



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**AVANCES EN LA APLICACIÓN DE ESTRATEGIAS DE
REPOSICIONAMIENTO DE FÁRMACOS, EN LA
BÚSQUEDA DE TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS PARA
LA ENFERMEDAD DE CHAGAS**

TESINA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

SHARON DAYAN ROJAS ALCANTAR

DIRECTOR DE TESIS

Dr. José Luis Medina Franco



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2018



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: GUTIÉRREZ RAMOS ABEL**

VOCAL: **Profesor: MEDINA FRANCO JOSÉ LUIS**

SECRETARIO: **Profesor: MENDOZA JASSO MARÍA EUGENIA**

1er. SUPLENTE: **Profesor: RAMOS PÉREZ DANIEL**

2° SUPLENTE: **Profesor: MATU MEZA AUDIFÁS SALVADOR**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Facultad de Química, Departamento de Farmacia, Grupo de investigación DIFACQUIM, Edificio F, cubículo 108.

ASESOR DEL TEMA:

DR. JOSÉ LUIS MEDINA FRANCO

SUSTENTANTE:

SHARON DAYAN ROJAS ALCANTAR

Contenido

Introducción	4
Marco teórico	5
Generalidades sobre reposicionamiento de fármacos	5
Generalidades sobre la enfermedad de Chagas.....	7
Importancia.....	7
Características	7
Transmisión.....	8
Incubación	9
Tratamiento	11
Posibles dianas biológicas.....	13
Objetivos	15
Reposicionamiento de fármacos para el tratamiento de enfermedad de Chagas	16
Propuestas.....	29
1. Nuevas dianas biológicas.....	29
2. Optimización de fármacos aprobados o de <i>hits</i>	30
3. Propuesta de nuevos métodos computacionales o la combinación de estrategias	34
Conclusiones	37
Perspectivas	37
Bibliografía	38
Recursos en línea	45

Introducción

La enfermedad de Chagas (EC), también conocida como *trypanosomiasis americana*, es una enfermedad endémica del continente americano, principalmente de Latinoamérica. Debido a la zona en la que se encuentra también es clasificada como una enfermedad tropical. La EC actualmente no tiene una cura o una vacuna que la prevenga.

Debido a la movilidad poblacional, la EC ha llegado a otros países (por ejemplo, EE.UU. y Canadá) y continentes (Europa) por lo que ya afecta a ocho millones de personas a nivel mundial. Ésta es una de las razones por las que se ha potencializado la búsqueda de nuevos tratamientos. Otro motivo por el cual es necesario encontrar tratamientos alternativos se debe a los efectos adversos generados por el tratamiento estándar, nifurtimox y benznidazol. Estos fármacos se administran a largo plazo, además, *Trypanosoma cruzi* empieza a generar resistencia a los tratamientos.

En la búsqueda de nuevos tratamientos, el reposicionamiento de fármacos es, en general, una alternativa relativamente rápida y de menor costo y riesgo en comparación con los métodos convencionales de desarrollo e investigación de fármacos.

El objetivo de este trabajo es recopilar y hacer un análisis crítico de información reciente relacionada con la aplicación de métodos de reposicionamiento de fármacos en la investigación de tratamientos diferentes a los convencionales (benznidazol y nifurtimox) para la EC.

La significancia de esta investigación es formar un criterio con el cual se pueda favorecer y mejorar el reposicionamiento de fármacos, así como el desarrollo y mejora de la eficacia de los fármacos candidatos encontrados.

Marco teórico

Generalidades sobre reposicionamiento de fármacos

El reposicionamiento de fármacos puede ser definido como “El proceso de encontrar y desarrollar usos diferentes a la indicación terapéutica original de fármacos ya existentes (autorizados o no)” (Langedijk et al., 2015). El reposicionamiento de fármacos ha surgido en los últimos 16 años, aproximadamente, como una alternativa para el desarrollo de nuevos tratamientos contra enfermedades como cáncer de mama, linfomas etc.

El reposicionamiento surge como una estrategia para obtener una ventaja de la promiscuidad de algunos fármacos, con promiscuidad me refiero a que no son específica y exclusivamente para la diana biológica de interés

Los métodos sistemáticos para llevar a cabo el reposicionamiento de fármacos son principalmente computacionales y pueden ser divididos en seis métodos:

- Barridos o búsquedas sistemáticas (*screening*).
- Basados en la estructura de la diana o blanco molecular.
- Basados en conocimientos.
- Basados en firmas genéticas.
- Basados en la red o vía.
- Basados en el mecanismo de acción del blanco.

Esta clasificación está dada por la cantidad de información disponible del fármaco, enfermedad o tratamiento y va desde descubrimientos fortuitos hasta las búsquedas más exhaustivas que implican genética y genómica (Jin and Wong, 2014).

El reposicionamiento de fármacos tiende a ser, en primera instancia, *in silico*, ya que hay muchas bases de datos sobre fármacos en los que se reportan efectos secundarios, reacciones adversas, mecanismos de acción, etc. Posterior a eso se hacen ensayos *in vitro* e *in vivo* para validar la actividad y efectividad del fármaco candidato para considerar si pasa a la fase clínica.

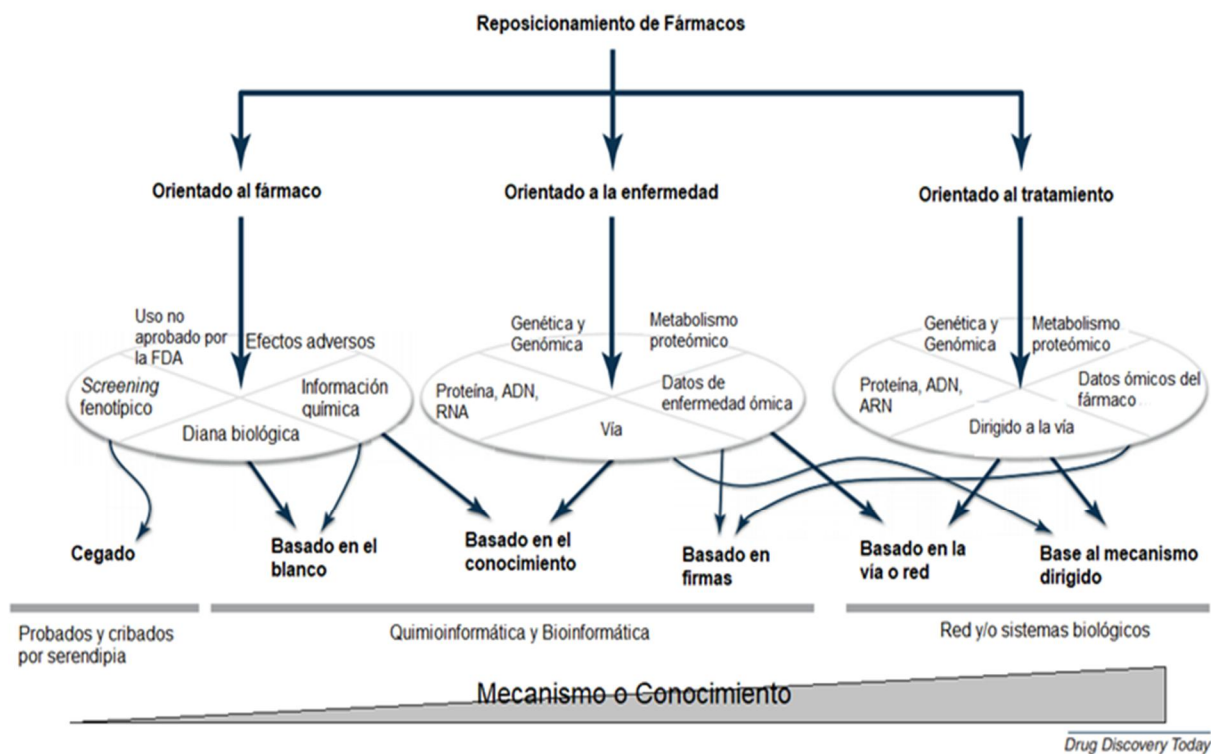


Figura 1. Representación esquemática de los métodos por los cuáles se puede llevar a cabo el reposicionamiento de fármacos, partiendo de la enfermedad, fármaco o tratamiento y con base a la información disponible en cada situación. La figura está adaptada del artículo: *Toward better drug repositioning: prioritizing and integrating existing methods into efficient pipelines* (Jin and Wong, 2014).

En estos métodos se pueden implementar estrategias como *high throughput screening* (HTS), *Automated Quantitative Structure Activity Relationship* (AutoQSAR) *Quantitative Structure Activity Relationship* (QSAR), *target hopping* y *computacional 2D similarity* empleado para encontrar reacciones cruzadas, es decir, encontrar moléculas que compartan farmacóforos o grupos similares a éstos.

El acoplamiento molecular sistemático (*molecular docking*) aparece también como una herramienta para considerarse. Con *docking* se pueden encontrar nuevas moléculas con la diana biológica.

Además de eso, se puede hacer una combinación de estrategias *in vitro* e *in silico* para acelerar la búsqueda y desarrollo de nuevos usos para fármacos ya existentes; la combinación de técnicas está en función de la información que se tiene de la enfermedad, diana biológica o fármacos que se buscan (**Figura 1**) (Leite et al., 2018; Tognolini et al., 2014; Ekins et al., 2011).

Generalidades sobre la enfermedad de Chagas

Importancia

De acuerdo con datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS o WHO por sus siglas en inglés World Health Organization), se estima que ocho millones de personas en el mundo padecen EC, mayormente en América Latina, donde esta enfermedad es endémica; en los últimos años se ha propagado a EEUU, Canadá, Europa occidental, Australia y Japón debido a la migración internacional (Chatelain, 2017), poca prevención y a la inexistencia de una vacuna. El 30% de las personas afectadas desarrollan alteraciones cardíacas, mientras que el 10% puede desarrollar alteraciones digestivas, neurológicas o una mezcla de estas, dichas alteraciones necesitan un tratamiento específico. (Urbina, 2015).

Características

Trypanosoma cruzi (*T. cruzi*) es un protozoario flagelado perteneciente al grupo de los *kinetoplastos* que, como el nombre lo indica, en su estructura presentan un cinetoplasto, ubicado dentro de una gran mitocondria, donde se encuentra parte del ADN total (10-20% dependiendo de la especie). En este caso se le denomina ADN del cinetoplasto o ADNk. (Cevallos Ana María s.f.)

El ADNk de *T. cruzi* consiste en varias moléculas de ADN circular, dividido en maxi círculos y mini círculos. En los mini círculos se encuentra la secuencia universal mini círculo (*UMS* por sus siglas en inglés), dicha secuencia codifica para la proteína UMS, la cual se ve involucrada en la supervivencia y virulencia del parásito. (Botero et al., 2018).

El cinetoplasto se encuentra anterior o posterior al núcleo, dependiendo del estadio del parásito (**Figura 2**). Cuando se encuentra como tripomastigote (fase infectiva) el cinetoplasto es posterior al núcleo (central), en la punta del tripomastigote, de ahí sale un flagelo adherido al cuerpo del parásito que forma una membrana ondulante. En la forma de epimastigote (fase reproductiva dentro del vector) el cinetoplasto se encuentra en medio y por delante del núcleo, en esta fase el flagelo también sale y forma una membrana ondulante (de menor tamaño que en el tripomastigote) desde

el centro del cuerpo. En forma de amastigote (fase reproductiva dentro de células del hospedero) el cinetoplasto es anterior al núcleo y no presenta flagelo o membrana ondulante.

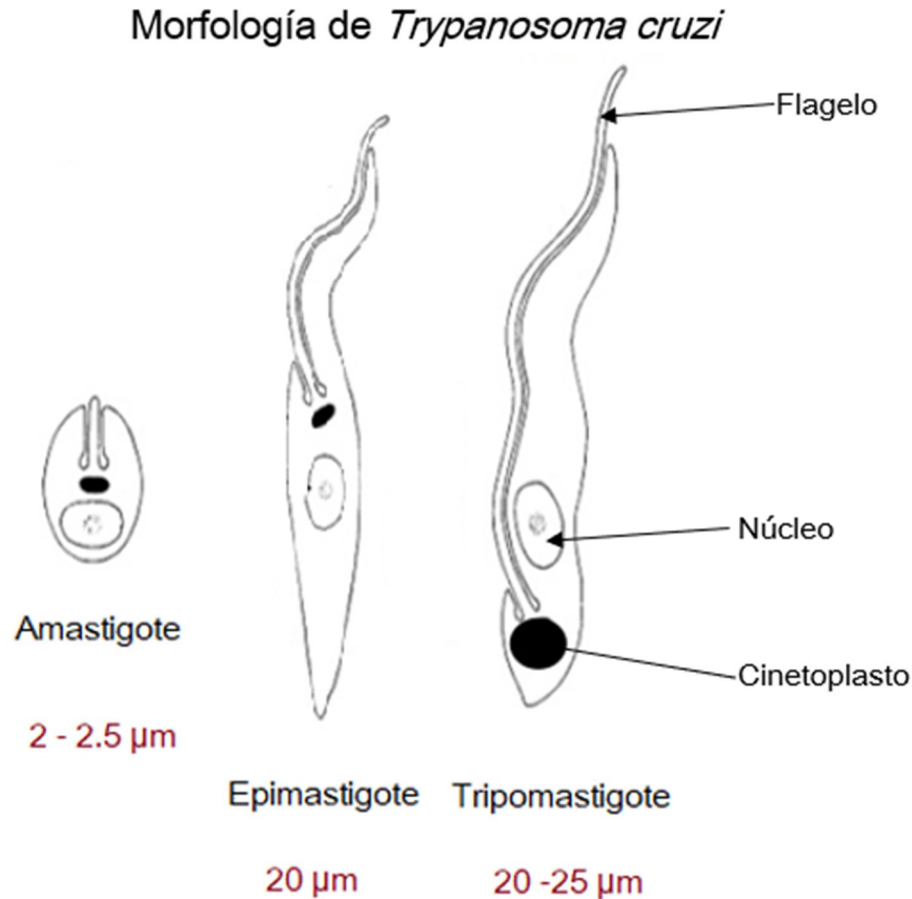


Figura 2. Esta figura ilustra el tamaño y estructura de *T. cruzi* en los diferentes estadios durante su ciclo de vida. Imagen tomada y adaptada de la presentación sobre EC del profesor Aivaldo Henrique da Fonseca. (Coura, 2003).

Transmisión

La EC es causada por el parásito *T. cruzi* el cual es transmitido por insectos (vector) hematófagos triatominos que, dependiendo de la región, se les conoce como chinches hociconas, vinchucas, chupo, triatominas o en el caso de México son conocidos como *Chinche besucona*, los cuales tras adquirir la infección de un mamífero infectado y, de acuerdo con el ciclo de vida del parásito (**Figura 3**), son

capaces de transmitirlo a otros mamíferos, debido al contacto de sus heces y/u orina con mucosas.

El parásito entra al cuerpo humano en forma de tripomastigote metacíclico, proveniente de la reproducción por fisión binaria de epimastigotes, realizada en el intestino de la chinche (Cortés-Ruiz et al., 2018).

Además de mordedura, *T. cruzi* puede ser transmitido por (Salazar-Schettino et al., 2016):

- Consumo de alimentos contaminados con heces u orina de la chinche o marsupiales infectados.
- Transfusión de sangre o trasplante de órganos provenientes de donadores infectados.
- Pasado de madre a hijo durante el embarazo o el parto.
- Accidentes de laboratorio.

Incubación

El tiempo de incubación es de una a dos semanas, transcurrido este tiempo se presenta la fase aguda de la enfermedad, algunas manifestaciones clínicas pueden ser: fiebre, malestar general y hepato-esplenomegalia, además de linfocitosis atípica. Para su diagnóstico se requiere un examen sanguíneo que confirme la presencia del parásito en sangre (parasitemia); de no encontrar parásitos en sangre se recomienda hacer una biopsia, ya que los parásitos infectan células musculares. En el 50% de los casos se pueden presentar edemas en dónde se localiza la mordedura de la chinche (chagoma o signo de Romaña). La fase aguda dura aproximadamente dos meses después del inicio de la infección (Bern, 2015).

El tiempo que dura la incubación y la fase aguda puede ser explicado a través del ciclo de vida del parásito *T. cruzi*, ya que una vez en el torrente sanguíneo, puede ser detectado por el complemento y eliminado (en la forma de epimastigotes) o invadir cualquier tipo de células (como tripomastigote), o en el caso de los epimastigotes recientemente diferenciados (*rdEpi* por sus siglas en inglés) pueden invadir macrófagos, donde inhiben la fusión fagosoma-lisosoma, evadiendo así al

sistema inmune, lo que les permite reproducirse libremente por fisión binaria en forma de amastigotes.

Al terminar su reproducción en forma de amastigotes, recuperan el estadio de tripomastigotes, rompen la célula en la que se encuentran y salen a circulación sistémica infectando más células.

Muchas veces el diagnóstico de la enfermedad se da de manera fortuita, buscando alguna otra patología; en un examen sanguíneo con diagnóstico positivo de *Tripanosomiasis Americana* se observan tripomastigotes de *T. cruzi* extra o intracelulares (Kessler et al., 2017) durante la fase aguda.

Durante la fase crónica, el diagnóstico puede hacerse por combinación de los métodos de ELISA e inmunofluorescencia de anticuerpos (Bern, 2015).

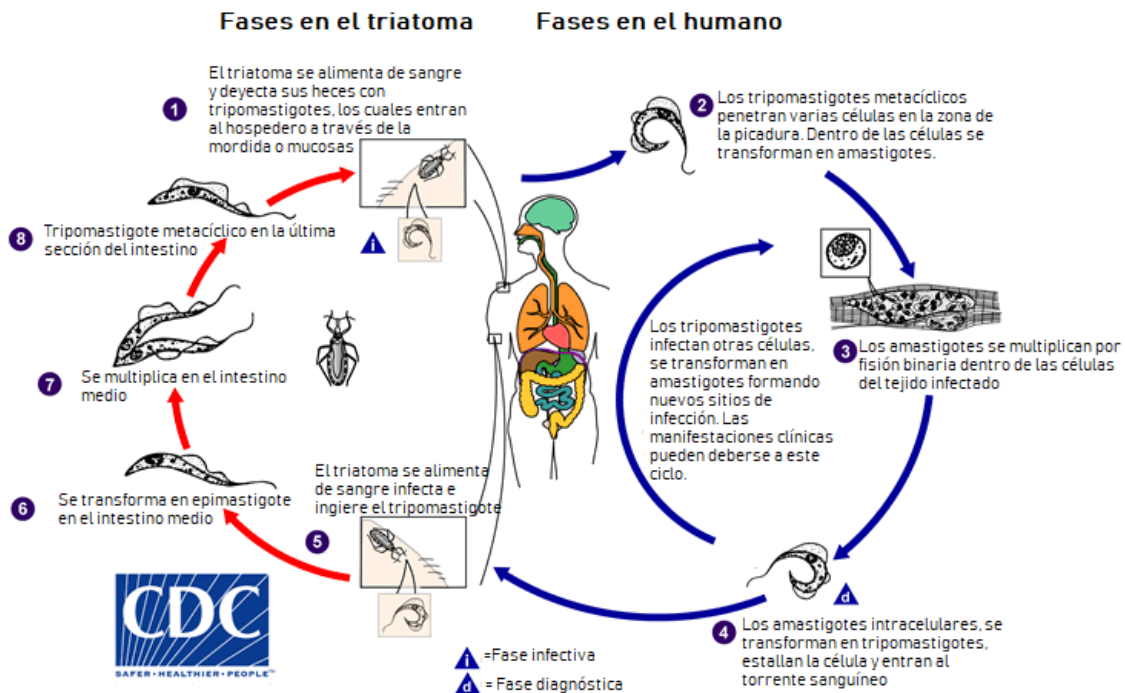


Figura 3. Ciclo de vida de *T. cruzi*. En esta imagen se observa que el ciclo de vida se divide en dos fases, infecciosa (infección de la chinche) y de diagnóstico (infección del hospedero humano, en esta fase es importante el diagnóstico temprano para un tratamiento oportuno). Esta imagen fue tomada de la página de *Centers for Disease Control and Prevention* y adaptada al español. (CDC, 2018).

Posterior a esos dos meses, se presenta la fase crónica, en la cual el parásito ya se puede encontrar escondido en el músculo cardíaco o digestivo. En el caso de que se oculte en el miocardio, puede generar desórdenes cardíacos y causar muerte repentina debido a falla cardíaca o alteraciones del sistema nervioso periférico. Esta fase puede ser caracterizada por el aumento de tamaño de órganos afectados, es decir, megacardias, megaesófago y/o megacolon (Bern, 2015).

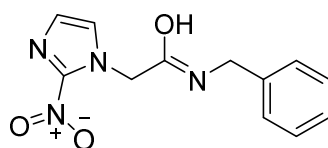
Tratamiento

La EC puede ser tratada con dos fármacos pertenecientes a los nitro-heterociclos, benznidazol y nifurtimox (**Figura 4**). Ambos fármacos son efectivos en general siempre y cuando sean administrados al inicio y durante la fase aguda. Dichos fármacos son efectivos incluso para el tratamiento de la infección congénita.

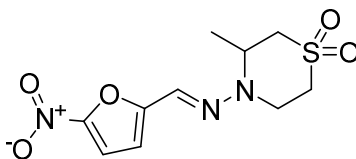
La desventaja del uso de benznidazol y nifurtimox es que el tratamiento es largo y causa reacciones adversas como dermatitis alérgica, prurito y desórdenes gastrointestinales en el 40% de los casos (Chatelain, 2017). Además, el uso de benznidazol y el nifurtimox no se recomienda en mujeres embarazadas ni en personas con falla renal o hepática, así como en personas con antecedentes de enfermedades psiquiátricas o neurológicas (WHO, 2018).

Para el caso de la fase crónica, el tratamiento es meramente sintomático, es decir, se tratan los síntomas sin la posible erradicación del parásito en el cuerpo. Al no poder ser curada en su totalidad, la prevención de la enfermedad toma un papel importante, por lo que se han tomado medidas como:

- Controlar el vector, en algunos casos se fomenta el uso de insecticidas.
- Escaneo de sangre para evitar transfusiones o trasplantes provenientes de donadores infectados.
- Diagnóstico de la infección en mujeres embarazadas, aunque ellas no pueden ser tratadas, se favorece el tratamiento temprano al recién nacido.



Benznidazol



Nifurtimox

Figura 4. Estructura de los fármacos empleados en el tratamiento de enfermedad de Chagas.

La acción de nitro reductasas sobre los fármacos genera como producto metabolitos electrofílicos que se conjugan con macromoléculas como lípidos, ADN y proteínas. Además, en el caso de nifurtimox se obtiene un radical hidroxilo como subproducto de la reacción que, al igual que los metabolitos electrofílicos, se puede intercalar en las macromoléculas presentes en el parásito (Maya et al., 2007).

Durante la década de los 80s, se utilizó violeta de genciana para tratar la sangre donada para transfusión y así evitar la transmisión. Sin embargo, dejó de usarse ya que teñía de púrpura la sangre, tejidos y piel del paciente (Salomão and Castro, 2017).

Actualmente se ha incrementado la necesidad de nuevos y mejores tratamientos. Esto se debe a los efectos adversos de los fármacos empleados y la resistencia que han generado los parásitos (Health Partnerships Directory, 2013).

Posibles dianas biológicas

Para encontrar nuevas dianas biológicas para fármacos ya aprobados, es necesario conocer el mecanismo de acción de éstos, así como dianas macromoleculares biológicas a las que se busca que el fármaco sea dirigido. Recientemente, Cortés-Ruiz *et. al* (2018) resumieron los principales blancos moleculares para la inhibición de *T. cruzi*. En su mayoría son enzimas relacionadas con el metabolismo. Ejemplos de estos son la enzima esterol C-14 desmetilasa CYP51 que está involucrada en la biosíntesis del ergosterol y la cruzipaina, una proteasa de cisteína considerada esencial en varios procesos biológicos de *T. cruzi* (Souza, Oliveira, and Andricopulo, 2017).

La enzima tripanotión sintetasa también es un blanco molecular importante debido a la protección que le otorga a la célula contra radicales libres. A pesar de que presenta un 40% de homología con la enzima glutatión reductasa (presente en la célula hospedera) los sitios activos son completamente distintos (Beig et al., 2015). Otras potenciales dianas de interés son proteasas, enzimas relacionadas con la vía de las pentosas como la Ribosa-5-fosfato isomerasa (*Rpi* por sus siglas en inglés), hago énfasis en esta enzima en especial porque Sinatti *et. al.* emplearon una herramienta bioinformática llamada *AnEnPi: Analogue Enzyme Pipeline* (<http://www.dbbm.fiocruz.br/AnEnPi/>)¹. Esta herramienta es capaz de predecir analogía entre enzimas de distintos organismos, con ella fueron capaces de encontrar que la *Rpi* perteneciente a *T. cruzi* es diferente a la que se encuentra en humanos, haciendo que este blanco molecular sea de interés para la creación de fármacos novedosos o encontrar tratamientos alternativos por reposicionamiento (V. C. Sinatti et al., 2017). Otras dianas biológicas de interés son las proteínas de unión con ADN.

También se han buscado más dianas biológicas como el citocromo b que forma parte del complejo III en la cadena transportadora de electrones en la mitocondria y

¹ Esta página actualmente no está disponible o está temporalmente fuera de servicio, pero <http://www.dbbm.fiocruz.br/> este link los dirige a un menú en el que pueden acceder a diferentes herramientas y bases de datos, según las necesidades de cada uno.

cataliza la transferencia de electrones de ubiquinol al citocromo c (Khare et al., 2015).

Alberca *et. al.* ha optado por inhibir la internalización de poliaminas, ya que *T. cruzi* no es capaz de sintetizarlas, así que las obtiene a través del hospedero mediante transportadores AAAP (Aminoácido/ axin permeasa) (Alberca et. al., 2016). Específicamente se busca inhibir el transportador de putrescina TcPAT12 ya que dicho transportador no presenta homología con receptores en mamíferos.

Las poliaminas putrescina, espermidina y espermina, son poli cationes de bajo peso molecular involucrados en procesos biológicos como crecimiento, diferenciación, biosíntesis de macromoléculas y además su acción como agentes antioxidantes. (Alberca et al., 2018).

Gallant et. al. sugiere que un blanco molecular de importancia está en la *T. cruzi* *transialidasa*, esta enzima cataliza la transferencia del ácido siálico, presente en el hospedero, hacia la superficie de la membrana del parásito para así evitar que el sistema inmune lo detecte (Gallant et al. 2018).

Objetivos

Objetivo general

Presentar el reposicionamiento de fármacos como una estrategia viable en la búsqueda de tratamientos para la enfermedad de Chagas.

Objetivos específicos

- Recopilar y hacer un análisis crítico de información novedosa sobre reposicionamiento de fármacos aplicado a la búsqueda de tratamientos alternativos para la enfermedad de Chagas.
- Plantear sugerencias para la mejora de fármacos candidatos para el tratamiento.
- Sugerir mejoras a los métodos empleados para llevar a cabo el reposicionamiento de fármacos.

Reposicionamiento de fármacos para el tratamiento de enfermedad de Chagas

Para realizar reposicionamiento para la EC es necesario que conozcamos el perfil del producto blanco o *TPP* (por sus siglas en inglés *target product profile*) ya que los fármacos reposicionados deben cumplir con las características indicadas en él. La **Tabla 1** enlista las características esperadas de los fármacos reposicionados para ser empleados como tratamiento contra la EC (DNDi s.f.)

Tabla 1. Características deseadas en los nuevos fármacos para tratar la EC. Tabla recuperada de la página de *Drugs for Neglected Diseases initiative*. (<https://www.dndi.org/diseases-projects/chagas/chagas-target-product-profile/>) (noviembre, 2018).

	ACEPTABLE	IDEAL
Población blanco	Crónica	Crónica y aguda
Distribución geográfica	Todas las regiones	Todas las regiones
Eficacia	No inferior a la dosis estándar de benznidazol en todas las regiones	Superior a la dosificación estándar de benznidazol durante las diferentes fases de la enfermedad.
Seguridad	Menor frecuencia de suspensión definitiva del tratamiento por indicación médica.	Menor frecuencia de suspensión definitiva del tratamiento por indicación médica.
Contraindicaciones	Embarazo	Sin contraindicaciones
Precauciones	No genotoxicidad, sin potencial proarrítmico	No genotoxicidad, no teratogenicidad, sin potencial proarrítmico
Interacciones	Sin interacción significativa con antiarrítmicos o anticoagulantes.	Sin interacción clínica significativa.
Presentación	Oral y/o parenteral Adaptado a la edad.	Oral Adaptado a la edad.
Estabilidad	3 años, zona climática IV	5 años, zona climática IV
Régimen de dosificación	Oral: cualquier duración Parenteral: menor a 7 días	Menor a 30 días
Costo	Lo más bajo posible	Similar a los tratamientos actuales.

En 2015, Kaiser *et. al.* propusieron tratamientos alternativos por reposicionamiento para el tratamiento de diferentes enfermedades tropicales entre las cuales destaca la *tripanosomiasis americana*.

Los resultados obtenidos señalaron que nitro heterociclos, particularmente los derivados del nitrofurano, como el nifurtimox (fármaco empleado desde 1940 para el tratamiento de EC en fase aguda), la nifuroxazida y la nitrofurantoína, así como algunos derivados de azoles (principalmente antifúngicos), presentan acción anti chagastica.

Además de estos compuestos, encontraron que el tadalafil, un inhibidor de la fosfodiesterasa tipo 5 empleado en el tratamiento de disfunción eréctil, y el mebeverine, un anticolinérgico y antiespasmódico empleado para tratamiento del síndrome de intestino irritable y espasmos gastrointestinales post colecistectomía (Drugbank s.f.), presentan acción anti chagastica (Kaiser et al., 2015).

Kaiser et. al. reportaron que el mebeverine presenta actividad anti *T. cruzi* con poca selectividad debido a su interacción con receptores del hospedero. Citan a *Kornhuber et. al.* ellos consideran que puede actuar como inhibidor de la esfingomielinasa, así como antagonista de receptores de serotonina 5HT3. Pasa algo similar en el caso del tadalafil, la baja selectividad se debe a la similitud estructural entre fosfodiesterasas humanas y parásitas (Kaiser et al., 2015).

Para 2016, Alberca *et. al.* llevó a cabo la búsqueda de compuestos análogos a poliaminas con la finalidad de inhibir la captura de putrescina y espermidina, ya que estas moléculas son esenciales para el desarrollo del parásito, por lo que, al no poseer las enzimas para sintetizarlas, las toman de la célula hospedera.

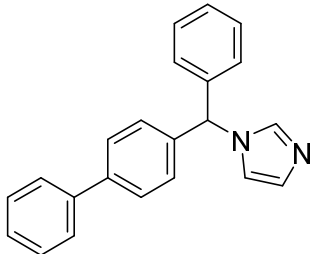
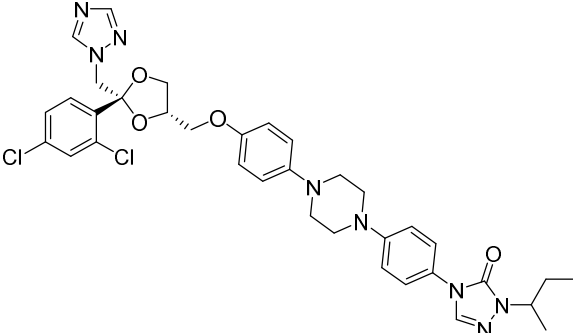
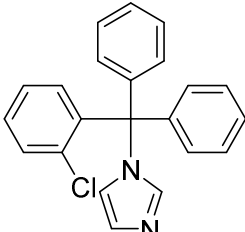
Alberca et. al. también consideran que las clases de fármacos que presentan actividad anti chagastica son los fármacos bloqueadores de canales de calcio, antihistamínicos y antifúngicos.

El estudio fue realizado por medio de acoplamiento molecular y ensayos *in vitro* sobre los receptores AAAP (TcPAT12), con la finalidad de disminuir la proliferación de epimastigotes e inhibir la acción de la enzima tripanotión sintetasa.

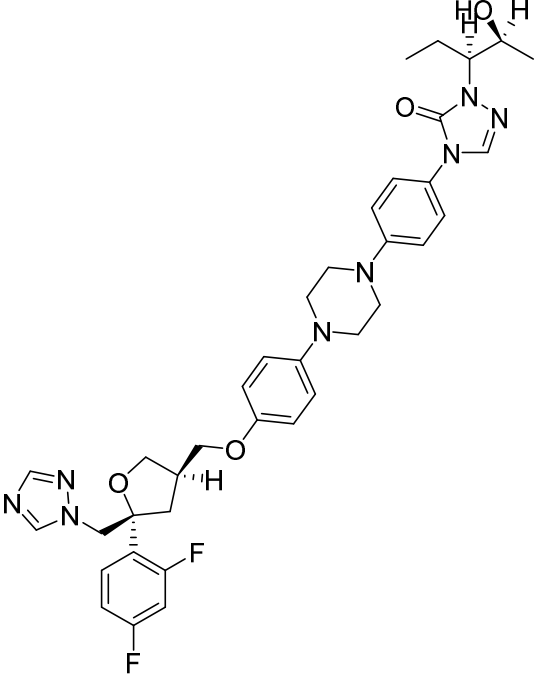
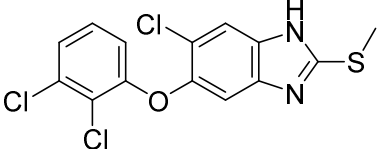
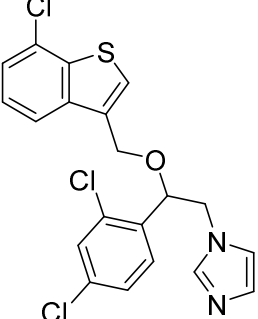
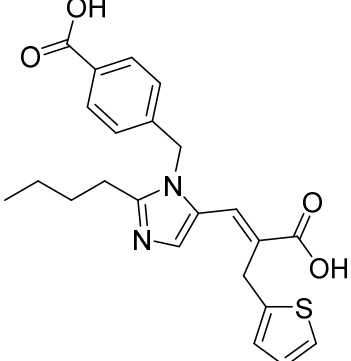
En 2017, Chatelain planteó una serie de preguntas que deben considerar responder para poder lograr una mejora en el tratamiento de la enfermedad de Chagas tanto en fase aguda como crónica. En este artículo se menciona también la combinación de *posaconazol* con benznidazol para el tratamiento de la fase crónica de la *tripanosomiasis*, cabe destacar que el posaconazol es un antifúngico para el tratamiento de infecciones por *Candida* y *Aspergillus* (Chatelain, 2017).

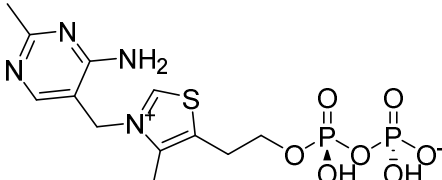
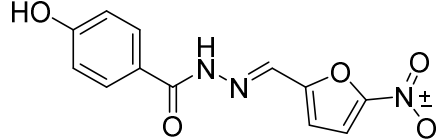
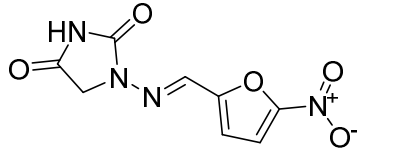
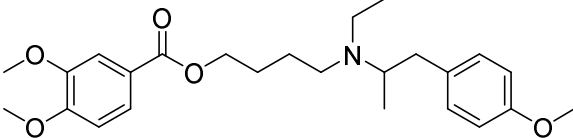
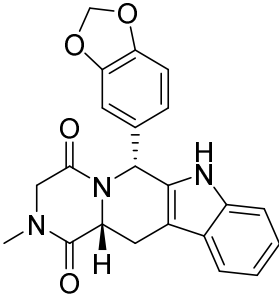
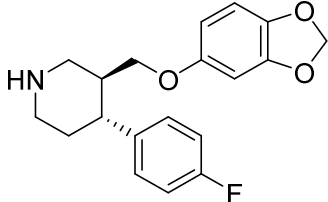
De los estudios realizados por Kaiser *et. al*, Alberca *et. al*. y Chatelain se obtuvieron diferentes moléculas que son candidatas para tratar la EC. La **Tabla 2** resume la información de dichas moléculas incluyendo su nombre, estructura y aplicación para la que fueron diseñados inicialmente.

Tabla 2. Resumen de los fármacos candidatos propuestos por Alberca *et. al* y Kaiser *et. al*. En esta tabla se muestran las estructuras de los fármacos, en ellos se pueden observar similitudes estructurales en algunos casos.

Nombre	Estructura	Clase química	Indicación
Bifonazol		Azoles	Antifúngico
Itraconazol		Azoles	Antifúngico
Clotrimazol		Azoles	Antifúngico

Miconazol		Azoles	Antifúngico
Econazol		Azoles	Antifúngico
Tioconazol		Azoles	Antifúngico
Ketoconazol		Azoles	Antifúngico
Fluconazol		Azoles	Antifúngico

Posaconazol	 <p>The structure of Posaconazol features a central 1,2,4-triazole ring. One nitrogen of this ring is attached to a 2,4-difluorophenyl group. The other nitrogen is connected to a 1,3-dioxolane ring. The 1,3-dioxolane ring has a hydroxyl group at the 4-position and a 4-((4-(4-(1,2,4-triazol-5-yl)phenyl)piperazine)phenyl)oxy group at the 2-position.</p>	Azoles	Antifúngico, tratamiento contra <i>Candida</i> y <i>Aspergillus</i>
Triclabendazol	 <p>The structure of Triclabendazol consists of a central benzimidazole ring system. The 2-position of the benzimidazole is substituted with a methylsulfanyl group (-S-CH₃). The 5-position is linked to a 2,4,6-trichlorophenoxy group.</p>	Azoles	Antiparasitario
Sertaconazol	 <p>The structure of Sertaconazol features a central 1,2,4-triazole ring. One nitrogen is attached to a 2,4-dichlorophenyl group. The other nitrogen is connected to a 2,4-dichlorophenyl group via a methylene bridge. The 5-position of the triazole is linked to a 2-chlorophenyl group through an ether linkage.</p>	Azoles	Antifúngico
Eprosartán	 <p>The structure of Eprosartán features a central 1,2,4-triazole ring. One nitrogen is attached to a propyl group. The other nitrogen is connected to a 4-(4-oxo-4H-thienopyridin-2-yl)butanoic acid group via a methylene bridge.</p>	Azoles	Antihipertensivo

Tiamina pirofosfato		Diazinas	Coenzima
Nifuroxazida		Nitro heterociclos	Antibacterial
Nitrofurantoína		Nitro heterociclos	Antibacterial
Mebeverine		Fenilbenzoatos	Antiespasmódico
Tadalafil		Pirazinpiridoindol	Disfunción eréctil
Paroxetina		Piperidina	Antidepresivo

Por otro lado, en *clinicaltrials.gov* se encuentran, a la fecha (septiembre, 2018), 60 estudios activos sobre la EC, de los cuales 14 están relacionados con pruebas clínicas de fármacos. Éstos incluyen pruebas de diferentes regímenes de dosificación de benznidazol para el tratamiento de EC en etapa crónica, así como la combinación de éste con posaconazol (un antifúngico con actividad anti *T. cruzi*). Se ha observado que el mecanismo de acción antiparasitaria de azoles, como el posaconazol, es a través de la inhibición de la biosíntesis de ergosterol (Salomão and Castro, 2017).

También se encuentra un estudio sobre la eficacia de *E1224*, un profármaco de ravuconazol (Bern, 2015), el estado actual del estudio **NCT01489228** es desconocido. *E1224* es un antifúngico diseñado por una empresa japonesa llamada Eisai (DNDi, 2013) que prometía actividad anti-*T. cruzi* por sí mismo, pero vieron que su eficacia aumenta al administrarse con benznidazol.

Además de los fármacos mencionados, se encuentra el fexinidazol (**NCT03587766** y **NCT02498782**) (**Figura 5**), un antimicrobiano de amplio espectro estudiado durante las décadas de los 70s y 80s, recientemente redescubierto por su actividad contra *T. cruzi* (Torreele, 2010).

En un estudio elaborado por Bahía *et. al.* se encontró que los metabolitos oxidantes del fexinidazol, principalmente el *fexinidazol sulfóxido* y la *fexinidazol sulfona*, tienen mayor eficacia durante la fase aguda en comparación con los fármacos estándar para el tratamiento de EC (benznidazol y nifurtimox) (Bahia et al., 2014).

Por otro lado, también se ha visto que la amiodarona (**NCT03193749**), un antiarrítmico empleado durante la fase crónica de la EC presenta actividad contra *T. cruzi*. La actividad anti-*T. cruzi* está asociada a la presencia de un grupo benzofurano, del cual se sabe tiene potencial actividad antiparasitaria.

Durante 2013 Bellera y su equipo de trabajo descubrieron el efecto anti-*T. cruzi* de la amiodarona a través de *virtual screening* y acoplamiento molecular en búsqueda de fármacos capaces de inhibir a la cruzipaína, posterior a eso realizaron estudios enzimáticos en los cuales la amiodarona y la bromocriptina (anti parkinsoniano y antidiabético) demostraron tener efecto inhibitorio sobre la cruzipaína y la proliferación de epimastigotes (en cultivo). El conjunto de moléculas para llevar a cabo el modelo puede descargarse como material suplementario de la página: <http://dx.doi.org/10.155/2014/279618> (Bellera et al., 2013).

Debido a este resultado, algunos grupos de trabajo se han enfocado en el desarrollo de derivados de la amiodarona (Pinto-Martínez et al., 2018).

Algunos estudios han demostrado que al administrar amiodarona en conjunto con posaconazol se logra un efecto sinérgico en la disminución de la proliferación de epimastigotes y amastigotes intracelulares *in vitro* (Benaim et al., 2006). El efecto de la amiodarona se debe a su acción como antagonista de canales de K^+ y Ca^{2+} ya

que afecta la homeostasis de Ca^{2+} , también se considera que actúa inhibiendo la síntesis de ergosterol dentro del parásito *T. cruzi*. Después de haber demostrado la actividad antiparasitaria de amiodarona, Benaim *et. al.* en 2012, encontró que su derivado dronedarona también tiene actividad antiparasitaria (Benaim, 2012).

El mecanismo de acción de la amiodarona y dronedarona no se conoce con exactitud aún, pero cabe mencionar que su acción va orientada hacia la inhibición de la síntesis de ergosterol, componente de la membrana celular del parásito, al inhibir la enzima oxido escualeno ciclasa, la cual se encarga de formar lanosterol (precursor del ergosterol) a partir del epóxido escualeno.

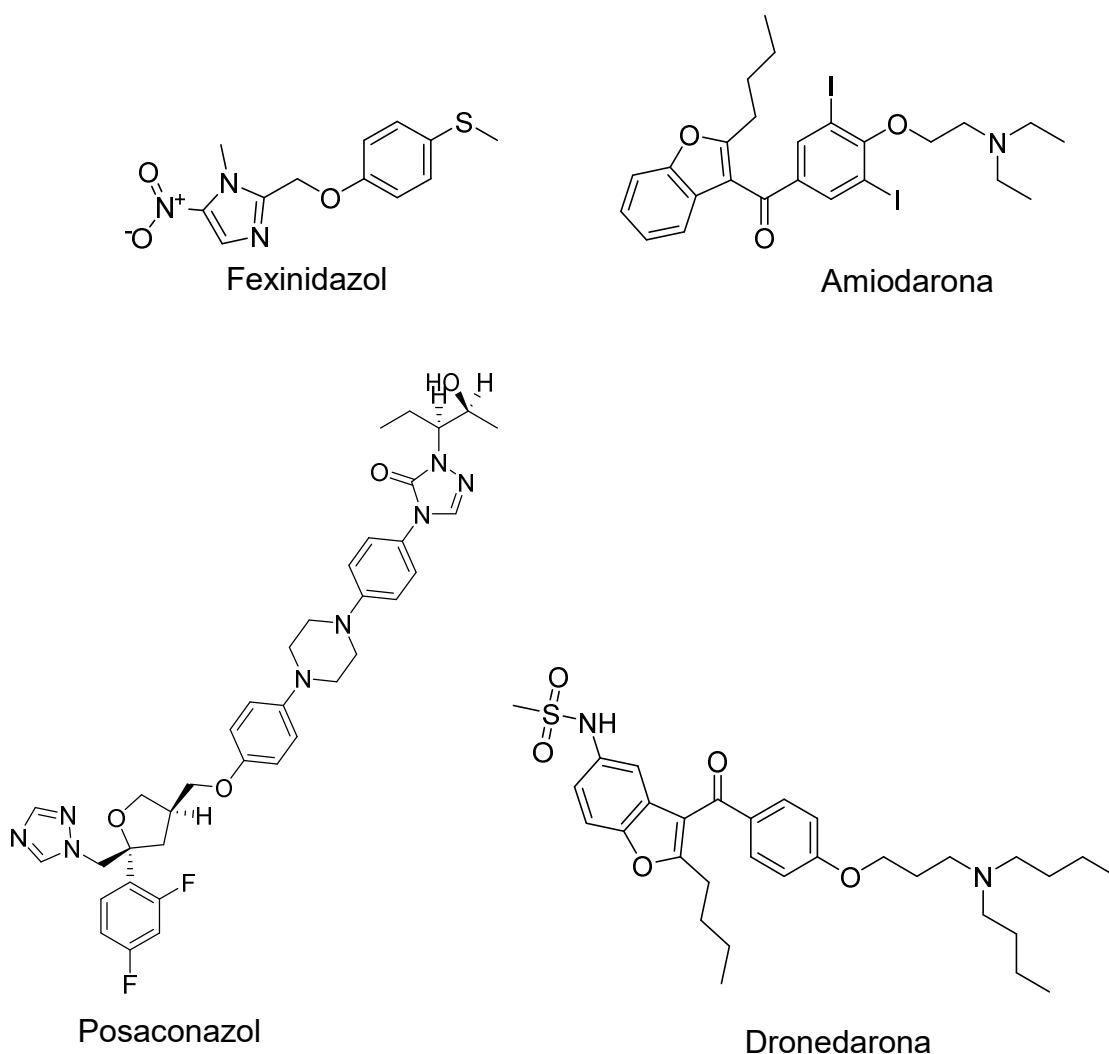


Figura 5. Moléculas de fármacos reposicionados para el tratamiento de enfermedad de Chagas que actualmente se encuentran en pruebas clínicas.

Para 2014, en el grupo de trabajo de Bellera et. al. identificaron la actividad anti chagastica de la levotiroxina (**Figura 6**) un fármaco empleado para tratar el hipotiroidismo y bocio. Para lograrlo, emplearon el mismo método de reposicionamiento asistido por computadora utilizado en el descubrimiento de la actividad anti chagastica de la amiodarona y la bromocriptina. Pero para crear el modelo de *virtual screening* utilizaron un total de 3764 descriptores, con los cuales formaron 25 modelos con menos de 254 descriptores cada uno. La diferencia entre cada estudio fue la cantidad de descriptores empleada en cada modelo. La levotiroxina mostró efecto inhibitorio dosis dependiente sobre la cruzipaína y la proliferación de epimastigotes (Bellera et. al., 2014).

Bellera et. al. en 2015 describieron la actividad anti chagastica de la clofazimina (antibiótico de elección para el tratamiento de lepra) y benidipine (fármaco empleado en el tratamiento de hipertensión y angina de pecho), esto tras llevar a cabo un reposicionamiento asistido por computadora. Para ello contaron con un conjunto de 174 compuestos, 77 inhibidores reversibles de cruzipaína y 70 no inhibidores, a diferencia de sus anteriores trabajos, utilizaron *DESMOL* para crear los modelos a emplear en la campaña de *virtual screening*. En este caso se escaneó la base de datos de Merck Index 12th (5570 compuestos), se hicieron estudios de acoplamiento molecular con la proteína y un inhibidor reversible cristalizado, el ensayo enzimático *in vitro*, inhibición en la proliferación de epimastigotes y amastigotes. Tanto benidipine como clofazimina (**Figura 6**) tienen actividad anti chagastica, pero no superan al tratamiento estándar, benznidazol (Bellera et al., 2015).

Tras el estudio de Bellera et. al. sobre el descubrimiento de la actividad anti chagastica de benidipine y clofazimina, Sbaraglini et. al. llevaron a cabo estudios en ratones para conocer la eficacia y la superioridad de dichos fármacos frente al benznidazol, en este estudio se demostró que ambos fármacos probados (para la fase crónica de la enfermedad) disminuyen la presencia del parásito en músculo cardíaco con mayor eficacia que el benznidazol, mientras que el benidipine también disminuye la carga del parásito en músculo esquelético. Además, ambos fármacos demostraron tener menos efectos adversos (Sbaraglini et al., 2016).

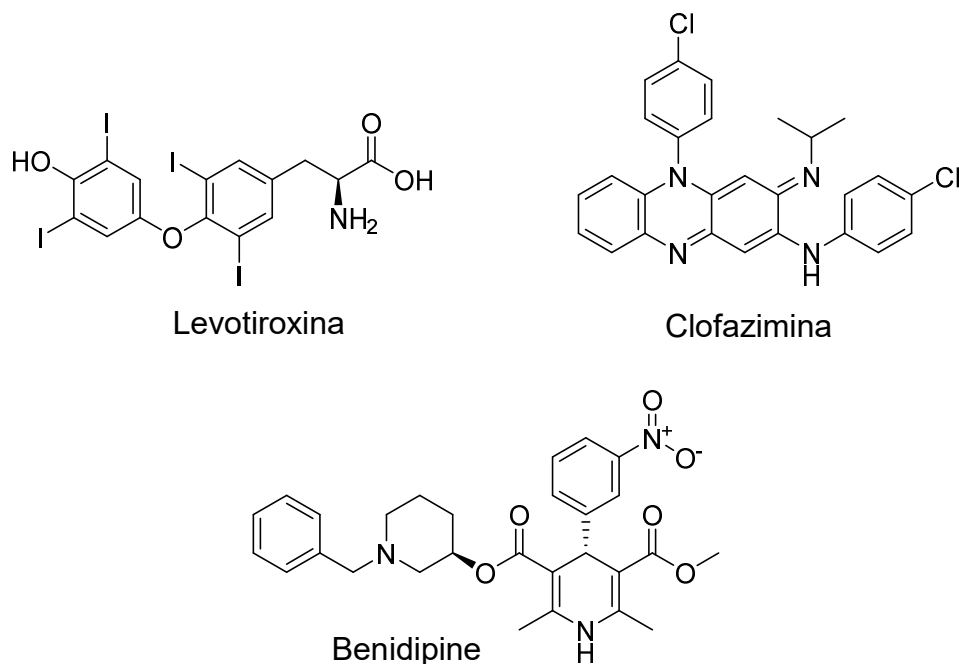


Figura 6. Fármacos con efecto inhibitorio de la cruzipaina, encontrados después de estudios de *virtual screening* y acoplamiento molecular.

En 2018 Dietrich *et. al.* encontraron que la cisaprida (**Figura 7**), un fármaco procinético, tiene potencial anti-*T. cruzi* al inhibir la internalización de poliaminas por su acción sobre los receptores AAAP, particularmente el TcPAT12. Para eso hicieron búsqueda por similitud (filtros basados en el ligando), cribado virtual y acoplamiento molecular (métodos basados en la diana molecular) (Dietrich et al. 2018). Ellos buscaron inhibir los AAAP, al igual que Alberca *et. al.* en 2018, ya que son receptores que no se encuentran en el hospedero y tienen secuencias en común con los otros kinetoplástidos.

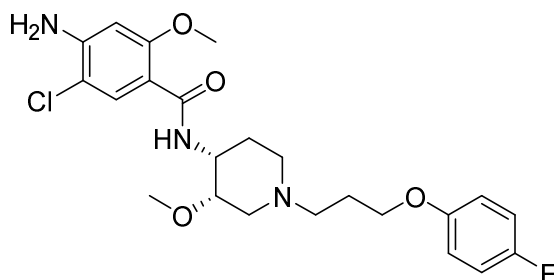


Figura 7. Estructura de la cisaprida, fármaco reposicionado como inhibidor del receptor TcPAT12.

En 2008 *GlaxoSmithKline* (GSK) y *Drugs for Neglected Disease initiative* (DNDi) comenzaron una colaboración para la búsqueda de tratamientos alternativos por reposicionamiento para diferentes enfermedades tropicales, entre ellas la EC. El objetivo de la colaboración fue formar un portafolio robusto en el cual se pudieran encontrar *hits* de calidad en contra de los tres kinetoplástidos causantes de las principales enfermedades tropicales (*Leishmania donovani*: Leishmaniasis visceral, *Trypanosoma brucei*: Tripanosomiasis africana o también conocida como Enfermedad del sueño y *Trypanosoma cruzi*). Usando HTS, para 2014 habían evaluado experimentalmente bibliotecas moleculares completas de diferentes compañías farmacéuticas como Sanofi, Takeda, Eisai, Merc y AbbVie. En 2014 terminaron la evaluación, pero no se publicaron los fármacos reposicionados, sólo han sido dirigidos a la fase de *hit-to-lead* (DNDi 2017).

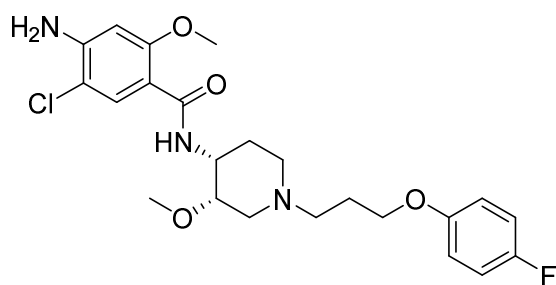
Por otra parte, la DNDi también realizó pruebas de compuestos sintéticos novedosos, de los cuales se obtuvieron 20 compuestos con posible actividad contra *T. cruzi*. Esta evaluación se pretende ampliar a productos naturales (DNDi, 2018).

Los productos naturales representan una buena fuente de nuevos fármacos, incluso para reposicionamiento. En 2015, William C. Campbell y Satoshi Omura ganaron el premio Nobel de fisiología y medicina por la identificación de la avermectina, una sustancia proveniente de una especie de *Streptomyces*, la cual presenta actividad antiparasitaria. Esta sustancia fue principalmente estudiada para el tratamiento de filariasis linfática y oncocercosis (Investigación y ciencia, 2015). Posteriormente, fue modificada y surgió la ivermectina que demostró ser más eficaz. Actualmente, la ivermectina es empleada como antiparasitario de amplio espectro para el tratamiento de oncocercosis, estrongiloidiasis, ascariasis y enterobiasis (DrugBank).

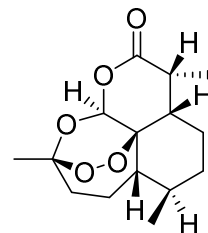
Cabe mencionar que el premio Nobel 2015 de fisiología y medicina, fue compartido con Tu YouYou, una mujer de China que en su búsqueda de tratamientos alternativos a la quinina para la malaria se enfocó en la medicina tradicional china (basada en plantas medicinales). Se encontró que la planta *Artemisia annua* podía ser empleada para este fin, por lo que Tu YouYou obtuvo a la artemisinina de esta

planta (Investigación y ciencia, 2015). Este compuesto presenta actividad contra *Plasmodium malariae* y actualmente aún se encuentra en investigación (DrugBank).

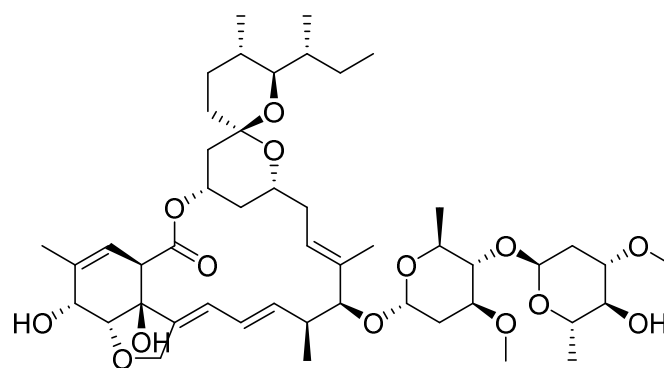
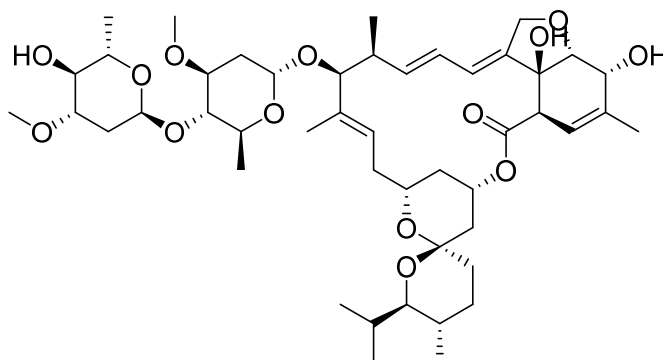
Al ser compuestos empleados como antiparasitarios, se considera que podrían probarse para el tratamiento de la EC.



Avermectina



Artemisinina



Ivermectina

Figura 8. Compuestos recientemente descubiertos para el tratamiento de diferentes parasitosis.

En 2015, Marcel et. al. desarrollaron 45 modelos QSAR para la identificación de moléculas con actividad anti chagásica (Marcel et al., 2015). Los autores evaluaron de una manera robusta la validez de los modelos por medio de métodos estadísticos generados con el programa *Statistica*. Los mejores modelos QSAR fueron aquellos con los multclasificadores más diversos (Marcel et al., 2015).

Para facilitar el reposicionamiento de fármacos, en 2017 Brown et. al. se dieron a la tarea de construir una base de datos (Brown and Patel, 2017) a la cual llamaron **repoDB** (<http://apps.chiragjgroup.org/repoDB/>). En esta base de datos se encuentra información sobre fármacos que han sido exitosamente reposicionados o fallidos, con la finalidad de otorgar un punto de referencia reproducible para métodos de reposicionamiento computacionales.

Su base de datos fue construida a partir de las pruebas fallidas obtenidas directamente de *clinicaltrials.gov* y los fármacos-indicación aprobadas por la FDA. **repoDB** es una base de datos de libre acceso con propósitos académicos o de investigación. **repoDB** contiene fármacos que han sido aprobados, que se encuentran en pruebas suspendidas, abandonadas y fármacos que se han retirado de dichas pruebas.

Otra herramienta que es de mucha utilidad es *Probe Reports from Molecular Libraries Program* (MLP: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK47352/>) de *National Institutes of Health* (NIH). En esta biblioteca se ofrecen herramientas con la capacidad necesaria para realizar *screening* y así poder identificar pequeñas moléculas para su posterior optimización (Alonso-Padilla and Rodríguez, 2014).

Propuestas

1. Nuevas dianas biológicas

Las dianas biológicas cobran gran importancia debido a que algunos fármacos pueden actuar sobre más de un blanco molecular a la vez, lo que genera efectos adversos.

1. En el grupo de trabajo del Dr. José Luis Medina, DIFACQUIM, crearon una plataforma para el análisis de similitud y diversidad de bases de datos llamada PUMA (por sus siglas en inglés, *Platform for Unified Molecular Analysis*). Esta plataforma podría ser empleada para encontrar las proteínas humanas y de *T. cruzi* más diferentes entre sí. La finalidad de esto es encontrar blancos moleculares que sean únicos de *T. cruzi* o de los *Kinetoplástidos*, para poder enfocar la búsqueda por reposicionamiento a esas dianas biológicas únicas. De esta manera se busca la disminución de efectos adversos. Dentro del grupo de trabajo DIFACQUIM Norberto Sánchez desarrolló una base de datos de huellas digitales o *fingerprints* basada en estadística. A cada compuesto se le asigna un *fingerprint* en base de 1 y 0s, dependiendo de la presencia o ausencia de una característica estructural, respectivamente. Esta herramienta facilita el trabajo de búsqueda por similitud y puede aplicarse a *virtual screening* basado en el ligando. Esto lo menciono aquí, ya que considero que esta herramienta podría escalarse a proteínas para encontrar homología o diferencias entre sí y así decidir por la mejor diana biológica (Sánchez-Cruz and Medina-Franco. 2018).
2. Otras dianas biológicas que recientemente se ha planteado inhibir son los receptores AAAP, encargados de la internalización de poliaminas. Entre ellas se encuentra la espermidina. Este podría ser un blanco adecuado sobre el cual actuar, ya que al conjugarse la espermidina con el glutatión (GSH), forman el tripanotión. Dicho compuesto se encarga de formar conjugados con los radicales libres generados por nifurtimox y benznidazol, disminuyendo así su efectividad.

3. El receptor TcPAT12 es un blanco molecular adecuado ya que no tiene homología con receptores del hospedero, pero son similares entre los diferentes *kinetoplastidos*. Es necesario poner especial atención en estos receptores, ya que no hay estructuras cristalográficas de estos. La cristalización de estas estructuras ya sea sola o con un inhibidor reversible (como los ya mencionados en páginas anteriores), es de importancia para facilitar el reposicionamiento de fármacos; o dado el caso, la modificación de moléculas para crear derivados con mejor actividad (Dietrich et. al. 2018).
4. Además de evitar la formación del tripanotión, se podría buscar administrar el benznidazol en conjunto con una molécula capaz de conjugarse con el tripanotión para así impedir que se conjugue con los radicales libres generados por nifurtimox o benznidazol, como el caso de administrar ácido clavulánico con amoxicilina para el tratamiento de infecciones por bacterias Gram positivas.
5. La inhibición de la cadena respiratoria, también podría ser una alternativa, ya que la enzima tripanotión reductasa es dependiente de ATP.

2. Optimización de fármacos aprobados o de *hits*

Aunque ya son moléculas aprobadas para algún padecimiento, al buscarles otra función quizá no se tenga la selectividad esperada. Por este motivo se proponen hacer modificaciones a los fármacos propuestos como candidatos a reposicionarse. Al modificar moléculas reposicionadas, se generan nuevas entidades químicas, por lo que ya no se trata de reposicionamiento en sí; debido a que implica la evaluación de la actividad biológica, efectos secundarios y reacciones adversas de una nueva entidad química. Por decirlo de algún modo, se parte de cero dejando al reposicionamiento como un primer paso en la investigación y desarrollo de fármacos (Klug, Gelb, and Pollastri 2016).

6. En el caso del mebeverine (**Figura 9**) habría que modificar su estructura de tal manera que se pueda impedir estéricamente la parte que interacciona con los otros receptores, muscarínicos, esfingomielinasa y 5HT3, para volverlo más específico en su acción contra el parásito *T. cruzi*.

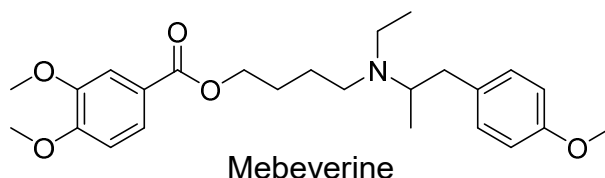


Figura 9. Estructura del antiespasmódico del que se propone modificar su estructura, para así evitar interacciones con blancos moleculares humanos.

7. Una de las “decepciones” del reposicionamiento para la EC, ha sido el posaconazol, ya que no presenta un aclaramiento del parásito a largo plazo en comparación con el benznidazol. El posaconazol (**Figura 10**) es una molécula relativamente grande (peso molecular: 700.8 g/mol) que presenta varios heterociclos de nitrógeno y el nitrofurano; estos son considerados como antiparasitarios (Chatelain, 2015).

Con base a lo anterior, podría plantearse la hidrólisis del éter del posaconazol para la formación de dos moléculas pequeñas diferentes que tengan heterociclos en su estructura, por lo que, en teoría, podrían presentar actividad anti *T. cruzi*. En este caso, la **Figura 10A** se queda con un oxolano y el grupo triazol, mientras que en la **Figura 10B** se observa un heterociclo con una cetona (1,2,4-triazol-3-ona) y una fenilpiperazina. Estas nuevas moléculas podrían someterse a pruebas para encontrar su posible acción anti-chagásica.

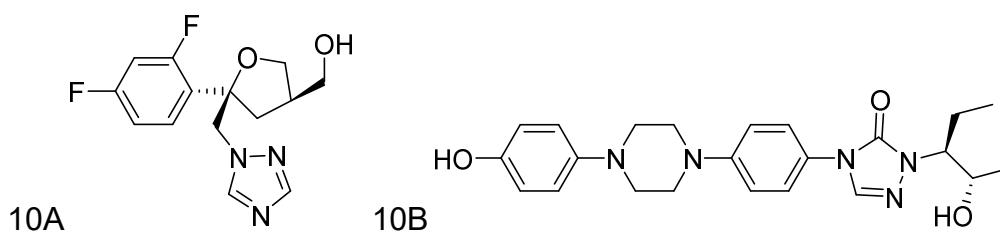
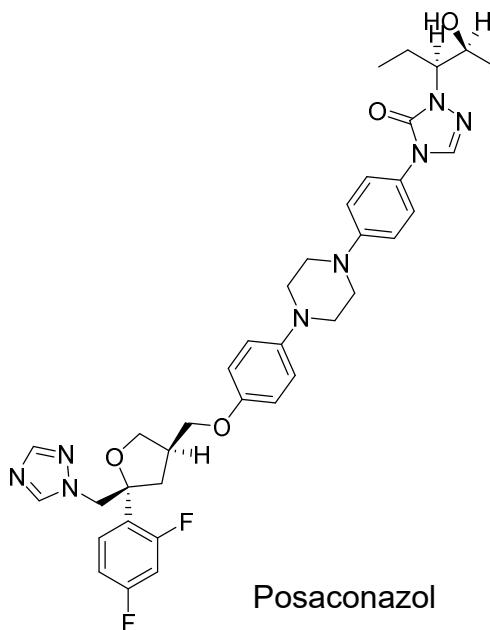
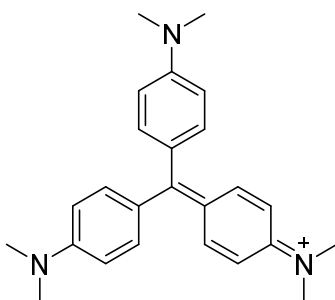


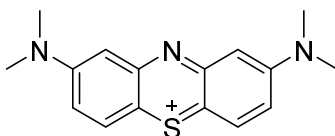
Figura 10. Estructura de posaconazol y los posibles productos de una hidrólisis ácida. La hidrólisis tiene como objetivo generar moléculas más pequeñas que puedan presentar y/o mejorar su actividad, eficacia y selectividad para el tratamiento de EC por su acción sobre el CYP51.

8. Basándose en la estructura del sitio activo de la cruzipaina se sugieren realizar modificaciones estructurales en clofazimina y benidipine (**Figura 6**, página 25), con la finalidad de favorecer las interacciones entre la triada catalítica formada por Cys25, His159 y Asn175 con los inhibidores (Bellera et al. 2015). Se sugiere realizar homologaciones o elongación de cadenas de las moléculas, así como la formación de anillos.
9. El mecanismo de acción del azul de metileno se debe a su estructura (**Figura 11**), ya que presenta una fenotiazina, que le otorga una carga positiva en solución acuosa. Esto sumado a la presencia de tres anillos aromáticos que le conceden a la molécula la capacidad de intercalarse en el ADN, debido a

su planaridad (American Chemical Council, 2006). Por otro lado, la violeta de genciana (anteriormente empleado para tratar sangre donada y evitar infecciones por *T. cruzi*) presenta actividad antiparasitaria. Su actividad se debe a la formación de radicales libres al quitarle un electrón a NADPH o NADH lo que causa citotoxicidad en el parásito (Maley and Arbiser, 2013). El azul de metileno y la violeta de genciana pueden matar al parásito, ya que en sus estructuras hay grupos como la fenotiazina (azul de metileno) y bencenos (violeta de genciana) que se intercalan en el ADN de los parásitos. Esto a su vez puede presentar una desventaja, ya que por su reactividad pueden intercalarse en el ADN del hospedero también o poseer actividad sobre otros blancos moleculares. Lo que se sugiere es realizar un cribado virtual para colorantes y encontrar aquellos con la mejor actividad a las dosis más bajas. Esto con el objetivo de evitar, dentro de lo posible, daños colaterales debidos al tratamiento, otro punto a considerar es el balance riesgo/beneficio del uso de estos compuestos.



Violeta de genciana



Azul de metileno

Figura 11. Estructuras de colorantes con posible actividad anti chagastica.

3. Propuesta de nuevos métodos computacionales o la combinación de estrategias

10. Con las moléculas recopiladas en este trabajo, se podrían aplicar los modelos descritos por Bellera et. al. o Marcel et. al. para asegurar que las moléculas presentan o no actividad anti chagastica. Con los modelos propuestos por estos autores, también se podrían escanear más bases de datos, incluso repoDB.
11. Se sugiere crear modelos para *virtual screening* para cada diana biológica de interés y escanear tantas bases de datos como sea posible, incluyendo productos naturales y colorantes.
12. Con los resultados obtenidos del *virtual screening*, hacer acoplamiento y dinámica molecular para cada fármaco con potencial actividad anti chagastica, asegurando que el fármaco reposicionado ejerce acción sobre la diana biológica para la que se estudió.
13. Todos los autores buscan inhibir blancos moleculares diferentes, por lo que se sugiere iniciar con una búsqueda por homología con los ligandos descritos para dicho blanco molecular. Buscar el farmacóforo de las moléculas encontradas y posteriormente buscar moléculas que lo tengan presente en sus estructuras. Crear un modelo para realizar *virtual screening* y encontrar los fármacos con posible actividad, llevar acabo acoplamiento molecular para conocer las interacciones diana-ligando que se deben tener y conservar para que la molécula sea efectiva. Con *virtual screening* se pueden analizar diferentes bases de datos, entre ellas: DrugBank, ChEMBL, Sweetlead, bases de datos de productos naturales (de todo tipo de productos naturales) (Vanderlan and Medina, 2018), medicamentos huérfanos que se encuentran enlistados en *orpha.net*, ZINC (Zinc: <http://zinc.docking.org/>), etc.
14. Creación de un protocolo para el reposicionamiento de fármacos para la enfermedad de Chagas (Cortés-Ruiz et al., 2018)
 - a. Buscar la mayor cantidad posible de fármacos reposicionados que actúen sobre *Tripanotión reductasa* (TR) y *receptores AAAP* (*TcPAT12*).

- b. Crear un modelo de *virtual screening* para cada blanco y sus fármacos, obteniendo así, dos modelos de *virtual screening*, uno para TR y otro para TCPAT12.
 - c. HTS, cribado virtual de diversas bases de datos para *tripanotión reductasa* y *TcPAT12* e incluso sobre todos los posibles blancos moleculares (buscar aquellos con menor homología frente a proteínas humanas).
 - d. Los *hits* obtenidos someterlos a estudios de acoplamiento molecular, para ver cuál de ellos se une con el blanco molecular con mayor estabilidad.
15. Sobre la creación de un protocolo para el reposicionamiento de fármacos, Bellera et. al. lo hizo bien, ya que plantea tres pasos básicos para llevar a cabo el reposicionamiento.
- a. Recolectar fármacos que ya hayan sido clasificados, es decir, inhibidores de cruzipaina, TcPAT12, etc.
 - b. Generar conjuntos de entrenamiento. Estos conjuntos deben estar balanceados, por ejemplo, que la mitad de los compuestos sean activos y la otra mitad inactivos. Esto para favorecer que el modelo obtenido sea predictivo.
 - c. Definir una subestructura común, búsqueda por similitud entre moléculas.

Esto sólo para elegir las moléculas. Se puede seguir esta metodología o no dependiendo de la información disponible sobre la enfermedad, dianas biológicas y ligandos.

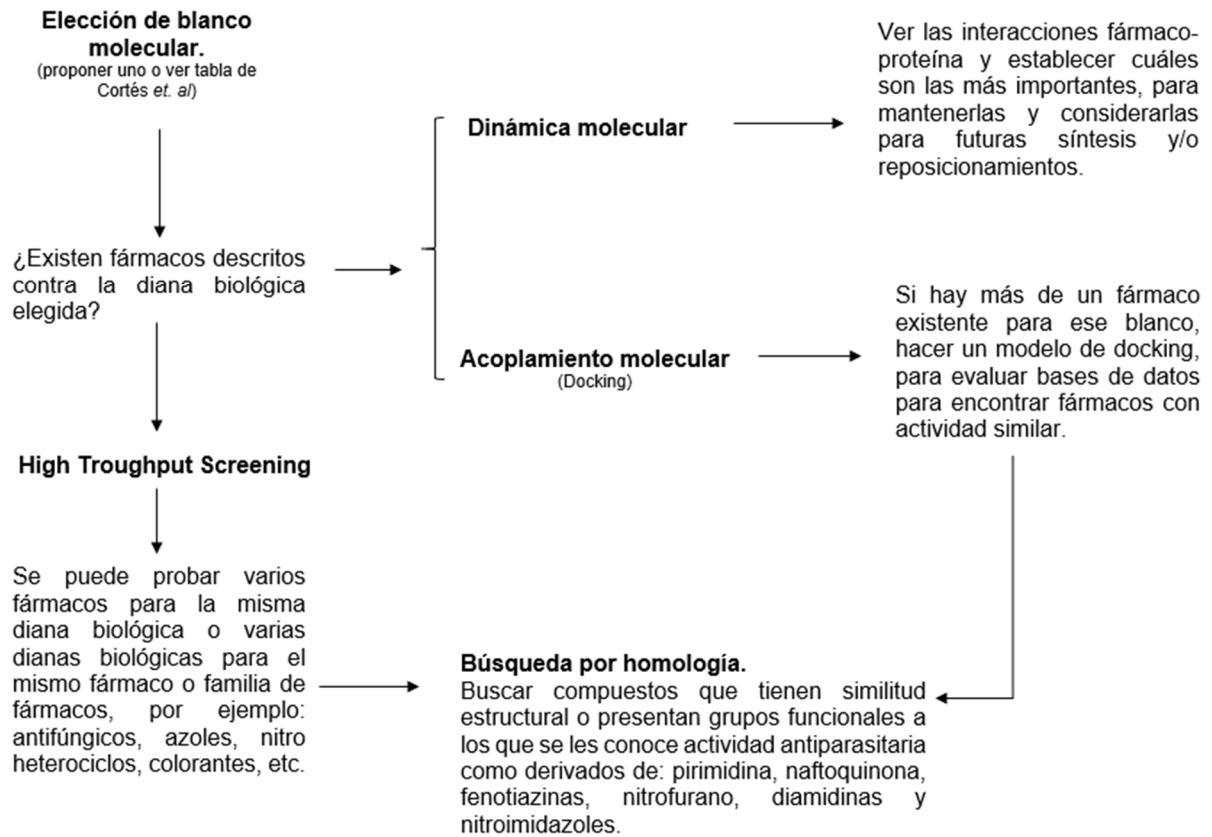


Figura 8. Esquema sobre una posible combinación de estrategias para un reposicionamiento con mayor probabilidad de éxito.

Conclusiones

Los objetivos de este trabajo se cumplieron ya que:

- El reposicionamiento de fármacos es una estrategia que puede emplearse con éxito para encontrar nuevos tratamientos, en especial para enfermedades que no son tan económicamente atractivas como las enfermedades tropicales. Esta estrategia es una alternativa rápida y económica a la investigación y desarrollo convencional de nuevos fármacos, siempre y cuando se cuente con las herramientas adecuadas y la información necesaria; es decir, que se tengan las estructuras cristalizadas de diferentes dianas biológicas, acceso a bibliotecas moleculares y se tenga el conocimiento de programas de cómputo.
- En este trabajo, se recopilaron las moléculas propuestas por diferentes autores tras realizar estudios de reposicionamiento para la enfermedad de Chagas. La mayoría de ellas son antifúngicos como el posaconazol y el sertaconazol.
- La modificación de las entidades químicas reposicionadas genera una nueva entidad química, por lo que hay que comenzar su evaluación desde cero.
- Las mejoras a los métodos empleados que se plantean en este trabajo están enfocados al orden y organización de éstos. Se propone que se elija una diana biológica relevante, que se conozca a profundidad lo que se sabe sobre esta y que se empleen métodos computacionales para escanear bases de datos moleculares a las que se tenga acceso.

Perspectivas

- Desarrollar una base de datos de *fingerprints* para proteínas de *T. cruzi*.
- Crear una base de datos con los fármacos con posible actividad anti-chagásica y los que se sabe que no tienen ninguna actividad anti-chagásica.
- Escanear bases de datos de productos naturales utilizando métodos computacionales seguido de las pruebas experimentales correspondientes
- Aunque los fármacos reposicionados, principalmente, son antifúngicos, antihistamínicos y bloqueadores de canales de calcio, se sugiere ampliar el dominio de búsqueda con otras clases de fármacos.

Bibliografía

- Alberca, Lucas N., María L. Sbaraglini, Darío Balcazar, Laura Fraccaroli, Carolina Carrillo, Andrea Medeiros, Diego Benitez, Marcelo Comini, and Alan Talevi. 2016. "Discovery of Novel Polyamine Analogs with Anti-Protozoal Activity by Computer Guided Drug Repositioning." *Journal of Computer-Aided Molecular Design* 30 (4): 305–21. <https://doi.org/10.1007/s10822-016-9903-6>.
- Alberca, Lucas N, María L Sbaraglini, Juan F Morales, Roque Dietrich, María D Ruiz, Agustina M Pino Martínez, Cristian G Miranda, et al. 2018. "Cascade Ligand- and Structure-Based Virtual Screening to Identify New Trypanocidal Compounds Inhibiting Putrescine Uptake." *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 8 (May): 173. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00173>.
- Alonso-Padilla, Julio, and Ana Rodríguez. 2014. "High Throughput Screening for Anti-Trypanosoma Cruzi Drug Discovery." *PLoS Neglected Tropical Diseases* 8 (12). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003259>.
- Bahia, Maria T., Alvaro F S Nascimento, Ana Lia Mazzeti, Luiz F. Marques, Karolina R. Gonçalves, Ludmilla W R Mota, Livia F. De Diniz, et al. 2014. "Antitrypanosomal Activity of Fexinidazole Metabolites, Potential New Drug Candidates for Chagas Disease." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 58 (8): 4362–70. <https://doi.org/10.1128/AAC.02754-13>.
- Bahia, Maria Terezinha, Isabel Mayer de Andrade, Tassiane Assíria Fontes Martins, Álvaro Fernando da Silva do Nascimento, Livia de Figueiredo Diniz, Ivo Santana Caldas, André Talvani, Bernadette Bourdin Trunz, Els Torreele, and Isabela Ribeiro. 2012. "Fexinidazole: A Potential New Drug Candidate for Chagas Disease." *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6 (11). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001870>.
- Beig, Mathias, Frank Oellien, Linnéa Garoff, Sandra Noack, R. Luise Krauth-Siegel, and Paul M. Selzer. 2015. "Trypanothione Reductase: A Target Protein for a Combined in Vitro and in Silico Screening Approach." *PLoS Neglected Tropical Diseases* 9 (6): 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003773>.

- Bellera, Carolina L., Darío E. Balcazar, Lucas Alberca, Carlos A. Labriola, Alan Talevi, and Carolina Carrillo. 2013. "Application of Computer-Aided Drug Repurposing in the Search of New Cruzipain Inhibitors: Discovery of Amiodarone and Bromocriptine Inhibitory Effects." *Journal of Chemical Information and Modeling* 53 (9): 2402–8. <https://doi.org/10.1021/ci400284v>.
- Bellera, Carolina L., Darío E. Balcazar, Lucas Alberca, Carlos A. Labriola, Alan Talevi, and Carolina Carrillo. 2014. "Identification of Levothyroxine Antichagasic Activity through Computer-Aided Drug Repurposing." *The Scientific World Journal*. <https://doi.org/10.1155/2014/279618>.
- Bellera, Carolina L., Darío E. Balcazar, M. Cristina Vanrell, A. Florencia Casassa, Pablo H. Palestro, Luciana Gavernet, Carlos A. Labriola, et al. 2015. "Computer-Guided Drug Repurposing: Identification of Trypanocidal Activity of Clofazimine, Benidipine and Saquinavir." *European Journal of Medicinal Chemistry* 93: 338–48. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.01.065>.
- Benaim, Gustavo, John M. Sanders, Yael Garcia-Marchán, Claudia Colina, Renee Lira, Aura R. Caldera, Gilberto Payares, et al. 2006. "Amiodarone Has Intrinsic Anti-Trypanosoma Cruzi Activity and Acts Synergistically with Posaconazole." *Journal of Medicinal Chemistry* 49 (3): 892–99. <https://doi.org/10.1021/jm050691f>.
- Benaim G. & Paniz Mondolfi Alberto E. 2012. "The emerging role of amiodarone and dronedarone in Chagas disease" *Nature Reviews Cardiology*, 9, 605. <http://dx.doi.org/10.1038/nrcardio.2012.108>
- Bern, Caryn. 2015. "Chagas' Disease." *New England Journal of Medicine* 373 (5): 456–66. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1410150>.
- Botero, Adriana, Irit Kapeller, Crystal Cooper, Peta L. Clode, Joseph Shlomai, and R. C. Andrew Thompson. 2018. "The Kinetoplast DNA of the Australian Trypanosome, Trypanosoma Copemani, Shares Features with Trypanosoma Cruzi and Trypanosoma Lewisi." *International Journal for Parasitology* 48 (9–10): 691–700. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2018.02.006>.

- Brown, Adam S., and Chirag J. Patel. 2017. "A Standard Database for Drug Repositioning." *Scientific Data* 4: 1–7. <https://doi.org/10.1038/sdata.2017.29>.
- Chatelain, Eric. 2017. "Chagas Disease Research and Development: Is There Light at the End of the Tunnel?" *Computational and Structural Biotechnology Journal* 15: 98–103. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2016.12.002>.
- Cortés-Ruiz, Eduardo M., Oscar Palomino-Hernández, Karla Daniela Rodríguez-Hernández, Bertha Espinoza, and José L. Medina-Franco. 2018. "Computational Methods to Discover Compounds for the Treatment of Chagas Disease." *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*. <https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2018.03.005>.
- Coura, José Rodrigues. 2003. "Tripanosomose, Doença de Chagas." *Ciência e Cultura* 55 (1): 30–33.
- Dietrich, R. C., L. N. Alberca, M. D. Ruiz, P. H. Palestro, C. Carrillo, A. Talevi, and L. Gavernet. 2018. "Identification of Cisapride as New Inhibitor of Putrescine Uptake in Trypanosoma Cruzi by Combined Ligand- and Structure-Based Virtual Screening." *European Journal of Medicinal Chemistry* 149: 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.02.006>.
- Ekins, Sean, Antony J. Williams, Matthew D. Krasowski, and Joel S. Freundlich. 2011. "In Silico Repositioning of Approved Drugs for Rare and Neglected Diseases." *Drug Discovery Today* 16 (7–8): 298–310. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2011.02.016>.
- Gallant, Joseph P., Raquel Asunción Lima-Cordón, Silvia A. Justi, Maria Carlota Monroy, Toni Viola, and Lori Stevens. 2018. "The Role of Natural Selection in Shaping Genetic Variation in a Promising Chagas Disease Drug Target: Trypanosoma Cruzi Trans-Sialidase." *Infection, Genetics and Evolution* 62 (November 2017): 151–59. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.04.025>.
- Jin, Guangxu, and Stephen T C Wong. 2014. "Toward Better Drug Repositioning: Prioritizing and Integrating Existing Methods into Efficient Pipelines." *Drug Discovery Today* 19 (5): 637–44. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2013.11.005>.

- Kaiser, Marcel, Pascal Mäser, Leela Pavan Tadoori, Jean Robert Ioset, Reto Brun, and David J. Sullivan. 2015. "Antiprotozoal Activity Profiling of Approved Drugs: A Starting Point toward Drug Repositioning." *PLoS ONE* 10 (8): 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135556>.
- Kessler, Rafael Luis, Víctor Tulio Contreras, Newmar Pinto Marlière, Alessandra Aparecida Guarneri, Luz Helena Villamizar Silva, Giovanny Augusto Camacho Antevere Mazzarotto, Michel Batista, Vanete Thomaz Soccol, Marco Aurelio Krieger, and Christian Macagnan Probst. 2017. "Recently Differentiated Epimastigotes from *Trypanosoma Cruzi* Are Infective to the Mammalian Host." *Molecular Microbiology* 104 (5): 712–36. <https://doi.org/10.1111/mmi.13653>.
- Khare, Shilpi, Steven L Roach, S Whitney Barnes, and Dominic Hoepfner. 2015. "Utilizing Chemical Genomics to Identify Cytochrome b as a Novel Drug Target for Chagas Disease," 1–22. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005058>.
- Klug, Dana M., Michael H. Gelb, and Michael P. Pollastri. 2016. "Repurposing Strategies for Tropical Disease Drug Discovery." *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 26 (11): 2569–76. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2016.03.103>.
- Langedijk, Joris, Aukje K. Mantel-Teeuwisse, Diederick S. Slijkerman, and Marie Hélène D.B. Schutjens. 2015. "Drug Repositioning and Repurposing: Terminology and Definitions in Literature." *Drug Discovery Today* 20 (8): 1027–34. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2015.05.001>.
- Leite, Débora Inácio, Fábio de Vasconcellos Fontes, Monica Macedo Bastos, Lucas Villas Boas Hoelz, Maria da Conceição Avelino Dias Bianco, Andressa Paula de Oliveira, Patricia Bernardino da Silva, Cristiane França da Silva, Denise da Gama Jean Batista, and Aline Nefertiti Silva da Gama. 2018. "New 1, 2, 3- \square triazole based Analogues of Benznidazole for Use against *Trypanosoma Cruzi* Infection: In Vitro and in Vivo Evaluations." *Chemical Biology & Drug Design*, no. April: 1–13. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13333>.

- Maley, Alexander M., and Jack L. Arbiser. 2013. "Gentian Violet: A 19th Century Drug Re-Emerges in the 21st Century." *Experimental Dermatology* 22 (12): 775–80. <https://doi.org/10.1111/exd.12257>.
- Marcel, Alfredo Meneses, Maricel Meneses Gómez, Cristina Fonseca Berzal, and Alicia Gómez Barrio. 2015. "Herramienta Computacional Para La Selección de Multiclasificadores a Partir de Modelos QSAR Utilizados En La Identificación de Compuestos Con Actividad Frente a Trypanosoma Cruzi Computational Tool for Selecting Multiclassifiers from QSAR Models Used in T," no. Recpat: 1–8.
- Maya, Juan Diego, Bruce K. Cassels, Patricio Iturriaga-Vásquez, Jorge Ferreira, Mario Faúndez, Norbel Galanti, Arturo Ferreira, and Antonio Morello. 2007. "Mode of Action of Natural and Synthetic Drugs against Trypanosoma Cruzi and Their Interaction with the Mammalian Host." *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology* 146 (4): 601–20. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.03.004>.
- McGarry, Ken, Nicole Slater, and Angela Amanning. n.d. "Identifying Candidate Drugs for Repositioning by Graph Based Modeling Techniques Based on Drug Side-Effects." https://fas-web.sunderland.ac.uk/~cs0kmc/UKCI2015_McGarry.pdf
- Pinto-Martinez, Andrea, Vanessa Hernández-Rodríguez, Jessica Rodríguez-Durán, Elżbieta Hejchman, and Gustavo Benaim. 2018. "Anti-Trypanosoma Cruzi Action of a New Benzofuran Derivative Based on Amiodarone Structure." *Experimental Parasitology* 189: 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2018.04.010>.
- Salazar-Schettino, Paz María, Martha Irene Bucio-Torres, Margarita Cabrera-Bravo, Mariana Citlalli de Alba-Alvarado, Diana Rocío Castillo-Saldaña, Edgar Arturo Zenteno-Galindo, Julieta Rojo-Medina, Nadia Angélica Fernández-Santos, and María Gabriela Perera-Salazar. 2016. "Enfermedad de Chagas En México." *Revista de La Facultad de Medicina UNAM* 59 (3): 6–16.

- Salomão, K, and S L Castro. 2017. "Recent Advances in Drug Development for Chagas Disease: Two Magic Words, Combination and Repositioning. Different Aspects on Chemotherapy of Trypanosomatids". *Nova Science Publishers* Vol. 1. (8): 181-226. https://www.researchgate.net/profile/Solange_Castro2/publication/317935070_Recent_advances_in_drug_development_for_chagas_disease_Two_magic_words_combination_and_repositioning/links/595be648aca272f3c0888a15/Recent-advances-in-drug-development-for-chagas-disease-Two-magic-words-combination-and-repositioning.pdf
- Sánchez-Cruz, N.; Medina-Franco, J.L. "Statistical-Based Database Fingerprint: Chemical space dependent representation of compound databases". *Journal of Cheminformatics* (2018, revision requested).
- Sbaraglini, María L., Carolina L. Bellera, Laura Fraccaroli, Luciana Larocca, Carolina Carrillo, Alan Talevi, and Catalina D. Alba Soto. 2016. "Novel Cruzipain Inhibitors for the Chemotherapy of Chronic Chagas Disease." *International Journal of Antimicrobial Agents* 48 (1): 91–95. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.02.018>.
- Souza, Anacleto S. de, Marcelo T. de Oliveira, and Adriano D. Andricopulo. 2017. "Development of a Pharmacophore for Cruzain Using Oxadiazoles as Virtual Molecular Probes: Quantitative Structure–activity Relationship Studies." *Journal of Computer-Aided Molecular Design* 31 (9): 801–16. <https://doi.org/10.1007/s10822-017-0039-0>.
- Tognolini, Massimiliano, Matteo Incerti, Daniele Pala, Simonetta Russo, Riccardo Castelli, Iftiin Hassan-Mohamed, Carmine Giorgio, and Alessio Lodola. 2014. "Target Hopping as a Useful Tool for the Identification of Novel EphA2 Protein-Protein Antagonists." *ChemMedChem* 9 (1): 67–72. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201300305>.
- Torreale, Els, Bernadette Bourdin Trunz, David Tweats, Marcel Kaiser, Reto Brun, Guy Mazué, Michael A. Bray, and Bernard Pécoul. 2010. "Fexinidazole - a New

Oral Nitroimidazole Drug Candidate Entering Clinical Development for the Treatment of Sleeping Sickness.” *PLoS Neglected Tropical Diseases* 4 (12): 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000923>.

Urbina, Julio A. 2015. “Recent Clinical Trials for the Etiological Treatment of Chronic Chagas Disease: Advances, Challenges and Perspectives.” *Journal of Eukaryotic Microbiology* 62 (1): 149–56. <https://doi.org/10.1111/jeu.12184>.

Vanderlan da Silva Bolzani, Medina-Franco, J.L. Chemical diversity of NuBBE database: A chemoinformatic characterization. 2018, submitted.

V. C. Sinatti, Vanessa de, Luiz Phillippe Luiz, Marcelo Alves-Ferreira, Laurent Dardenne, João Hermínio Martins da Silva, and Ana Carolina Guimarães. 2017. “In Silico Identification of Inhibitors of Ribose 5-Phosphate Isomerase from *Trypanosoma Cruzi* Using Ligand and Structure Based Approaches.” *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 77: 168–80. <https://doi.org/10.1016/j.jmglm.2017.08.007>.

Recursos en línea

- Consejo Americano de Química (American Chemical Council). *Chlorine Chemistry*. 11, 2006. <https://chlorine.americanchemistry.com/Science-Center/Chlorine-Compound-of-the-Month-Library/Methylene-Blue-Part-1-The-Biologists-Dye/> (accesado 09 11, 2018).
- CDC. Centro de Control y Prevención de Enfermedades (*Centers for Disease Control and Prevention*). agosto 13 , 2018. <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/biology.html> .
- Cevallos Ana María, Hernández Roberto. *biblioweb*. n.d. <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap15/> (accessed Septiembre 20, 2018).
- DNDi . Iniciativa de Fármacos para enfermedades Olvidadas. (*Drugs for Neglected Disease initiative*), agosto 2018. <https://www.dndi.org/diseases-projects/portfolio/screening-chagas/> (accessed Septiembre 25 , 2018).
- DNDi. Iniciativa de Fármacos para enfermedades Olvidadas. (*Drugs for Neglected Disease initiative*). noviembre 14, 2013. <https://www.dndi.org/2013/media-centre/langues-press-releases/e1224-es/> (accessed agosto 31, 2018).
- . Iniciativa de Fármacos para enfermedades Olvidadas. (*Drugs for Neglected Disease initiative*). n.d. <https://www.dndi.org/diseases-projects/chagas/chagas-target-product-profile/> (accessed Noviembre 8, 2018).
- . Iniciativa de Fármacos para enfermedades Olvidadas. (*Drugs for Neglected Disease initiative*). Agosto 2017. <https://www.dndi.org/diseases-projects/portfolio/discovery-activities/> (accessed Septiembre 25 , 2018).
- Banco de fármacos (Drugbank). *drugbank.ca*. n.d. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB12554> (accessed 09 10, 2018).
- Banco de fármacos (Drugbank). *drugbank.ca*. n.d. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00602> (accessed Septiembre 25, 2018).
- . Banco de fármacos (Drugbank) *drugbank.ca*. n.d. <https://www.drugbank.ca/drugs/DB13132> (accessed septiembre 25 , 2018).
- Directorio de Asociaciones para la salud (Health Partnerships Directory). *IFPMA* . 09 2013. <http://partnerships.ifpma.org/partnership/gsk-dndi-collaboration> (accessed 09 24, 2018).
- Investigación y ciencia . *investigacionyciencia.es*. Octubre 5, 2015. <https://www.investigacionyciencia.es/noticias/nobel-de-fisiologa-o-medicina-2015-13598> (accessed Septiembre 25, 2018).

- Biblioteca Nacional de Medicina (National Library of Medicine). *clinicaltrials.gov*.
n.d.
<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=Chagas+Disease&term=&cntry=&state=&city=&dist=> (accessed 09 03, 2018).
- WHO. Organización Mundial de la Salud (*World Health Organization*). Agosto 13 ,
2018. <http://www.who.int/chagas/en/>.
- Zinc. *Zinc12*. n.d. <http://zinc.docking.org/> (accessed 09 03, 2018).