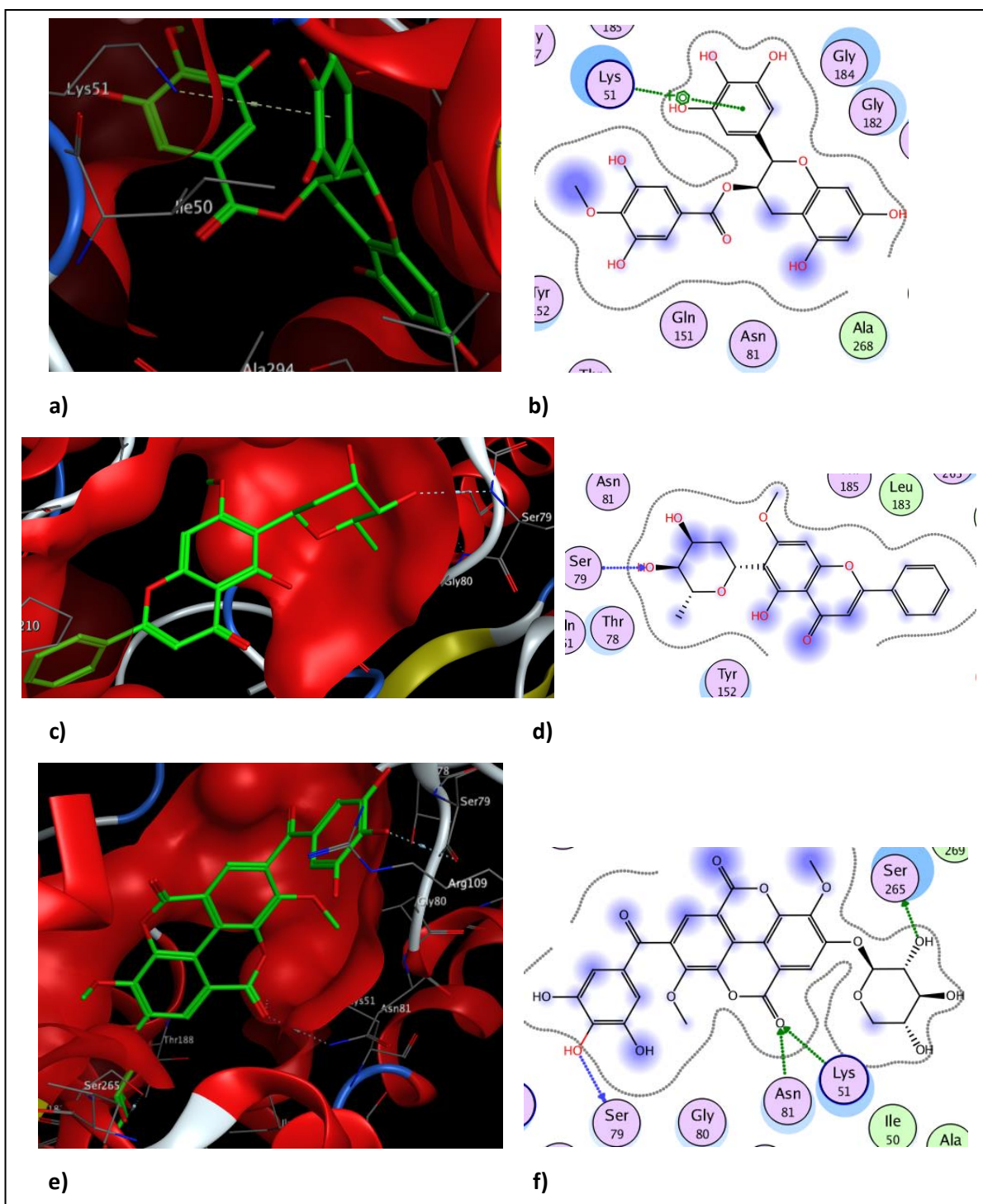


Figura A11. Conformación espacial de la molécula **ZINC06040160** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **ZINC06040160** con los residuos de la diana **5IWC** (b). Conformación espacial de la molécula **ZINC34729381** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (c); Interacciones de la molécula **ZINC34729381** con los residuos de la diana **5IWC** (d). Conformación espacial de la molécula **ZINC95485930** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (e); Interacciones de la molécula **ZINC95485930** con los residuos de la diana **5IWC** (f).

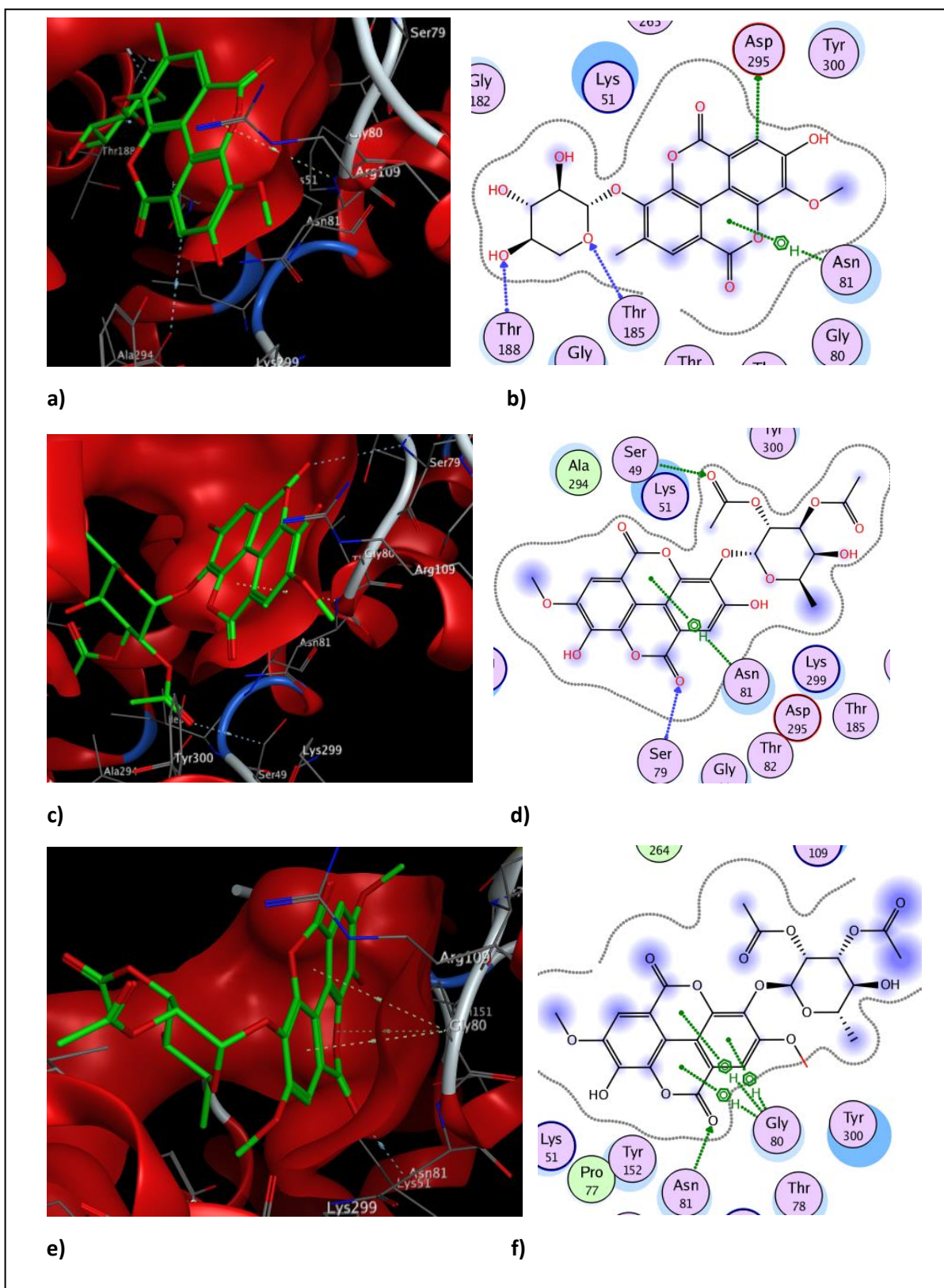


Figura A12. Conformación espacial de la molécula **ZINC95485958** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **ZINC95485958** con los residuos de la diana **5IWC** (b). Conformación espacial de la molécula **ZINC95098970** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (c); Interacciones de la molécula **ZINC95098970** con los residuos de la diana **5IWC** (d). Conformación espacial de la molécula **ZINC95098967** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (e); Interacciones de la molécula **ZINC95098967** con los residuos de la diana **5IWC** (f).

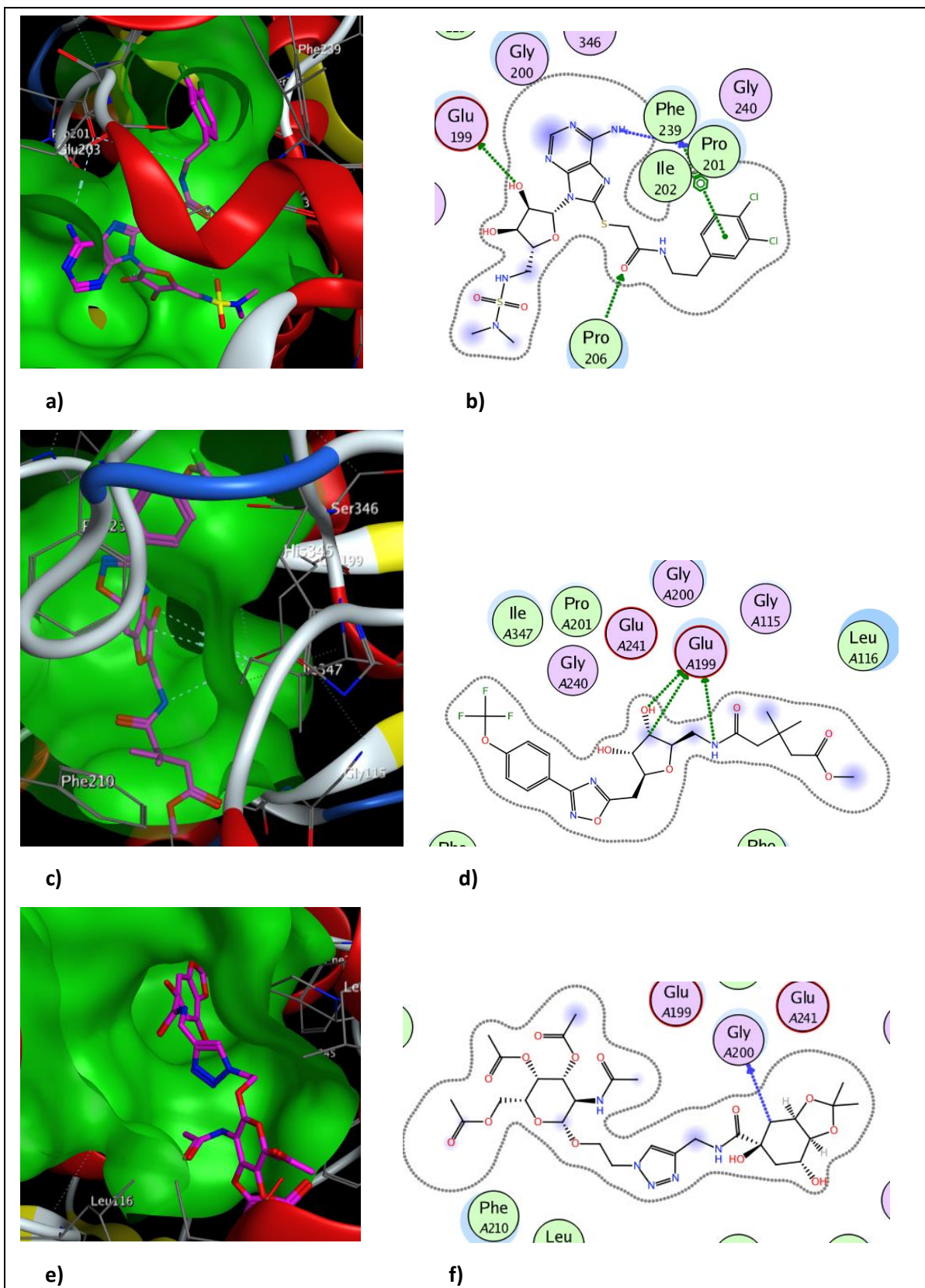


Figura A13. Conformación espacial de la molécula **AB-00061610** en el sitio de unión de la diana **5LD8** (a); Interacciones de la molécula **AB-00061610** con los residuos de la diana **5LD8** (b). Conformación espacial de la molécula **FPMACCS_1** en el sitio de unión de la diana **5LD8** (c); Interacciones de la molécula **FPMACCS_1** con los residuos de la diana **5LD8** (d). Conformación espacial de la molécula **AB-00054348** en el sitio de unión de la diana **5LD8** (e); Interacciones de la molécula **AB-00054348** con los residuos de la diana **5LD8** (f).

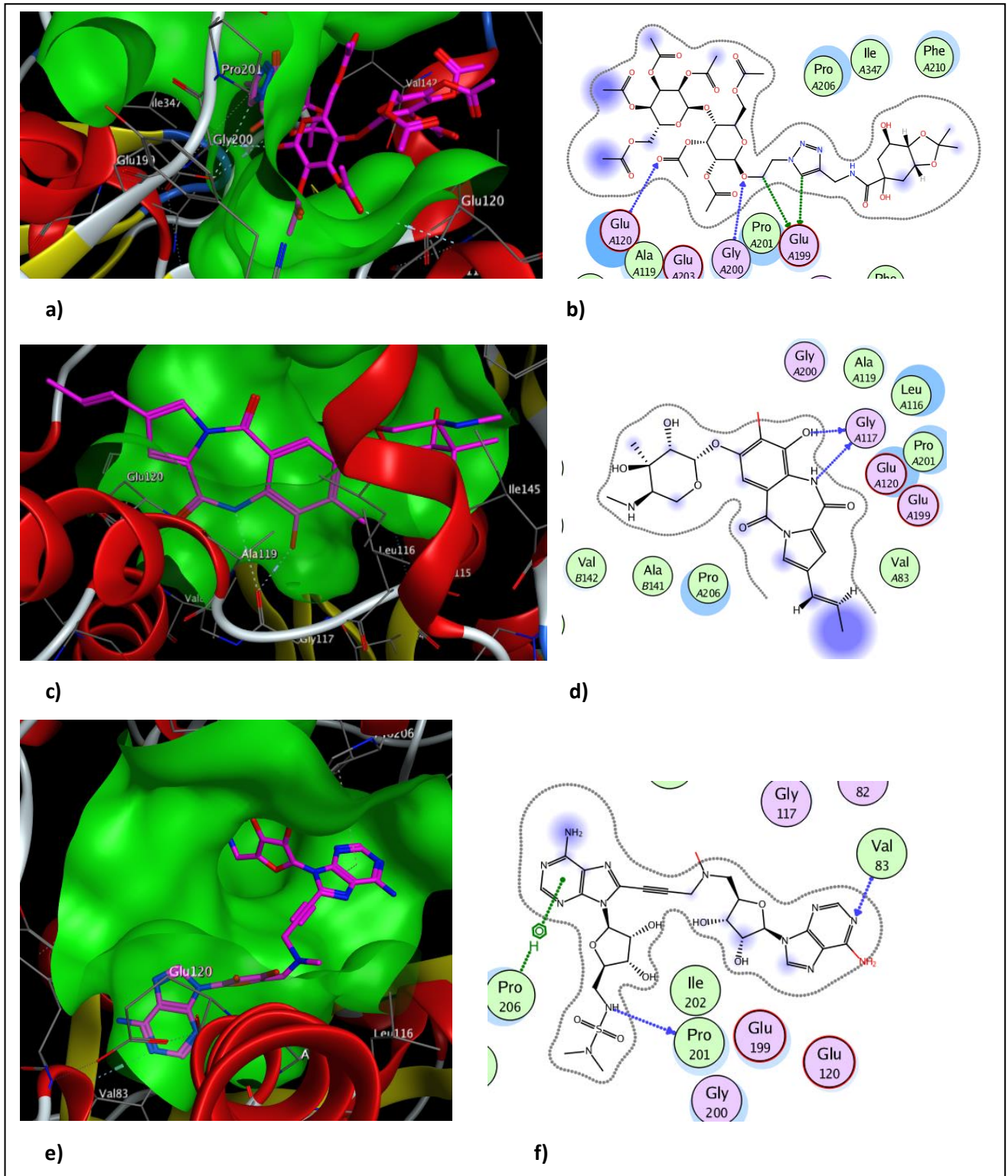


Figura A14. Conformación espacial de la molécula **AB-00054349** en el sitio de unión de la diana **5LD8** (a); Interacciones de la molécula **AB-00054349** con los residuos de la diana **5LD8** (b). Conformación espacial de la molécula **ZINC71404411** en el sitio de unión de la diana **5LD8** (c); Interacciones de la molécula **ZINC71404411** con los residuos de la diana **5LD8** (d). Conformación espacial de la molécula **AB-00061619** en el sitio de unión de la diana **5LD8** (e); Interacciones de la molécula **AB-00061619** con los residuos de la diana **5LD8** (f).

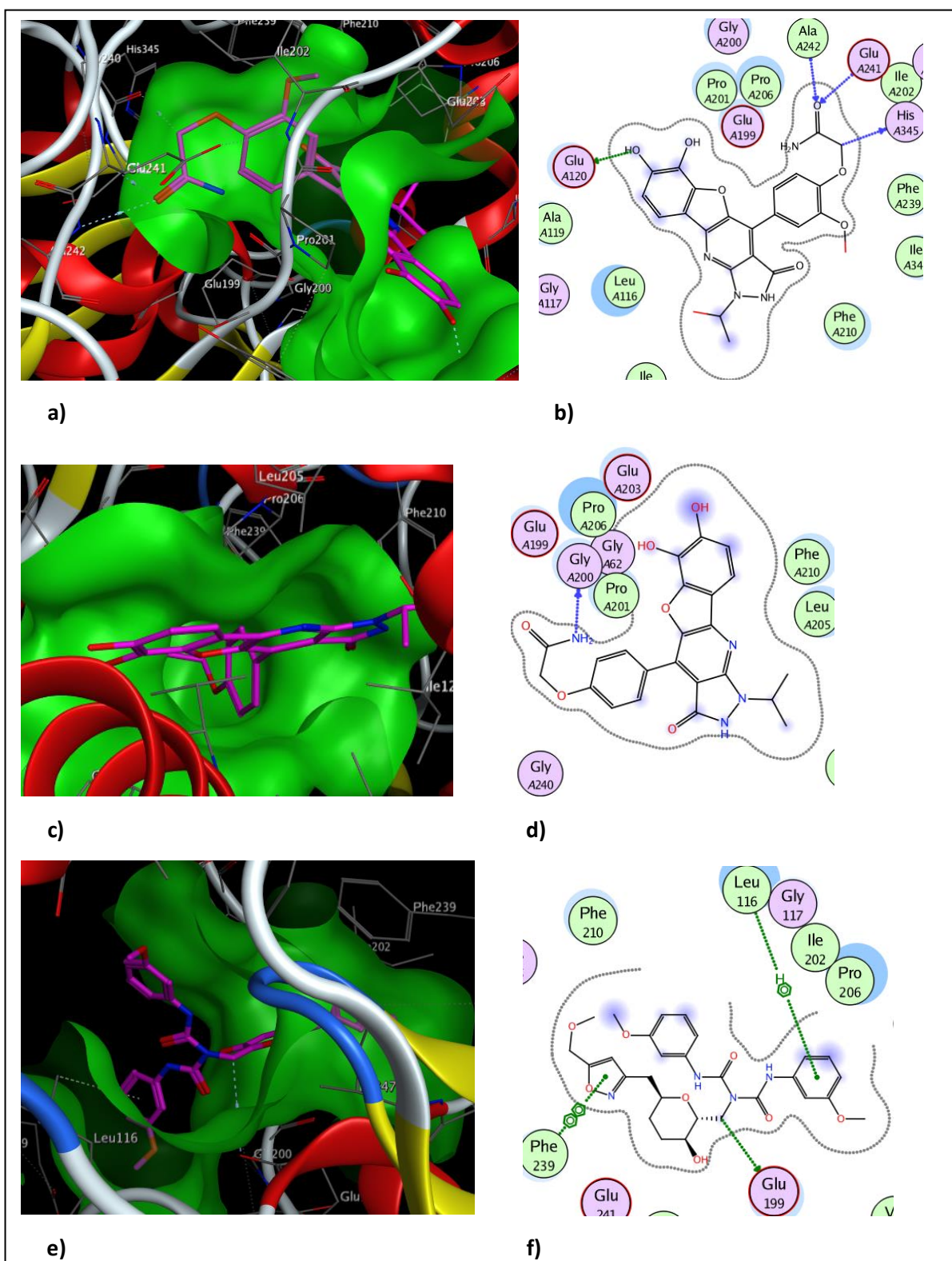


Figura A15. Conformación espacial de la molécula **ZINC85876851** en el sitio de unión de la diana **5LD8** (a); Interacciones de la molécula **ZINC85876851** con los residuos de la diana **5LD8** (b). Conformación espacial de la molécula **ZINC85875659** en el sitio de unión de la diana **5LD8** (c); Interacciones de la molécula **ZINC85875659** con los residuos de la diana **5LD8** (d). Conformación espacial de la molécula **TCM540438** en el sitio de unión de la diana **5LD8** (e); Interacciones de la molécula **TCM540438** con los residuos de la diana **5LD8** (f).

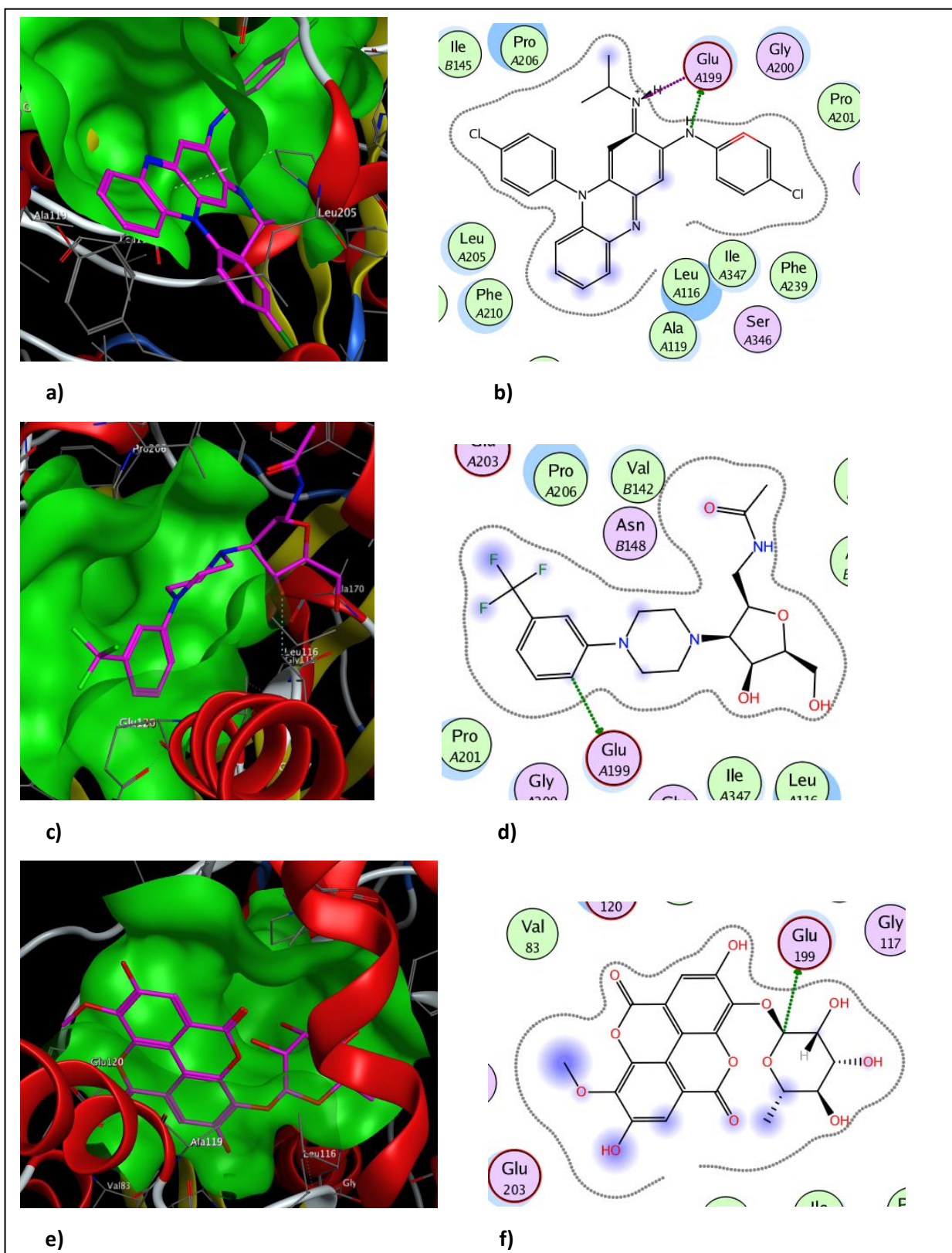


Figura A16. Conformación espacial de la molécula **ZINC17953024** en el sitio de unión de la diana **5LD8** (a); Interacciones de la molécula **ZINC17953024** con los residuos de la diana **5LD8** (b). Conformación espacial de la molécula **ZINC20465426** en el sitio de unión de la diana **5LD8** (c); Interacciones de la molécula **ZINC20465426** con los residuos de la diana **5LD8** (d). Conformación espacial de la molécula **ZINC28816556** en el sitio de unión de la diana **5LD8** (e); Interacciones de la molécula **ZINC28816556** con los residuos de la diana **5LD8** (f).

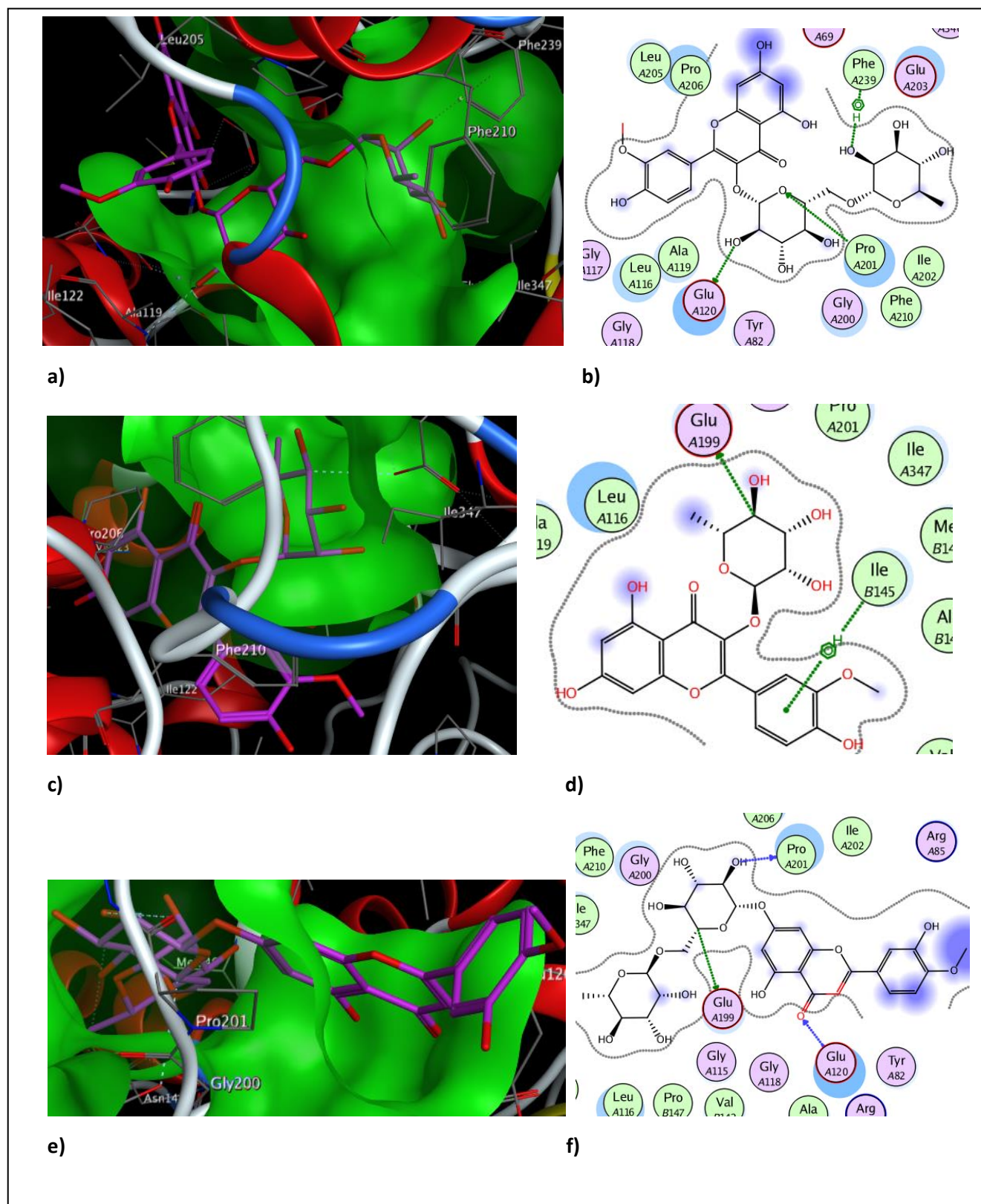
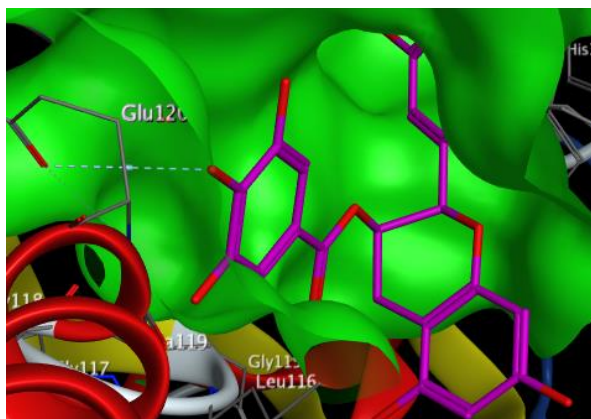
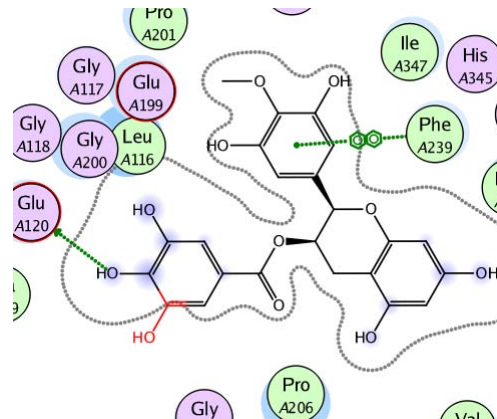


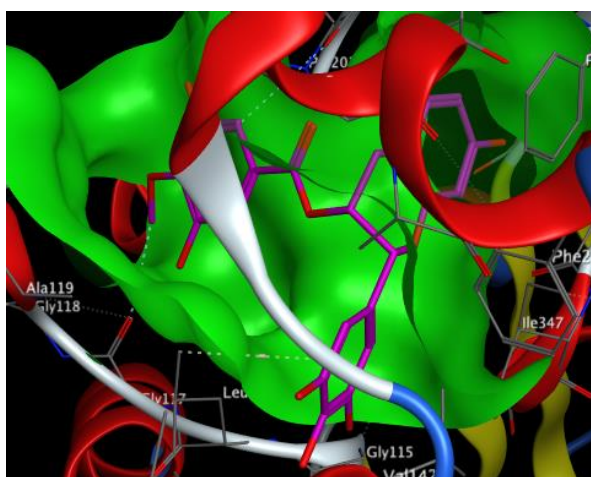
Figura A18. Conformación espacial de la molécula **ZINC28816556** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **ZINC28816556** con los residuos de la diana **5IWC** (b). Conformación espacial de la molécula **ZINC84154202** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (c); Interacciones de la molécula **ZINC84154202** con los residuos de la diana **5IWC** (d). Conformación espacial de la molécula **ZINC04098512** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (e); Interacciones de la molécula **ZINC04098512** con los residuos de la diana **5IWC** (f).



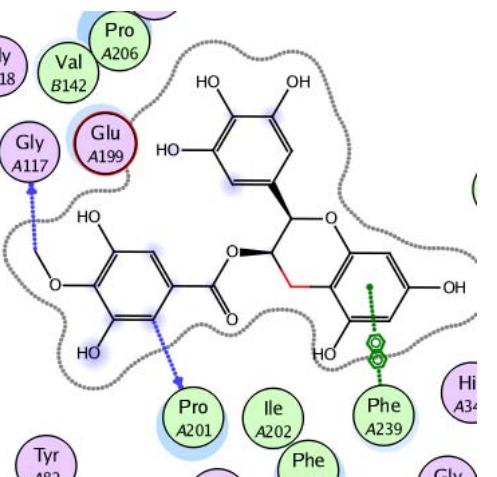
a)



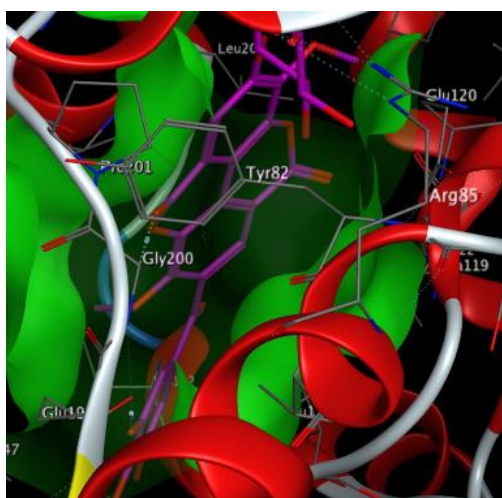
b)



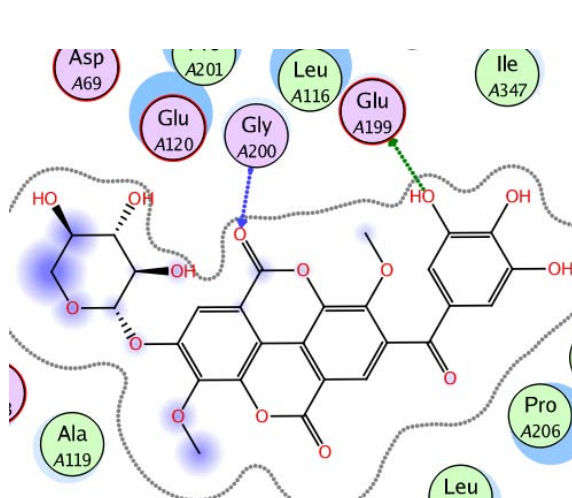
c)



d)



e)



f)

Figura A19. Conformación espacial de la molécula **ZINC49115270** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **ZINC49115270** con los residuos de la diana **5IWC** (b). Conformación espacial de la molécula **ZINC06040160** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (c); Interacciones de la molécula **ZINC06040160** con los residuos de la diana **5IWC** (d). Conformación espacial de la molécula **ZINC95485930** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (e); Interacciones de la molécula **ZINC95485930** con los residuos de la diana **5IWC** (f).

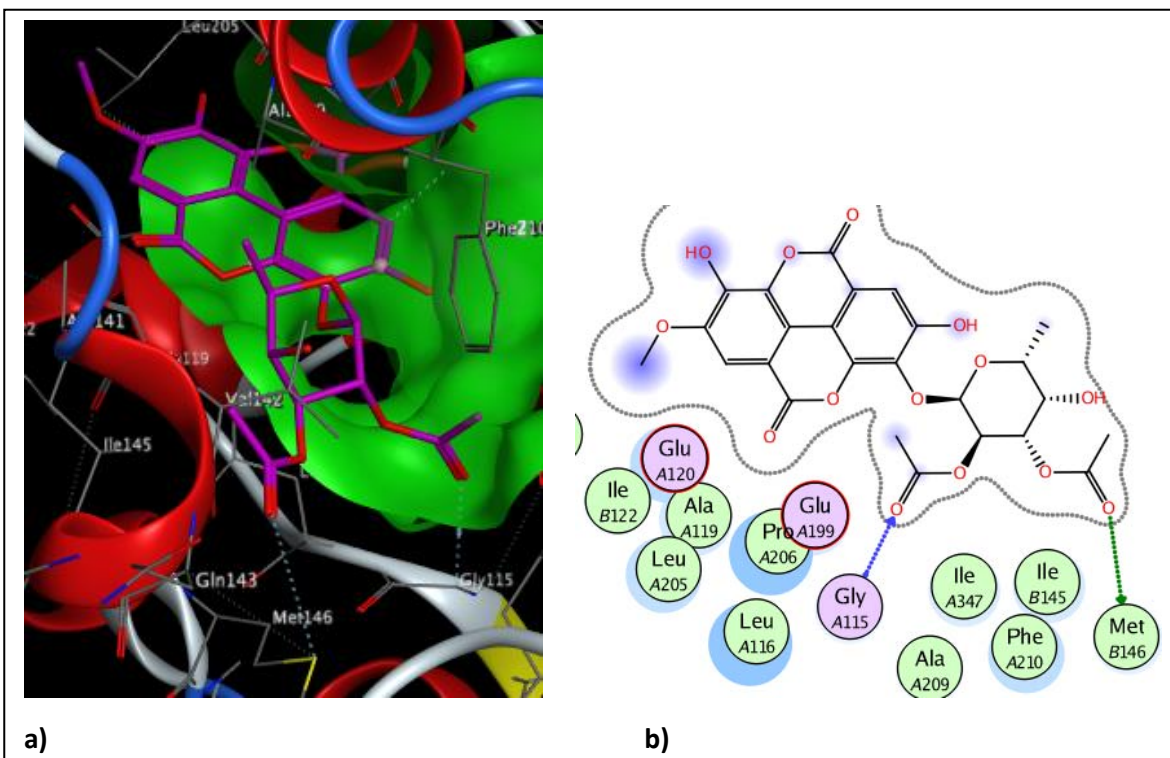



Figura A20. Conformación espacial de la molécula **ZINC95098970** en el sitio de unión de la diana **5IWC** (a); Interacciones de la molécula **ZINC95098970** con los residuos de la diana **5IWC** (b).


ANEXO II

Simposio

3er Simposio de Tendencias Actuales en la Búsqueda y Desarrollo de Fármacos (Cartel y constancia).



Hacia la Identificación de Compuestos Bioactivos contra *Mycobacterium tuberculosis* por Cribado Virtual



José J. Chew Morales, José L. Medina Franco
 DIFACQUIM, Cubículos 305 y 108, Edificio F, Facultad de Química (UNAM)
 Teléfono: 56223899, ext. 44458
josechew8@gmail.com, medinajl@unam.mx

Introducción

El diseño de fármacos asistido por computadora (DIFAC) es una integración de métodos de diferentes áreas de investigación como la quimioinformática, bioinformática, modelado molecular, entre otras que pretende entender las relaciones estructura-actividad biológica o farmacológica de compuestos.[1]

El cribado virtual filtra una serie de compuestos obtenidos de bases de datos, mediante similitud molecular con una molécula de referencia obteniendo *hits* computacionales. Posteriormente se lleva a cabo un acoplamiento molecular con los compuestos presuntamente activos y la diana terapéutica, y así obtener las cabezas líderes (*leads*).[2]

Mycobacterium tuberculosis es la principal bacteria responsable de provocar tuberculosis, la cual es una de las 10 principales causas de muerte en el mundo.[3]

Recientemente se han validado dos nuevas dianas terapéuticas contra *M. tuberculosis*. Una de ellas es una cisteína-sintasa encargada de transformar la O-fostocisteína en L-cisteína (PDB ID: 5IWC), aminoácido esencial para la síntesis de micotiol. [4] La otra enzima es la β-cetoacil sintasa (PDB ID: 5LD8), encargada de sintetizar ácidos grasos a partir acetil-CoA. De hecho, esta podría ser una de las dianas sobre las que ejerce su efecto terapéutico la isoniazida.[5]

Estefimicina b ha demostrado tener actividad contra tuberculosis. Actualmente se utilizan fármacos orales de primera línea como isoniazida y rifampicina para el tratamiento de tuberculosis. Y D-cicloserina y proteanamida como fármacos orales de segunda línea.

Propiedades fisicoquímicas y toxicológicas

- Con el programa DataWarrior se estimaron las propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de los *leads* para cada diana.
- Se clasificaron a todos los *leads* que no presentaran posibles efectos adversos como *safe leads*.

Acoplamiento molecular (*docking*) con dianas metabolizadoras y tóxicas

- Se llevó a cabo el acoplamiento molecular de los *safe leads* con las dianas PDB ID: 1SKX (Receptor X de pregnano), 5A5I (Citocromo P450 2C9) y 4HLW (Receptor de andrógenos)

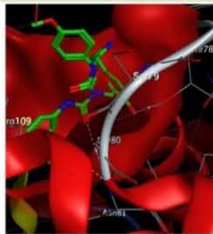


Figura 1. Modo de unión del *safe lead* TCM540439 con la diana 5IWC.

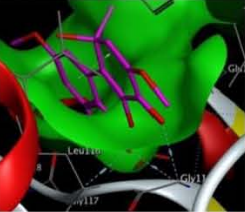


Figura 2. Modo de unión del *safe lead* ECFP6_1 con la diana 5LD8.




Figura 3. Única molécula con afinidad al receptor de andrógenos.

Resultados y Dsicusión

Similitud molecular

MACCS keys

Tabla 1. *Hits* computacionales con alta similitud a Estefimicina y D-cicloserina.

Compuesto(s) activo(s)	<i>Hits</i> computacionales con coeficiente de Tanimoto ss >0.85	<i>Hits</i> computacionales con coeficiente de Tanimoto >0.85
Estefimicina B	30631	152
Estefimicina B y D- Cicloserina	56	0

Extended Connectivity

Tabla 2. *Hits* computacionales con similitud mayor al promedio y 5 (a 3 átomos de radio) y 6 (a 2 átomos de radio) desviaciones estándar para Estefimicina B.

Referencia	<i>Hits</i> computacionales con similitud mayor a 0.2821 por ECFP4	<i>Hits</i> computacionales con similitud mayor a 0.1602 por ECFP6
Estefimicina B	36	18

Tabla 3. *Hits* computacionales con similitud mayor a 0.90 con DBFP.

Referencia	<i>Hits</i> computacionales con similitud mayor a 0.9
Estefimicina B + 189 compuestos similares	34

Acoplamiento molecular con dianas terapéuticas.

Tabla 4. *Leads* obtenidos con las dianas 5IWC y 5LD8 por acoplamiento molecular.

Método	<i>Leads</i> 5IWC	<i>Leads</i> 5LD8
MACCS keys	20	14
ECFP4	8	7
ECFP6	18	18
DBFP	27	16

Tabla 5. *Safe leads* obtenidos con las dianas 5IWC y 5LD8 por propiedades toxicológicas.

Método	<i>Safe Leads</i> 5IWC	<i>Safe Leads</i> 5LD8
MACCS keys	17	11
ECFP4	1	2
ECFP6	3	3
DBFP	18	9
Total	39	25

Metodología

Similitud Molecular

Obtención de las bases de datos

- Se descargaron 10 diferentes bases de datos de la página de ZINC <http://zinc.docking.org/> y una más desde <http://chimiotheque-nationale.cn.cnr.fr/>.
- Se lavaron las bases de datos y se agruparon en un solo archivo "Masterfile.mdb" y en total se obtuvieron **264438** moléculas.
- Con MOE se obtuvieron los descriptores de las huellas digitales moleculares (*fingerprints*) de cada molécula por *MACCS Keys*, y por *Extended Connectivity* a 2 y 3 átomos de radio en el archivo Masterfile.mdb
- Se seleccionaron aquellas moléculas del Masterfile.mdb con similitud mayor a 0.8 y 0.85 para estefimicina B y D-cicloserina por *MACCS Keys*.
- Y a aquellas moléculas del Masterfile con un valor de similitud por *Extended Connectivity Fingerprint* (ECFP) con 2 átomos de radio (ECFP4), mayor a la media + 6 desviaciones estándar y con 3 átomos de radio (ECFP6), aquellos con valores mayores a la media + 5 desviaciones estándar usando como referencia la estefimicina B.
- Se ejecutó con el programa Python el método de *Database Fingerprint*[6] con estefimicina B y 189 moléculas similares a esta.

Acoplamiento molecular (*docking*) con dianas terapéuticas

- Se llevó a cabo el acoplamiento molecular con los *hits* computacionales obtenidos por *MACCS Keys*, ECFP y DBFP, y las dianas con PDB ID: 5IWC y 5LD8.

Conclusiones

Se clasificaron 42 moléculas como 'compuestos líderes seguros' (*safe leads*) que potencialmente serán activos contra *M. tuberculosis*. Por *MACCS keys* y DBFP se identificaron más *safe leads* que usando *Extended Connectivity fingerprints*. Las interacciones más frecuentes entre los *safe leads* y las dianas son los puentes de hidrogeno e interacciones pi-puente de hidrogeno. El compuesto que presenta una posible afinidad al receptor de andrógenos puede optimizarse antes de evaluarlo biológicamente. La complejidad estructural de los *safe leads* obtenidos converge con la de los fármacos aprobados por la FDA contra tuberculosis.

Referencias

- Saldívar-González, Fernanda; Prieto-Martínez Fernando D.; Medina-Franco, J.L. *Educ Química* 2017, 28, 51-58
- Medina-Franco. *Evidence-Based Validation of Herbal Medicine: Discovery and development of lead compounds from natural sources using computational approaches*; Elsevier, Boston, 2015, p. 456
- World Health Organization. *Global Tuberculosis Report (WHO, 2016)*.
- Brunner, K; et al. *J. Med. Chem.* 2016, 59, 6848-6859
- Abrahams, K.A.; et al. *Nat. Com* 2016, 7, 12581
- Fernández-de Gortari, E; et al. *J. Cheminf.* 2017, 9, 9.

Agradecimientos

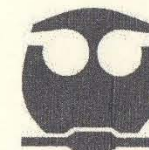
Al Colegio de Profesores de la Facultad de Química y la Sección 024 de AAPAUNAM. Por el apoyo a través de la cátedra Dr. Carlos Antonio Rius Alonso.

Página web: www.difacquim.com

Facebook: Difacquim, UNAM



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Química



Otorga el presente

RECONOCIMIENTO

A:
José de Jesús Chew Morales

Por su participación en la exposición de carteles del Tercer Simposio de Tendencias Actuales en la Búsqueda y Desarrollo de Fármacos, con el tema titulado:

Hacia la identificación de compuestos bioactivos contra Mycobacterium tuberculosis por cribado virtual

Realizado el día 15 de junio de 2017 en la Facultad de Química

"Por mi raza hablará el espíritu"

Ciudad Universitaria, D.F. a 15 de junio de 2017.

Dr. Alfonso Sebastián Lira Rocha
Comité Organizador

Dr. Andrés Navarrete Castro
Jefe del Departamento de Farmacia