

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS

**EVALUACIÓN IN SILICO DEL POTENCIAL INHIBITORIO DE UNA
COLECCIÓN DE FLAVONOIDES FRENTE A LA ENZIMA SHIKIMATO
QUINASA DE *Mycobacterium tuberculosis***

PRESENTADO POR:

Bach. ESTEFANIA CHOQUE TACURI

**PARA OPTAR AL TÍTULO
PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

ASESORA:

Dra. CARLA DEL CARPIO JIMÉNEZ

COASESOR:

Mg. WILMAR PUMA ZAMORA

CUSCO – PERÚ

2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, **Asesor** del trabajo de investigación/tesis titulada: Evaluación in silico del potencial inhibitorio de una colección de flavonoides frente a la enzima Shikimato quinasa de Mycobacterium tuberculosis

presentado por: Bach. Estefanía Choque Tacuri con DNI Nro.: 43044854

presentado por: con DNI Nro.:

para optar el título profesional/grado académico de Químico Farmacéutico

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 02 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 09%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** la primera página del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 15 de Enero de 2024

Firma

Post firma Carla del Carpio Jiménez

Nro. de DNI 23945000

ORCID del Asesor 0000-0001-7487-354X

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: oid: 27259: 420702 045

ESTEFANÍA CHOQQE TACURI

TESIS FINAL ESTEFANÍA CHOQQE TACURI.pdf

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:420702045

Fecha de entrega

13 ene 2025, 8:13 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

13 ene 2025, 8:20 p.m. GMT-5

Nombre de archivo

TESIS FINAL ESTEFANÍA CHOQQE TACURI.pdf

Tamaño de archivo

10.2 MB

156 Páginas

121,411 Palabras

588,073 Caracteres

9% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Fuentes principales

- 8%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 5%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
39 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Dedicatoria

A mi querido padre, Julian Choque Choque, por su amor incondicional, su apoyo constante y por ser siempre mi mayor ejemplo de integridad y dedicación. Gracias por enseñarme la importancia del trabajo duro, la perseverancia y el valor de seguir mis sueños. Tu guía y confianza en mí han sido fundamentales para alcanzar este logro.

A mi abuelo, Mariano Choque Tacuri, a quien no tuve la oportunidad de conocer, pero cuyo legado y valores viven en mi familia y en mí. Aunque no estás aquí para presenciar este momento, tu sueño ha sido una fuente de inspiración constante en mi vida, sé que tu influencia ha sido significativa y que tus enseñanzas han sido transmitidas a través de generaciones. Este logro es un homenaje a tu memoria y a tus aspiraciones.

A ambos, les dedico esta tesis con inmensa gratitud y amor eterno.

Estefanía

Agradecimiento

En primer lugar, agradezco a Dios, por haberme dado la vida, la fuerza necesaria para completar este trabajo. Su guía constante me ha permitido superar los desafíos y alcanzar este importante logro.

A mis padres, por su amor incondicional, su apoyo constante y sus sacrificios a lo largo de mi vida. Gracias por creer en mí y por enseñarme que con esfuerzo y perseverancia todo es posible.

A mis hermanos, Mariela, Fidel, Yolanda, Rosa y Rocío, por ser mi respaldo en todo momento, por sus palabras de aliento y por estar siempre a mi lado. Su cariño y apoyo han sido fundamentales en este proceso.

A mis sobrinos, Stephany, Giselle, Ángel, Ricardo, Marjorie, Danna y Sofía, quienes con su alegría y ternura me recordaron la importancia de esforzarme por ser un ejemplo para ellos.

A mi querido peludo Nikolas, por ser más que una mascota: un compañero incondicional en este camino. Tus ronroneos, ocurrencias y esa alegría única que traes a mi vida han sido un refugio constante en los momentos más desafiantes. Gracias por brindarme felicidad y consuelo cuando más lo necesitaba.

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, por haber sido el espacio donde pude formarme académica y personalmente. Agradezco especialmente a la institución por fomentar un ambiente de aprendizaje, reflexión y desarrollo integral. Este logro es también el resultado del apoyo y la excelencia de esta casa de estudios.

A mi asesora, Dra. Carla del Carpio Jiménez, por su invaluable guía, paciencia y dedicación durante todo este proceso. Su conocimiento, compromiso y orientación no solo fueron fundamentales para el desarrollo de esta tesis, sino también una fuente constante de aprendizaje e inspiración.

A Wilmar, por su paciencia, dedicación y por compartir su conocimiento conmigo. Sus orientaciones han sido clave para llevar a cabo este proyecto.

A mis docentes, por inspirarme a crecer académica y personalmente, y por enseñarme a valorar el conocimiento y el esfuerzo.

Y a mis amigos, por su apoyo, su motivación y por hacer que los momentos difíciles fueran más llevaderos con su compañía. A todos ustedes, mi más profundo agradecimiento. Este logro no habría sido posible sin su presencia y apoyo en mi vida.

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar el potencial inhibitorio de flavonoides de la base de datos LIPID MAPS frente a la enzima shikimato quinasa de *Mycobacterium tuberculosis*. Se utilizaron técnicas in silico, como la predicción de propiedades ADMET mediante el servidor ADMETLab 2.0 y el cálculo de energías libres de unión (ΔG) e interacciones moleculares evaluados a través de acoplamiento molecular.

Los flavonoides en formato SMILES, obtenidos de LIPID MAPS, fueron evaluados con el servidor ADMETLab 2.0. Tras analizar parámetros ADMET y criterios de semejanza a fármacos, se filtraron las moléculas que no cumplieran con los criterios establecidos, seleccionando 29 flavonoides. Las estructuras tridimensionales de estos flavonoides se descargaron de PubChem, y la estructura de la shikimato quinasa del Protein Data Bank.

El protocolo de acoplamiento molecular se validó mediante el re-acoplamiento del ligando nativo en la enzima, obteniendo resultados favorables. Luego, los flavonoides se acoplaron utilizando Glide, y las energías libres de unión se calcularon con Prime. Con el módulo Ligand Interaction Diagram, se determinaron y cuantificaron las interacciones moleculares de cada flavonoide con los aminoácidos clave de la enzima, clasificándolos en grupos de alto y bajo potencial inhibitorio.

Respecto a los resultados, evaluamos 6567 flavonoides según criterios de semejanza a fármacos, filtrando solo 29 que cumplieron con los parámetros ADMET, y posteriormente 25 flavonoides superaron la energía libre de unión del shikimato. El (3S)-3',7-dihidroxi-2',4',5',8-tetrametoxiisoflavano mostró la mayor afinidad ($\Delta G = -41.46$ kcal/mol). Se identificaron 115 interacciones moleculares en total, la mayoría puentes de hidrógeno (81.7%), con 107 interacciones clave con aminoácidos importantes de la enzima.

Finalmente, se utilizaron pruebas de t de Student y Brunner Munzel para comparar las medias y medianas de los flavonoides con alto y bajo potencial inhibitorio. La correlación punto-biserial mostró una correlación negativa considerable entre la ΔG y el potencial inhibitorio, sugiriendo que una menor energía libre de unión se asocia con un mayor potencial inhibitorio, destacando su relevancia en el desarrollo de nuevos fármacos contra *Mycobacterium tuberculosis*.

Palabras claves: *Mycobacterium tuberculosis*, shikimato quinasa, flavonoides, in silico

Abstract

The aim of this study was to evaluate the inhibitory potential of flavonoids from the LIPID MAPS database against the shikimate kinase enzyme of *Mycobacterium tuberculosis*. In silico techniques were used, such as the prediction of ADMET properties through the ADMETLab 2.0 server and the calculation of binding free energies (ΔG) and molecular interactions assessed via molecular docking.

The flavonoids in SMILES format, obtained from LIPID MAPS, were evaluated using the ADMETLab 2.0 server. After analyzing ADMET parameters and drug-likeness criteria, molecules that did not meet the established criteria were filtered, resulting in the selection of 29 flavonoids. Their 3D structures were downloaded from PubChem, and the structure of shikimate kinase from the Protein Data Bank.

The molecular docking protocol was validated by re-docking the native ligand into the enzyme, obtaining favorable results. Subsequently, the flavonoids were docked using Glide, and binding free energies were calculated with Prime. The Ligand Interaction Diagram module was used to determine and quantify the molecular interactions of each flavonoid with key amino acids of the enzyme, classifying them into high and low inhibitory potential groups.

Regarding the results, 6567 flavonoids were evaluated based on drug-likeness criteria, filtering only 29 that met the ADMET parameters. Later, 25 flavonoids surpassed the binding free energy threshold for shikimate kinase. (3S)-3',7-dihydroxy-2',4',5',8-tetramethoxyisoflavone showed the highest affinity ($\Delta G = -41.46$ kcal/mol). A total of 115 molecular interactions were identified, with the majority being hydrogen bonds (81.7%), and 107 key interactions with amino acids important for the enzyme function.

Finally, Student's t-test and Brunner Munzel tests were used to compare the means and medians of the flavonoids with high and low inhibitory potential. The point-biserial correlation showed a significant negative correlation between ΔG and inhibitory potential, suggesting that lower binding free energy is associated with higher inhibitory potential, highlighting its relevance in the development of new drugs against *Mycobacterium tuberculosis*.

Keywords: *Mycobacterium tuberculosis*, shikimate kinase, flavonoids, in silico

Índice

Dedicatoria	i
Agradecimiento	ii
Resumen	iii
Abstract.....	iv
Siglas y abreviaturas	ix
Índice de gráficos.....	x
Índice de ilustraciones	x
Índice de tablas	x
Introducción.....	xii
Capítulo I.....	1
Generalidades	1
1.1. Planteamiento del problema	1
1.2. Formulación del problema.....	3
1.3. Objetivos	3
1.3.1. Objetivo general	3
1.3.2. Objetivos específicos.....	3
1.4. Limitación de la investigación.....	4
1.5. Justificación.....	4
1.5.1. En la aplicabilidad	4
1.5.2. En la prioridad	4
1.5.3. En el conocimiento	5
1.6. Hipótesis.....	5
Capítulo II.....	6
Marco teórico.....	6
2.1. Antecedentes del estudio	6
2.1.1. Internacionales.....	6
2.1.2. Nacionales	10
2.1.3. Locales	12
2.2. Bases teóricas	12
2.2.1. Shikimato quinasa	12
2.2.1.1. Relevancia en la vía del shikimato de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	15
2.2.2. Flavonoides	18
2.2.2.1. Propiedades antimicobacteriales.....	19
2.2.3. Servidor ADMETlab 2.0	21
2.2.3.1. Parámetros ADMET	22

2.2.4.	Acoplamiento molecular	23
2.2.4.1.	Energía libre de unión (ΔG) calculado por el método MM/GBSA	24
2.2.4.2.	Programa informático Glide	26
2.2.5.	Interacciones moleculares	27
2.2.5.1.	Módulo de visualización Ligand Interaction Diagram	29
2.2.6.	Tuberculosis	29
2.2.6.1.	Epidemiología	30
2.2.6.2.	Tipos de resistencia a medicamentos antituberculosos.....	30
2.2.6.3.	Tratamiento y efectos adversos de medicamentos antituberculosos.....	31
2.3.	Glosario de términos	33
Capítulo III		37
Materiales y métodos.....		37
3.1.	Materiales	37
3.1.1.	Programas informáticos.....	37
3.1.2.	Servidor de predicción de parámetros ADMET	37
3.1.3.	Bases de datos	37
3.1.4.	Equipos de cómputo	38
3.2.	Metodología de la investigación.....	39
3.2.1.	Tipo de estudio	39
3.2.2.	Diseño.....	39
3.2.3.	Variable independiente	41
3.2.3.1.	Flavonoides	41
3.2.4.	Variable dependiente	49
3.2.4.1.	Potencial inhibidor	49
3.2.5.	Operacionalización de variables.....	50
3.2.6.	Criterios de inclusión.....	51
3.2.7.	Criterios de exclusión.....	52
3.3.	Procedimiento.....	52
3.3.1.	Obtención de los programas informáticos	52
3.3.2.	Obtención de la estructura tridimensional de la shikimato quinasa.....	52
3.3.3.	Obtención de los flavonoides desde la base de datos LIPID MAPS	53
3.3.4.	Determinación de parámetros ADMET de los flavonoides.....	53
3.3.5.	Validación del protocolo de acoplamiento molecular y determinación de la energía libre de unión del ligando co-cristalizado.....	54
3.3.6.	Preparación de la shikimato kinasa	55
3.3.7.	Preparación de los flavonoides	55
3.3.8.	Preparación de la caja de búsqueda	55
3.3.9.	Acoplamiento molecular	55
3.3.10.	Cálculo de las energías libres de unión.....	56

3.3.11. Evaluación de las interacciones moleculares.....	56
3.4. Flujograma de la investigación.....	57
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	58
3.6. Análisis estadístico de los datos	62
Capítulo IV	63
Análisis y discusión de resultados	63
4.1. Evaluación de los criterios de semejanza a fármacos de la colección de flavonoides de la base de datos LIPID MAPS.....	63
4.1.1. Frecuencias y porcentajes de los parámetros calculados por ADMETLab 2.0 de la colección completa de flavonoides	63
4.1.2. Descripción y prueba de normalidad de los parámetros numéricos calculados por ADMETLab 2.0 de la colección completa de flavonoides	66
4.1.3. Selección de los flavonoides con mejores criterios de semejanza a fármacos.....	68
4.1.4. Descripción y prueba de normalidad de los parámetros numéricos calculados por ADMETLab 2.0 de los flavonoides con mejores criterios de semejanza a fármacos	70
4.1.5. Descripción y clasificación de los flavonoides con mejores criterios de semejanza a fármacos	72
4.2. Acoplamiento molecular entre los flavonoides y la shikimato quinasa.....	78
4.2.1. Validación del protocolo de acoplamiento molecular	78
4.2.2. Acoplamiento molecular entre la shikimato quinasa y los flavonoides con mejores criterios de semejanza a fármacos	80
4.2.3. Descripción y prueba de normalidad de los valores de ΔG de los flavonoides con mejores criterios de semejanza a fármacos	82
4.3. Interacciones moleculares entre los flavonoides seleccionados y la shikimato quinasa.....	85
4.3.1. Interacciones específicas evaluadas mediante el módulo Ligand Interaction Diagram.....	85
4.3.2. Descripción y prueba de normalidad de la cantidad de interacciones relevantes y totales de los flavonoides con mejores criterios de semejanza a fármacos	92
4.4. Evaluación de medidas de tendencia central, e influencia de las variables dependientes sobre el potencial inhibitorio de los flavonoides seleccionados	94
4.4.1. Evaluación de diferencias en medidas de tendencia central de los grupos de flavonoides con alto y bajo potencial inhibitorio	94
4.4.2. Análisis de correlación entre las variables dependiente e independientes	98
Conclusiones.....	100
Sugerencias.....	101
Bibliografía.....	102

Anexos.....	109
Anexo 1: Registro fotográfico	109
Anexo 2: Instrucciones en RStudio para el filtrado de los flavonoides con los mejores criterios de semejanza a fármacos.	110
Anexo 3: Ilustraciones 2D y 3D de las interacciones entre los flavonoides seleccionados y la shikimato quinasa de MTB, ordenados en función de su energía libre de unión (ΔG).	111
Anexo 4: Autorización para uso de equipo de cómputo en el Laboratorio de Investigación de Biopolímero y Metalofármacos (LIBIPMET – UNI).	118
Anexo 5: Resultados de la evaluación del servidor ADMETlab 2.0 para la colección de flavonoides.	119

Siglas y abreviaturas

1D	Unidimensional
2D	Bidimensional
3D	Tridimensional
Å	Angstroms
ADMET	Absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad
AF	Aclaramiento de fármacos
AIH	Absorción intestinal humana
ATP	Adenosín trifosfato
CIM	Concentración inhibitoria mínima
DHIF	Daño hepático inducido por fármacos
LID	Ligand Interaction Diagram (Diagrama de interacción del ligando)
MDR	Multidrogo resistente
MTB	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
MM/GBSA	Molecular mechanics – Generalized Born Surface Area (Modelo de solvatación de superficie de Born generalizada con mecánica molecular)
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PDB	Protein Data Bank
PZA	Pirazinamida
PZAsa	Enzima pirazinamidasa
RMSD	Root-mean-square deviation (Desviación media cuadrática)
SMILES	Simple Molecular Input Line Input System (Sistema simplificado de entrada de línea de entrada molecular)
SNC	Sistema nervioso central
SQ	Shikimato quinasa
SQ-MTB	Shikimato quinasa de <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
TB	Tuberculosis
UPP	Unión a Proteínas Plasmáticas
XDR	Extremadamente resistente

Índice de gráficos

Gráfico 1: Gráficos de columnas 100% apilados para las frecuencias y porcentajes de los criterios de semejanza a fármacos.....	64
Gráfico 2: Histogramas y curvas de densidad para parámetros ADMET numéricos de la colección de flavonoides, con líneas de promedio (roja) y mediana (azul).	67
Gráfico 3: Histogramas y curvas de densidad para parámetros ADMET numéricos de los flavonoides seleccionados, con líneas de promedio (roja) y mediana (azul).....	71
Gráfico 4: Histogramas y curvas de densidad para los valores de ΔG de los flavonoides seleccionados, con líneas de promedio (roja) y mediana (azul).	83
Gráfico 5: Gráfico de barras agrupado de los tipos de interacciones intermoleculares frente a los aminoácidos de la SQ, y su relevancia.	90
Gráfico 6: Histogramas y curvas de densidad para los valores de conteo de interacciones relevantes y totales de los flavonoides seleccionados, con líneas de promedio (roja) y mediana (azul).	93
Gráfico 7: Resultados del coeficiente de correlación punto-biserial entre el potencial inhibitorio y las variables independientes	98

Índice de ilustraciones

Ilustración 1: Secciones más importantes de la SQ	13
Ilustración 2: Enzima SQ donde se aprecia de colores a los aminoácidos implicados en la unión y reacción entre el ATP y el shikimato.	15
Ilustración 3: Ruta biosintética del shikimato.....	16
Ilustración 4: Importancia del corismato como precursor biosintético	17
Ilustración 5: (a) Esqueleto molecular básico de los flavonoides, y (b) clases de flavonoides generados por diversas sustituciones.	19
Ilustración 6: Disociación de un complejo proteína-ligando y presencia de un diferencial de energía (energía libre de unión) en el proceso.....	24
Ilustración 7: Estructuras tridimensionales del shikimato nativo cristalizado y del shikimato reacomplado	78
Ilustración 8: Estructuras del (a) shikimato y (b) ácido gálico a pH 7.4.....	82

Índice de tablas

Tabla 1: Esquema de tratamiento contra la tuberculosis en pacientes infectados con TB sensible.	31
Tabla 2: Esquemas de tratamiento contra la TBC en pacientes con resistencia.....	32
Tabla 3: Principales efectos adversos de los medicamentos antituberculosos.....	32
Tabla 4: Variable independiente o predictora (Flavonoides).....	50
Tabla 5: Variable dependiente o criterio (Potencial inhibitorio)	50

Tabla 6: Programas informáticos usados	52
Tabla 7: Frecuencias y porcentajes de los parámetros ADMET de toda la colección de flavonoides	63
Tabla 8: Análisis descriptivo de los parámetros ADMET numéricos y prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov	66
Tabla 9: Flavonoides seleccionados conforme a los criterios de semejanza a fármacos establecidos.	68
Tabla 10: Análisis descriptivo de los parámetros ADMET numéricos y prueba de normalidad de Shapiro-Wilk.	70
Tabla 11: Características de los flavonoides seleccionados, reportados por PubChem	72
Tabla 12: Energías libre de unión (ΔG), calculado por el método MM/GBSA, tanto para los flavonoides seleccionados, como para el shikimato (control)	80
Tabla 13: Análisis descriptivo de los valores de ΔG de los flavonoides seleccionados	82
Tabla 14: Tipos de interacciones moleculares entre los flavonoides seleccionados y los aminoácidos involucrados de la SQ de MTB	85
Tabla 15: Análisis descriptivo de la cantidad de interacciones relevantes y totales de los flavonoides seleccionados	92
Tabla 16: Resumen de la normalidad de los parámetros ADMET numéricos, energía libre de unión y conteo de interacciones	94
Tabla 17: Análisis de diferencias en medidas de tendencia central de los grupos de flavonoides con alto y bajo potencial inhibitorio.....	95

Introducción

La tuberculosis, causada por *Mycobacterium tuberculosis*, sigue siendo una de las principales causas de mortalidad a nivel mundial, ocupando el segundo lugar entre las enfermedades más mortales, después del VIH/SIDA. Aunque la TB afecta principalmente a comunidades de bajos recursos, su impacto es global, con 8,2 millones de nuevos casos reportados en 2023, siendo la principal causa de muerte por enfermedades infecciosas. El tratamiento de la tuberculosis enfrenta desafíos significativos, especialmente debido a la duración prolongada del tratamiento, la complejidad de los esquemas terapéuticos y los efectos secundarios graves de algunos medicamentos, lo que afecta la adherencia y, en consecuencia, el éxito del tratamiento.

Una de las estrategias más prometedoras para el desarrollo de nuevos tratamientos se basa en identificar dianas terapéuticas específicas en *M. tuberculosis*. En este contexto, la vía metabólica del shikimato, que está ausente en los seres humanos, emerge como una excelente diana para intervenciones terapéuticas. Esta vía, que involucra enzimas esenciales como la shikimato quinasa, es crucial para la biosíntesis de varios compuestos, incluidos los aminoácidos aromáticos y otras moléculas esenciales para el microorganismo. La inhibición de esta vía puede desestabilizar las rutas metabólicas de *M. tuberculosis*, lo que podría llevar a la erradicación del patógeno.

Sin embargo, el desarrollo de fármacos es un proceso largo y costoso que comienza con la identificación de compuestos activos capaces de interactuar con dianas específicas. Las técnicas computacionales, como el acoplamiento molecular y la predicción de propiedades ADMET, han optimizado este proceso, permitiendo la selección de moléculas con un alto potencial terapéutico. En este sentido, los flavonoides, metabolitos secundarios de plantas, han mostrado un considerable potencial antituberculoso, respaldado tanto por estudios *in vitro* como por simulaciones *in silico*. Esta investigación se enfoca en explorar este potencial, utilizando herramientas computacionales para identificar compuestos con capacidad de interactuar eficazmente con la enzima shikimato quinasa de *M. tuberculosis*, como una estrategia para el desarrollo de nuevos fármacos antituberculosos.

Capítulo I

Generalidades

1.1. Planteamiento del problema

La shikimato quinasa (SQ) es una enzima esencial que desempeña un papel fundamental en la vía del shikimato, una ruta biosintética crucial para la producción de aminoácidos aromáticos y diversos metabolitos secundarios en plantas, hongos y ciertas bacterias. Esta vía está ausente en los animales, lo que convierte a la SQ en un objetivo importante para herbicidas y antibióticos. La SQ cataliza el quinto paso del proceso, que implica la conversión de shikimato en shikimato-3-fosfato utilizando adenosín trifosfato (ATP) como co-sustrato. La inactivación de esta función enzimática resulta en la supresión de la síntesis de corismato, desencadenando la desestabilización de las rutas metabólicas que dependen de esta molécula, conduciendo finalmente este efecto en cadena a la erradicación del organismo [1].

Una estrategia prometedora en la lucha contra la tuberculosis (TB) es el desarrollo de nuevas moléculas terapéuticas dirigidas a rutas metabólicas críticas del microorganismo, como la del shikimato, ampliamente estudiada por su relevancia en la biosíntesis de compuestos esenciales como aminoácidos aromáticos, folatos y ubiquinonas [1–3]. Esta ruta, compuesta por siete enzimas y ausente en humanos, representa un blanco terapéutico ideal [2].

A pesar de que introducir una nueva molécula como agente terapéutico es prometedor, el desarrollo de fármacos es un proceso complejo, largo y costoso. Este inicia con la identificación de dianas moleculares asociadas a una enfermedad, seguido de la búsqueda y optimización de compuestos activos. Estos se evalúan en ensayos *in vitro*, preclínicos en animales y clínicos en humanos. Solo los compuestos que superan todas las etapas son aprobados por agencias reguladoras, lo que asegura la seguridad y eficacia de los nuevos fármacos antes de su comercialización [4]. Sin embargo, la incorporación de métodos computacionales en la investigación farmacológica, conocidos como técnicas *in silico*, ha facilitado la selección de candidatos a fármacos y mejorado la comprensión de los mecanismos de acción de las moléculas de estudio, así como la optimización de sus propiedades. Metodologías como el acoplamiento molecular y la predicción de parámetros de absorción, distribución,

metabolismo, excreción y toxicidad (ADMET) mediante servidores especializados proporcionan información valiosa para el desarrollo eficiente de nuevos fármacos [5,6].

De esta manera, las técnicas computacionales permiten explorar el vasto repertorio de productos naturales en la búsqueda de moléculas con potencial terapéutico. Varios estudios han destacado el potencial antituberculoso de ciertos flavonoides, respaldado tanto por experimentos *in vitro* como por simulaciones *in silico* frente a diversas cepas de *M. tuberculosis* (MTB) [7]. Dada la disponibilidad de amplias bibliotecas de flavonoides en bases de datos reconocidas, se presenta la oportunidad de identificar moléculas con un perfil de interacción adecuado con el sitio activo de la enzima shikimato quinasa de *M. tuberculosis* (SQ-MTB) [8].

Esta capacidad de exploración resulta especialmente relevante en el contexto de la tuberculosis, causada por MTB, que se mantiene como una de las principales causas de mortalidad mundial, especialmente en comunidades vulnerables, y que además enfrenta crecientes problemas de resistencia a los tratamientos [9,10]. Así, en 2023, la OMS reportó 8,2 millones de casos, superando a la COVID-19 como la principal causa de muerte infecciosa [11]. En Perú, se proyectaron 52,000 casos en 2022, y en Cusco se registraron 4 casos de TB multidrogo resistente en 2021 [12]. A pesar de los tratamientos disponibles, su duración y los efectos secundarios graves afectan la adherencia y la calidad de vida de los pacientes, lo que ha llevado a la OMS a exhortar la innovación en herramientas y estrategias terapéuticas [11,13].

Bajo este paradigma, nuestro estudio evaluó inicialmente los parámetros ADMET y criterios de semejanza a fármacos de 6576 flavonoides disponibles en la base de datos LIPID MAPS. Posteriormente, seleccionamos 29 flavonoides que cumplían con los criterios óptimos de ADMET y los sometimos a un acoplamiento molecular para determinar la energía libre de unión utilizando el método MM/GBSA, así como para identificar los tipos de interacciones moleculares que establecen con los aminoácidos más relevantes en el sitio activo de la enzima SQ-MTB.

1.2. Formulación del problema

¿Cuál será el potencial inhibitorio de flavonoides, que fueron seleccionados mediante parámetros ADMET, energía libre de unión e interacciones moleculares, sobre la enzima shikimato quinasa de *Mycobacterium tuberculosis*?

1.3. Objetivos

1.3.1. *Objetivo general*

Evaluar a través de técnicas computacionales, el potencial inhibitorio de una colección de flavonoides frente a la enzima shikimato quinasa de *Mycobacterium tuberculosis*.

1.3.2. *Objetivos específicos*

- Describir y seleccionar flavonoides utilizando criterios de semejanza a fármacos, aplicando parámetros ADMET calculados a través del servidor ADMETlab 2.0.
- Realizar el acoplamiento molecular entre los flavonoides seleccionados, basados en criterios de semejanza a fármacos, y la shikimato quinasa de *Mycobacterium tuberculosis*, con el programa Glide de la suite Schrödinger.
- Identificar y cuantificar las interacciones moleculares resultantes del acoplamiento molecular entre la shikimato quinasa de *Mycobacterium tuberculosis* y los flavonoides, y determinar las energías libres de unión, calculadas mediante la aproximación MM/GBSA.
- Evaluar las diferencias en las medidas de tendencia central de los parámetros ADMET, y la influencia de las variables independientes sobre el potencial inhibitorio de los flavonoides frente a la shikimato quinasa de *Mycobacterium tuberculosis*.

1.4. Limitación de la investigación

La limitación de recursos computacionales en nuestra universidad restringe la investigación y la posibilidad de enriquecer el estudio mediante simulaciones de dinámica molecular. La incorporación de recursos adecuados permitiría realizar simulaciones que ofrecerían información valiosa sobre el comportamiento dinámico de los flavonoides con potencial inhibitorio, especialmente bajo condiciones fisiológicas simuladas.

1.5. Justificación

1.5.1. En la aplicabilidad

Los resultados de esta investigación permitirían identificar ciertos flavonoides como posibles inhibidores de la shikimato quinasa de *Mycobacterium tuberculosis* (SQ-MTB). A pesar de la existencia de investigaciones previas in vitro que evaluaron la capacidad inhibitoria de algunos flavonoides contra determinadas cepas de MTB [7], este proyecto se basará en el empleo de técnicas computacionales sólidamente respaldadas, tales como el modelado molecular y la predicción de parámetros ADMET mediante servidores especializados. El enfoque centrado en la búsqueda de compuestos naturales con capacidad inhibitoria sobre enzimas vitales en las rutas metabólicas del agente infeccioso pretende contribuir al desarrollo de posibles alternativas terapéuticas [14].

1.5.2. En la prioridad

La TB se manifiesta como una enfermedad infecciosa con un impacto significativo en millones de personas a nivel mundial, siendo una de las principales causas de mortalidad. A pesar de ser prevenible y tratable, la Organización Mundial de la Salud (OMS) la ha declarado una amenaza global para la salud, manteniéndose como un desafío persistente para la comunidad científica. La necesidad de investigar de manera continua en esta área es crucial para mejorar tanto la prevención como el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad [15].

Entre los desafíos más significativos en la lucha contra esta enfermedad se encuentra la resistencia a los medicamentos. Con el tiempo, algunas cepas de MTB desarrollan resistencia

a los fármacos utilizados en su tratamiento, complicando su control y manejo eficaz [10]. En consecuencia, el objetivo central de la presente investigación es ofrecer nuevas opciones potenciales para abordar este desafío y contribuir a la búsqueda de soluciones innovadoras frente a esta enfermedad.

1.5.3. En el conocimiento

Este estudio aportó al conocimiento sobre el potencial de los flavonoides como inhibidores de la enzima shikimato quinasa (SQ) de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), una proteína esencial en la ruta metabólica del shikimato, crucial para la supervivencia de la bacteria. Aunque algunos productos naturales tienen propiedades antimicrobianas, hay poca evidencia sobre la interacción específica de los flavonoides con la SQ de MTB. En esta investigación se emplearon técnicas computacionales, como el análisis ADMET, acoplamiento molecular y evaluación de interacciones moleculares, para evaluar cómo estos compuestos pueden inhibir la actividad de la enzima, proporcionando datos clave para el desarrollo de nuevos inhibidores selectivos.

El estudio también resaltó la importancia de la ruta del shikimato como objetivo terapéutico, especialmente en el contexto del aumento de cepas de tuberculosis resistentes a los fármacos. Al comprender mejor cómo los flavonoides pueden interferir en esta vía, se avanza en la optimización de estos compuestos como candidatos para combatir dichas cepas. Esta investigación no solo amplía el conocimiento teórico, sino que abre nuevas vías para el desarrollo de tratamientos más eficaces contra la tuberculosis.

1.6. Hipótesis

Los flavonoides seleccionados de una colección, evaluados mediante técnicas in silico, demostrarán potencial inhibitorio frente a la enzima shikimato quinasa de *Mycobacterium tuberculosis*.

Capítulo II

Marco teórico

2.1. Antecedentes del estudio

2.1.1. Internacionales

Identificación de potenciales inhibidores de la shikimate quinasa de *Mycobacterium tuberculosis*: acoplamiento molecular, toxicidad in silico y experimentos in vitro

Freitas de Freitas *et al.* 2023 [16]

Título original: *Identification of potential inhibitors of Mycobacterium tuberculosis shikimate kinase: molecular docking, in silico toxicity and in vitro experiments*

Objetivo: Encontrar sustancias que puedan actuar como inhibidores de la enzima SQ presente en MTB, a través de una combinación de métodos in silico e in vitro.

Método: Se realizó un análisis de toxicidad in silico de 1,212 moléculas en la plataforma pkCSM para evaluar el riesgo de hepatotoxicidad de todos los compuestos en la base de datos del Centro de Pesquisas em Biología Molecular y Funcional (CPBMF) de la Pontificia Universidad Católica de Rio Grande del Sur, Brasil. Este análisis resultó en 298 moléculas que superaron los filtros de toxicidad y fueron seleccionadas para ensayos de acoplamiento molecular. La validación del protocolo consideró un límite de 2 Å como diferencia máxima entre los valores de RMSD del ligando nativo y el reacoplado. A continuación, se descargó la estructura cristalográfica de la enzima SQ (PDB ID 2IYQ) desde el Protein Data Bank, y se realizó el acoplamiento molecular con AutoDock Vina 1.1.2, analizando los resultados con PyMOL y Discovery Studio Visualizer. Finalmente, se llevaron a cabo experimentos in vitro para evaluar la capacidad de inhibición de los ligandos seleccionados mediante técnicas de inhibición enzimática, determinando la concentración mínima necesaria para inhibir el crecimiento in vitro de la cepa pan-sensible MTB H37Rv.

Resultados: La validación del protocolo de acoplamiento molecular mostró un valor de RMSD de 0.66 Å, confirmando la confiabilidad de los parámetros utilizados. Se seleccionaron los 30 ligandos con mejores energías de afinidad (-8.5 a -9.2 kcal/mol) para ensayos in vitro, en los que se evaluó su solubilidad máxima. Trece compuestos fueron descartados por baja solubilidad, quedando diecisiete para evaluar su capacidad de inhibición de la enzima SQ. De estos, cinco compuestos (1a, 1b, 3a, 3d y 5c) inhibieron tanto la enzima como el crecimiento in vitro de *M. tuberculosis*, mientras que un compuesto adicional (7b) mostró actividad contra el crecimiento in vitro sin inhibir la enzima. Los análisis de toxicidad in silico indicaron un bajo riesgo de hepatotoxicidad para todos los compuestos seleccionados.

Conclusión: Este estudio utilizó una biblioteca química con diversas clases de compuestos para evaluar su perfil de unión e inhibición contra la SQ-MTB. Los resultados indicaron que los compuestos de quinazolina-4(3H)-ona presentan una estructura prometedora para la optimización de inhibidores de esta enzima, aunque con un potencial limitado para el desarrollo de fármacos antituberculosos.

Enfoque in silico para la identificación de posibles inhibidores de *Curcuma amada* Roxb contra *H. pylori*: estudios de cribado ADMET y acoplamiento molecular

Divyashri *et al.* 2021 [17]

Título original: *In silico approach towards the identification of potential inhibitors from Curcuma amada Roxb against H. pylori: ADMET screening and molecular docking studies*

Objetivo: Identificar potenciales inhibidores de enzimas de *Helicobacter pylori*, entre ellas la shikimato quinasa, a partir de compuestos derivados de la planta *Curcuma amada* Roxb. mediante un enfoque in silico

Métodos: Consistió en la identificación y evaluación de 130 compuestos bioactivos derivados de la *Curcuma amada* como posibles inhibidores de enzimas de *Helicobacter pylori*. Inicialmente, desde el Protein Data Bank se obtuvieron las estructuras cristalinas de 5 enzimas: shikimato quinasa, dehidroquinasa tipo II, aldolasa fructosa-1,6-bisfosfato, glutamato racemasa y la deshidratasa de proteínas portadoras de acilo-hidroxiacilo, y se prepararon para el acoplamiento molecular. Los compuestos bioactivos fueron sometidos a un proceso de

acoplamiento molecular utilizando el módulo Glide del programa Schrödinger. Los compuestos con buena afinidad de unión fueron seleccionados para cálculos de energía libre de unión utilizando el enfoque Prime MM/GBSA. Finalmente, los mejores compuestos identificados fueron evaluados por sus propiedades ADMET mediante la herramienta QikProp para predecir su absorción, distribución, metabolismo, excreción y toxicidad.

Resultados: Entre los mejores inhibidores de la shikimato quinasa, evaluados de acuerdo con su valor de energía libre de unión calculados por el método MM/GBSA, se encontró que el ácido gálico presentaba un valor de -35.82 kcal/mol. Este ligando presenta una similitud estructural con la molécula de shikimato.

Conclusión: Los compuestos evaluados en la investigación podrían considerarse seguros y efectivos para tratar infecciones asociadas con *H. pylori*, sugiriendo que se debe realizar una evaluación experimental para validar los resultados computacionales.

Inhibidores de la shikimato quinasa de *Mycobacterium tuberculosis*: diseño y estudios de simulación del rendimiento catalítico

Blanco *et al.* 2013 [18]

Título original: *Mycobacterium tuberculosis Shikimate Kinase Inhibitors: Design and Simulation Studies of the Catalytic Turnover*

Objetivo: Diseño y síntesis de potenciales inhibidores derivados del shikimato, que compitan por el sitio activo de la enzima shikimato quinasa de *M. tuberculosis*

Métodos: En primer lugar, se realizaron estudios estructurales y computacionales para explorar las interacciones entre los sustratos y los productos a lo largo del ciclo catalítico. Estos estudios incluyeron el análisis de movimientos específicos de la enzima y el papel de residuos conservados, en particular las argininas, que son esenciales para la liberación del producto. Un paso clave fue la obtención de la estructura cristalina de SQ-MTB en complejo con ADP y un inhibidor potente, lo que brindó información valiosa sobre la dinámica de unión y estrategias para el diseño de inhibidores. Además, se llevaron a cabo simulaciones de dinámica molecular para optimizar las geometrías de los ligandos y calcular cargas derivadas del potencial

electrostático, utilizando el programa Gaussian 09 y el conjunto de programas AMBER para refinar las condiciones de simulación.

Resultados: Los estudios de dinámica molecular mostraron que los aminoácidos Asp34, Lys15, Arg117, Arg136, Arg58, Glu61, Gly80, Gly81, Asp32, Phe49, Ser16, entre otros, tienen una participación crucial dentro de la reacción de catálisis de la enzima shikimato quinasa de MTB.

Conclusión: El estudio contribuye a la comprensión de los procesos enzimáticos de la vía del shikimato y proporciona una base racional para el desarrollo de nuevos inhibidores competitivos. A través de un entendimiento detallado de la cinética de unión y la liberación del producto, se ofrecen guías para la generación de una nueva generación de inhibidores de alta afinidad

Identificación de nuevos posibles inhibidores de la shikimato quinasa de *Mycobacterium tuberculosis* mediante simulaciones de acoplamiento molecular

Vianna y de Azevedo. 2012 [19]

Título original: *Identification of new potential Mycobacterium tuberculosis shikimate kinase inhibitors through molecular docking simulations*

Objetivo: Evaluar el potencial inhibitorio de 4580 moléculas presentes en la base de datos Acros frente a la enzima shikimato quinasa de *M. tuberculosis*

Métodos: Se seleccionaron 4579 moléculas de la base de datos Acros, a las que se añadió la estaurosporina, sumando un total de 4580 compuestos. La estructura de la shikimato quinasa fue obtenida del Protein Data Bank. El protocolo de acoplamiento molecular se validó con el programa MOLDOCK, obteniendo valores de RMSD menores a 2 Å entre las posiciones nativa y reacomodada. Tras el acoplamiento, se seleccionaron 20 estructuras con las mejores energías de afinidad, a las cuales se les evaluaron sus propiedades de semejanza a fármacos mediante la regla de 5 de Lipinski.

Resultados: De las 20 moléculas, 9 cumplieron con los requisitos de la regla de 5 de Lipinski. En todos los casos, estas moléculas interactuaron con los siguientes aminoácidos de la

shikimato quinasa: Gly80, Arg136, Arg58, Ile45, Asp34, Pro11, Pro118, Gly79, Phe57, Leu119, Gly81, Lys15, Ser16 y Arg117.

Conclusión: Este estudio validó un protocolo de acoplamiento molecular eficaz para identificar inhibidores potenciales de la shikimato quinasa de *M. tuberculosis*, identificándose nuevas moléculas candidatas para el tratamiento de la tuberculosis, además de determinar residuos clave en la cavidad de unión de la enzima.

2.1.2. Nacionales

Modelamiento bioinformático del acoplamiento entre la enzima pirazinamidasas y complejos metálicos de pirazinamida, en el contexto de la tuberculosis resistente a pirazinamida

Mescco Pumayalli, JP. 2022 [20]

Objetivo: El estudio tuvo como objetivo principal acoplar los complejos metálicos de pirazinamida (PZA) con las enzimas pirazinamidasas (PZA_s) mutantes, junto con la cepa susceptible H37_{rv}. Además, se buscó evaluar las interacciones a lo largo del tiempo entre los complejos metálicos y las PZA_s. Mediante este enfoque, se pretendía obtener información relevante sobre las interacciones moleculares y la actividad de los complejos metálicos con las enzimas.

Métodos: Con el fin de evaluar posibles candidatos para el tratamiento de la TB, se llevaron a cabo análisis de acoplamiento molecular para determinar y evaluar la interacción de complejos metálicos de PZA con la enzima PZA_s en cepas susceptibles y resistentes a PZA (D49N, H51R, H57R, H71Y y V139A). Además, se realizó dinámica molecular para estudiar la estabilidad estructural a lo largo del tiempo. Nuestros resultados indican que los complejos monodentados presentaron una mayor capacidad de acoplamiento con las apo-enzimas. Además, se observó una notable estabilidad durante los períodos de ejecución en la dinámica molecular, a excepción de la cepa D49N.

Resultados: La estructura optimizada de la PZA resulta plana con los átomos de hidrógeno del grupo amida interactuando con el N1 del anillo pirazina a través de un puente de hidrógeno. Los complejos muestran una carga positiva predominante, siendo el metal el que porta la mayor

carga parcial positiva. Los complejos E1WT y E1PL presentan una geometría octaédrica distorsionada, mientras que los complejos E2WT y E2PL tienen una geometría plana. Las distancias Fe-N1 varían entre 2.18 Å y 2.20 Å en los complejos E1WT y E1PL, mientras que las distancias Fe-O9 varían entre 2.02 Å y 2.06 Å en los complejos E2WT y E2PL.

Conclusión: Se encontró que el compuesto E1PL es el principal compuesto con la posibilidad de acoplarse a las apo-PZAsa con el Fe orientado al MBS y la amida al CS. Sin embargo, debido a su labilidad, el enlace metal-PZA puede romperse durante su trayectoria hacia las apo-PZAsa. Por otro lado, se encontró que E2PL es más estable que E1PL.

Predicción de la actividad enzimática de pirazinamidasa wild type y mutada de *Mycobacterium tuberculosis* guiada por modelamiento biomolecular

Olivos Ramirez, GE. 2021 [21]

Objetivo: Analizar la actividad enzimática de la enzima PZAsa en su forma salvaje (wild type) y en variantes mutadas de *Mycobacterium tuberculosis*, utilizando un enfoque de modelado molecular.

Métodos: La investigación utilizó métodos de análisis in silico para estudiar la proteína PZAsa. Se generaron 36 mutaciones en la enzima utilizando un script en Python y el programa Modeller 9.21, y se refinaron mediante un algoritmo de gradiente conjugada. Se eliminaron las moléculas de agua co-cristalizadas con la enzima utilizando el programa Autodock Tools v. 1.5.7, y se utilizaron valores de estabilidad estimados con la fluctuación media de las dinámicas moleculares para elaborar un modelo que utilizó una transformación lineal logarítmica para los parámetros cinéticos. Los nuevos valores fueron ingresados al modelo haciendo uso de un script en R, y se estimaron los intervalos de confianza al 95% para los coeficientes de regresión y el intercepto.

Resultados: Los resultados del estudio indican que hay 35 mutaciones puntuales en la enzima PZAsa asociadas con la resistencia a PZA. Se midieron varios parámetros cinéticos, como la constante catalítica, K_m , eficiencia y actividad enzimáticas, para cada una de estas mutaciones. Los valores de estos parámetros se expresan como porcentajes en comparación con el wild type. Además, se realizó un análisis de dinámica molecular para determinar la influencia de

cada mutación puntual sobre la dinámica de la PZA. En general, los resultados son prometedores para futuras investigaciones sobre la resistencia a PZA.

Conclusión: Se concluye que las mutaciones puntuales tienen un efecto significativo en la conformación de la estructura de la enzima PZAsa y que se pueden identificar modos de acoplamiento únicos. Además, se han obtenido modelos de predicción precisos utilizando datos experimentales transformados logarítmicamente.

2.1.3. Locales

En trabajos locales, no se encontraron investigaciones vinculadas a la aplicación de técnicas computacionales para la búsqueda de inhibidores de la SQ-MTB.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Shikimato quinasa

Es la quinta enzima en la vía del shikimato y desencadena la conversión de shikimato en shikimato-3-fosfato mediante el uso de ATP como co-sustrato [1]. Esta enzima desempeña un papel esencial en esta ruta metabólica altamente conservada, presente en organismos que van desde plantas hasta parásitos apicomplejos. Las enzimas que conforman esta vía exhiben un notable grado de homología en sus estructuras primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria, incluso entre organismos filogenéticamente distantes [22].

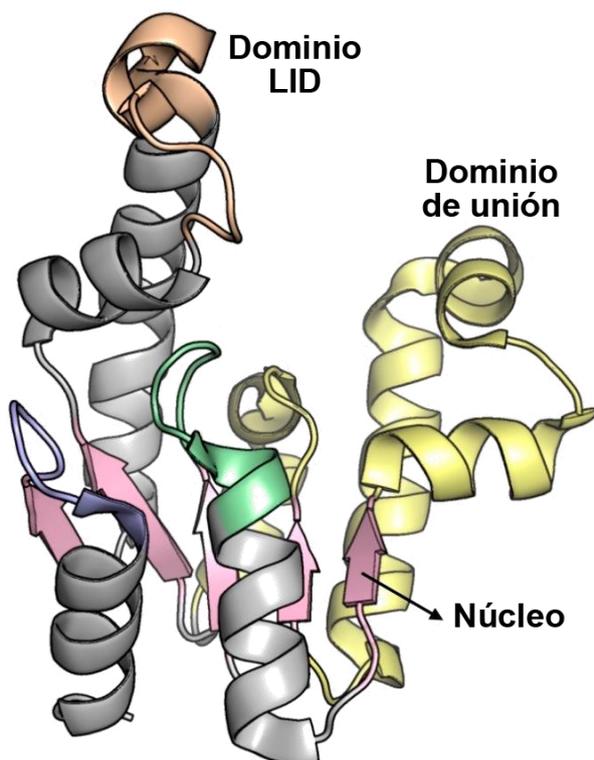
La estabilidad estructural de la SQ ha sido confirmada mediante ensayos de dinámica molecular. Estos estudios muestran que, aunque los bucles y asas presentan cierta flexibilidad, los dominios principales mantienen una elevada integridad estructural [23,24]. Esto descarta cualquier comportamiento asociado a proteínas intrínsecamente desordenadas, comúnmente caracterizadas por su falta de estructura tridimensional estable [25].

Respecto a los cambios estructurales requeridos para la actividad enzimática, la transición de una conformación abierta a cerrada está principalmente determinada por el cambio

conformacional del dominio Lid (tapa), que se produce debido a un bucle flexible (también llamado espiral) en la enzima, compuesto por los 8 aminoácidos: Thr111-Gly112-Gly113-Asn114-Thr115-Val116-Arg117-Pro118. Este bucle flexible permite que el dominio Lid cubra el sustrato en el sitio activo de la enzima, lo que facilita el inicio del proceso de transferencia de un grupo fosforilo del ATP hacia el shikimato [26,27].

La enzima SQ está organizada en tres dominios principales, que se ilustran en la Ilustración 1. Estos incluyen: (1) el dominio Lid, que exhibe un movimiento de apertura y cierre característico de otras quinasas; (2) un dominio de unión, donde ocurre la interacción con el sustrato; y (3) un núcleo rígido formado por motivos estructurales α - β - α . Este diseño estructural es fundamental para la funcionalidad de la enzima y refleja su adaptación evolutiva en diferentes organismos [1].

Ilustración 1: Secciones más importantes de la SQ

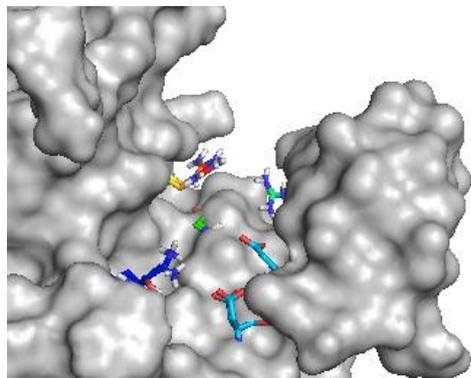


Fuente: Adaptado de Nunes *et al.*, 2020 [1]

Asimismo, en el sitio activo de la SQ se encuentran varios residuos importantes (Ilustración 2), entre ellos:

- Arginina 58 (Arg58), arginina 117 (Arg117) y arginina 136 (Arg136): Encargados de, una vez realizada la reacción, liberar a la shikimato-3-fosfato
- Ácido aspártico 34 (Asp34) y arginina 136 (Arg136): Cuyas cadenas laterales fijan al shikimato hacia el sitio activo de la enzima.
- Lisina 15 (Lys15) y arginina 117 (Arg117): Cuyas cadenas laterales estabilizan mediante interacciones electrostáticas ayudan a estabilizar al shikimato.
- Serina 16 (Ser16) y ácido aspártico 32 (Asp32): De los cuales se sugiere que contribuyen a la aproximación entre el shikimato y el ATP durante la reacción de transferencia de fosforilo.
- Ácido aspártico 34 (Asp34) y glicina 80 (Gly80): Quienes fuerzan a los grupos hidroxilo del shikimato a adoptar una conformación espacial necesaria para desarrollar la reacción de transferencia de fosforilo.
- Serina 13 (Ser13) y arginina 153 (Arg153): En el caso de Arg153, forma enlaces de hidrógeno directos con la adenina del ATP, mientras que Ser13 está en contacto con la adenina a través de un puente de agua, lo que contribuye a la estabilidad y especificidad de la unión entre la SQ y el ATP.
- Prolina 11 (Pro11), fenilalanina 49 (Phe49), fenilalanina 57 (Phe57), glicina 79 (Gly79), glicina 80 (Gly80), glicina 81 (Gly81), prolina 118 (Pro118) y leucina 119 (Leu119): Forman una región hidrofóbica del sitio activo de la enzima, facilitando así la unión de los sustratos a la SQ.
- Ácido glutámico 61 (Glu61), arginina 58 (Arg58) y glicina 81 (Gly81): Mediante puentes de hidrógeno y usando una molécula de agua como intermediario, estos aminoácidos estabilizan la molécula de shikimato sujetando el grupo hidroxilo del carbono 4 [1,18,19,28].

Ilustración 2: Enzima SQ donde se aprecia de colores a los aminoácidos implicados en la unión y reacción entre el ATP y el shikimato.



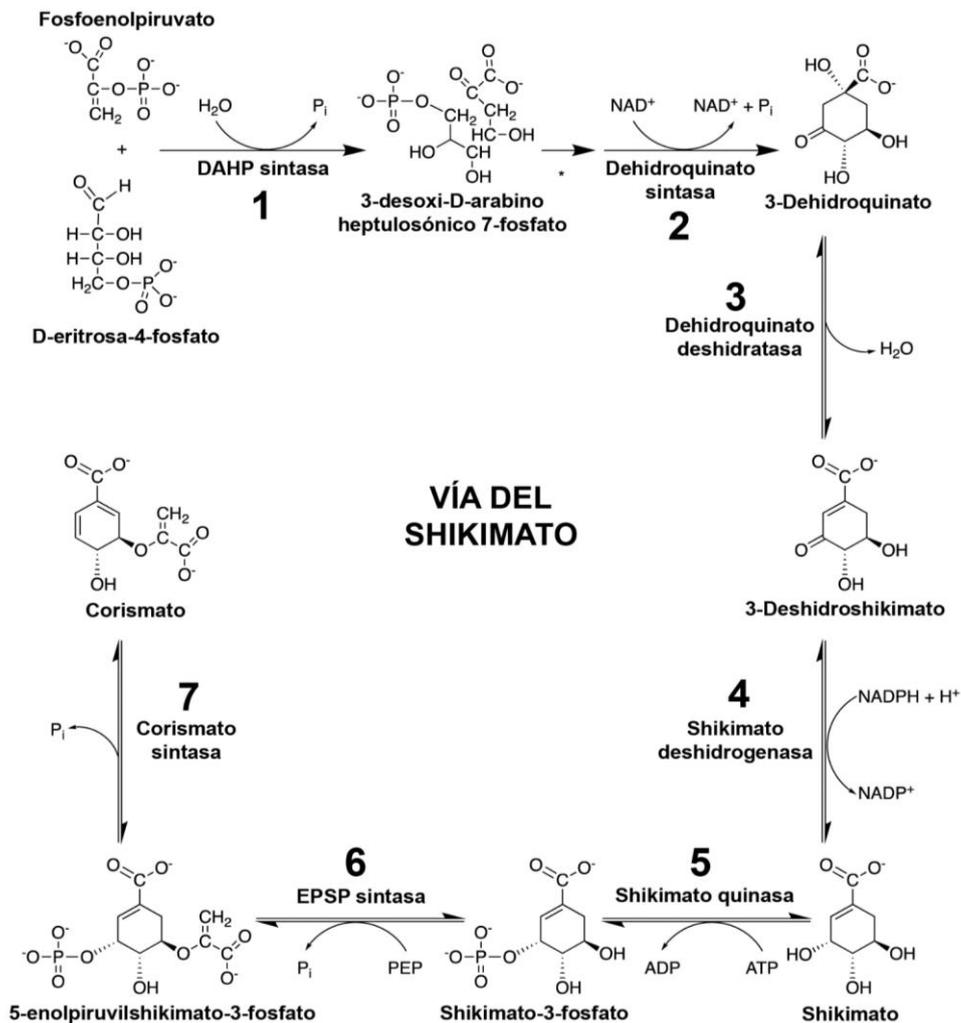
Fuente: Programa informático Maestro.

Estos hallazgos destacan la importancia de la estructura y función de los dominios de la SQ en su actividad catalítica, brindando información valiosa para comprender los mecanismos moleculares involucrados en este proceso. Por ende, la enzima SQ-MTB se presenta como un objetivo interesante para el desarrollo de inhibidores. En este sentido, diferentes investigaciones han dedicado sus esfuerzos a encontrar una molécula potente capaz de inhibir esta enzima, lo cual podría tener un impacto significativo en el tratamiento de la tuberculosis [1], ya que hasta la fecha, en la base de datos DrugBank no se registra ningún medicamento aprobado que actúe directamente sobre esta enzima [29].

2.2.1.1. Relevancia en la vía del shikimato de *Mycobacterium tuberculosis*

En MTB, se llevan a cabo reacciones químicas en la biosíntesis de anillos aromáticos a partir de precursores de carbohidratos. Estas reacciones se agrupan en la vía del shikimato, que consta de siete etapas enzimáticas (Ilustración 3). Durante este proceso, el fosfoenolpiruvato y la D-eritrosa 4-fosfato se combinan para formar un compuesto intermedio llamado corismato, que es el producto final de la vía. A su vez, el corismato da lugar a varias vías terminales adicionales que juegan un papel crucial en la síntesis de anillos aromáticos.

Ilustración 3: Ruta biosintética del shikimato



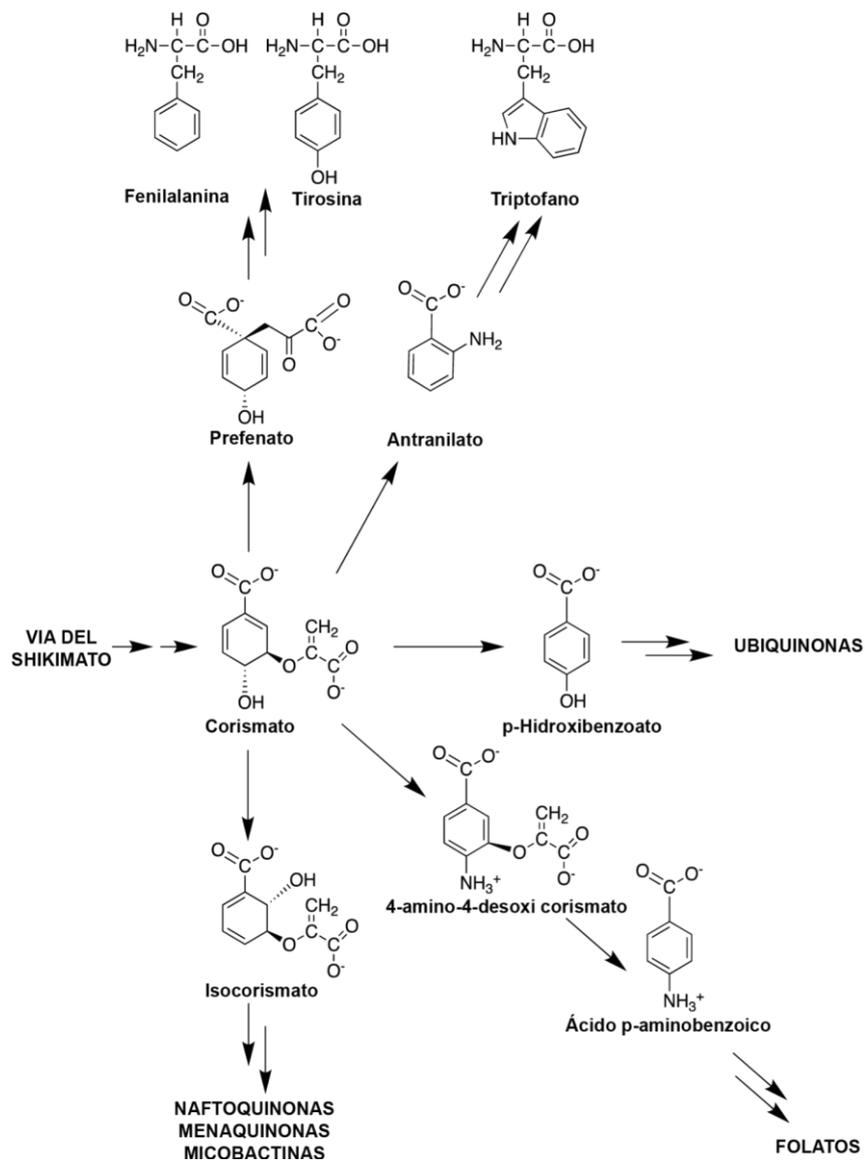
Leyenda: DAHP (por sus siglas en inglés): 3-desoxi-D-arabino-heptulosónico 7-fosfato

Fuente: Adaptado de Nunes *et al.* 2020 [1]

La vía del shikimato ha despertado un gran interés en la búsqueda de potenciales inhibidores, debido a su importancia vital en MTB, mientras que esta vía metabólica se encuentra ausente en mamíferos. En el caso de las micobacterias, la vía del shikimato da lugar a la biosíntesis del ácido corísmico (más comúnmente conocido como su forma aniónica corismato), que posteriormente se transforma mediante enzimas específicas en prefenato (un precursor de fenilalanina y tirosina), antranilato (un precursor de triptófano), aminodeoxicorismato (un precursor del ácido para-aminobenzoico, conocido como PABA, el cual a su vez es crucial en la síntesis de tetrahidrofolato),

ácido para-hidroxibenzoico (un precursor de ubiquinona o coenzima Q) e isocorismato (un precursor común de naftoquinonas, menaquinonas y micobactinas) (Ilustración 4). Estas rutas metabólicas desempeñan un papel fundamental en la síntesis de importantes compuestos bioquímicos, y su comprensión puede proporcionar una base sólida para el desarrollo de estrategias terapéuticas y agroquímicas [2].

Ilustración 4: Importancia del corismato como precursor biosintético



Fuente: Adaptado de Nunes *et al.*, 2020 [1]

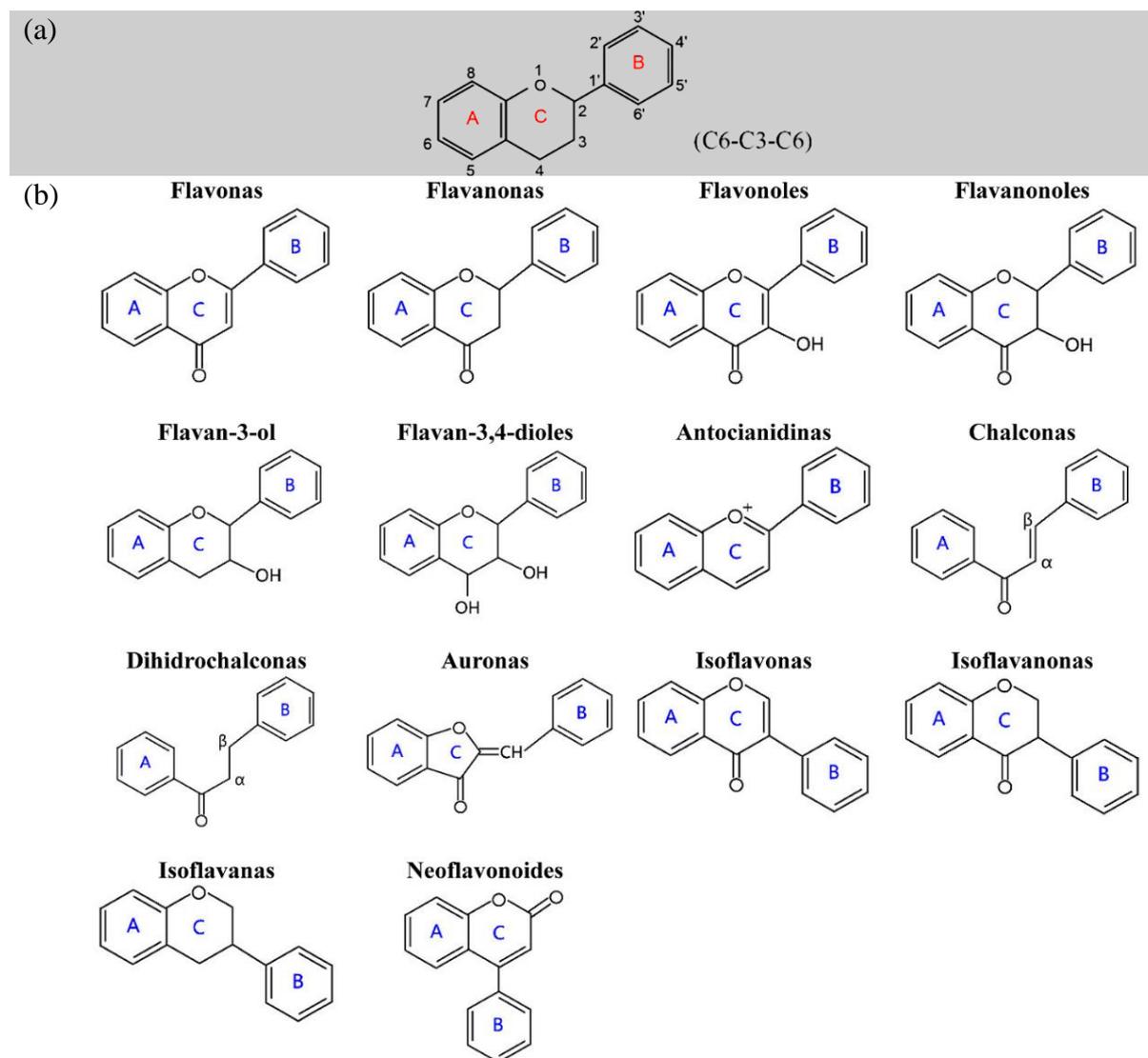
2.2.2. *Flavonoides*

Los compuestos fenólicos son una clase importante de metabolitos secundarios en las plantas debido a su diversidad y actividad biológica. Estos compuestos, que contienen al menos un grupo fenol en su estructura, se sintetizan en las vías metabólicas de pentosa fosfato, shikimato y fenilpropanoides de las plantas. Los compuestos fenólicos se dividen en cinco clases principales: flavonoides, ácidos fenólicos, taninos, estilbenos y lignanos, según el número de anillos fenólicos y los elementos estructurales que los unen. Entre estos compuestos, los flavonoides son uno de los grupos más amplios de metabolitos secundarios presentes en casi todas las partes de las plantas, habiéndose identificado alrededor de 8000 compuestos flavonoides [30].

La estructura química fundamental de los flavonoides se basa en un esqueleto de carbono C₆-C₃-C₆ (Ilustración 5.a). Las unidades C₆ están constituidos por anillos aromáticos que se conectan mediante tres átomos de carbono, los cuales pueden formar o no un tercer anillo tipo pirano (anillo A) o pirona (anillo C). La diversidad entre las distintas clases de flavonoides radica en la saturación y los grupos sustituyentes presentes en el anillo C (Ilustración 5.b). Dentro de cada grupo, los compuestos individuales se distinguen por las variaciones en la sustitución de los anillos A y B [31]. Aunque se tienen algunas excepciones, como las chalconas e hidrochalconas que mantienen una estructura "abierta" al carecer del anillo C, y las auronas que presentan un grupo benzofuranona unido a su grupo fenil B, así como los neoflavonoides que tienen el anillo B conectado a la posición 4 del anillo C [32].

Esta variabilidad estructural les confiere diversas funciones y roles en el metabolismo de las plantas. Además de su contribución al color, fragancia y sabor de las plantas, los flavonoides desempeñan un papel fundamental en la protección contra insectos y herbívoros al alterar la palatabilidad de las plantas, reducir su valor nutritivo, disminuir su digestibilidad e incluso actuar como toxinas. Asimismo, numerosos estudios han demostrado una amplia gama de actividades biológicas y efectos beneficiosos para la salud asociados con los flavonoides, explorados tanto en la nutrición humana como en otras aplicaciones, como ingredientes alimenticios, nutracéuticos, formulaciones farmacéuticas y cosméticas, con resultados prometedores [30].

Ilustración 5: (a) Esqueleto molecular básico de los flavonoides, y (b) clases de flavonoides generados por diversas sustituciones.



Fuente: Adaptado de Lou *et al.*, 2021 [32]

2.2.2.1. Propiedades antimicrobacteriales

Según investigaciones previas, los flavonoides y otros compuestos fenólicos pueden alterar mecanismos específicos de MTB que son esenciales para su supervivencia. Por ejemplo, algunos inhiben la síntesis de ácidos micólicos, fundamentales para la formación de una pared celular bacteriana altamente impermeable, lo que dificulta la acción de los antibióticos. Además, se ha informado que otros flavonoides interfieren con la síntesis de ácidos nucleicos, el metabolismo energético y revierten la resistencia

a los antibióticos, mejorando así la eficacia de los tratamientos disponibles [33]. Dado que estos compuestos abordan tanto la limitación de los medicamentos antituberculosos como sus efectos secundarios, numerosos investigadores han centrado su interés en identificar flavonoides y sus derivados con propiedades antimicobacterianas [7]. A continuación, se muestran las clases de flavonoides, su origen y estudios de actividad antimicobacteriana.

- **Flavonas y flavonoles**

- *Artocarpus altilis*: Flavonas como artocarpina y chaplashina mostraron una actividad antituberculosa destacada, con una concentración mínima inhibitoria (CIM) de 3.12 µg/mL, superando al fármaco estándar kanamicina.
- *Larrea tridentata*: Flavonas aisladas de sus hojas demostraron eficacia contra cepas resistentes a múltiples fármacos de TB.
- *Haplopappus sonorensis*: Tres flavonas presentaron actividad antimicobacteriana contra la cepa MTB H37Rv con CIM de 100 µg/mL.
- *Derris indica*: Varios compuestos aislados de sus raíces y tallos exhibieron potencial contra MTB cepa H37Rv.
- Otros ejemplos incluyen quercetina y rutina, con CIM de 6.25 µg/mL y 25 µg/mL, respectivamente, y compuestos como 7-demetilartonol E y artonina F [7].

- **Flavanonas e isoflavonas**

- *Cryptocarya chinensis*: Se aislaron flavanonas como criptoflavanonas A–D y pinocembrina. Pinocembrina mostró alta eficacia contra MTB cepa H37Rv (CIM: 3.5 µg/mL) y MTB cepa H37Ra (CIM: 12.5 µg/mL).
- *Pisonia aculeata*: Pisonivanona, aislada del tallo y raíz, presentó actividad antimicobacteriana contra MTB cepa H37Rv con un CIM de 12.5 µg/mL.
- *Derris indica*: Isoflavonas como 8,4-dimetoxi-7-O- γ,γ -dimetilalil-isoflavona y maackiaina mostraron actividad contra cepas de MTB.
- *Ficus cordata*: Se identificaron genisteína y laburuteína con valores CIM de 19.53 y 4.88 µg/mL, respectivamente.

- **Chalconas y flavonoides sintéticos**

- Derivados de chalconas: Pola y sus colaboradores sintetizaron una nueva serie de moléculas híbridas de naftil-chalcona y sus derivados de pirazolina mediante sustitución de acetofenonas, naftaldehído e hidrato de hidrazina. Un derivado de pirazolina con 2-hidroxi-5-bromofenilo en la posición 3 mostró actividad antimicobacteriana destacada (CIM: 6.25 μ M), comparado con el fármaco estándar isoniazida [34].

En tanto que Ammaji y su equipo, estudiaron análogos de chalconas, incluyendo chalconas sustituidas con grupos hidroxilo y cloro, con propiedades antituberculosas [35].

- **Flavonoides sintéticos**

- Los flavonoides sintéticos se diseñan en función del patrón de sustitución de los flavonoides. La sustitución incluye principalmente grupos hidroxilo, halógenos o anillos heteroatómicos [36].
- Los flavonoides sintéticos pueden modular diversas actividades celulares, como la resistencia, la inhibición de la bomba de eflujo, entre otros. Por ejemplo, Villaume y su equipo, utilizaron flavonoides sintéticos para inhibir la uridina 5'-difosfato galactopiranososa mutasa de MTB. Esta enzima actúa como un biocatalizador durante la síntesis de la pared celular bacteriana, lo que la convierte en un objetivo potencial para medicamentos [37].

2.2.3. Servidor ADMETlab 2.0

La evaluación de las propiedades ADMET de los candidatos a fármacos solía realizarse después de determinar su potencia frente al objetivo específico. Sin embargo, esto a menudo resultaba en la detección de efectos adversos no deseados, lo que requería realizar modificaciones en el diseño molecular y en la síntesis, o incluso la terminación del proyecto. La importancia de la evaluación ADMET en el proceso de desarrollo de fármacos se hizo evidente, ya que se estima que las deficiencias ADMET contribuyeron significativamente a la deserción en el desarrollo de fármacos en el pasado. Actualmente, la potencia y los perfiles

ADMET de las moléculas se evalúan tempranamente en el proceso de descubrimiento y desarrollo de fármacos, lo que permite descartar compuestos no deseados de manera más rápida. Sin embargo, la capacidad de los ensayos in vitro e in vivo de ADMET a menudo resulta insuficiente debido al gran volumen de datos de cribado biológico. Además, los ensayos experimentales implican un tiempo y un costo significativo, lo cual puede ser una carga especialmente para proyectos de descubrimiento de fármacos con recursos limitados.

El servidor web ADMETlab, lanzado en 2018, permite a los usuarios realizar análisis de semejanza a fármacos y predecir propiedades relacionadas con ADMET, y gracias a su actualización a la versión 2.0 se pudo superar sus limitaciones anteriores. Esta nueva versión ofrece dos modos de cálculo y permite evaluar 88 parámetros relacionados con ADMET. Además, cuenta con modelos de relación cuantitativa estructura-propiedades entrenados con datos experimentales de alta calidad. ADMETlab 2.0 está disponible como un servidor web público en admetmesh.scbdd.com y se espera que ayude a los químicos medicinales en su investigación y desarrollo de fármacos [38].

2.2.3.1. Parámetros ADMET

Se han empleado diversos descriptores moleculares para modelar las propiedades ADMET, incluyendo propiedades químicas calculadas en base a descriptores unidimensionales (1D), bidimensionales (2D) y tridimensionales (3D). Estos descriptores han demostrado ser útiles para desarrollar modelos ADMET estadísticamente sólidos y predictivos. La elección de los descriptores a utilizar depende del objetivo del modelo obtenido.

- Para modelar la permeabilidad, absorción, solubilidad y efectos toxicológicos, se han empleado descriptores 1D como el peso molecular, la refractividad molar y el número de átomos y enlaces. Estos descriptores son relativamente fáciles de interpretar y ofrecen información relevante sobre las propiedades químicas de los compuestos estudiados.
- Existe una amplia variedad de descriptores 2D, muchos de los cuales son de naturaleza topológica y se calculan a partir de la conectividad del compuesto investigado. Estos descriptores se basan en la representación matemática del grafo

estructural y brindan información sobre la disposición espacial y las características de conectividad de los compuestos.

- Los descriptores basados en la representación 3D suelen ser superiores a los de dimensiones inferiores, ya que capturan información importante como los enlaces de hidrógeno internos y otros grupos funcionales relevantes pero ocultos. Estos descriptores, que utilizan la representación tridimensional real de los compuestos, ofrecen una interpretación más sencilla y enriquecedora en comparación con las variables previamente mencionadas [38].

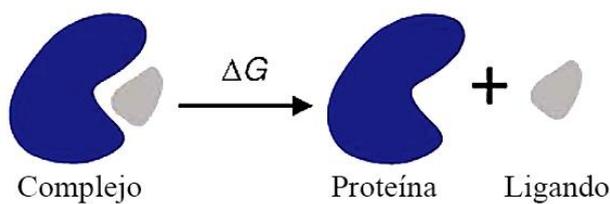
2.2.4. Acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular es una técnica computacional que permite predecir la geometría de unión de moléculas. Puede realizarse de manera manual mediante gráficos por computadora o de forma automática utilizando algoritmos. Existen distintos algoritmos para el acoplamiento automático, que se diferencian en su tratamiento de la flexibilidad molecular y los cambios conformacionales. La elección del procedimiento de acoplamiento depende de los tipos y cantidad de moléculas involucradas. Se utilizan algoritmos diferentes para acoplar dos macromoléculas o una macromolécula y un compuesto de bajo peso molecular. La metodología de acoplamiento es ampliamente empleada en el diseño de fármacos basado en la estructura y tiene un papel importante en proyectos de genómica estructural y proteómica. El proceso de acoplamiento se puede dividir en tres pasos: (i) identificación del sitio de unión del ligando en el receptor macromolecular objetivo, (ii) muestreo de disposiciones geométricas posibles del ligando y el receptor, y (iii) puntuación de las disposiciones muestreadas. En la mayoría de los procedimientos de acoplamiento, el sitio de unión del ligando en la macromolécula objetivo debe definirse antes del muestreo. El sitio de unión a menudo se puede identificar mediante comparación con estructuras de la proteína objetivo co-cristalizada con diferentes ligandos o con estructuras de homólogos de la proteína objetivo. Los sitios de unión proteína-proteína se pueden identificar en base a una combinación de propiedades que incluyen conservación de secuencia de aminoácidos, tipo de aminoácido y curvatura de la superficie [39].

2.2.4.1. Energía libre de unión (ΔG) calculado por el método MM/GBSA

Desde una perspectiva termodinámica, la ΔG se define como la diferencia de energía libre entre el estado en el que la proteína y ligando se encuentran unidas (complejo) y el estado en el que se encuentran completamente separadas [40].

Ilustración 6: Disociación de un complejo proteína-ligando y presencia de un diferencial de energía (energía libre de unión) en el proceso.



Fuente: Adaptado de King *et al.*, 2021 [40].

De manera fundamental, el cambio en la energía libre de Gibbs (ΔG) en una reacción de unión en equilibrio fundamental viene definida por la ecuación:

$$\Delta G_0 = \Delta H_0 - T\Delta S_0$$

Donde, G_0 representa la energía libre de Gibbs, H la entalpía, T la temperatura absoluta en grados Kelvin y S la entropía.

En reacciones espontáneas en las que se libera calor ($\Delta H < 0$) y la entropía aumenta ($\Delta S > 0$), es lógico que numéricamente ΔG tenga un valor negativo, ya que serían exotérmicas y desordenadas [41]. Esta relación lineal entre entalpía y entropía se asocia con frecuencia a las interacciones termodinámicas entre proteínas y ligandos, como así lo señalan varios autores [42–45].

ΔG se trata de una medida de la energética asociada a la formación de un complejo entre dos moléculas, expresada en unidades de energía, como kilocalorías por mol (kcal/mol) o kiloJoules/mol (kJ/mol). En estudios computacionales, los cálculos de energía libre de unión son esenciales para predecir y evaluar la estabilidad y afinidad de las interacciones moleculares, en ese entender, cuanto más negativo sea el valor de ΔG , mayor será la afinidad de unión entre las moléculas, equivalente a señalar que la reacción de unión entre el ligando y la proteína sería espontánea y termodinámicamente favorable [40]. Debe tenerse en cuenta que la energía libre es una función de los estados de un sistema y, como tal, ΔG se definen simplemente por los estados termodinámicos inicial y final, independientemente de la vía que conecte estos dos estados [46].

Los métodos computacionales más ampliamente utilizados en el diseño de fármacos son el acoplamiento molecular y la puntuación, a través de los cuales se pronostica el modo de unión del fármaco, seguido de una estimación de la afinidad de unión, conocida en Glide como *docking score*. Aunque estos métodos son eficientes, su precisión es limitada, especialmente al compararlos con valores experimentales [39]. Por esta razón, se emplean cálculos más rigurosos y computacionalmente intensivos, como la perturbación de energía libre (FEP), la integración termodinámica, la respuesta lineal, y las aproximaciones combinadas del modelo de solvatación Poisson-Boltzmann con mecánica molecular (MM/PBSA), y el modelo de solvatación de superficie de Born generalizada con mecánica molecular (MM/GBSA). De estos, MM/PBSA y MM/GBSA son mucho más rápidos, lo que los convierte en técnicas computacionalmente menos costosas para una reevaluación de las moléculas con mejor puntuación que arrojó el acoplamiento molecular [47].

El cálculo del valor absoluto de la energía libre de unión entre un ligando y una proteína se define originalmente mediante la ecuación $\Delta G = \Delta H_0 - T\Delta S_0$. Sin embargo, debido al elevado costo computacional asociado al cálculo preciso de la entropía [48], se han desarrollado métodos aproximados para estimar ΔG . Uno de estos métodos es el MM/GBSA, implementado en el programa Prime de la suite Schrödinger, que utiliza términos energéticos definidos en la siguiente ecuación [49]:

$$\Delta G = \Delta G_{\text{solv}} + \Delta E_{\text{MM}} + \Delta G_{\text{SA}}$$

Donde, ΔG_{solv} es la suma de la energía de solvatación electrostática (contribución polar), ΔE_{MM} es la diferencia en las energías minimizadas entre el complejo proteína-ligando y la suma de las energías de la proteína y el ligando cuando están separados, y ΔG_{SA} es la diferencia en las energías de área superficial del complejo proteína-ligando y la suma de las energías de área superficial de la proteína y el ligando cuando están separados [47,49].

2.2.4.2. Programa informático Glide

Glide, desarrollado por Schrödinger, Inc., es un programa de acoplamiento molecular que desempeña un papel crucial en el diseño de fármacos y la investigación en química computacional. Su enfoque innovador en el acoplamiento molecular permite a los investigadores estudiar y optimizar las interacciones entre ligandos y proteínas objetivo, proporcionando información valiosa para la identificación de compuestos farmacológicamente activos. Asimismo, siendo junto a AutoDock Vina y GOLD, Glide es uno de los programas de acoplamiento molecular más usados tanto en el ámbito de descubrimiento de fármacos, como académico [50].

A diferencia de otros métodos para acoplar ligandos a la estructura 3D rígida de un receptor proteico conocido, Glide aproxima una búsqueda sistemática completa del espacio conformacional, orientacional y posicional del ligando acoplado. En esta búsqueda, una fase inicial de posicionamiento y puntuación aproximada que reduce drásticamente el espacio de búsqueda es seguida por una optimización energética flexible bajo el campo de fuerza OPLS-AA para unos pocos cientos de conformaciones potenciales. Los candidatos más destacados se refinan aún más mediante un muestreo de conformaciones mediante el método de Monte Carlo; en algunos casos, esto es crucial para obtener una conformación de acoplamiento precisa. La selección de la mejor pose de acoplamiento utiliza una función de energía del modelo que combina términos empíricos y basados en campos de fuerza [51]. Entre los modos de acoplamiento que Glide emplea, se incluyen:

- *Glide HTVS¹ (Cribado Virtual de Alto Rendimiento)*: Este modo está diseñado para el cribado virtual de grandes bibliotecas de compuestos. Utiliza un enfoque de baja precisión, pero alta velocidad para realizar cálculos rápidos y eficientes en grandes conjuntos de datos. Es útil en las etapas iniciales de la búsqueda de compuestos potenciales.
- *Glide SP² (Standard Precisión)*: En este modo SP, se emplea un enfoque de precisión estándar para realizar cálculos de acoplamiento molecular. Proporciona un equilibrio entre velocidad y precisión y se utiliza típicamente después de un cribado inicial para refinar las predicciones de un conjunto más pequeño de candidatos.
- *Glide XP (eXtra Precision)*: El modo XP se caracteriza por un enfoque de alta precisión. Utiliza un muestreo más fino de conformaciones y energías, lo que lo hace más preciso, pero a costa de un mayor tiempo computacional. Este modo se utiliza para refinar aún más las predicciones y obtener resultados más precisos.

En general, Glide representa una herramienta potente y versátil que se puede utilizar para una variedad de aplicaciones de acoplamiento molecular. Es un recurso valioso para investigadores en los campos del descubrimiento de fármacos, el diseño de proteínas y los campos de la biología y química computacional [51].

2.2.5. *Interacciones moleculares*

Las interacciones moleculares son indispensables para la estructura y función de los sistemas biológicos. Por ejemplo, la estructura de las proteínas se determina mediante las interacciones específicas entre los aminoácidos que componen la proteína. La función de las proteínas también depende de las interacciones específicas que tienen con otras biomoléculas, como el ADN, el ARN y otras proteínas. Además, las interacciones moleculares son de gran importancia para el desarrollo de nuevos fármacos y terapias. Al comprender las interacciones específicas entre biomoléculas, se pueden diseñar medicamentos que se dirijan a estas

¹ HTVS: High Throughput Virtual Screening (traducido como Cribado Virtual de Alto Rendimiento)

² SP: Standard Precision (traducido como Precisión Estándar)

interacciones y que interrumpen la función de moléculas causantes de enfermedades. Entre las principales interacciones moleculares tenemos:

- Puentes de hidrógeno: Son interacciones electrostáticas entre un átomo de hidrógeno unido covalentemente a un átomo electronegativo (como nitrógeno, oxígeno o flúor) y otro átomo electronegativo. Los puentes de hidrógeno son esenciales en la estabilización de la estructura tridimensional de proteínas y ácidos nucleicos, así como en el reconocimiento molecular.
- Interacciones iónicas: Son atracciones electrostáticas entre iones cargados opuestamente, como el enlace entre un catión y un anión. Estas interacciones son cruciales para el plegamiento de proteínas y la interacción entre proteínas y ácidos nucleicos.
- Interacciones hidrofóbicas: Surgen debido a la tendencia de las moléculas hidrofóbicas a agruparse y evitar el contacto con el agua. Estas interacciones son fundamentales en la conformación de proteínas y en la formación de bicapas lipídicas.
- Interacciones de Van der Waals: Son fuerzas débiles atractivas que surgen debido a las fluctuaciones en la distribución electrónica de las moléculas. Incluyen las fuerzas de dispersión de London, las fuerzas dipolo-dipolo y las fuerzas dipolo inducido-dipolo. Estas interacciones desempeñan un papel importante en la estabilidad estructural de proteínas y ácidos nucleicos.
- Interacciones pi-pi: Son interacciones entre sistemas de electrones pi deslocalizados, como los anillos aromáticos de aminoácidos y bases nitrogenadas. Estas interacciones pueden influir en la conformación y la unión de moléculas biológicas.
- Interacciones pi-catión: Son interacciones entre un sistema de electrones pi y un catión. Estas interacciones pueden influir en la estabilidad estructural de proteínas y ácidos nucleicos, así como en la unión de ligandos.
- Interacciones de enlace covalente: Son interacciones en las que dos átomos comparten un par de electrones en un enlace químico fuerte. Los enlaces covalentes son esenciales en la formación de biomoléculas como proteínas, ácidos nucleicos y carbohidratos [52].

2.2.5.1. Módulo de visualización Ligand Interaction Diagram

El módulo Ligand Interaction Diagram (LID), integrado en el programa informático Maestro, facilita la representación bidimensional de complejos ligando-proteína de manera eficiente y automatizada, eliminando la necesidad previa de alinear los componentes de la estructura proteica o utilizar visores tridimensionales. Este módulo tiene la capacidad de generar tanto diagramas 2D como 3D que ilustran diversos tipos de interacciones, tales como enlaces de hidrógeno, enlaces iónicos, interacciones hidrofóbicas y fuerzas de Van der Waals.

Este módulo es compatible con modelos estructurales obtenidos experimentalmente, modelos de homología o resultados de acoplamiento, permitiendo el análisis de conjuntos de complejos ligando-acoplados. El proceso de ajuste y alineación de las estructuras tridimensionales es completamente automatizado, siendo necesario que el usuario simplemente cargue los complejos ligando-proteína en un formato compatible con el programa Maestro [53].

2.2.6. Tuberculosis

La tuberculosis es la enfermedad infecciosa más letal en adultos a nivel mundial y ha sido una emergencia de salud pública global en las últimas dos décadas. Aunque los esfuerzos en salud pública han salvado millones de vidas, los avances en su control y erradicación han sido limitados, y las variantes resistentes a fármacos están convirtiéndose en patógenos cada vez más mortales, contribuyendo a una cuarta parte de las muertes por resistencia antimicrobiana [54]. MTB, el agente causante, tiene como único reservorio a los humanos, aunque muchos animales son susceptibles a la infección. Se postula que MTB co-evolucionó con los homínidos desde hace 3 millones de años. Es un bacilo aerobio, no formador de esporas ni móvil, con una pared celular rica en lípidos de alto peso molecular. Su crecimiento es lento, con un tiempo de generación de 15 a 20 horas y un crecimiento visible que tarda entre 3 y 8 semanas en medios sólidos. MTB crece en grupos paralelos, formando colonias en forma de serpentina, y posee genes que codifican enzimas clave en la lipogénesis y lipólisis [55].

2.2.6.1. Epidemiología

En 2023, los casos globales de tuberculosis (TB) alcanzaron 10.8 millones, estabilizándose tras el aumento durante la pandemia, con la mayoría de los casos concentrados en 30 países, principalmente India, Indonesia, China, Filipinas y Pakistán. La mortalidad disminuyó a 1.25 millones, continuando la tendencia a la baja desde 2022. Aunque los avances en diagnóstico y tratamiento han reducido la brecha entre los casos estimados y los diagnosticados a 2.7 millones, y 175,923 personas con TB multirresistente recibieron tratamiento, la mitad de los pacientes enfrenta costos catastróficos. Además, el financiamiento sigue siendo insuficiente, con solo \$5.7 mil millones y \$1 mil millones asignados en 2023. A pesar de estos esfuerzos, las metas de la estrategia “End TB” de la OMS han sido alcanzadas parcialmente: la tasa de incidencia se redujo un 8.3% desde 2015 (meta: 50% para 2025) y la mortalidad un 23% (meta: 75%), mientras que la cobertura de pruebas rápidas y tratamiento alcanzó el 48% y 75%, respectivamente, con seis candidatas a vacuna en ensayos avanzados [15].

En América Latina, según el observatorio "Situación de la Tuberculosis en las Américas" de la OPS, se proyectó que Perú sería el segundo país con la mayor tasa de incidencia en 2022, con 52,000 casos, solo superado por Haití [23]. En el Sistema de Información Gerencial de Tuberculosis (SIGTB) de 2021, Perú reportó 26,437 casos de TB, 1,256 de TB multidrogo resistente y 82 casos de TB extremadamente resistente [56]. En Cusco, hasta 2021, se registró una tasa de morbilidad de 23.2, con 4 casos de TB multidrogo resistente y ninguno de TB extremadamente resistente [12].

2.2.6.2. Tipos de resistencia a medicamentos antituberculosos

- *TB multidrogo resistente (TB-MDR)*: Es provocada por bacterias de la TB que exhiben resistencia, al menos, a isoniazida y rifampicina. Estos fármacos son componentes clave en la mayoría de los regímenes terapéuticos contra la TB.
- *TB pre-extremadamente resistente (TB pre-XDR)*: Es una variante de la TB-MDR. Se origina por la resistencia de las bacterias de la tuberculosis a la isoniazida, rifampicina y, adicionalmente, a una fluoroquinolona. Alternativamente, puede

surgir por la resistencia a la isoniazida, rifampicina y a un medicamento inyectable de segunda línea, como amikacina, capreomicina o kanamicina.

- *TB extremadamente resistente (TB-XDR)*: Constituye una forma poco común de TB-MDR. Esta variante surge debido a la resistencia de las bacterias de la tuberculosis a la isoniazida, rifampicina, una fluoroquinolona y un medicamento inyectable de segunda línea. Alternativamente, puede originarse por la resistencia a la isoniazida, rifampicina, una fluoroquinolona y a fármacos específicos como bedaquilina o linezolid [57].

La clasificación de las cepas resistentes de MTB no se basa exclusivamente en codificaciones o clados genéticos individuales, sino que está enmarcada dentro de categorías de resistencia, ya que estas determinan su relevancia clínica y epidemiológica, facilitando un enfoque práctico para el diagnóstico y tratamiento [11].

2.2.6.3. Tratamiento y efectos adversos de medicamentos antituberculosos

En conformidad al documento del estado peruano “Norma técnica de salud para el cuidado integral de la persona afectada por tuberculosis, familia y comunidad - N° 200-MINSA/DGIESP-2023” basada en los lineamientos de la OMS, a continuación, se muestra los esquemas farmacológicos de los pacientes con TB [58].

Tabla 1: Esquema de tratamiento contra la tuberculosis en pacientes infectados con TB sensible.

Situación	Primera fase	Segunda fase
TB pulmonar sensible, sin infección por VIH	REZH, diario por 2 meses	RH, tres veces a la semana por 4 meses
TB pulmonar sensible, con infección por VIH	REZH, diario por 2 meses	RH, diario por 4 meses.
TB miliar o extrapulmonar con compromiso del SNC u osteoarticular	REZH, diario por 2 meses	RH, diario por 10 meses

R: Rifampicina, E: Etambutol, Z. Pirazinamida, H: Isoniazida

Fuente: Ministerio de Salud, 2023 [58]

Tabla 2: Esquemas de tratamiento contra la TBC en pacientes con resistencia

Situación		Esquema
TB resistente a isoniazida		REZ+Lfx, diario por 6 meses
Pacientes con resistencia a rifampicina o multidrogo resistente	Esquema oral acortado	Bdq-Lzd-Cfz-Lfx, por 9 a 12 meses
	Esquema oral prolongado	Lfx/Mfx-Bdq-Lzd-Cfz-Cs-Z, diario por 6 meses, y luego Lfx/Mfx-Lzd-Cfz-Cs-Z, diario por 12 meses
	Esquema con inyectable	Amk-Lfx-Cs-Eto-Z, diario por 6 a 8 meses, y luego Lfx-Cs-Eto-Z, diario por 12 a 16 meses

R: Rifampicina, E: Etambutol, Z: Pirazinamida, H: Isoniazida, Amk: Amikacina, Lfx: Levofloxacino, Mfx: Moxifloxacino, Cs: Cicloserina, Eto: Etionamida, Cfz: Clofazimina, Bdq: Bedaquilina, Lzd: Linezolid

Fuente: Ministerio de Salud, 2023 [58]

Tabla 3: Principales efectos adversos de los medicamentos antituberculosos

Fármaco	Efectos adversos reportados
Isoniazida	<ul style="list-style-type: none"> • Hepatotoxicidad • Neuropatía periférica
Rifampicina	<ul style="list-style-type: none"> • Hepatitis colestásica
Pirazinamida	<ul style="list-style-type: none"> • Hepatotoxicidad
Etambutol	<ul style="list-style-type: none"> • Neuropatía óptica, incluyendo neuritis óptica y neuritis retrobulbar
Levofloxacino/Moxifloxacino	<ul style="list-style-type: none"> • Arritmias
Bedaquilina	<ul style="list-style-type: none"> • Arritmias • Elevación de enzimas aminotransferasas
Linezolid	<ul style="list-style-type: none"> • Anemia • Neuropatía periférica • Neuritis óptica
Clofazimina	<ul style="list-style-type: none"> • Pigmentación de rojo a oscuro en piel • Decoloración de las secreciones corporales, incluyendo la orina y heces. • Intolerancia gastrointestinal (dolor abdominal y epigástrico, diarrea, náuseas y vómito). • Arritmias

La tabla continúa en la siguiente página

Tabla 3 (Continuación)

Fármaco	Efectos adversos reportados
Cicloserina/Terizidona	<ul style="list-style-type: none"> • Psicosis, depresión e ideas suicidas • Convulsiones y neuropatía periférica
Meropenem/Imipenem	<ul style="list-style-type: none"> • Diarrea • Rash cutáneo • Náuseas y vómitos
Delamanid	<ul style="list-style-type: none"> • Arritmias
Protionamida/Etionomida	<ul style="list-style-type: none"> • Intolerancia gastrointestinal (náuseas, vómitos y diarrea)
Amikacina/Estreptomicina	<ul style="list-style-type: none"> • Ototoxicidad • Nefrotoxicidad • Desbalance de electrolitos
Ácido p-aminosalicilico	<ul style="list-style-type: none"> • Intolerancia gastrointestinal (náuseas, vómitos, distensión abdominal, dolor abdominal y diarrea)

Fuente: Adaptado de Natarajan *et al.*, 2020 [9]

2.3. Glosario de términos

- Agente patógeno: Un agente infeccioso que ocasiona enfermedad en animales o plantas. Estos agentes son microorganismos y microbios, tales como virus, bacterias, priones o hongos [59].
- Algoritmo: Se refiere a un conjunto de reglas y procesos diseñados para resolver problemas en un número limitado de grupos. Los algoritmos forman parte de los programas informáticos [60].
- Descriptores moleculares: Son parámetros cruciales en las relaciones cuantitativa estructura actividad (QSAR, por sus siglas en inglés) y otros modelos in silico, ya que representan numéricamente una estructura molecular. Estos descriptores se pueden clasificar en función de distintos criterios, siendo las categorías principales los descriptores experimentales y los teóricos [61].
- Dominio: El dominio de una proteína se caracteriza por tener una secuencia de aminoácidos específica que actúa como punto de unión para interactuar con otras proteínas o ADN. Es

una unidad funcional y estructural que se encuentra en la estructura tridimensional de una proteína [62].

- **Formato SMILES:** Corresponde a las siglas de *Simplified Molecular Input Line Entry System*, es un sistema de notación diseñado para representar estructuras químicas de forma breve y comprensible. Creado por David Weininger en los años 80, ha jugado un papel crucial en la química computacional y la bioinformática. Este formato permite expresar la estructura molecular a través de cadenas de texto ASCII, lo que facilita su almacenamiento, búsqueda y manejo en bases de datos químicas [63].
- **Fibrosis:** La formación de tejido fibroso se refiere al proceso en el cual en una herida se genera un tipo de tejido que al principio cuenta con vasos sanguíneos, pero más adelante se vuelve carente de vascularización y principalmente compuesto por colágeno [64].
- **Filogenia:** Se refiere a la historia evolutiva de una especie o grupo y cómo están relacionados con otras especies o grupos a lo largo del tiempo [65].
- **Función de puntuación:** Se refiere a la relación empírica que cuantifica la calidad de los modos de unión del ligando y clasifica diferentes ligandos (que se unen al mismo receptor) según su afinidad. Por lo general, consta de la suma de varios términos empíricos que describen propiedades importantes para la unión, como la complementariedad superficial y química [66].
- **Granuloma:** Es una lesión inflamatoria crónica causada por diferentes agentes infecciosos y no infecciosos. Puede estar compuesto por pequeñas acumulaciones de células inflamatorias mononucleares o por acumulaciones de diversas células [67].
- **Hélice alfa:** La α -hélice es un tipo de estructura secundaria de las proteínas. Se trata de una hélice estrecha que se forma cuando el grupo carboxilo de un aminoácido se une mediante enlaces de hidrógeno al grupo amino de otro aminoácido [62].
- **Hoja beta:** Las láminas β son estructuras secundarias repetitivas que se encuentran comúnmente en proteínas plegadas. A diferencia de las hélices α , donde los enlaces de hidrógeno se forman entre grupos dentro de la misma hebra, en las láminas β los enlaces se establecen entre hebras adyacentes [62].

- In silico: Se refiere a algo que es generado por computadora. Los procedimientos in silico se utilizan para simular y predecir procesos, especialmente en el ámbito biológico, mediante el uso de programas informáticos [66].
- Incidencia: Se refiere a la cantidad de casos nuevos que se presentan en una población durante un período de tiempo específico. Este número es valioso para evaluar el riesgo de contraer la enfermedad [68].
- Isoflavona: Son isómeros de la flavona, la cual es una cromona sustituida con un grupo fenilo en la posición 2. En la isoflavona, el grupo fenilo está en la posición 3, y tiene un grupo cetona en el carbono de posición 4 [69].
- Isoflavana: Son derivados hidrogenados de las isoflavonas, cuya estructura molecular es casi idéntica. La principal diferencia radica en que el grupo cetona en el carbono 4 de las isoflavonas es reemplazado por un hidrógeno. Aunque son menos comunes, presentan propiedades químicas y biológicas distintas. [69].
- Macromolécula: Moléculas que tienen un peso molecular que va desde unos pocos miles hasta varios millones, como el ADN, el ARN, las proteínas y otros polímeros [60].
- Meningitis: La meningitis es una condición en la cual las meninges, las membranas que protegen el cerebro y la médula espinal, se inflaman [70].
- Micobacteria: Bacterias ácido-alcohol resistentes con morfología de bacilo delgado que tienen un tiempo de duplicación bastante prolongado en condiciones de laboratorio. Las micobacterias comparten una característica distintiva: una pared celular gruesa y bioquímicamente compleja [71].
- Morbilidad: La cantidad de individuos que adquieren una enfermedad particular en comparación con el tamaño total de la población (casos por cada 100,000 personas) [68].
- Neuropatía periférica: Es un concepto amplio que se refiere a la disfunción de los nervios periféricos causada por diferentes factores [72].
- Palatabilidad: Cualidad de un alimento o bebida que lo hace agradable al gusto y estimula su consumo. Depende de la combinación de sensaciones que experimentamos al ingerirlo, como el sabor, el aroma, la textura y la apariencia. La palatabilidad es un factor clave en la

elección de alimentos y juega un papel importante en la nutrición, ya que influye en la cantidad y frecuencia con la que consumimos ciertos alimentos [73].

- **Parásitos apicomplejos:** Microorganismos que pertenecen al filo Apicomplexa, que incluye protistas parásitos obligados que afectan a la mayoría de los animales, con especies altamente específicas y otras generalistas. Patógenos importantes como *Toxoplasma gondii* y *Plasmodium falciparum* causan enfermedades graves en humanos y animales, como toxoplasmosis y malaria. Su nombre deriva del "complejo apical", una estructura especializada ubicada en el extremo anterior de la célula, compuesta por orgánulos como roptrias y micronemas. Este complejo apical es esencial para la invasión de las células huésped, ya que contiene enzimas y proteínas que permiten al parásito penetrar y establecerse dentro de la célula [74].
- **Pericarditis:** Se refiere a la presencia de inflamación en la capa protectora que rodea el corazón (pericardio) [75].
- **Peso molecular:** Es la suma de las masas de los átomos que componen una molécula expresada en unidades atómicas de masa [76].
- **Programa informático:** También llamado programa, es un conjunto de instrucciones aptas para ser procesadas por una computadora, que pueden requerir el uso de herramientas como ensambladores, compiladores, intérpretes o traductores para preparar y ejecutar dichas instrucciones [77].
- **Protein Data Bank:** Es una base de datos clave que guarda información sobre la estructura tridimensional de proteínas, ácidos nucleicos y otras macromoléculas biológicas. Establecida en 1971, se ha convertido en una herramienta indispensable para los investigadores en biología estructural y bioquímica, ya que ofrece acceso gratuito a datos fundamentales para comprender la función molecular y los procesos biológicos a nivel atómico [78].
- **PubChem:** Es una base de datos dedicada a moléculas químicas, diseñada para ofrecer información detallada sobre sus propiedades, estructuras y actividades biológicas. Esta plataforma es gestionada por una división de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos, y se encuentra disponible de manera gratuita tanto para investigadores como para el público en general [79].

Capítulo III

Materiales y métodos

3.1. Materiales

3.1.1. Programas informáticos

- Maestro 13.8.132 [53]
- Protein Preparation Wizard - Schrödinger Release 2024-1 [80]
- Prime - Schrödinger Release 2024-1 [81]
- Epik - Schrödinger Release 2024-1 [82]
- LigPrep - Schrödinger Release 2024-1 [83]
- Glide - Schrödinger Release 2024-1 [51]
- R version 4.3.3 [84]
- RStudio Desktop 2023.12.1+402 Ocean Storm – Open Source Edition [85]

3.1.2. Servidor de predicción de parámetros ADMET

- ADMETlab 2.0 [38] – Página web: <https://admetmesh.scbdd.com/>

3.1.3. Bases de datos

- LIPID MAPS® Structure Database [86] – Pagina web: <https://www.lipidmaps.org/>
- Protein Data Bank [78] – Pagina web: <https://www.rcsb.org/>
- PubChem [79] – Pagina web: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

3.1.4. Equipos de cómputo

- Para la preparación de los ligandos y receptor, y análisis de interacciones moleculares:

Laptop DELL Inspiron 15 3511, con las siguientes características:

- Procesador: Intel® Core i5 11^{va} Generación - 2.40 Gigahertz
- Memoria RAM: 16 GB DDR4
- Gráficos: Intel Iris Xe Graphics
- Almacenamiento: Disco de estado sólido de 1 Terabyte

- Para el acoplamiento molecular:

Estación de trabajo del Laboratorio de Investigación en Biopolímeros y Metalofármacos (LIBIPMET), de la Facultad de Ciencias, en la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI), con las siguientes características:

- Procesador: Intel® Core i7 7^{ma} Generación - 2.80 Gigahertz
- Memoria RAM: 64 GB
- Tarjeta gráfica: NVIDIA® GeForce GTX 1060
- Almacenamiento: Disco de estado sólido de 1 Terabyte

Dicha universidad nos brindó acceso a su estación de trabajo, ya que contaba con licencia de uso para los programas de la suite Schrödinger.

3.2. Metodología de la investigación

3.2.1. Tipo de estudio

- Enfoque de la investigación: Mixta, ya que implicó estudios cuyos resultados tuvieron carácter cuantitativo (numérico) y cualitativo (nominal), que fueron analizados mediante técnicas estadísticas. Esta clasificación concuerda con lo señalado por Hernández-Sampieri (2018) [87].
- Alcance de la investigación: No experimental, ya que no se manipularon variables deliberadamente.
- Tipo de diseño no experimental: Transversal o transeccional, porque se recolectaron datos en un solo momento en el tiempo, sin seguimiento temporal. Esta clasificación concuerda con lo señalado por Hernández-Sampieri (2018) [87].
- Tipo de diseño transversal: Correlacional, porque se determinó el grado de relación existente, mediante análisis estadísticos, entre los diversos parámetros in silico calculados de los flavonoides (variable predictor o independiente) y su potencial inhibitorio (variable criterio o dependiente) frente a la enzima SQ.

Los ítems previamente señalados concuerdan con la clasificación señalada por Hernández-Sampieri (2018) [87] y Hazari (2023) [88].

3.2.2. Diseño

Análisis de los parámetros ADMET de los flavonoides, mediante el servidor ADMETlab 2.0

Grupo	Evaluación	Resultado
G_n	X_n	O_n

G_n : Estructuras de flavonoides descargados de la base de datos LIPID MAPS.

X_n : Evaluación de las propiedades ADMET mediante el servidor ADMETlab 2.0.

O_n : Resultados de los parámetros ADMET calculados.

Determinación de la energía libre de unión, mediante el método MM/GBSA, de los flavonoides con mejores parámetros ADMET y la shikimato kinasa de MTB.

Grupo	Evaluación	Resultado
G_n	X_n	O_n

G_n: Flavonoides seleccionados con mejores parámetros ADMET, calculados con ADMETlab 2.0.

X_n: Cálculo de la energía libre de unión mediante el programa Prime.

O_n: Valores de energía libre de unión entre los flavonoides y la shikimato kinasa de MTB.

Cuantificación de los tipos de interacciones moleculares, resultantes del acoplamiento molecular, entre los flavonoides seleccionados y la shikimato kinasa de MTB

Grupo	Evaluación	Resultado
G_n	X_n	O_n

G_n: Flavonoides seleccionados con mejores parámetros ADMET, y acoplados mediante el programa Glide.

X_n: Conteo y clasificación de los tipos de interacción mediante el módulo Ligand Interaction Diagram.

O_n: Interacciones moleculares resultantes.

Evaluación de la correlación entre las variables independientes y el potencial inhibitorio de los flavonoides seleccionados que interaccionan con la shikimato kinasa de MTB

Grupo	Evaluación	Resultado
G_n	X_n	O_n

G_n: Variables independientes de naturaleza cuantitativa

X_n: Prueba de correlación punto-biserial

O_n: Valores de correlación en el rango de -1 a 0 (correlación negativa) y de 0 a 1 (correlación positiva)

3.2.3. *Variable independiente*

3.2.3.1. **Flavonoides**

Son una clase de compuestos orgánicos que se encuentran en una amplia variedad de plantas y que tienen una gran importancia biológica debido a sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Estos compuestos están compuestos por dos anillos aromáticos unidos por un puente de tres átomos de carbono y se clasifican en varias subclases según su estructura química [30].

Indicadores

A. Absorción intestinal humana (AIH): La absorción intestinal humana de una sustancia se cuantifica como la porción de una dosis determinada que alcanza la vena porta, y se obtiene de dividir la cantidad de una sustancia que ha alcanzado la vena porta sobre la cantidad de la sustancia administrada oralmente [89].

Definición operacional

- Naturaleza: Cuantitativa
- Forma de medición: Directa
- Escala de medición: Razón
- Instrumento: Servidor ADMETlab 2.0
- Proceso de medición: El servidor clasificó a las moléculas en dos categorías:
 - (i) $AIH > 30\%$ se clasificaron como AIH (-) o Categoría 0
 - (ii) $AIH < 30\%$ se clasificaron como AIH (+) o Categoría 1.

Las moléculas con AIH (+) serán usadas para el acoplamiento molecular [90,91]. Este parámetro también fue aplicado en la investigación de James *et al.* (2018) [92].

- Expresión final de la variable: Probabilidad de 0 a 100%.

B. Unión a proteínas plasmáticas (UPP): Es la unión reversible de compuestos a las proteínas plasmáticas, incluyendo la albúmina sérica, la hemoglobina y las glicoproteínas α -ácido. La unión a proteínas plasmáticas afecta fuertemente la distribución de fármacos y el comportamiento farmacocinético con consecuencias en la acción farmacológica general. Por lo tanto, la tasa de unión a proteínas plasmáticas para un fármaco específico es un indicador clave para la optimización de la molécula [89].

Definición operacional

- Naturaleza: Cuantitativa
- Forma de medición: Directa
- Escala de medición: Razón
- Instrumento: Servidor ADMETlab 2.0
- Proceso de medición: Mientras los porcentajes calculados fueran mayores, esto indicaba que el fármaco tenía más afinidad por las proteínas plasmáticas y, por ende, un bajo índice terapéutico, ya que no alcanzaría la diana farmacológica. Por ello el servidor clasificó a las moléculas en dos categorías:

(i) $UPP \leq 90\%$, son compuestos alto índice terapéutico.

(ii) $UPP > 90\%$, son compuestos con bajo índice terapéutico.

Por tanto, las moléculas con alto índice terapéutico fueron seleccionadas para el acoplamiento molecular [91,93]. Este parámetro también fue aplicado en la investigación de Khan *et al.* (2017) [94].

- Expresión final de la variable: Porcentaje de unión a proteínas.

C. Aclaramiento de fármacos (AF): El aclaramiento de fármacos se define como el volumen de plasma libre de fármaco en un tiempo determinado. Su unidad de medida es volumen/tiempo. La capacidad total del cuerpo para eliminar un fármaco del plasma incluye el aclaramiento renal, hepático y de otros tejidos. [89,95].

Definición operacional

- Naturaleza: Cuantitativa
- Forma de medición: Directa
- Escala de medición: Razón
- Instrumento: Servidor ADMETlab 2.0
- Proceso de medición: El servidor clasificó a las moléculas de tres maneras:
 - (i) Aclaramiento alto, cuando el valor es igual o mayor a 15 ml/min/kg
 - (ii) Aclaramiento moderado cuando el valor se ubica entre 5 a 15 ml/min/kg
 - (iii) Aclaramiento bajo cuando el valor es menor a 5 ml/min/kg.

Para el acoplamiento molecular fueron seleccionadas aquellas moléculas con un valor igual o mayor a 5 ml/min/kg, es decir, de aclaramiento moderado y alto [91]. Este parámetro también fue aplicado en la investigación de Hassan *et al.* (2013) [96]

- Expresión final de la variable: ml/min/kg

D. Daño hepático inducido por fármacos (DHIF): La hepatotoxicidad inducida por fármacos, también denominada lesión hepática inducida por medicamentos se origina como consecuencia del consumo de medicamentos, ya sean prescritos o de venta libre, así como de suplementos herbales, productos dietéticos y otros xenobióticos. Este fenómeno se caracteriza por la manifestación de alteraciones en las pruebas hepáticas o disfunción hepática, fenómenos que no pueden ser atribuidos a causas distintas [89].

Definición operacional

- Naturaleza: Cuantitativa
- Forma de medición: Directa
- Escala de medición: Razón

- Instrumento: Servidor ADMETlab 2.0
- Proceso de medición: El servidor clasificó a las moléculas en 3 categorías, conforme a su probabilidad de generar daño hepático:
 - (i) Compuestos con riesgo bajo de DHIF, con probabilidad igual o menor al 30%.
 - (ii) Compuestos con riesgo medio de DHIF, con probabilidad entre 30% a 70%.
 - (iii) Compuestos con riesgo alto de DHIF, con probabilidad superior a 70%.

Las moléculas que fueron elegidas para los ensayos de acoplamiento molecular, son aquellas con riesgo bajo de generar DHIF [91]. Este parámetro también fue aplicado en la investigación de Ali *et al.* (2024) [97].

- Expresión final de la variable: Probabilidad de causar DHIF.

E. Regla de los 5 de Lipinski (R-5): Es una regla empírica utilizada en la industria farmacéutica para evaluar la idoneidad de una molécula como candidata a fármaco, y establece que una molécula es más probable que tenga una buena biodisponibilidad oral si cumple con cuatro características específicas de: peso molecular, coeficiente de partición octanol-agua, donadores de enlace de hidrógeno, y aceptores de enlace de hidrógeno [89,98].

Definición operacional

- Naturaleza: Cualitativa
- Forma de medición: Directa
- Escala de medición: Nominal
- Instrumento: Servidor ADMETlab 2.0
- Proceso de medición: El servidor evaluó si las moléculas cumplían con los siguientes parámetros fisicoquímicos:
 - (i) Peso molecular igual o menor a 500 Daltons

(ii) Coeficiente de partición octanol-agua igual o menor a 5

(iii) Aceptores de enlaces de hidrógeno igual o menor a 10

(iv) Donadores de enlace de hidrógeno igual o menor 5.

Se consideró como ACEPTADO a aquella molécula que, como máximo, incumplió uno de los parámetros mencionados; y RECHAZADO si incumplió 2 o más parámetros [91]. Este parámetro también fue aplicado en la investigación de Isa *et al.* (2019) [99].

- Expresión final de la variable: Aceptado o rechazado.

F. Regla de Pfizer (R-Pf): Es una regla empírica utilizada en la industria farmacéutica y el campo de desarrollo de fármacos donde se establece que una molécula podría ser tóxica basándose en valores del coeficiente de partición octanol-agua y del área total de superficie polar [89,100].

Definición operacional

- Naturaleza: Cualitativa
- Forma de medición: Directa
- Escala de medición: Nominal
- Instrumento: Servidor ADMETlab 2.0
- Proceso de medición: El servidor verificó si las moléculas cumplían con los siguientes parámetros fisicoquímicos:

(i) Coeficiente de partición octanol-agua mayor a 3

(ii) Área total de superficie polar menor a 75 \AA^2 .

Se considera como ACEPTADO a aquella molécula que cumplió alguno de los parámetros mencionados; y fue RECHAZADO si cumplió ambos parámetros [91].

Este parámetro también fue aplicado en la investigación de Ahmad *et al.* (2023) [101].

- Expresión final de la variable: Aceptado o rechazado.

G. Regla de Glaxo Smith Kline (R-GSK): Esta regla utilizada por el servidor ADMETlab 2.0, usa ciertos criterios de la regla empírica originalmente desarrollada por Gleeson, donde se establece que una molécula podría tener un perfil ADMET más favorable basándose en valores del peso molecular y lipofilicidad molecular [89,100,102].

Definición operacional

- Naturaleza: Cualitativa
- Forma de medición: Directa
- Escala de medición: Nominal
- Instrumento: Servidor ADMETlab 2.0
- Proceso de medición: El servidor verificó que las moléculas cumplieran con los siguientes parámetros fisicoquímicos:
 - (i) Peso molecular igual o menor a 400 Daltons
 - (ii) Coeficiente de partición octanol-agua igual o menor a 4.

Se consideró como ACEPTADO a aquella molécula que cumplió con ambos criterios; y como RECHAZADO si incumplió con alguno o ambos parámetros [91]. Este parámetro también fue aplicado en la investigación de Ahmad *et al.* (2023) [101].

- Expresión final de la variable: Aceptado o rechazado

H. Triángulo dorado (TD): Es una herramienta de filtrado basada en datos de permeabilidad in vitro, aclaramiento in vitro y datos computacionales diseñados para ayudar a lograr fármacos metabólicamente estables, permeables y potentes. Clasifica los compuestos como permeables y estables considerando el peso molecular junto a su coeficiente de distribución [102].

Definición operacional

- Naturaleza: Cualitativa
- Forma de medición: Directa
- Escala de medición: Nominal
- Instrumento: Servidor ADMETlab 2.0
- Proceso de medición: El servidor verificó si las moléculas cumplían con los siguientes parámetros fisicoquímicos:

(i) Peso molecular entre 200 a 500 Daltons

(ii) Coeficiente de distribución entre -2 a 5.

Se consideró como ACEPTADO a aquella molécula que cumplió con ambos criterios; y RECHAZADO si incumplió con alguno o ambos parámetros. Este parámetro también fue aplicado en la investigación de Ahmad *et al.* (2023) [101].

- Expresión final de la variable: Aceptado o rechazado

I. Energía libre de unión (ΔG): Esta energía, calculada por el programa Prime, es una energía libre de unión aproximada que se expresa en kcal/mol, y se define como la diferencia de energía libre de unión entre el estado unido (complejo proteína-ligando) y los estados completamente disociados (proteína y ligando separados). Este valor calculado puede ser utilizado para predecir la capacidad de interacción en términos energéticos [40].

Definición operacional

- Naturaleza: Cuantitativa
- Forma de medición: Directa
- Escala de medición: Razón
- Instrumento: Programa Prime
- Proceso de medición: El programa calculó la energía libre de unión mediante la aproximación de MM/GBSA.
- Expresión final de la variable: kcal/mol

J. Interacciones moleculares: Las interacciones moleculares entre ligandos y proteínas se refieren a fenómenos de atracción o repulsión entre átomos y moléculas de ambos compuestos. Estas juegan un papel crucial en el reconocimiento y la unión entre ellos. Se pueden estudiar mediante métodos computacionales de acoplamiento molecular, que buscan predecir la conformación más estable del complejo ligando-proteína y la energía asociada a esta interacción, incluyendo enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas, fuerzas electrostáticas, entre otros [103].

Definición operacional

- Naturaleza: Cualitativa
- Forma de medición: Directa
- Escala de medición: Intervalo
- Instrumento: Módulo Ligand Interaction Diagram
- Proceso de medición: Glide obtendrá las conformaciones geométricas óptimas mediante una búsqueda iterada de Monte-Carlo [51]. Posterior a ello, se analizará las interacciones moleculares entre los grupos funcionales de las moléculas y los aminoácidos más relevantes del sitio activo de la enzima, mediante el módulo LID.

Este parámetro también fue aplicado en la investigación de Nyambo *et al.* (2024) [104].

- Expresión final de la variable: Conteo de los tipos de interacciones moleculares

3.2.4. *Variable dependiente*

3.2.4.1. **Potencial inhibidor**

En el campo de la bioquímica, se define como la capacidad de algunas sustancias para unirse a una enzima y reducir o anular su actividad, sin dañar la estructura proteica de la enzima [105].

Definición operacional

- Naturaleza: Cualitativa
- Forma de medición: Directa
- Escala de medición: Nominal
- Instrumento: Tabla de datos
- Proceso de medición: Con base en los resultados de ΔG para los flavonoides, se clasificarán en función del valor de ΔG del shikimato. Se considerará que tienen un alto potencial inhibitorio si el valor de ΔG del flavonoide es superior al del shikimato, y tendrán un bajo potencial inhibitorio si ocurre lo contrario. Este criterio fue considerado en los trabajos de Abdjan *et al.* (2020) [106] y Xie *et al.* (2023) [107].
- Expresión final de la variable: Alto/bajo potencial inhibitorio.

3.2.5. Operacionalización de variables

Tabla 4: Variable independiente (Flavonoides)

Indicadores	Naturaleza	Medición	Escala	Instrumento	Expresión final de la variable
Absorción intestinal humana (AIH)	Cuantitativa	Directa	Razón	ADMETlab 2.0	Porcentaje de AIH
Unión a proteínas plasmáticas (UPP)	Cuantitativa	Directa	Razón	ADMETlab 2.0	Porcentaje de UPP
Aclaramiento de fármacos (AF)	Cuantitativa	Directa	Razón	ADMETlab 2.0	ml/min/kg
Daño hepático inducido por fármacos (DHIF)	Cuantitativa	Directa	Razón	ADMETlab 2.0	Probabilidad de causar DHIF
Regla de los 5 de Lipinski (R-5)	Cualitativa	Directa	Nominal	ADMETlab 2.0	Aceptado/rechazado
Regla de Pfizer (R-Pf)	Cualitativa	Directa	Nominal	ADMETlab 2.0	Aceptado/rechazado
Regla de Glaxo Smith Kline (R-GSK)	Cualitativa	Directa	Nominal	ADMETlab 2.0	Aceptado/rechazado
Triángulo dorado (TD)	Cualitativa	Directa	Nominal	ADMETlab 2.0	Aceptado/rechazado
Energía libre de unión (ΔG)	Cuantitativa	Directa	Razón	Programa Prime	kcal/mol
Interacciones moleculares	Cuantitativa	Directa	Intervalo	Ligand Interaction Diagram	Conteo de los tipos de interacciones moleculares

Tabla 5: Variable dependiente (Potencial inhibitorio)

Indicadores	Naturaleza	Medición	Escala	Instrumento	Expresión final de la variable
Potencial inhibitorio	Cualitativa	Directa	Nominal	Tabla de datos	Alto/bajo potencial inhibitorio

Fuente: Elaboración propia.

3.2.6. *Criterios de inclusión*

- **De los compuestos naturales**

- Se trabajó únicamente con metabolitos secundarios catalogados como flavonoides en la base de datos de LIPID MAPS; incluyendo a todas sus estructuras moleculares derivadas (antocianidinas, flavanos, flavanoles, leucoantocianidinas, proantocianidinas, biflavonoides, poliflavonoides, isoflavonoides, rotenoides, pterocarpanos, isoflavanos, cumestanos, flavonas, flavonoles, chalconas, dihidrochalconas, auronas, flavanonas y dihidroflavonoles).
- Los formatos de las estructuras moleculares de los flavonoides son de acceso libre y compatibles con los programas y servidores con los cuales se realizaron los cálculos.

- **De la enzima**

- Se usó la enzima del Protein Data Bank que corresponde únicamente al organismo *Mycobacterium tuberculosis*.
- Que posea una resolución cristalográfica igual o menor a 2.0 Å, para obtener mayores detalles respecto a la conformación de la proteína.
- Para la validación del protocolo de acoplamiento molecular, la enzima contaba con su ligando nativo co-cristalizado.

- **De los programas informáticos**

- Los requerimientos de hardware fueron compatibles con el equipo de cómputo disponible para el ensayo. Esto incluye la capacidad de la CPU y la memoria RAM, que garantizaron un rendimiento adecuado de los programas durante el ensayo.
- Los programas utilizados en el ensayo fueron previamente empleados en investigaciones similares y sus resultados, validados.

3.2.7. Criterios de exclusión

- **Del servidor que realizará las predicciones ADMET**
 - Que su uso y acceso sea restringido.
 - Que no haya sido usado previamente en investigaciones publicadas.

3.3. Procedimiento

3.3.1. Obtención de los programas informáticos

Los programas utilizados se pueden descargar desde los sitios web indicados en la Tabla 6. Para la suite de Schrödinger, se usaron las computadoras de LIBIPMET-UNI, que cuenta con una licencia para su uso. Por otro lado, Microsoft Excel 365 fue empleado a través de una cuenta educativa. Es importante destacar que tanto R como RStudio, en sus versiones libres y/o académicas, no requieren licencia para su utilización.

Tabla 6: Programas informáticos usados

Programas	Paquete	Sitio web
Maestro, LigPrep, Protein Preparation Wizard, Glide, Prime y Epik	Schrödinger Release 2024-1	https://www.schrodinger.com/
R version 4.3.3	R Project	https://cran.r-project.org/
RStudio Desktop 2023.12.1+402 Ocean Storm – Open Source Edition	RStudio	https://posit.co/
Microsoft Excel 365	Office 365 Education	https://www.microsoft.com/

Fuente: Elaboración propia.

3.3.2. Obtención de la estructura tridimensional de la shikimato quinasa

Se accedió a la página web del Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), y se descargó la proteína con código 2IYS, conforme a los siguientes filtros de búsqueda:

- TÉRMINO DE BÚSQUEDA: Shikimate kinase AND *open* ³
- FUENTE DEL ORGANISMO: *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv ⁴
- TAXONOMÍA: Bacteria
- TIPO DE POLÍMERO: Proteína
- RESOLUCIÓN: 0.5 a 1.5 Å (Angstroms) ⁵
- CLASIFICACIÓN ENZIMÁTICA: Transferasa

3.3.3. *Obtención de los flavonoides desde la base de datos LIPID MAPS*

Mediante la página web de LIPID MAPS (https://www.lipidmaps.org/lmsd_search/812), accedimos a la información de los 6576 flavonoides disponibles en dicha base de datos. Así, en una hoja de cálculo de Microsoft Excel 365 se reunió los siguientes datos:

- ID del flavonoide
- Nombre sistemático del flavonoide
- Clasificación a la cual pertenece cada flavonoide
- Información estructural en formato SMILES (ya que el servidor ADMETlab 2.0 requiere de este formato para realizar los análisis).

3.3.4. *Determinación de parámetros ADMET de los flavonoides*

Los flavonoides en formato SMILES fueron almacenados en un archivo de texto y posteriormente cargados en el servidor ADMETlab 2.0 desde la página web

³ La conformación “abierta” (*open*, por su traducción al inglés) de la SQ, es aquella donde la enzima está disponible para el ingreso de sustratos, por lo cual el estudio de inhibidores será con esta conformación.

⁴ H37Rv es la cepa más comúnmente empleada, y su secuencia genómica es ampliamente utilizada en todo el mundo como la referencia para MTB [124].

⁵ La resolución es una medida que indica el nivel de detalle presente en el patrón de difracción y cómo se reflejará en el mapa de densidad electrónica. Valores altos de resolución, como 4 Å, indican una menor calidad de resolución, mientras que valores bajos, como 1.5 Å, indican una mejor calidad de resolución [125].

<https://admetmesh.scbdd.com/>. Tras calcular las propiedades ADMET de todos los flavonoides, la información se guardó en una única hoja de cálculo que incluía, entre otros, los valores calculados de los siguientes parámetros:

- Absorción intestinal humana
- Unión a proteínas plasmáticas
- Aclaramiento de fármacos
- Daño hepático inducido por fármacos
- Regla de los 5 de Lipinski
- Regla de Pfizer
- Regla de Glaxo Smith Kline
- Triángulo dorado

3.3.5. Validación del protocolo de acoplamiento molecular y determinación de la energía libre de unión del ligando co-cristalizado

Dado que la estructura de la SQ descargada del Protein Data Bank debe tener su ligando nativo co-cristalizado (la molécula de shikimato), utilizamos el programa Maestro para separar la proteína del ligando nativo, con el fin de reacoplarlo mediante Glide, esperando que la conformación geométrica obtenida sea similar a su forma nativa. Posteriormente, para asegurar que los parámetros del protocolo de acoplamiento molecular reprodujeran la conformación biológica, fue necesario verificar que el valor de la desviación media cuadrática (RMSD) entre la conformación reacoplada y la co-cristalizada fuera inferior a 2 Å, como así es descrito en los trabajos de Ullah *et al.* (2024) [108], y Okoli *et al.* (2021) [109].

Con el objetivo de establecer una medida patrón de la ΔG , mediante el programa Prime se determinó el valor de la energía libre de unión entre el shikimato y la SQ descargada del Protein Data Bank, y posteriormente este valor de ΔG fue usada como referencia para evaluar las energías de unión entre la SQ y los flavonoides.

3.3.6. Preparación de la shikimato kinasa

Previamente al acoplamiento molecular, se llevará a cabo una serie de ajustes en la proteína seleccionada mediante el programa Protein Preparation Wizard [80]. Estos ajustes comprenderán la incorporación de hidrógenos polares ausentes en los aminoácidos, la formación de puentes disulfuro entre residuos, la adición de cadenas laterales de aminoácidos mediante el programa Prime [81], la exclusión de iones innecesarios, moléculas de agua y ligandos irrelevantes. Asimismo, se generarán distintos estados de protonación de los residuos para valores de pH 7.0⁶ con el programa Epik [82,110].

3.3.7. Preparación de los flavonoides

Los flavonoides con los mejores parámetros ADMET, calculados mediante el servidor ADMETlab 2.0, fueron descargados de la base de datos PubChem, donde las estructuras tridimensionales de las moléculas están disponibles de forma gratuita en formato SDF. Estas moléculas fueron preparadas posteriormente mediante el programa LigPrep, aplicando los siguientes parámetros: generación de estados de protonación a pH 7.0 con el programa Epik, minimización de la energía potencial y eliminación de iones innecesarios [110].

3.3.8. Preparación de la caja de búsqueda

Para determinar las coordenadas de la proteína donde se acoplarán los flavonoides, se tomó como referencia el ligando nativo (shikimato co-cristalizado) dentro de la SQ. Mediante el módulo Receptor Grid Generation de Maestro, se calculó las coordenadas del centroide de la caja de búsqueda tomando el ligando nativo como referencia [110].

3.3.9. Acoplamiento molecular

Con el receptor y los ligandos preparados, utilizamos el programa Glide para realizar el acoplamiento de los flavonoides a la SQ, empleando el modo de extra-precisión (Glide XP),

⁶ El valor de pH 7.0 fue seleccionado porque es el nivel en el que MTB crece con normalidad, según lo señalado por Zhang (2003) [126].

seguido de una minimización post-acoplamiento. Las coordenadas previamente calculadas con el módulo Receptor Grid Generation se utilizaron como el centroide de la caja de búsqueda [110].

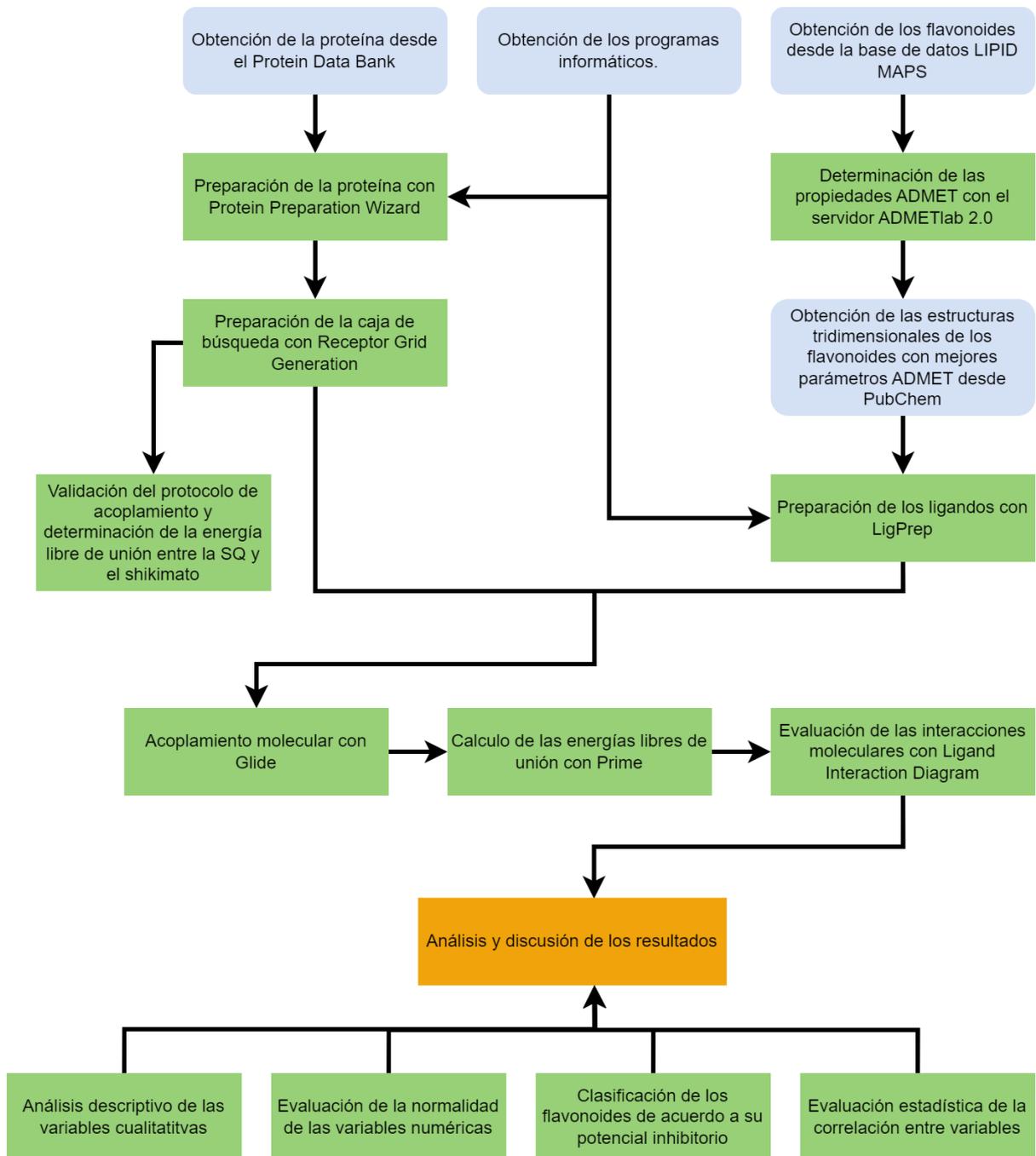
3.3.10. Cálculo de las energías libres de unión

Una vez obtenidos los complejos proteína-flavonoides del procedimiento anterior, mediante el programa Prime se calculó las energías libres aplicando la aproximación MM/GBSA [81]. Finalmente, estos complejos fueron evaluados para determinar las interacciones moleculares predominantes.

3.3.11. Evaluación de las interacciones moleculares

Utilizando el módulo LID de Maestro, se analizaron y examinaron las interacciones moleculares en los complejos generados entre la SQ y los flavonoides [110]. Esta herramienta permitió evaluar la disposición espacial de los ligandos en el sitio activo de la enzima e identificar los residuos clave involucrados en dichas interacciones, determinando su impacto en la afinidad y especificidad del ligando. Finalmente, se registró la cantidad de cada tipo de interacción molecular con los aminoácidos del sitio activo de la SQ.

3.4. Flujograma de la investigación



Fuente: Elaboración propia.

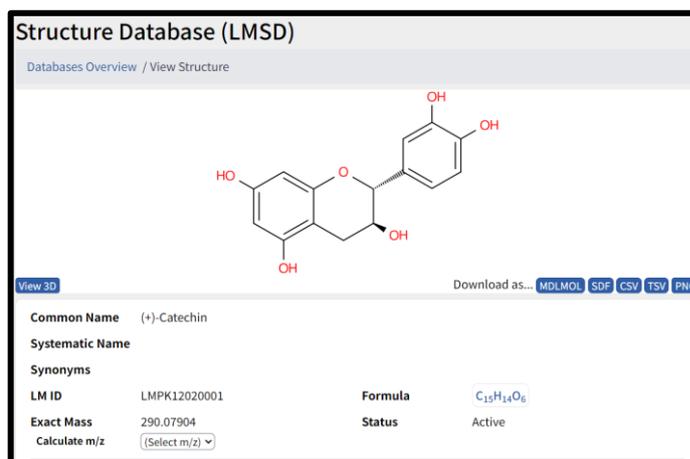
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

- Información de los flavonoides descargado desde la base de datos LIPID MAPS

TÉCNICA: Observación directa

INSTRUMENTO: Hoja de datos del programa Excel

Flavonoides en la base de datos LIPID MAPS



Formato SMILES de los flavonoides en hoja de datos de Excel

	A
1	<chem>C1(O)C=C2[O+]=C(C3=CC(O)=C(O)C(O)=C3)C(O)=CC2=C(O)C=1</chem>
2	<chem>C1(O)C=C2[O+]=C(C3=CC=C(O)C(O)=C3)C(O)=CC2=C(O)C=1</chem>
3	<chem>C1(O)C=C2[O+]=C(C3=CC=C(O)C=C3)C(O)=CC2=C(O)C=1</chem>
4	<chem>C1(O)C=C2[O+]=C(C3=CC(OC)=C(O)C(OC)=C3)C(O)=CC2=C(O)C=1</chem>
5	<chem>C1(O)C=C2[O+]=C(C3=CC(O)=C(O)C(OC)=C3)C(O)=CC2=C(O)C=1</chem>
6	<chem>C1(O)C=C2[O+]=C(C3=CC=C(O)C(OC)=C3)C(O)=CC2=C(O)C=1</chem>
7	<chem>C1(O)=CC2[O+]=C(C3C=CC(O)=CC=3)C(O)[C@H]3[C@@H](O)[C@@H](O)[C@H](O)C2=1</chem>
8	<chem>C1C(C(C(O1)OC2C(C(C(OC2OC3=CC4=C(C=C(C=C4[O+]=C3C5=CC=C(C=C5)O)C@@H)1[C@@H](O)[C@@H](O)[C@@H](O)[C@@H](CO[C@@H]2[C@@H](O)[C@@H](O)C1)C(O)=CC2[O+]=C(C3C=CC(O)=CC=3)C(O)[C@H]3[C@@H](O)[C@@H](O)[C@@H](O)C2=1</chem>
9	<chem>C1(O)=CC2[O+]=C(C3C=CC(O)=CC=3)C(O)[C@H]3[C@@H](O)[C@@H](O)[C@@H](O)C2=1</chem>
10	<chem>C1(O)=CC2[O+]=C(C3C=CC(O)=CC=3)C(O)[C@H]3[C@@H](O)[C@@H](O)[C@@H](O)C2=1</chem>
11	<chem>C1(O)=CC2[O+]=C(C3C=CC(O)=CC=3)C(O)[C@H]3[C@@H](O)[C@@H](O)[C@@H](O)C2=1</chem>

- Parámetros ADMET calculado por el servidor ADMETLab 2.0

TÉCNICA: Observación directa

INSTRUMENTO: Hoja de datos del programa Excel

Interfaz del servidor

ADMETLab 2.0



Resultados de los
parámetros ADMET y
de semejanza a
fármacos, calculados a
partir de su formato
SMILES

ID	AIH	UPP	AF	DHIF	R.S	R.Pf	R.GSK	TD	Nomb_sistem
1	12111973	0.998	90.95791626	-0.607	0.99	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Kaempferol 3-glucos
2	12010210	0.999	94.99367523	-0.551	0.942	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Cyanidin 3-O-[2-O-β
3	12010066	1	89.94355774	-0.545	0.864	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Pelargonidin 3-O-[2-
4	12010204	0.998	92.73786926	-0.39	0.975	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Cyanidin 3-O-[6-O-β
5	12010232	1	84.5692749	-0.386	0.927	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Heavenly blue antho
6	12010323	0.991	90.48974609	-0.247	0.98	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Delphinidin 3-O-[6-O
7	12010271	0.996	91.02301788	-0.238	0.983	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Delphinidin 3-O-[2-O
8	12112449	0.999	84.45162964	-0.196	0.989	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Montbretin A
9	12010203	0.996	94.74816895	-0.092	0.975	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Cyanidin 3-O-[6-O-β
10	12010339	0.987	97.05953217	-0.073	0.959	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Delphinidin 3-O-ruti
11	12112448	0.998	85.41239929	-0.068	0.987	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Montbretin B
12	12010330	0.997	70.81206512	-0.067	0.976	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Ternatin C2
13	12010334	0.995	70.9473114	0	0.971	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Preternatin A3
14	12010364	0.989	87.3401947	0.005	0.978	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Petunidin 3-O-[6-O-β
15	12010272	0.998	88.84091949	0.013	0.985	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Delphinidin 3-O-[2-O
16	12112275	0.99	92.28256226	0.036	0.986	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Capilliposide I
17	12010324	0.994	76.20358276	0.046	0.98	Rechazado	Aceptado	Rechazado	Delphinidin 3-O-[6-O

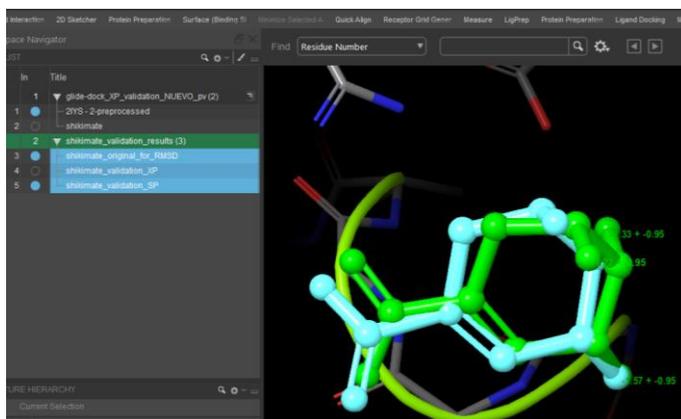
- Determinación del RMSD para la validación del protocolo de acoplamiento molecular

TÉCNICA: Observación directa

INSTRUMENTO: Reporte generado por el programa Glide

Interfaz del programa

Maestro, donde se aprecia los shikimatos nativos y reacoplados. Al costado izquierdo se aprecia el reporte de validación



- Determinación de las energías libres de unión de los flavonoides y la SQ

TÉCNICA: Observación directa

INSTRUMENTO: Reporte generado por el programa Prime

Interfaz de Maestro, donde se encuentran los reportes de energías libres de unión del programa Prime

The screenshot shows the Prime software interface. On the left, there is a 'TRY LIST' table with columns for 'Row', 'In', 'Title', and 'MMGBSA'. The table contains 19 rows of data. On the right, there is a 3D molecular model of a flavonoid molecule, colored in yellow, green, and blue, with some atoms highlighted in red and blue.

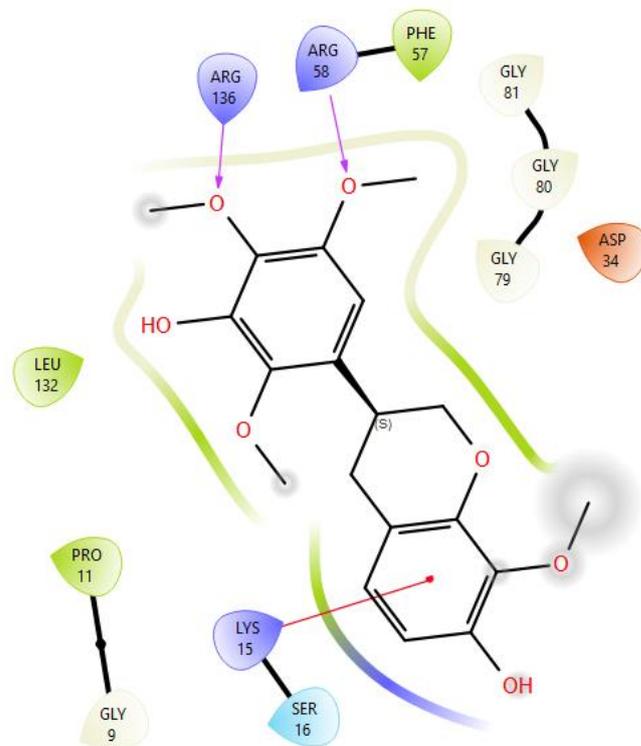
Row	In	Title	MMGBSA
1	○	prime_mmg...	
1	○	-12080002	-41.46
2	○	-12080001	-38.41
3	○	-12080056	-38.31
4	○	-12080057	-37.94
5	○	-12020133	-34.42
6	○	-12020170	-34.20
7	○	-12120463	-34.03
8	○	-12020261	-32.79
9	○	-12020002	-32.31
10	○	-12020203	-32.11
11	○	-12020024	-31.84
12	○	-12120600	-31.52
13	○	-12020177	-31.18
14	○	-12020176	-30.85
15	○	-12020202	-30.48
16	○	-12120606	-30.40
17	○	-12050274	-29.76
18	○	-12020037	-28.95
19	○	-12020182	-28.78

- Análisis de las interacciones moleculares

TÉCNICA: Observación directa

INSTRUMENTO: Hoja de datos del programa Excel

Interacciones moleculares calculadas por el módulo Ligand Interaction Diagram



Evaluación y conteo de interacciones por cada aminoácido

LIPID MAPS ID	Interacciones		
	Aminoácidos relevantes		Otros amin
	Puente de hidrógeno	Interacción Pi-Cation	Puente de hidrógeno
12020001	Asp34*, Gly80	Arg58	
12020002	Lys15, Asp34*	Lys15	Leu10, Ser13, Gly81
12020007	Gly80	Lys15	Leu10
12020024	Lys15, Asp34	Lys15	Leu10, Ser13
12020035	Asp34	Arg58	Gly81
12020037	Asp34, Arg58		Glu61, Gly81
12020133	Lys15, Asp34	Lys15	Leu10
12020138	Asp34, Arg136		
12020166	Lys15, Asp34, Arg136	Lys15	Leu10
12020170	Asp34	Lys15	
12020175	Asp34, Gly80		
12020176	Asp34*, Gly80	Lys15	Leu10
12020177	Gly80, Asp34, Arg58	Arg58	Glu61, Gly81
12020178	Asp34*, Gly80	Lys15	Leu10
12020182	Asp34*, Gly80, Arg136	Lys15	Leu10
12020202	Asp34, Arg58		Glu61, Gly81
12020203	Asp34*, Gly80	Lys15	
12020261	Ser16, Arg58	Lys15	Glu61, Gly81

3.6. Análisis estadístico de los datos

Usando los programas R y RStudio, analizamos los datos de las siguientes formas:

- Realizamos un análisis descriptivo de las propiedades ADMET de la colección completa de flavonoides, así como de los flavonoides seleccionados. Estas propiedades son de naturaleza numérica. En este análisis, presentamos los estadísticos como el promedio, la desviación estándar, la mediana, los valores mínimos y máximos, y el sesgo. Por otro lado, para los datos categóricos utilizamos tablas de frecuencias y/o gráficos de columnas apilados para analizarlos. También aplicamos pruebas de normalidad a los parámetros numéricos para verificar su distribución, y se graficaron histogramas con curvas de densidad para una evaluación visual de la normalidad.
- Se utilizaron pruebas estadísticas para comparar las medias y medianas de los flavonoides con alto potencial inhibitorio (Grupo 1) y bajo potencial inhibitorio (Grupo 2). La elección de la prueba se basó en la normalidad de los datos. Cuando los valores no tenían una distribución normal, se aplicó la prueba no paramétrica de Brunner Munzel. En cambio, cuando los datos seguían una distribución normal, se optó por la prueba t de Student.
- Finalmente, se realizó un análisis para investigar cómo las variables independientes afectan la probabilidad de influir en el potencial inhibitorio. Dado que la variable dependiente es dicotómica y las variables independientes tienen una naturaleza específica, se utilizó el coeficiente de correlación punto-biserial para este propósito.

Capítulo IV

Análisis y discusión de resultados

4.1. Evaluación de los criterios de semejanza a fármacos de la colección de flavonoides de la base de datos LIPID MAPS

4.1.1. Frecuencias y porcentajes de los parámetros calculados por ADMETLab 2.0 de la colección completa de flavonoides

Tabla 7: Frecuencias y porcentajes de los parámetros ADMET evaluados para la colección de 6576 flavonoides (Datos completos reportados por el servidor ADMETLab 2.0 en Anexo 4)

Parámetro	Criterio	N	Frecuencia	Porcentajes	Etiqueta
AIH	AIH \leq 30%	6576	3627	55.16%	Aceptado
	AIH $>$ 30%		2949	44.84%	Rechazado
UPP	UPP \leq 90%	6576	3206	48.75%	Aceptado
	UPP $>$ 90%		3370	51.25%	Rechazado
AF	AF \geq 5 ml/min/kg	6576	3039	46.21%	Aceptado
	AF $<$ 5 ml/min/kg		3537	53.79%	Rechazado
DHIF	DHIF \leq 30%	6576	469	7.13%	Aceptado
	DHIF $>$ 30%		6107	92.87%	Rechazado
R.5	Aceptado	6576	3681	55.98%	Aceptado
	Rechazado		2895	44.02%	Rechazado
R.Pf	Aceptado	6576	5855	89.04%	Aceptado
	Rechazado		721	10.96%	Rechazado
R.GSK	Aceptado	6576	1885	28.66%	Aceptado
	Rechazado		2895	71.34%	Rechazado
TD	Aceptado	6576	4149	63.09%	Aceptado
	Rechazado		2427	36.91%	Rechazado

Leyenda: N: Número de muestras, AIH: Absorción intestinal humana, UPP: Unión a proteínas plasmáticas, AF: Aclaramiento de fármacos, DHIF: Daño hepático inducido por fármacos, R.5: Regla de los 5 de Lipinski, R.Pf: Regla de Pfizer, R.GSK: Regla de Glaxo Smith Kline., TD: Triángulo dorado.

Fuente: Datos recopilados del servidor ADMETLab 2.0

Interpretación

La Tabla 7 presenta las frecuencias y porcentajes de los criterios de semejanza a fármacos, categorizándolos como "Aceptado" o "Rechazado" según los criterios establecidos por el servidor ADMETlab 2.0 [91]. En las primeras cuatro filas se detallan los parámetros numéricos (AIH, UPP, AF y DHIF), mientras que las filas restantes contienen los parámetros categóricos (R.Pf, TD, R.5 y R.GSK). Para una comprensión visual más clara, se proporciona el Gráfico 1.

Gráfico 1: Gráficos 1.a. y 1.b. de columnas 100% apilados para las frecuencias y porcentajes de los criterios de semejanza a fármacos.



Leyenda: N: Número de muestras, AIH: Absorción intestinal humana, UPP: Unión a proteínas plasmáticas, AF: Aclaramiento de fármacos, DHIF: Daño hepático inducido por fármacos, R.5: Regla de los 5 de Lipinski, R.Pf: Regla de Pfizer, R.GSK: Regla de Glaxo Smith Kline., TD: Triángulo dorado.

Fuente: Programa estadístico RStudio 2024.09.1

Interpretación

Los gráficos de columnas 100% apiladas representan proporciones de categorías en relación con el total, facilitando la comparación de frecuencias relativas. Estos gráficos resaltan las proporciones dentro de cada columna, ofreciendo una visión clara de la distribución de datos categóricos [111]. En este contexto, tanto el Gráfico 1.a como el 1.b exhiben las mismas frecuencias y porcentajes, diferenciándose únicamente en el orden de las columnas.

Para el Gráfico 1.a., las primeras 4 columnas representan los datos numéricos, y las restantes son los datos categóricos. Podemos inferir que el parámetro menos restrictivo para valores numéricos es el parámetro de AIH, ya que un 55.16% de la colección total de flavonoides, fueron aceptados, en menor nivel de aceptación le siguen los parámetros de UPP (48.75%) y AF (46.21%), mientras que el más restrictivo fue el DHIF al aceptar únicamente al 7.13% del total de flavonoides. Una interpretación similar se consigue para las 4 columnas finales, que corresponden a los datos categóricos, donde el parámetro menos restrictivo fue la R.Pf al aceptar a un 89.04% de los flavonoides, seguido por el TD (63.09%) y la R.5 (55.98%) de aceptación, y finalmente el más restrictivo para datos categóricos fue R.GSK, aceptando únicamente al 28.66% de las moléculas.

En el Gráfico 1.a, las primeras cuatro columnas representan datos numéricos, mientras que las restantes contienen datos categóricos. Se puede inferir que el parámetro menos restrictivo para los valores numéricos es AIH, ya que aceptó el 55.16% de la colección total de flavonoides. Le siguen en niveles de aceptación más bajos los parámetros UPP (48.75%) y AF (46.21%). Por otro lado, el parámetro más restrictivo fue DHIF, al aceptar solo el 7.13% del total de flavonoides.

Una interpretación análoga se aplica a las cuatro columnas finales, que corresponden a los datos categóricos. En este caso, el parámetro menos restrictivo fue R.Pf, que aceptó el 89.04% de los flavonoides, seguido por TD (63.09%) y R.5 (55.98%). Finalmente, el parámetro más restrictivo para los datos categóricos resultó ser R.GSK, aceptando únicamente el 28.66% de las moléculas.

En el Gráfico 1.b, los parámetros han sido ordenados de acuerdo con sus niveles de aceptación de manera decreciente. De esta manera, podemos observar visualmente que la R.Pf es el parámetro menos restrictivo, al rechazar solo al 10.96% de la colección de flavonoides. En contraste, el parámetro más restrictivo es el DHIF, que rechazó al 92.87% de los flavonoides.

4.1.2. Descripción y prueba de normalidad de los parámetros numéricos calculados por ADMETlab 2.0 de la colección completa de flavonoides

Tabla 8: Análisis descriptivo de los parámetros ADMET numéricos y prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov

Parámetro ADMET	Resultados descriptivos							Valor p
	N	Promedio	DE	Mediana	Min	Max	Sesgo	
AIH (%)	6576	38.01	39.81	14	0.1	100	0.40	< 0.001
UPP (%)	6576	88.21	9.79	90.35	35.92	100	-0.92	< 0.001
AF (ml/min/kg)	6576	5.61	4.44	4.54	0	22.06	0.97	< 0.001
DHIF (%)	6576	83.03	24.47	95.6	1.5	99.5	-1.84	< 0.001

Nivel de significancia: 95%, $\alpha = 0.05$.

Fuente: Programa estadístico RStudio 2024.09.1

Interpretación

La Tabla 8 presenta información estadística relevante para cada uno de los parámetros ADMET considerados. Se incluyen datos como la cantidad de flavonoides analizados ($N = 6576$), el promedio, la desviación estándar, la mediana, los valores mínimos y máximos y el sesgo.

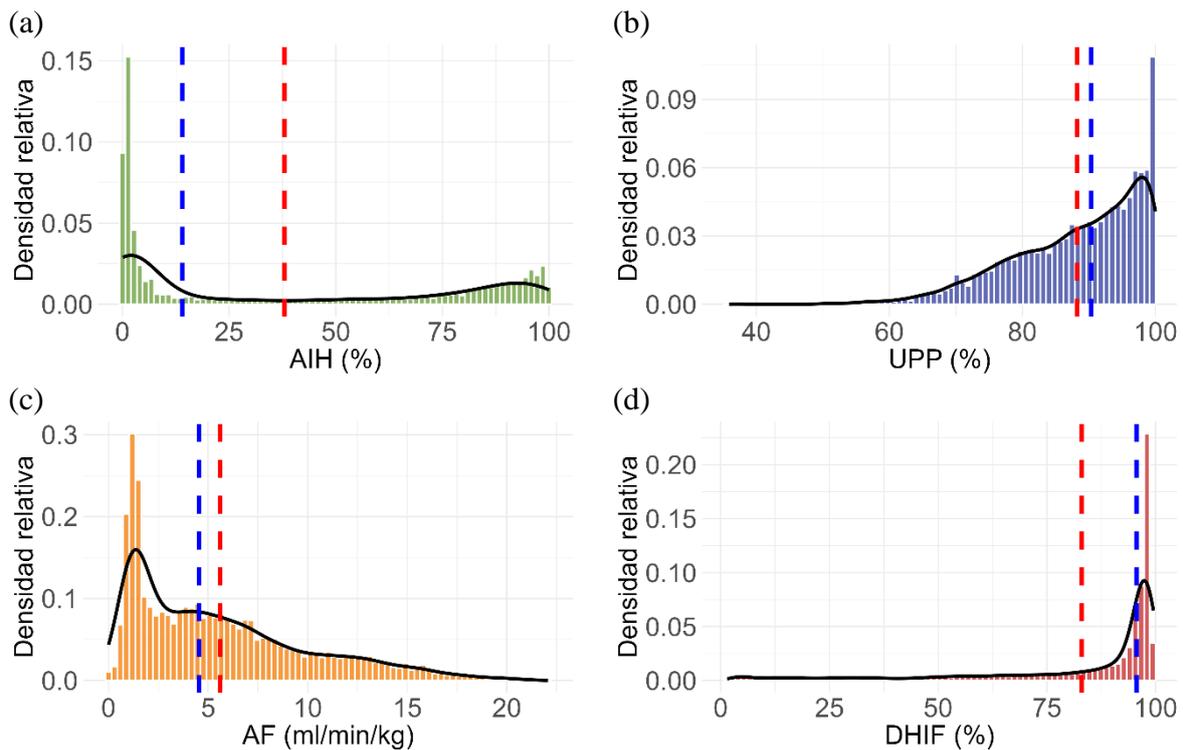
Respecto al análisis de normalidad, la prueba de Kolmogorov-Smirnov (prueba K-S) consiste en comparar la función de distribución acumulada observada de un conjunto de datos con una distribución teórica específica, como la distribución normal para nuestro caso. Esta prueba es recomendable para cuando se analizan más de 50 datos [112], y aplica las siguientes hipótesis:

- Hipótesis nula (H_0): Los datos analizados siguen una distribución normal.
- Hipótesis alternativa (H_1): Los datos analizados no siguen una distribución normal [111].

Con base en los valores de significancia presentados en la Tabla 8, se aprecia que, para cada parámetro (AIH, UPP, AF, DHIF), los valores p son prácticamente cero. Este hallazgo sugiere fuertemente la presencia de evidencia significativa para rechazar la hipótesis nula. En

consecuencia, se acepta la hipótesis alternativa de que los datos no se ajustan a una distribución normal.

Gráfico 2: Histogramas y curvas de densidad para parámetros ADMET numéricos de la colección de flavonoides



Leyenda: AIH: Absorción intestinal humana, UPP: Unión a proteínas plasmáticas, AF: Aclaramiento de fármacos, DHIF: Daño hepático inducido por fármacos. Las líneas de color rojo y azul representan el promedio y mediana, respectivamente.

Fuente: Programa estadístico RStudio 2024.09.1

Interpretación

Según el Gráfico 2, al analizar el sesgo que cuantifica la asimetría en la distribución de los datos [111], observamos en la Tabla 8 que los parámetros de AIH (0.4) y AF (0.97) presentan un sesgo positivo, indicando una mayor acumulación de los datos hacia el lado izquierdo. Este patrón puede corroborarse visualmente en los gráficos 2a y 2c. Por otro lado, los parámetros UPP (-0.92) y DHIF (-1.84) presentan un sesgo negativo, señalando una acumulación de los datos hacia el lado derecho, lo cual es evidente en los gráficos 2b y 2d. Los valores de sesgo y

la inspección visual de los histogramas en el Gráfico 2 confirman una distribución no normal en los datos. Esta conclusión se respalda además por la prueba de Kolmogorov-Smirnov y sus valores de p, como se indica en la Tabla 8.

Respecto a las líneas punteadas en los histogramas, su separación indica asimetría en la distribución de datos. En los gráficos 2a y 2c, se observa que el promedio (rojo) supera a la mediana (azul), señalando un sesgo positivo; en contraste, en 2b y 2d, el promedio es menor que la mediana, indicando un sesgo negativo. Esta interpretación se vincula con los valores de sesgo calculados en la Tabla 8 [111].

4.1.3. Selección de los flavonoides con mejores criterios de semejanza a fármacos

Después de obtener la tabla de resultados totales (Anexo 3), se procedió a filtrar los flavonoides que cumplían todos los criterios de semejanza a fármacos establecidos para la investigación, utilizando instrucciones de filtrado implementados en RStudio (Anexo 1). Como resultado, se identificaron un total de 29 flavonoides (0.44% de toda la colección) que cumplían con todos los criterios requeridos, detallados en la siguiente tabla.

Tabla 9: Flavonoides seleccionados conforme a los criterios de semejanza a fármacos establecidos.

#	LIPID MAPS ID	AIH (%)	UPP (%)	AF (ml/min/kg)	DHIF (%)	R-5	R-Pf	R-GSK	TD
1	12020001	3.5	89.23	17.301	7.0	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
2	12020002	9.6	88.61	16.047	12.3	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
3	12020007	1.1	89.92	15.777	4.2	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
4	12020024	1.9	84.45	13.822	4.7	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
5	12020035	1.7	88.86	15.075	4.3	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
6	12020037	1.5	89.00	16.739	5.6	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
7	12020133	2.2	89.43	14.64	8.6	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
8	12020138	0.8	89.49	11.824	15.0	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
9	12020166	5.3	85.69	15.747	4.5	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado

La tabla continúa en la siguiente página

Tabla 9 (Continuación)

#	LIPID MAPS ID	AIH (%)	UPP (%)	AF (ml/min/kg)	DHIF (%)	R-5	R-Pf	R-GSK	TD
10	12020170	18.6	86.79	17.691	8.3	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
11	12020175	3.2	87.90	10.006	4.1	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
12	12020176	3.7	89.99	10.52	4.9	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
13	12020177	4.5	87.53	11.06	4.7	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
14	12020178	6.3	89.16	15.36	6.4	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
15	12020182	3.4	88.75	15.993	10.0	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
16	12020202	21.3	89.09	13.397	26.5	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
17	12020203	9.7	88.53	14.654	25.5	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
18	12020261	3.5	86.79	7.327	4.7	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
19	12050274	2.4	88.27	7.016	29.5	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
20	12080001	0.6	82.31	7.209	4.1	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
21	12080002	0.8	87.74	8.485	3.6	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
22	12080056	5.3	88.79	6.438	4.4	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
23	12080057	2.5	84.22	6.412	4.1	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
24	12120411	1.2	69.28	13.574	12.1	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
25	12120463	0.5	89.13	11.025	21.3	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
26	12120600	0.6	84.41	12.855	12.0	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
27	12120603	0.9	84.29	12.91	12.1	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
28	12120606	5.3	86.22	15.294	8.3	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado
29	12120608	0.8	86.48	11.71	19.1	Aceptado	Aceptado	Aceptado	Aceptado

Fuente: Datos recopilados del servidor ADMETLab 2.0

Interpretación

La Tabla 9 muestra los flavonoides que cumplen todos los criterios de semejanza a fármacos necesarios para la investigación. En la segunda columna se encuentra el identificador de la molécula en la base de datos LIPID MAPS. Las columnas de la tercera a la sexta muestran los parámetros ADMET numéricos calculados, mientras que las columnas de la séptima a la décima contienen los parámetros categóricos. Los valores obtenidos se encuentran dentro de los criterios esperados.

4.1.4. Descripción y prueba de normalidad de los parámetros numéricos calculados por ADMETlab 2.0 de los flavonoides con mejores criterios de semejanza a fármacos

Tabla 10: Análisis descriptivo de los parámetros ADMET numéricos y prueba de normalidad de Shapiro-Wilk.

Parámetro ADMET	Resultados descriptivos							Valor p
	N	Promedio	DE	Mediana	Min	Max	Sesgo	
AIH (%)	29	4.23	5.01	2.50	0.50	21.30	2.15	< 0.001
UPP (%)	29	86.91	3.95	88.27	69.28	89.99	-3.06	< 0.001
AF (ml/min/kg)	29	12.62	3.48	13.40	6.41	17.69	-0.44	0.043
DHIF (%)	29	10.07	7.51	7.00	3.60	29.50	1.25	< 0.001

Nivel de significancia: 95%, $\alpha = 0.05$.

Fuente: Programa estadístico RStudio 2024.09.1

Interpretación

La Tabla 10 presenta información estadística relevante para cada uno de los parámetros ADMET de los flavonoides que tuvieron mejores criterios de semejanza a fármacos. Se incluyen datos como la cantidad de flavonoides analizados ($N = 29$), el promedio, la desviación estándar, la mediana, los valores mínimos y máximos y el sesgo. No se analizaron los parámetros ADMET categóricos, ya que para todos los casos presentaron el mismo resultado.

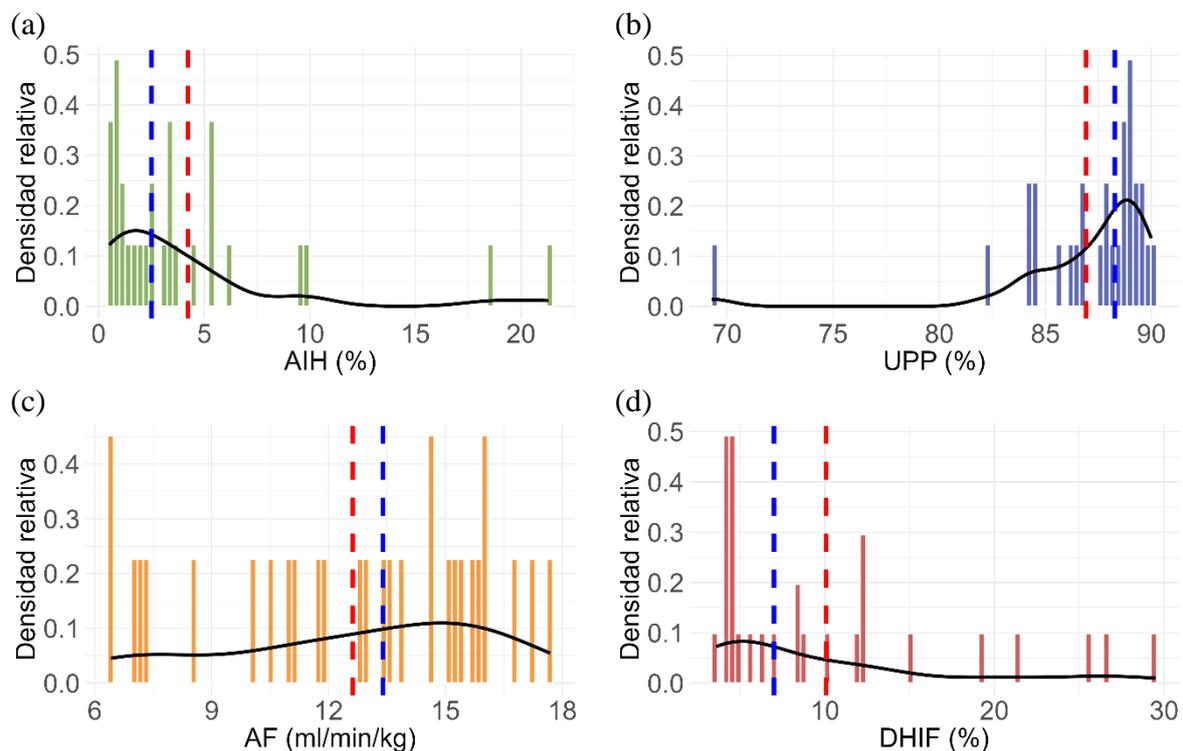
Respecto al análisis de normalidad, la prueba de Shapiro-Wilk consiste en comparar la función de distribución acumulada observada de un conjunto de datos con una distribución teórica específica, como la distribución normal para nuestro caso. Esta prueba es recomendable para cuando se analizan menos de 50 datos [112], y considera las siguientes hipótesis:

- Hipótesis nula (H_0): Los datos analizados siguen una distribución normal.
- Hipótesis alternativa (H_1): Los datos analizados no siguen una distribución normal [111].

Con base en los valores de significancia presentados en la Tabla 10, se aprecia que, para los parámetros AIH, UPP, y DHIF, los valores p son prácticamente cero, mientras que el valor p

de AF igualmente se encuentra por debajo del nivel de significancia establecido de 0.05. Estos valores muestran evidencia significativa para rechazar la hipótesis nula. En consecuencia, se acepta la hipótesis alternativa de que los datos no se ajustan a una distribución normal.

Gráfico 3: Histogramas y curvas de densidad para parámetros ADMET numéricos de los flavonoides seleccionados



Leyenda: AIH: Absorción intestinal humana, UPP: Unión a proteínas plasmáticas, AF: Aclaramiento de fármacos, DHIF: Daño hepático inducido por fármacos. Las líneas de color rojo y azul representan el promedio y mediana, respectivamente.

Fuente: Programa estadístico RStudio 2024.09.1

Interpretación

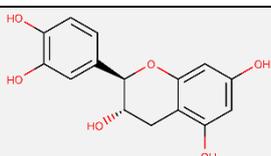
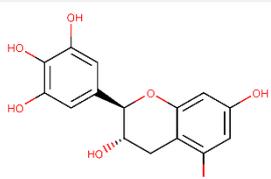
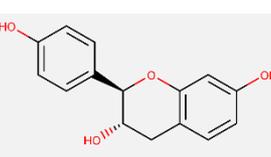
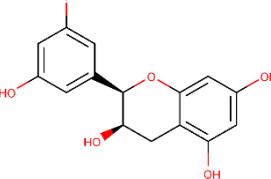
Según el Gráfico 3, al analizar el sesgo que cuantifica la asimetría en la distribución de los datos [111], observamos en la Tabla 10 que los parámetros de AIH (2.15) y DHIF (1.25) presentan un sesgo positivo, indicando una acumulación de los datos hacia el lado izquierdo. Este patrón puede corroborarse visualmente en los gráficos 3a y 3d. Por otro lado, los parámetros de UPP (-3.06) y AF (-0.44) presentan un sesgo negativo, señalando una

acumulación de los datos hacia el lado derecho, lo cual es evidente en los gráficos 3b y 3c. Los valores de sesgo y la inspección visual de los histogramas en el Gráfico 3 confirman una distribución no normal en los datos. Esta conclusión se respalda además por la prueba de Shapiro-Wilk y sus valores de p, como se indica en la Tabla 10.

Respecto a las líneas punteadas en los histogramas, su separación indica asimetría en la distribución de datos. En los gráficos 3a y 3d, se observa que el promedio (rojo) es mayor que la mediana (azul), señalando un sesgo positivo; en contraste, en 3b y 3c, el promedio es menor que la mediana, indicando un sesgo negativo. Esta interpretación se vincula con los valores de sesgo calculados en la Tabla 10 [111].

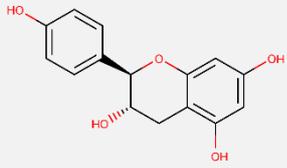
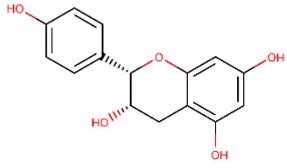
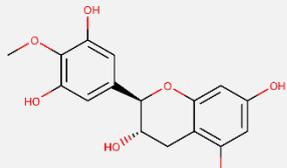
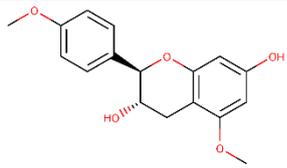
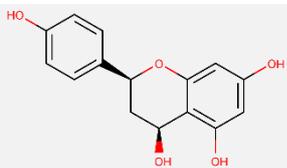
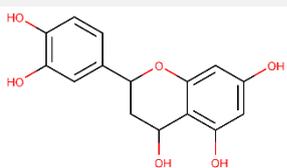
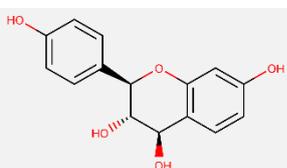
4.1.5. Descripción y clasificación de los flavonoides con mejores criterios de semejanza a fármacos

Tabla 11: Características de los flavonoides seleccionados, reportados por PubChem

#	LIPID MAPS ID	Nombre común o sistemático	Subgrupo	Estructura	PubChem ID
1	12020001	Catequina	Flavanol (Flavan-3-ol)		9064
2	12020002	Galocatequina	Flavanol (Flavan-3-ol)		65084
3	12020007	Guiburtinidol	Flavanol (Flavan-3-ol)		9878329
4	12020024	(2R,3R)-3,5,7,3',5'-pentahydroxiflavan	Flavanol (Flavan-3-ol)		44257055

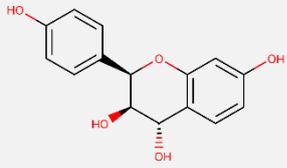
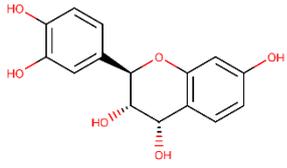
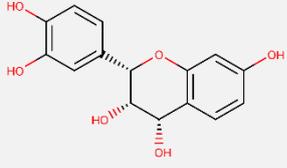
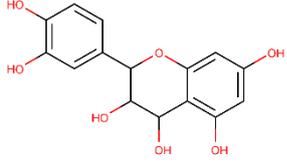
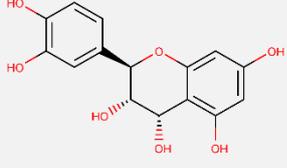
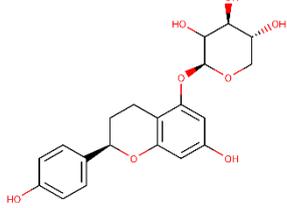
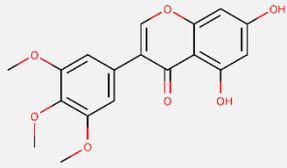
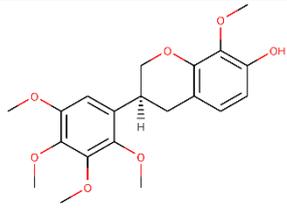
La tabla continúa en la siguiente página

Tabla 11 (Continuación)

#	LIPID MAPS ID	Nombre común o sistemático	Subgrupo	Estructura	PubChem ID
5	12020035	Afzelequina	Flavanol (Flavan-3-ol)		442154
6	12020037	(+)-Epiáfzelequina	Flavanol (Flavan-3-ol)		12309491
7	12020133	Galocatequina 4'-metil éter	Flavanol (Flavan-3-ol)		44257120
8	12020138	Afzeliquina 5,4'-dimetil éter	Flavanol (Flavan-3-ol)		44257123
9	12020166	Apiferol	Flavanol (Flavan-4-ol)		185795
10	12020170	Luteoforol	Flavanol (Flavan-4-ol)		114505
11	12020175	Guiburtinidol-4-alfa-ol	Flavanol (Flavan-3,4-diol)		13886896
12	12020176	Epiguiburtinidol-4-alfa-ol	Flavanol (Flavan-3,4-diol)		13886898

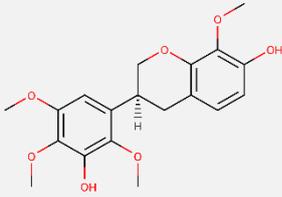
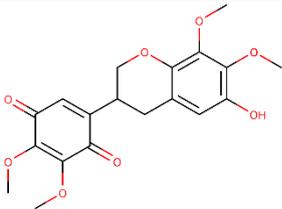
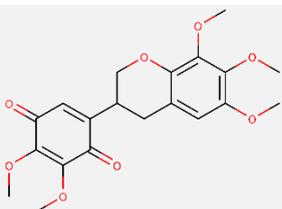
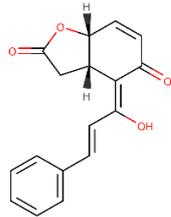
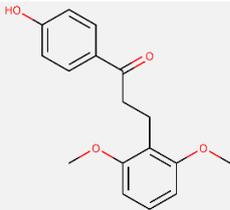
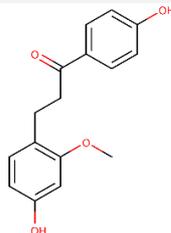
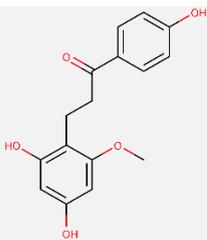
La tabla continúa en la siguiente página

Tabla 11 (Continuación)

#	LIPID MAPS ID	Nombre común o sistemático	Subgrupo	Estructura	PubChem ID
13	12020177	Epiguiburtinidol-4-beta-ol	Flavanol (Flavan-3,4-diol)		13886895
14	12020178	Fisetinidol-4-beta-ol	Flavanol (Flavan-3,4-diol)		442398
15	12020182	ent-Epifisetinidol-4-beta-ol*	Flavanol (Flavan-3,4-diol)		44257142
16	12020202	Leucocianidina	Flavanol (Flavan-3,4-diol)		71629
17	12020203	Leucocianidol	Flavanol (Flavan-3,4-diol)		440833
18	12020261	Apigeniflavan 5-O-xilósido	Flavanol glicosilado		44257188
19	12050274	Panchovillina	Isoflavona		21676203
20	12080001	(3S)-7-hidroxi-2',3',4',5',8-pentametoxiisoflavano	Isoflavona		471694

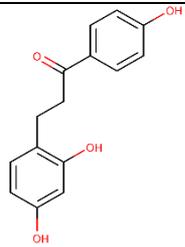
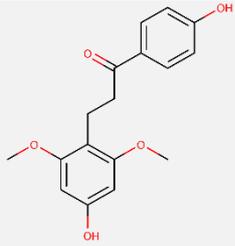
La tabla continúa en la siguiente página

Tabla 11 (Continuación)

#	LIPID MAPS ID	Nombre común o sistemático	Subgrupo	Estructura	PubChem ID
21	12080002	(3S)-3',7-dihidroxi-2',4',5',8-tetrametoxiisoflavano	Isoflavana		471695
22	12080056	Abruquinona C	Isoflavana		44257520
23	12080057	Abruquinona B	Isoflavana		44257521
24	12120411	Criptocariona	Dihidrochalcona		42607660
25	12120463	Cochinchinenina A	Dihidrochalcona		42607673
26	12120600	Loueirina C	Dihidrochalcona		14157896
27	12120603	Loueirina D	Dihidrochalcona		13939318

La tabla continúa en la siguiente página

Tabla 11 (Continuación)

#	LIPID MAPS ID	Nombre común o sistemático	Subgrupo	Estructura	PubChem ID
28	12120606	2,4,4'-Trihidroxi-dihidrochalcona	Dihidrochalcona		10801179
29	12120608	4,4'-Dihidroxi-2,6-dimetoxi-dihidrochalcona	Dihidrochalcona		10424988

* El prefijo *ent-* (una forma contraída de *enantiómero*), nos indica que para una molécula existe otra químicamente idéntica, y que difieren entre sí como imágenes especulares no superponibles. Por ejemplo, el caso del kaureno y el *ent*-kaureno [113].

Fuente: Datos recopilados de la base de datos química PubChem

Interpretación

La Tabla 11 contiene información sobre los flavonoides que cumplían todos los parámetros ADMET. A partir de la tercera columna se incluye el nombre común o sistemático del flavonoide (según su disponibilidad), subgrupo, estructura química en 2D y el identificador en PubChem.

Análisis y discusión

Los resultados revelan la presencia de moléculas que se clasifican en algunos subgrupos de flavonoides identificados por Lou *et al.* (2021), como consecuencia de las modificaciones estructurales que exhiben. En la Tabla 11, los elementos del 1 al 8 se han identificado como flavan-3-oles debido a la presencia de un grupo hidroxilo en el carbono 3 del anillo C. Los elementos 9 y 10 se han categorizado como flavan-4-oles debido al grupo hidroxilo en el

carbono 4 del anillo C. Los elementos del 11 al 17 se han designado como flavan-3,4-dioles debido a la presencia de dos grupos hidroxilos en los carbonos 3 y 4 del mencionado anillo. Estos subgrupos mencionados comúnmente también se conocen de manera general como flavanoles [32].

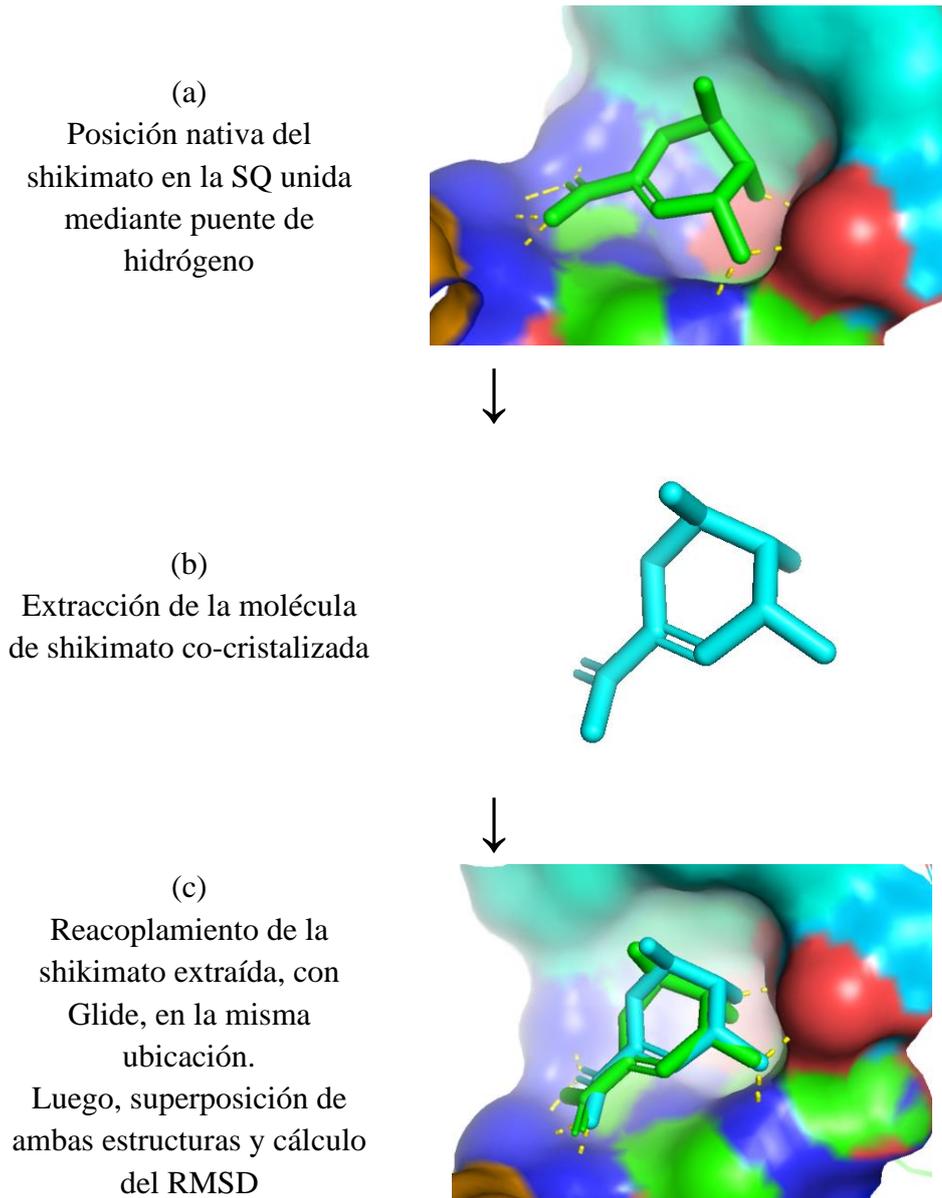
En el ítem 18, se observa una modificación glicosilada de un flavonoide que, a pesar de su similitud con un flavan-3-ol, se distingue por la ausencia del grupo hidroxilo en el carbono 3 del anillo C. Además, en el carbono 5 del anillo A, uno de sus hidrógenos fue reemplazado por un glicósido. Aunque esta molécula presenta glicosilación, sigue siendo clasificada como un flavonoide, según lo descrito por Aslam *et al.* (2016) [114].

Agrupados bajo la categoría comúnmente conocida como isoflavonoides, el ítem 19 se clasifica como una isoflavona, mientras que los ítems 20 al 23 se identifican como isoflavanas [32]. Por otro lado, el caso del ítem 24 es excepcional debido a la sustitución del grupo fenilo en el anillo A por un grupo benzofuranona, aunque aún con estas modificaciones se considera una dihidrochalcona, tal como se describe en los estudios llevados a cabo por Yu Chen *et al.* (2022) [115] y Yi Chen *et al.* (2010) [116]. Respecto a los ítems 25 al 29, mantienen una estructura que los califica como dihidrochalconas, corroborando el trabajo de Lou *et al.* (2021) [32].

4.2. Acoplamiento molecular entre los flavonoides y la shikimato quinasa

4.2.1. Validación del protocolo de acoplamiento molecular

Ilustración 7: Estructuras tridimensionales del shikimato nativo cristalizado y del shikimato reacoplado



Legenda: La estructura en color celeste, representa al shikimato nativo cristalizado, mientras que el verde, a la molécula reacoplada.

Fuente: Programa informático Glide

Interpretación

La ilustración 7 muestra las estructuras superpuestas de la molécula control, shikimato, en su posición cristalizada (celeste), y la conformación reacomplada (verde), conforme al resultado del programa Glide. Para el centroide de la caja de búsqueda se usaron las coordenadas X=14.63, Y=19.86 y Z=34.19

Análisis y discusión

Con el programa Maestro, analizamos el valor de RMSD entre el shikimato nativo y el reacomplado, obteniendo un valor de 1.0795 Å. Esta diferencia, al ser menor a 2 Å, indica que los parámetros de acoplamiento molecular utilizados por Glide serían adecuados para el experimento, ya que lograrían reproducir con precisión la conformación geométrica del ligando en su posición biológicamente activa [16,19].

En investigaciones similares con la SQ de MTB, Vianna y de Azevedo (2012) [19] emplearon el programa MOLDOCK para reacomplar el shikimato nativo como validación del protocolo, obteniendo un valor de RMSD de 1.6 Å. Además, en el estudio llevado a cabo por Freitas de Freitas *et al.* (2022) [16], utilizando el programa AutoDock Vina 1.1.2, reacomplaron igualmente la shikimato y obtuvieron un RMSD de 0.77 Å. En ambos casos, los valores fueron menores a 2 Å.

Este proceso de validación asegura que las simulaciones de acoplamiento representen con precisión las interacciones entre los ligandos y la enzima, brindando información sobre posibles inhibidores y el desarrollo de fármacos dirigidos a la SQ.

4.2.2. Acoplamiento molecular entre la shikimato quinasa y los flavonoides con mejores criterios de semejanza a fármacos

Tabla 12: Energías libre de unión (ΔG), calculado por el método MM/GBSA, tanto para los flavonoides seleccionados, como para el shikimato (control)

Item	LIPID MAPS ID	Nombres común o sistemático	ΔG (kcal/mol)	Potencial
1	12080002	(3S)-3',7-dihidroxi-2',4',5',8-tetrametoxiisoflavano	-41.46	Alto
2	12080001	(3S)-7-hidroxi-2',3',4',5',8-pentametoxiisoflavano	-38.41	Alto
3	12080056	Abruquinona C	-38.31	Alto
4	12080057	Abruquinona B	-37.94	Alto
5	12020133	Galocatequina 4'-metil éter	-34.42	Alto
6	12020170	Luteoforol	-34.20	Alto
7	12120463	Cochinchinenina A	-34.03	Alto
8	12020261	Apigeniflavan 5-O-xilósido	-32.79	Alto
9	12020002	Galocatequina	-32.31	Alto
10	12020203	Leucocianidol	-32.11	Alto
11	12020024	(2R,3R)-3,5,7,3',5'-pentahidroxi-flavan	-31.84	Alto
12	12120600	Loureirina C	-31.52	Alto
13	12020177	Epiguiburtinidol-4-beta-ol	-31.18	Alto
14	12020176	Epiguiburtinidol-4-alfa-ol	-30.85	Alto
15	12020202	Leucocianidina	-30.48	Alto
16	12120606	2,4,4'-Trihidroxi-dihidrochalcona	-30.40	Alto
17	12050274	Panchovillina	-29.76	Alto
18	12020037	(+)-Epiáfzelequina	-28.95	Alto
19	12020182	ent-Epifisetinidol-4-beta-ol	-28.78	Alto
20	12020178	Fisetinidol-4-beta-ol	-28.74	Alto
21	12020166	Apiferol	-28.35	Alto
22	12020175	Guiburtinidol-4-alfa-ol	-27.07	Alto
23	12020001	Catequina	-26.52	Alto
24	12020035	Afzelequina	-25.48	Alto
25	12120608	4,4'-Dihidroxi-2,6-dimetoxi-dihidrochalcona	-25.05	Alto
Shikimato (Control)			-21.99	
26	12020138	Afzeliquina 5,4'-dimetil éter	-20.33	Bajo
27	12120411	Criptocariona	-19.72	Bajo
28	12020007	Guiburtinidol	-18.86	Bajo
29	12120603	Loureirina D	-15.44	Bajo

Fuente: Valores de ΔG calculados por el programa informático Prime

Interpretación

En la Tabla 12 se presentan los valores de ΔG calculados con el programa Prime para los 29 flavonoides que presentan los mejores criterios de semejanza a los fármacos de la base de datos LIPID MAPS. Estos valores se comparan con el ΔG de la shikimato cristalizada, que se utiliza como control.

Después de analizar esta comparación, se categorizan los flavonoides en dos grupos: aquellos con un potencial inhibitorio alto (86.2% de los datos), que superan el valor de ΔG del shikimato, y aquellos con un potencial inhibitorio bajo (13.8% de los datos), que muestran valores más bajos de ΔG . Este método de clasificación, basado en los valores de energía libre de unión del ligando nativo cristalizado, también se utilizó en las investigaciones previas de Abdjan *et al.* (2020) [106] y Xie *et al.* (2023) [107].

Análisis y discusión

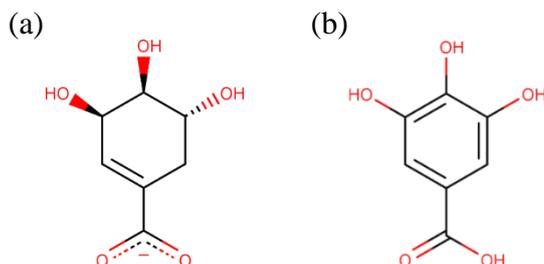
Al revisar la literatura, no se hallaron trabajos previos que investigaran la capacidad inhibitoria in silico de flavonoides frente a la enzima SQ utilizando el método MM/GBSA.

Para el caso de la shikimato quinasa, únicamente un trabajo desarrollado por Divyashri y sus colaboradores (2021) [17], evaluaron mediante MM/GBSA la energía libre unión del ácido gálico frente a la SQ de *H. pylori*. Para nuestra discusión, la SQ de *M. tuberculosis* y de *H. pylori* cumplen la misma función de convertir shikimato a shikimato-3-fosfato usando ATP como cosustrato [117].

En la investigación de Divyashri y sus colaboradores (2020) [17], el ácido gálico presentó un ΔG de -35.82 kcal/mol, mientras que, en nuestro estudio, el shikimato alcanzó un ΔG de -21.99 kcal/mol. Estos valores indican que el ácido gálico podría tener una mayor afinidad de unión que el shikimato. Sin embargo, al analizar las estructuras de ambas moléculas en la ilustración 8, observamos que el ácido gálico presenta un grupo hidroxilo en su grupo carboxílico en la posición C7 a pH 7.4, mientras que el shikimato, en las mismas condiciones de pH, tiene su grupo carboxilato estabilizado por resonancia con carga negativa (-1). Esta diferencia estructural sugiere que el grupo hidroxilo del ácido gálico podría favorecer la formación de puentes de hidrógeno, cuyas energías de interacción varían entre 2 y 40 kcal/mol, tal como lo

menciona Frey (2013) [118]. Con ello, se podría justificar la mejor interacción del ácido gálico frente al shikimato, en el sitio activo de la SQ.

Ilustración 8: Estructuras del (a) shikimato y (b) ácido gálico a pH 7.4.



Fuente: Divyashri *et al.* (2020) [17]

4.2.3. Descripción y prueba de normalidad de los valores de ΔG de los flavonoides con mejores criterios de semejanza a fármacos

Tabla 13: Análisis descriptivo de los valores de ΔG de los flavonoides seleccionados

ΔG	Resultados descriptivos							Valor p
	N	Promedio	DE	Mediana	Min	Max	Sesgo	
Kcal/mol	29	-29.8379	6.037	-30.48	-41.46	-15.44	0.488	0.3783

Nivel de significancia: 95%, $\alpha = 0.05$

Fuente: Programa estadístico RStudio 2024.09.1

Interpretación

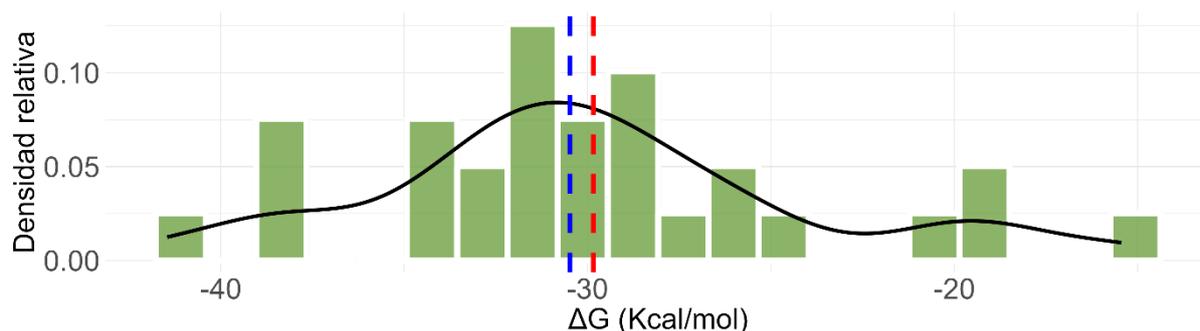
La Tabla 13 presenta información estadística relevante para los valores calculados de ΔG por el método MM/GBSA. Incluye la cantidad de flavonoides ($N = 29$), el promedio, la desviación estándar, la mediana, los valores mínimos y máximos, y el sesgo.

Respecto al análisis de normalidad, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk, ya que es aplicable cuando se analizan menos de 50 datos [112]. Esta prueba asume las siguientes hipótesis:

- Hipótesis nula (H_0): Los datos analizados provienen de una distribución normal.
- Hipótesis alternativa (H_1): Los datos analizados no provienen de una distribución normal.

El valor de significancia presentado en la Tabla 13 (0.3783), es mayor que el nivel de significancia de 0.05. Esto significa que se acepta la hipótesis nula y, por tanto, concluir que los datos provienen de una distribución normal [111].

Gráfico 4: Histogramas y curvas de densidad para los valores de ΔG de los flavonoides seleccionados.



Leyenda: Las líneas de color rojo y azul representan el promedio y mediana, respectivamente.

Fuente: Programa estadístico RStudio 2024.09.1

Interpretación

En el Gráfico 4, se aprecia una acumulación casi simétrica de los datos en torno a valores centrales, lo cual es verificado por el valor de sesgo (0.488) reportado en la Tabla 13. Conforme a literatura, un valor de sesgo entre -0.5 y 0.5 puede considerar que los datos son prácticamente simétricos [111]. De igual forma, la separación entre las líneas de promedio (roja) y mediana (azul) es relativamente pequeña, lo cual verifica una simetría en la distribución de los valores de ΔG .

Los valores de sesgo y la inspección visual de los histogramas en el Gráfico 4 confirman una distribución normal en los datos. Esta conclusión se respalda además por la prueba de Shapiro-Wilk y su valor de p , como se indica en la Tabla 13.

4.3. Interacciones moleculares entre los flavonoides seleccionados y la shikimato quinasa

4.3.1. Interacciones específicas evaluadas mediante el módulo Ligand Interaction Diagram

Tabla 14: Tipos de interacciones moleculares entre los flavonoides seleccionados y los aminoácidos involucrados de la SQ de MTB

Item	LIPID MAPS ID	Nombre común o sistemático	Interacciones moleculares				Int. AA. relevantes	Int. Otros AA.	Int. totales
			Aminoácidos relevantes		Otros aminoácidos				
			Puentes de hidrógeno	Interacciones Pi-Catión	Apilamiento pi-pi	Puentes de hidrógeno			
1	12020001	Catequina	Asp34* Gly80	Arg58	Phe49		5	0	5
2	12020002	Galocatequina	Ser13 Lys15 Asp34* Gly81	Lys15		Leu10	6	1	7
3	12020007	Guiburtinidol	Gly80	Lys15		Leu10	2	1	3
4	12020024	(2R,3R)-3,5,7,3',5'- pentahidroxiflavan	Ser13 Lys15 Asp34	Lys15		Leu10	4	1	5
5	12020035	Afzelequina	Asp34 Gly81	Arg58	Phe49		4	0	4

La tabla continúa en la siguiente página

Tabla 14 (Continuación)

Item	LIPID MAPS ID	Nombre común o sistemático	Interacciones moleculares				Int. AA. relevantes	Int. Otros AA.	Int. totales
			Puentes de hidrógeno	Interacciones Pi-Catión	Apilamiento pi-pi	Otros aminoácidos Puentes de hidrógeno			
6	12020037	(+)-Epiafzelequina	Asp34 Arg58 Glu61 Gly81		Phe49		5	0	5
7	12020133	Galocatequina 4'-metil éter	Lys15 Asp34	Lys15		Leu10	3	1	4
8	12020138	Afzeliquina 5,4'-dimetil éter	Asp34 Arg136				2	0	2
9	12020166	Apiferol	Lys15 Asp34 Arg136	Lys15		Leu10	4	1	5
10	12020170	Luteoforol	Asp34	Lys15			2	0	2
11	12020175	Guiburtinidol-4-alfa-ol	Asp34 Gly80				2	0	2
12	12020176	Epiguiburtinidol-4-alfa-ol	Asp34* Gly80	Lys15		Leu10	4	1	5

La tabla continúa en la siguiente página

Tabla 14 (Continuación)

Item	LIPID MAPS ID	Nombre común o sistemático	Interacciones moleculares							
			Puentes de hidrógeno	Aminoácidos relevantes		Otros aminoácidos		Int. AA. relevantes	Int. Otros AA.	Int. totales
				Interacciones Pi-Catión	Apilamiento pi-pi	Puentes de hidrógeno				
13	12020177	Epiguiburtinidol-4-beta-ol	Asp34 Arg58 Glu61 Gly80 Gly81	Arg58			6	0	6	
14	12020178	Fisetinidol-4-beta-ol	Asp34* Gly80	Lys15		Leu10	4	1	5	
15	12020182	ent-Epifisetinidol-4-beta-ol	Asp34* Gly80 Arg136	Lys15		Leu10	5	1	6	
16	12020202	Leucocianidina	Asp34 Arg58 Glu61 Gly81		Phe49		5	0	5	
17	12020203	Leucocianidol	Asp34* Gly80	Lys15			4	0	4	

La tabla continúa en la siguiente página

Tabla 14 (Continuación)

Item	LIPID MAPS ID	Nombre común o sistemático	Interacciones moleculares						
			Aminoácidos relevantes			Otros aminoácidos			
			Puentes de hidrógeno	Interacciones Pi-Catión	Apilamiento pi-pi	Puentes de hidrógeno	Int. AA. relevantes	Int. Otros AA.	Int. totales
18	12020261	Apigeniflavan 5-O-xilósido	Ser16 Arg58 Glu61 Gly81	Lys15			5	0	5
19	12050274	Panchovillina	Lys15 Asp34 Arg58 Gly80 Arg136				5	0	5
20	12080001	(3S)-7-hidroxi-2',3',4',5',8- pentametoxiisoflavano	Arg58 Arg136				2	0	2
21	12080002	(3S)-3',7-dihidroxi-2',4',5',8- tetrametoxiisoflavano	Arg58 Arg136	Lys15			3	0	3
22	12080056	Abruquinona C	Arg58* Gly80 Gly81 Arg136				5	0	5

La tabla continúa en la siguiente página

Tabla 14 (Continuación)

Item	LIPID MAPS ID	Nombre común o sistemático	Interacciones moleculares						Int. AA. relevantes	Int. Otros AA.	Int. totales
			Aminoácidos relevantes			Otros aminoácidos					
			Puentes de hidrógeno	Interacciones Pi-Catión	Apilamiento pi-pi	Puentes de hidrógeno					
23	12080057	Abruquinona B	Arg58* Gly80 Gly81					4	0	4	
24	12120411	Criptocariona						0	0	0	
25	12120463	Cochinchinenina A	Arg58 Gly81		Phe49			3	0	3	
26	12120600	Loureirina C	Gly81		Phe49			2	0	2	
27	12120603	Loureirina D	Asp32 Asp34 Arg58 Gly81					4	0	4	
28	12120606	2,4,4'-Trihidroxi- dihidrochalcona	Asp34 Arg58 Glu61 Gly81					4	0	4	
29	12120608	4,4'-Dihidroxi-2,6- dimetoxi-dihidrochalcona	Asp34* Arg136					3	0	3	

Legenda: Int. AA. Relevantes: Número de interacciones con aminoácidos relevantes, Int. Otros AA.: Número de interacciones con otros aminoácidos, Int. Totales: Número total de interacciones

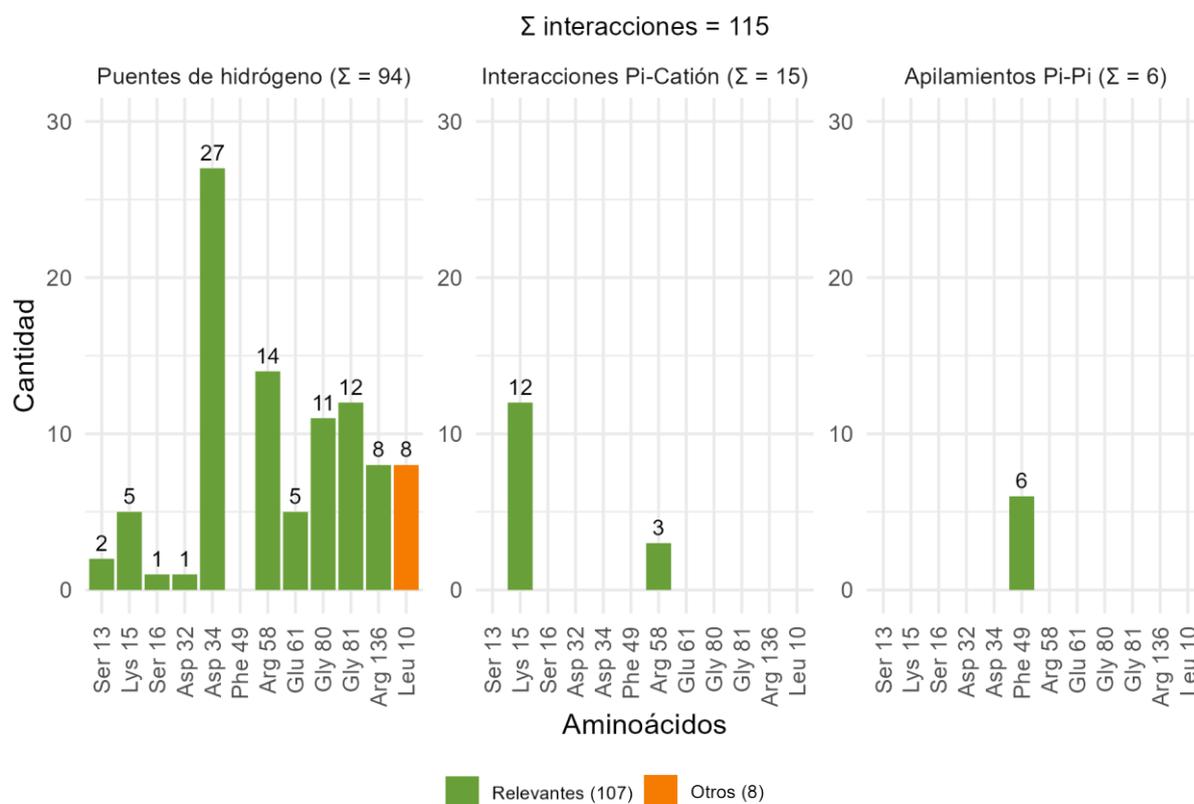
*: Aminoácidos que interaccionan con dos puentes de hidrógeno.

Fuente: Datos recopilados del programa Ligand Interaction Diagram

Interpretación

La Tabla 14 muestra a detalle el tipo de interacción alcanzada por cada uno de los flavonoides seleccionados y los respectivos aminoácidos de la SQ. El orden de las moléculas está definido por el identificador de LIPID MAPS. Los diagramas de interacción en 2D y 3D se muestran con mayor detalle en el Anexo 2.

Gráfico 5: Gráfico de barras agrupado de los tipos de interacciones intermoleculares frente a los aminoácidos de la SQ, y su relevancia.



Fuente: Datos recopilados del programa Ligand Interaction Diagram

Interpretación

El Gráfico 5 presenta gráficos de barras agrupados según el tipo de interacciones y la cantidad correspondiente para cada tipo de aminoácido de la SQ. Además, los colores de las barras

indican si el aminoácido es relevante para establecer un potencial inhibitorio. Se observa que solo 12 aminoácidos participaron en estas interacciones, abarcando todos los casos analizados.

Análisis y discusión

Según la información presentada en la Tabla 14 y su resumen en el Gráfico 5, se considera que los aminoácidos de la SQ que se unieron a los flavonoides mediante diversas interacciones son relevantes debido a su participación clave en la fosforilación del shikimato.

Trabajos previos publicados por Pereira *et al.* (2004) [119], Hartmann *et al.* (2006) [28], Vianna y de Azevedo (2012) [19] y Blanco *et al.* (2013) [18], han señalado que hay varios aminoácidos que desempeñan un papel importante en la función de la SQ. En nuestro estudio, encontramos que varios de estos aminoácidos interactúan con los flavonoides seleccionados.

Según nuestros resultados, y en comparación con la revisión de Nunes *et al.* (2020) [1], se puede observar que los flavonoides interactuaron con importantes aminoácidos:

- Arg58 y Arg136: Involucrados en la liberación del shikimato-3-fosfato al terminar la reacción de fosforilación.
- Asp34, Glu61 y Gly81: Mediante puentes de hidrógeno estabilizan al shikimato para iniciar la reacción.
- Lys15: Al igual que los anteriores, también estabilizaría al shikimato, pero mediante interacciones electrostáticas.
- Ser16 y Asp32: Aproximarían a las moléculas de shikimato y ATP para promover la reacción.
- Ser13: Mediante puentes de hidrógeno ayuda a fijar la adenina del ATP
- Phe49, Gly80 y Gly81: Ayudan a formar una región hidrofóbica en el sitio activo de la SQ.

Nuestros resultados resaltan que el aminoácido Leu10 también exhibe interacciones. Aunque este aminoácido no influye directamente en la actividad enzimática de la SQ, su relevancia no debe pasarse por alto, ya que interactúa con diversos flavonoides mediante puentes de hidrógeno, una de las interacciones biomoleculares más significativas, según lo indica Blundell, Nowak y Watson (2016) [120] Además, una investigación de Filgueira de Azevedo

et al. (2002) [121] respalda este hallazgo al mostrar que el ADP resultante de la fosforilación interactúa con Leu10 antes de su liberación.

Todo lo señalado apoya la hipótesis de que nuestros flavonoides tendrían selectividad por aminoácidos importantes de la SQ.

4.3.2. Descripción y prueba de normalidad de la cantidad de interacciones relevantes y totales de los flavonoides con mejores criterios de semejanza a fármacos

Tabla 15: Análisis descriptivo de la cantidad de interacciones relevantes y totales de los flavonoides seleccionados

Cantidad de interacciones	Resultados descriptivos							Valor p
	N	Promedio	DE	Mediana	Mín	Max	Sesgo	
Relevantes	29	3.69	1.42	4	0	6	-0.48	0.038
Totales	29	3.97	1.55	4	0	7	-0.45	0.063

Nivel de significancia: 95%, $\alpha = 0.05$

Fuente: Programa estadístico RStudio 2024.09.1

Interpretación

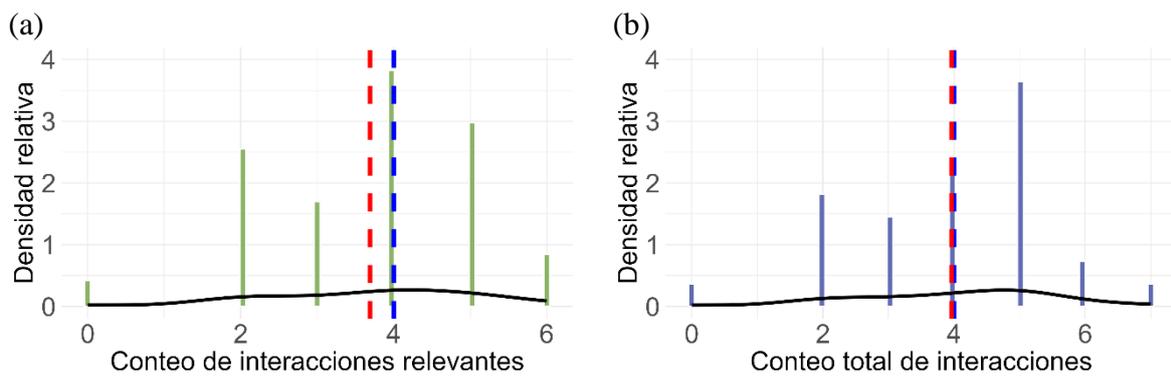
La Tabla 15 presenta información estadística relevante para la cantidad de interacciones relevantes y totales de los flavonoides seleccionados. Incluye la cantidad de muestras analizadas ($N = 29$), el promedio, la desviación estándar, la mediana, los valores mínimos y máximos, y el sesgo.

Respecto al análisis de normalidad, se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk, ya que es aplicable cuando se analizan menos de 50 datos [112]. Esta prueba asume las siguientes hipótesis:

- Hipótesis nula (H_0): Los datos analizados provienen de una distribución normal.
- Hipótesis alternativa (H_1): Los datos analizados no provienen de una distribución normal.

Según los resultados de la Tabla 15, el valor p asociado a la cantidad de interacciones relevantes es 0.038, lo que es inferior al nivel de significancia estándar de 0.05. Esto indica que existe evidencia estadística significativa para respaldar la hipótesis alternativa de que los datos en esta columna no se distribuyen de manera normal. Por otro lado, en el caso de la cantidad de interacciones totales, el valor p es 0.063, ligeramente superior al nivel de significancia. En este contexto, no hay suficiente evidencia para rechazar la hipótesis nula, lo que sugiere una cierta normalidad en los datos, aunque esta conclusión no es definitiva [111].

Gráfico 6: Histogramas y curvas de densidad para los valores de conteo de interacciones relevantes y totales de los flavonoides seleccionados.



Legenda: Las líneas de color rojo y azul representan el promedio y mediana, respectivamente.

Fuente: Programa estadístico RStudio 2024.09.1

Interpretación

Los gráficos 6a y 6b muestran una curva de densidad aplanada, característica que puede presentarse en distribuciones con baja dispersión y una menor concentración de datos alrededor de la media.

En ambos gráficos, al tratarse de datos numéricos enteros, la variabilidad no es evidente. Sin embargo, al considerar los valores de sesgo dentro del rango de -0.5 y 0.5 según la literatura, podemos concluir que la distribución de los datos es simétrica [111]. Además, la diferencia

entre las líneas de promedio (roja) y mediana (azul) es mínima, lo que respalda una aparente simetría en la distribución de los conteos de interacciones.

4.4. Evaluación de medidas de tendencia central, e influencia de las variables dependientes sobre el potencial inhibitorio de los flavonoides seleccionados

4.4.1. Evaluación de diferencias en medidas de tendencia central de los grupos de flavonoides con alto y bajo potencial inhibitorio

Tabla 16: Resumen de la normalidad de los parámetros ADMET numéricos, energía libre de unión y conteo de interacciones

Parámetro	N	Valor p	Normalidad en los datos
AIH *	29	< 0.001	No
UPP *	29	< 0.001	No
AF *	29	0.043	No
DHIF *	29	< 0.001	No
ΔG **	29	0.3783	Si
Int. Relevantes ***	29	0.038	No
Int. Totales ***	29	0.063	Si

* Datos señalados en la Tabla 10, ** Datos señalados en la Tabla 13, *** Datos señalados en la Tabla 15

Fuente: Programa estadístico RStudio 2024.09.1

Interpretación

Para los análisis estadísticos posteriores, se necesitan ciertos criterios de normalidad en los datos. Por lo tanto, en la Tabla 16 se presentan únicamente aquellos parámetros que se sometieron a una prueba de normalidad específica.

Análisis y discusión

La Tabla 16 resume los valores p y el criterio de normalidad para cada parámetro analizado. En todos los casos, se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk debido a que el tamaño de muestra fue menor a 50 (N=29). Se observó una distribución normal solo para ΔG y el conteo de interacciones totales. Sin embargo, en este último caso, la conclusión no es definitiva debido a que el valor p (0.063) está cerca del nivel de significancia (0.05).

Teniendo en cuenta la normalidad de los datos y dividiendo los flavonoides seleccionados en grupos de alto y bajo potencial inhibitorio, se realizaron pruebas estadísticas para analizar las diferencias en las medias y medianas de los parámetros mencionados en la Tabla 16 en ambos grupos. Se aplicó la prueba paramétrica t de Student cuando los datos mostraron una distribución normal. Para aquellos que no cumplieron con una distribución normal, se utilizó la prueba no paramétrica de Brunner Munzel, también conocida como prueba generalizada de Wilcoxon. Esta última prueba es más aplicable a un mayor rango de condiciones que la prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney. Ambas pruebas se realizaron considerando que la variable dependiente es dicotómica (Alto/Bajo) y las independientes son de naturaleza numérica; conforme a la metodología estadística señala por MacFarland y Yates (2021) [122].

Para análisis posteriores, se excluyeron las 4 columnas que contenían variables nominales relacionadas con las reglas de Lipinski, Pfizer, Glaxo Smith Kline y el triángulo dorado. Estas fueron descartadas debido a que no presentan variabilidad en los datos, ya que solo contienen el valor "Aceptado". Estos valores se consideran atípicos y su presencia podría afectar significativamente la estimación de estadísticas, como el promedio y la desviación estándar de una muestra, lo que podría conducir a valores sobreestimados o subestimados, según lo señalado por Prasad (2024) [123].

Tabla 17: Análisis de diferencias en medidas de tendencia central de los grupos de flavonoides con alto y bajo potencial inhibitorio

Parámetro	Potencial inhibitorio de los flavonoides				Valor p	Hipótesis aceptada	Igualdad de medianas/medias
	Alto		Bajo				
	N	Medianas/Medias [†]	N	Medianas/Medias [†]			
AIH *	25	3.40	4	1.00	< 0.001	Alternativa	Diferentes

La tabla continúa en la siguiente página

Tabla 17 (Continuación)

Parámetro	Potencial inhibitorio de los flavonoides				Valor p	Hipótesis aceptada	Igualdad de medianas/ medias
	Alto		Bajo				
	N	Medianas/Medias [†]	N	Medianas/Medias [†]			
UPP *	25	88.30	4	86.90	1.000	Nula	Iguales
AF *	25	13.40	4	13.20	0.622	Nula	Iguales
DHIF *	25	6.40	4	12.10	0.513	Nula	Iguales
ΔG **	25	-31.64 [†]	4	-18.59 [†]	< 0.001	Alternativa	Diferentes
Int. Relevantes *	25	4.00	4	2.00	0.045	Alternativa	Diferentes
Int. Totales **	25	4.24 [†]	4	2.25 [†]	0.014	Alternativa	Diferentes

Nivel de significancia: 95%, $\alpha = 0.05$.

* Analizado mediante la prueba de Brunner Munzel, ** Analizado mediante la prueba de t de Student, [†]: Media.

Fuente: Programa estadístico RStudio 2024.09.1

Interpretación

La Tabla 17 reúne los valores p calculados al comparar las medidas de tendencia central (medianas y medias) de los flavonoides con alto y bajo potencial inhibitorio, de acuerdo con sus parámetros ADMET, ΔG y cantidad de interacciones.

Análisis y discusión

Cuando tenemos datos divididos en grupos independientes, la prueba t de Student evalúa la diferencia entre las medias, mientras que la prueba de Brunner Munzel evalúa la diferencia entre las medianas. En nuestro análisis, el grupo 1 está conformado por los flavonoides con alto potencial inhibitorio, mientras que el grupo 2 está compuesto por los flavonoides con bajo potencial inhibitorio.

En el caso de los datos analizados mediante la prueba de Brunner Munzel, las hipótesis de trabajo fueron:

- Hipótesis nula (H_0): No hay diferencia significativa entre las medianas de los datos del grupo 1 y 2.

- Hipótesis alternativa (H_1): Hay una diferencia significativa entre las medianas de los datos del grupo 1 y 2.

En el caso de los datos analizados mediante la prueba de t de Student, las hipótesis de trabajo fueron:

- Hipótesis nula (H_0): No hay diferencia significativa entre las medias de los datos del grupo 1 y 2
- Hipótesis alternativa (H_1): Hay una diferencia significativa entre las medias de los datos del grupo 1 y 2 [111].

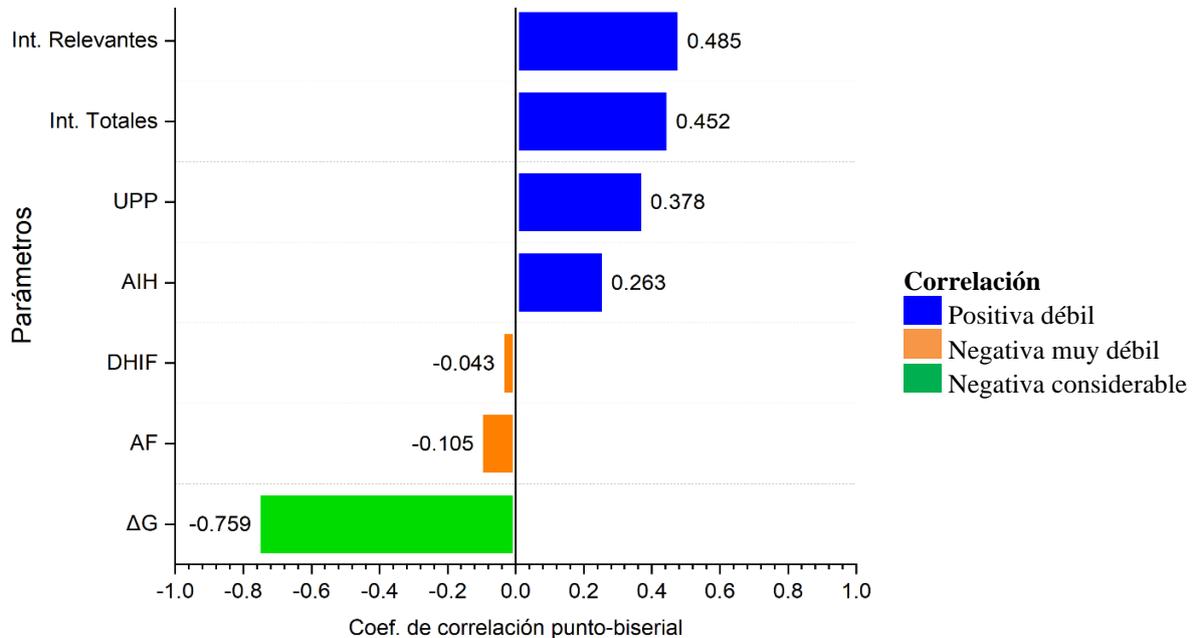
En los parámetros evaluados con la prueba t de Student, como ΔG y la cantidad total de interacciones, sus valores de p fueron significativamente bajos (< 0.001 y 0.014), lo que indica que son inferiores al nivel de significancia predeterminado (0.05). Por lo tanto, se concluye que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los datos de los grupos 1 y 2, respaldando la hipótesis alternativa.

Los resultados de la prueba de Brunner Munzel muestran que, para los parámetros analizados como AIH y la cantidad de interacciones relevantes, el valor p fue significativamente bajo en el caso de AIH (< 0.001). Esto indica una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas de los datos de los grupos 1 y 2, respaldando la hipótesis alternativa. Sin embargo, en el caso de la cantidad de interacciones, aunque el valor p es menor que el nivel de significancia ($0.045 < 0.05$), no difiere considerablemente de este valor. Por lo tanto, estadísticamente, la diferencia entre las medianas de los grupos 1 y 2 no sería tan significativa.

En contraste, para los parámetros UPP, AF y DHIF también evaluados con la prueba de Brunner Munzel, todos sus valores p (1.00 , 0.622 y 0.513 respectivamente) están muy por encima del nivel de significancia (0.05). Esto lleva a aceptar la hipótesis nula, concluyendo que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas de los datos de los grupos 1 y 2 para estos parámetros.

4.4.2. Análisis de correlación entre las variables dependiente e independientes

Gráfico 7: Resultados del coeficiente de correlación punto-biserial entre el potencial inhibitorio y las variables independientes



Fuente: Programa estadístico RStudio 2024.09.1

Interpretación

El Gráfico 7 muestra los resultados del análisis de correlación punto-biserial, donde se determinaron coeficientes que nos indican el grado de influencia de cada variable independiente sobre la variable dependiente. En este se aprecia barras de distintos colores para las correlaciones positivas débiles (azul), negativas muy débiles (naranja) y negativa considerable (verde).

Análisis y discusión

La correlación punto-biserial, un caso especial de la correlación de Pearson evalúa la fuerza y dirección de la relación lineal entre una variable dicotómica (potencial inhibitorio alto o bajo)

y una variable numérica que representa nuestras variables independientes de estudio. La interpretación de estos coeficientes se basa en los niveles de correlación descritos por Hernández-Sampieri & Mendoza Torres (2018) [87].

Los coeficientes de correlación de las variables independientes: cantidad de interacciones relevantes, cantidad de interacciones totales, UPP y AIH señalan que existe una correlación positiva débil entre estas y la variable dependiente, lo que indica que un aumento en estos valores aumentaría el potencial inhibitorio en los flavonoides, aunque de una manera débil.

En tanto que las variables independientes DHIF y AF tienen una correlación negativa muy débil, lo que sugiere que una disminución en estos valores aumentaría muy poco el potencial inhibitorio en los flavonoides.

Finalmente, la energía libre de unión, ΔG , destaca por su correlación negativa considerable, indicando que una disminución en los valores de ΔG aumentaría significativamente el potencial inhibitorio en los flavonoides.

Conclusiones

1. Se evaluó el potencial inhibitorio de flavonoides contra la shikimato quinasa de *Mycobacterium tuberculosis* mediante técnicas computacionales. Un grupo selecto de 29 flavonoides mostró alto potencial inhibitorio, superando la energía libre de unión del ligando nativo y formando interacciones clave con aminoácidos en el sitio activo, lo que sugiere su potencial como candidatos terapéuticos.
2. Se evaluaron 6567 flavonoides según criterios de semejanza a fármacos. El parámetro ADMET más restrictivo fue el DHIF (469 flavonoides, 7.13%), mientras que la regla de Pfizer fue la menos restrictiva (5855 flavonoides, 89.04%). Solo 29 flavonoides (0.44%) cumplieron con los requisitos para continuar en los ensayos.
3. La validación del protocolo de acoplamiento con Glide fue exitosa ($\text{RMSD} < 2 \text{ \AA}$). Tras acoplar los 29 flavonoides seleccionados, 25 superaron la energía libre de unión del shikimato, indicando alto potencial inhibitorio. El flavonoide con mayor afinidad fue el (3S)-3',7-dihidroxi-2',4',5',8-tetrametoxiisoflavano ($\Delta G = -41.46 \text{ kcal/mol}$), y el de menor afinidad fue la Loureirina D ($\Delta G = -15.44 \text{ kcal/mol}$).
4. Se analizaron las interacciones entre los 29 flavonoides y la shikimato quinasa utilizando el módulo Ligand Interaction Diagram de Maestro, identificando 115 interacciones: 94 puentes de hidrógeno, 15 interacciones pi-cación y 6 apilamientos pi-pi. De estas, 107 ocurrieron con aminoácidos clave de la enzima, respaldando el potencial inhibitorio de los flavonoides.
5. Se analizaron las medias y medianas de flavonoides con alto y bajo potencial inhibitorio utilizando pruebas de t de Student y Brunner Munzel. Se encontraron diferencias significativas en algunos parámetros, mientras que otros no. La correlación punto-biserial reveló que variables como la cantidad de interacciones relevantes, UPP y AIH tenían una correlación positiva débil con el potencial inhibitorio, mientras que DHIF y AF mostraron una correlación negativa débil. La energía libre de unión (ΔG) destacó por su correlación negativa considerable, indicando que una disminución en ΔG se asocia con un aumento en el potencial inhibitorio, subrayando su relevancia en la evaluación de los flavonoides.

Sugerencias

- **A las autoridades de nuestra universidad**

Consideramos esencial adquirir equipos de alto rendimiento computacional para su implementación en las diversas escuelas profesionales. Estos equipos serán fundamentales para realizar simulaciones y modelados en investigaciones, tanto básicas como aplicadas, fortaleciendo así nuestra capacidad investigativa y de análisis en diferentes campos.

- **A los docentes de nuestra escuela profesional**

Promover líneas de trabajo que integren el uso de técnicas in silico para la identificación de compuestos con potencial farmacológico en nuestra región. Esta iniciativa fomentará el desarrollo de investigaciones innovadoras y relevantes para el ámbito profesional y académico.

- **A los alumnos**

Plantearse la posibilidad de realizar investigaciones con el uso de programas informáticas vinculados a nuestra formación profesional.

- **Sobre el presente trabajo**

Como proyección futura, se sugiere ampliar la investigación aplicando técnicas de acoplamiento molecular a una mayor diversidad de compuestos y dianas biológicas de MTB, incorporando métodos más avanzados como simulaciones de dinámica molecular para refinar las predicciones. Asimismo, sería valioso combinar estos estudios con validaciones experimentales in vitro o in vivo, lo que permitiría consolidar los hallazgos y explorar su potencial en el diseño racional de fármacos o en el descubrimiento de nuevas terapias.

Bibliografía

1. Nunes JES, Duque MA, de Freitas TF, Galina L, Timmers LFSM, Bizarro C V., et al. *Mycobacterium tuberculosis* Shikimate Pathway Enzymes as Targets for the Rational Design of Anti-Tuberculosis Drugs. *Molecules*. 2020;25(6):1259.
2. Rajput VS, Runthala A, Khan IA. Shikimate Kinase Inhibitors: An Update on Promising Strategy against *Mycobacterium tuberculosis*. *Curr Drug Targets*. 2023;24(5):388-405.
3. Shende V V., Bauman KD, Moore BS. The shikimate pathway: gateway to metabolic diversity. *Nat Prod Rep*. 2024;41(4):604-48.
4. Sadybekov A V., Katritch V. Computational approaches streamlining drug discovery. *Nature*. 2023;616(7958):673-85.
5. Daoud NEH, Borah P, Deb PK, Venugopala KN, Hourani W, Alzweiri M, et al. ADMET Profiling in Drug Discovery and Development: Perspectives of In Silico, In Vitro and Integrated Approaches. *Curr Drug Metab*. 2021;22(7):503-22.
6. Pinzi L, Rastelli G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18).
7. Rabaan AA, Alhumaid S, Albayat H, Alsaeed M, Alofi FS, Al-Howaidi MH, et al. Promising Antimycobacterial Activities of Flavonoids against *Mycobacterium* sp. *Drug Targets: A Comprehensive Review*. *Molecules*. 2022;27(16):5335.
8. Coracini JD, de Azevedo Jr WF. Shikimate kinase, a protein target for drug design. *Curr Med Chem*. 2014;21(5):592-604.
9. Natarajan A, Beena PM, Devnikar A V., Mali S. A systemic review on tuberculosis. *Indian J Tuberc*. 2020;67(3):295-311.
10. Allué-Guardia A, García JI, Torrelles JB. Evolution of Drug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* Strains and Their Adaptation to the Human Lung Environment. *Front Microbiol*. 2021;12:612675.
11. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2024 [Internet]. 2024. Disponible en: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/379339/9789240101531-eng.pdf>
12. Dirección de Prevención y Control de Tuberculosis - Ministerio de Salud. Mapa Epidemiológico de la Tuberculosis [Internet]. 2021. Disponible en: <http://www.tuberculosis.minsa.gob.pe/DashboardDPCTB/MapasTB.aspx>
13. Opperman M, Du Preez I. Factors contributing to pulmonary tb treatment lost to follow-up in developing countries: an overview. *African J Infect Dis*. 2023;17(1):60-73.
14. Brogi S, Ramalho TC, Kuca K, Medina-Franco JL, Valko M. Editorial: In silico Methods for Drug Design and Discovery. *Front Chem*. 2020;8:612.
15. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2022 [Internet]. 2022. Disponible en: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2022>
16. Freitas de Freitas T, Roth CD, Abbadi BL, Hopf FSM, Perelló MA, de Matos Czczot A, et al. Identification of potential inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* shikimate kinase: molecular docking, in silico toxicity and in vitro experiments. *J Comput Aided Mol Des*. 2023;37(3):117-28.
17. Divyashri G, Krishna Murthy TP, Sundareshan S, Kamath P, Murahari M, Saraswathy GR, et al. In

- silico approach towards the identification of potential inhibitors from *Curcuma amada* Roxb against *H. pylori* : ADMET screening and molecular docking studies. *BioImpacts*. 2020;11(2):119-27.
18. Blanco B, Prado V, Lence E, Otero JM, Garcia-Doval C, van Raaij MJ, et al. *Mycobacterium tuberculosis* Shikimate Kinase Inhibitors: Design and Simulation Studies of the Catalytic Turnover. *J Am Chem Soc*. 2013;135(33):12366-76.
 19. Vianna CP, de Azevedo WF. Identification of new potential *Mycobacterium tuberculosis* shikimate kinase inhibitors through molecular docking simulations. *J Mol Model*. 2012;18(2):755-64.
 20. Mescco Pumayalli JP. Modelamiento bioinformático del acoplamiento entre la enzima pirazinamidasasa y complejos metálicos de pirazinamida, en el contexto de la tuberculosis resistente a pirazinamida. Universidad Peruana Cayetano Heredia (Tesis); 2022.
 21. Olivos Ramirez GE. Predicción de la actividad enzimática de pirazinamidasasa wild type y mutada de *Mycobacterium tuberculosis* guiada por modelamiento biomolecular. Universidad Peruana Cayetano Heredia (Tesis); 2021.
 22. Mir R, Jallu S, Singh TP. The shikimate pathway: review of amino acid sequence, function and three-dimensional structures of the enzymes. *Crit Rev Microbiol*. 2015;41(2):172-89.
 23. Ojeda-May P. Exploring the Dynamics of Shikimate Kinase through Molecular Mechanics. *Biophysica*. 2022;2(3):194-202.
 24. Pauli I, Caceres RA, de Azevedo WF. Molecular modeling and dynamics studies of Shikimate Kinase from *Bacillus anthracis*. *Bioorg Med Chem*. 2008;16(17):8098-108.
 25. Graether SP. Troubleshooting Guide to Expressing Intrinsically Disordered Proteins for Use in NMR Experiments. *Front Mol Biosci*. 2019;5.
 26. Cheng WC, Chang YN, Wang WC. Structural Basis for Shikimate-Binding Specificity of *Helicobacter pylori* Shikimate Kinase. *J Bacteriol*. 2005;187(23):8156-63.
 27. Prado V, Lence E, Maneiro M, Vázquez-Ucha JC, Beceiro A, Thompson P, et al. Targeting the Motion of Shikimate Kinase: Development of Competitive Inhibitors that Stabilize an Inactive Open Conformation of the Enzyme. *J Med Chem*. 2016;59(11):5471-87.
 28. Hartmann MD, Bourenkov GP, Oberschall A, Strizhov N, Bartunik HD. Mechanism of Phosphoryl Transfer Catalyzed by Shikimate Kinase from *Mycobacterium tuberculosis*. *J Mol Biol*. 2006;364(3):411-23.
 29. Knox C, Wilson M, Klinger CM, Franklin M, Oler E, Wilson A, et al. DrugBank 6.0: the DrugBank Knowledgebase for 2024. *Nucleic Acids Res*. 2024;52(D1).
 30. Ribeiro TB, Melo A, Vilas-Boas AA, Pintado M. Flavonoids. En: *Natural Secondary Metabolites*. Cham: Springer International Publishing; 2023. p. 73-105.
 31. Shen N, Wang T, Gan Q, Liu S, Wang L, Jin B. Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chem*. 2022;383:132531.
 32. Lou H, Hu L, Lu H, Wei T, Chen Q. Metabolic Engineering of Microbial Cell Factories for Biosynthesis of Flavonoids: A Review. *Molecules*. 2021;26(15):4522.
 33. Gygli SM, Borrell S, Trauner A, Gagneux S. Antimicrobial resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: mechanistic and evolutionary perspectives. *FEMS Microbiol Rev*. 2017;41(3):354-73.
 34. Pola S, Banoth KK, Sankaranarayanan M, Ummani R, Garlapati A. Design, synthesis, in silico studies,

- and evaluation of novel chalcones and their pyrazoline derivatives for antibacterial and antitubercular activities. *Med Chem Res.* 2020;29(10):1819-35.
35. Ammaji S, Masthanamma S, Bhandare RR, Annadurai S, Shaik AB. Antitubercular and antioxidant activities of hydroxy and chloro substituted chalcone analogues: Synthesis, biological and computational studies. *Arab J Chem.* 2022;15(2):103581.
 36. Sarbu LG, Bahrin LG, Babii C, Stefan M, Birsa ML. Synthetic flavonoids with antimicrobial activity: a review. *J Appl Microbiol.* 2019;127(5):1282-90.
 37. Villaume SA, Fu J, N'Go I, Liang H, Lou H, Kremer L, et al. Natural and Synthetic Flavonoids as Potent *Mycobacterium tuberculosis* UGM Inhibitors. *Chem – A Eur J.* 2017;23(43):10423-9.
 38. Xiong G, Wu Z, Yi J, Fu L, Yang Z, Hsieh C, et al. ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(W1):W5-14.
 39. Stanzione F, Giangreco I, Cole JC. Use of molecular docking computational tools in drug discovery. En: *Encyclopedic Reference of Genomics and Proteomics in Molecular Medicine.* 2021. p. 273-343.
 40. King E, Aitchison E, Li H, Luo R. Recent Developments in Free Energy Calculations for Drug Discovery. *Front Mol Biosci.* 2021;8:712085.
 41. Jiménez JS, Benítez MJ. Gibbs Free Energy and Enthalpy–Entropy Compensation in Protein–Ligand Interactions. *Biophysica.* 2024;4(2):298-309.
 42. Fox JM, Zhao M, Fink MJ, Kang K, Whitesides GM. The Molecular Origin of Enthalpy/Entropy Compensation in Biomolecular Recognition. *Annu Rev Biophys.* 2018;47(1):223-50.
 43. Chen S, Wang ZG. Using Implicit-Solvent Potentials to Extract Water Contributions to Enthalpy–Entropy Compensation in Biomolecular Associations. *J Phys Chem B.* 2023;127(30):6825-32.
 44. Peccati F, Jiménez-Osés G. Enthalpy–Entropy Compensation in Biomolecular Recognition: A Computational Perspective. *ACS Omega.* 2021;6(17):11122-30.
 45. Pan A, Kar T, Rakshit AK, Moulik SP. Enthalpy–Entropy Compensation (EEC) Effect: Decisive Role of Free Energy. *J Phys Chem B.* 2016;120(40):10531-9.
 46. Du X, Li Y, Xia YL, Ai SM, Liang J, Sang P, et al. Insights into Protein–Ligand Interactions: Mechanisms, Models, and Methods. *Int J Mol Sci.* 2016;17(2):144.
 47. Sahakyan H. Improving virtual screening results with MM/GBSA and MM/PBSA rescoring. *J Comput Aided Mol Des.* 2021;35(6):731-6.
 48. Valdés-Tresanco MS, Valdés-Tresanco ME, Valiente PA, Moreno E. gmx_MMPBSA: A New Tool to Perform End-State Free Energy Calculations with GROMACS. *J Chem Theory Comput.* 2021;17(10):6281-91.
 49. Dasmahapatra U, Kumar CK, Das S, Subramanian PT, Murali P, Isaac AE, et al. In-silico molecular modelling, MM/GBSA binding free energy and molecular dynamics simulation study of novel pyrido fused imidazo[4,5-c]quinolines as potential anti-tumor agents. *Front Chem.* 2022;10.
 50. Agu PC, Afiukwa CA, Orji OU, Ezeh EM, Ofoke IH, Ogbu CO, et al. Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. *Sci Rep.* 2023;13(1):13398.
 51. Reddy KK, Rathore RS, Srujana P, Burri RR, Reddy CR, Sumakanth M, et al. Performance Evaluation

- of Docking Programs- Glide, GOLD, AutoDock & SurflexDock, Using Free Energy Perturbation Reference Data: A Case Study of Fructose-1, 6-bisphosphatase-AMP Analogs. *Mini-Reviews Med Chem.* 2020;20(12):1179-87.
52. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger. Principios de Bioquímica.* Sétima Ed. Omega; 2018. 1304 p.
 53. Schrödinger Release 2024-1. Maestro. New York, NY: Schrödinger, LLC; 2024.
 54. Furin J, Cox H, Pai M. Tuberculosis. *Lancet.* 2019;393(10181):1642-56.
 55. Fitzgerald DW, Sterling TR, Haas DW. *Mycobacterium tuberculosis.* En: Mandell, Douglas y Bennett Enfermedades infecciosas Principios y práctica 9na Edición. Elsevier; 2019. p. 2787-2818.e5.
 56. Rios Vidal JRM. Situación actual de la TB en el Perú [Internet]. Lima; 2021. Disponible en: <http://www.dge.gob.pe/portal/docs/tools/teleconferencia/2022/SE272022/04.pdf>
 57. Singh R, Dwivedi SP, Gaharwar US, Meena R, Rajamani P, Prasad T. Recent updates on drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis.* *J Appl Microbiol.* 2020;128(6):1547-67.
 58. Ministerio de Salud (MINSA) - Perú. Norma Técnica de Salud para el Cuidado Integral de la Persona Afectada por Tuberculosis, Familia y Comunidad [Internet]. 2023. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/4034345-339-2023-minsa>
 59. Vonk J, Shackelford TK, editores. *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior.* Cham: Springer International Publishing; 2022.
 60. Schintler LA, Lee J. Algorithm. En: *Encyclopedia of Big Data.* 2022. p. 12-5.
 61. Bassan A, Beilke L, Cross KP, Johnson C, Myatt GJ. Drug Discovery and Evaluation: Safety and Pharmacokinetic Assays. Hock FJ, Pugsley MK, editores. *Drug Discovery and Evaluation: Safety and Pharmacokinetic Assays.* Cham: Springer International Publishing; 2024. 2585-2619 p.
 62. Waman VP, Cuff A, Orengo C. *Encyclopedia of Biophysics.* *Encyclopedia of Biophysics.* 2020. 1-16 p.
 63. Mswahili ME, Jeong YS. Transformer-based models for chemical SMILES representation: A comprehensive literature review. *Heliyon.* 2024;10(20):e39038.
 64. Pant A. *Dictionary of Toxicology.* *Dictionary of Toxicology.* 2024. 375-376 p.
 65. Neelabh. Phylogeny. En: *Encyclopedia of Animal Cognition and Behavior.* Cham: Springer International Publishing; 2022. p. 5237-40.
 66. Offermanns S, Rosenthal W, editores. *Encyclopedia of Molecular Pharmacology.* Cham: Springer International Publishing; 2020.
 67. Mempel M. Granulomatous Diseases. En: *Braun-Falco's Dermatology.* 2022. p. 719-35.
 68. Lee PCT, Wu CCY, Ting J. Social Epidemiology and its Contribution to Global Public Health. En: *Handbook of Social Sciences and Global Public Health.* 2023. p. 1-36.
 69. Rauter AP, Ennis M, Hellwich KH, Herold BJ, Horton D, Moss GP, et al. Nomenclature of flavonoids (IUPAC Recommendations 2017). *Pure Appl Chem.* 2018;90(9):1429-86.
 70. Samavedam S. Meningitis/Encephalitis and Neurocritical Care. En: *Principles and Practice of Neurocritical Care.* 2024. p. 753-63.
 71. Singh A, Satyarthee GD, Sharma D. Introduction to the Diagnosis of Mycobacterium. En: *Diagnosis of Mycobacterium.* 2023. p. 1-10.
 72. Longo UG, Denaro V, editores. *Textbook of Musculoskeletal Disorders.* Springer International Publishing; 2023.

73. Reilly S. Taste neophobia. En: Food Neophobia. Elsevier; 2018. p. 77-109.
74. Rodriguez A, Suo X, Liu D. Classification of medically important parasites. En: Molecular Medical Microbiology. Elsevier; 2024. p. 2907-19.
75. Hou Y, Sui S. Pericarditis. En: Radiology of Infectious and Inflammatory Diseases - Volume 3. Springer Nature Singapore; 2023. p. 399-405.
76. Quintanilla JC. Molecular Weight. En: Encyclopedia of Astrobiology. Springer Berlin Heidelberg; 2022. p. 1-1.
77. Garrie DB, Gordon LM, Newman B. Software. En: Uncovering Digital Evidence. Springer Nature Switzerland; 2024. p. 33-67.
78. Velankar S, Burley SK, Kurisu G, Hoch JC, Markley JL. The Protein Data Bank Archive. En: Nucleic Acids Res. 2021. p. 3-21.
79. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem 2023 update. Nucleic Acids Res. 2023;51(D1):D1373-80.
80. Madhavi Sastry G, Adzhigirey M, Day T, Annabhimoju R, Sherman W. Protein and ligand preparation: parameters, protocols, and influence on virtual screening enrichments. J Comput Aided Mol Des. 2013;27(3):221-34.
81. Schrödinger Release 2024-1. Prime. New York, NY: Schrödinger, LLC; 2024.
82. Johnston RC, Yao K, Kaplan Z, Chelliah M, Leswing K, Seekins S, et al. Epik: pKa and Protonation State Prediction through Machine Learning. J Chem Theory Comput. 2023;19(8):2380-8.
83. Schrödinger Release 2024-1. LigPrep. New York, NY: Schrödinger, LLC; 2024.
84. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2024.
85. Posit team. RStudio: Integrated Development Environment for R [Internet]. Boston, MA: Posit Software, PBC; 2024. Disponible en: <http://www.posit.co/>
86. Conroy MJ, Andrews RM, Andrews S, Cockayne L, Dennis EA, Fahy E, et al. LIPID MAPS: update to databases and tools for the lipidomics community. Nucleic Acids Res. 2024;52(D1):D1677-82.
87. Hernández-Sampieri R, Mendoza Torres CP. Metodología de la investigación. Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta. 1ra Ed. Ciudad de México: McGraw-Hill Interamericana Editores; 2018. 751 p.
88. Hazari A. Research Methodology for Allied Health Professionals. Singapore: Springer Nature Singapore; 2023.
89. Talevi A, Bellera CL. Drug Absorption. En: ADME Processes in Pharmaceutical Sciences. Springer Nature Switzerland; 2024. p. 25-53.
90. Dulsat J, López-Nieto B, Estrada-Tejedor R, Borrell JI. Evaluation of Free Online ADMET Tools for Academic or Small Biotech Environments. Molecules. 2023;28(2).
91. ADMETlab 2.0. Explanation [Internet]. 2020. Disponible en: <https://admetmesh.scbdd.com/explanation/index>
92. James JP, Ishwar Bhat K, More UA, Joshi SD. Design, synthesis, molecular modeling, and ADMET studies of some pyrazoline derivatives as shikimate kinase inhibitors. Med Chem Res. 2018;27(2):546-59.
93. Johnson-Davis KL, Dasgupta A. Special Issues in Therapeutic Drug Monitoring in Patients With

- Uremia, Liver Disease, and in Critically Ill Patients. En: Clarke W, Dasgupta A, editores. Clinical Challenges in Therapeutic Drug Monitoring. San Diego: Elsevier; 2016. p. 245-60.
94. Khan MF, Bari A, Islam K, Islam S, Kayser S, Nahar N, et al. The natural anti-tubercular agents: In silico study of physicochemical, pharmacokinetic and toxicological properties. *J Appl Pharm Sci.* 2017;7,(5):034-8.
 95. Horde GW, Gupta V. Drug Clearance. StatPearls Publishing; 2022.
 96. Hassan SF, Rashid U, Ansari FL, Ul-Haq Z. Bioisosteric approach in designing new monastrol derivatives: An investigation on their ADMET prediction using in silico derived parameters. *J Mol Graph Model.* 2013;45:202-10.
 97. Ali M, Asghar E, Ali W, Mustafa G, Ansari IA, Zia S, et al. Screening of Multitarget Compounds against Acetaminophen Hepatic Toxicity Using In Silico, In Vitro, and In Vivo Approaches. *Molecules.* 2024;29(2):428.
 98. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001;46(1-3):3-26.
 99. Isa MA, Majumdar RS, Haider S. In silico identification of potential inhibitors against shikimate dehydrogenase through virtual screening and toxicity studies for the treatment of tuberculosis. *Int Microbiol.* 2019;22(1):7-17.
 100. Hughes JD, Blagg J, Price DA, Bailey S, DeCrescenzo GA, Devraj R V., et al. Physicochemical drug properties associated with in vivo toxicological outcomes. *Bioorg Med Chem Lett.* 2008;18(17):4872-5.
 101. Ahmad I, Kuznetsov AE, Pirzada AS, Alsharif KF, Daglia M, Khan H. Computational pharmacology and computational chemistry of 4-hydroxyisoleucine: Physicochemical, pharmacokinetic, and DFT-based approaches. *Front Chem.* 2023;11.
 102. Johnson TW, Dress KR, Edwards M. Using the Golden Triangle to optimize clearance and oral absorption. *Bioorg Med Chem Lett.* 2009;19(19):5560-4.
 103. Jia P, Zhang F, Wu C, Li M. A comprehensive review of protein-centric predictors for biomolecular interactions: from proteins to nucleic acids and beyond. *Brief Bioinform.* 2024;25(3):225-42.
 104. Nyambo K, Tapfuma KI, Adu-Amankwaah F, Julius L, Baatjies L, Niang IS, et al. Molecular docking, molecular dynamics simulations and binding free energy studies of interactions between *Mycobacterium tuberculosis* Pks13, PknG and bioactive constituents of extremophilic bacteria. *Sci Rep.* 2024;14(1):6794.
 105. Yan T, Cao J, Ye L. Recent advances on discovery of enzyme inhibitors from natural products using bioactivity screening. *J Sep Sci.* 2022;45(14):2766-87.
 106. Abdjan MI, Aminah NS, Siswanto I, Thant TM, Kristanti AN, Takaya Y. In silico approach: biological prediction of nordentatin derivatives as anticancer agent inhibitors in the cAMP pathway. *RSC Adv.* 2020;10(70):42733-43.
 107. Xie S, Cao S, Wu J, Xie Z, Liu YT, Fu W, et al. In silico -based screening of natural products as potential inhibitors of SARS-CoV-2 macrodomain 1. *J Biomol Struct Dyn.* 2023;1-9.
 108. Ullah W, Wu WF, Malak N, Nasreen N, Swelum AA, Marcelino LA, et al. Computational investigation of turmeric phytochemicals targeting PTR1 enzyme of *Leishmania* species. *Heliyon.*

- 2024;10(6):e27907.
109. Okoli BJ, Ladan Z, Mtunzi F, Hosea YC. Vitex negundo L. Essential Oil: Odorant Binding Protein Efficiency Using Molecular Docking Approach and Studies of the Mosquito Repellent. *Insects*. 2021;12(12):1061.
 110. Swain SP, Ahamad S, Samarth N, Singh S, Gupta D, Kumar S. In silico studies of alkaloids and their derivatives against N-acetyltransferase EIS protein from *Mycobacterium tuberculosis*. *J Biomol Struct Dyn*. 2023;1-15.
 111. Janczyk M, Pfister R. Understanding Inferential Statistics. Springer Berlin Heidelberg; 2023.
 112. Mishra P, Pandey C, Singh U, Gupta A, Sahu C, Keshri A. Descriptive statistics and normality tests for statistical data. *Ann Card Anaesth*. 2019;22(1):67.
 113. Bada J. Enantiomers. En: *Encyclopedia of Astrobiology*. Springer Berlin Heidelberg; 2023. p. 890-890.
 114. Aslam MS, Ahmad MS, Mamat AS, Ahmad MZ, Salam F. Antioxidant and Wound Healing Activity of Polyherbal Fractions of *Clinacanthus nutans* and *Elephantopus scaber*. *Evidence-Based Complement Altern Med*. 2016;2016:1-14.
 115. Chen YC, Yang CW, Chan TF, Farooqi AA, Chang HS, Yen CH, et al. Cryptocaryone Promotes ROS-Dependent Antiproliferation and Apoptosis in Ovarian Cancer Cells. *Cells*. 2022;11(4).
 116. Chen YC, Kung FL, Tsai IL, Chou TH, Chen IS, Guh JH. Cryptocaryone, a Natural Dihydrochalcone, Induces Apoptosis in Human Androgen Independent Prostate Cancer Cells by Death Receptor Clustering in Lipid Raft and Nonraft Compartments. *J Urol*. 2010;183(6):2409-18.
 117. Cheng W, Hung C, Chang Y, Wang W. Shikimate binding in Helicobacter pylori Shikimate Kinase. *FASEB J*. 2006;20(5).
 118. Frey PA. Low-Barrier Hydrogen Bonds. En: Lennarz WJ, Lane MD, editores. *Encyclopedia of Biological Chemistry II*. Elsevier; 2013. p. 756-9.
 119. Pereira JH, de Oliveira JS, Canduri F, Dias MVB, Palma MS, Basso LA, et al. Structure of shikimate kinase from *Mycobacterium tuberculosis* reveals the binding of shikimic acid. *Acta Crystallogr Sect D Biol Crystallogr*. 2004;60(12):2310-9.
 120. Blundell CD, Nowak T, Watson MJ. Measurement, Interpretation and Use of Free Ligand Solution Conformations in Drug Discovery. En 2016. p. 45-147.
 121. Filgueira de Azevedo W, Canduri F, Simões de Oliveira J, Augusto Basso L, Sérgio Palma M, Henrique Pereira J, et al. Molecular model of shikimate kinase from *Mycobacterium tuberculosis*. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;295(1):142-8.
 122. MacFarland TW, Yates JM. *Using R for Biostatistics*. Cham: Springer International Publishing; 2021.
 123. Prasad S. *Advanced Statistical Methods*. Singapore: Springer Nature Singapore; 2024.
 124. Chitale P, Lemenze AD, Fogarty EC, Shah A, Grady C, Odom-Mabey AR, et al. A comprehensive update to the *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv reference genome. *Nat Commun*. 2022;13(1):7068.
 125. RCSB PDB Core Operations. Training and outreach portal of Protein Data Bank [Internet]. 2022. Disponible en: <https://pdb101.rcsb.org/learn/guide-to-understanding-pdb-data/resolution>
 126. Zhang Y. Susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to weak acids. *J Antimicrob Chemother*. 2003;52(1):56-60.

Anexos

Anexo 1: Registro fotográfico

Foto 01: Instalaciones del Centro de Investigación de la Facultad de Ciencias, en la Universidad Nacional de Ingeniería (UNI)



Foto 02: Instalaciones del Laboratorio de Investigación en Biopolímeros y Metalofármacos (LIBIPMET – UNI)



Foto 03: Manipulación de estructuras proteicas en el equipo de trabajo, con el programa Maestro



Anexo 2: Instrucciones en RStudio para el filtrado de los flavonoides con los mejores criterios de semejanza a fármacos.

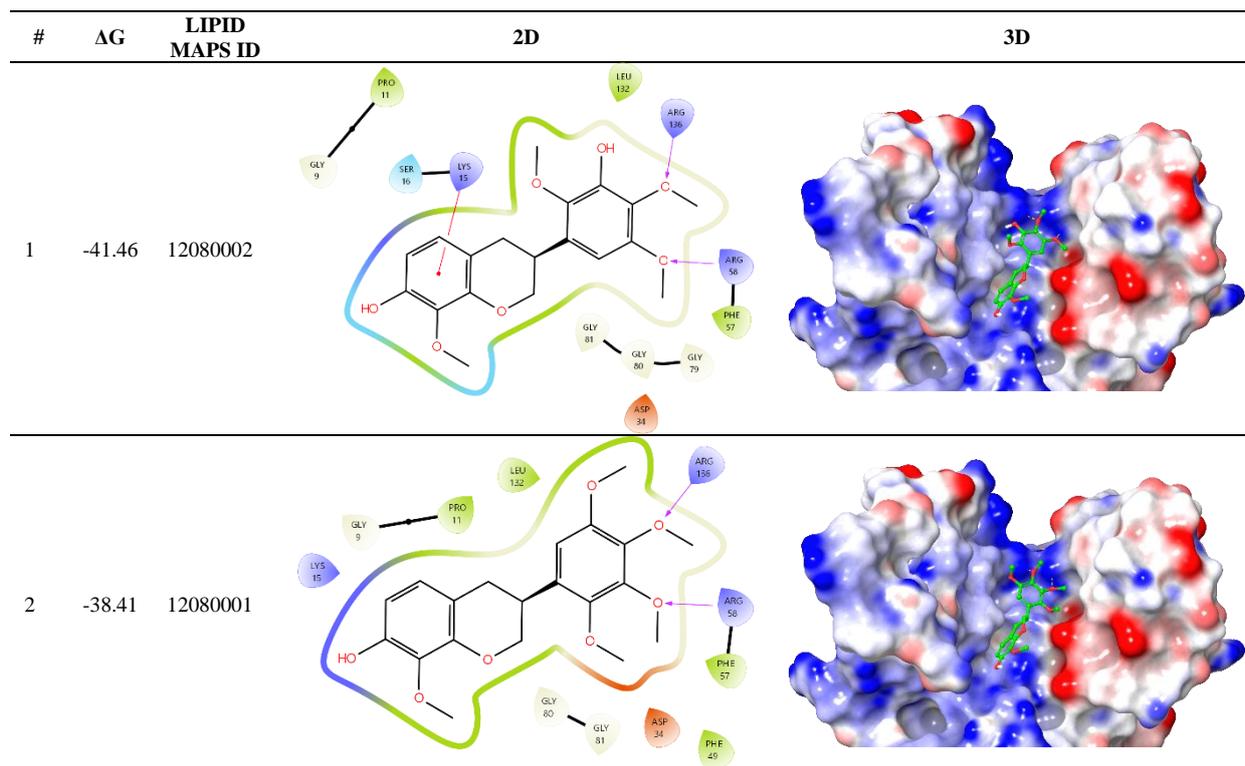
```
# Cargar resultados en formato CSV con codificación de texto UTF-8 y separador
tipo punto y coma
data_total <- read.csv("resultados_totales.csv", header = TRUE, fileEncoding
= "UTF-8", sep = ";")

# Filtrar los datos según los criterios especificados
datos_filtrados <- subset(data_total,
  AIH <= 30 & # Valores de AIH iguales o menores a 30
  UPP <= 90 & # Valores de UPP iguales o menores a 90
  AF >= 5 & # Valores de AF iguales o menores a 5
  DHIF <= 30 & # Valores de DHIF iguales o menores a 30
  R.5 == "Aceptado" & # R.5 únicamente ACEPTADOS
  R.Pf == "Aceptado" & # R.Pf únicamente ACEPTADOS
  R.GSK == "Aceptado" & # R.GSK únicamente ACEPTADOS
  TD == "Aceptado") # TD únicamente ACEPTADOS

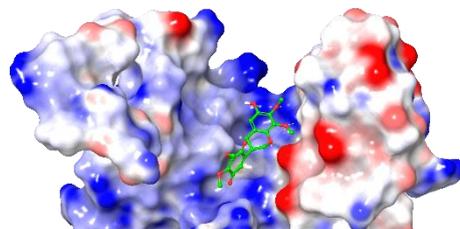
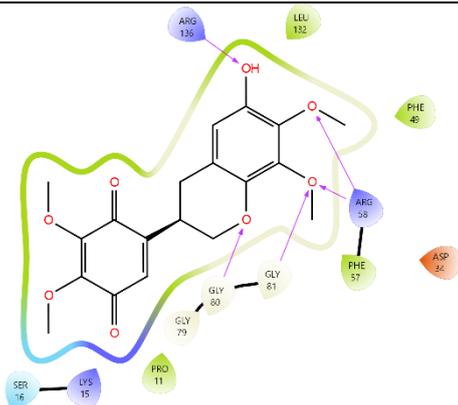
# Guardar el nuevo conjunto de datos filtrados en un archivo CSV
write.csv(datos_filtrados, file = "datos_filtrada.csv")
```

Anexo 3: Ilustraciones 2D y 3D de las interacciones entre los flavonoides seleccionados y la shikimato quinasa de MTB, ordenados en función de su energía libre de unión (ΔG).

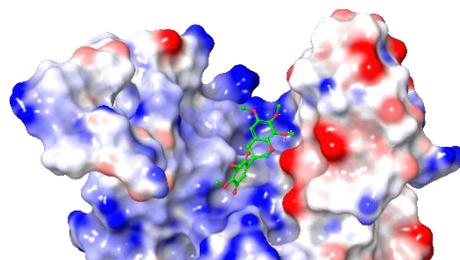
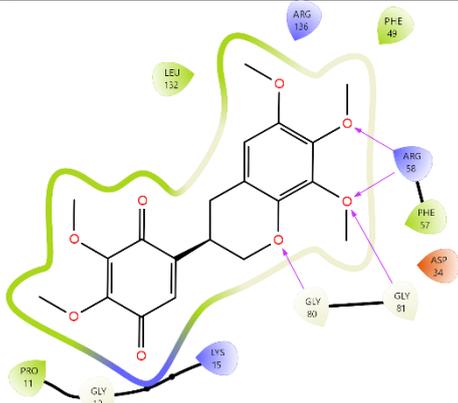
LIPID MAPS ID	NOMBRE	ΔG	LIPID MAPS ID	NOMBRE	ΔG	LIPID MAPS ID	NOMBRE COMÚN	ΔG
12080002	(3S)-3',7-dihidroxi-2',4',5',8-tetrametoxiisoflavano	-41.46	12020024	(2R,3R)-3,5,7,3',5'-pentahidroxiflavan	-31.84	12020166	Apiferol	-28.35
12080001	(3S)-7-hidroxi-2',3',4',5',8-pentametoxiisoflavano	-38.41	12120600	Loureira C	-31.52	12020175	Guiburtinidol-4-alfa-ol	-27.07
12080056	Abruquinona C	-38.31	12020177	Epiguiburtinidol-4-beta-ol	-31.18	12020001	Catequina	-26.52
12080057	Abruquinona B	-37.94	12020176	Epiguiburtinidol-4-alfa-ol	-30.85	12020035	Afzelequina	-25.48
12020133	Galocatequina 4'-metil éter	-34.42	12020202	Leucocianidina	-30.48	12120608	4,4'-Dihidroxi-2,6-dimetoxi-dihydrochalcona	-25.05
12020170	Luteoforol	-34.2	12120606	2,4,4'-Trihidroxi-dihydrochalcona	-30.4	12020138	Afzeliquina 5,4'-dimetil éter	-20.33
12120463	Cochinchinenina A	-34.03	12050274	Panchovillina	-29.76	12120411	Criptocariona	-19.72
12020261	Apigeniflavan 5-O-xilósido	-32.79	12020037	(+)-Epiafzelequina	-28.95	12020007	Guiburtinidol	-18.86
12020002	Galocatequina	-32.31	12020182	ent-Epifisetinidol-4-beta-ol*	-28.78	12120603	Loureira D	-15.44
12020203	Leucocianidol	-32.11	12020178	Fisetinidol-4-beta-ol	-28.74			



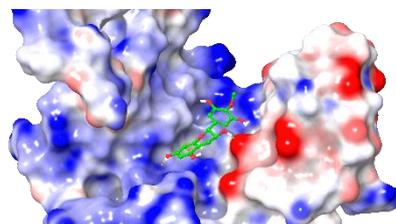
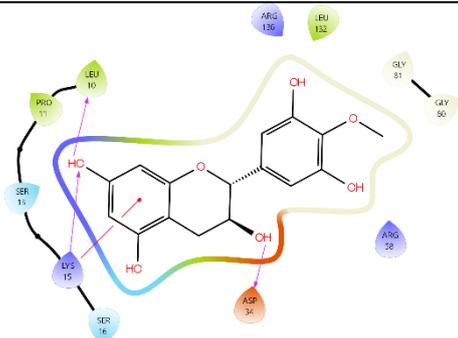
3 -38.31 12080056



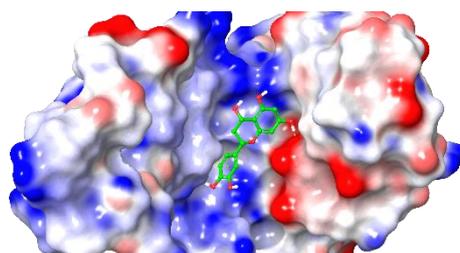
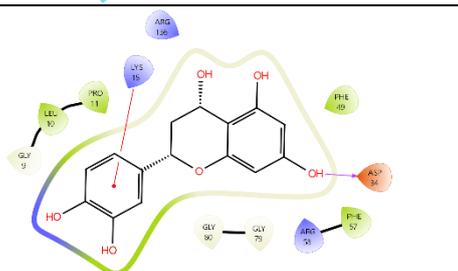
4 -37.94 12080057



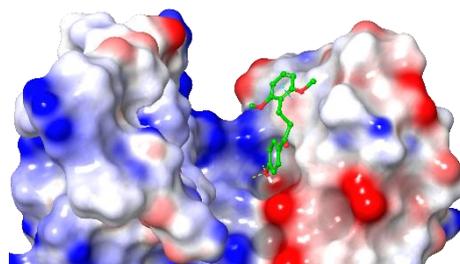
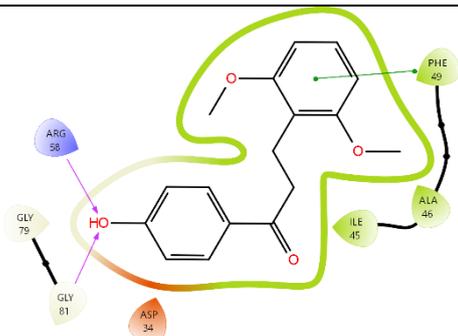
5 -34.42 12020133



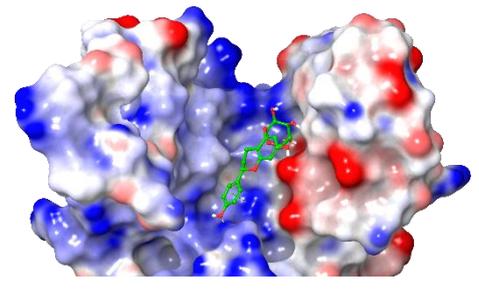
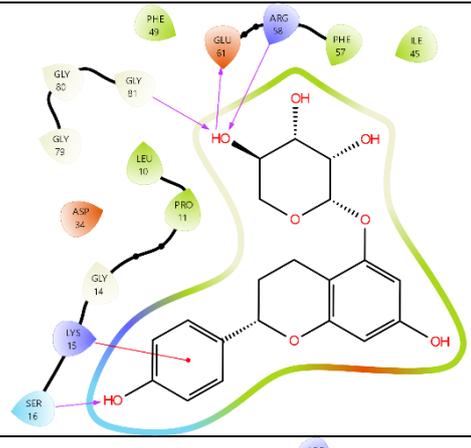
6 -34.20 12020170



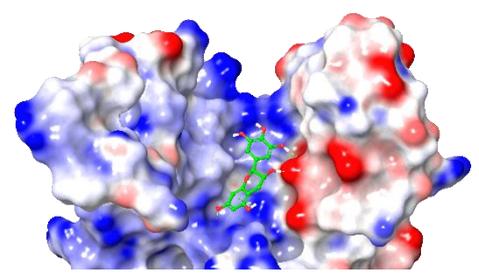
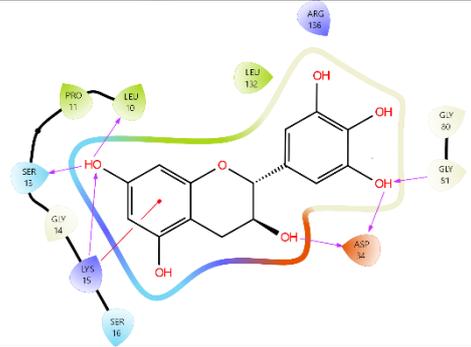
7 -34.03 12120463



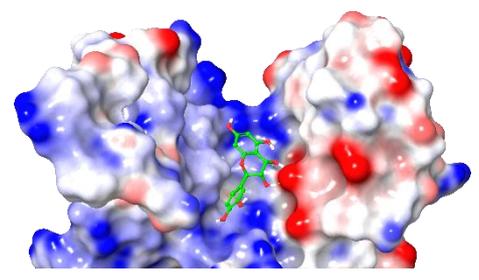
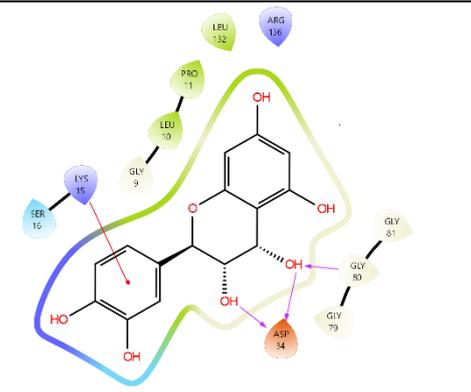
8 -32.79 12020261



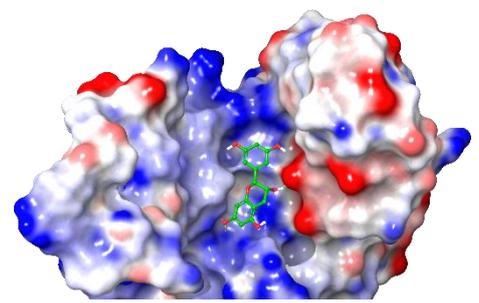
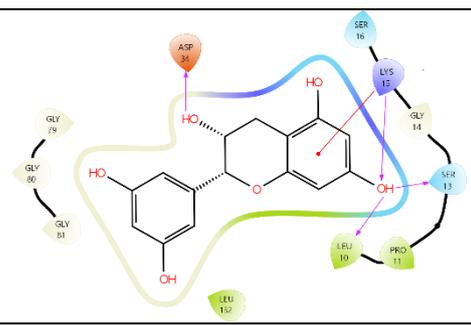
9 -32.31 12020002



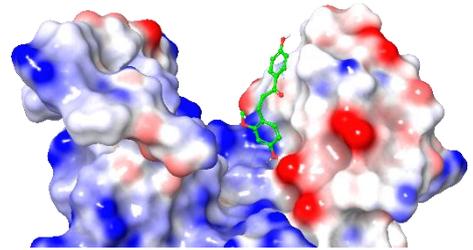
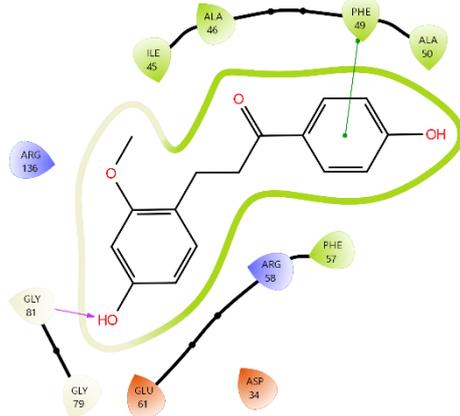
10 -32.11 12020203



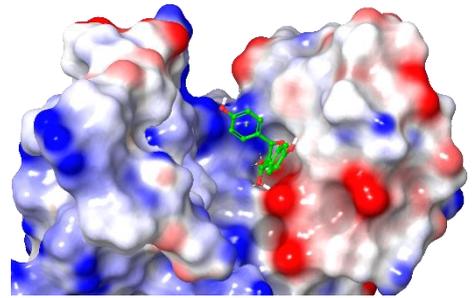
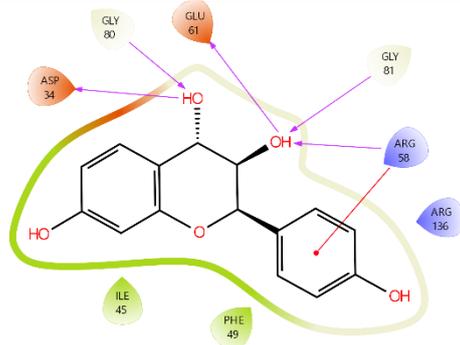
11 -31.84 12020024



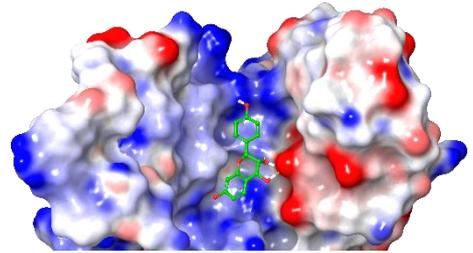
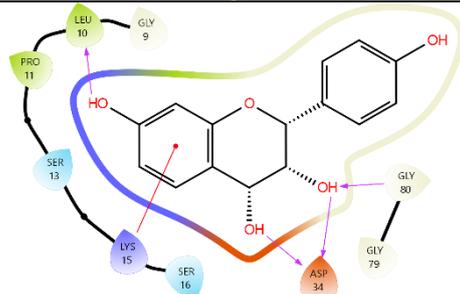
12 -31.52 12120600



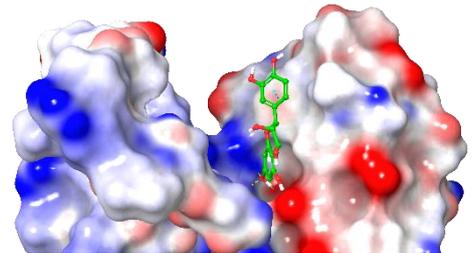
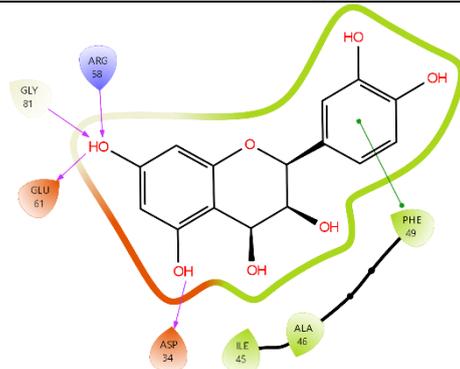
13 -31.18 12020177



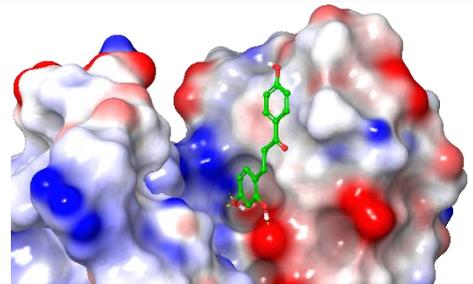
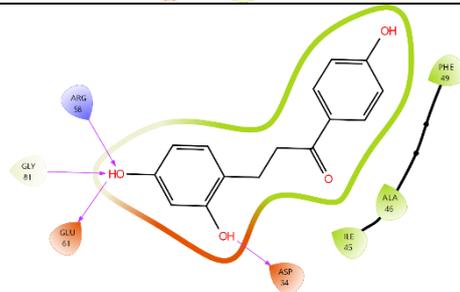
14 -30.85 12020176



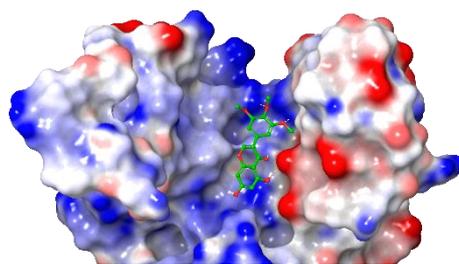
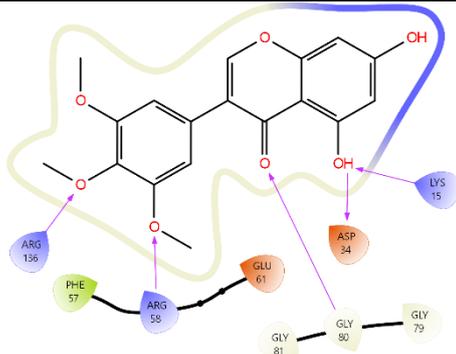
15 -30.48 12020202



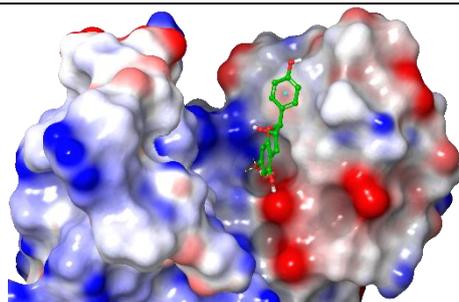
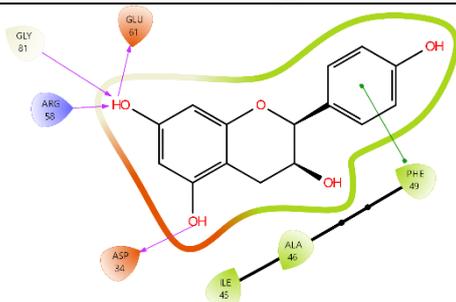
16 -30.4 12120606



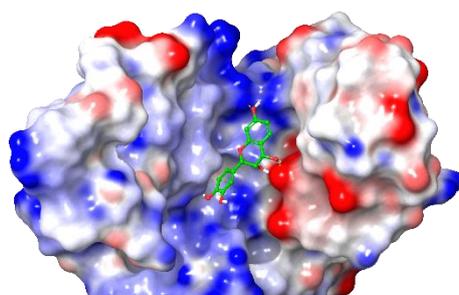
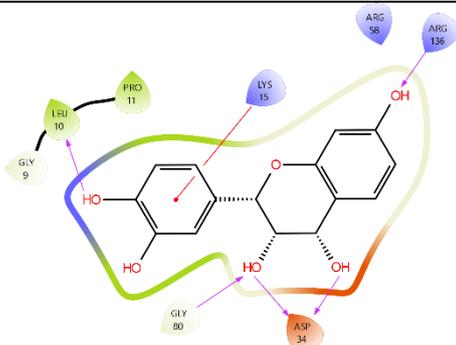
17 -29.76 12050274



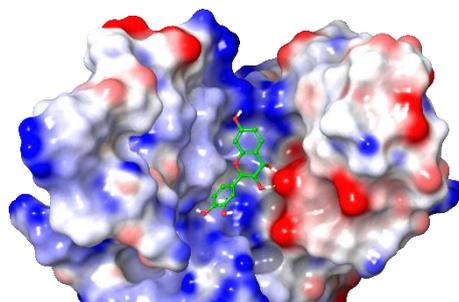
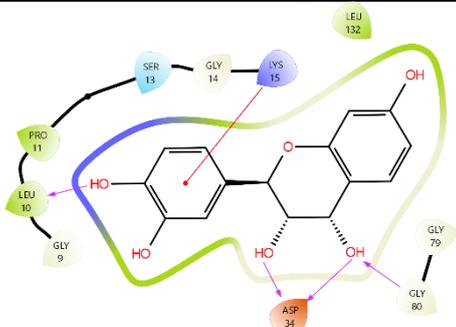
18 -28.95 12020037



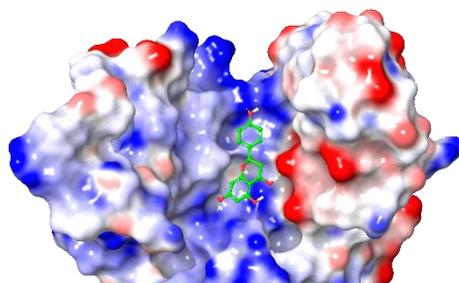
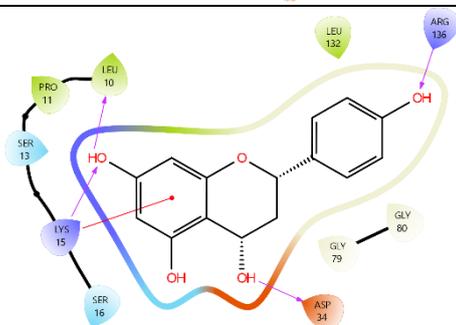
19 -28.78 12020182



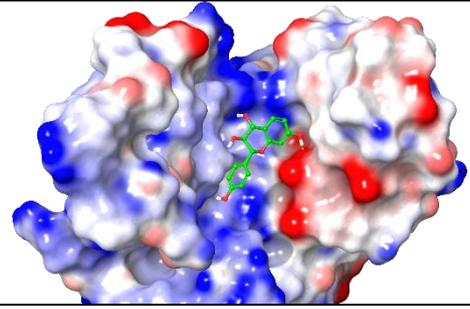
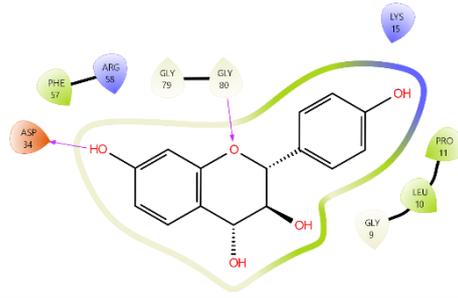
20 -28.74 12020178



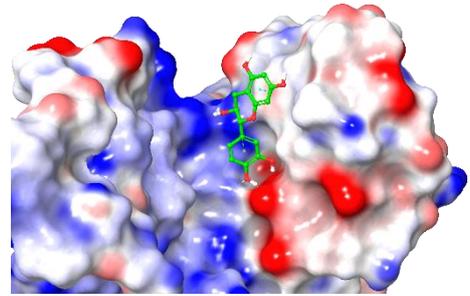
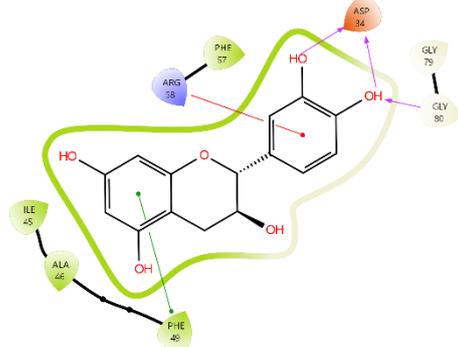
21 -28.35 12020166



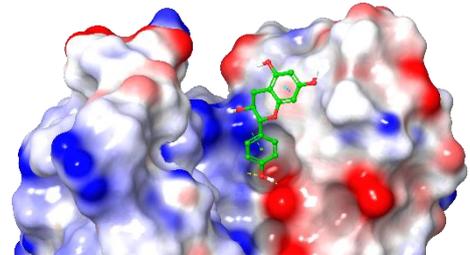
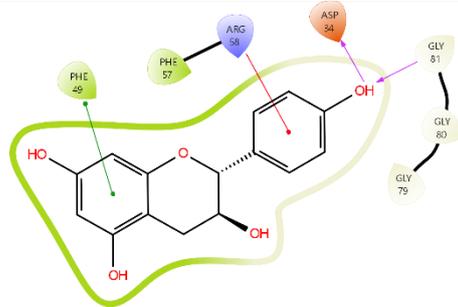
22 -27.07 12020175



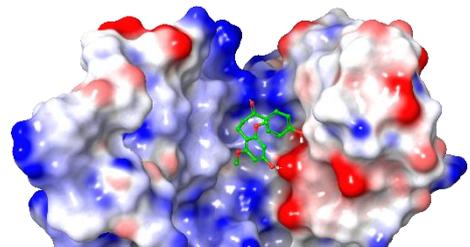
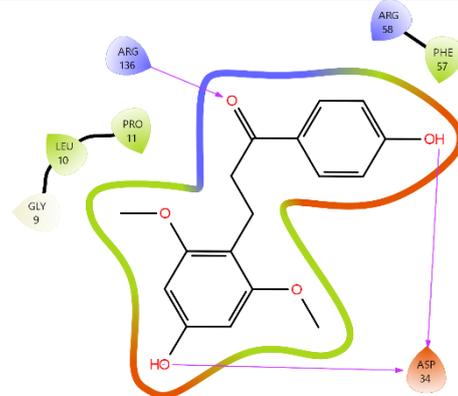
23 -26.52 12020001



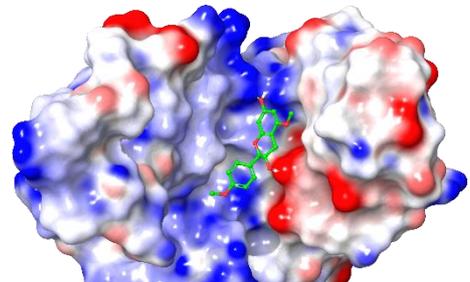
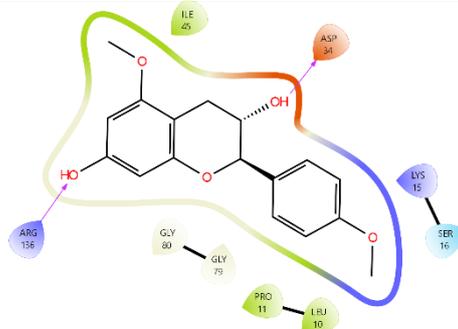
24 -25.48 12020035



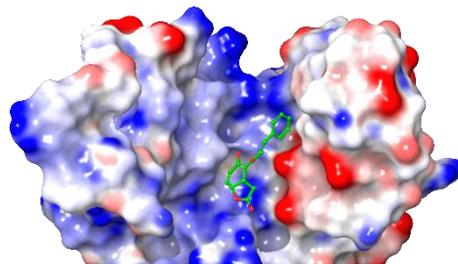
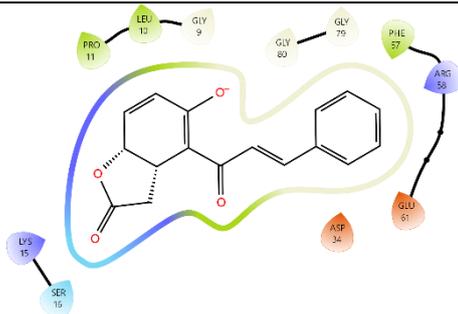
25 -25.05 12120608



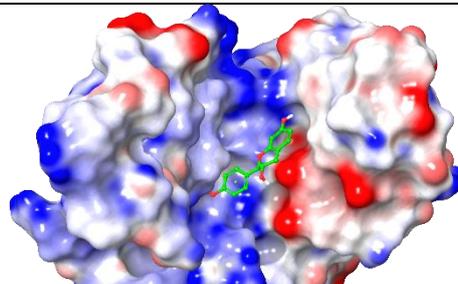
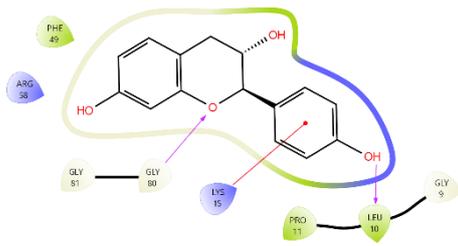
26 -20.33 12020138



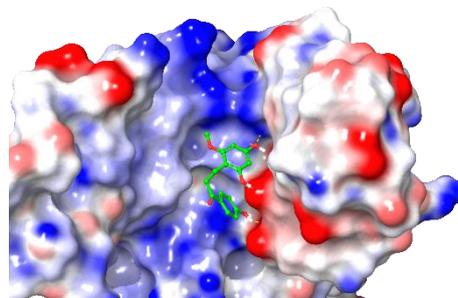
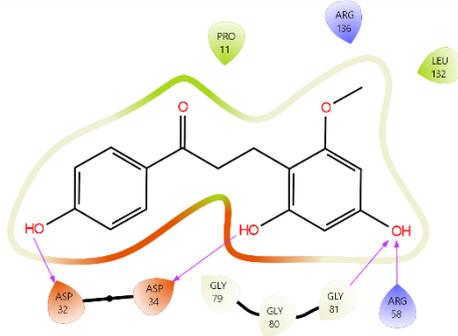
27 -19.72 12120411



28 -18.86 12020007



29 -15.44 12120603



Fuente: Datos recopilados del programa Ligand Interaction Diagram

Anexo 4: Autorización para uso de equipo de cómputo en el Laboratorio de Investigación de Biopolímero y Metalofármacos (LIBIPMET – UNI).

PETICIÓN DE AUTORIZACIÓN

PARA: Dr. Jesús A. Alvarado Huayhuaz
Laboratorio de Investigación de Biopolímeros y Metalofármacos (LIBIPMET)
Facultad de Ciencias
Universidad Nacional de Ingeniería (UNI), Lima, Perú

DE: Bach. Estefanía Choque Tacuri
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), Cusco, Perú

ASUNTO: Solicitud de autorización para uso de equipos y software especializado

FECHA: Cusco, 12 de enero del 2024

Estimado Dr Alvarado.

Por medio de la presente, me dirijo a usted con el fin de solicitar su autorización para hacer uso de los equipos de cómputo especializados disponibles en LIBIPMET así como del programa informático Maestro, destinados a ensayos de acoplamiento molecular.

Esta solicitud se realiza en el marco del desarrollo de mi proyecto de tesis titulado “**Evaluación in silico del potencial inhibitorio de una colección de flavonoides frente a la enzima shikimato quinasa de *Mycobacterium tuberculosis***”, con el objetivo de aprovechar las herramientas avanzadas disponibles en su laboratorio para realizar análisis de alta precisión que son esenciales para alcanzar los objetivos planteados en mi trabajo.

Los ensayos de acoplamiento molecular y cálculo de energías libres de unión se proyectan a ser realizados en un lapso no mayor a dos semanas, de manera presencial o remota, desde el 05/02/2024 hasta el 19/02/2024. Asimismo, me comprometo a respetar las políticas de uso de los equipos y licencias, así como a mantener la integridad de los recursos. De igual forma, estoy dispuesta a coordinar los horarios y condiciones de uso de acuerdo con las normas del laboratorio y las disposiciones que usted considere pertinentes.

Agradezco de antemano su consideración a esta solicitud y quedo a su disposición para cualquier información adicional o reunión que considere necesaria para evaluar mi pedido.

Sin más que agregar, quedo atenta a su respuesta y le extiendo mi más cordial saludo.

Solicita



Bach. Estefanía CHOQUE TACURI
DNI 43044854
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica
Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

Autoriza



Dr. Jesús Antonio Alvarado Huayhuaz
DNI 43289433
Laboratorio de Investigación de Biopolímeros y Metalofármacos
Universidad Nacional de Ingeniería

Anexo 5: Resultados de la evaluación del servidor ADMETLab 2.0 para la colección de flavonoides.

Consideraciones

En las siguientes tablas se muestran la totalidad de los parámetros AMDET y criterios de semejanza a fármacos calculados para los 6567 flavonoides de la base de datos LIPID MAPS.

Fuente: Datos recopilados del servidor ADMETLab 2.0

Leyenda:

- AIH: Absorción intestinal humana
- UPP: Unión a proteínas plasmáticas
- AF: Aclaramiento de fármacos
- DHIF: Daño hepático inducido por fármacos
- R.5: Regla de los 5 de Lipinski
- R.Pf: Regla de Pfizer
- R.GSK: Regla de Glaxo Smith Kline
- TD: Triángulo dorado.