

UACM

Universidad Autónoma
de la Ciudad de México

Nada humano me es ajeno

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE

MÉXICO COLEGIO DE CIENCIA Y

TECNOLOGÍA

POSGRADO EN CIENCIAS GENÓMICAS

TÍTULO:

“Diseño *in silico* de una librería química a partir de moléculas activas utilizadas contra la tricomoniasis”

TESIS DE POSGRADO

PARA OPTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS GENÓMICAS

P R E S E N T A:

Biólogo Experimental. José Alberto Santiago de la Cruz

DIRECTORA

Dra. María Elizbeth Álvarez Sánchez

Universidad Autónoma de la Ciudad de México (UACM)

POSGRADO EN
CIENCIAS
GENÓMICAS

COORDIRECTOR

Dr. Juan Carlos Verjan Gómez

Instituto Nacional de Geriátría (INGER)

Ciudad de México, enero de 2023.

SISTEMA BIBLIOTECARIO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE LA CIUDAD DE MÉXICO COORDINACIÓN ACADÉMICA

RESTRICCIONES DE USO PARA LAS TESIS DIGITALES

DERECHOS RESERVADOS[©]

La presente obra y cada uno de sus elementos está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor; por la Ley de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México, así como lo dispuesto por el Estatuto General Orgánico de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México; del mismo modo por lo establecido en el Acuerdo por el cual se aprueba la Norma mediante la que se Modifican, Adicionan y Derogan Diversas Disposiciones del Estatuto Orgánico de la Universidad de la Ciudad de México, aprobado por el Consejo de Gobierno el 29 de enero de 2002, con el objeto de definir las atribuciones de las diferentes unidades que forman la estructura de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México como organismo público autónomo y lo establecido en el Reglamento de Titulación de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México.

Por lo que el uso de su contenido, así como cada una de las partes que lo integran y que están bajo la tutela de la Ley Federal de Derecho de Autor, obliga a quien haga uso de la presente obra a considerar que solo lo realizará si es para fines educativos, académicos, de investigación o informativos y se compromete a citar esta fuente, así como a su autor ó autores. Por lo tanto, queda prohibida su reproducción total o parcial y cualquier uso diferente a los ya mencionados, los cuales serán reclamados por el titular de los derechos y sancionados conforme a la legislación aplicable.

INTEGRACIÓN DEL JURADO

PRESIDENTA: Dra. Minerva Camacho Nuez. UACM

SECRETARIO: Dra. María Elizbeth Álvarez Sánchez. UACM

VOCAL: Dr. Juan Carlos Verjan Gómez. INGER

Plantel de adscripción:

PLANTEL DEL VALLE, UACM.

DIRECTORA

Dra. María Elizbeth Álvarez Sánchez

Posgrado en Ciencias Genómicas

Universidad Autónoma de la Ciudad de México

**“Investigar es ver lo que todo el mundo ha visto,
y pensar lo que nadie más ha pensado”**

Albert Szent-Györgi

**“Somos el medio que el universo utiliza
para conocerse a sí mismo”**

Carl Sagan

**“El presente es de ustedes,
pero el futuro es nuestro”**

Nicola Tesla

AGRDECIMIENTOS

A la **vida**, por permitirme vivir y experimentar este proceso.

A la **familia** por acompañarme y ser un pilar en todo momento.

A la **Universidad Autónoma de la Ciudad de México (UACM)** y al **Posgrado en Ciencias Genómicas**, por abrirme las puertas de la institución y contribuir a mi formación académico/profesional.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por el apoyo económico recibido para la realización de mis estudios de Maestría, con N° de CVU 1082640

A todos los **Drs. del Posgrado en Ciencias Genómicas**, por contribuir en mi formación como Maestro en Ciencias Genómicas.

A la **Dra. María Elizbeth Álvarez Sánchez** por permitirme formar parte de su grupo de trabajo y por todas sus enseñanzas.

Al **Dr. Juan Carlos Gomez Verjan** por ser mi guía durante este proceso, además de orientarme y compartir su conocimiento en los análisis quimiinformáticos realizados en este proyecto.

Al **Dr. Rodrigo Arreola Alemón** por orientarme en los análisis bioinformáticos realizados en ese proyecto y tener empatía en compartir su experiencia en el área.

A la **Dra. Minerva Camacho Nuez** por sus comentarios asertivos y su pronta respuesta a mis solicitudes.

A la **MCG. Sharon Itzel Sosa Mondragon** por la ayuda y la amistad brindada, así como al tiempo que me brindo.

A la **Lic. Fátima Catalina Sánchez Domínguez** por la enorme ayuda administrativa que me brindo dentro del posgrado.

A la **MCG. Laura Vázquez Carrillo** por facilitarme los espacios dentro de laboratorio.

Al **Dr. Jose de Jesus Olivares** por hablar conmigo y ayudarme a tomar la decisión de continuar adelante en el posgrado cuando yo había tomado la decisión de salirme del mismo.

A mis compañeros de posgrado, **Luis Fernando Diaz Martinez, Anahí Tania Sánchez León, Marcos Morales Reyna, Jorge Alfredo Campoy Ramirez**, por ser parte de los momentos vividos y el apoyo mutuo en las actividades realizadas.

A mis compañeros de laboratorio, **Enrique, Adriana, Andrea, Yaqui y demás**, por contagiarme su entusiasmo en el laboratorio.

A mi equipo de trabajo **Eco-cooperativa Agro-Social (ECAS), Ámbar Osorio, Oliver Martinez, Angel Vega, Marina Duran y Marco Santiago** por ser parte del gremio en sostenibilidad, por brindarme su apoyo y su amistad en toda esta aventura que emprendimos, y ser parte de este equipo de activistas que queremos mejorar el medio ambiente.

A **todas las personas que se han cruzado en mi camino** y de las cuales he aprendido mucho, ya que cuando somos observadores, todos son nuestros maestros.

Por estar presentes.... ¡GRACIAS!

DEDICATORIAS

A mi padre **Marco Antonio Santiago Rodríguez** por siempre apoyarme en todo momento de mi vida y ser mi mayor inspiración de superación. “Hay mas tiempo que vida”

A mi madre **Ivonne de la Cruz Beltran** por siempre darme los mejores consejos de la mi vida y saber contener a este pequeño demonio que soy.

A mis hermanos **Jorge Armando Santiago de la Cruz y Marco Antonio Santiago de la Cruz** por ser mis compañeros de travesuras, y más grandes por ser inspiración y un motivo de superación personal.

A mis **tíos, primos y abuelos** por siempre abrirme un pedacito de sus corazones.

A mi pareja **Lizbeth Alejandra Nava Arroyo** por formar parte de mis vivencias y ser mi compañera y cómplice en esta aventura llamada vida.

A **todos ustedes** les dedico este logro y todos los demás por venir...

LOS AMO

INDICE

RESUMEN	
ABSTRACT	
1. INTRODUCCIÓN	14
1.1 Tricomoniasis	14
1.2 <i>Trichomonas vaginalis</i>	14
1.3 Diagnostico	15
1.4 Epidemiología	15
1.5 Morfología	16
1.6 Ciclo biológico	18
1.7 Características génicas de <i>T. vaginalis</i>	20
1.8 Metabolismo	20
1.9 Propiedades de virulencia	21
1.10 Función biológica de los metales	25
1.11 Metaloproteínas	26
1.11.1 TvMP50	27
1.12 Tratamiento	29
1.12.1 Mecanismo de acción del Metronidazol	30
1.12.2 Efectos adversos del metronidazol	31
1.12.3 Resistencia al metronidazol	31
1.12.3.1 Resistencia aerobia	31
1.12.3.2 Resistencia anaerobia	31
1.13 Necesidades de nuevos compuestos	32
1.14 Quimioinformática	32
1.14.1 Diseño de fármacos asistidos por computadora	33
1.14.2 Bases de datos	34
1.14.3 Cribado de alto rendimiento o tamizado masivo (High Throughput Screening)	36
1.14.4 Descriptores moleculares	36
1.14.5 Acoplamiento molecular	37
1.14.6 Fragmentación de compuestos	38
1.14.7 Huella dactilar digital (Fingerprint)	40
2. Antecedentes particulares	40
3. Justificación	44
4. Hipótesis	44
5. Objetivos	44
5.1 Objetivo general	44
5.2 Objetivos particulares	45
6. Estrategia experimental <i>In silico</i>	46
7. Metodología	47
7.1 Búsqueda de bases de datos	47
7.2 Análisis de descriptores moleculares	47
7.3 Docking molecular de compuestos reportados	47
7.4 Generación de compuestos líderes	48
7.5 Generación de fragmentos	48
7.6 Ensamblaje de quimeras	48

7.7 Docking molecular de quimeras	48
7.8 Hualle dactilar digital	49
8. Resultados	49
8.1 Búsqueda bibliográfica	49
8.2 Creación de base de datos primaria	51
8.3 Tamizado por descriptores moleculares de base datos primaria	52
8.4 Reglas de Lipinski	55
8.5 Librería química inicial	56
8.6 Docking molecular de librería química inicial con TvMP50	57
8.7 Librería química secundaria	61
8.8 Fragmentos de compuestos de librería secundaria	62
8.9 Análisis de similaridad	65
8.10 Librería de compuestos quiméricos	66
8.11 Docking molecular de las quimeras creadas	70
8.12 Quimera mejor acoplada con TvMP50	72
8.13 Análisis de similaridad por huella digital (Fingerprint)	73
9. Discusión	80
10. Conclusión	83
11. Perspectivas	83
12. Agradecimientos	83
13. Referencias bibliográficas	84
14. Anexos	96

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Morfología de <i>T. vaginalis</i>	18
Figura 2. Ciclo de vida de <i>T. vaginalis</i>	19
Figura 3. Metaloproteinasa TvMP50	28
Figura 4. Mecanismo de acción del metronidazol	30
Figura 5. Diseño de fármacos asistido por computadora	34
Figura 6. Generación de fragmentos moleculares.	39
Figura 7. Efectos tricomonocida de lucidin- ω -isopropyl éter	41
Figura 8. Derivados de tiazol como tricomonocida.	42
Figura 9. Efectos tricomonocida de A4	43
Figura 10. Filtrado por Sublime Text3.	49
Figura 11. Ejemplo de compendio	50
Figura 12. Obtención de SMILE por el software Molinspiration	50
Figura 13. Tabla de compuestos primaria	51
Figura 14. Pesos moleculares de los compuestos presentes en la tabla primaria	52
Figura 15. Aceptores de enlaces de hidrógeno de los compuestos presentes en la tabla primaria	53
Figura 16. Donantes de enlaces de hidrógeno de los compuestos presentes en la tabla primaria.	54
Figura 17. LogP de los compuestos presentes en la tabla primaria	55
Figura 18. Compuestos que cumplen y no cumplen con reglas de Lipinski	56
Figura 19. Esquema representativo de la librería química inicial	57
Figura 20. Esquema representativo de la interacción entre TvMP50 y ATZ1	58
Figura 21. Esquema representativo de la interacción entre TvMP50 y Metronidazol	59
Figura 22. Grafica del valor ΔG de la librería primaria	60
Figura 23. Tabla del valor ΔG de la librería primaria	61
Figura 24. Esquema representativo de la librería química secundaria	62
Figura 25. Estructuras químicas de los compuestos que cumplen la regla de los lideres	63
Figura 26. Estructuras químicas de los compuestos lideres y sus scaffolds	64
Figura 27. Estructuras scaffolds de metronidazol, ATZ1 y ATZ2	64
Figura 28. Ejemplo del análisis de similaridad entre Emodine y los scaffolds	65
Figura 29. Esquema representativo de la librería de quimeras	66
Figura 30. Aceptores de enlaces de hidrógeno de las quimeras	67
Figura 31. Donantes de enlaces de hidrógeno de las quimeras	68
Figura 32. Log P de las quimeras	69
Figura 33. Peso molecular de las quimeras	70
Figura 34. Grafica de los ΔG de las quimeras	71
Figura 35. Tabla de los ΔG de las quimeras	72

Figura 36. Visualización del acoplamiento de la quimera Emodin-Lucidin isopropil ether	73
Figura 37. Análisis de huella dactilar digital de la quimera Emodin-Lucidin isopropil ether mediante Polypharmacology Browser	74
Figura 38. Análisis de huella dactilar digital de la quimera Emodin-Lucidin isopropil ether mediante SwissSimilarity	75
Figura 39. Aceptores de hidrógeno de los compuestos obtenidos por fingerprint	76
Figura 40. donantes de hidrógeno de los compuestos obtenidos por fingerprint	77
Figura 41. cLogP de los compuestos obtenidos por fingerprint	78
Figura 42. Peso molecular de los compuestos obtenidos por fingerprint ...	79
Figura 43. Valores de ΔG de compuestos obtenidos por Fingerprint	80

ABREVIATURAS

ΔG	Delta G (energía libre de Gibbs)
μm	micrómetros
CDF	Factor de desprendimiento celular
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EPI	Enfermedad inflamatoria pélvica
ITS	Infección de transmisión sexual
kDa	Kilo Dáltones
Mb	Megabase
ml	mililitros
mM	milimolar
min	minutos
NCBI	Centro Nacional de Información Biotecnológica
nm	nanómetros
OMS	Organización Mundial de la Salud
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
Tv	<i>Trichomonas vaginalis</i>
TvMP50	Metaloproteinasa de 50 KDa presente en <i>Trichomonas vaginalis</i>

Softwares y servidores utilizados

DataWarrior	https://openmolecules.org/datawarrior/
Discovery Studio	https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download
DruLiTo	http://www.niper.gov.in/pi_dev_tools/DruLiToWeb/DruLiTo_index.html
GitHub	https://github.com/
HDockServer	http://huanglab.phys.hust.edu.cn/hnadock/
MedusaDock	https://dokhlab.med.psu.edu/cpi/
Mesh-NCBI	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/
Molinspiration	https://www.molinspiration.com/
OpenBabel	https://openbabel.org/wiki/Main_Page
PatchDock	https://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/PatchDock/
Polifarmacology Browser	https://ppb2.gdb.tools/
PubChem	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/
PubMed	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/
RStudio	https://www.rstudio.com/
Sublime Text 3	https://www.sublimetext.com/3
SwissADME	http://www.swissadme.ch/
SwissDock	http://www.swissdock.ch/
SwissSimilarity	http://www.swisssimilarity.ch/
USCF Chimera	https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/

RESUMEN

Introducción: La tricomoniasis es la infección de transmisión sexual causada por el protozoo parásito *Trichomonas vaginalis* y está afecta al 3.9% de la población mundial, siendo la tricomoniasis la infección de transmisión sexual (ITS) no viral número uno a nivel global. La progresión de la enfermedad puede provocar graves problemas de salud y serias consecuencias para la vida reproductiva de los individuos. El metronidazol es el fármaco líder que se utiliza para tratar esta infección, en su forma reducida provoca roturas de la cadena de ADN del parásito, inhibiendo de esta manera su síntesis y afectando con ello su viabilidad. Sin embargo, se ha observado que el parásito presenta frecuentemente resistencia al metronidazol, por tanto, existe la necesidad de buscar nuevos compuestos con actividad tricomonocida. **Objetivo:** El objetivo de este trabajo es realizar una aproximación al diseño de fármacos asistidos por computadora, realizando una búsqueda de moléculas pequeñas (< 500 Daltons) que puedan actuar como fármaco contra la tricomoniasis. **Métodos:** Inicialmente realizamos una búsqueda de moléculas con potencial terapéutico contra *T. vaginalis*, usamos como blanco la metaloproteinasa TvMP50, que es un factor de virulencia del parásito involucrado en la citotoxicidad del parásito hacia la célula del hospedero. Posteriormente se desarrolló un screening de alto rendimiento basado en un análisis por descriptores moleculares; las moléculas resultantes se procesaron mediante un análisis de docking molecular para identificar aquellas moléculas que interactúan con el sitio activo de la TvMP50. Finalmente, se generaron fragmentos de las moléculas más activas que fueron ensamblados en nuevas entidades moleculares, que se volvieron a evaluar contra la proteína blanco. **Resultados:** De las moléculas iniciales encontradas en la literatura se logró filtrar seis moléculas candidatas que cumplen con reglas de Lipinski y tuvieron interacción con el sitio activo de TvMP50, las cuales fueron fragmentadas y ensambladas en quimeras, donde una de ellas (Emodine-Lucidin isopropyl ether) presentó un acoplamiento más óptimo hacia TvMP50. **Conclusión:** El uso de la quimioinformática nos permitió diseñar el Emodin-Lucidin-isopropil-ether una nueva entidad molecular quimérica que hipotéticamente tiene actividad contra TvMP50 de *T. vaginalis*.

ABSTRACT

Introduction: Trichomoniasis is a sexually transmitted disease caused by the protozoan parasite *Trichomonas vaginalis*. This parasite affects 3.9% of the world's population. *T. vaginalis* has developed resistance to metronidazole, which is a drug used for the treatment of this infection. The reduced form of metronidazole causes breaks in the parasite's DNA strand, inhibiting its synthesis and thus its viability. The parasite has shown resistance to metronidazole, therefore, is a need to search for new compounds with trichomonicide activity. **Objective:** This work aimed to perform an approach to the computer-assisted drug design, searching for small molecules (< 500 Da) that can act as a drug against trichomoniasis. **Methods:** For this, first, we performed a search for molecules with therapeutic potential against *T. vaginalis*, using as a target a metalloproteinase, TvMP50, which is a virulence factor of the parasite involved in its cytotoxicity toward the host cell. Subsequently, a high-throughput screening based on molecular descriptor analysis was developed; the resulting molecules were processed by molecular docking analysis to identify the molecules with better interaction with the active site of TvMP50. Finally, fragments of the most active molecules were generated and assembled into new molecular entities, which were re-evaluated against the target protein. **Results:** We found 34 compounds with trichomonacidal activity by bibliographic analysis. Of them, 21/34 compounds accomplished Lipinski's rules and were evaluated by molecular docking against TvMP50. The compounds that interacted with the active site were fragmented and reassembled in chimeras. We obtained that the Emodine-Lucidin isopropyl chimera had the optimal binding into TvMP50. **Conclusion:** The chemoinformatic allowed us to obtain Emodin-Lucidin isopropyl ether, a new chimeric molecular entity with a hypothetical activity against TvMP50 of *T. vaginalis*.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Tricomoniasis

La tricomoniasis es la infección de transmisión sexual (ITS) no viral más común a nivel global. La mayoría de las mujeres presenta síntomas cuando presenta tricomoniasis, mientras que alrededor del 80% de los hombres son asintomáticos, siendo considerados portadores y transmisores (Cadena V. Daniel, 2006). Los signos y síntomas presentes en la mujer van desde picazón, ardor, dolor y/o enrojecimiento de los genitales, molestias al orinar, así como una secreción que puede ser clara, blanquecina o amarillenta con olor inusual y espumosa. Además, las mujeres infectadas refieren prurito, dispareunia y disuria, que se acentúan durante la menstruación, ya que el pH vaginal se eleva favoreciendo el crecimiento del parásito (Santos, 2014). La tricomoniasis está asociada a adenitis inguinal, piosalpingitis, endometritis, uretritis, vaginitis, cervicitis, enfermedad inflamatoria pélvica (EPI) e infertilidad tubárica. Cuando la infección se manifiesta en los varones, estos suelen presentar síntomas tales como, picazón o irritación por dentro del pene, secreción serosa desde la uretra, erecciones dolorosas, prurito en el glande y ardor después de orinar o eyacular. En cuanto a las complicaciones incluyen: uretritis, balanopostitis, prostatitis, cistitis, epididimitis y esterilidad; esta última se produce al unirse el parásito a la cola y la cabeza del espermatozoide, limitando su motilidad (Santos, 2014).

Para ambos casos, las consecuencias adversas graves incluyen enfermedad pélvica inflamatoria, mayor riesgo de transmisión e infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), así como el virus del papiloma humano (VPH) (P. Kissinger, 2015).

1.2 *Trichomonas vaginalis*

Trichomonas vaginalis (Tv) es el agente etiológico que causa la tricomoniasis, es un protozoo flagelado unicelular (Edwards et al., 2014). *T. vaginalis* según (*Taxonomy Browser (NCBI)*, n.d.) se clasifica en:

Reino: Protista

Orden: Trichomonadida

Familia: Trichomonadidae

Género: Trichomonas

Clase: Parabasalia

Especie: *vaginalis*.

1.3 Diagnóstico

La sintomatología básica de esta infección que incluye la irritación, la comezón y mal olor, hace difícil su detección bajo diagnóstico clínico exploratorio. Por otro lado, muchos individuos permanecen asintomáticos durante muchos años, generando más contagios. Sin embargo, existen diversas pruebas diagnósticas como la visualización microscópica de preparaciones húmedas, pruebas de Papanicolaou y amplificación de secuencias de ADN ribosomal por PCR convencional con cebadores específicos que permiten la amplificación del gen 5.8S y secuencias ITS1 e ITS2 del parásito, sin embargo, este tipo de diagnóstico es poco accesible. El cultivo de frotis vaginales y uretrales es la forma más eficaz de detectar la infección por *T. vaginalis* (P. J. Kissinger et al., 2022). En la especuloscopia, se observa eritema vaginal y cervical que muchos autores denominan “vagina en empedrado” y “cérvix en fresa”, esto debido a la dilatación de los capilares y a las hemorragias puntiformes en la vagina y el cérvix (Edwards et al., 2014).

Es importante que se hagan las pruebas de diagnóstico en pareja, ya que las mujeres que han recibido un diagnóstico positivo a menudo fueron infectadas por su pareja. Esto lleva a un tratamiento clínico y farmacológico en pareja, con el fin de evitar una reinfección (Santos, 2014).

1.4 Epidemiología

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima una incidencia de tricomoniasis de 276 millones de casos nuevos cada año y una prevalencia de 187 millones de personas infectadas en el mundo, que se estima oscila entre el 5% al 74% en mujeres y entre el 5% y el 29% para en hombres, y varía según la población de

estudio, donde la población más infectada son las mujeres de entre dieciséis y treinta años (Baker-Blocker, 2022). En México, durante la década de los noventa la tricomoniasis presentó un incremento en la incidencia de casos, con un total de 178 por cada 100,000 jóvenes de entre 15 a 24 años (Calzada et al., 2007). En el año 2017 según el boletín epidemiológico del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica se reportaron 47,004 casos, mientras que para el año 2021 hubo un reporte de 22,822 casos (*Boletín Epidemiológico Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información 2021 | Secretaría de Salud | Gobierno | Gob.Mx*, 2021). La práctica de múltiples parejas sexuales y la falta de uso del condón contribuyen a una mayor dispersión de la enfermedad en la población sexualmente activa (*Tricomoniasis*, 2014).

1.5 Morfología

La morfología de *T. vaginalis* es variable según el medio en el que se encuentra (Figura 1), así, en medios líquidos destacan piriformes u ovoides que cuentan con una gran actividad locomotriz (Figura 1A); y en medios sólidos como lo es el agar y cuando *T. vaginalis* está en contacto con el epitelio vaginal suele estar en forma ameboide (Figura 1B) (Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017). En su estadio piriforme el tamaño del parásito en preparaciones fijadas y teñidas tiene una longitud promedio de 10 µm y un ancho de 7 µm (Torian & Honigberg, 1991).

Los parásitos muestran una forma ovalada y generación de pseudópodos, pero no adquieren la forma ameboide cuando se encuentran en contacto con células DU-145 (células de cáncer de próstata derivadas del sitio metastásico de cerebro) (Figura 1C) (Quintas-Granados et al., 2013 y Vazquez Carrillo et al., 2011), *T. vaginalis* posee cuatro flagelos anteriores que le dotan de su motilidad de contracción característica de este parásito, con movimientos vibratorios y adireccionales, mientras que un flagelo único posterior forma el borde externo de la membrana ondulante que corre a lo largo de la célula, ayudando así a su motilidad, así como al transporte de nutrientes hacia el interior (Dias-Lopes et al., 2018). Los flagelos están cada uno anclado en su extremo anterior a una estructura cilíndrica llamada cinetosomas, y el conjunto de estas forman el complejo cinetosomal. Una

de las características morfológicas con valor taxonómico es el número de estos flagelos presentes en el trofozoíto (Alderete et al., 2001).

Este microorganismo posee un axostilo, un haz compuesto de microtúbulos que atraviesan las dos terceras partes del parásito a lo largo del eje anteroposterior desde la pelta hacia el entorno extracelular y cuya función está en la participación de la unión celular y la mitosis. El citoesqueleto también da lugar a estructuras tales como el complejo pelta-axostilar, la costa y el cuerpo parabasal (Nielsen & Nielsen, 2009).

En el citoplasma, el complejo pelta-axostilar contiene un sólo núcleo definido y al aparato parabasal, que se forma por fibras estriadas que se conectan al aparato de Golgi. La costa igualmente formada por fibras estriadas se asocia con el cinetosoma del flagelo que compone la membrana ondulante ejerciendo un soporte mecánico (Gonzalez-Robles, Arturo, 1995).

En el citoplasma se presentan numerosas vesículas y vacuolas que están relacionadas con procesos digestivos, de transporte y de endocitosis, así como hidrogenosomas y ribosomas adosados a gránulos de glucógeno y al retículo endoplásmico rugoso (Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017).

Los hidrogenosomas son pequeños orgánulos redox primitivos que producen hidrógeno molecular y ATP; evolucionados a partir de mitocondrias, se encuentran en los protozoos de la clase Parabasalidea (Benchimol, 2009). Estos orgánulos son de forma esférica y se localizan en su mayoría en las regiones paracostal y paraxostilar, su diámetro oscila entre 0.2 a 1 μm aunque en condiciones de estrés farmacológico logran duplicar su tamaño (de Andrade Rosa et al., 2006). *T. vaginalis* está rodeada por dos membranas que se encuentran muy juntas entre ellas, y presentan una matriz granular. En la matriz se ha detectado cardiolipina, que es un fosfolípido que participa en los procesos de oxidación de la cadena respiratoria mediante el transporte de electrones (de Andrade Rosa et al., 2006), también se ha observado una proteína mitocondrial conservada involucrada en el metabolismo del hierro, frataxina (Makiuchi & Nozaki, 2014). Los hidrogenosomas tienen una o múltiples vesículas periféricas, que incorporan calcio (de Andrade Rosa et al., 2006).

En el metabolismo energético de los hidrogenosomas, los azúcares son la principal fuente para generar ATP mediado por la ruta de glucólisis en el citosol, a través de la oxidación de piruvato y malato en condiciones anaeróbicas (Makki et al., 2019).

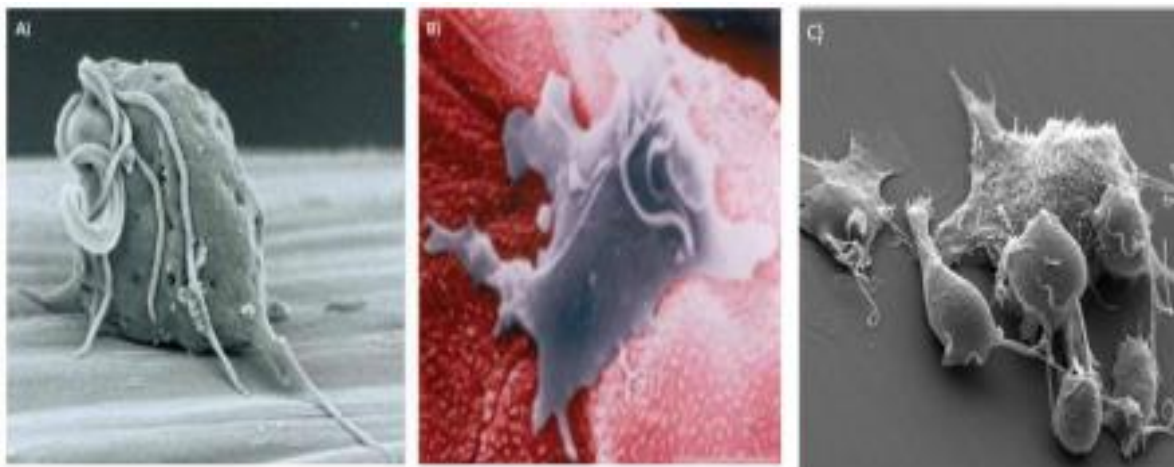


Figura 1. Morfología de *T. vaginalis*. A) Forma piriforme, donde se observan los flagelos, la membrana ondulante y el axostilo (Arroyo, R., 1993). B) Forma ameboide al contacto con células del epitelio vaginal (Arroyo, R., 1993). C) Forma ovoide con formación de pseudópodos al contacto con células DU-145 del epitelio prostático (Vazquez Carrillo et al., 2011).

1.6 Ciclo biológico

T. vaginalis no cuenta con un estadio de quiste o resistencia en su ciclo de vida, y por tanto solo se encuentra en un estado de trofozoíto y un ciclo biológico directo (Zarei et al., 2018). El ser humano es el único hospedador de *T. vaginalis*, y se encuentra principalmente en la uretra, próstata y epidídimo de los hombres, y en la vagina, así como en el cérvix de la mujer (Edwards et al., 2014; Benchimol, 2004). La forma de reproducción de *T. vaginalis* es de tipo asexual por fisión binaria y consiste en una criptopleuromitosis en la que la membrana nuclear persiste y los microtúbulos se polarizan en dos orgánulos llamados atractóforos, que realizan el papel de los centrosomas (Figura 2). La división inicia duplicando las estructuras cinetosomales y posterior ya la división nuclear mediante mitosis (Edwards et al., 2014).

T. vaginalis se encuentra presente en el tracto urogenital de la persona infectada y esta se transmite a su pareja mediante contacto genita durante el coito (Schwebke & Burgess, 2004). Las células de *T. vaginalis* modifican su estructura a una forma

ovoide y de esta manera se pueden adherir a la superficie epitelial de su nuevo hospedero, teniendo una mayor superficie de contacto e interacción con la superficie celular del epitelio (Santos, 2014).

También se han descrito casos de infección por transmisión vertical, de la madre al neonato durante el parto. En su gran mayoría, las infecciones neonatales no producen síntomas y se logra la cura mediante un tratamiento habitual de metronidazol o bien de manera natural mediante la disminución de los niveles de estrógeno materno a partir de la semana seis del recién nacido (Peters et al., 2021).

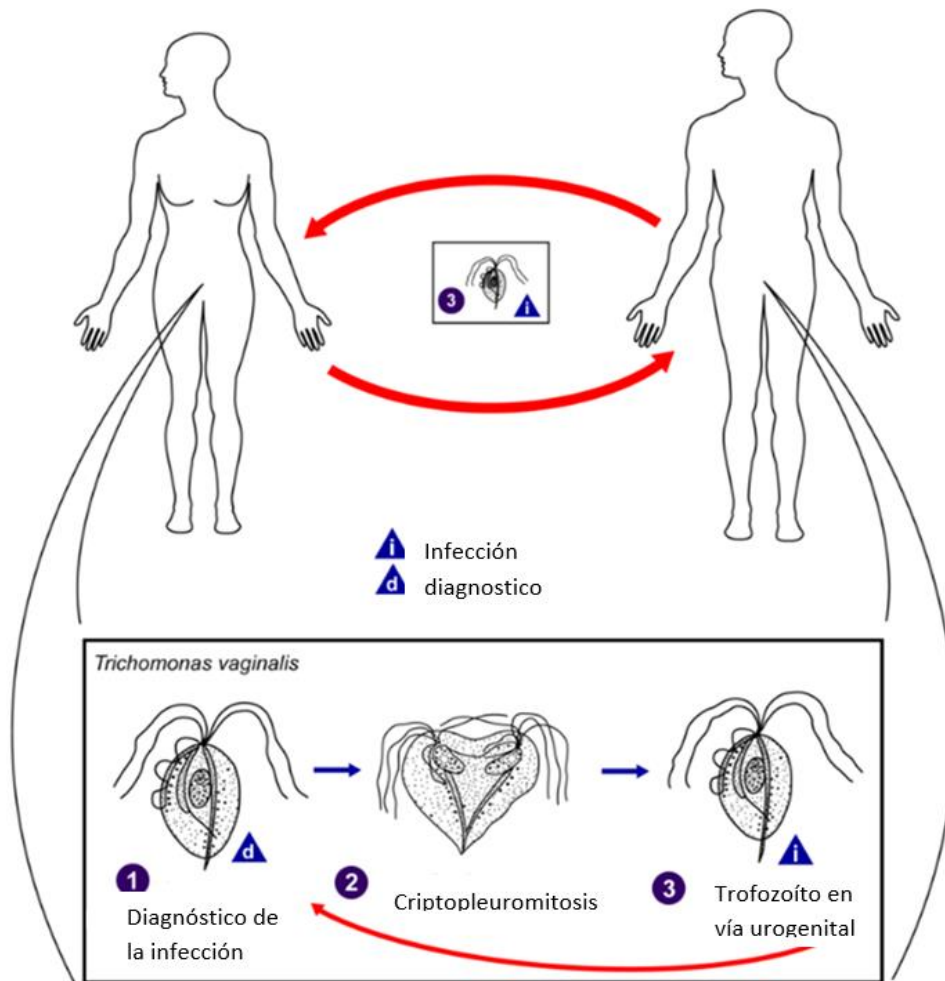


Figura 2. Ciclo de vida de *T. vaginalis*. Los individuos son infectados por medio de transmisión sexual, los trofozoítos se alojan en el tracto urogenital de las personas donde se llevará a cabo la criptopluromitosis o fisión binaria longitudinal, (Modificado de *Tricomoniass*, 2014)

1.7 Características del genoma de *T. vaginalis*

En la porción anterior del trofozoíto se localiza el núcleo celular que está rodeado por una membrana nuclear porosa. El género *Trichomonas* posee un genoma de gran tamaño, siendo el genoma de *T. vaginalis* el más grande de este género (Hirt et al., 2011). Este parásito tiene un genoma de 160 Mb de longitud, y está estructurando a 6 cromosomas; los datos de secuenciación del genoma indican la existencia de ~ 60,000 genes codificadores de proteínas y ~39 Mb del genoma está compuesto por familias de repetidos como los transposones, retrotransposones (Carlton et al., 2007).

Alrededor de 30,000 genes codifican proteínas que se expresan bajo diferentes circunstancias, aproximadamente el 65% de los genes de *T. vaginalis* poseen intrones con un sitio de splicing conservado de 12 nucleótidos. (Huang et al., 2000), por lo tanto, este parásito puede expresar diferencialmente sus genes, dependiendo de las condiciones microambientales en las que se encuentre (Huang et al., 2000).

1.8 Metabolismo

T. vaginalis capta los nutrientes formando vacuolas alimenticias mediante pinocitosis y fagocitosis ya que es un organismo que carece de citostoma (Sosa, 2021). En su metabolismo energético los azúcares son la principal fuente para generar ATP mediados por la ruta de glucólisis en el citosol, para generar ATP el hidrogenosoma lleva a cabo la oxidación de piruvato y malato en condiciones anaeróbicas (Benchimol 2009). El piruvato sufre una descarboxilación oxidativa por acción de la piruvato-ferredoxina oxidorreductasa (PFOR) formando acetato, H_2 y CO_2 . La proteína ferredoxina (Fd), actúa como transportadora de electrones en el hidrogenosoma y una vez reducida por la acción de la oxidorreductasa, vuelve a ser oxidada mediante la acción de la hidrogenasa (HD) produciendo hidrógeno molecular. Los productos que se generan tras el metabolismo son acetato, lactato, malato, glicerol, CO_2 e H_2 . Este metabolismo energético comienza en el citoplasma

a través de la vía clásica Embden-Meyerhoff-Parnas con la obtención de ATP (Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017).

T. vaginalis es incapaz de sintetizar ácidos grasos saturados e insaturados, colesterol y poliaminas, por lo que necesita del hospedero para adquirirlas (Lee et al., 2012). El colesterol y la hemoglobina los obtiene al lisar los eritrocitos cuando se adhiere a ellos mediante los carbohidratos D-lactosa y N-acetil-B-D-glucosamina presentes en su superficie celular (Cadena V. Daniel, 2006). La obtención de poliaminas la realiza mediante un sistema antiporter putrescina/espermina, en donde se introduce una molécula de espermina por cada dos moléculas de putrescina que son secretadas (Alvarez-Sánchez et al., 2008).

1.9 Propiedades de virulencia

T. vaginalis es sometida en su entorno celular a intensas fluctuaciones de su microambiente, como son cambios hormonales, alteraciones de pH, concentraciones de moléculas redox, y algunos metales que se encuentran el tracto urogenital de las personas; así también estos parásitos son atacados por el sistema inmune del hospedero, la microbiota presente en la región genital de los individuos que genera una competencia por el nicho, la interacción con las células del hospedador y factores aun no descritos (Lee et al., 2012).

Las propiedades de virulencia son:

a) Citoadherencia: El fenómeno de adhesión es uno de los procesos iniciales requeridos para el establecimiento de la infección a través de la interacción parásito-hospedador, este es un proceso multifactorial dependiente de pH, temperatura, hierro y tiempo de contacto, en el que intervienen numerosas proteínas (Mercer & Johnson, 2018). El parásito sufre un cambio morfológico rápido tras el contacto con la célula del epitelio vaginal, pasando de una forma ovoide a una ameboide, incrementando el área de adhesión. Esta transformación induce la síntesis de diversos factores entre las que destacan las adhesinas (AP) (Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017). La adherencia de *T. vaginalis* a la superficie epitelial es un

factor crucial en la patogenia y típicamente da como resultado la lisis de la célula del hospedero y de esta forma contribuye a la erosión de la monocapa epitelial. La superficie de la célula de tricomonas es un mosaico de adhesinas, receptores para albergar proteínas de la matriz extracelular y carbohidratos, que proporcionan la base para la unión ligando-receptor (Ziaei Hezarjaribi et al., n.d.). Estas adhesinas que están en la superficie son dependientes de hierro. Hay cinco adhesinas superficiales primarias responsables de la unión del parásito al epitelio del huésped: AP120, AP65, AP51, AP33, AP23 las cuales actúan de una manera específica receptor-ligando. Algunas adhesinas como la AP65, una vez secretada, se re-asocia por un lado a la superficie de *T. vaginalis* y al mismo tiempo a la célula hospedadora a través de receptores específicos en ambas membranas, actuando de puente entre ambas células gracias a una conformación dimérica por medio del dominio N-terminal de las dos moléculas de AP65 (Petrin et al., 1998).

b) Hemólisis: La actividad hemolítica de *T. vaginalis* es un mecanismo sumamente importante para la nutrición del parásito y muestra cierta correlación con la virulencia (Krieger y cols.,1983). La hemólisis se lleva a cabo en al menos cuatro pasos: adhesión del parásito a los eritrocitos, liberación de proteínas formadoras de poros separación del parásito y finalmente, la lisis del eritrocito (Petrin et al., 1998). Estudios han descrito genes que codifican para proteínas con efectos citolíticos que pueden liberarse tras el contacto entre el hospedero y el parásito, de esta manera, *T. vaginalis* lisa glóbulos rojos del hospedador, presumiblemente como un medio para adquirir lípidos y hierro, es por ello que durante la menstruación existe una exacerbación de los síntomas (Fiori et al., 1993). Esta hemólisis depende del contacto, la temperatura, el pH y el Ca^{2+} , lo que sugiere la participación de cisteína proteinasas (CP) formadoras de poros que se insertan en la bicapa lipídica de las células diana, mediando la lisis osmótica. Acorde con esto, se han identificado 12 genes (TvSaplip1 a TvSaplip12) que contienen dominios formadores de poros de tipo saposina [SAPLIP] (Provenzano & Alderete, 1995).

Las CP además de participar como factor lítico en la hemólisis de eritrocitos, también están involucradas en la degradación de inmunoglobulinas G, M y A (IgG,

IgM e IgA) presentes en la vagina; así como en la adhesión del parásito a células epiteliales (Yadav et al., 2007).

c) Fagocitosis: Debido a una reorganización citoplasmática de la actina el parásito puede fagocitar a través de cualquier parte de su cuerpo celular. Este proceso puede producirse mediante dos mecanismos distintos: a través de la generación de pseudópodos que rodean e internalizan a la célula diana o bien mediante procesos de succión causando la elongación de la membrana plasmática de la célula diana y su posterior internalización a través de un canal endocítico estrecho. Posteriormente se lleva la digestión de la célula fagocitada en el interior de vacuolas a través de enzimas lisosomales (Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017).

d) Factor de desprendimiento celular: El factor de desprendimiento celular (CDF, por sus siglas en inglés) es una sustancia soluble que al ponerse en contacto con monocapas de células en cultivo “*in vitro*” provoca el desprendimiento de estas células (Sosa, 2021). Esta sustancia podría ser responsable de la producción del eritema visto en la mucosa vaginal durante la infección aguda, por lo que se considera que puede ser un importante marcador de virulencia de esta parasitosis (Garber & Lemchuk-Favel, 1990).

e) Citotoxicidad: Las CP de *T. vaginalis* se encuentran en los lisosomas y en la membrana plasmática, además de que pueden ser secretadas a través de exosomas y mediar la citotoxicidad. En las secreciones vaginales de pacientes con tricomoniasis aguda, se han encontrado CP inmunogénicas, como la CP65 que lleva a cabo la degradación de colágena IV y fibronectina; sin embargo, está reportado que las concentraciones de hierro disminuyen su concentración y su actividad proteolítica, afectando negativamente la citotoxicidad de *T. vaginalis* (Alvarez-Sánchez et al., 2007).

Una de las CPs reguladas por hierro que participa en el mecanismo de citotoxicidad es la CP39, capaz de degradar colágena I, III, IV y V, fibronectina humana e inmunoglobulinas A y G (Hernández-Gutiérrez et al., 2004).

Hasta el momento, se han descrito cinco CPs implicadas en la interacción entre parásitos y células prostáticas DU-145: CP70, CP65, CP39, CP25 y CP20 (Hernández Gutierrez y cols., 2004), además de la TvMP50, una molécula que pertenece a la subfamilia A de metaloproteinasas de tipo aminopeptidasa, y que interviene en el mecanismo de citotoxicidad con actividad proteolítica, y que es capaz de causar daño a las células del hospedero (Villalpando et al., 2017).

f) Evasión de la respuesta inmune: La evasión de la respuesta inmune principalmente es a través de la degradación de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas IgA, IgM e IgG humanas identificadas en los lavados vaginales de mujeres infectadas, así como por medio de la lisis del factor C3 del complemento, o del inhibidor de proteasas secretado por los leucocitos. Este parásito también puede llevar a cabo una variación fenotípica como mecanismo de evasión inmunológica (Alderete et al., 1995).

En la superficie del parásito, se han encontrado dos clases de marcadores que se expresan de forma alternativa: la proteína altamente inmunogénica P270 y las adhesinas AP23, AP33, AP65 y AP51 (Alderete et al., 1992). P270 es una glicoproteína que presenta el epítipo repetido DREGRD, importante para la unión de la IgG vaginal a los parásitos vivos (Dailey et al., 1990), mientras que las adhesinas parecen poder imitar la estructura de la enzima málica de las células vaginales, lo que parece ser la causa de su baja inmunogenicidad (Alderete y cols., 1995). Este mimetismo molecular es otro ejemplo de cómo *T. vaginalis* puede evadir el sistema inmune del hospedero (Engbring & Alderete, 1998).

Otro inmunógeno que está presente en la superficie del parásito es P230, proteína que sufre cambios conformacionales que le permiten evadir el anticuerpo vaginal (Alderete & Garza, 1988). La IgG vaginal que reconoce la proteína P230 de *T. vaginalis*, no produce ningún efecto citolítico, aun cuando el complemento está presente. Además, la respuesta del anticuerpo está restringida a pocos epítopes de la proteína de 230 kDa, lo que permite al organismo evadir el proceso de opsonización (Alderete et al., 1991).

T. vaginalis puede inducir la apoptosis de macrófagos mediante la activación de la proteína cinasa P38 presente en estas células, lo que constituye un mecanismo de evasión del ataque de macrófagos (Chang et al., 2006). Otro mecanismo de evasión del parásito consiste en cubrirse con proteínas del plasma del hospedero, lo que le impide al sistema inmune reconocerlo como extraño (Peterson y Alderete, 1982). Se ha postulado que los mecanismos, tanto dependientes como independientes de contacto que regulan la interacción parásito-hospedero, influyen decisivamente en las manifestaciones clínicas de la enfermedad (Hernández y cols. 2014).

1.10 Función biológica de los metales

Algunos metales juegan un papel clave en el mantenimiento de la homeostasis en el ciclo celular de *T. vaginalis*, actuando como cofactores enzimáticos, estabilizadores de estructuras y moléculas biológicas o reguladores de funciones vitales como la síntesis de ATP o de DNA. Estos iones metálicos son considerados como bioelementos y los más importantes para el metabolismo y crecimiento celular, aunque se requieran en concentraciones muy bajas son: Na^+ , K^+ , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} y Zn^{2+} (Bertin & Averbeck, 2006).

En el ambiente celular también existen trazas de metales no esenciales, mejor conocidos como metales pesados (llamados así porque tienen una densidad mayor o igual a 5 g / cm^3). Debido a que los iones metálicos que requiere el organismo para llevar a cabo sus funciones metabólicas se encuentran mezclados con otros metales como consecuencia de las actividades que realizan los humanos en la vida cotidiana. Los iones de metales pesados que se encuentran en el ambiente celular son principalmente: Cr^{3+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , y Cd^{2+} . Estos iones metálicos son muy tóxicos incluso a concentraciones muy bajas. Una vez en el organismo, los metales pueden interactuar entre sí de forma aditiva, antagónica o sinérgica, dependiendo de los estados de valencia y su biodisponibilidad (Peterson & Alderete, 1982).

1.11 Metaloproteinas

Las metaloproteinasas (metalopeptidasas o metaloendopeptidasas, MP) son hidrolasas que actúan sobre enlaces peptídicos (peptidasas o proteinasas) para eliminar el residuo N-terminal de proteínas o péptidos pequeños (exopeptidasas). Estas enzimas suelen estar activas como componentes de múltiples sustratos durante procesos celulares como el desarrollo embrionario, la morfogénesis, la liberación de citoquinas, la absorción intestinal de nutrientes, la adhesión celular y la migración. En la base de datos MEROPS, los MP se clasifican en clanes, familias y subfamilias, según sus secuencias conservadas y estructuras secundarias y terciarias, y se han identificado en Bacteria, Archaea y Eukaryota. (Arreola et al., 2018). Su actividad se presenta bajo respuesta de diferentes estímulos entre los que destaca los cationes metálicos divalentes, y estos cationes divalentes están implicados en la supervivencia de patógenos durante el proceso de infección. Estas enzimas suelen estar activas como componentes de múltiples sustratos durante procesos celulares, requieren iones metálicos como Mg^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} y Cu^{2+} como cofactores (Alvarez-Sánchez et al., 2007)

En particular, las MP del clan MG y la familia M24 (un grupo con una relación evolutiva), (exopeptidasas: metionil aminopeptidasa, prolidasas y Xaa-Pro aminopeptidasas) conservaron un pliegue común conocido como “pan de pita”. Este pliegue se ha descrito tradicionalmente como dos mitades con una simetría pseudodoble interna. Cada mitad consta de una hoja beta antiparalela, trenzada, con 2 hélices alfa ubicadas en un lado, mientras que el otro lado es donde se encuentra el sitio activo, y está rodeado por bucles de cada mitad. En el medio de ambas mitades, entre las dos hojas β antiparalelas (por el lado de los bucles), se forma una cavidad y allí se ubica el sitio de unión de los cofactores metálicos (Arreola et al., 2018).

Recientes estudios han propuesto el uso de metaloproteinas ricas en cisteínas y de bajo peso molecular como blanco terapéutico, ya que desempeñan un papel regulador clave (Alvarez-Sánchez et al., 2007). *T. vaginalis* es un parásito protozoario que se adapta al microambiente del tracto urogenital masculino, donde

están presentes cationes como el zinc y el cadmio. Sin embargo, los mecanismos moleculares de tolerancia a metales y homeostasis aún no están diluidos en este parásito (Buracco et al., 2018).

1.11.1 TvMP50

Las metaloproteinasas (metalopeptidasas o metaloendopeptidasas) son hidrolasas que actúan sobre enlaces peptídicos para eliminar el residuo N-terminal de proteínas o péptidos pequeños (Arreola et al., 2018). TvMP50 es una metaloproteinasa de 50 kDa con un sitio activo muy conservado perteneciente a la familia M24, específicamente en la subfamilia M24B de aminotransferasas-P que hidrolizan el enlace iminopéptido Xaa-Pro en el extremo N-terminal de su sustrato (Xaa = cualquier aminoácido) (Quintas-Granados et al., 2013).

La metaloproteinasa tipo aminopeptidasa P está codificada por un ORF de 1320 pb denominado *mp50* (número de acceso de GenBank JF263458), ubicado en el locus TVAG_403460, que contiene otros dos ORF en la hebra opuesta que codifican para una proteína de unión a lípidos dependiente de calcio y para una proteína hipotética conservada. El gen *mp50* codifica una proteína de 439 aminoácidos con un peso molecular de 50.416 Da (Carlton, 2007). TvMP50 es regulada por la acción del factor de transcripción MTF-1, por lo que su expresión responde a la presencia de iones metálicos en el medio, principalmente Zn^{2+} (Villalpando et al., 2017).

La proteína TvMP50 tiene actividad proteolítica en una estructura monomérica, a diferencia de otras proteínas de la familia M24 que presentan actividad en forma dimerica. TvMP50 tiene una región N-terminal modificada en comparación con otras aminopeptidasas/prolidasas Xaa-Pro con estructuras tridimensionales, y en la región C-terminal es regulada positivamente por zinc, lo que permite que el parásito puede adaptarse a las concentraciones tricomonicidas de Zn^{2+} del microambiente del tracto urogenital masculino (Figura 3) (Arreola et al., 2018 y Quintas-Granados et al., 2013). Además, esta metaloproteinasa activa se caracterizó como un nuevo

factor de virulencia analizando la citotoxicidad hacia las monocapas de células DU145 prostáticas (Quintero-Fabián et al., 2019).

La secuencia de aminoácidos de TvMP50 se alineó con metalopeptidasas representativas de las subfamilias A y B de la familia M24 del clan MG. La estructura primaria de TvMP50 está altamente conservada en los residuos de aminoácidos que interactúan con el ion metálico y los residuos del sitio catalítico en comparación con las peptidasas de la subfamilia B (Arreola et al., 2018). En este clan, tres residuos de histidina forman la tríada catalítica. Curiosamente, TvMP50 contiene estos residuos catalíticos ubicados en posiciones similares. Tanto los residuos de aminoácidos que se unen al ion metálico en este clan (D, D, H, E) como los aminoácidos que rodean los residuos de unión al metal se conservan en TvMP50, lo que sugiere que esta molécula podría ser miembro de este clan (Puente-Rivera et al., 2017).

La estructura cristalográfica muestra un pseudo-homodímero de TvMP50 con dos subunidades similares, A y B (Mena-Rejón et al., 2021).

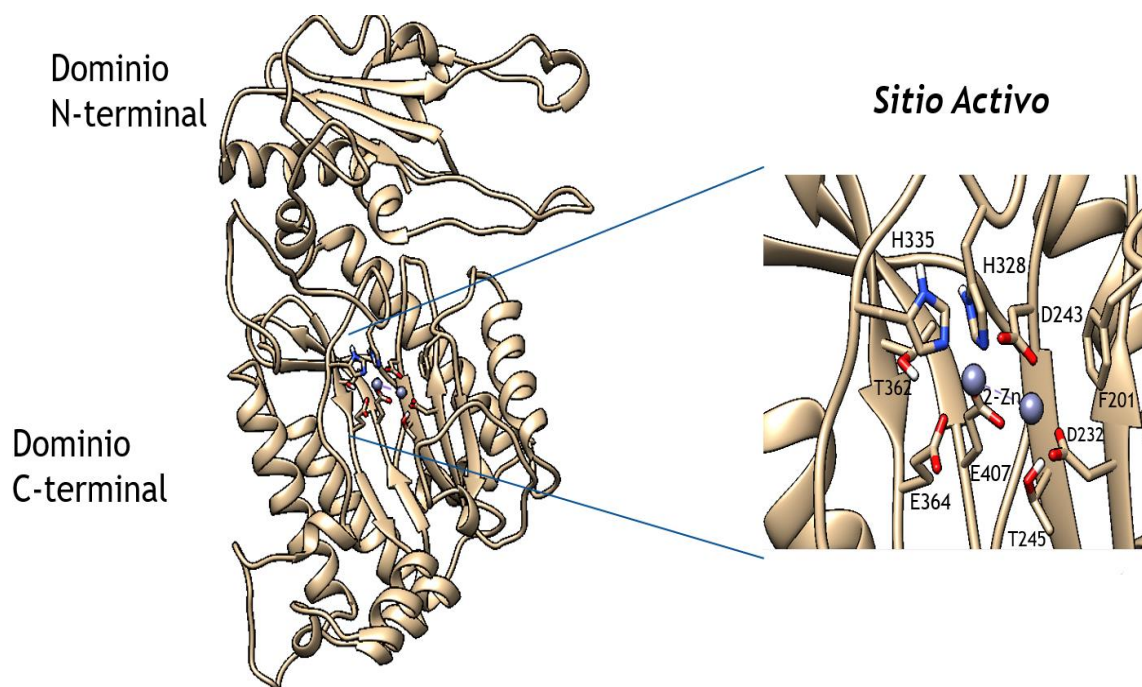


Figura 3. Metaloproteínasa TvMP50. Representación esquemática de la proteína TvMP50 de *T. vaginalis*. Se observan dos dominios estructurales y un zoom del sitio activo de esta proteasa donde se observan los aminoácidos que lo conforman Tomado de Mena-Rejón et al., 2021.

1.12 Tratamiento

El tratamiento de la tricomoniasis se enfoca en la cura microbiológica, el alivio de los signos y síntomas, la prevención de secuelas, y de evitar la transmisión de la infección (Ibáñez-Escribano & Gómez-Barrio, 2017). El tratamiento de la tricomoniasis antes de la aparición de los 5-nitroimidazoles se realizaba con compuestos como la solución de oxicianida de mercurio en irrigaciones, fosfato ácido sódico por vía oral o el acetarsol por vía local. Estos compuestos actuaban mediante la disminución de pH vaginal y como consecuencia del número de parásitos, logrando tasas de curación del 22%-40% (Nanda et al., 2006).

Durante los años 50, investigadores de los laboratorios Rhône-Poulenc en Francia observaron que un derivado semisintético denominado azomicina tenía actividad débil contra *T. vaginalis* y fue el punto de partida para la investigación de fármacos con actividad contra protozoos anaerobios (Vázquez et al., 2001). Los nitroimidazoles presentan una estructura química compuesta por un anillo imidazólico en el cual un grupo nitro se ubica en posición 5. Diferencias en los sustituyentes presentes en N1 y C2 de este anillo le confieren propiedades particulares a la molécula que se traducen en modificaciones de su farmacocinética (López Nigro, et al, 2088).

Existen dos grandes grupos de nitroimidazoles, los que poseen un grupo nitro en posición 2, como lo son misoinidazol y benzoinidazol; y los que poseen un grupo nitro en posición 5, como lo son Tinidazol y Metronidazol (López Nigro, et al, 2088). El Metronidazol (2-metil-5-nitroimidazol-1-etanol) es el fármaco utilizado por excelencia para el tratamiento de esta parasitosis. El tratamiento farmacológico estándar es una dosis única de 2g. El metronidazol reducido provoca roturas de la cadena de ADN, lo que inhibe la síntesis de ADN. Por otra parte, este fármaco también interrumpe el sistema redox del parásito, los metabolitos secundarios del fármaco se unen a proteínas en la red redox mediada por tiorredoxina e inhiben la tiorredoxina reductasa; su mecanismo se basa en la reducción en el grupo nitro, que se produce después de la difusión pasiva del fármaco en el hidrogenosoma de la célula, así genera aniones nitroradicales y reduciendo así los reactivos intermedios

y también estos nitroradicales pueden causar daño al ADN y muerte celular (Edwards et al., 2014).

1.12.1 Mecanismo de acción del Metronidazol

El mecanismo de acción de este compuesto se realiza en 4 fases: (Figura 4)

1. Penetración del fármaco por difusión pasiva a través de la pared celular del protozoo y se incrementa por el nivel de reducción intracelular.
2. Reducción del grupo nitro a un intermediario transitorio tóxico.
3. Acción sobre el ADN del parásito. Inhibe la síntesis y degrada al ADN, siendo mayor cuanto más contenido de A+T tiene el ADN, por eso las roturas se producen entre estos residuos, sobre todo en la timina, y liberan una mezcla de timina y timidina fosfato. *T. vaginalis* tiene un contenido de A+T mayor del 60%, por eso la concentración mínima letal (CML) está entre 1-1 µg/ml.
4. Liberación de productos finales inactivos (Vázquez et al., 2001).

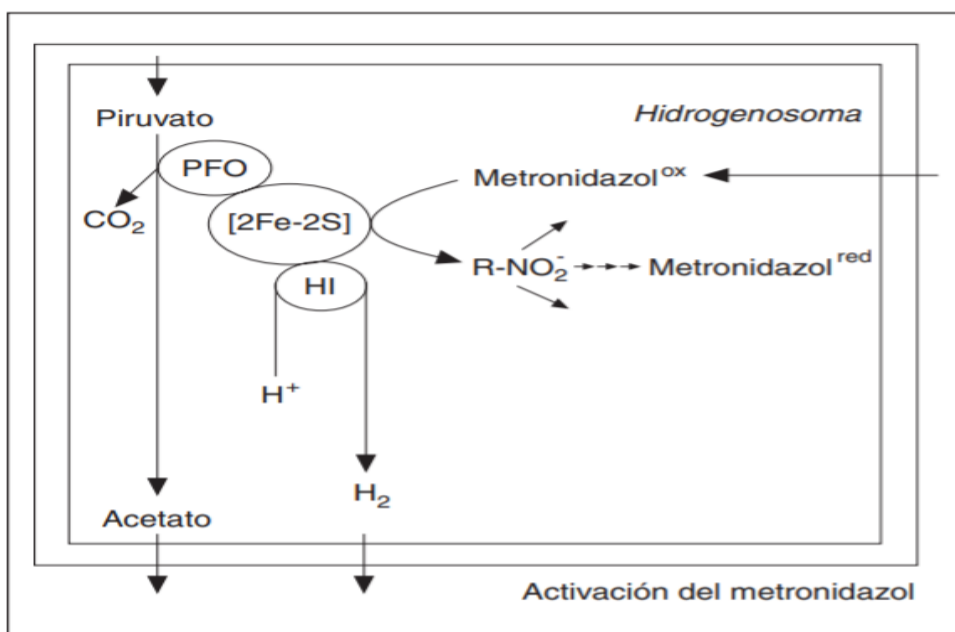


Figura 4. Mecanismo de acción del metronidazol. Representación esquemática del mecanismo de acción del metronidazol en el hidrogenosoma del parásito. El metronidazol es reducido por acción de las proteínas hidrogenosomales. Tomado de Vázquez et al., 2001.

1.12.2 Efectos adversos del Metronidazol

Generalmente, los efectos adversos incluyen náuseas, vómitos, estreñimiento, calambres y sabor metálico. Otros efectos adversos incluyen neuropatía periférica, convulsiones, fatiga, mareos, dolor de cabeza y leucopenia. Además, en ciertos casos, la alergia asociada al metronidazol puede causar urticaria, edema facial y shock anafiláctico (Argáez-Correa et al., 2019).

1.12.3 Resistencia a metronidazol

El tratamiento suele tener fracaso en microorganismos que han desarrollado resistencia a metronidazol. En el caso de *T. vaginalis* se presentan dos tipos de resistencia: resistencia aerobia y resistencia anaerobia (Ngobese et al., 2022).

1.12.3.1 Resistencia aerobia

T. vaginalis requiere de grandes cantidades de CO², pero aun así no es anaerobio estricto y puede usar y tolerar O² a bajos niveles, lo que tiene relación con el ambiente microaerófilo que está presente en la vagina de manera natural. Esta resistencia aeróbica de *T. vaginalis* se caracteriza típicamente por una disminución de la toxicidad del metronidazol al volver a oxidar el nitroradical en presencia de oxígeno intracelular (Marques-Silva et al., 2021).

1.12.3.2 Resistencia anaerobia

La resistencia anaeróbica de *T. vaginalis* se ha caracterizado por la ausencia de proteínas hidrogenosomales que normalmente activarían el metronidazol, incluido el piruvato: ferredoxina oxidorreductasa (PFO) y ferredoxina (Fdx) (Argáez-Correa et al., 2019).

1.13 Necesidades de nuevos compuestos

Debido a la creciente cantidad de microorganismos que están desarrollando resistencia a fármacos utilizados en la actualidad, entre ellos *T. vaginalis* (Argáez-Correa et al., 2019), es evidente la necesidad de diseñar y desarrollar nuevos compuestos con actividad tricomonocida y una forma de abordar este diseño es por medio de herramientas informáticas.

1.14 Quimioinformática

El término quimioinformática, que es una forma abreviada de "informática química", fue acuñado por Frank Brown hace unos 10 años. La quimioinformática es un campo de la tecnología de la información que utiliza ordenadores y programas informáticos para facilitar la recopilación almacenamiento, análisis y manipulación de grandes cantidades de datos químicos (Wishart, 2016). Las herramientas computacionales, así como los enfoques automáticos (machine learning) han evolucionado de tal forma que se han transformando en tecnologías cada vez más importantes para la búsqueda de moléculas candidatas a fármacos (Medina-Franco et al., 2021), dentro de estas herramientas se encuentra el acoplamiento molecular (docking molecular) (Pinzi & Rastelli, 2019), detección o cribado de alto rendimiento (High throughput screening) (Saldívar-González et al., 2020), fragmentación de fármacos (de Souza Neto et al., 2020), Fingerprinting (huella dactilar digital) (Sánchez-Cruz & Medina-Franco, 2018), técnica de mecánica molecular, que son ampliamente utilizada para predecir energías y modos de enlace entre ligandos y proteínas (Kaur et al., 2019). Estas metodologías computacionales nos ayudan a organizar datos, interpretar resultados, generar y probar hipótesis, filtrar grandes bases o librerías de millones de compuestos químicos antes de la fase experimental, y de esta manera pueden contribuir a identificar y desarrollar fármacos de alto rendimiento específicos contra un blanco conocido (Saldívar-González et al., 2020), en este caso TvMP50 de *T. vaginalis*.

Los principales recursos de software que se utilizan actualmente en la quimioinformática se agrupan en tres categorías principales (1) bases de datos quimioinformáticas; (2) herramientas de búsqueda en bases de datos; y (3) herramientas de predicción de propiedades.

Además del montaje y mantenimiento de bases de datos, se utilizan métodos computacionales para analizar el contenido de las bases de datos compuestas y obtener un perfil detallado de varias características de interés común para aplicaciones de descubrimiento de fármacos (Medina-Franco et al., 2021). Los ejemplos típicos incluyen el análisis sistemático de la diversidad química utilizando diferentes representaciones estructurales y moleculares, un perfil de propiedades fisicoquímicas de interés farmacéutico, complejidad molecular, representación visual del espacio químico y perfiles *in silico* de absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad. (ADME / Tox) (Vamathevan et al., 2019).

1.14.1 Diseño de fármacos asistidos por computadora

En la investigación farmacéutica, el proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos requiere de tiempo para diseñar, sintetizar, purificar, extraer; para posteriormente probar y buscar la actividad biológica. Debido a las diversas limitaciones impuestas por el proceso de descubrimiento de fármacos, en los últimos tiempos los enfoques *in silico* se aplican ampliamente en este campo previo a los procedimientos experimentales (Medina-Franco et al., 2021).

La necesidad de fármacos de alto rendimiento y de bibliotecas químicas de millones de compuestos ha llevado a la quimioinformática a desempeñar un papel clave en muchos aspectos del descubrimiento y el desarrollo de fármacos. El diseño de fármacos asistido por computadora es un método de química computacional para diseñar y optimizar compuestos líderes de fármacos mediante simulación, cálculo y predicción por computadora de la relación entre fármacos y receptores.

Además del montaje y mantenimiento de bases de datos, se utilizan métodos computacionales para analizar el contenido de las bases de datos compuestas y

obtener un perfil detallado de varias características de interés común para aplicaciones de descubrimiento de fármacos (Figura 5). Los ejemplos típicos incluyen el análisis sistemático de la diversidad química utilizando diferentes representaciones estructurales y moleculares, un perfil de propiedades fisicoquímicas de interés farmacéutico, complejidad molecular, representación visual del espacio químico y perfiles *in silico* de absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad. (ADME / Tox) (Mapari & Camarda, 2020).

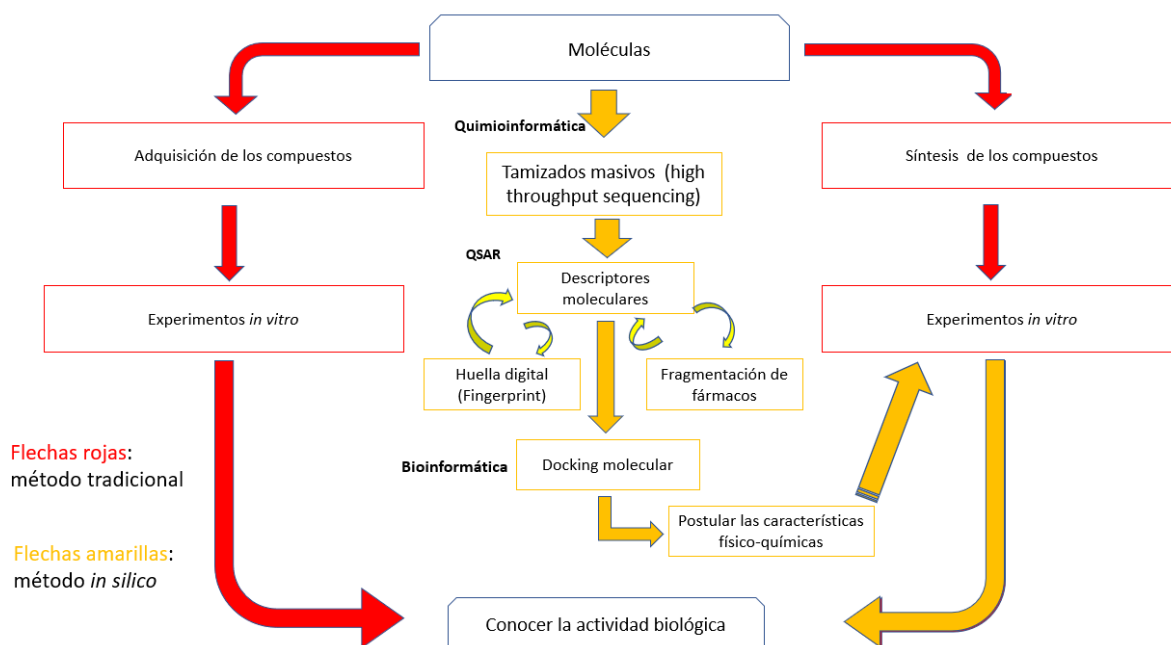


Figura 5. Diseño de fármacos asistido por computadora. Representación esquemática de diseño tradicional de fármacos (flechas rojas) y el diseño de fármacos asistido por computadora (flechas amarillas).

1.14.2 Bases de datos

Las bases de datos compuestas tienen un papel destacado en el descubrimiento de fármacos. Esto es particularmente relevante con la llegada de los macrodatos. De hecho, el cribado virtual y experimental de alto rendimiento de grandes bases de datos químicas genera una enorme cantidad de datos que deben almacenarse y hacerse accesibles para convertir los datos en información y, finalmente, en conocimiento. Existen tres tipos de bases de datos quimioinformáticas: (1) bases de

datos de archivos o "globales" de compuestos; (2) bases de datos especializadas o muy curadas y (3) bases de datos estructurales. Esta situación es muy parecida a la de la bioinformática, en la que existen bases de datos de secuencias de archivo o globales, como GenBank, y bases de datos de secuencias especializadas, como GeneCards, HPRD o SwissProt (Murray-Rust et al., 2005 y Saldívar-González et al., 2020).

En la actualidad, PubChem es una de las bases de datos más usadas y más grande, contiene más de 10 millones de compuestos únicos, cada uno de los cuales tiene información sobre su estructura química, nombres comunes, nombres IUPAC, cadenas SMILES, identificadores InChI, pesos moleculares, fórmulas químicas, LogPs y otros descriptores de compuestos. PubChem está ampliamente vinculado a PubMed y muchos compuestos tienen descripciones de su actividad biológica proporcionadas a través de los resúmenes de PubMed. Por su tamaño, su accesibilidad y sus elevados estándares, PubChem se ha convertido en el GenBank del mundo de la quimioinformática (NCBI, PubChem. 2022). En la segunda categoría de bases de datos (curadas o altamente anotadas) hay una serie de recursos más pequeños y especializados, estas bases de datos incluyen KEGG, MetaCyc, y DrugBank. La tercera categoría de bases de datos quimioinformáticas son las bases de datos estructurales que contienen datos de coordenadas tridimensionales, como la Cambridge Structure Database que contienen las coordenadas tridimensionales de estructuras químicas determinadas experimentalmente; esta base de datos es el análogo químico del Protein Data Bank. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre con las macromoléculas, en las que la predicción *ab initio* de la estructura tridimensional sigue siendo un problema sin resolver, la estructura tridimensional de la mayoría de las moléculas pequeñas puede predecirse con precisión a partir de sus estructuras bidimensionales, cadenas SMILES (representación textual y lineal de una estructura química) o diagramas de coordenadas ortogonales (archivos MOL y SDF) (David et al., 2020).

1.14.3 Cribado de alto rendimiento o tamizado masivo (High Throughput Screening)

Dentro de la herramienta de machine learning se han generado algoritmos específicos como lo es High Throughput Screening (HTS) o cribado de alto rendimiento, este es un proceso en el descubrimiento de fármacos que permite analizar rápidamente miles o millones de muestras para determinar la actividad biológica de un compuesto químico a nivel de un organismo Modelo, celular o molecular, generando conjuntos y subconjuntos que son similares, en este caso basado en sus descriptores moleculares (Entzeroth et al., 2009).

Existen dos métodos principales de agrupación o métodos de clustering: Los denominados métodos jerárquicos y los métodos no jerárquicos. Los métodos jerárquicos generan grupos en cada una de las fases del proceso buscando el número de clúster que hacen una agrupación óptima. El agrupamiento jerárquico es capaz de fijar por sí solos el número de clústeres, por ello se pueden utilizar de forma exploratoria y posteriormente aplicar un análisis no jerárquico con el número de clúster ya fijado (Mayr & Bojanic, 2009).

1.14.4 Descriptores moleculares

En el ámbito de la quimioinformática, las propiedades de interés se denominan descriptores moleculares, y estos incluyen el peso molecular (MW), el coeficiente de partición octanol / agua (SlogP), el área de superficie polar topológica (TPSA), los donantes de enlaces de hidrógeno (HBD), los aceptores de enlaces de hidrógeno (HBA) y el número de enlaces rotativos (RB), la distribución electrónica o de carga, las conformaciones preferidas, los calores de formación, la solubilidad, el LogP, el pKa, la refractividad, el punto de fusión, la longitud de la molécula, el área molecular, el volumen molecular y los grupos reactivos. Algunas de estas propiedades químicas, como la solubilidad, el LogP y la carga, son especialmente relevantes para comprender o predecir la actividad, la absorción, la distribución y el

metabolismo (ADMET) de los compuestos farmacológicos (Mapari & Camarda, 2020).

En general, estos descriptores pretenden capturar tres características importantes de interés en el desarrollo de fármacos, a saber, tamaño (MW), polaridad (SlogP, TPSA, HBD, HBA) y flexibilidad (RB). También es común incluir en dicho análisis la distribución de otras características estructurales básicas pero relevantes, como los recuentos de átomos de carbono, nitrógeno, oxígeno y diferentes tipos de anillos (número total, aromáticos, heteroaromáticos, policíclicos, etc.) (Gandini et al., 2022).

Durante la década de los 90's un químico llamado Christopher Lipinski junto con sus colegas investigaron las propiedades de una gran base de datos de fármacos y candidatos clínicos en etapa tardía, razonando que los compuestos con propiedades fisicoquímicas deficientes habrían sido en gran parte eliminados en esta etapa del desarrollo. El análisis resultante, publicado hace una década, introdujo un conjunto de pautas denominadas la 'regla de los cinco', para predecir la probabilidad de que un compuesto pueda tener un alto riesgo de mala absorción o permeabilidad sobre la base de las propiedades fisicoquímicas simples del compuesto (Ganesan, 2008).

Como se presentó originalmente, “la regla de 5 predice que la mala absorción o permeación es más probable cuando hay más de 5 donantes de enlaces de hidrógeno, 5 aceptores de enlaces de hidrógeno, el peso molecular (MWT) es mayor que 500 Daltones y el Log P una medida de lipofilia calculado (CLogP) de 5 o menor (Ganesan, 2008).

1.14.5 Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular (docking molecular) es una técnica de mecánica molecular ampliamente utilizada para predecir energías y modos de enlace entre ligandos y proteínas, consiste en buscar la conformación y posición óptima de una diana molecular generando un modelo de unión (Mena-Rejón et al., 2021). Se calcula mediante un potencial termodinámico que se puede usar para calcular el

máximo de trabajo reversible que puede realizarse mediante un sistema termodinámico a una temperatura y presión constantes, conocido como energía libre de Gibbs ($\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ$; J) es la cantidad máxima de trabajo de no expansión que se puede extraer de un sistema cerrado termodinámicamente (uno que puede intercambiar calor y trabajo con su entorno, pero no materia) (Pinzi & Rastelli, 2019). En muchas aplicaciones de descubrimiento de fármacos el docking se realiza entre una molécula pequeña y una macromolécula, por ejemplo, el acoplamiento proteína-ligando. Recientemente el docking se aplica también para predecir el modo de unión entre dos macromoléculas, por ejemplo, el acoplamiento proteína-proteína. La mecánica molecular implica la descripción de un sistema poliatómico utilizando la física clásica, los parámetros experimentales como cargas, ángulos de torsión y geométricos se utilizan para reducir la diferencia entre los datos experimentales y las predicciones de la mecánica molecular. La mayoría de los campos de fuerza se basan en cinco términos, todos ellos con una interpretación física: energía potencial, términos de torsión, geometría de enlace términos electrostáticos y el potencial de Lenard-Jones.

Actualmente existen varios servidores, suites y programas disponibles para el acoplamiento molecular. Cada herramienta utiliza diferentes campos de fuerza y algoritmos para la generación de posturas, el refinamiento y el cálculo de las interacciones receptor-ligando. A pesar de que existe un gran número de programas de docking el lector debe tener en cuenta que no todos los algoritmos son adecuados para un sistema. Por lo general, es aconsejable utilizar más de un programa de acoplamiento: diferentes estudios han demostrado que, en general, tomar un consenso de varios protocolos de docking produce una mejor evaluación de las interacciones de los ligandos de las proteínas y una clasificación de posturas más fiable (Mena-Rejón et al., 2021).

1.14.6 Fragmentación de compuestos

El descubrimiento de fármacos basados en fragmentos o por sus siglas en inglés, FBDD (Fragment-based drug discovery) (Figura 6) consiste en fragmentar o cortar

compuestos químicos en pequeños andamios o fragmentos más pequeños, siendo un enfoque atractivo para explorar de manera efectiva el espacio químico para unir una proteína diana con uno o más fragmentos de moléculas. Al reducir la complejidad de los productos químicos examinados, se pueden explorar más sitios de unión potenciales de una proteína objetivo a través de la fácil unión de los fragmentos. El principio de uso de fragmentos se basa en la premisa de que estas entidades moleculares son ligandos más eficientes en comparación con moléculas similares a fármacos, y sus estructuras se pueden optimizar aún más de manera más eficiente. Una ventaja de FBDD es que bajo esta metodología suelen obtenerse estructuras simples que pueden comprarse fácilmente en bases de datos comerciales en lugar de sintetizarse.

Para elevar la complementariedad de los fragmentos generados se diseñan nuevas entidades moleculares o quimeras. Para ello se pueden ligar o enlazar los fragmentos mediante un conector químico o se pueden fusionar los fragmentos que ocupan una misma región (de Souza Neto et al., 2020).

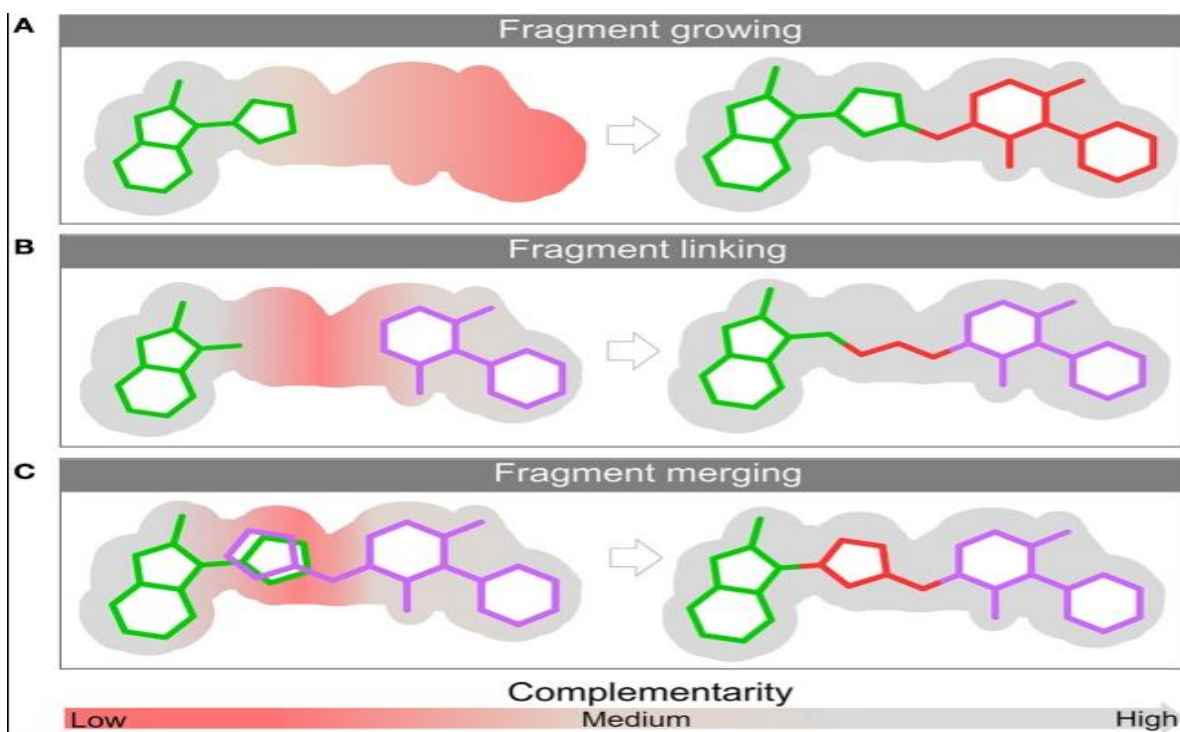


Figura 6. Generación de fragmentos moleculares. Representación esquemática de la unión de fragmentos en el sitio libre de unión. A) unión de fragmentos. B) ligadura de fragmentos. C) fusión de fragmentos. Tomado de (de Souza Neto et al., 2020)

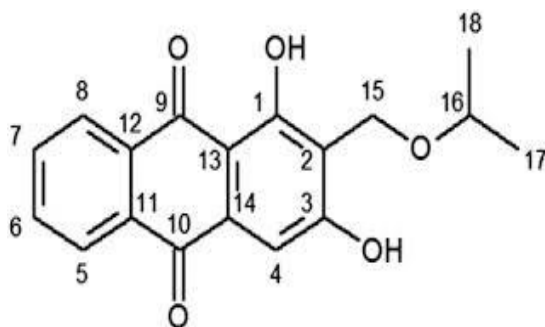
1.15.7 Huella dactilar digital (Fingerprint)

Las huellas dactilares moleculares se utilizan ampliamente en varias áreas de la quimioinformática, incluido el análisis de diversidad y la búsqueda de similitudes. El análisis basado en huellas digitales de bibliotecas químicas, en particular de grandes colecciones, generalmente requiere la representación molecular en bits (0.1) de cada compuesto en la biblioteca. La representación en bits de cada compuesto nos permite buscar estructuras químicas similares en su huella dactilar digital y con ello tamizar grandes bases de compuestos químicos (Sánchez-Cruz & Medina-Franco, 2018).

2. ANTECEDENTES PARTICULARES

Cáceres-Castillo D y colaboradores en el año 2019 describieron una antraquinona (lucidin - ω - isopropil éter) (Figura 7A) aislada de las raíces de *Morinda panamensis* Seem que tienen actividad antiparasitaria. Estos autores observaron que una concentración de 10 $\mu\text{g/mL}$ de lucidina- ω -isopropil éter inhibe hasta en un 91% el crecimiento de los trofozoítos (Figura 7B), esto es comparable con el tratamiento con metronidazol a una concentración de 6 μM . Además, esta antraquinona es capaz de inhibir la capacidad del parásito para matar a las células HeLa y disminuir la actividad proteolítica de la proteinasa TvMP50 de *T. vaginalis*. Esto se asoció con la disminución de la expresión del gen *Tvmp50*. Estos resultados demuestran el potencial tricomonocida de la lucidina- ω -isopropil éter (Cáceres-Castillo et al., 2019).

a)



lucidin- ω -isopropyl éter
(antraquinona)

b)

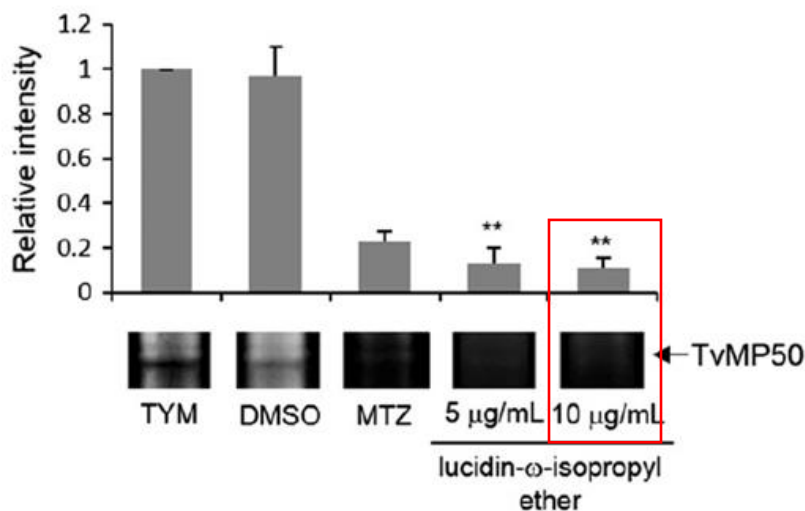
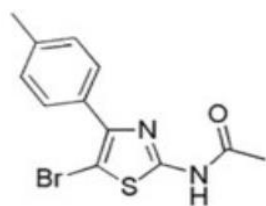


Figura 7. Efectos tricomonocida de lucidin- ω -isopropyl éter. a) Se observa la estructura química en 2D de la antraquinona lucidin- ω -isopropyl éter. b) Grafico que indica que a una concentración de 10 $\mu\text{m}/\text{mL}$ lucidin- ω -isopropyl éter es capaz de inhibir a TvMP50.

En el año 2021 Mena-Rejón G y colaboradores describieron que dos moléculas orgánicas derivadas de 2-amino-4-aril tiazol (ATZ1, ATZ2) (Figura 8A-B), poseen actividad tricomonocida *in vitro*. Tanto ATZ-1 como ATZ-2 redujeron la viabilidad y el crecimiento de los parásitos de forma dependiente de la dosis, con un valor IC_{50} de 0,15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 0,18 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente (Figura 8C-D). Además, ambos compuestos de tiazol pudieron disminuir la actividad proteolítica en los trofozoítos de *T. vaginalis* en comparación con los parásitos no tratados. Se observó una inhibición proteolítica en la región de 50 kDa que se asoció con la disminución de la expresión del gen que codifica la metaloproteasa TvMP50. Posteriormente los autores llevaron a cabo un análisis de acoplamiento molecular, donde encontraron interacciones de los compuestos de tiazol en el sitio activo de la metaloproteasa TvMP50 (Figura 8E) (Mena-Rejón et al., 2021).

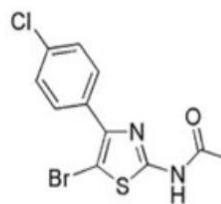
a)



ATZ-1

N-(5-Bromo-4-*p*-tolyl-thiazol-2-yl)-acetamide

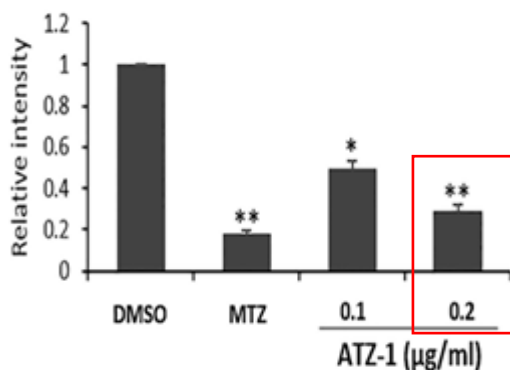
b)



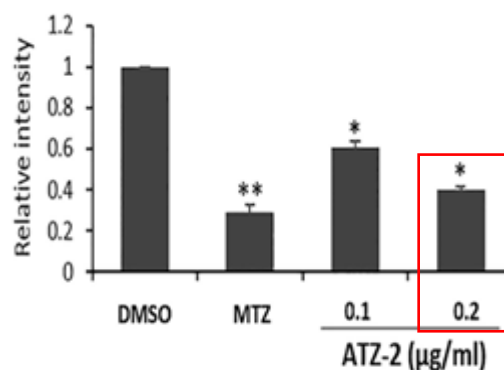
ATZ-2

N-[5-Bromo-4-(4-chloro-phenyl)-thiazol-2-yl]-acetamide

c)



d)



e)

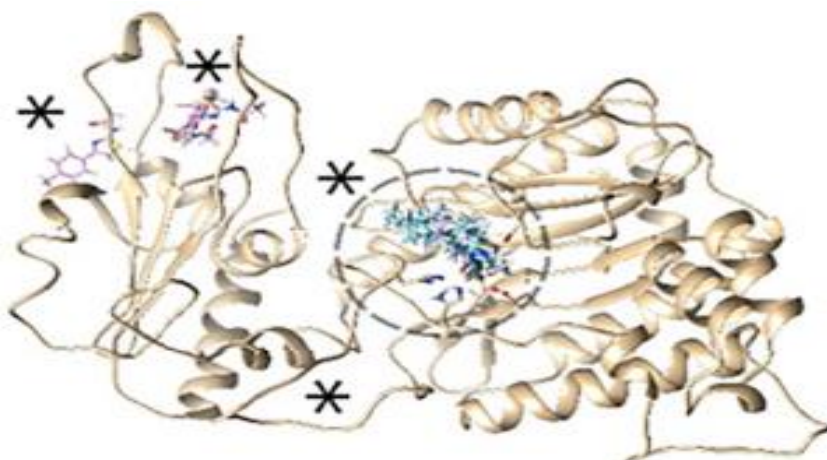


Figura 8. Derivados de tiazol como tricomonocida. a) Estructura química de ATZ1. b) estructura química de ATZ2. c-d) Gráficos que indica que a una concentración de 0.2 µm/mL de ATZ1 y ATZ2 son capaces de inhibir a TvMP50, e) Estructura tridimensional de TvMP50 y docking molecular que muestra el pocket de interacciones posibles con ATZ1 y ATZ2.

En un estudio de 2021 Claudia G. Benítez-Cardoza y cols. utilizaron un cribado virtual de alto rendimiento (EXPRESS-Pick Stock de ChemBridge Corp.) para buscar moléculas que se unen específicamente a la proteína triosafosfato isomerasa de *T. vaginalis* (TvTIM). Mediante análisis de acoplamiento molecular, seleccionaron seis compuestos de una biblioteca química de casi 500,000 compuestos; ninguno de los seis inhibió la actividad enzimática de las isoformas de triosafosfato isomerasa recombinante, un compuesto (A4, {[4- (4-morfolinil) fenil] metilen} bis (4- hidroxí-2H-cromen-2-ona) alteraron sus espectros de emisión de fluorescencia a una concentración de 50 μM (Figura 9), lo que sugiere que esta sustancia química podría interferir en una importante función no glucolítica de TvTIM (Benítez-Cardoza et al., 2021).

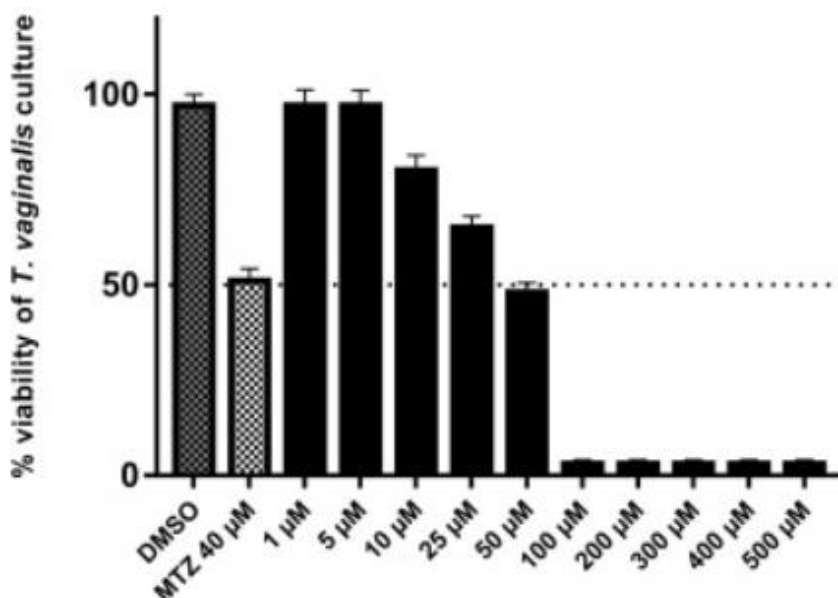


Figura 9. Efectos tricomonocida de A4. a) Se muestra el efecto tricomonocida de compuesto A4 (3,3'-[4-(4-morpholinyl)phenyl]methylene}bis(4-hydroxy-2H-chromen-2-one) a una concentración de 40 μM .

La búsqueda de nuevas moléculas que actúen contra *T. vaginalis* y agrupar estas moléculas en una librería química especializada que sea específica contra este parásito es de suma importancia; un método atractivo y de vanguardia es por medio de herramientas computacionales y quimioinformática.

3. JUSTIFICACIÓN

La tricomoniasis es un problema de salud pública a nivel mundial ocasionada por *Trichomonas vaginalis*. En los últimos años ha incrementado la resistencia del parásito a los 5 nitroimidazoles, en particular hacia el metronidazol, que es el medicamento por elección para tratar esta infección. El diseño de fármacos asistido por computadora es una estrategia para encontrar alternativas terapéuticas con nuevas moléculas que ayuden para el tratamiento de la tricomoniasis, lo cual puede llevarse a cabo mediante quimioinformática. El obtener una librería química *in silico* nos permitirá buscar y proponer nuevas moléculas candidatas para la tricomoniasis.

4. HIPÓTESIS

Los nuevos compuestos químicos generados mediante el uso de herramientas informáticas tendrán actividad hipotética específica contra TvMP50 de *T. vaginalis*.

5. OBJETIVOS

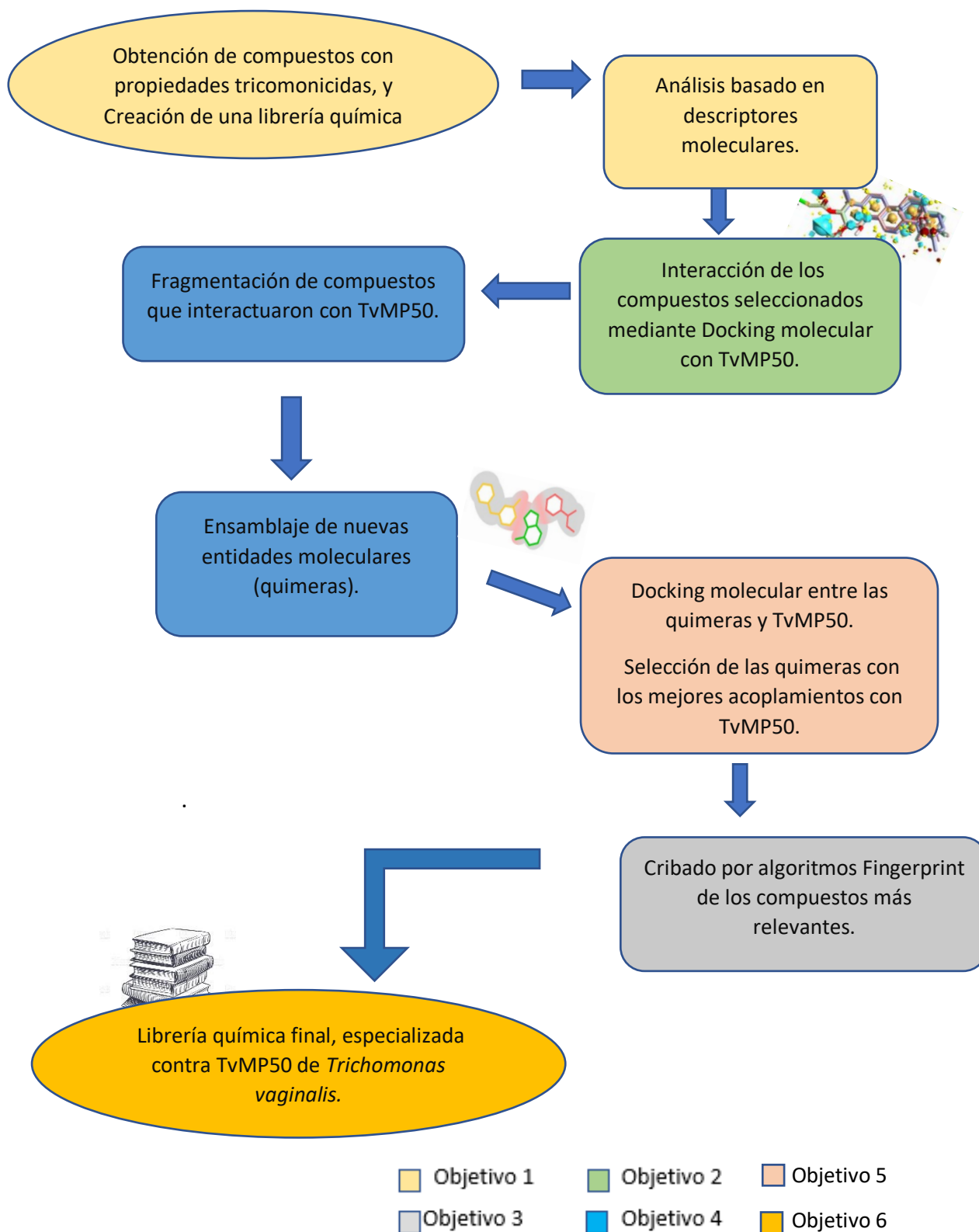
GENERAL:

Diseñar *in silico* una librería química que contenga compuestos con actividad hipotética contra TvMP50 de *Trichomonas vaginalis*.

PARTICULARES

1. Construir quimioinformáticamente una librería química inicial contra *T. vaginalis*.
2. Evaluar *in silico* mediante acoplamiento molecular la interacción de TvMP50 con los compuestos químicos seleccionados a partir de la librería química contra TvMP50 de *T. vaginalis*.
3. Obtener una librería química intermedia con nuevas entidades moleculares contra TvMP50 de *T. vaginalis*.
4. Evaluar *in silico* mediante acoplamiento molecular la interacción de TvMP50 con los compuestos químicos que conforman la librería química intermedia contra TvMP50 de *T. vaginalis*.
5. Obtener una librería química ampliada de los compuestos con el mejor acoplamiento molecular hacia TvMP50 de *T. vaginalis*.
6. Obtener la librería química final específica hacia TvMP50 de *T. vaginalis*.

6. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL *IN SILICO*



7. METODOLOGIA

Este proyecto fue realizado al cien por ciento de forma computacional.

7.1 Búsqueda de bases de datos

Para la obtención de compuestos con propiedades tricomonicidas y la creación de una librería inicial llevamos a cabo una selección de compuestos que fueron identificados en la base de datos PubMed, analizando las publicaciones desde 1958 al 11 de junio de 2022.

Posteriormente se generó un filtrado por Mesh con las palabras clave “antiparasitic” “trichomonas vaginalis”, “compound anti-trichomonas”, que nos arrojó 479 resultados, la búsqueda se realizó los días 10 y 11 de junio de 2022. Se extrajeron las fichas bibliográficas de estos artículos y se les realizó un filtrado por las palabras clave: “compound”, “activity”, “trichomonicide”, esto mediante el software Sublime Txt3 con el fin de seleccionar aquellos artículos que contengan compuestos con actividad tricomonicida, obteniendo 18 artículos los cuales fueron revisados para poder extraer los compuestos que tienen actividad tricomonicida y se generó una tabla primaria de compuestos.

Obtuvimos las SMILE canónica mediante el software Molinspiration de todos los compuestos para generar un a análisis de descriptores moleculares.

7.2 Análisis de descriptores moleculares

Calculamos los descriptores moleculares de los compuestos, basados en las reglas de Lipinski, utilizando los softwares DataWarrior, DruLiTo y SwissAdme. Se agruparon los compuestos en clústeres basados en sus descriptores moleculares y se reunieron en una librería química *in silico* inicial.

7.3 Docking molecular de compuestos reportados

Evaluamos mediante docking molecular la interacción de los compuestos que integran la librería química inicial con TvMP50 de *T. vaginalis*, obtuvimos el formato PBD de la proteína TvMP50 del equipo de laboratorio y posteriormente se generó el acoplamiento molecular entre TvMp50 de *T. vaginalis* contra los

compuestos de la librería química inicial, esto se realizó mediante los softwares SwissDock y PatchDock con el fin de corroborar los resultados. Se utilizaron los parámetros base del software. Los resultados fueron descargados y mediante el software Chimera visualizamos los acoplamientos y se generó una tabla con los valores de los acoplamientos moleculares.

7.4 Generación de compuestos líderes

Este análisis se llevó a cabo mediante el software DruLiTo. Para realizar la construcción de quimeras, las moléculas a fragmentar deben cumplir con la regla de los 3 o de los líderes, fue ideada para bibliotecas de fragmentos como un equivalente a la regla de Lipinski de 5 filtros para bibliotecas similares a fármacos.

7.5 Generación de fragmentos

Los compuestos que cumplieron con la regla de los líderes se les realizó un análisis de Scaffolds mediante el software DataWarrior, esto para conocer sus andamios de construcción. Mediante Data Warrior se realizó un análisis de similaridad entre los fragmentos y los compuestos líderes, dando como resultado una proyección de posibles construcciones químicas.

7.6 Ensamblaje de quimeras

Posteriormente las propuestas de construcción de quimeras fueron editadas en un software de edición de moléculas químicas como lo es Molinspiration, con esto obtuvimos nuestras quimeras de manera racional. Posteriormente a estas quimeras se les evaluó los descriptores moleculares de las quimeras para conocer cuáles de estas construcciones pasaban las reglas de Lipinski.

7.7 Docking molecular de quimeras

Se evaluó mediante SwissDock el acoplamiento molecular las quimeras que pasaron las reglas de Lipinski para conocer cuáles tienen una interacción con TvMP50 de *T. vaginalis*. Para ello se generó el acoplamiento molecular entre las quimeras contra TvMP50 de *T. vaginalis* utilizando SwissDock.

Visualizamos los acoplamientos moleculares con Chimera y Discovery Studio y se generó una tabla con los valores de los mejores acoplamientos moleculares.

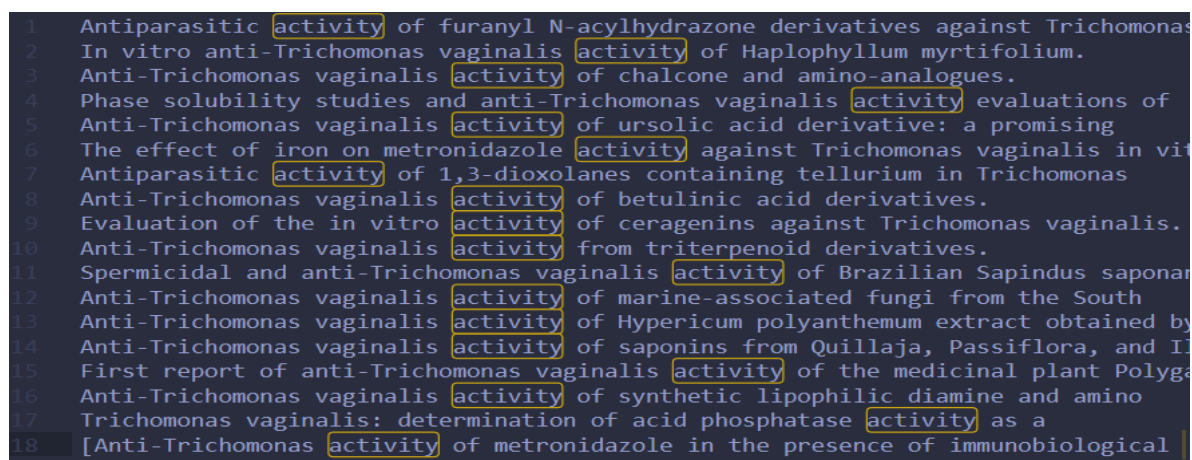
7.8 Huella dactilar digital

Para seleccionar los compuestos más relevantes por análisis de selección química, utilizaremos un análisis basado en huellas digitales o fingerprinting, en este paso fue utilizado el software SwissSimilarity. Se cargo la librería de quimeras y se ejecutó el análisis siguiendo los parámetros establecidos por el software.

8. RESULTADOS

8.1 Búsqueda bibliográfica

En la base de datos científica se llevó a cabo una búsqueda de artículos que contengan información descrita de compuestos usado contra *T. vaginalis*, se realizó un filtrado con el software Sublime Text3. Y se extrajeron 18 artículos que contenían moléculas con alguna actividad contra *T. vaginalis* (Figura 10).



1 Antiparasitic activity of furanyl N-acylhydrazone derivatives against Trichomonas
2 In vitro anti-Trichomonas vaginalis activity of Haplophyllum myrtifolium.
3 Anti-Trichomonas vaginalis activity of chalcone and amino-analogues.
4 Phase solubility studies and anti-Trichomonas vaginalis activity evaluations of
5 Anti-Trichomonas vaginalis activity of ursolic acid derivative: a promising
6 The effect of iron on metronidazole activity against Trichomonas vaginalis in vi
7 Antiparasitic activity of 1,3-dioxolanes containing tellurium in Trichomonas
8 Anti-Trichomonas vaginalis activity of betulinic acid derivatives.
9 Evaluation of the in vitro activity of ceragenins against Trichomonas vaginalis.
10 Anti-Trichomonas vaginalis activity from triterpenoid derivatives.
11 Spermicidal and anti-Trichomonas vaginalis activity of Brazilian Sapindus saponar
12 Anti-Trichomonas vaginalis activity of marine-associated fungi from the South
13 Anti-Trichomonas vaginalis activity of Hypericum polyanthemum extract obtained by
14 Anti-Trichomonas vaginalis activity of saponins from Quillaja, Passiflora, and I
15 First report of anti-Trichomonas vaginalis activity of the medicinal plant Polyga
16 Anti-Trichomonas vaginalis activity of synthetic lipophilic diamine and amino
17 Trichomonas vaginalis: determination of acid phosphatase activity as a
18 [Anti-Trichomonas activity of metronidazole in the presence of immunobiological]

Figura 10. Filtrado por Sublime Text3. Filtrado por palabras clave utilizando el software Sublime Text3. Se obtuvieron 18 artículos que contienen por lo menos un compuesto con actividad tricomonicida.

De los compuestos encontrados en la literatura se creó un compendio con la información más relevantes y de interés, como la estructura química, el Modelo experimental y la SMILE canónica de los compuestos (Figura 11).

Lucidin-isopropyl-ether: A new anthraquinone, lucidin - ω - isopropyl ether, was isolated from the roots of *Morinda panamensis* Seem and in a 2019 study by our group showed that a concentration of 20 $\mu\text{m}/\text{mL}$ was able to inhibit parasite cytotoxicity towards HeLa cells and decrease TvMP50 proteolytic activity, as well as decrease mp50 gene expression.

Canonic SMILE: CC(C)OCc3c([OH-])cc2c(=O)c1cccc1c(=O)c2c3[OH-]

PubChem ID: N/A

Model: *in vitro*

Cite: Cáceres-Castillo D. et al (2019)

Formula 2D

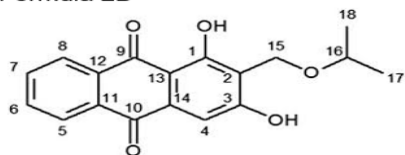


Figura 11. Ejemplo de compendio. Se muestra la información colectada en el compendio de un compuesto. Lucidin-isopropyl-ether.

En PubChem 27 compuestos contaban con registro en esta base de datos, se extrajo la SMILE de aquellos compuestos que si contaban con este registro. Se utilizó el software “Molinspiration”, para la obtención de 7 SMILE canónica de los compuestos no registrados en PubChem (Figura 12) en la base de datos PubChem.

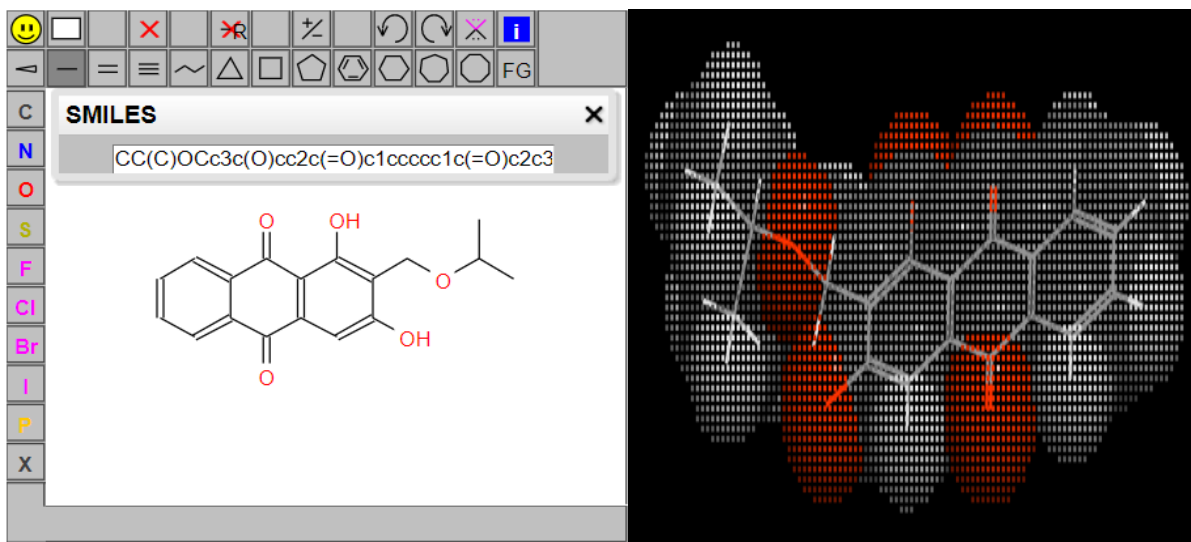


Figura 12. Obtención de SMILE por el software Molinspiration. Se observa la obtención de la SMILE canónica de un compuesto no reportado en la base de datos PubChem mediante el software de edición química Molinspiration. Del lado izquierdo se observa al editor generando la SMILE. Del lado derecho se observa la estructura tridimensional del compuesto.

8.2 Creación de base de datos primaria

Creación de una tabla de datos de compuestos, contar con esta base de datos primaria nos permitió desarrollar un estudio de descriptores moleculares (Tabla 1).

Tabla 1. Tabla primaria de compuestos.

Se observa la tabla primaria de compuestos donde están alojadas 34 moléculas presentes en los 18 artículos filtrados de la literatura.

Name	Canonical SMILES	Compound	Origin	Source	Trichomonad	PubChem ID
2H-chromene	<chem>C1C=CC2=CC=CC=C2O</chem>	Benzopyran	medicinal plant	Hypericum	T. vaginalis	9211
Betulinic acid	<chem>CC(=C)C1CCC2(C1C3CC(C2)C3)C</chem>	pentacyclic triterpenoid	medicinal plant	Palatanus acerifoli	T. vaginalis	64971
Nectandra	<chem>CC1=CCC(CC1)C(C)(CC1=CC=CC=C1)C</chem>	(+) - α -Bisabolol	essential oil	Nectandra	T. vaginalis	1549992
Caffeic acid	<chem>C1=CC(=C(C=C1C=CC(=O)O)C</chem>	hydroxycinnamic acid	potatoes	Solanum tuberosum	Trichomonads	689043
Candimine	<chem>CN1CCC2=CC(C3C(C2)C(C3)C</chem>	alkaloid	ornamental plant	Hippeastrum	T. vaginalis	441588
Carmaphycin-17	<chem>CCCCC(=O)N[C@H](Cc1c[nH]c2cccc12)C(=O)N</chem>	cancer drug	protesome inhibitor	T. vaginalis	N/A	
α -Chaconine	<chem>CC1CCC2C(C3C(N2C1)C(C3)C</chem>	glycoalkaloid	potatoes	Solanum tuberosum	Trichomonads	442971
Chlorogenic acid	<chem>C1C(C(C(C1(C=O)O)C(C=O)O)C</chem>	phenol	potatoes	Solanum tuberosum	Trichomonads	1794427
Emodin	<chem>CC1=CC2=C(C(C=C1)O)C(C2)C</chem>	trihydroxyanthraquinone	rhubarb	Rheum palmatum	T. vaginalis	3220
Geraniol	<chem>CC(=CCCC(=CCO)C)C</chem>	monoterpene	essential oil	Amomum tsao-ko	T. vaginalis	637566
Isoaustrobrasilol B	<chem>CCCC(=O)C1=C(C(C=C2C(C1)C</chem>	phloroglucinol	medicinal plant	Hypericum spp.	T. vaginalis	132579547
Lucidin-isopropyl-ether	<chem>CC(C)OCc3c([OH-])cc2c3c1c</chem>	anthraquinone	plant roots	Morinda panamensis	T. vaginalis	N/A
Lycorine	<chem>C1CN2CC3=CC4=C(C=C2)C(C3)C</chem>	alkaloid	ornamental plant	Hippeastrum	T. vaginalis	72378
Methyl jasmonate	<chem>CCC=CCC1C(CCC1=O)C</chem>	Jasmonates	plant hormone	plant hormone	T. vaginalis	5281929
N-acetyl-L-cysteine	<chem>CC(=O)NC(CS)C(=O)O</chem>	L-cysteine amino acid	L-cysteine amino acid	L-cysteine amino acid	T. vaginalis	12035
Pyrolocin A	<chem>CC1CCC2C(C1)C=C(C(C2(C)C(C</chem>	fungus endophyte	fungus endophyte	fungus endophyte	T. vaginalis	101889884
Quercetin	<chem>C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C</chem>	polyphenol	potatoes	Solanum tuberosum	Trichomonads	5280343
Resveratrol	<chem>C1=CC(=CC=C1C=CC2=CC=CC=C2</chem>	polyphenol	grapes	Vitis vinifera	T. vaginalis	445154
Saponins A	<chem>CC1C(C(C(C1)OC2C(C(C2)C(C3C</chem>	Saponin	medicinal plant	Sapindus saponaria	T. vaginalis	101638317
Saponins B	<chem>CC1C(C(C(C1)OC2C(C(C2)C(C3C</chem>	Saponin	medicinal plant	Sapindus saponaria	T. vaginalis	21606141
Skimianine	<chem>COC1=C(C2=C(C=C1)C(C2)C(C3C</chem>	furoquinoline	medical plant	Haplophyllum myrtifolium	T. vaginalis	6760
Solanidine	<chem>CC1CCC2C(C3C(N2C1)C(C3)C</chem>	alkaloid	potatoes	Solanum tuberosum	Trichomonads	65727
α -Solanine	<chem>CC1CCC2C(C3C(N2C1)CC4C3(CCC</chem>	alkaloid	potatoes	Solanum tuberosum	Trichomonads	6713954
Tomatidine	<chem>CC1CCC2(C(C3C(O2)C(C3)C</chem>	steroid	tomatoes	Lycopersicon	Trichomonads	65576
Tomatine	<chem>CC1CCC2(C(C3C(O2)C(C3)C</chem>	alkaloid	tomatoes	Lycopersicon	Trichomonads	28523
Torvoside A	<chem>CC1C2C(CC3C2(CCC4C(C3)C(C4</chem>	glycoside	medicinal plant	Solanum torvum	T. vaginalis	102444965
Torvoside H	<chem>CC1C2C(CC3C2(CCC4C(C3)C(C4</chem>	glycoside	medicinal plant	Solanum torvum	T. vaginalis	70697829
Uliginosin B	<chem>CC(C)C(=O)C1=C(C(=C(C1)C</chem>	phloroglucinol	medicinal plant	Hypericum	T. vaginalis	5315118
Ursolic acid	<chem>CC1CCC2(CCC3(C(=CC(C2)C3)C</chem>	pentacyclic triterpenoid	medicinal plant	Manika rufula	T. vaginalis	64945
Wogonine	<chem>COC1=C(C=C(C2=C1O)C(C2)C</chem>	flavone	plant leaves	Scutellaria havanensis	T. vaginalis	5281703
N - (5-Bromo-4- p -tolil-tiazol-2-il)	<chem>CC(=O)Nc2nc(c1ccc(C)cc1)nc2</chem>	Thiazol	sintetizado	N/A	T. vaginalis	N/A

8.3 Tamizado por descriptores moleculares de base datos primaria

Análisis de High Throughput Screening basado en los Descriptores moleculares.

- Se utilizaron los softwares “DataWarrior”, “DruLiTo” y “SwissDock” para generar un análisis basado en los descriptores moleculares.
- Se utilizaron las reglas de Lipinski como medida para este cálculo.
- Generación de graficas según sus descriptores moleculares, utilizando Rstudio.

Primero analizamos el peso molecular de los compuestos, según las reglas de Lipinski, discriminamos los compuestos que tuvieron un peso molecular mayor a 500 Da (Figura 14)

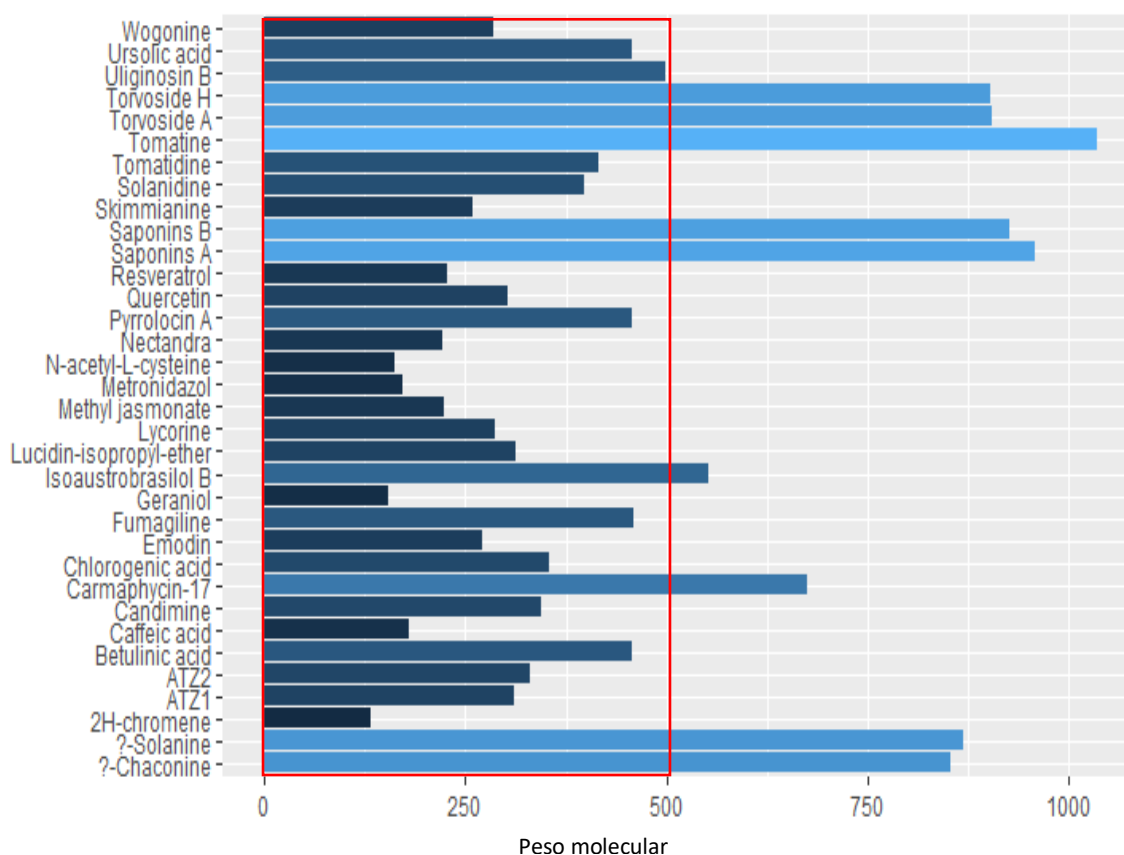


Figura 14. Pesos moleculares de los compuestos presentes en la tabla primaria. Se observa la gráfica de los pesos moleculares de los compuestos presentes en la tabla primaria. La regla de Lipinski para este factor indica que es deseable un peso molecular de 500 Daltons o menor.

Se analizaron el número de aceptores de hidrógeno de la librería primaria, discriminamos los compuestos que tenían más de 5 aceptores de puentes de hidrogeno como lo indica las reglas de Lipinski (Figura 15).

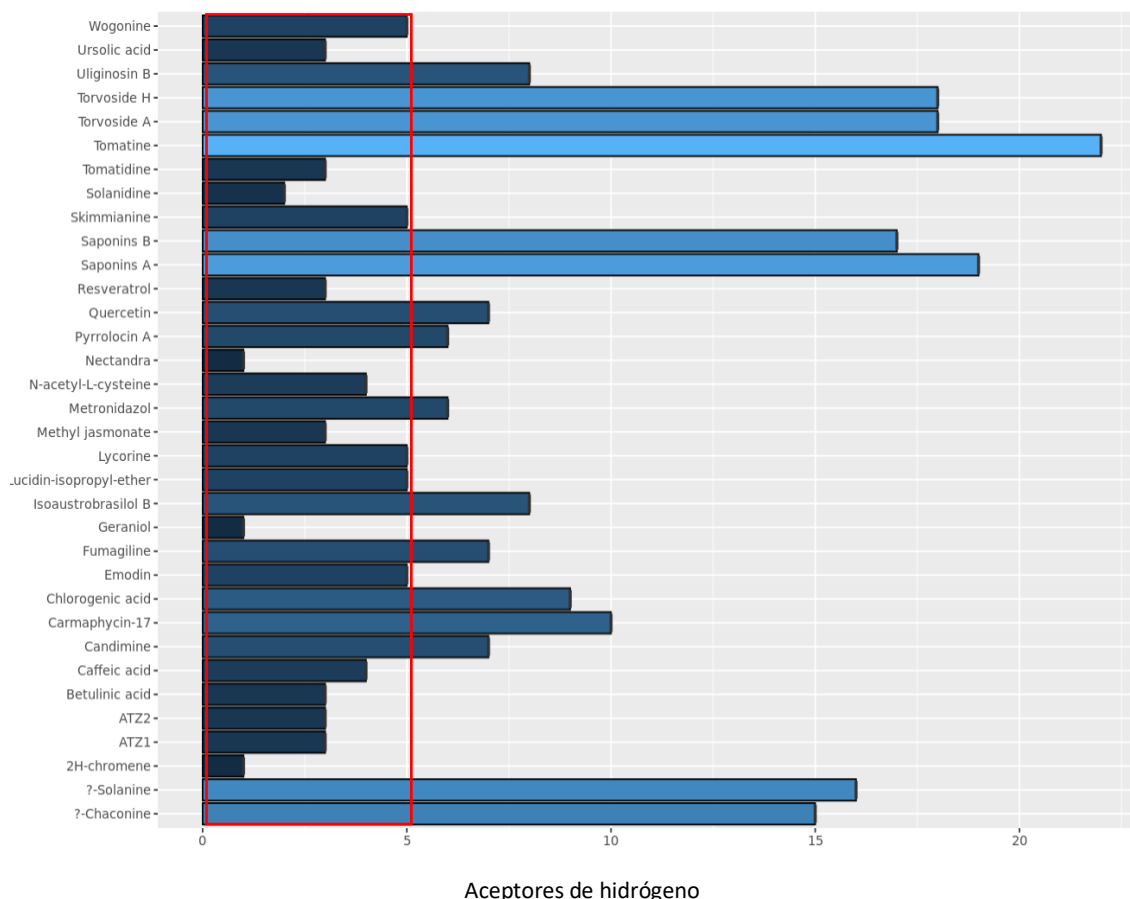


Figura 15. Aceptores de enlaces de hidrógeno de los compuestos presentes en la tabla primaria. Se observa la gráfica de los aceptores de enlaces de hidrógeno de los compuestos presentes en la tabla primaria. La regla de Lipinski para este factor indica que es deseable que la molécula presente 5 aceptores de enlaces de hidrógeno o menos.

Se analizaron el número de donantes de hidrógeno de la librería primaria, discriminamos los compuestos que tengan más de 5 donantes de puentes de hidrogeno como lo indica las reglas de Lipinski (Figura 16).

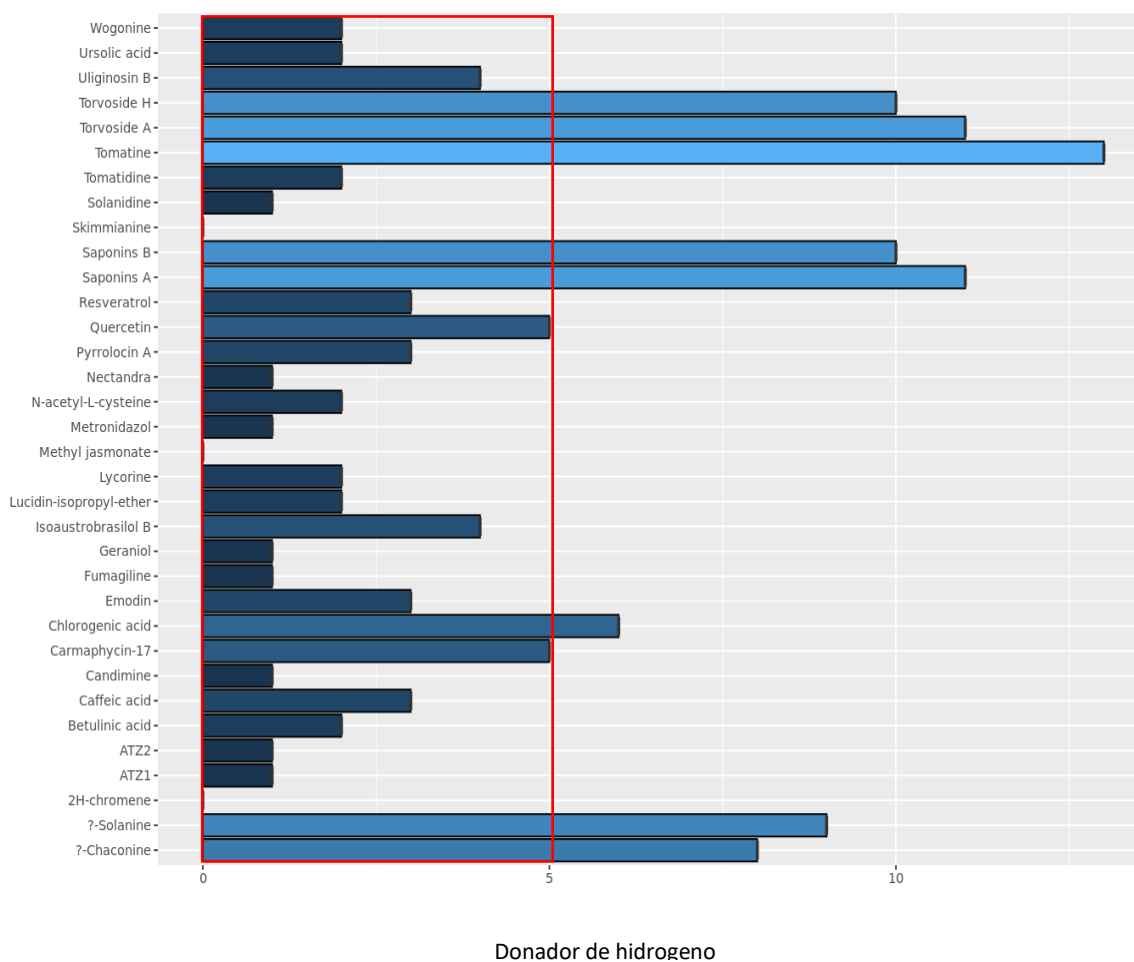


Figura 16. Donantes de enlaces de hidrógeno de los compuestos presentes en la tabla primaria. Se observa la gráfica de los donantes de enlaces de hidrógeno de los compuestos presentes en la tabla primaria. La regla de Lipinski para este factor indica que es deseable que la molécula presente 5 donantes de enlaces de hidrógeno o menos.

Se analizo la solubilidad de los compuestos mediante cLogP de la librería primaria, discriminamos los compuestos que tengan un cLogP mayor a 5 como lo indica las reglas de Lipinski (Figura 17).

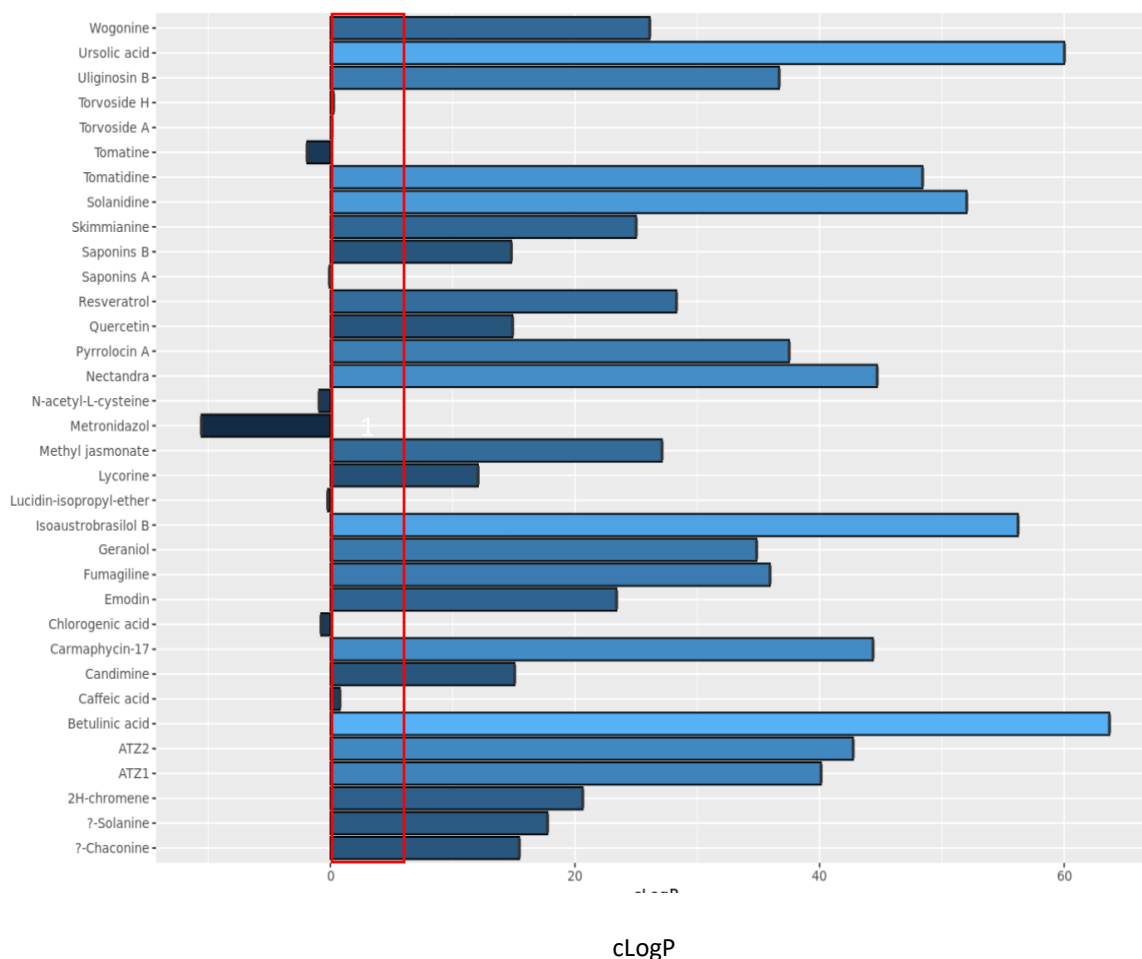


Figura 17. cLogP de los compuestos presentes en la tabla primaria. Se observa la gráfica del valor de LogP de los compuestos presentes en la tabla primaria. La regla de Lipinski para este factor indica que es deseable que la molécula presente un Log P de 5 o menos.

8.4 Reglas de Lipinski

Mediante el software DruLiTo se llevó a cabo el análisis para conocer cuales compuestos cumplen con las reglas de Lipinski y cuales compuestos no cumplen con dichas reglas. Aquellos compuestos que no cumplen con las reglas de Lipinski fueron descartados, mientras que tamizamos los compuestos que si cumplen con dichas reglas para formar una librería química inicial *In silico* (Figura 18).

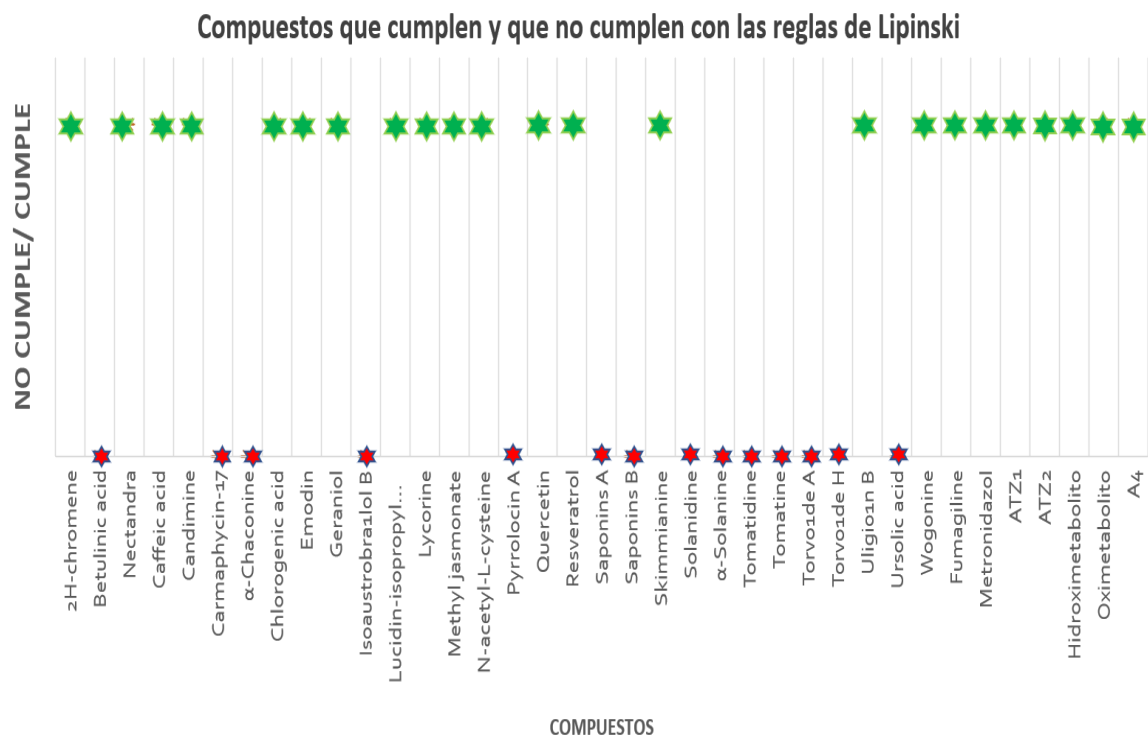


Figura 18. Grafica de los compuestos que cumplen y no cumplen con reglas de Lipinski. Se observa una gráfica que muestra aquellos compuestos que cumplen con las reglas de Lipinski (estrella verde) y los que no cumplen con las reglas de los 5 o de Lipinski (estrella roja).

8.5 Librería química inicial

Todos aquellos compuestos que cumplieron con las reglas de Lipinski fueron alojados en una base de datos o librería química inicial de compuestos. Esta librería posteriormente fue evaluada por docking molecular (Figura 19).

Librería química inicial

21 compuestos aprobaron las reglas de Lipinski

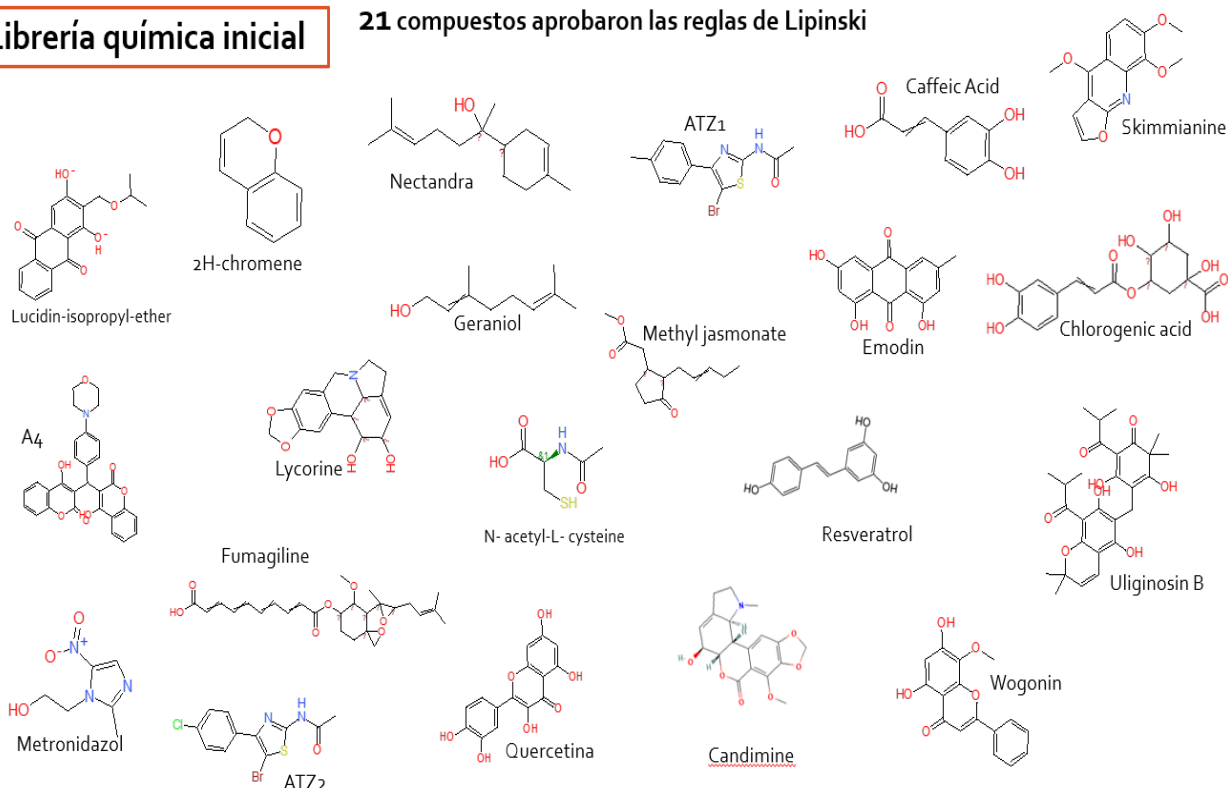


Figura 19. Esquema representativo de la librería química inicial. Se observa un esquema representativo de las estructuras químicas de los compuestos que conforman la librería química inicial, las cuales cumplen con las reglas de Lipinski.

8.6 Docking molecular de librería química inicial con TvMP50

Los 21 compuestos que cumplieron con las reglas de Lipinski y que conforman la librería química inicial fueron evaluados *in silico* mediante docking molecular contra TvMP50 de *T. vaginalis* con el fin de conocer aquellos compuestos que interactúan *in silico* con esta metaloproteína. Los análisis se ejecutaron con los softwares SwissDock y PatchDock. Los resultados de acoplamiento fueron evaluados y/o visualizados mediante el software Chimera versión 1.15. (Figura 20).

Observamos que todos aquellos compuestos que tienen un valor elevado de LogP, así como un peso molecular mayor a 500 Dáltones fueron discriminados por los softwares empleados para el análisis. También observamos que algunos

compuestos podían tener un valor superior de aceptores y donadores formadores de puentes de hidrogeno y aun así cumplir con el balance general de las reglas de Lipinski, siendo que dichas reglas son flexibles en estos dos puntos.

El compuesto Uliginosin B presento un error de configuración estructural indicado por el software SwissDock y no pudo ser evaluado por acoplamiento molecular.

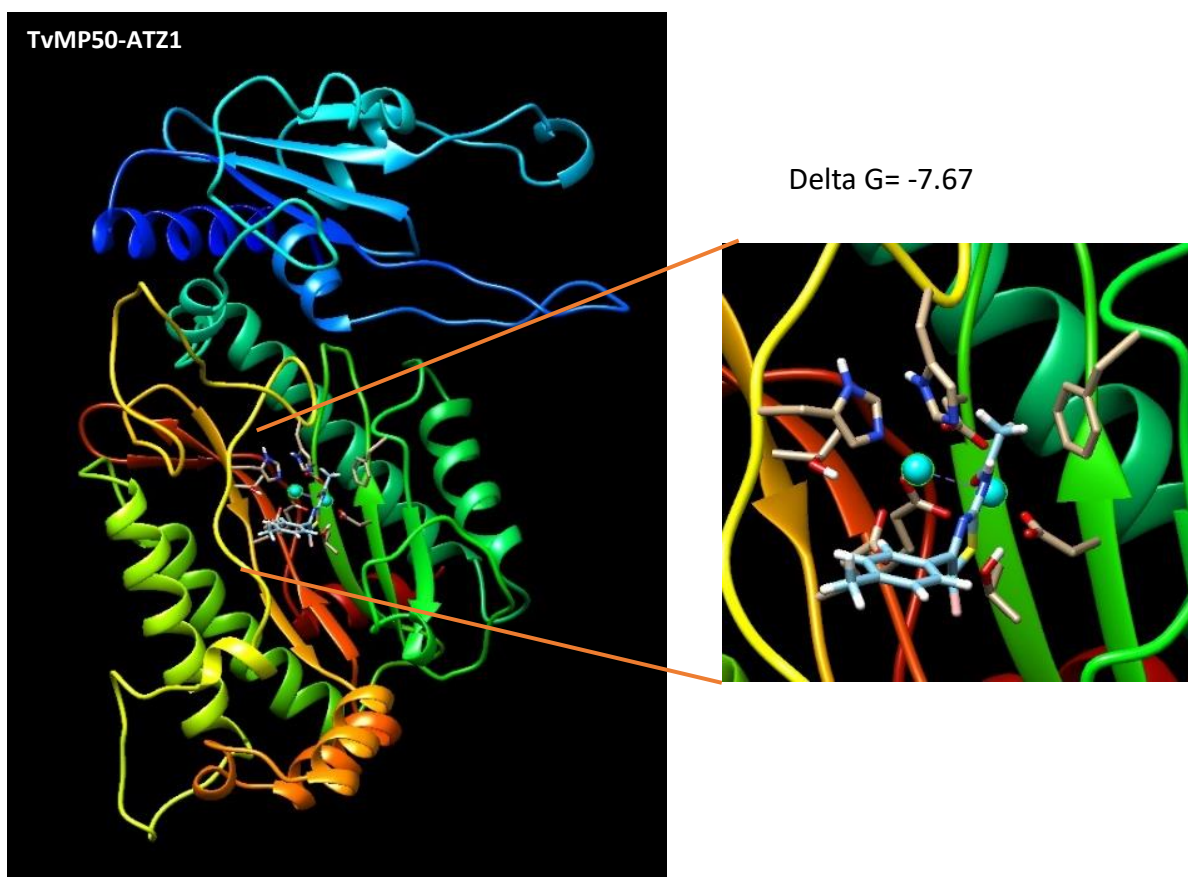


Figura 20. Esquema representativo de la interacción entre TvMP50 y ATZ1. Se observa una interacción entre ATZ1 y el sitio activo de TvMP50, donde el ΔG tuvo un valor negativo de -7.67

Se tomaron los valores de ATZ y Metronidazol ya que se conoce que estos compuestos presentan una interacción con TvMP50 de forma experimental (Figura 21).

TvMP50-Metronidazol

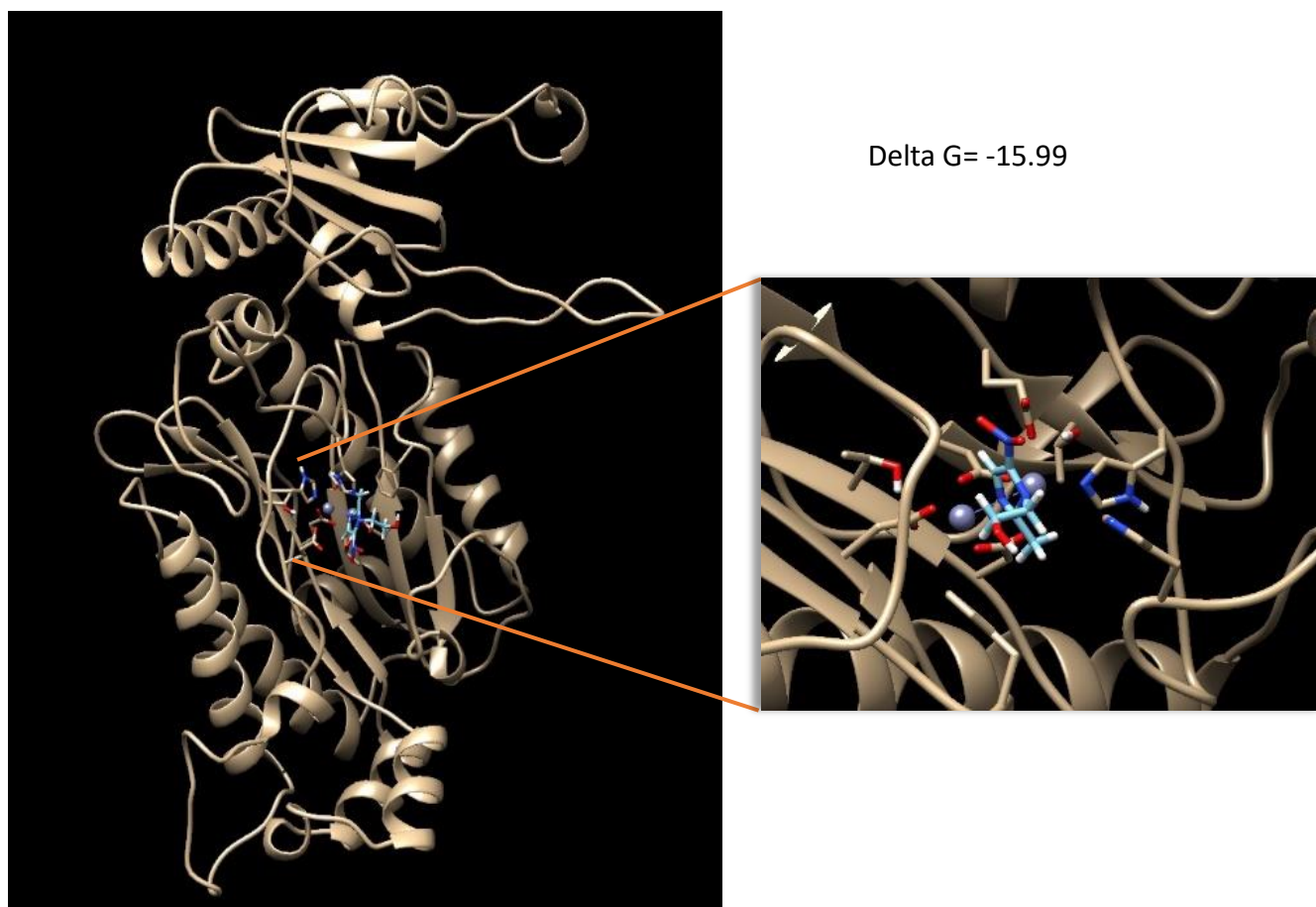


Figura 21. Esquema representativo de la interacción entre TvMP50 y Metronidazol. Se observa una interacción entre Metronidazol y el sitio activo de TvMP50, donde el ΔG tuvo un valor negativo de -15.99

Para conocer aquellos compuestos que mejor acoplamiento con TvMP50 presentaron, realizamos una gráfica de barras (Figura 22), esto nos permite saber que compuestos son los más prometedores en la interacción con su blanco.

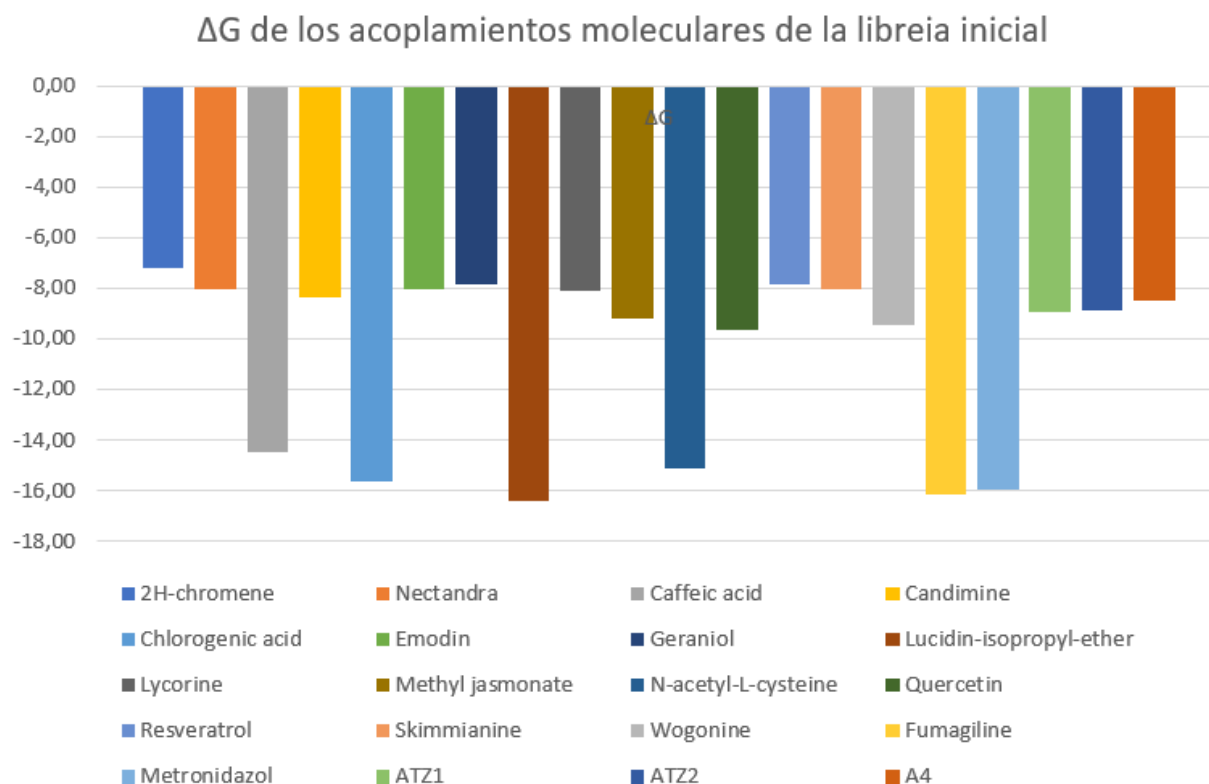


Figura 22. Valor ΔG de la librería primaria. En la gráfica se observa los valores ΔG de los acoplamientos moleculares de la librería química inicial. Los compuestos Lucidin-isopropyl-ether y Fumagiline presentaron valores mas negativos con respecto al metronidazol y los tiazoles ATZ 1 y ATZ2.

Colocamos los datos en una tabla para tener visualmente los valores y poder identificarlos rápidamente (Tabla 2).

Valores de ΔG de los compuestos presentes en la librería inicial	
Nombre de compuesto	Valor de ΔG
2H-chromene	-7.19
Nectandra	-8.02
Caffeic acid	-14.47
Candimine	-8.39
Chlorogenic acid	-15.66
Emodin	-8.02
Geraniol	-7.84
Lucidin-isopropyl-ether	-16.45
Lycorine	-8.11
Methyl jasmonate	-9.23
N-acetyl-L-cysteine	-15.1
Quercetin	-9.63
Resveratrol	-7.84
Skimmianine	-8.06
Wogonine	-9.46
Fumagiline	-16.19
Metronidazol	-15.99
ATZ1	-8.92
ATZ2	-8.85
A4	-8.49

Figura 23. Valor ΔG de la librería primaria. En la tabla se observan los valores ΔG de los acoplamiento molecular de los compuestos que componen la librería química inicial. Los compuestos Lucidin-isopropyl-ether y Fumagiline presentaron valores más negativos con respecto al metronidazol y los tiazoles ATZ 1 y 2.

8.7 Librería química secundaria

Todos los compuestos de la librería inicial que interactuaron con el sitio activo de TvMP50 fueron alojados en una librería la cual denominamos “librería química secundaria” (Figura 24).

Estructuras de librería secundaria

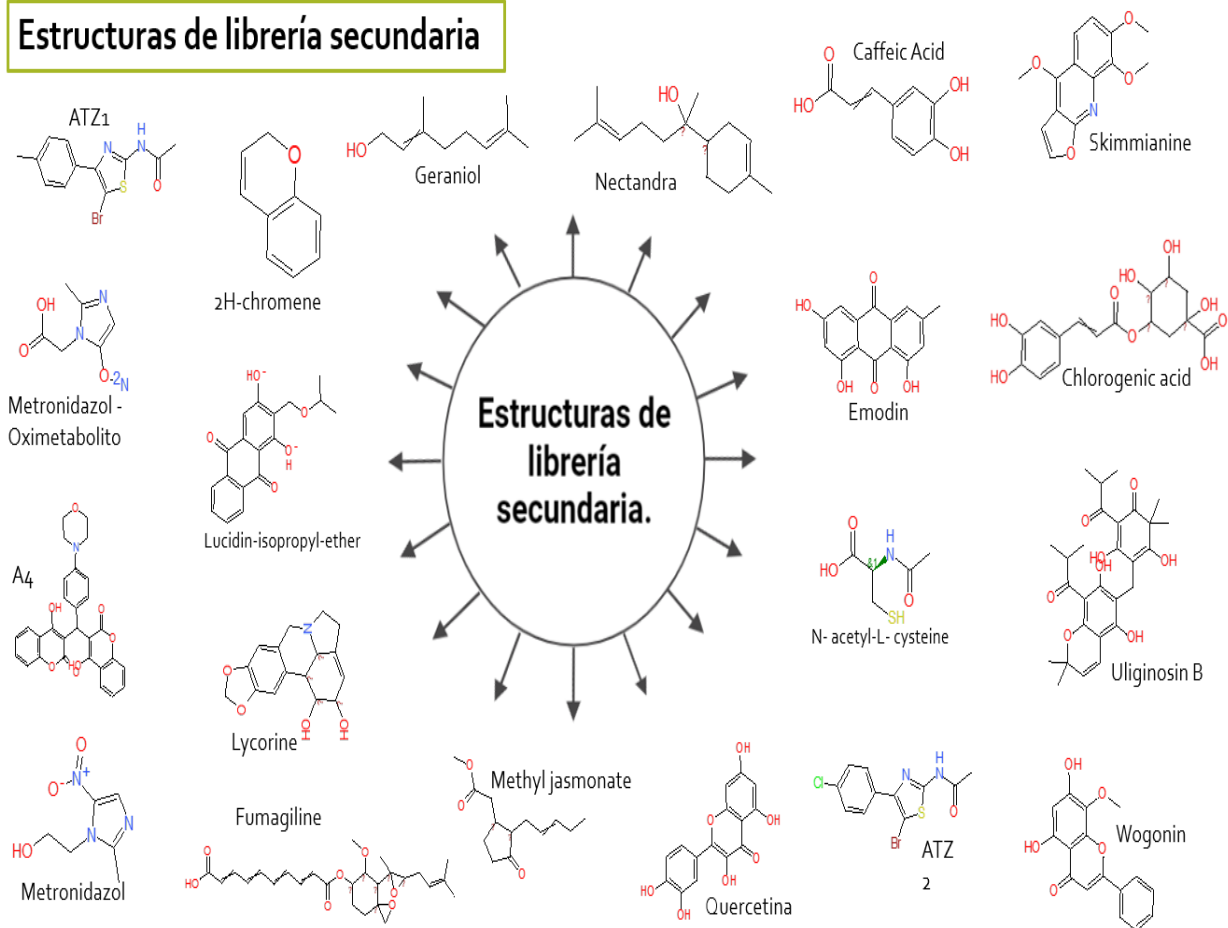
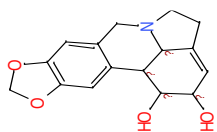


Figura 24. Esquema representativo de la librería química secundaria. Se observa un esquema representativo de las estructuras químicas de los compuestos que conforman la librería química secundaria, las cuales presentan *in silico* un acoplamiento con el sitio activo de TvMP50.

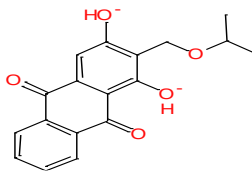
8.8 Fragmentos de compuestos de librería secundaria

Para realizar la construcción de nuevas entidades moleculares o quimeras, las moléculas a fragmentar deben cumplir con la regla de los 3 o de los líderes, fue ideada para bibliotecas de fragmentos como un equivalente a la regla de Lipinski de 5 filtros para bibliotecas similares a fármacos. A este análisis fue sometida la librería química secundaria y se llevó a cabo mediante el software Drulito.

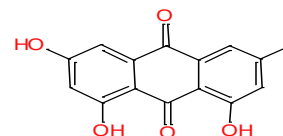
Se generó un análisis de compuestos líderes donde 6 moléculas cumplieron la prueba (Emodin, Lucidin-isopropyl-ether, Licorine, Quercitina, Wogonina y Fumagiline) (Figura 25).



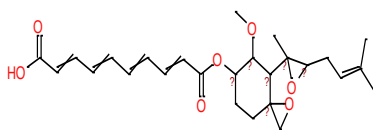
Lycorine



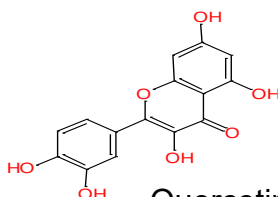
Lucidin-isopropyl-ether



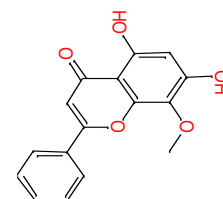
Emodin



Fumagilline



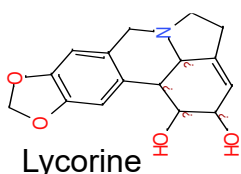
Quercetina



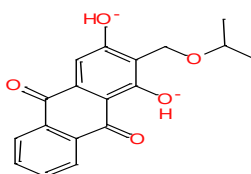
Wogonin

Figura 25. Esquema de las estructuras químicas de los compuestos que cumplen la regla de los líderes. Se observa un esquema representativo de las estructuras químicas de los compuestos que cumplen con las reglas de los 3 o de los líderes.

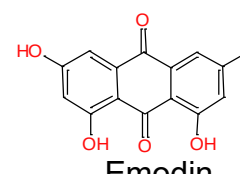
Los 6 compuestos que cumplieron la regla de los líderes posteriormente se les realizó un análisis de Scaffolds para conocer sus andamios de construcción, esto se llevó a cabo mediante el software DataWarrior (Figura 26).



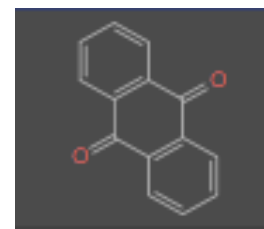
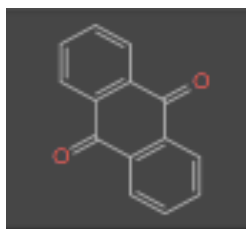
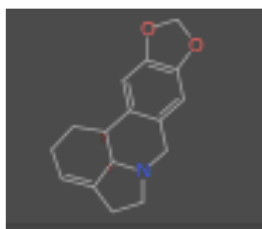
Lycorine



Lucidin-isopropyl-ether



Emodin



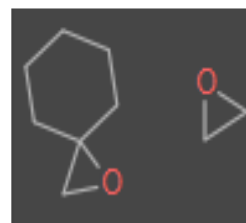
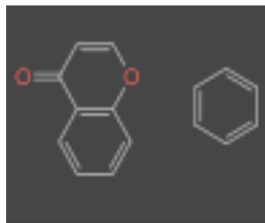
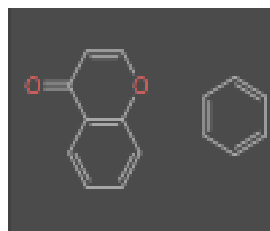
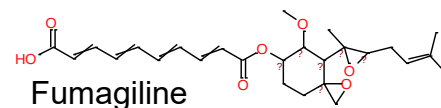
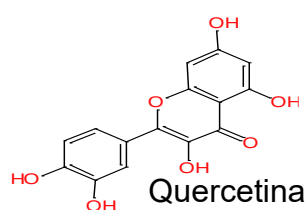
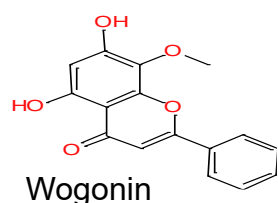


Figura 26. Esquema de las estructuras químicas de los compuestos líderes y sus scaffolds. Se observa un esquema representativo de las estructuras químicas de los compuestos que cumplen con las reglas de los líderes (fondo blanco). Se observa las estructuras scaffolds o andamios de construcción (fondo oscuro).

Se adicionó los scaffolds de Metronidazol y los tiazoles ATZ1 y ATZ2, ya que estos dos compuestos que hemos seguido en el equipo de trabajo de laboratorio y son de importancia para nosotros (Figura 27).

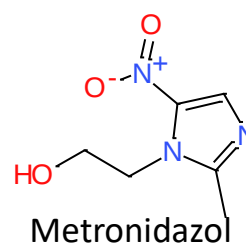
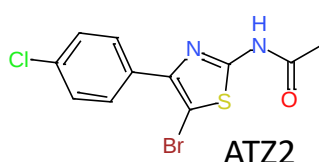
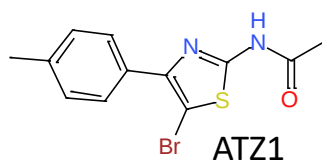
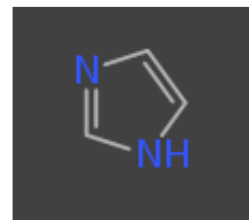
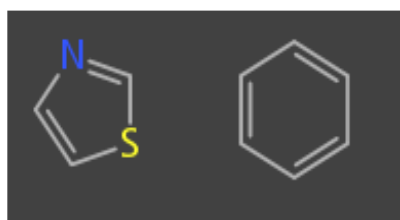


Figura 27. Esquema de las estructuras scaffolds de metronidazol, ATZ1 y ATZ2. Se observan de los scaffold de los compuestos metronidazol, ATZ1 y ATZ2 (fondo oscuro) y sus estructuras químicas (fondo blanco).

8.9 Análisis de similitud

Posteriormente se realizó un análisis de similitud entre los andamios y las moléculas líderes, para generar una proyección de quimeras. Este análisis fue ejecutado por el software DataWarrior (Figura 28) y obtuvimos un total de 18 construcciones quiméricas.

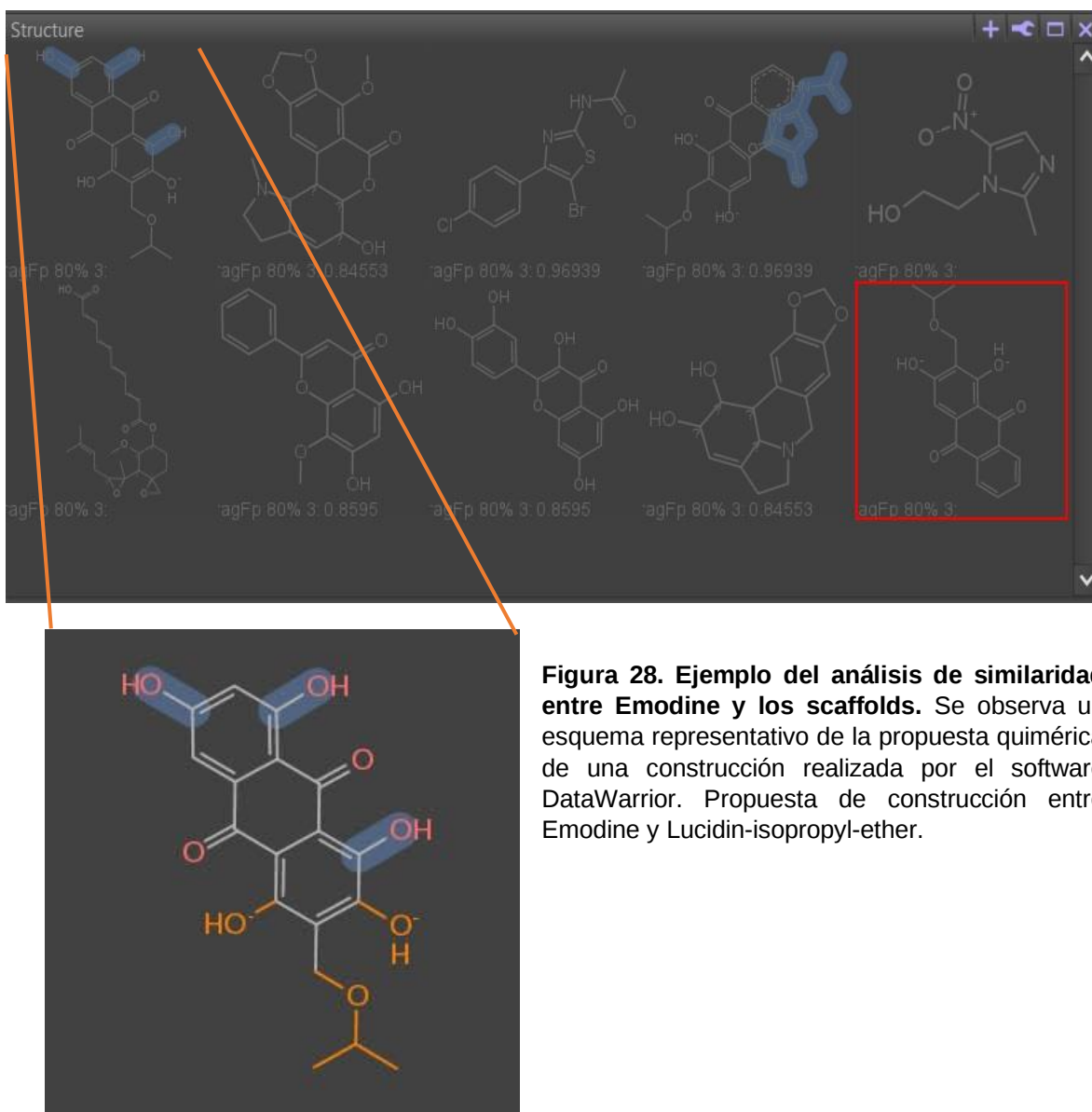


Figura 28. Ejemplo del análisis de similitud entre Emodine y los scaffolds. Se observa un esquema representativo de la propuesta quimérica de una construcción realizada por el software DataWarrior. Propuesta de construcción entre Emodine y Lucidin-isopropyl-ether.

8.10 Librería de compuestos quiméricos

Las construcciones que nos sugería el software DataWarrior fueron editadas, la edición de las quimeras se realizó a mano racionalmente mediante el software Molinspiration (Figura 29).

Librería de nuevas entidades moleculares quiméricas

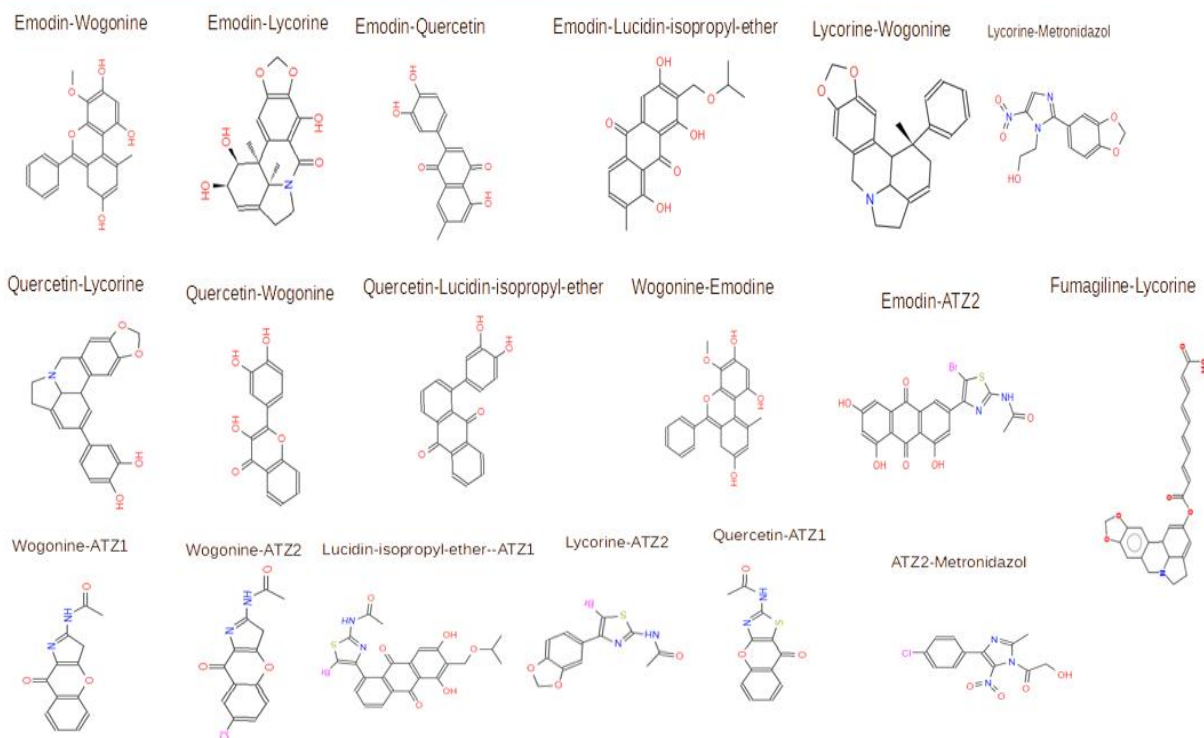


Figura 29. Esquema representativo de la librería de quimeras. Se observa un esquema representativo de las 18 estructuras químicas de las construcciones quiméricas.

A las quimeras se les calculó sus descriptores moleculares con el fin de conocer si cumplen con las reglas de Lipinski.

Se analizaron el número de aceptores de hidrógeno de las quimeras diseñadas, discriminamos los compuestos que tengan más de 5 aceptores de puentes de hidrogeno como lo indica las reglas de Lipinski (Figura 30).

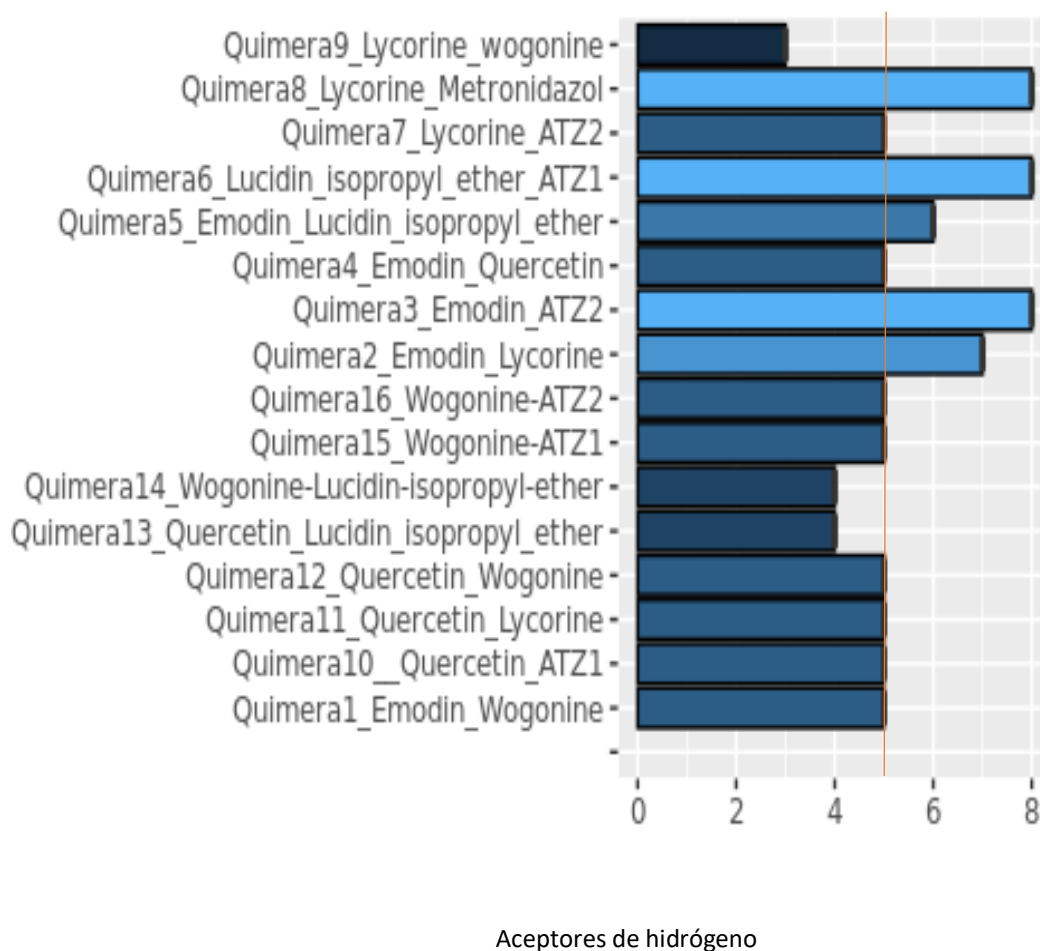


Figura 30. Aceptores de enlaces de hidrógeno de las quimeras. Se observa la gráfica de los aceptores de enlaces de hidrógeno de las quimeras diseñadas. La regla de Lipinski para este factor indica que es deseable que la molécula presente 5 aceptores de enlaces de hidrógeno o menos.

Se analizó el número de donantes de hidrógeno de las quimeras diseñadas, discriminando los compuestos que tuvieron más de 5 donantes de puentes de hidrogeno como lo indica las reglas de Lipinski (Figura 31)

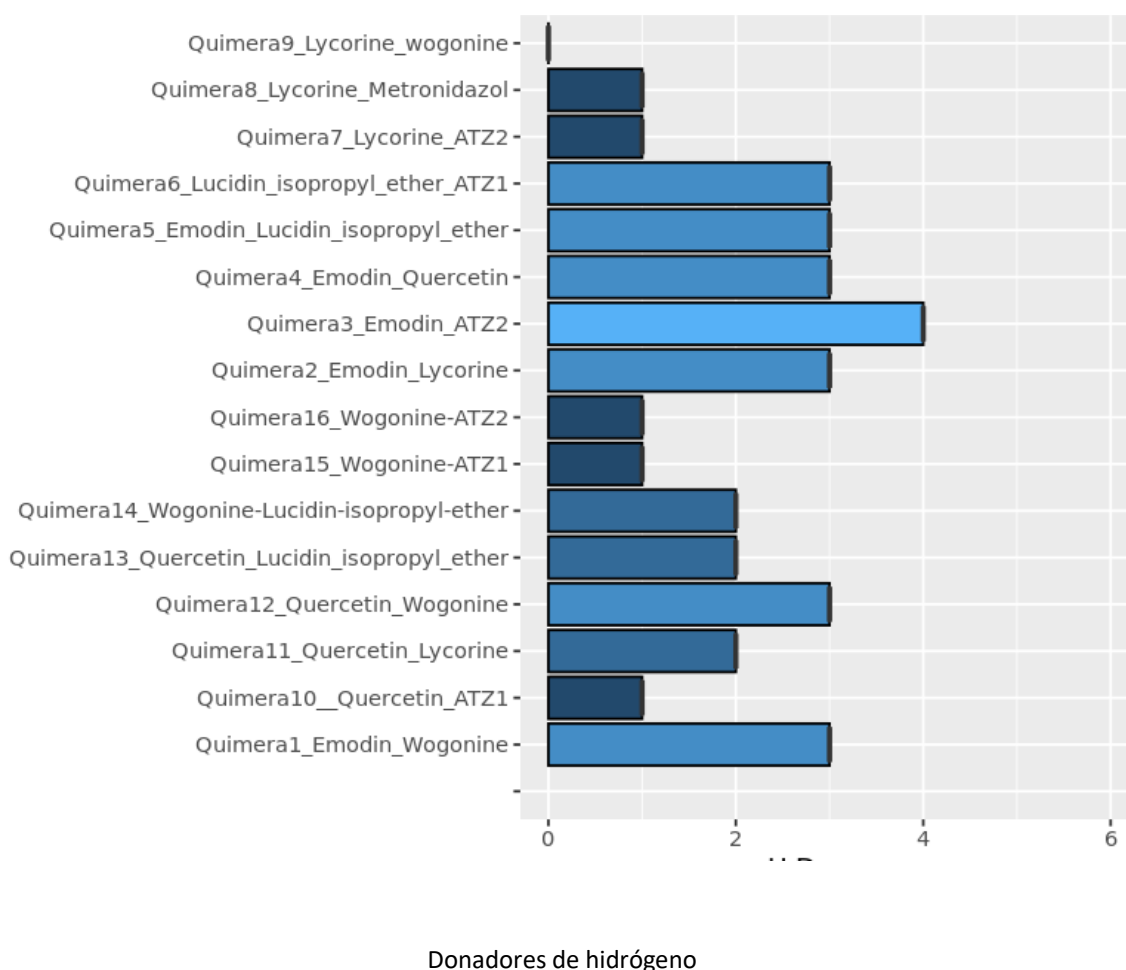


Figura 31. Donantes de enlaces de hidrógeno de las quimeras. Se observa la gráfica de los donantes de enlaces de hidrógeno de las quimeras diseñadas. La regla de Lipinski para este factor indica que es deseable que la molécula presente 5 donantes de enlaces de hidrógeno o menos.

Se analizo la solubilidad mediante cLogP de las quimeras diseñadas, discriminamos los compuestos que tengan un cLogP mayor a 5 como lo indica las reglas de Lipinski (Figura 32).

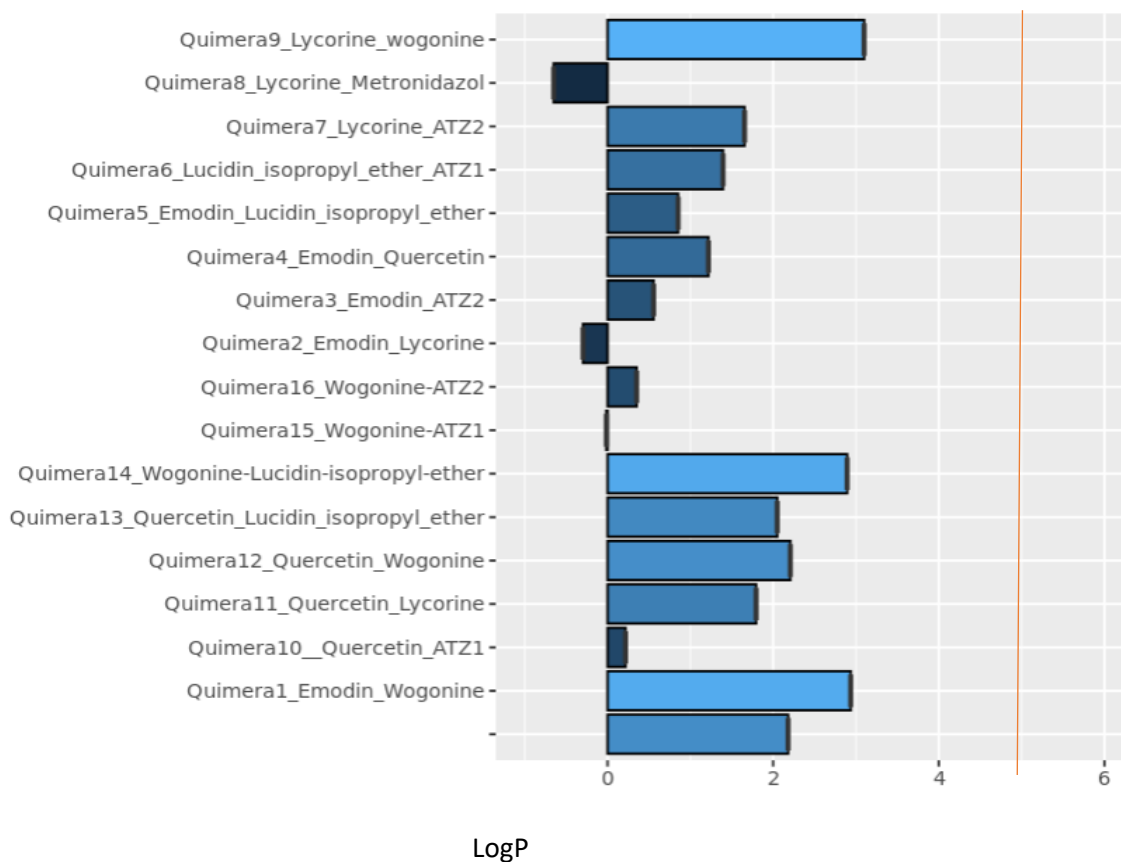


Figura 32. Log P de las quimeras. Se observa la gráfica del Log P de las quimeras diseñadas. La regla de Lipinski para este factor indica que es deseable que la molécula presente un Log P de 5 o menos.

Analizamos el peso molecular según las reglas de Lipinski de las quimeras diseñadas, discriminamos las quimeras que tengan un peso molecular mayor a 500 Da (Figura 33)

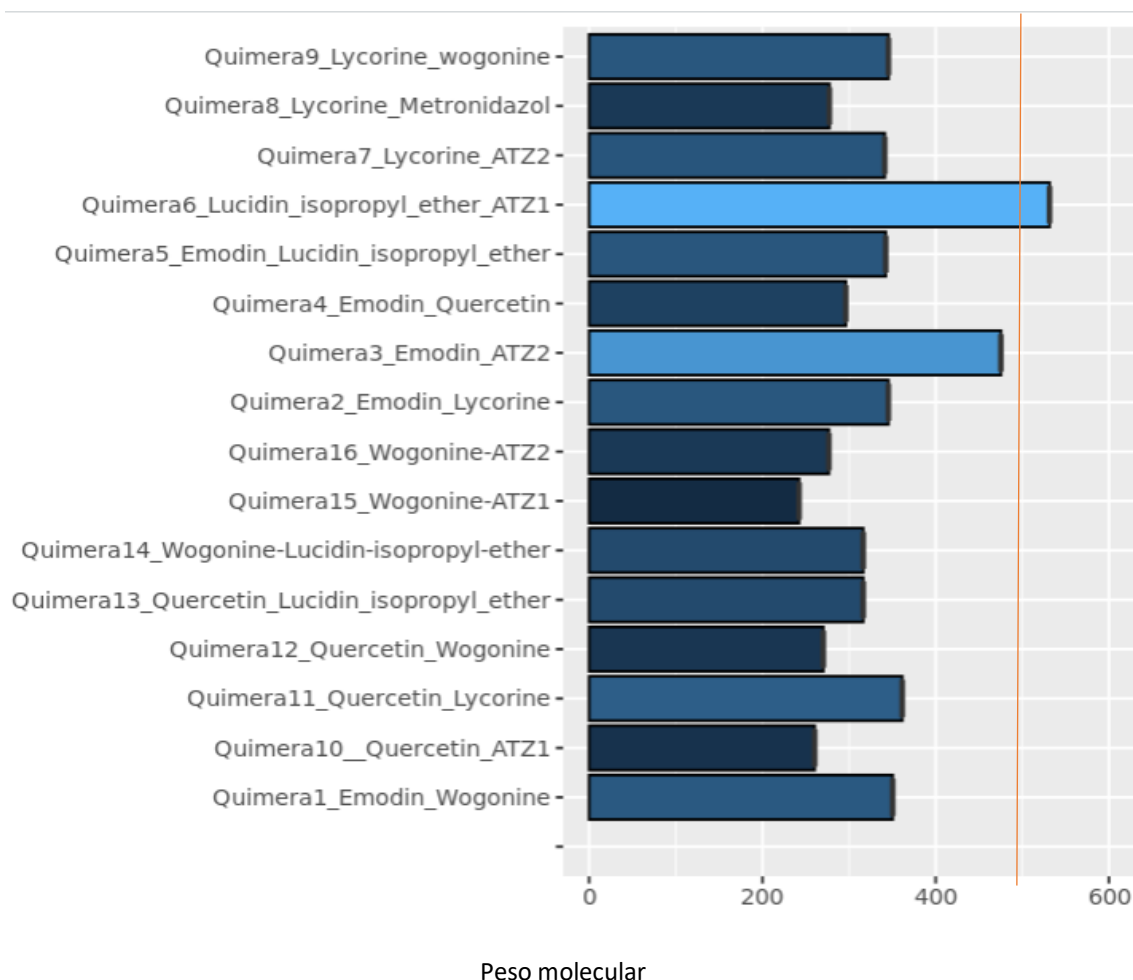


Figura 33. Peso molecular de las quimeras. Se observa la gráfica el peso molecular de las quimeras diseñadas. La regla de Lipinski para este factor indica que es deseable que las moléculas presenten un peso molecular de 500 Dalton o menos.

8.11 Docking molecular de las quimeras creadas

Las quimeras que cumplieron los descriptores moleculares basado en las reglas de Lipinski (todas las quimeras) fueron evaluadas mediante Docking molecular.

- Se llevo a cabo el docking molecular mediante los servidores SwissDock y PatchDock, se tomaron en cuenta los datos del servidor SwissDock.
- Se tomó en cuenta los datos arrojados por SwissDock y se construyó una gráfica (Figura 34)

Valor del ΔG de quimeras

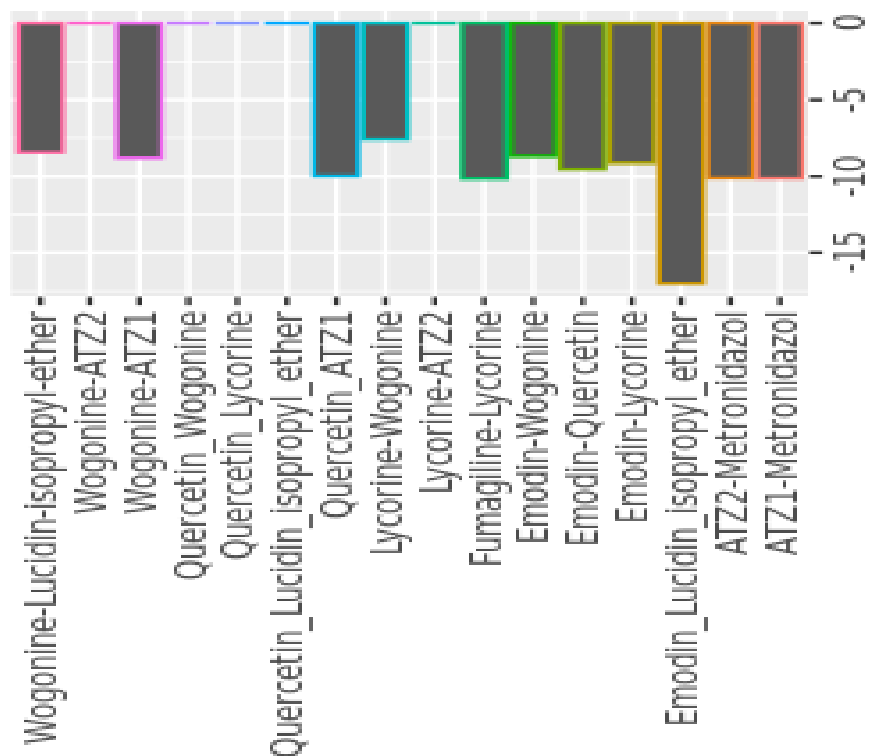


Figura 34. Valor ΔG de las quimeras. Se observa la gráfica de los ΔG obtenidos del análisis por acoplamiento molecular entre las quimeras y TvMP50. La quimera Emodin-Lucidin isopropil ether presento un acoplamiento molecular optimo con un valor de ΔG de -17, siendo un valor mejor que el de nuestro control metronidazol con un ΔG de -15.99

Construimos una tabla con los valores ΔG de las interacciones entre las quimeras y TvMP50 (Tabla 3).

Tabla de los ΔG de las quimeras

Valores de ΔG de las quimeras diseñadas	
Nombre de la quimera	Valor ΔG
ATZ1-Metronidazol	-10.12
ATZ2-Metronidazol	-10.10
Emodin-Wogonine	-8.68
Emodin-Lycorine	-9.12
Emodin-Quercetin	-9.54
Emodin_Lucidin_isopropyl_ether	-17.00
Lycorine-ATZ2	00
Lycorine-Wogonine	-7.59
Quercetin_ATZ1	-9.97
Quercetin_Lycorine	00
Quercetin_Wogonine	00
Quercetin_Lucidin_isopropyl_ether	00
Wogonine-Lucidin-isopropyl-ether	-8.43
Wogonine-ATZ1	-8.81
Wogonine-ATZ2	00
Fumagiline-Lycorine	-10.14

Figura 35. Valores ΔG de las quimeras. Se observa la tabla de los ΔG obtenidos del análisis por acoplamiento molecular entre las quimeras y TvMP50. La quimera Emodin-Lucidin isopropil ether presento un acoplamiento molecular optimo con un valor de ΔG de -17

8.12 Quimera mejor acoplada a TvMP50

Visualizamos nuestros resultados mediante el software Chimera y Discovery Studio, la quimera que presentó el acoplamiento más optimo con TvMP50 fue la quimera Emodin-Lucidin isopropil ether que obtuvo un ΔG de -17.00 (Figura 36).

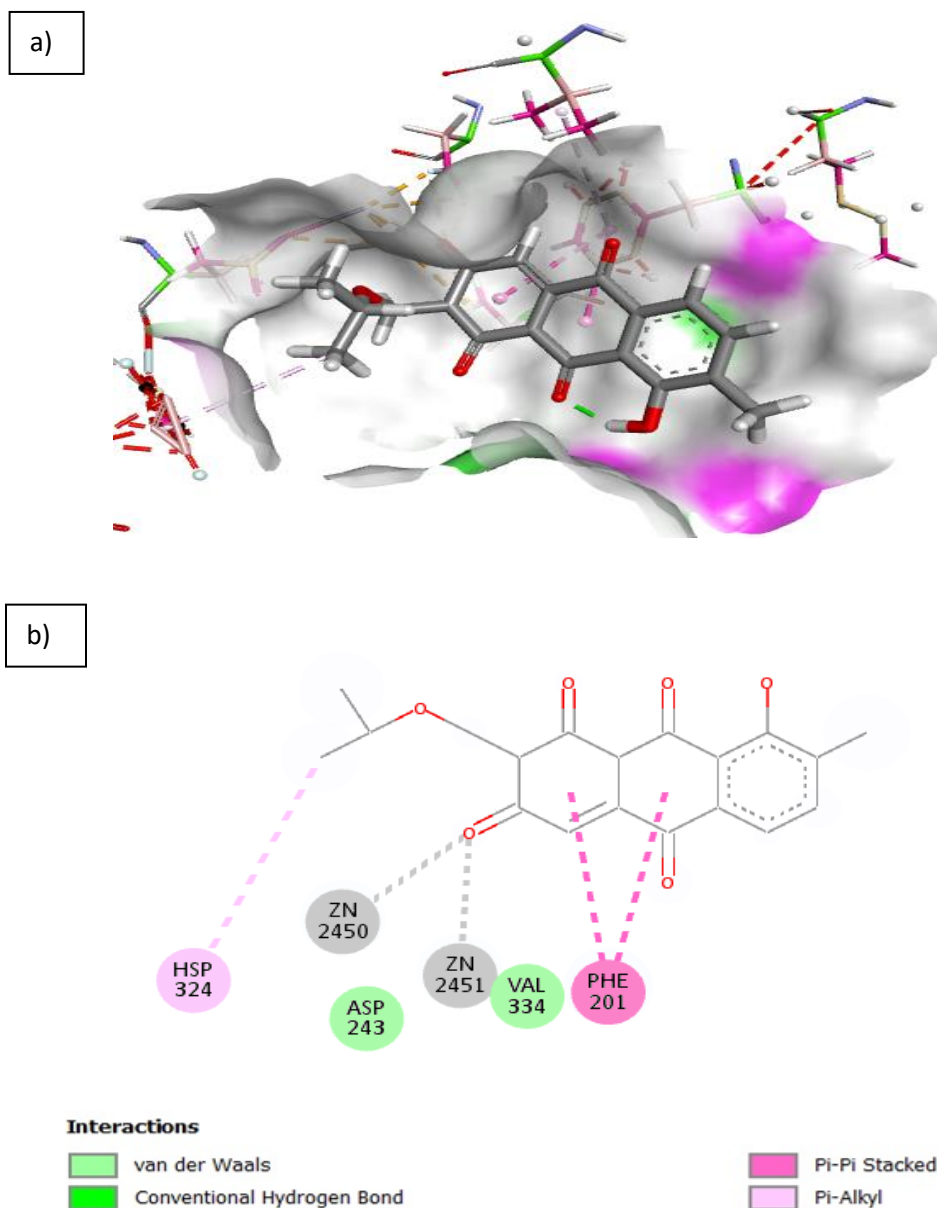


Figura 36. Visualización de acoplamiento de la quimera Emodin-Lucidin isopropil ether. Se observa una representación esquemática de la interacción de la quimera Emodin-Lucidin isopropil ether que presentó un acoplamiento molecular óptimo con un valor de ΔG de -17. A) Imagen de tubos y bastones. B) Interacción de los aminoácidos del sitio activo de TvMP50 con los grupos funcionales de la quimera Emodin-Lucidin isopropil ether.

8.13 Análisis de similitud por huella digital (Fingerprint)

Para ampliar nuestra librería química de compuestos se realizó un análisis de huella dactilar digital o fingerprint. Para lo cual se llevó a cabo el análisis de fingerprint a través de dos softwares, Polypharmacology Browser (PPB) y SwissSimilarity. Del

análisis con PPB se obtuvieron cuatro compuestos similares con número de identificación a) CHEMBL38674, B) CHEMBL41539, C) CHEMBL40849 y D) CHEMBL41902, del SwissSimilarity se obtuvieron tres con números de identificación A) ZINC000013334446, B) ZINC000005812872 y C) ZINC000005461939.

Se llevó a cabo el análisis de fingerprint por medio de dos softwares, el primero Polypharmacology Browser (PPB) y el segundo SwissSimilarity

Se obtuvieron por el primer software cuatro compuestos similares con números de identificación: a) CHEMBL38674, B) CHEMBL41539, C) CHEMBL40849 y D) CHEMBL41902 (Figura 37).

Se obtuvieron por el segundo software tres compuestos más con números de identificación: A) ZINC000013334446, B) ZINC000005812872 y C) ZINC000005461939 (Figura 38).

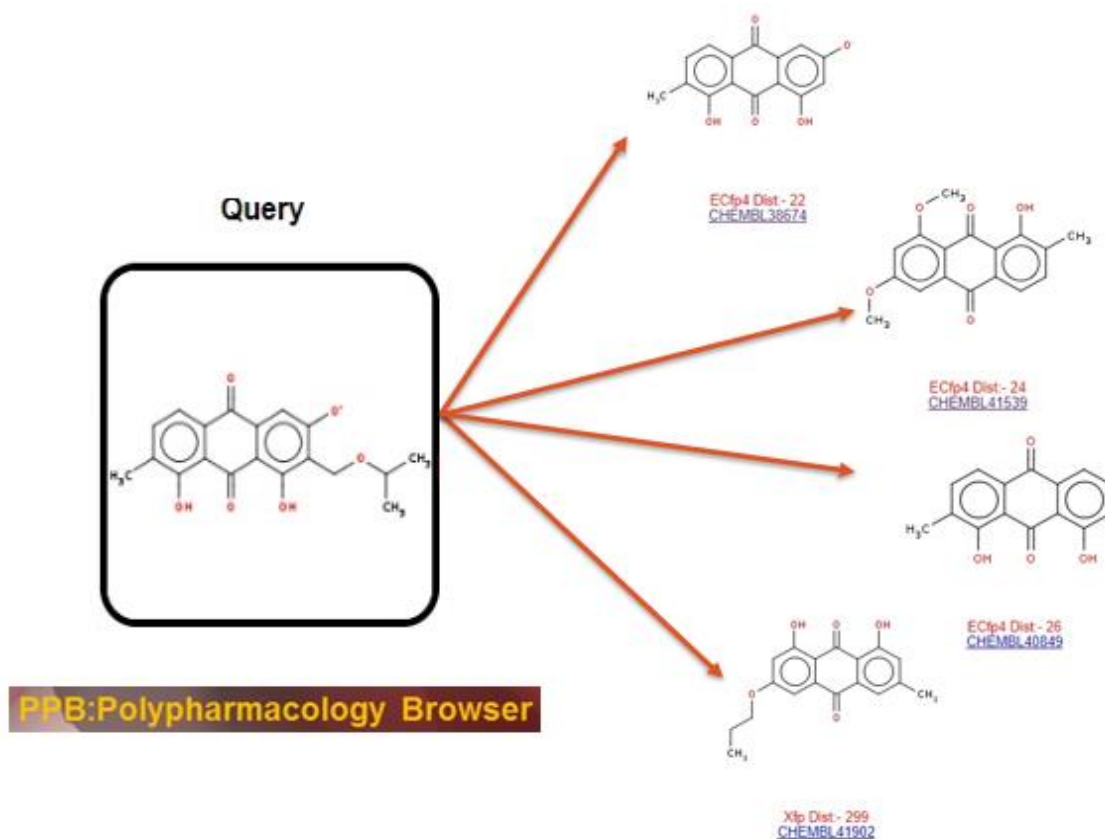


Figura 37. Análisis de huella dactilar digital de la quimera Emodin-Lucidin isopropil ether mediante Polypharmacology Browser. Se observa las estructuras químicas de los compuestos obtenido mediante el software Polypharmacology Browser,

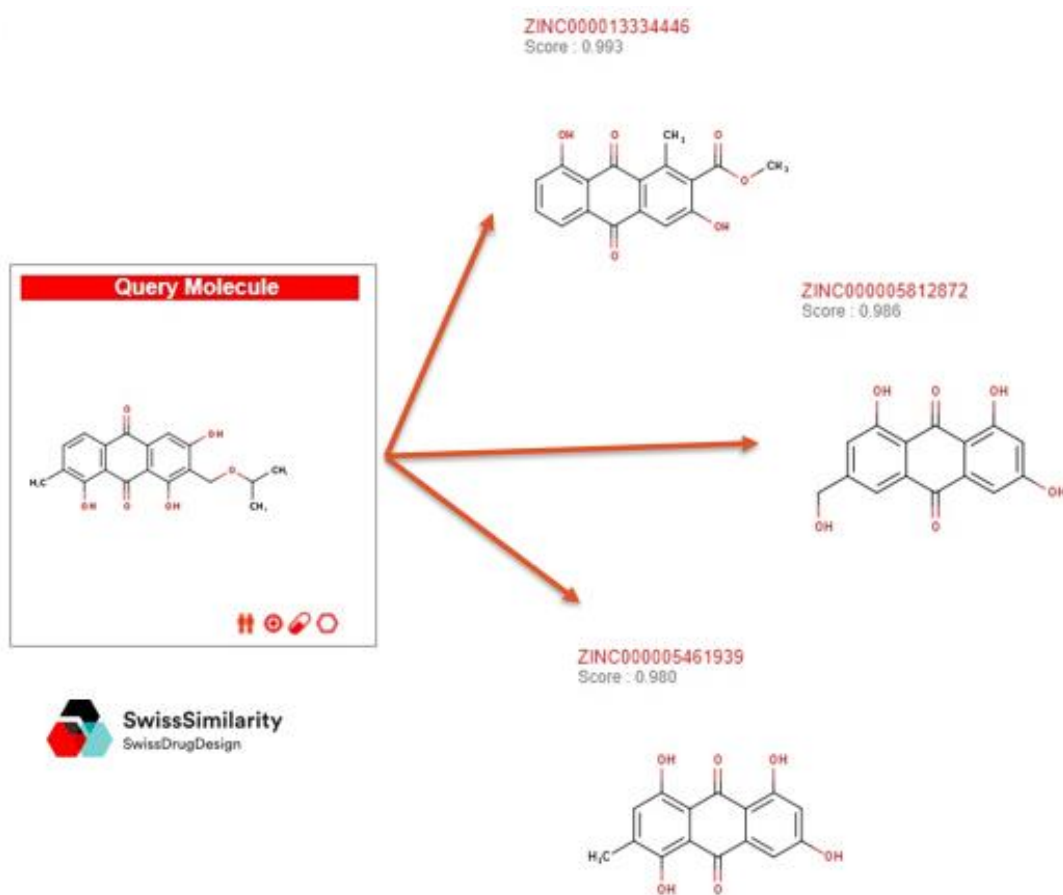


Figura 38. Análisis de huella dactilar digital de la quimera Emodin-Lucidin isopropil ether mediante SwissSimilarity. Se observa las estructuras químicas de los compuestos obtenidos mediante el software SwissSimilarity.

A estas moléculas encontradas por el análisis de fingerprint se les generó el análisis por descriptores moleculares para conocer si aprueban el corte de las reglas de Lipinski.

Se analizaron el número de aceptores de hidrógeno de los compuestos obtenidos mediante fingerprint, discriminamos los compuestos que tengan más de 5 aceptores de puentes de hidrogeno como lo indica las reglas de Lipinski (Figura 39).

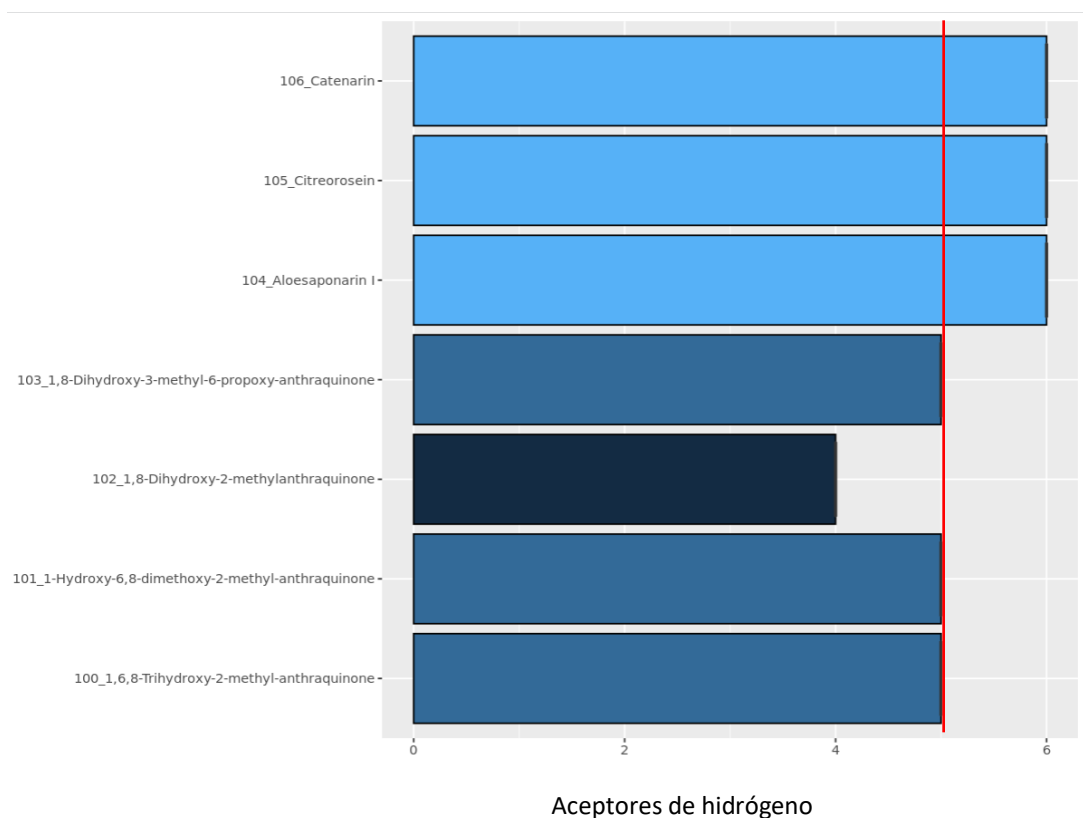


Figura 39. Aceptores de hidrógeno de los compuestos obtenidos por fingerprint. Se observa la gráfica del número de aceptores de hidrógeno de los compuestos obtenidos por huella dactilar digital. La regla de Lipinski indica que para este factor es deseable 5 aceptores de hidrógeno o menos.

Se analizó el número de donantes de puentes de hidrógeno de los compuestos obtenidos mediante fingerprint, discriminando los compuestos que tuvieron más de 5 donantes de puentes de hidrogeno como lo indica las reglas de Lipinski (Figura 40).

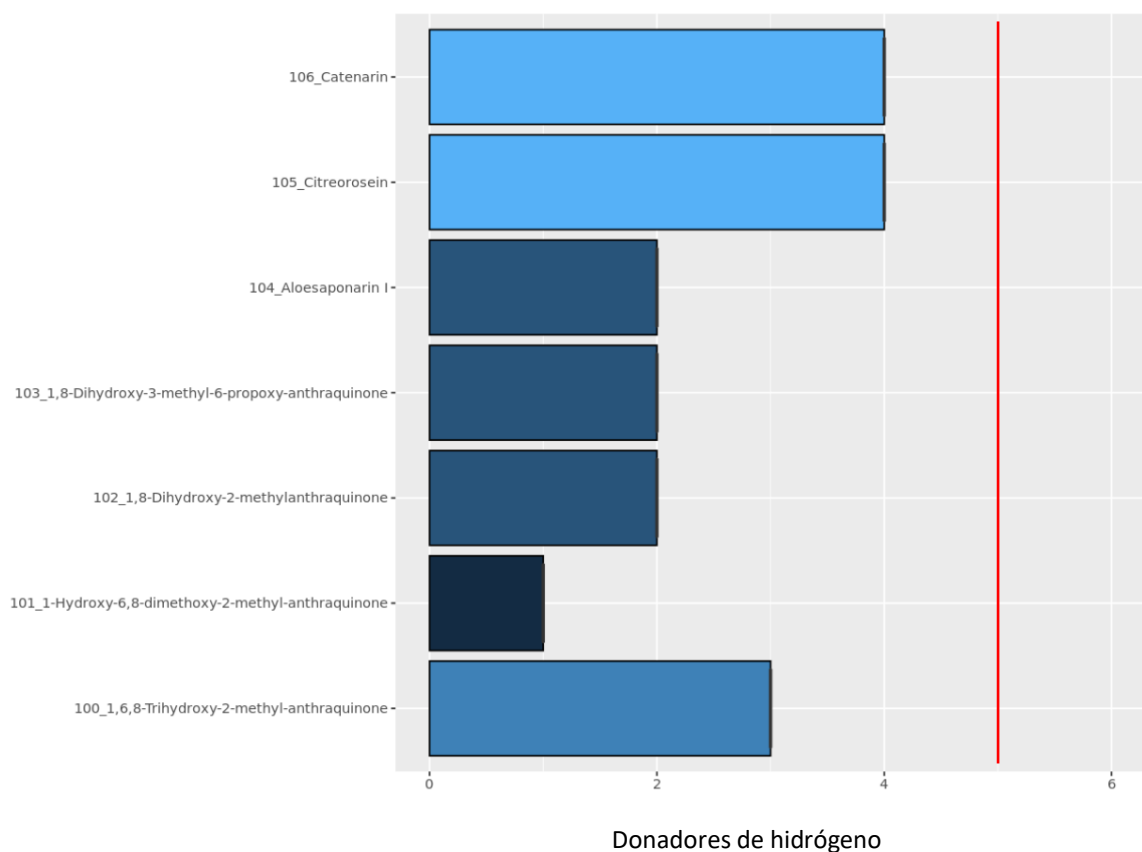


Figura 40. Donantes de hidrógeno de los compuestos obtenidos por fingerprint. Se observa la gráfica del número de donantes de hidrógeno de los compuestos obtenidos por huella dactilar digital. La regla de Lipinski indica que para este factor es deseable 5 donantes de hidrógeno o menos.

Se analizó la solubilidad mediante cLogP de los compuestos obtenidos por fingerprint, discriminamos los compuestos que tuvieron un cLogP mayor a 5 como lo indica las reglas de Lipinski (Figura 41).

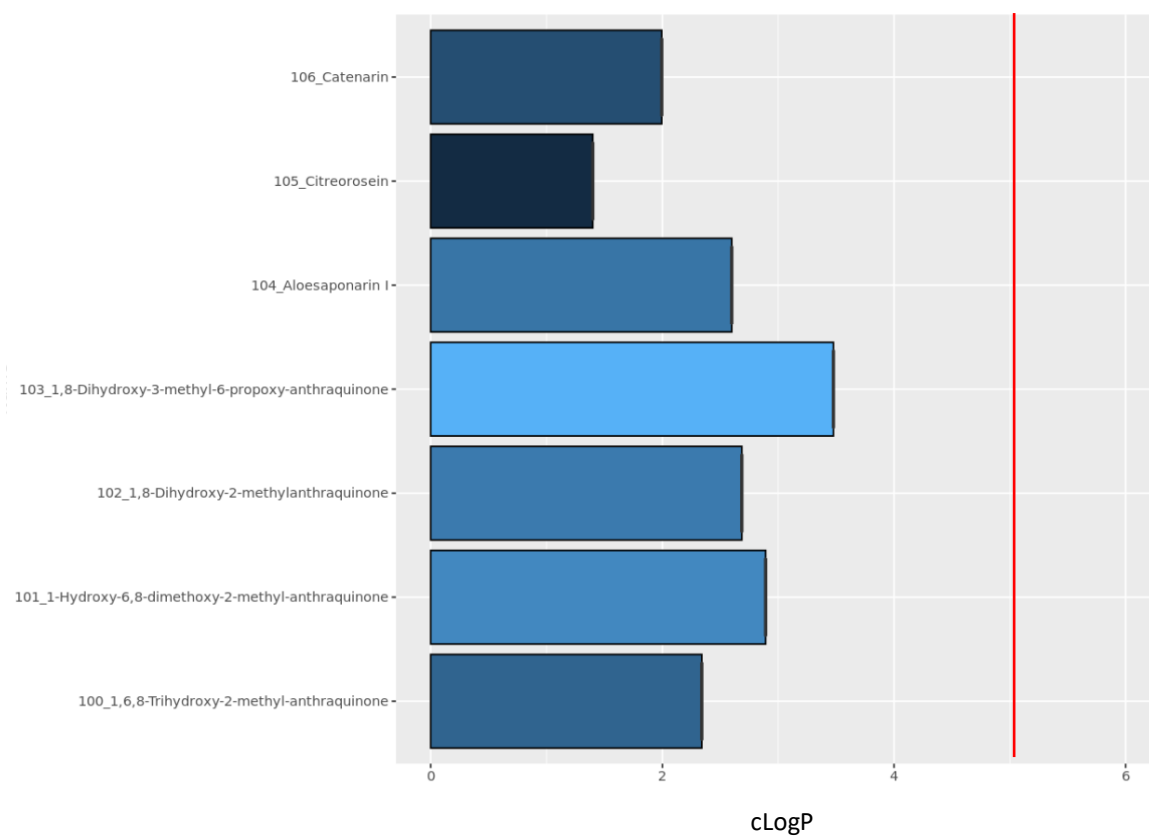


Figura 41. cLogP de los compuestos obtenidos por fingerprint. Se observa la gráfica el cLogP de los compuestos obtenidos por huella dactilar digital. La regla de Lipinski indica que para este factor es deseable un cLogP de 5 o menor.

Se analizo el peso molecular de los compuestos obtenidos por fingerprint, discriminando los compuestos que tuvieron un peso molecular mayor a 500 Da como lo indica las reglas de Lipinski (Figura 42).

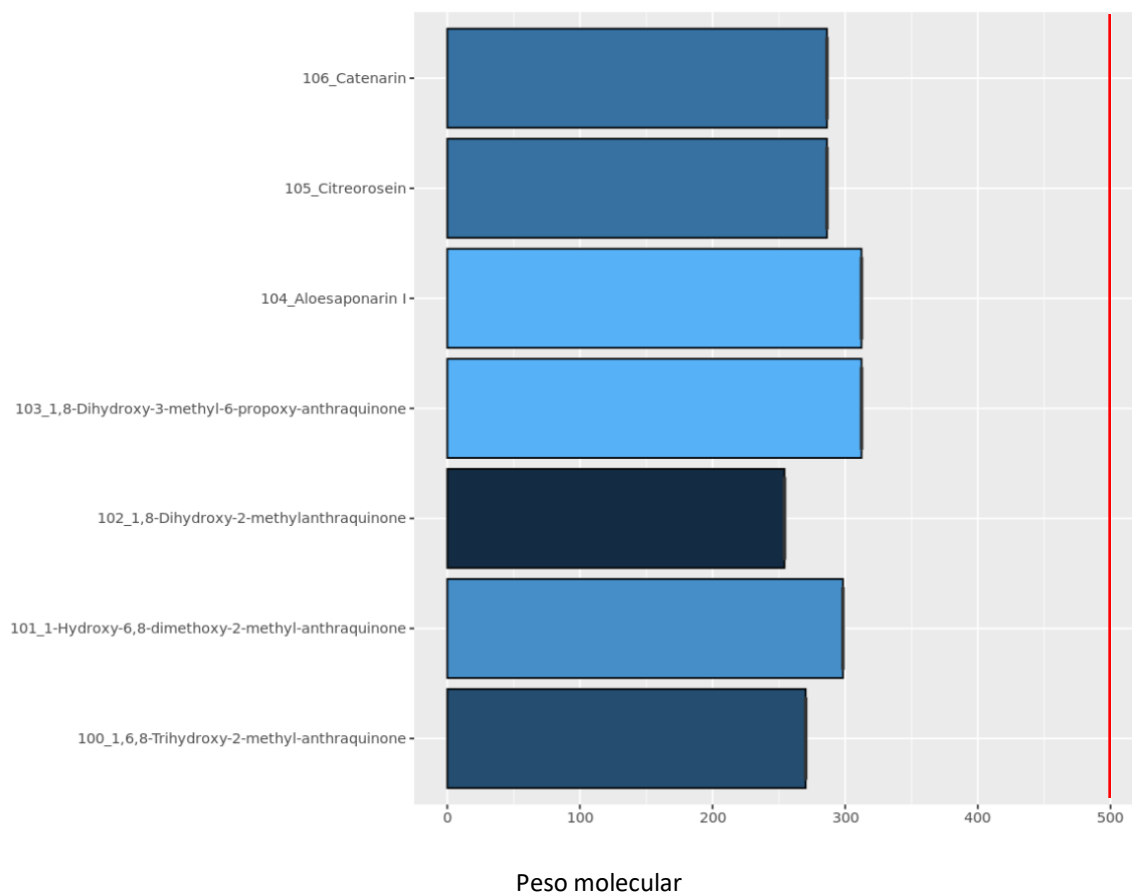


Figura 42. Peso molecular de los compuestos obtenidos por fingerprint. Se observa la gráfica el peso molecular de los compuestos obtenidos por huella dactilar digital. La regla de Lipinski indica que para este factor es deseable un peso molecular de 500 Daltons o menos.

Posteriormente a las moléculas obtenidas por fingerprint se analizaron mediante acoplamiento molecular para conocer si estas moléculas se interactúan con sitio catalítico de TvMP50.

Se pudo observar que ninguna de las moléculas obtenidas por fingerprint tuvo un acoplamiento molecular óptimo mejor que la quimera Emodin-Lucidin isopropil ether.

Se construyo una tabla con los valores de ΔG de los compuestos obtenidos por fingerprint para su mejor visualización (Tabla 4).

Valores de ΔG de compuestos obtenidos por Fingerprint	
Nombre del compuesto	Valor ΔG
1,6,8-Trihydroxy-2-methyl-anthraquinone	-7.93
1-Hydroxy-6,8-dimethoxy-2-methyl-anthraquinone	-7.44
1,8-Dihydroxy-2-methylanthraquinone	-7.55
Aloesaponarin I	-10.64
Citreorsein	-7.51
Catenarin	-7.54

Figura 43. Valores de ΔG de compuestos obtenidos por Fingerprint. Se observa los valos de ΔG del acoplamiento con TvMP50 de los compuestos obtenidos por fingerprint, siendo Aloesaponarin I el compuesto que presento mejor acoplamiento de unión.

9 DISCUSIÓN

T. vaginalis es un tricomonádido que está expuesto a las condiciones cambiantes del tracto genitourinario humano durante la infección. Se sabe que en el microambiente urogenital masculino existe la presencia de diferentes cationes metálicos, principalmente de Zn^{2+} y Cd^{2+} , se conoce que estos metales pueden ocasionar daño al DNA del parásito, sin embargo, esta descrito que en presencia de Zn^{2+} se activa la metaloproteinasa TvMP50, que tiene poder proteolítico y está involucrada en la citotoxicidad de *T. vaginalis*, algo que se puede observar en la tricomoniasis masculina. Como ya hemos podido revisar, existe una alta resistencia de este parasito hacia los 5-Nitroimidazoles que son utilizados como fármacos para esta ITS; las reacciones secundarias asociadas con estos fármacos y el creciente número de casos resistentes a los medicamentos indican que se necesitan nuevas estrategias para el diseño racional de medicamentos contra esta enfermedad.

El utilizar e integrar diferentes metodologías bioinformáticas y quimioinformáticas parece ser una estrategia *in silico* que simplifica y facilita el diseño racional de compuestos y librerías de compuestos con potencial farmacológico.

En la actualidad es de importancia para el diseño de fármacos asistidos por computadora el alcance que tienen estas metodologías, como lo reportado por Benítez-Cardoza et al., 2021 donde se llevó a cabo una tamizaje masivo por medio de multidocking molecular contra Triosafofato isomerasa (TvTIM) a partir de una base de datos que contenía más de medio millón de compuestos. Los investigadores lograron identificar que el compuesto A4 tiene una interacción con TvTIM. El compuesto A4 puede modificar el entorno hidrofóbico de los residuos de Trp (Trp58, Trp89 y Trp158), y esta interacción podría afectar algunas funciones de los TvTIM sin afectar la actividad glucolítica porque se conserva en las proteínas recombinantes. En particular, in vitro los ensayos con parásitos demostraron que el compuesto A4 era tricomonocida en concentraciones cercanas al control positivo (metronidazol).

De igual manera lo reportado por Lam et al., 2021 e donde se describe un tamizaje masivo de selección, que fue llevado a cabo por medio de técnicas colorimétricas (TriTOX) basado en rojo de fenol y con ello lograron cribar una gran cantidad de compuestos, esto mediante los cambios en el pH que les sirvió como un indicador válido del crecimiento de tricomonas (*T. vaginalis* y *T. fetus*), Y por medio del uso de acoplamiento molecular contra Metionina aminopeptidasa fueron evaluados los compuestos con potencial actividad tricomonocida.

En nuestro trabajo se emplearon técnicas bio-químico-informáticas para diseñar una librería de compuestos que pudiera interactuar con el sitio activo de TvMP50 que se encuentra en el Dominio C-terminal y el cual fue utilizado como objetivo farmacológico. Nos centramos en integrar más de una herramienta quimiinformática y bioinformática con el fin de generar una metodología robusta que pudiera servir de modelo para el diseño de fármacos *in silico*, gracias a ello nos fue posible el diseño computacional de una librería química inicial especializada contra *T. vaginalis*.

Las reglas de Lipinski, nos permitió tamizar y/o descartar a todos aquellos compuestos que no tengan características deseadas y que sabemos que son útiles para el proceso de síntesis de compuestos o bien de permeabilidad. El poder conocer las características fisicoquímicas deseadas en un fármaco es vital para

reducir el número de compuestos candidatos a fármacos, estos nos permitieron saber cuáles de nuestros compuestos eran permeables a las células y cuales no, así como cuales tenía propiedades liposolubles, entre otras características.

Posteriormente obtuvimos una librería secundaria donde se aloja los compuestos que mostraron una interacción óptima con el sitio activo de TvMP50 de *T. vaginalis*, gracias a esta selección pudimos descartar a los compuestos que están interaccionando con otra parte de la proteína blanco o bien que no presentan ningún tipo de interacción con TvMP50. Para nosotros era primordial evaluar las interacciones con el sitio catalítico de la proteína para tener compuestos que tuvieran una mayor posibilidad de inactivar a TvMP50, por este motivo no consideramos las interacciones alostéricas entre los compuestos y la proteína blanco.

Posteriormente durante la fragmentación de compuestos, logramos obtener una librería donde alojamos los andamios de construcción (scaffold) estos andamios de construcción fueron realizados con los compuestos líderes ya que nos permitía reconstruir moléculas quiméricas y que estas pudieran aprobar el corte por reglas de Lipinski, es saber que parte estructural de los compuestos interactuaba con TvMP50 nos sirvió para racionalizar nuestro diseño de quimeras, ya que podríamos utilizar estos sitios estructurales para unirlos y elevar la interacción con nuestra proteína blanco.

Mediante el acoplamiento de las quimeras con TvMP50 se logró identificar una construcción que tiene un acoplamiento óptimo por encima de nuestro control, siendo la quimera Emodin-Lucidin isopropil ether la que presentó el mejor valor de acoplamiento siendo un $\Delta G = -17.00$, que es un valor termodinámicamente mejor al obtenido por el Metronidazol, que cuenta con un valor de acoplamiento de $\Delta G = -15.99$. Esto nos permitirá acortar los tiempos y los costos en la fase tamizado de compuestos por metodologías experimentales. Siendo el siguiente paso la síntesis o adquisición de los compuestos alojados en dicha librería química especializada contra TvMP50 de *T. vaginalis* para la realización de la fase experimental.

10. CONCLUSIONES

Podemos concluir que el uso de herramientas quimiinformáticas y bioinformáticas nos permitió montar una metodología *in silico* para obtener el diseño de Emodin_Lucidin-isopropil-ether una nueva entidad molecular quimérica que tiene una actividad hipotética contra TvMP50 de *Trichomonas vaginalis*.

11. PERSPECTIVAS

Los pasaos a seguir el este proyecto, será la síntesis química de los compuestos que integran la librería final, así como probar los compuestos por una metodología experimental *in vitro* y con ello evaluar su potencial tricomonocida.

12. AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que me brindaron su apoyo y compartieron conmigo sus conocimientos para la elaboración de este proyecto.

Al posgrado en ciencias genómicas de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México, por los espacios facilitados y el uso de laboratorios.

A CONACYT por el apoyo económico bajo el proyecto CCyT-2021 y el CVU: 1082640

13. REFERENCIAS

1. Tricomoniasis. (2014).
https://es.wikipedia.org/wiki/Tricomoniasis#/media/Archivo:Tricomoniasis_01.png
2. Taxonomy Browser- NCBI (*Trichomonas vaginalis*). (n.d.). Retrieved June 21, 2022, from
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5722&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>
3. BoletínEpidemiológico Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información 2021 | Secretaría de Salud | Gobierno | gob.mx. (2021). BoletínEpidemiológico Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información.
<https://www.gob.mx/salud/documentos/boletinepidemiologico-sistema-nacional-de-vigilancia-epidemiologica-sistema-unico-de-informacion-2021>
4. No Title. (n.d.). <https://doi.org/10.1007/s12033-018-0097-0>
5. Alderete, J. F., & Garza, G. E. (1988). Identification and properties of *Trichomonas vaginalis* proteins involved in cytheadherence. *Infection and Immunity*, 56(1), 28–33. <https://doi.org/10.1128/iai.56.1.28-33.1988>
6. Alderete, J. F., Newton, E., Dennis, C., Engbring, J., & Neale, K. A. (1991). Vaginal antibody of patients with trichomoniasis is to a prominent surface immunogen of *Trichomonas vaginalis*. *Sexually Transmitted Infections*, 67(3), 220–225. <https://doi.org/10.1136/sti.67.3.220>
7. Alderete, J. F., Arroyo, R., Dailey, D. C., Engbring, J., Khoshnan, M. A., Lehker, M. W., & McKay, J. (1992). Molecular analysis of *Trichomonas vaginalis* surface protein repertoires. In *Molecular and Cell Biology of Sexually Transmitted Diseases* (pp. 173–202). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-011-2384-6_6
8. Alderete, J. F., & Garza, G. E. (1984). Soluble *Trichomonas vaginalis* antigens in cell-free culture supernatants. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 13(2), 147–158. [https://doi.org/10.1016/0166-6851\(84\)90109-9](https://doi.org/10.1016/0166-6851(84)90109-9)

9. Alderete, J. F., Millsap, K. W., Lehker, M. W., & Benchimol, M. (2001). Enzymes on microbial pathogens and *Trichomonas vaginalis*: molecular mimicry and functional diversity. *Cellular Microbiology*, 3(6), 359–370. <https://doi.org/10.1046/j.1462-5822.2001.00126.x>
10. Alderete, J. F., Provenzano, D., & Lehker, M. W. (1995). Iron mediates *Trichomonas vaginalis* resistance to complement lysis. *Microbial Pathogenesis*, 19(2), 93–103. <https://doi.org/10.1006/mpat.1995.0049>
11. Alvarez-Sánchez, M. E., Carvajal-Gamez, B. I., Solano-González, E., Martínez-Benitez, M., Garcia, A. F., Alderete, J. F., & Arroyo, R. (2008). Polyamine depletion down-regulates expression of the *Trichomonas vaginalis* cytotoxic CP65, a 65-kDa cysteine proteinase involved in cellular damage. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 40(11), 2442–2451. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2008.04.023>
12. Alvarez-Sánchez, M. E., Solano-González, E., Yañez-Gómez, C., & Arroyo, R. (2007). Negative iron regulation of the CP65 cysteine proteinase cytotoxicity in *Trichomonas vaginalis*. *Microbes and Infection*, 9(14–15), 1597–1605. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2007.09.011>
13. Argáez-Correa, W., Alvarez-Sánchez, M. E., Arana-Argáez, V. E., Ramírez-Camacho, M. A., Novelo-Castilla, J. S., Coral-Martínez, T. I., & Torres-Romero, J. C. (2019). The Role of Iron Status in the Early Progression of Metronidazole Resistance in *Trichomonas vaginalis* Under Microaerophilic Conditions. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 66(2), 309–315. <https://doi.org/10.1111/jeu.12671>
14. Arreola, R., Villalpando, J. L., Puente-Rivera, J., Morales-Montor, J., Rudiño-Piñera, E., & Alvarez-Sánchez, M. E. (2018). *Trichomonas vaginalis* metalloproteinase TvMP50 is a monomeric Aminopeptidase P-like enzyme. *Molecular Biotechnology*, 60(8), 563–575. <https://doi.org/10.1007/s12033-018-0097-0>
15. Arroyo, R., y cols. (1993). Signalling of *Trichomonas vaginalis* for amoeboid transformation and adhesin synthesis follows cytoadherence. *Molecular Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1993.tb01121.x>

16. Baker-Blocker. (2022). Trichomoniasis. Magill's Medical Guide (Online Edition).
<https://edsp.uam.elogim.com/eds/detail/detail?vid=2&sid=dc653ec2-0bc6-42ea-8368-82627e8a3197%40redis&bdata=Jmxhbm9ZXMmc2l0ZT1lZHMtbGl2ZSZzY29wZT1zaXRI#AN=86196417&db=ers>
17. Benchimol, M. (2004). Trichomonads under Microscopy. *Microscopy and Microanalysis*, 10(5), 528–550. <https://doi.org/10.1017/S1431927604040905>
18. Benchimol, M. (2009). Hydrogenosomes under microscopy. *Tissue and Cell*, 41(3), 151–168. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2009.01.001>
19. Benítez-Cardoza, C. G., Briebe, L. G., Arroyo, R., Rojo-Domínguez, A., & Vique-Sánchez, J. L. (2021). Triosephosphate isomerase as a therapeutic target against trichomoniasis. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 246, 111413. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2021.111413>
20. Beri, D., Yadav, P., Devi, H. R. N., Narayana, C., Gadara, D., & Tatu, U. (2020). Demonstration and Characterization of Cyst-Like Structures in the Life Cycle of *Trichomonas vaginalis*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00430>
21. Bertin, G., & Averbeck, D. (2006). Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences (a review). *Biochimie*, 88(11), 1549–1559. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.10.001>
22. Bradic, M., & Carlton, J. M. (2018). Does the common sexually transmitted parasite *Trichomonas vaginalis* have sex? *PLOS Pathogens*, 14(3), e1006831. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006831>
23. Buracco, S., Peracino, B., Andreini, C., Bracco, E., & Bozzaro, S. (2018). Differential Effects of Iron, Zinc, and Copper on *Dictyostelium discoideum* Cell Growth and Resistance to *Legionella pneumophila*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00536>
24. Cáceres-Castillo, D., Pérez-Navarro, Y., Torres-Romero, J. C., Mirón-López, G., Ceballos-Cruz, J., Arana-Argáez, V., Vázquez-Carrillo, L., Fernández-

- Sánchez, J. M., & Alvarez-Sánchez, M. E. (2019). Trichomonocidal activity of a new anthraquinone isolated from the roots of *Morinda panamensis* Seem. *Drug Development Research*, 80(1), 155–161. <https://doi.org/10.1002/ddr.21504>
25. Cadena V. Daniel, et al. (2006). TRICOMONIASIS UROGENITAL.
26. Calzada, F., Yépez-Mulia, L., & Tapia-Contreras, A. (2007). Effect of Mexican medicinal plant used to treat trichomoniasis on *Trichomonas vaginalis* trophozoites. *Journal of Ethnopharmacology*, 113(2), 248–251. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.06.001>
27. Carlton, J. M. (2007). Draft genome sequence of the sexually transmitted pathogen *Trichomonas vaginalis*. *Science*. <https://doi.org/10.1126/ciencia.1132894>
28. Chang, J., KIM, S., CHOI, I., LEE, S., MORIO, T., & CHANG, E. (2006). Apoptosis of macrophages induced by *Trichomonas vaginalis* through the phosphorylation of p38 mitogen-activated protein kinase that locates at downstream of mitochondria-dependent caspase activation☆. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 38(4), 638–647. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.11.005>
29. Dailey, D. C., Te-Hung, C., & Alderete, J. F. (1990). Characterization of *Trichomonas vaginalis* haemolysis. *Parasitology*, 101(2), 171–175. <https://doi.org/10.1017/S0031182000063204>
30. David, L., Thakkar, A., Mercado, R., & Engkvist, O. (2020). Molecular representations in AI-driven drug discovery: a review and practical guide. *Journal of Cheminformatics*, 12(1), 56. <https://doi.org/10.1186/s13321-020-00460-5>
31. de Andrade Rosa, I., Einicker-Lamas, M., Roney Bernardo, R., Previatto, L. M., Mohana-Borges, R., Morgado-Díaz, J. A., & Benchimol, M. (2006). Cardiolipin in Hydrogenosomes: Evidence of Symbiotic Origin. *Eukaryotic Cell*, 5(4), 784–787. <https://doi.org/10.1128/EC.5.4.784-787.2006>
32. de Andrade Rosa, I., Einicker-Lamas, M., Roney Bernardo, R., Previatto, L. M., Mohana-Borges, R., Morgado-Díaz, J. A., & Benchimol, M. (2006).

- Cardiolipin in Hydrogenosomes: Evidence of Symbiotic Origin. *Eukaryotic Cell*, 5(4), 784–787. <https://doi.org/10.1128/EC.5.4.784-787.2006>
33. de Souza Neto, L. R., Moreira-Filho, J. T., Neves, B. J., Maidana, R. L. B. R., Guimarães, A. C. R., Furnham, N., Andrade, C. H., & Silva, F. P. (2020). In silico Strategies to Support Fragment-to-Lead Optimization in Drug Discovery. *Frontiers in Chemistry*, 8. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00093>
34. de Souza Neto, L. R., Moreira-Filho, J. T., Neves, B. J., Maidana, R. L. B. R., Guimarães, A. C. R., Furnham, N., Andrade, C. H., & Silva, F. P. (2020). In silico Strategies to Support Fragment-to-Lead Optimization in Drug Discovery. *Frontiers in Chemistry*, 8. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00093>
35. Dias-Lopes, G., Wiśniewski, J. R., de Souza, N. P., Vidal, V. E., Padrón, G., Britto, C., Cuervo, P., & De Jesus, J. B. (2018). In-Depth Quantitative Proteomic Analysis of Trophozoites and Pseudocysts of *Trichomonas vaginalis*. *Journal of Proteome Research*, 17(11), 3704–3718. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.8b00343>
36. Edwards, T., Burke, P., Smalley, H., & Hobbs, G. (2014). *Trichomonas vaginalis*: Clinical relevance, pathogenicity and diagnosis. *Critical Reviews in Microbiology*, 1–12. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2014.958050>
37. Engbring, J. A., & Alderete, J. F. (1998). Three genes encode distinct AP33 proteins involved in *Trichomonas vaginalis* cytoadherence. *Molecular Microbiology*, 28(2), 305–313. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00784.x>
38. Engbring, J. A., & Alderete, J. F. (1998). Characterization of *Trichomonas vaginalis* AP33 adhesin and cell surface interactive domains. *Microbiology*, 144(11), 3011–3018. <https://doi.org/10.1099/00221287-144-11-3011>
39. Entzeroth, M., Flotow, H., & Condrón, P. (2009). Overview of High-Throughput Screening. *Current Protocols in Pharmacology*, 44(1). <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0904s44>

40. Ferreira, L., dos Santos, R., Oliva, G., & Andricopulo, A. (2015). Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules*, 20(7), 13384–13421. <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
41. Fiori, P. L., Rappelli, P., Rocchigiani, A. M., & Cappuccinelli, P. (1993). *Trichomonas vaginalis* haemolysis: Evidence of functional pores formation on red cell membranes. *FEMS Microbiology Letters*, 109(1), 13–18. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1993.tb06136.x>
42. Gandini, E., Marcou, G., Bonachera, F., Varnek, A., Pieraccini, S., & Sironi, M. (2022). Molecular Similarity Perception Based on Machine-Learning Models. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(11), 6114. <https://doi.org/10.3390/ijms23116114>
43. Ganesan, A. (2008). The impact of natural products upon modern drug discovery. *Current Opinion in Chemical Biology*, 12(3), 306–317. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.03.016>
44. Garber, G. E., & Lemchuk-Favel, L. T. (1990). Association of production of cell-detaching factor with the clinical presentation of *Trichomonas vaginalis*. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(11), 2415–2417. <https://doi.org/10.1128/jcm.28.11.2415-2417.1990>
45. Gonzalez-Robles, Arturo, y cols. (1995). *Trichomonas vaginalis*: Ultrastructural Bases of the Cytopathic Effect. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 42(5), 641–651. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1995.tb05921.x>
46. Hernández-Gutiérrez, R., Avila-González, L., Ortega-López, J., Cruz-Talonia, F., Gómez-Gutierrez, G., & Arroyo, R. (2004). *Trichomonas vaginalis*: characterization of a 39-kDa cysteine proteinase found in patient vaginal secretions. *Experimental Parasitology*, 107(3–4), 125–135. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2004.05.004>
47. Hirt, R. P., de Miguel, N., Nakjang, S., Dessi, D., Liu, Y.-C., Diaz, N., Rappelli, P., Acosta-Serrano, A., Fiori, P.-L., & Mottram, J. C. (2011). *Trichomonas vaginalis* Pathobiology (pp. 87–140). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391429-3.00006-X>

48. Huang, W.-P., Scott, S. V., Kim, J., & Klionsky, D. J. (2000). The Itinerary of a Vesicle Component, Aut7p/Cvt5p, Terminates in the Yeast Vacuole via the Autophagy/Cvt Pathways. *Journal of Biological Chemistry*, 275(8), 5845–5851. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.8.5845>
49. Ibáñez-Escribano, A., & Gómez-Barrio, A. (2017). *Trichomonas vaginalis*: The versatility of a tenacious parasite Title in Spanish: *Trichomonas vaginalis*: la versatilidad de un parásito tenaz. Corresponding Author: Alexandraibanez@ucm.es *An Real Acad Farm*, 83, 10–47.
50. Kaur, T., Madgulkar, A., Bhalekar, M., & Asgaonkar, K. (2019). Molecular Docking in Formulation and Development. *Current Drug Discovery Technologies*, 16(1), 30–39. <https://doi.org/10.2174/1570163815666180219112421>
51. Kissinger, P. (2015). Epidemiology and Treatment of Trichomoniasis. *Current Infectious Disease Reports*, 17(6), 31. <https://doi.org/10.1007/s11908-015-0484-7>
52. Kissinger, P. J., Gaydos, C. A., Seña, A. C., Scott McClelland, R., Soper, D., Secor, W. E., Legendre, D., Workowski, K. A., & Muzny, C. A. (2022). Diagnosis and Management of *Trichomonas vaginalis*: Summary of Evidence Reviewed for the 2021 Centers for Disease Control and Prevention Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines. *Clinical Infectious Diseases*, 74(Supplement_2), S152–S161. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac030>
53. Lee, J. J., Moon, H. S., Lee, T. Y., Hwang, H. S., Ahn, M.-H., & Ryu, J.-S. (2012). PCR for Diagnosis of Male *Trichomonas vaginalis* Infection with Chronic Prostatitis and Urethritis. *The Korean Journal of Parasitology*, 50(2), 157–159. <https://doi.org/10.3347/kjp.2012.50.2.157>
54. Leitsch, D. (2021). Recent advances in the molecular biology of the protist parasite *Trichomonas vaginalis*. *Faculty Reviews*, 10. <https://doi.org/10.12703/r/10-26>

55. López Nigro, MARCELA MABEL; CARBALLO, M. A. (2088). Los nitroimidazoles como modelo de mutagénesis química y muerte celular. *Theoria*, 17, 47–62. <https://www.redalyc.org/pdf/299/29911533005.pdf>
56. Makiuchi, T., & Nozaki, T. (2014). Highly divergent mitochondrion-related organelles in anaerobic parasitic protozoa. *Biochimie*, 100, 3–17. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2013.11.018>
57. Makki, A., Rada, P., Žárský, V., Kerešiče, S., Kováčik, L., Novotný, M., Jores, T., Rapaport, D., & Tachezy, J. (2019). Triplet-pore structure of a highly divergent TOM complex of hydrogenosomes in *Trichomonas vaginalis*. *PLOS Biology*, 17(1), e3000098. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000098>
58. Mapari, S., & Camarda, K. V. (2020). Use of three-dimensional descriptors in molecular design for biologically active compounds. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 27, 60–64. <https://doi.org/10.1016/j.coche.2019.11.011>
59. Marques-Silva, M., Lisboa, C., Gomes, N., & Rodrigues, A. G. (2021). *Trichomonas vaginalis* and growing concern over drug resistance: a systematic review. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*, 35(10), 2007–2021. <https://doi.org/10.1111/jdv.17461>
60. Mayr, L. M., & Bojanic, D. (2009). Novel trends in high-throughput screening. *Current Opinion in Pharmacology*, 9(5), 580–588. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2009.08.004>
61. Medina-Franco, J. L., Martinez-Mayorga, K., Fernández-de Gortari, E., Kirchmair, J., & Bajorath, J. (2021). Rationality over fashion and hype in drug design. *F1000Research*, 10, 397. <https://doi.org/10.12688/f1000research.52676.1>
62. Mena-Rejón, G., Pérez-Navarro, Y., Torres-Romero, J. C., Vázquez-Carrillo, L., Carballo, R. M., Arreola, R., Herrera-España, Á., Arana-Argáez, V., Quijano-Quñones, R., Fernández-Sánchez, J. M., & Alvarez-Sánchez, M. E. (2021). Antitrichomonal activity and docking analysis of thiazole derivatives

- as TvMP50 protease inhibitors. *Parasitology Research*, 120(1), 233–241. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06931-w>
63. Mercer, F., & Johnson, P. J. (2018). *Trichomonas vaginalis*: Pathogenesis, Symbiont Interactions, and Host Cell Immune Responses. *Trends in Parasitology*, 34(8), 683–693. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2018.05.006>
 64. Murray-Rust, P., Mitchell, J. B., & Rzepa, H. S. (2005). Chemistry in Bioinformatics. *BMC Bioinformatics*, 6(1), 141. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-6-141>
 65. Nanda, N., Michel, R. G., Kurdgelashvili, G., & Wendel, K. A. (2006). Trichomoniasis and its treatment. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 4(1), 125–135. <https://doi.org/10.1586/14787210.4.1.125>
 66. NCBI. (2022). PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
 67. Ngobese, B., Singh, R., Han, K. S. S., Tinarwo, P., Mabaso, N., & Abbai, N. S. (2022). Detection of metronidazole resistance in *Trichomonas vaginalis* using uncultured vaginal swabs. *Parasitology Research*, 121(8), 2421–2432. <https://doi.org/10.1007/s00436-022-07548-x>
 68. Nielsen, M. H., & Nielsen, R. (2009). ELECTRON MICROSCOPY OF TRICHOMONAS VAGINALIS DONNÉ: INTERACTION WITH VAGINAL EPITHELIUM IN HUMAN TRICHOMONIASIS. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section B Microbiology*, 83B(4), 305–320. <https://doi.org/10.1111/j.1699-0463.1975.tb00107.x>
 69. Pereira, Á. (2003). Tricomonosis | Offarm. Offarm. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-tricomonosis-13046059>
 70. Peters, R. P., Feucht, U. D., de Vos, L., Ngwepe, P., McIntyre, J. A., Klausner, J. D., & Medina-Marino, A. (2021). Mother-to-child transmission of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Trichomonas vaginalis* in HIV-infected pregnant women in South Africa. *International Journal of STD & AIDS*, 32(9), 799–805. <https://doi.org/10.1177/0956462421990218>
 71. Peterson, K. M., & Alderete, J. F. (1982). Host plasma proteins on the surface of pathogenic *Trichomonas vaginalis*. *Infection and Immunity*, 37(2), 755–762. <https://doi.org/10.1128/iai.37.2.755-762.1982>

72. Petrin, D., Delgaty, K., Bhatt, R., & Garber, G. (1998). Clinical and Microbiological Aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clinical Microbiology Reviews*, 11(2), 300–317. <https://doi.org/10.1128/CMR.11.2.300>
73. Pinzi, L., & Rastelli, G. (2019). Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4331. <https://doi.org/10.3390/ijms20184331>
74. Provenzano, D., & Alderete, J. F. (1995). Analysis of human immunoglobulin-degrading cysteine proteinases of *Trichomonas vaginalis*. *Infection and Immunity*, 63(9), 3388–3395. <https://doi.org/10.1128/iai.63.9.3388-3395.1995>
75. Puente-Rivera, J., Villalpando, J. L., Villalobos-Osnaya, A., Vázquez-Carrillo, L. I., León-Ávila, G., Ponce-Regalado, M. D., López-Camarillo, C., Elizalde-Contreras, J. M., Ruiz-May, E., Arroyo, R., & Alvarez-Sánchez, M. E. (2017). The 50kDa metalloproteinase TvMP50 is a zinc-mediated *Trichomonas vaginalis* virulence factor. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 217, 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2017.09.001>
76. Quintas-Granados, L. I., Villalpando, J. L., Vázquez-Carrillo, L. I., Arroyo, R., Mendoza-Hernández, G., & Álvarez-Sánchez, M. E. (2013). TvMP50 is an Immunogenic Metalloproteinase during Male Trichomoniasis. *Molecular & Cellular Proteomics*, 12(7), 1953–1964. <https://doi.org/10.1074/mcp.M112.022012>
77. Quintero-Fabián, S., Arreola, R., Becerril-Villanueva, E., Torres-Romero, J. C., Arana-Argáez, V., Lara-Riegos, J., Ramírez-Camacho, M. A., & Alvarez-Sánchez, M. E. (2019). Role of Matrix Metalloproteinases in Angiogenesis and Cancer. *Frontiers in Oncology*, 9, 1370. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01370>
78. Saldívar-González, F. I., Huerta-García, C. S., & Medina-Franco, J. L. (2020). Chemoinformatics-based enumeration of chemical libraries: a tutorial. *Journal of Cheminformatics*, 12(1), 64. <https://doi.org/10.1186/s13321-020-00466-z>

79. Sánchez-Cruz, N., & Medina-Franco, J. L. (2018). Statistical-based database fingerprint: chemical space dependent representation of compound databases. *Journal of Cheminformatics*, 10(1), 55. <https://doi.org/10.1186/s13321-018-0311-x>
80. Santos, I. (2014). Tricomoniasis: una visión amplia. Scielo. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932014000200007
81. Schwebke, J. R., & Burgess, D. (2004). Trichomoniasis. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(4), 794–803. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.794-803.2004>
82. Sosa, S. I. M. (2021). Identificación de RAD51 en *Trichomonas vaginalis* en presencia de Zn^{2+} y Cd^{2+} . Universidad de la Ciudad de Mexico.
83. Torian, B. E., & Honigberg, B. M. (1991). Trichomonads Parasitic in Humans. *The Journal of Parasitology*, 77(5), 717. <https://doi.org/10.2307/3282704>
84. Valent, M., Demes, P., & Stetková, D. (1985). [A patient with urogenital trichomoniasis unsuccessfully treated due to resistance of the causative agent to nitroimidazole preparations]. *Bratislavske Lekarske Listy*, 83(2), 156–161. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3871654>
85. Vamathevan, J., Clark, D., Czodrowski, P., Dunham, I., Ferran, E., Lee, G., Li, B., Madabhushi, A., Shah, P., Spitzer, M., & Zhao, S. (2019). Applications of machine learning in drug discovery and development. *Nature Reviews Drug Discovery*, 18(6), 463–477. <https://doi.org/10.1038/s41573-019-0024-5>
86. Vazquez Carrillo, L. I., Quintas Granados, L. I., Arroyo, R., Mendoza Hernández, G., González Robles, A., Carvajal Gamez, B. I., & Alvarez Sánchez, M. E. (2011). The effect of Zn^{2+} on prostatic cell cytotoxicity caused by *Trichomonas vaginalis*. *Journal of Integrated OMICS*, 1(2). <https://doi.org/10.5584/jiomics.v1i2.56>
87. Vázquez, F., José García, M., Pérez, F., & Palacio, V. (2001). *Trichomonas vaginalis*: treatment and resistance to nitroimidazoles. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 19(3), 114–124. [https://doi.org/10.1016/s0213-005x\(01\)72580-3](https://doi.org/10.1016/s0213-005x(01)72580-3)

88. Villalpando, J. L., Arreola, R., Puente-Rivera, J., Azuara-Liceaga, E., Valdés, J., López-Canovas, L., Villalobos-Osnaya, A., & Alvarez-Sánchez, M. E. (2017). TvZNF1 is a C2H2 zinc finger protein of *Trichomonas vaginalis*. *BioMetals*, 30(6), 861–872. <https://doi.org/10.1007/s10534-017-0053-7>
89. Wishart, D. S. (2016). Introduction to Cheminformatics. *Current Protocols in Bioinformatics*, 53(1). <https://doi.org/10.1002/0471250953.bi1401s53>
90. Yadav, M., Dubey, M. L., Gupta, I., Bhatti, G., & Malla, N. (2007). Cysteine proteinase 30 in clinical isolates of *T. vaginalis* from symptomatic and asymptomatic infected women. *Experimental Parasitology*, 116(4), 399–406. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2007.02.007>
91. Zarei, Z., Mohebbi, M., Khanaliha, K., Kia, E. B., Motevalli Haghi, A., Heidari, Z., Rezaeian, T., & Rezaeian, M. (2018). Detection of Pseudocyst Forms of *Trichomonas muris* in Rodents from Iran. *Iranian Journal of Public Health*, 47(5), 729–734. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6005970>
92. Ziaei Hezarjaribi, H., Nadeali, N., Fakhar, M., & Soosaraei, M. (n.d.). Medicinal Plants with Anti-*Trichomonas vaginalis* Activity in Iran: A Systematic Review. *Iranian Journal of Parasitology*, 14(1), 1–9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31123463>

14. ANEXOS

Materiales informáticos

Softwares

- Las plataformas PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), y Scopus (<https://www.scopus.com/home.uri>) fueron empleadas para la búsqueda de artículos que incluyeran al menos un compuesto tricomonida.
- El software Sublime Txt3 (<https://www.sublimetext.com/3>) fue utilizado para generar un tamizado por palabras clave de los artículos descargados de la literatura.
- El software DruLiTo (http://www.niper.gov.in/pi_dev_tools/DruLiToWeb/DruLiTo_index.html) fue utilizado para calcular los descriptores moleculares, además se utilizó en el análisis de compuestos líderes y reglas de Lipinski.
- El software DataWarrior versión 5.5.0 (<https://openmolecules.org/datawarrior/index.html>) fue utilizado para generar el análisis de descriptores moleculares, la generación de formatos .sdf de cada compuestos y quimera, así como para la generación de andamios de construcción o fragmentos, además se generó un análisis de similaridad entre los fragmentos que fue utilizado como propuesta de construcción de quimeras.
- SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) fue utilizado para corroborar los descriptores moleculares basados en las reglas de Lipinski y conocer algunas propiedades farmacocinéticas de los compuestos.
- La plataforma MolInspiration (<https://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>) fue utilizada para la generación de la SMILE de cada compuesto y de cada quimera realizada, para ello fue necesario dibujar las estructuras químicas en 2D.

- El software OpenBabel versión 3.1.1 (http://openbabel.org/wiki/Main_Page) fue utilizada para la conversión de formatos .sdf a .mol2 y .MDL
- La plataforma SwissDock (<http://www.swissdock.ch/>) fue utilizada para generar los acoplamientos moleculares entre la proteína diana y los compuestos/quimeras.
- La plataforma de PatchDock (<https://bioinfo3d.cs.tau.ac.il/PatchDock/>) fue utilizada para generar un segundo análisis de acoplamiento molecular entre la proteína diana y los compuestos/quimeras.
- El software Chimera versión 1.15 (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>) fue utilizado para la visualización de los resultados de acoplamiento molecular.
- Se utilizó la plataforma Swiss Similarity (<http://www.swisssimilarity.ch/>) para generar el análisis de fingerprint.
- El lenguaje estadístico R versión 6.1 y RStudio 2021.09.1 (<https://www.rstudio.com/>) fueron utilizados para realizar las pruebas estadísticas, las gráficas de barras y el análisis de datos.

COMPENDIO DE MOLECULAS

Benzopyran: El 2H-cromo es el miembro más sencillo de la clase de cromenos en los que el anillo heterocíclico de pirano tiene un doble enlace entre las posiciones 3 y 4. Es un cromeno y un compuesto orgánico heterobíclico. Es un tautómero del 4H-cromo.

SMILES: C1C=CC2=CC=CC=C2O1

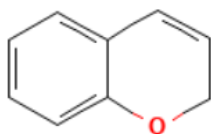
Fórmula molecular: C9H8O

PubChem ID: 9211

Modelo: *in vitro*

Cite: 1 and 2

Fórmula 2D:



Betulinic acid: Es un derivado triterpénico pentacíclico de tipo lupano de la betulina (aislado de la corteza de *Betula alba*, el abedul blanco común) con actividades antiinflamatorias, anti-VIH y antineoplásicas. El ácido betulínico induce la apoptosis a través de la inducción de cambios en el potencial de la membrana mitocondrial, la producción de especies reactivas de oxígeno y la apertura de los poros de transición de permeabilidad mitocondrial, lo que resulta en la liberación de factores apogénicos mitocondriales, la activación de caspasas y la fragmentación del ADN.

SMILE:

CC(=C)C1CCC2(C1C3CCC4C5(CCC(C(C5CCC4(C3(CC2)C)C)(C)C)O)C)C(=O)O

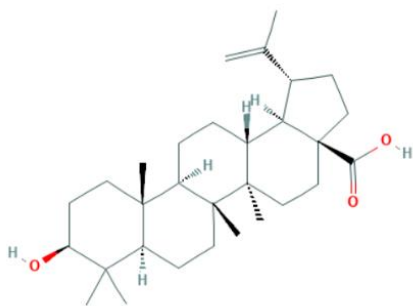
Fórmula molecular: C30H48O3

PubChem: 64971

Modelo: *in vitro*

Cite: 2 and 3

Fórmula 2D



(+) - α -Bisabolol: El bisabolol, o más formalmente α -(-)-bisabolol o también conocido como levomenol,[1] es un alcohol sesquiterpénico monocíclico natural. Se trata de un aceite viscoso e incoloro que es el principal constituyente del aceite esencial de la manzanilla alemana (*Matricaria recutita*) y del *Myoporum crassifolium*[2]. Es poco soluble en agua y glicerina, pero soluble en etanol[3] El enantiómero, α -(+)-bisabolol, también se encuentra de forma natural, pero es poco frecuente. El bisabolol sintético suele ser una mezcla racémica de los dos, α -($\pm$)-bisabolol.

SMILE: CC1=CCC(CC1)C(C)(CCC=C(C)C)O

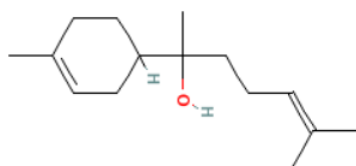
Fórmula molecular: C₁₅H₂₆O

PubChem ID: 1549992

Modelo: *in vitro*

Cite: 4 and 2

Fórmula 2D



Caffeic acid: El ácido cafeico es un derivado del ácido hidroxicinámico y polifenol biodisponible por vía oral, con potenciales actividades antioxidantes, antiinflamatorias y antineoplásicas. Tras su administración, el ácido cafeico actúa como antioxidante y previene el estrés oxidativo, evitando así el daño al ADN inducido por los radicales libres. El ácido cafeico se dirige e inhibe el gen de la oncoproteína histona desmetilasa (HDM) amplificada en el carcinoma de células escamosas 1 (GASC1; JMJD2C; KDM4C) e inhibe la proliferación de las células cancerosas. GASC1, miembro del subgrupo KDM4 de las proteínas que contienen el dominio Jumonji (Jmj), desmetila la lisina 9 trimetilada y la lisina 36 de la histona H3 (H3K9 y H3K36), y desempeña un papel clave en el desarrollo de las células tumorales.

SMILE: C1=CC(=C(C=C1C=CC(=O)O)O)O

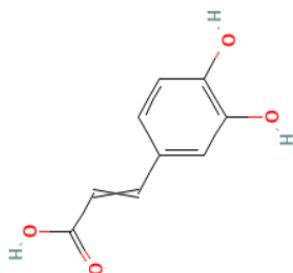
Fórmula molecular: C₉H₈O₄

PubChem ID: 689043

Modelo: *in vitro*

Cite: 6 and 2

Fórmula 2D



Candimine: Es un alcaloide poco frecuente en la familia de las amarilidáceas.

SMILE: CN1CCC2=CC(C3C(C21)C4=CC5=C(C(=C4C(=O)O3)OC)OCO5)O

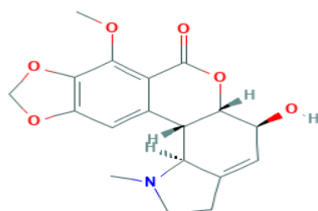
Fórmula molecular: C₁₈H₁₉NO₆

PubChem ID: 441588

Modelo: *in vitro*

Cite: 5 and 2

Fórmula 2D



α -Chaconine: La cáscara de la patata es una rica fuente de compuestos bioactivos, como los glicoalcaloides α -solanina y α -chaconina

SMILE:

CC1CCC2C(C3C(N2C1)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)OC7C(C(C(C(O7)C)O)OC8C(C(C(C(O8)C)O)O)O)OC9C(C(C(C(O9)C)O)O)O)C)C

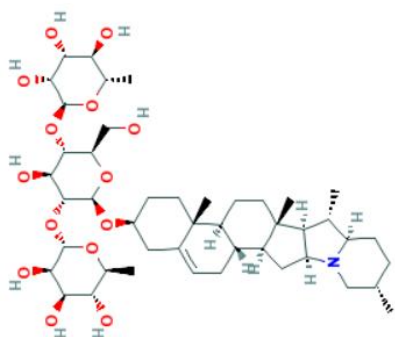
Fórmula molecular: C₄₅H₇₃NO₁₄

PubChem ID: 442971

Modelo: *in vitro*

Cite: 6 and 2

Fórmula 2D



Chlorogenic acid:

CanonicSMILE: C1C(C(C(CC1(C(=O)O)O)OC(=O)C=CC2=CC(=C(C(=C2)O)O)O)O)O

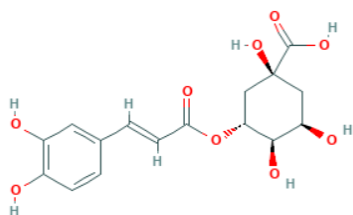
Molecular Fórmula: C₁₆H₁₈O₉

PubChem ID: 1794427

Modelo: *in vitro*

Cite: 6 and 2

Fórmula 2D



Emodin: La emodina es una trihidroxiantraquinona, es decir, una 9,10-antraquinona sustituida por grupos hidroxilo en las posiciones 1, 3 y 8 y por un grupo metilo en la posición 6. Está presente en las raíces y cortezas de numerosas plantas (en particular el ruibarbo y el espino cerval), mohos y líquenes. Es un ingrediente activo de varias hierbas chinas. Tiene un papel como inhibidor de la tirosina quinasa, como agente antineoplásico, como laxante y como metabolito vegetal. Se deriva de una antrona de la emodina. Es un ácido conjugado de una emodina(1-).

SMILE: CC1=CC2=C(C(=C1)O)C(=O)C3=C(C2=O)C=C(C(=C3O)O)O

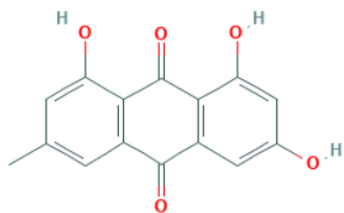
Fórmula molecular: C₁₅H₁₀O₅

PubChem ID: 3220

Modelo: *in vivo/mouse*

Cite: 7

Fórmula 2D



Geraniol: El geraniol es un monoterpenoide formado por dos unidades de prenilo unidas cabeza con cola y funcionalizadas con un grupo hidroxilo en su extremo posterior. Tiene un papel como fragancia, alérgeno, componente de aceite volátil y metabolito vegetal. Es un monoterpenoide, un alcohol primario y un 3,7-dimetilocta-2,6-dien-1-ol.

SMILE: CC(=CCCC(=CCO)C)C

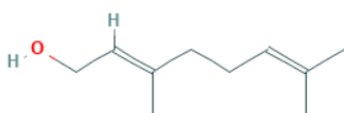
Fórmula molecular: C₁₀H₁₈O

PubChem ID: 637566

Modelo: *in vitro*

Cite: 8

Fórmula 2D



isoaustrobrasilol B: El derivado del cloroglucinol anti-Trichomonas vaginalis, isoaustrobrasilol B, modula la hidrólisis de nucleótidos extracelulares.

SMILE:

CCCC(=O)C1=C(C(=C2C(=C1O)C=CC(O2)(C)C)CC3=C(C(C(=O)C(=C3O)C(=O)C(C)C)(C)CC=C(C)C)O)O

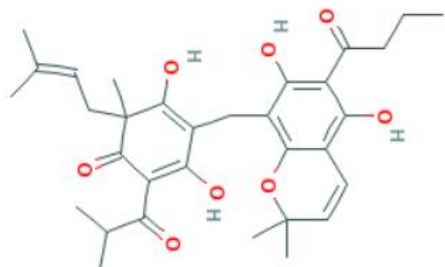
Fórmula molecular: C₃₂H₄₀O₈

PubChem ID: 132579547

Modelo: *in VITRO*

Cite: 9

Fórmula 2D



Lucidin-isopropyl-ether: Una nueva antraquinona, la lucidina - ω - éter isopropílico, fue aislada de las raíces de *Morinda panamensis* Seem y en un estudio realizado en 2019 por nuestro grupo demostró que una concentración de 20 $\mu\text{m}/\text{mL}$ era capaz de inhibir la citotoxicidad del parásito hacia las células HeLa y de disminuir la actividad proteolítica del TvMP50, así como de disminuir la expresión del gen mp50.

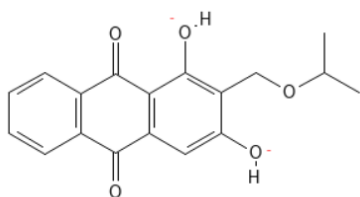
SMILE: CC(C)OCc3c([OH-])cc2c(=O)c1cccc1c(=O)c2c3[OH-]

PubChem ID: N/A

Modelo: *in vitro*

Cite: Cáceres-Castillo D. et al (2019)

Fórmula 2D



Lycorine: La licorina es un alcaloide de indolizidina que es el 3,12-didehidrogalantano sustituido por grupos hidroxilo en las posiciones y 2 y un grupo metilendioxi en las posiciones 9 y 10. Aislado de *Crinum asiaticum*, se ha demostrado que presenta actividad antipalúdica. Tiene un papel como inhibidor de la síntesis de proteínas, antimalárico, metabolito vegetal y agente anticoronaviral. Se deriva de un hidruro de un galantano.

SMILE: C1CN2CC3=CC4=C(C=C3C5C2C1=CC(C5O)O)OCO4

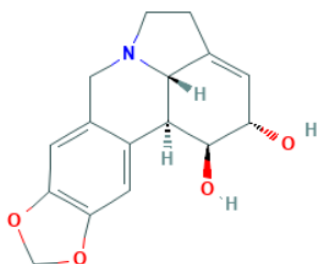
Fórmula molecular: $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}_4$

PubChem ID: 72378

Modelo: *in vitro*

Cite: 10

Fórmula 2D



Methyl jasmonate: El (-)-metil jasmonato es un éster de jasmonato que es el éster metílico del ácido jasmónico. Es un miembro de los jasmonatos, un metabolito vegetal y una hormona vegetal. Es un éster de jasmonato y un éster metílico.

SMILE: CCC=CCC1C(CCC1=O)CC(=O)OC

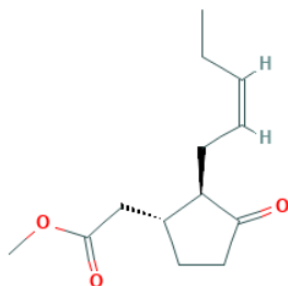
Fórmula molecular Fórmula: C₁₃H₂₀O₃

PubChem ID: 5281929

Modelo: *in vitro*

Cite: 11

Fórmula 2D



Metronidazole: El metronidazol es un derivado sintético del nitroimidazol con actividad antiprotzoaria y antibacteriana. Aunque su mecanismo de acción no está totalmente dilucidado, el metronidazol no ionizado es captado fácilmente por los organismos anaerobios obligados y posteriormente es reducido por proteínas de transporte de electrones de bajo potencial redox a un producto intermedio activo. El metronidazol reducido provoca roturas de la cadena de ADN, inhibiendo así la síntesis de ADN y el crecimiento de las células bacterianas.

SMILE: CC1=NC=C(N1CCO)[N+](=O)[O-]

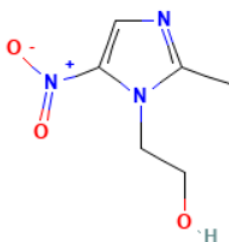
Fórmula molecular: C₆H₉N₃O₃

PubChem ID: 4173

Modelo: *in vivo*

Cite:

Fórmula 2D



N-acetyl-L-cysteine: La acetilcisteína es un derivado sintético N-acetilo del aminoácido endógeno L-cisteína, precursor de la enzima antioxidante glutatión. La acetilcisteína regenera las reservas hepáticas de glutatión. Este agente también reduce los enlaces de disulfuro en las mucoproteínas, lo que provoca la licuefacción del moco. Algunas pruebas sugieren que la acetilcisteína puede ejercer un efecto antiapoptótico debido a su actividad antioxidante, lo que posiblemente impida el desarrollo o el crecimiento de las células cancerosas. Además, la acetilcisteína ha inhibido la estimulación viral de los intermediarios reactivos del oxígeno, produciendo así una actividad antiviral en pacientes con VIH.

SMILE: CC(=O)NC(CS)C(=O)O

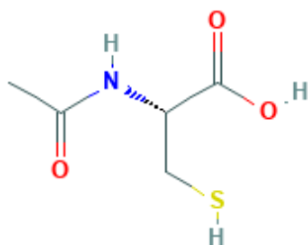
Fórmula molecular: C₅H₉NO₃S

PubChem ID: 12035

Modelo: *in vitro* y *vivo mouse*

Cite: PubChem. NO encuentre el art.

Fórmula 2D



Pyrrolocin A:

CanonicSMILE:

CC1CCC2C(C1)C=C(C(C2(C)C(=C3C(=O)C(N(C3=O)C)CO)O)C=CC=CCC(C)O)C

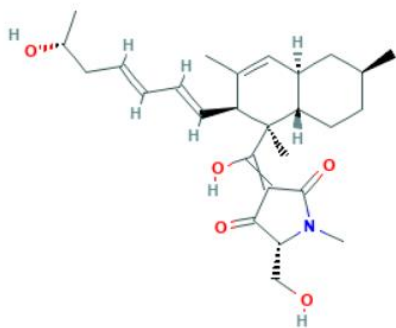
Molecular Fórmula: C₂₇H₃₉NO₅

PubChem ID: 101889884

Modelo: *in vitro*

Cite: 14

Fórmula 2D



Quercetin: La quercetina es un flavonoide polifenólico con potencial actividad quimiopreventiva. La quercetina, omnipresente en las fuentes alimentarias vegetales y uno de los principales bioflavonoides de la dieta humana, puede producir efectos antiproliferativos derivados de la modulación de las vías de transducción de señales mediadas por el EGFR o el receptor de estrógenos. Aunque el mecanismo de acción no se conoce del todo, se han descrito los siguientes efectos con este agente *in vitro*: disminución de la expresión de la proteína p53 mutante y del oncogén p21-ras, inducción de la detención del ciclo celular en la fase G1 e inhibición de la síntesis de proteínas de choque térmico.

SMILE: C1=CC(=C(C=C1C2=C(C(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O)O)O

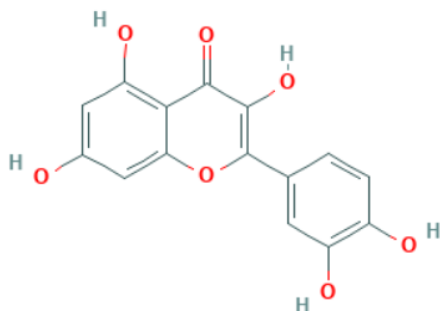
Fórmula molecular: C₁₅H₁₀O₇

PubChem ID: 5280343

Modelo: *in vitro*

Cite: 6

Fórmula 2D



Resveratrol: El resveratrol es un polifenol vegetal que se encuentra en altas concentraciones en las uvas rojas y que se ha propuesto como tratamiento para la hiperlipidemia y para prevenir el hígado graso, la diabetes, la aterosclerosis y el envejecimiento. El uso del resveratrol no se ha asociado a elevaciones de las enzimas séricas ni a lesiones hepáticas clínicamente aparentes.

SMILE: C1=CC(=CC=C1C=CC2=CC(=CC(=C2)O)O)O

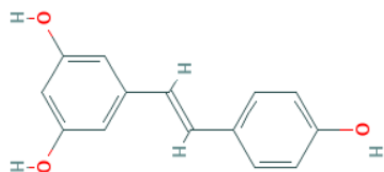
Fórmula molecular: C₁₄H₁₂O₃

PubChem ID: 445154

Modelo: *in vitro*

Cite: 14

Fórmula 2D



Solanidine A:

CanonicSMILE:

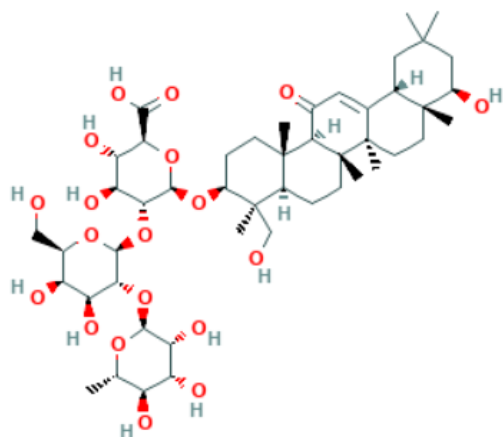
CC1C(C(C(C(O1)OC2C(C(C(OC2OC3C(C(C(OC3OC4CCC5(C(C4(C)CO)CCC6(C5C(=O)C=C7C6(CCC8(C7CC(CC8O)(C)C)C)C)C)C(=O)O)O)O)CO)O)O)O)OMolecular Fórmula: C₄₈H₇₆O₁₉

PubChem ID: 101638317

Modelo: *in vitro*

Cite:

Fórmula 2D

**Saponin B:**

CanonicSMILE:

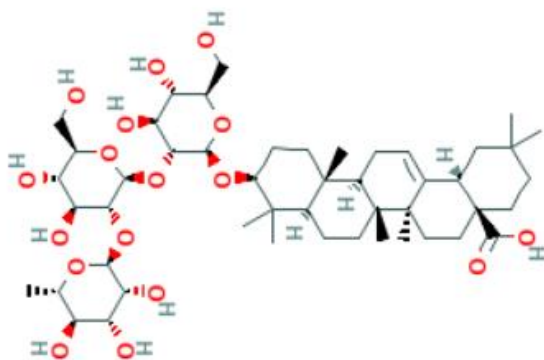
CC1C(C(C(C(O1)OC2C(C(C(OC2OC3C(C(C(OC3OC4CCC5(C(C4(C)C)CCC6(C5CC=C7C6(CCC8(C7CC(CC8)(C)C)C(=O)O)C)C)C)CO)O)O)CO)O)O)O)OMolecular Fórmula: C₄₈H₇₈O₁₇

PubChem ID: 21606141

Modelo: *in vitro*

Cite: 15

Fórmula 2D



Skimmianine: Es un alcaloide de furoquinolina que se encuentra en *Skimmia japonica*, una planta con flores de la familia Rutaceae que es originaria de Japón y China. También es un fuerte inhibidor de la acetilcolinesterasa (AChE).

SMILE: COC1=C(C2=C(C=C1)C(=C3C=COC3=N2)OC)OC

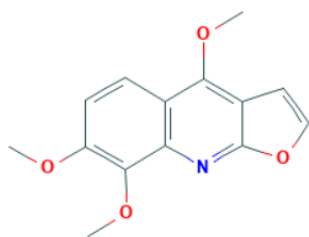
Fórmula molecular: C₁₄H₁₃NO₄

PubChem ID: 6760

Modelo: *in vitro*

Cite: 21

Fórmula 2D



Solanidine: La solanidina es un alcaloide esteroide fundamental, un alcaloide, un compuesto orgánico heterohexacíclico y un 3beta-hidroxi-Delta(5)-esteroide. Tiene una función como metabolito vegetal.

SMILE: CC1CCC2C(C3C(N2C1)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)O)C)C)C

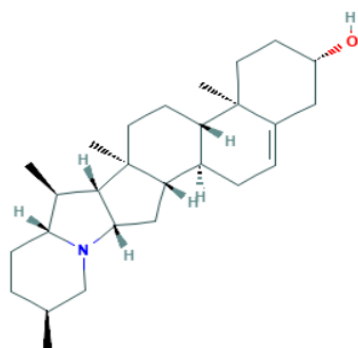
Fórmula molecular: C₂₇H₄₃NO

PubChem ID: 65727

Modelo: *in vitro*

Cite: 6

Fórmula 2D



Solanine alpha:

CanonicSMILE:

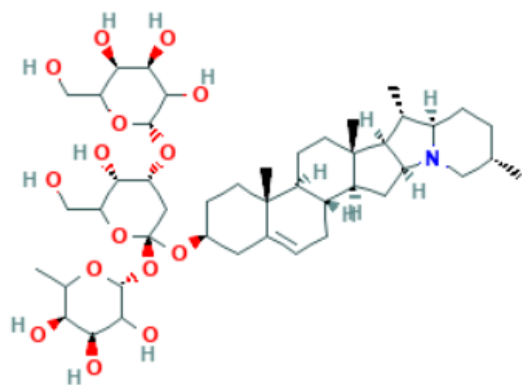
CC1CCC2C(C3C(N2C1)CC4C3(CCC5C4CC=C6C5(CCC(C6)OC7(CC(C(C(O7)CO)O)OC8C(C(C(C(O8)CO)O)O)OC9C(C(C(C(O9)CO)O)O)O)C)C)CMolecular Fórmula: C₄₅H₇₃NO₁₅

PubChem ID: 6713954

Modelo: *in vitro*

Cite: 6

Fórmula 2D



Tomatidine: La tomatidina es un esteroide 3beta-hidróxido resultante de la sustitución del hidrógeno 3beta del tomatidano por un grupo hidroxilo. Es un compuesto azaspiro, un compuesto oxaspiro y un 3beta-hidroxi-esteroide. Se deriva de un hidruro de un tomatidano.

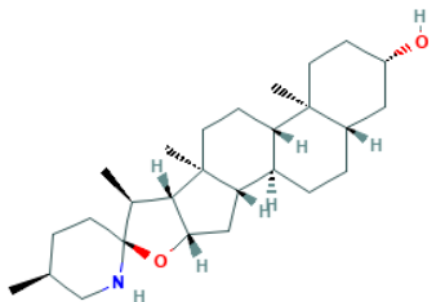
SMILE: CC1CCC2(C(C3C(O2)CC4C3(CCC5C4CCC6C5(CCC(C6)O)C)C)C)NC1Fórmula molecular: C₂₇H₄₅NO₂

PubChem ID: 65576

Modelo: *in vitro*

Cite: 16

Fórmula 2D



Tomatine: La tomatina es un alcaloide esteroide que es la tomatidina en la que el grupo hidroxilo en la posición 3 está ligado a la licotetraosa, un tetrasacárido compuesto por dos unidades de D-glucosa, una unidad de D-xilosa y una unidad de D-galactosa. Tiene un papel como adyuvante inmunológico, como fitotoxina y como agente antifúngico. Es un alcaloide esteroide, un derivado tetrasacárido, un antibiótico alcaloide y un glucósido. Deriva de una tomatidina.

SMILE:

```
CC1CCC2(C(C3C(O2)CC4C3(CCC5C4CCC6C5(CCC(C6)OC7C(C(C(C(O7)CO)O)C8C(C(C(C(O8)CO)O)OC9C(C(C(CO9)O)O)O)OC2C(C(C(C(O2)CO)O)O)O)O)O)C)C)NC1
```

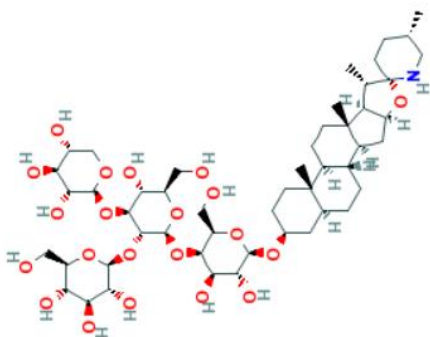
Fórmula molecular: C₅₀H₈₃NO₂₁

PubChem ID: 28523

Modelo: *in vitro*

Cite:

Fórmula 2D



Torvoside A:

CanonicSMILE:

```
CC1C2C(CC3C2(CCC4C3CC(C5C4(CCC(C5)O)C)OC6C(C(C(C(O6)C)O)OC7C(C(C(C(O7)C)O)O)O)O)C)OC1(CCC(C)COC8C(C(C(C(O8)CO)O)O)O)O
```

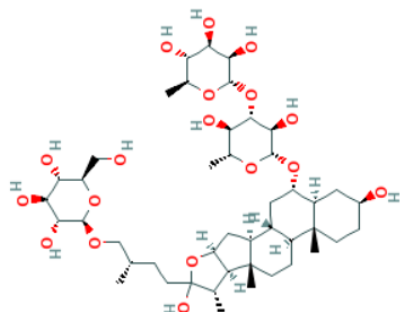
Molecular Fórmula: C₄₅H₇₆O₁₈

PubChem ID: 102444965

Modelo: *in vitro*

Cite: 17

Fórmula 2D



Torvoside H. Es una saponina esteroidea que es (5alfa,6alfa,22R,25S)-6,22,26-trihidroxifurostan-3-ona en la que el grupo hidroxi en la posición 6 se ha convertido en el derivado beta-D-glucopiranosil-(1->3)-alfa-L-ramnósido, mientras que el de la posición 26 se ha convertido en su beta-D-glucósido. El torvósido H es un producto natural que se encuentra en el fruto de *Solanum torvum* y que muestra actividad antiviral contra el virus del herpes simple tipo 1. Tiene un papel como metabolito y agente antiviral. Es una saponina esteroide, un derivado disacárido, un hemiketal cíclico, un triterpenoide pentacíclico y un 3-oxo-5alpha-esteroide.

SMILE:

```
CC1C2C(CC3C2(CCC4C3CC(C5C4(CCC(=O)C5)C)OC6C(C(C(C(O6)C)O)OC7C(C(C(C(O7)C)O)O)O)O)C)OC1(CCC(C)COC8C(C(C(C(O8)CO)O)O)O)O
```

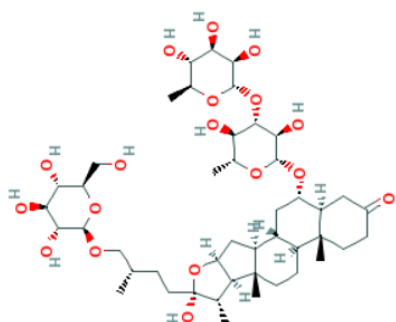
Fórmula molecular: C₄₅H₇₄O₁₈

PubChem ID: 70697829

Modelo: *in vitro*

Cite: 17

Fórmula 2D



Uliginosin B:

CanonicSMILE:

```
CC(C)C(=O)C1=C(C(=C(C(C1=O)(C)C)O)CC2=C(C(=C3C(=C2O)C=CC(O3)(C)C)C(=O)C(C)C)O)O
```

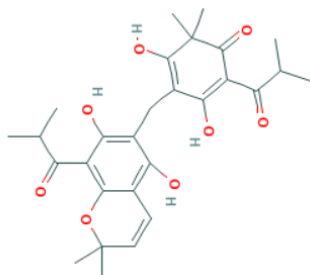
Molecular Fórmula: C₂₈H₃₄O₈

PubChem ID: 5315118

Modelo: *in vitro*

Cite: 18

Fórmula 2D



Ursolic acid: El ácido ursólico es un triterpenoide pentacíclico que es el ácido urs-12-en-28-oico sustituido por un grupo beta-hidroxi en la posición 3. Tiene una función como metabolito vegetal. Es un triterpenoide pentacíclico y un ácido hidroxi monocarboxílico. Se deriva de un hidruro de un ursano.

SMILE:

CC1CCC2(CCC3(C(=CCC4C3(CCC5C4(CCC(C5(C)C)O)C)C)C2C1C)C)C(=O)O

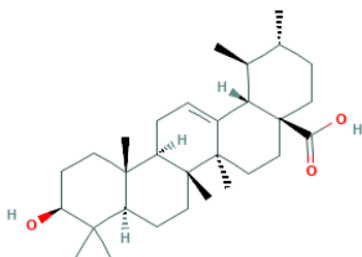
Fórmula molecular: C₃₀H₄₈O₃

PubChem ID: 64945

Modelo: *in vitro*

Cite: 19

Fórmula 2D



Wogonin: Es una dihidroxi y monometoxiflavona en la que los grupos hidroxi se sitúan en C-5 y C-7 y el grupo metoxi en C-8. Tiene un papel como inhibidor de la ciclooxygenasa 2, como agente antineoplásico, como inhibidor de la angiogénesis y como metabolito vegetal. Es una dihidroxiflavona y una monometoxiflavona. Es un ácido conjugado de una wogonina(1-).

SMILE: COC1=C(C(=C(C2=C1OC(=CC2=O)C3=CC=CC=C3)O)O

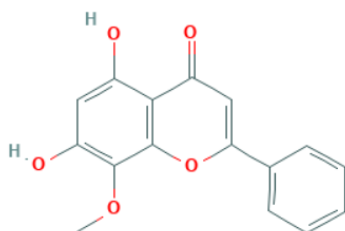
Fórmula molecular: C₁₆H₁₂O₅

PubChem ID: 5281703

Modelo: *in vitro*

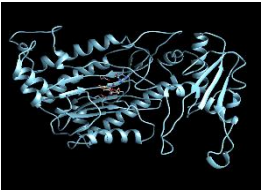
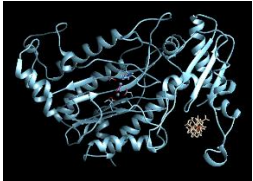
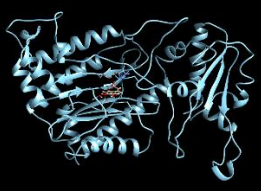
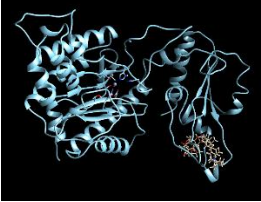
Cite: 20

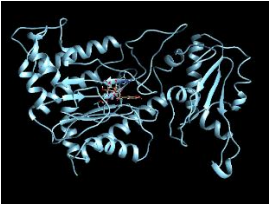
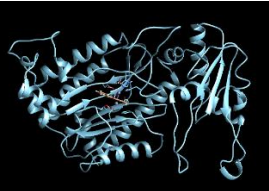
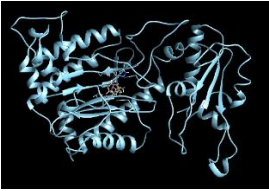
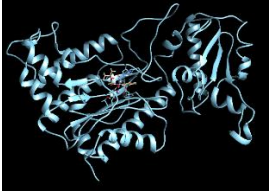
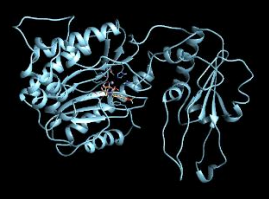
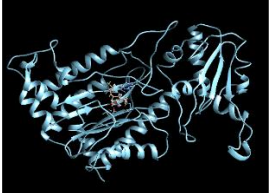
Fórmula 2D

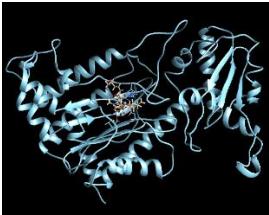
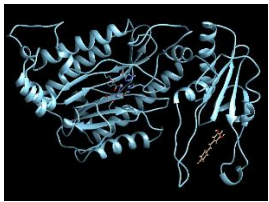
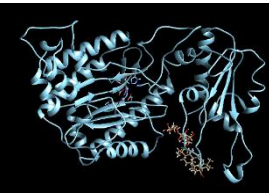


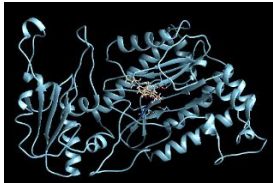
DOCKING MOLECULAR ENTRE TvMP50 Y COMPUESTOS DE LA

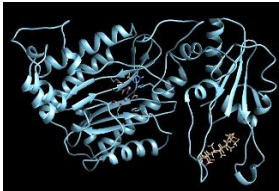
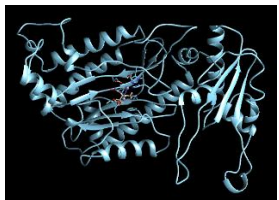
TABLA PRIMARIA

2H-chromene	ΔG -17.9	
Betulinic_acid	ΔG -6.88	
Nectandra	ΔG -8.02	
Caffeic_acid	ΔG -14.47	
Candimine	ΔG -8.39	
alfa-Chaconine	ΔG -9.34	

Chlorogenic_acid	ΔG -15.66	
Emodin	ΔG -8.02	
Geraniol	ΔG -7.84	
Lucidin-isopropyl-ether	ΔG -16.45	
Lycorine	ΔG -8.11	
Methyl-jasmonate	ΔG -9.23	

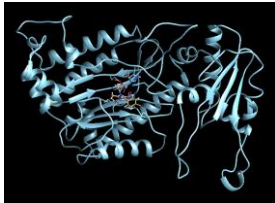
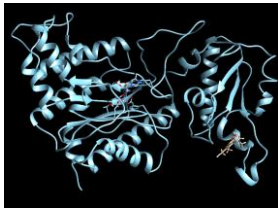
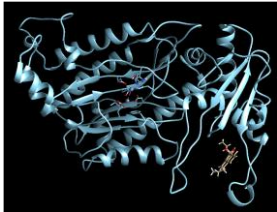
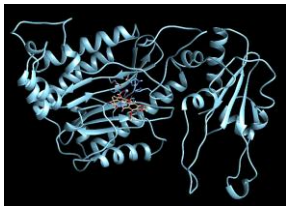
N-acetyl-L-cysteine	ΔG -15.10	
Pyrrolocin_A	ΔG -16.51	
Quercetin	ΔG -9.63	
Resveratrol	ΔG -7.42	
Saponins A	ΔG -18.42	
Saponins B	ΔG -8.37	

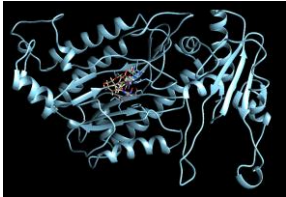
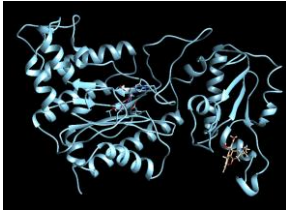
Skimmianine	ΔG -8.06	
Solanidine	ΔG -8.88	
α -Solanine	ΔG -6.51	
Tomatidine	ΔG -8.65	
Tomatine	ΔG -11.69	
Torvoside A	ΔG -6.24	

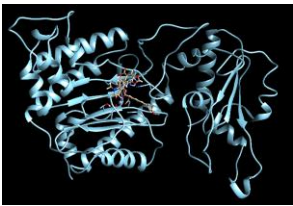
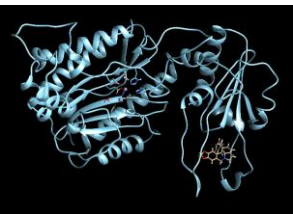
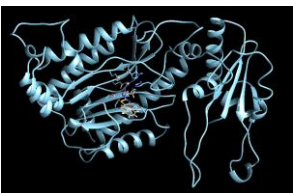
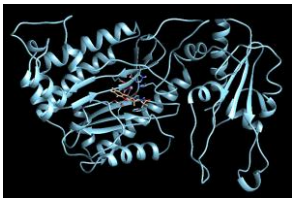
Torvoside H	ΔG -10.47	
Ursolic acid	ΔG -6.37	
Wogonine	ΔG -9.46	
Fumagiline	ΔG -16.19	
Metronidazol	ΔG -15.99	
N - (5-Bromo-4- p -tolil-tiazol-2-il) - acetamida [ATZ1]	ΔG -8.92	

N - [5- bromo-4- (4 -cloro-fenil) - tiazol-2-il] -acetamida [ATZ2]	ΔG -8.85	
(3,3'-{[4-(4-morpholinyl)phenyl]methylene}bis(4-hydroxy-2H-chromen-2-one) [A4]	ΔG -8.49	

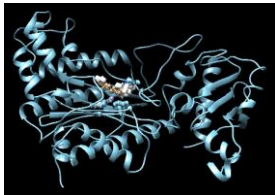
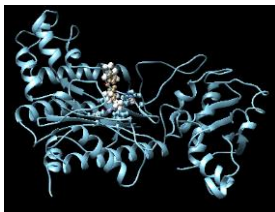
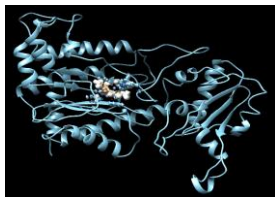
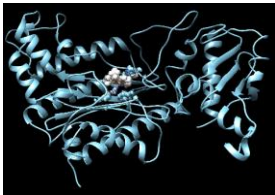
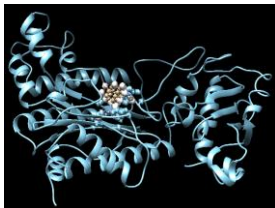
DOCKING MOLECULAR ENTRE TvMP50 Y LAS QUIMERAS DISEÑADAS

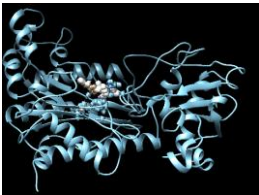
Compuesto quimérico	Valor ΔG	Modelado
ATZ1_Mtz	$\Delta G -10.12$	
ATZ2_Mtz	$\Delta G - 10.10$	
Candimine_Emodin	$\Delta G - 7.31$	
Candimine-Lucidin-isopropyl-ether	$\Delta G - 7.61$	
Candimine-Lycorine	$\Delta G - 8.64$	

Candimine_Metronidazol	$\Delta G - 12.88$	
Candimine_Wogonine	$\Delta G - 7.83$	
Emodin_Lucidin_isopropyl_ether	$\Delta G - 17.00$	
Emodin_Lycorine	$\Delta G - 9.12$	
Emodin_Quercetin	$\Delta G - 9.54$	
Emodin_Wogonine	$\Delta G - 8.68$	

Fumagiline_Candimine	$\Delta G - 9.71$	
Fumagiline_Lycorine	$\Delta G - 10.14$	
Lycorine_wogonine	$\Delta G - 7.59$	
Quercetin_ATZ1	$\Delta G - 9.97$	
Wogonine_ATZ1	$\Delta G - 8.81$	
Wogonine_Lucidin_isopropyl_ether	$\Delta G - 8.43$	

DOCKING MOLECULAR ENTRE TvMP50 Y LOS COMPUESTOS OBTENIDOS POR FINGERPRINT

Compuesto químico	Valor ΔG	Modelado
1,6,8-Trihydroxy-2-methyl-anthraquinone	-7.93	
1-Hydroxy-6,8-dimethoxy-2-methyl-anthraquinone	-7.44	
1,8-Dihydroxy-2-methylanthraquinone	-7.55	
Aloesaponarin I	-10.64	
Citreorosein	-7.51	

Catenarin	-7.54	
-----------	-------	--

Fin.

Este trabajo fue apoyado por la UACM bajo el proyecto CCyT-2021-1 del Colegio de Ciencia y Tecnología, se contó con apoyo el de CONACYT que otorgo una beca para el alumno con numero de CVU 1082640.