

PREDICCIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIHIPERTENSIVA DE NUEVAS
MOLÉCULAS ANÁLOGAS AL ENALAPRIL BASADAS EN LA RELACIÓN
ESTRUCTURA - ACTIVIDAD BIOLÓGICA, MEDIANTE UNA METODOLOGÍA *IN*
SILICO

KAREN LIZETH GONZÁLEZ ARÉVALO
PAULA ALEJANDRA MOJICA MATALLANA

UNIVERSIDAD EL BOSQUE
FACULTAD DE INGENIERÍA
PROGRAMA DE BIOINGENIERÍA
BOGOTÁ
2019

PREDICCIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIHIPERTENSIVA DE NUEVAS
MOLÉCULAS ANÁLOGAS AL ENALAPRIL BASADAS EN LA RELACIÓN
ESTRUCTURA - ACTIVIDAD BIOLÓGICA, MEDIANTE UNA METODOLOGÍA *IN*
SILICO

KAREN LIZETH GONZÁLEZ ARÉVALO
PAULA ALEJANDRA MOJICA MATALLANA

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de:
BIOINGENIERO

Director:

Ph.D. James Oswaldo Guevara Pulido

Codirector:

M.Sc. Jhon Alex González Amaya

Universidad El Bosque
Facultad de Ingeniería
Programa de Bioingeniería

Bogotá

2019

Contenido

Lista de tablas

Lista de figuras

Lista de ecuaciones

Lista de anexos

Abreviaturas

Resumen

Palabras clave

Introducción

CAPÍTULOS:

- 1. Planteamiento del Problema**
 - 1.1 Pregunta(s) de investigación**
- 2. Justificación**
- 3. Marco Teórico**

Presión Arterial

Causas de la hipertensión

Efectos de la presión arterial alta

- **Disminución del flujo sanguíneo al corazón**
- **Daño cerebrovascular**
- **Enfermedad renal**

Factores de riesgo para la hipertensión

Angiotensina I

Angiotensina II

Enzima Convertidora de la Angiotensina (ECA)

Sistema Renina - Angiotensina - Aldosterona (SRAA)

Tratamiento de la hipertensión

- ***Diuréticos tiazídicos***
- ***Bloqueadores beta-adrenérgicos (bloqueadores beta)***
- ***Inhibidores de la enzima conversora de la angiotensina (IECA)***
- ***ARA II***

Enalapril

- **Mecanismo de acción**
- **Farmacocinética**

Metodología *In silico*

QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationships)

Docking Molecular

Concentración inhibitoria máxima media (IC₅₀)

Toxicidad y Ecotoxicidad de compuestos químicos (fármacos)

Clasificación de productos químicos según la estimación de las toxicidades acuáticas agudas

- **Productos químicos inertes (Clase 1)**
- **Productos químicos menos inertes (Clase 2)**
- **Productos químicos reactivos (Clase 3)**
- **Productos químicos de acción específica (Clase 4)**

4. Estado del Arte

5. Objetivos

5.1. Objetivo General

5.2. Objetivos Específicos

6. Requerimientos

7. Metodología

- **Diseño 3D de moléculas: CHEMDRAW Y AVOGADRO**
- **Cálculo de descriptores: ALOGPS 2.1 Y OCHEM**
- **Estimación de la actividad molecular: MODELOS QSAR**
- **Evaluación de afinidad de acoplamiento a la enzima: AutoDock Tools y Vina**
- **Pruebas de toxicidad: PREADMET**

8. Resultados

- **Diseño 3D de moléculas**
- **Cálculo de descriptores, Estimación de la actividad molecular (modelos QSAR) y Evaluación de afinidad de acoplamiento a la enzima**
- **Pruebas de toxicidad**

9. Análisis de Resultados

10. Conclusiones

11. Anexos

12. Lugar de ejecución del Proyecto

Bibliografía

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Valores de descriptores, IC_{50} y Afinidad por la ECA, de cada molécula diseñada a partir del análogo 33.

Tabla 2. Valores de descriptores, IC_{50} y Afinidad por la ECA, de cada molécula diseñada a partir del análogo 22.

Tabla 3. Toxicidad aguda en algas: inhibición de crecimiento y reproducción, análogo 33.

Tabla 4. Toxicidad aguda en algas: inhibición de crecimiento y reproducción, análogo 22.

Tabla 5. Toxicidad aguda en peces: inhibición de desarrollo y reproducción, análogo 33.

Tabla 6. Toxicidad aguda en peces: inhibición de desarrollo y reproducción, análogo 22.

Tabla 7. Test de Ames: mutagenicidad en bacterias, análogo 33.

Tabla 8. Test de Ames: mutagenicidad en bacterias, análogo 22.

Tabla 9. Carcinogenicidad en roedores, análogo 33.

Tabla 10. Carcinogenicidad en roedores, análogo 22.

Tabla 11. Inhibición del gen hERG, análogo 33.

Tabla 12. Inhibición del gen hERG, análogo 22.

Tabla 13. Características de las 3 moléculas que presentan resultados promisorios, tras modificaciones realizadas al **análogo 22**.

Tabla 14. Características de las 3 moléculas que presentan resultados promisorios, tras modificaciones realizadas al **análogo 33**.

Tabla 15. Potencial de inhibición de un fármaco de acuerdo al valor de IC_{50} que presenta.

Tabla 16. Estadísticas de resumen para el índice de toxicidad logarítmica para las clases 1, 2, 3 y 4.

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1. Estructura 2D de la Angiotensina I.

Fig. 2. Estructura 2D de la Angiotensina II.

Fig. 3. Representación estructural tridimensional de la ECA (tACE).

Fig. 4. Sitio activo: Unión del Lisinopril a la ECA.

Fig. 5. Estructura química Hidroclorotiazida.

Fig. 6. Estructura química Atenolol.

Fig. 7. Estructura química Enalapril.

Fig. 8. Estructura química Candesartán.

Fig. 9. Mecanismo de acción de Enalapril maleato.

Fig. 10. Estructura molecular Enalapril.

Fig. 11. Estructura Análogo 22, obtenida en fase previa de desarrollo del proyecto.

Fig. 12. Estructura Análogo 33, obtenida en fase previa de desarrollo del proyecto.

Fig. 13. Primera posición de cambios estructurales para los análogos 22 (izquierda) y 33 (derecha). Sustitución de grupos amida (izquierda) e hidroxilo (derecha) por grupos alquilo.

Fig. 14. Segunda posición de cambios estructurales para los análogos 22 (izquierda) y 33 (derecha). Sustitución de Fenil por grupos alquilo.

Fig. 15. Tercera posición de cambios estructurales para los análogos 22 (izquierda) y 33 (derecha). Sustitución de grupos amida (análogo 22), hidroxilo (análogo 33) y fenil, por grupos alquilo.

Fig. 16. Cuarta posición de cambios estructurales para los análogos 22 (izquierda) y 33 (derecha). Adición de grupos funcionales cloruro, fluoruro y alquilo, en las posiciones Orto, Meta y Para del terminal aromático (fenil).

Fig. 17. Quinta posición de cambios estructurales para los análogos 22 (izquierda) y 33 (derecha). Sustitución por grupos alquilo y adición de halógenos.

Fig. 18. Sexta posición de cambios estructurales para los análogos 22 (izquierda) y 33 (derecha). Modificaciones sobre el terminal donde se ubica la Prolina..

Fig. 19. Representación 3D de la enzima convertidora de la angiotensina. (Autodock).

Fig. 20. Representación 3D de la enzima convertidora de la angiotensina junto a las coordenadas del sitio activo. (Autodock).

Fig. 21 Residuos aminoacídicos de la interacción ligando-enzima de todas las IECAS.

LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 1. Modelo matemático 1 para la estimación de IC_{50} de una molécula, basado en la Regresión Lineal Múltiple (MLR).

Ecuación 2. Modelo matemático 2 para la estimación de IC_{50} de una molécula, basado en la Regresión de Mínimos Cuadrados Lineales (PLS).

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. *Tabla de representación de las modificaciones estructurales del análogo 22.*

ANEXO 2. *Tabla de representación de las modificaciones estructurales del análogo 33.*

ABREVIATURAS

ADMET: Absorción, Digestión, Metabolismo, Excreción y Toxicidad.

Ang I: Angiotensina I

Ang II: Angiotensina II

AMR: Refractividad molar

AMR: Refractividad molar

DMo: Momento dipolar

ECA: Enzima Convertidora de la Angiotensina.

IC₅₀: Concentración inhibitoria media máxima

IECA: Inhibidor de la Enzima Convertidora de la Angiotensina

INQA: Investigación en Química Aplicada

LogP: Coeficiente de partición

MLR: Regresión Lineal Múltiple

PLS: Regresión de Mínimos cuadrados lineales

QSAR: Relación cuantitativa estructura-actividad (Quantitative structure-activity relationship)

SRAA: Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

RESUMEN

Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAS) son una clase de medicamentos que se emplean en el tratamiento de enfermedades del corazón. Con el objetivo de establecer la actividad biológica potencial de varios análogos estructurales de IECAS comerciales, como el Enalapril, se desarrolló un estudio *In silico* en el cual se exploraron algunas correlaciones entre las propiedades moleculares y el IC₅₀ del fármaco.

Para los cálculos de algunas propiedades moleculares se emplearon el programa ALogPS 2.1 y algunos datos de referencia para valorar la calidad de los resultados y del modelo establecido se tomaron de la base de datos Ochem. Adicionalmente, se exploraron correlaciones MLR y PLS entre la actividad biológica y la estructura de cada análogo estructural de IECAS, sometiendo cada candidato a un análisis conformacional empleando el programa Avogadro.

Por otra parte, la probabilidad y la energía de unión entre los candidatos evaluados y la enzima se evaluaron mediante docking molecular, usando Autodock Vina.

Se obtuvieron resultados que mostraron variación en los valores de IC₅₀ dependiendo el tipo de modificación realizado estructuralmente y del mismo modo sucede con la afinidad que presenta cada análogo por la Enzima, sin embargo, lograron obtenerse valores de IC₅₀ que se encuentran de cien a diez mil veces por debajo del valor de fármacos antihipertensivos comerciales; de este mismo modo se observó que algunas de las modificaciones empleadas minimizan la toxicidad del compuesto. Las moléculas que mostraron una mayor actividad antihipertensiva promisorias presentan en su estructura modificaciones correspondientes a la sustitución y adición de grupos funcionales como halógenos y alquilos, puntualmente la presencia de trifluorometilo en el terminal fenílico y la presencia de cadenas alifáticas extensas, siendo las variaciones número 57, 58 y 84 las escogidas a partir del análogo 22 y las variaciones número 55, 58 y 61 correspondientes al análogo 33. Finalmente se concluye a modo general, que la metodología implementada (*In silico*) puede aportar al desarrollo de nuevos fármacos con mayor actividad antihipertensiva que los medicamentos actualmente existentes.

Palabras Clave: *IECA, Enzima Convertidora de la Angiotensina, Enalapril, IC₅₀, in silico.*

INTRODUCCIÓN

La estimulación o inhibición de una reacción catalizada por enzimas puede permitir la modulación selectiva de una variedad de procesos bioquímicos como el crecimiento celular, la división y la viabilidad, o interrumpir las principales rutas metabólicas al bloquear la formación de un metabolito esencial o indeseable. La inhibición de la actividad enzimática representa una estrategia importante en el diseño de fármacos, como se observa en el hecho de que muchos de los principales fármacos de venta son inhibidores de enzimas. (Caldwell et al., 2012)

La capacidad de medir con precisión la concentración del inhibidor que se requiere para inhibir a la mitad una función biológica o bioquímica dada es extremadamente importante en la clasificación de compuestos. El concepto de la concentración inhibitoria máxima media (IC_{50}) se usa ampliamente para estudiar las reacciones enzimáticas de inhibición reversible y actualmente existen técnicas de modelado matemático utilizadas para generar dichos valores de IC_{50} . (Caldwell et al., 2012)

El concepto de la concentración inhibitoria máxima media (IC_{50}) se usa ampliamente en el mundo farmacéutico como una medida de la eficacia en la inhibición de funciones biológicas o bioquímicas. Los valores grandes de IC_{50} denotan inhibidores que interactúan de manera menos efectiva con una enzima que los inhibidores que tienen valores pequeños (Caldwell et al., 2012), por lo que en el presente trabajo, lo que se buscó fue llegar a valores pequeños de IC_{50} a partir de la modificación estructural de la molécula base de un fármaco antihipertensivo, inhibidor de la Enzima Convertidora de la Angiotensina, empleando el modelado 3D de moléculas e implementando modelos matemáticos que permitieran obtener el valor de IC_{50} de cada molécula modelada y a su vez, obtener moléculas que teóricamente presentaran una mayor afinidad por la enzima, para que existiera una mayor interacción.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La hipertensión es un trastorno en el que los vasos sanguíneos presentan una tensión persistentemente alta, lo cual es un importante factor de riesgo de padecimiento de enfermedad cardiovascular (OMS,2013)(Melgarejo *et al.*, 2017). La hipertensión es considerada una de las principales causas de morbilidad y mortalidad cardiovascular (Khedr *et al.*, 2018), se estima que 1000 millones de personas sufren de hipertensión en el mundo y 500 millones de personas más, la sufrirán para 2025. Es la principal causa mundial de muerte, se estima desde el 2015 que ha sido la causa de 17,3 millones de muertes por año, un número que se estima que aumentará a más de 23,6 millones de muertes por año para el 2030.

(Melgarejo et al., 2017) (Bakris *et al.*, 2018) (PAHO/WHO, 2017)(American Heart Association, 2015).

Se ha afirmado que la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona contribuye al desarrollo de la hipertensión, pues está directamente implicado en el control de la presión arterial y del equilibrio electrolítico del cuerpo (Bouillet, 2016)(Khedr *et al.*, 2018). Un factor clave en este sistema es la enzima convertidora de angiotensina (ECA), que cataliza la degradación de la angiotensina I a la angiotensina II (AngII). AngII es un fuerte promotor de la disfunción endotelial y la remodelación vascular adversa. Estos cambios son críticos en el mantenimiento de la hipertensión crónica, por lo que se dispone de fármacos inhibidores de la actividad de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA) como tratamiento antihipertensivo (Bouillet, 2016). Los IECA, como lo son el Captopril, Enalapril y Lisinopril, entre otros; disminuyen rápidamente la presión arterial al impedir la transformación de angiotensina I en angiotensina II. Su administración reduce los niveles plasmáticos de angiotensina II, actuando como potentes vasodilatadores, tanto arteriales como venosos, que producen respuestas hipotensoras prolongadas. Sin embargo, comúnmente se registran efectos adversos causados por estos, como cefalea, tos, hipotensión, hipercalemia, insuficiencia renal aguda, proteinuria, angioedema, entre otros, haciendo de la investigación y desarrollo de este tipo de compuestos IECA una prioridad en la ciencia médica moderna. Desarrollar nuevos análogos a los fármacos existentes, con perfiles clínicos y toxicológicos más favorables a los actuales, reduciendo el tiempo de experimentación (ensayo-error) usando QSAR y de esta manera sintetizar solamente los de mejores resultados, sería un gran avance en el desarrollo de estos medicamentos (Bouillet, 2016) (García y Toruncha, 1997).

1.1 Pregunta(s) de investigación

¿Es posible obtener moléculas con actividad antihipertensiva promisorias a partir de la implementación de los modelos QSAR establecidos por el grupo INQA?

2. JUSTIFICACIÓN

Inicialmente el diseño y síntesis de fármacos se llevaba a cabo por medio de la implementación de metodología ensayo-error, sin embargo, en esta área se han desarrollado e implementado metodologías computacionales (*In silico*), instaurando nuevas disciplinas en torno al campo de la farmacia. Una de estas metodologías se relaciona directamente con el análisis numérico de las estructuras químicas y sus correspondientes actividades biológicas (Quantitative Structure-Activity Relationships, QSAR) (Roy, K. et al., 2015). Esta técnica reúne metodologías *In silico* relacionadas con el diseño y visualización espacial virtual de moléculas, el cálculo de propiedades físicas, químicas y moleculares que funcionan como descriptores, cuyo fin es realizar una predicción teórica de la actividad biológica que permita el diseño teórico de posibles nuevos fármacos. Para llevar a cabo esta metodología se hace uso de tres softwares, cuyo lenguaje de programación (que hace referencia a C++) permite llevar a cabo en cada uno de ellos el diseño y la optimización estructural de las moléculas, así como la evaluación del acoplamiento de las mismas a la enzima.

Por ende, la implementación de esta metodología (*In silico*) requiere del conocimiento en manejo de software y realiza un aporte ingenieril, principalmente evidenciado en el trabajo multidisciplinar que surge en la integración de la línea de investigación del grupo de investigación INQA “diseño asistido de fármacos”, con uno de los focos misionales del programa: “ingeniería para la salud de entes biológicos”, pues actualmente el diseño y obtención de fármacos requiere de un trabajo interdisciplinar, lo que permite al bioingeniero hacerse partícipe de ello, debido a que se encuentra en capacidad de entendimiento e integración del conocimiento en los ámbitos científico y biológico y desde la parte ingenieril, enfatizando en la optimización de procesos farmacéuticos, presentando ventajas como la disminución en los costos de diseño y producción de fármacos, al evitar que deban realizarse procesos que demandan más tiempo y costos y a la vez la disminución en la experimentación animal.

El desarrollo del captopril, el primer compuesto químico sintético utilizado para tratar la hipertensión, derivado de un producto natural, que actúa como inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, se llevó a cabo utilizando los fundamentos conceptuales del diseño racional de drogas, constituyendo unos de los primeros ejemplos en emplear esta práctica, evitando la síntesis y evaluación biológica de miles de compuestos para el desarrollo de un nuevo medicamento. La aparición de este compuesto en la década del setenta tuvo un profundo impacto social ya que se consiguió un nuevo y efectivo método de control de la presión arterial alta o hipertensión (FUNINTEC,s.f.).

Sobre la estructura de captopril se diseñaron posteriormente nuevos compuestos más eficientes, como el enalapril. El uso de estas moléculas se puede considerar

como la terapia de primera línea para el tratamiento de la hipertensión y otros problemas cardíacos (FUNINTEC,s.f.).

Por lo que se considera, que nuevas modificaciones sobre la estructura del enalapril pueden permitir la obtención de moléculas con una actividad antihipertensiva promisoría, pues de hecho, en anteriores estudios realizados por el grupo de investigación, en los cuales se modificaron algunos de sus terminales, se obtuvieron valores predictivos de IC_{50} que probablemente permitirían que se diera una mejor actividad como fármaco antihipertensivo.

3. MARCO TEÓRICO

Presión Arterial:

Es la fuerza que ejerce la sangre contra las paredes de las arterias que llevan la sangre del corazón a otras partes del cuerpo. La presión arterial se mide con dos números. El primer número, llamado presión arterial sistólica, representa la presión en los vasos sanguíneos cuando late el corazón. El segundo número, llamado presión arterial diastólica, representa la presión en los vasos sanguíneos cuando el corazón descansa entre los latidos. La presión arterial se mide en milímetros de mercurio (mmHg) (CDC,2014).

La presión arterial normalmente aumenta y disminuye a lo largo del día, pero puede dañar el corazón y causar problemas de salud si permanece alta durante un tiempo prolongado. La presión arterial alta también se llama **hipertensión** (CDC,2014), trastorno en el que la presión de la sangre dentro de los vasos sanguíneos es más alta de lo normal (HIT, s.f). Una presión arterial inferior a 120/80 mmHg es normal. Una presión arterial de 140/90 mmHg o más es demasiado alta. Las personas con niveles de 120/80 mmHg a 139/89 mmHg tienen una condición llamada prehipertensión, lo que significa que tienen un alto riesgo de presión arterial alta (CDC,2014) (HIT, s.f).

Causas de la hipertensión:

La hipertensión primaria, que representa el 90 % de los casos de hipertensión arterial, se produce por razones desconocidas, aunque se sabe que ciertos factores de riesgo predisponen a una persona a desarrollar presión arterial alta. La hipertensión secundaria se produce como resultado de trastornos que afectan a otras partes del cuerpo que desempeñan un papel integral en la circulación sanguínea, como los vasos sanguíneos, el riñón y el hígado (HIT, s.f).

Cualquier aumento en el volumen de líquido (retención de agua) o el estrechamiento de los vasos sanguíneos (arteriosclerosis o estrechamiento debido al colesterol y las placas) aumentará la presión arterial. La fuerza del aumento de presión puede causar una amplia gama de problemas sin ningún síntoma evidente al principio (HIT, s.f), por lo que en muchos casos no se sabe que se tiene. La única forma de saber si se tiene, es midiendo la presión arterial. Si ésta es demasiado alta, deben tomarse medidas para controlarla y contrarrestar los efectos que esta condición genera. Algunas de estas medidas implican tomar medicamentos, reducir el sodio en la dieta, realizar actividad física todos los días y dejar de fumar, entre otras (CDC,2016).

Efectos de la presión arterial alta:

- **Disminución del flujo sanguíneo al corazón:** La presión arterial alta puede endurecer las arterias, lo que disminuye el flujo de sangre y oxígeno al corazón y conduce a enfermedades cardíacas. Además, la disminución del flujo sanguíneo al corazón puede causar:
 - Dolor en el pecho, también llamado angina. (CDC,2014)
 - Insuficiencia cardíaca, una afección en la que su corazón no puede bombear suficiente sangre y oxígeno a sus otros órganos. (CDC,2014)
 - Ataque al corazón, que ocurre cuando el suministro de sangre al corazón está bloqueado y el músculo cardíaco comienza a morir sin suficiente oxígeno. Cuanto más tiempo se bloquea el flujo de sangre, mayor es el daño al corazón (CDC,2014).
- **Daño cerebrovascular:** La presión arterial alta puede estallar o bloquear las arterias que suministran sangre y oxígeno al cerebro, causando un derrame cerebral. Las células cerebrales mueren durante un accidente cerebrovascular porque no reciben suficiente oxígeno. El accidente cerebrovascular puede causar discapacidades graves en el habla, el movimiento y otras actividades básicas, y un derrame cerebral puede matarlo (CDC,2014).
- **Enfermedad renal:** Los adultos con diabetes, presión arterial alta o ambos tienen un mayor riesgo de desarrollar enfermedad renal crónica que aquellos sin estas enfermedades. Aproximadamente 1 de cada 3 adultos con diabetes y 1 de cada 5 adultos con presión arterial alta tienen enfermedad renal crónica (CDC,2014).

Los factores de riesgo para desarrollar hipertensión son ampliamente conocidos y abordarlos en una etapa temprana puede reducir significativamente las posibilidades de desarrollar presión arterial alta (HIT, s.f).

Factores de riesgo para la hipertensión:

- Predisposición genética
- Sobrepeso u obesidad
- Consumo excesivo de tabaco
- Consumo excesivo de alcohol
- Dieta con elevado consumo de sal o bajo consumo de potasio
- Hipercolesterolemia (colesterol alto en la sangre)
- Estilo de vida sedentario (falta de ejercicio y actividad física)
- Deficiencias de vitaminas y minerales (la anemia o la baja de hierro en la sangre pueden causar presión arterial baja o hipotensión)
- Diabetes

La presencia de estos factores de riesgo hace que se active el Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA), encargado de la regulación de la presión arterial en el cuerpo humano.

Angiotensina I (AngI):

La angiotensina I parece no tener actividad biológica y existe únicamente como un precursor de la angiotensina II. La angiotensina I se forma por la acción de la renina sobre el angiotensinógeno. La renina rompe el enlace peptídico entre los residuos de leucina (Leu) y valina (Val) en el angiotensinógeno, creando la angiotensina I del péptido de diez aminoácidos (des-Asp). (PubChem(a), s.f)

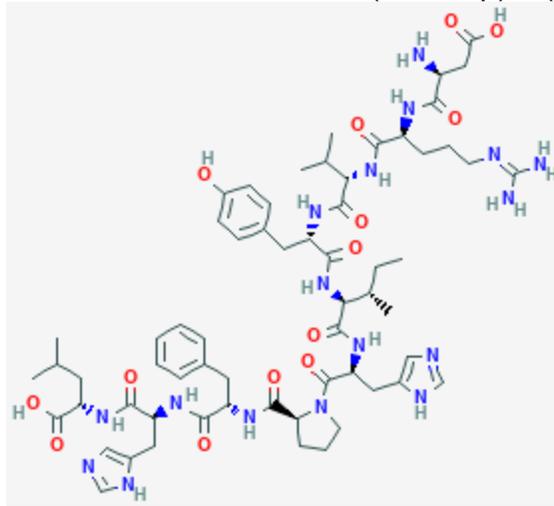


Fig. 1. Estructura 2D de la Angiotensina I. (PubChem(a), s.f)

Angiotensina II (AngII):

Un octapéptido que es un vasoconstrictor potente pero lábil. Se produce a partir de la angiotensina I después de la eliminación de dos aminoácidos en el C-terminal por la ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA. El aminoácido en la posición 5 varía en diferentes especies. (PubChem(b), s.f)

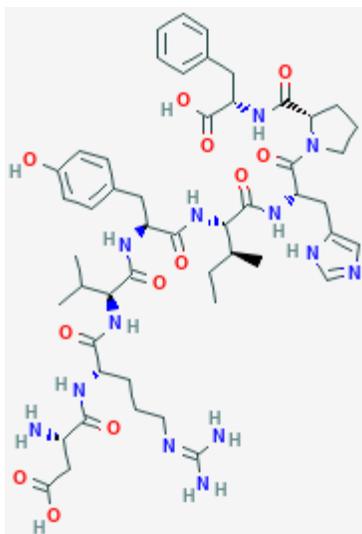


Fig. 2. Estructura 2D de la Angiotensina II. (PubChem(b), s.f)

Enzima Convertidora de la Angiotensina (ECA):

La enzima convertidora de angiotensina (ECA) es una dipeptidil-carboxipeptidasa anclada a una membrana tipo I, dependiente de zinc y cloruro, que es esencial para la regulación de la presión arterial y la homeostasis electrolítica a través del sistema renina angiotensina-aldosterona. La enzima convertidora de angiotensina tiene un papel crítico en la función cardiovascular, pues cataliza la conversión del decapeptido angiotensina I al octapéptido angiotensina II, al dividir el dipéptido His-Leu del terminal carboxi de la angiotensina I. Además, inactiva la bradisinina vasodilatadora mediante la eliminación secuencial de dos dipéptidos carboxi-terminales.(Riordan, 2003) (Natesh et al., 2003)

Hay dos isoformas de la ECA que se transcriben a partir del mismo gen de una manera específica para el tejido. En los tejidos somáticos existe como una glicoproteína compuesta de una sola cadena polipeptídica grande de 1,277 aminoácidos, mientras que en las células espermáticas es una glicofoma de menor masa molecular de 701 aminoácidos. La forma somática consiste en dos dominios homólogos (dominio N y C). Los dos dominios difieren en sus especificidades de sustrato, perfiles de activación de inhibidores y cloruros y funciones fisiológicas. Hay dos sustratos específicos del dominio N: el péptido N-acetil-serilasplasil-lisil-prolina, que regula la diferenciación y proliferación de las células madre hematopoyéticas; y el péptido potenciador de la bradisinina angiotensina- (1-7). Por otro lado, los sitios activos de ambos dominios catalizan la hidrólisis de la angiotensina I y la bradisinina vasodilatadora con una eficacia similar, sin embargo, el dominio C parece ser necesario y suficiente para controlar la presión arterial y la función cardiovascular, lo que sugiere que el dominio C es el sitio dominante que convierte la angiotensina. (Natesh et al., 2003)

La ECA del testículo (tACE) es idéntica a la mitad C-terminal de la ECA somática, excepto por una secuencia única de 36 residuos que constituye su extremo amino. La estructura de tACE (residuos 37–625) adopta una forma general de elipsoide (dimensiones aproximadamente 72 x 57 x 48 Å) con un surco central que se extiende por aproximadamente 30 Å en la molécula y divide la proteína en dos 'subdominios' (I y II como se muestra en la en la **Fig 3.**). Los límites de la ranura están provistos por las hélices α 13, α 14, α 15, α 17 y la hebra β 4. Encima de la molécula hay una "tapa" N-terminal formada por las hélices α 1, α 2 y α 3 (los tres contienen varios residuos cargados), que parece restringir el acceso de polipéptidos grandes a la hendidura del sitio activo y, por lo tanto, explica la incapacidad de la enzima para hidrolizar sustratos grandes y plegados. (Natesh et al., 2003)

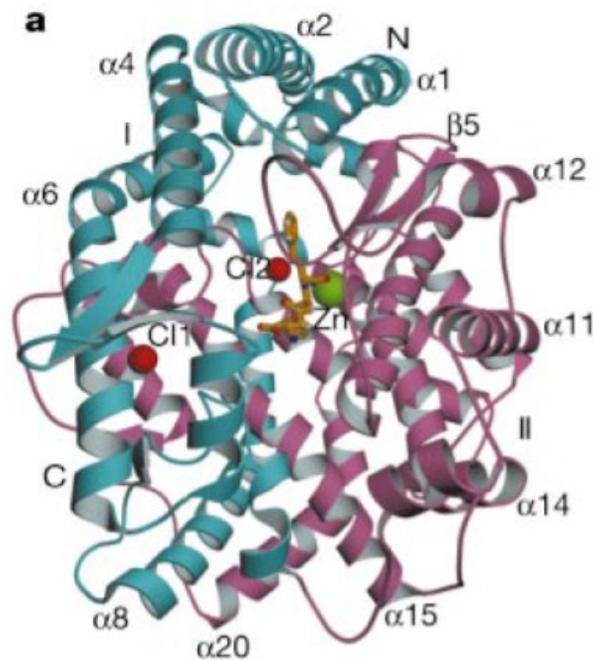


Fig. 3. Representación estructural tridimensional de la ECA (tACE) (Natesh et al., 2003)

En la **Fig. 3**, el ion de zinc del sitio activo y la molécula de lisinopril se muestran en verde y amarillo, respectivamente. Los dos iones de cloruro se muestran como esferas rojas. (Natesh et al., 2003)

La estructura de tACE es predominantemente helicoidal con 27 hélices (distribuidas casi por igual en ambos subdominios), 20 α -hélices y siete 3_{10} -hélices (**Fig 3.**). La única estructura β , que representa el 4 % de todos los residuos, se produce como seis cadenas relativamente cortas, dos de las cuales están ubicadas cerca del sitio activo. La larga hélice central α 15 se empaqueta diagonalmente a través de las dos hélices α 6 y α 8 (ambas contienen un residuo de prolina). (Natesh et al., 2003)

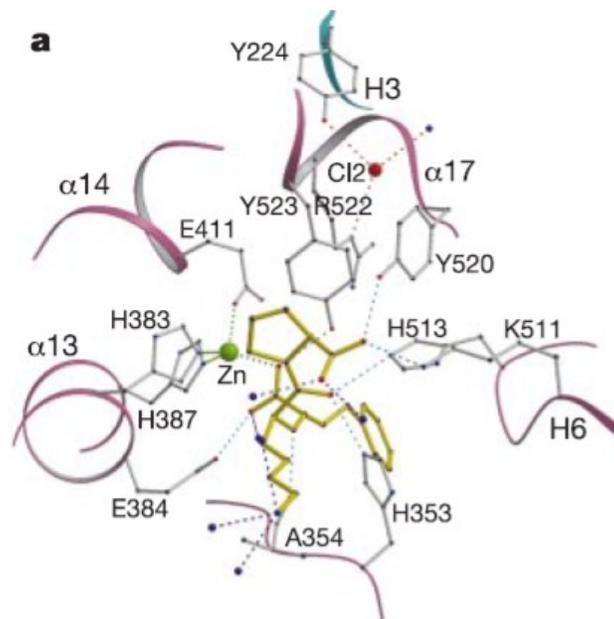


Fig. 4. Sitio activo: Unión del Lisinopril a la ECA. (Natesh et al., 2003)

Se muestran átomos de zinc en verde, iones de cloruro en rojo, moléculas de agua en púrpura y lisinopril (inhibidor) en amarillo.(Natesh et al., 2003)

Sistema Renina - Angiotensina - Aldosterona (SRAA):

El SRAA es el sistema hormonal que regula el volumen intravascular, la presión arterial y la reparación de los tejidos a través de mecanismos inflamatorios y proliferativos. Su estimulación crónica tiene efectos perjudiciales, que incluyen vasoconstricción, proliferación del músculo liso vascular, disfunción endotelial, inflamación, fibrosis y trombosis (Mentz *et al.*, 2013).

La cascada SRAA comienza cuando las células yuxtaglomerulares renales secretan renina en respuesta a hipoperfusión renal, disminución del suministro de sodio y activación simpática. La renina plasmática convierte el angiotensinógeno producido por vía hepática en angiotensina I inactiva. La Enzima Convertidora de la Angiotensina (ECA) escinde la angiotensina I para generar angiotensina II (AngII). Sólo aproximadamente el 10 % de ECA circula en el plasma y controla la modulación hemodinámica aguda, mientras que el SRAA específico de tejido usa angiotensina I local para formar AngII. Independientemente de la actividad de la ECA, las serina proteasas también son capaces de convertir AngI en AngII. Aunque el SRAA periférico o circulante puede estar involucrado en la remodelación y reestructuración cardiovascular, es la producción autocrina o paracrina de AngII la que puede ser más importante para promover estos cambios (Mentz *et al.*, 2013).

La AngII es responsable de los efectos vasoconstrictores, proliferativos y proinflamatorios. Esta molécula estimula la secreción en la corteza suprarrenal de la aldosterona y la secreción en la hipófisis posterior de la arginina vasopresina con la consiguiente expansión del volumen. La aldosterona está involucrada en la homeostasis de sodio y potasio. Por encima y más allá de sus acciones renales, la AngII y aldosterona ejercen efectos pleiotrópicos sistémicos y autocrinos/paracrinos sinérgicos e independientes que dan como resultado una remodelación vascular y miocárdica. La AngII promueve la aterogénesis a través de los efectos sobre el crecimiento y la migración de células del músculo liso, la activación de macrófagos y la invasión vascular, la inhibición de la apoptosis, el aumento del estrés oxidativo y la estimulación de la trombosis (Mentz, 2013).

Se ha demostrado que la inhibición del SRAA tiene un impacto positivo en la progresión de la enfermedad, pues el SRAA es fundamental para la patogénesis de la enfermedad cardiovascular. La inhibición del SRAA puede reducir la presión arterial, prevenir el daño de órganos diana en la hipertensión y la diabetes para pacientes con insuficiencia cardíaca o que hayan sufrido infarto de miocardio (Mentz *et al.*, 2013).

La manera de inhibir el SRAA es con el uso de medicamentos como tratamiento antihipertensivo.

Tratamiento de la hipertensión:

La presión arterial alta se puede tratar con medicamentos como bloqueadores beta, diuréticos e inhibidores de la ECA. Estos fármacos tienen una variedad de efectos en el cuerpo que ayudan a reducir la hipertensión. La principal acción de estos medicamentos es reducir el contenido de agua corporal al aumentar la producción de orina. Un menor volumen de líquido dentro de los vasos sanguíneos reduce la fuerza ejercida dentro del vaso. Los medicamentos hipertensivos también pueden "relajar" los vasos sanguíneos creando un vaso "más ancho". Esta mayor circunferencia del vaso permite que la sangre fluya más fácilmente sin ser forzada a través del sistema. Algunos medicamentos antihipertensivos también pueden actuar sobre los riñones para alterar la concentración de electrolitos (sal) dentro del cuerpo o en el corazón mismo (HIT, s.f).

Los fármacos actualmente utilizados para el tratamiento de la hipertensión se dividen en cuatro grandes grupos:

- **Diuréticos tiazídicos** como la hidroclorotiazida que se han utilizado como tratamiento hipertensivo de primera línea, y están especialmente indicados en los pacientes de edad avanzada (OMS, 2017).

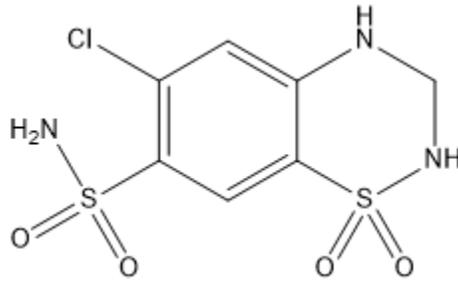


Fig. 5. Estructura química Hidroclorotiazida

- **Bloqueadores beta-adrenérgicos (bloqueadores beta)** como el atenolol, siendo eficaces en todos los grados de hipertensión, y son especialmente útiles en la angina y después de un infarto de miocardio (OMS, 2017).

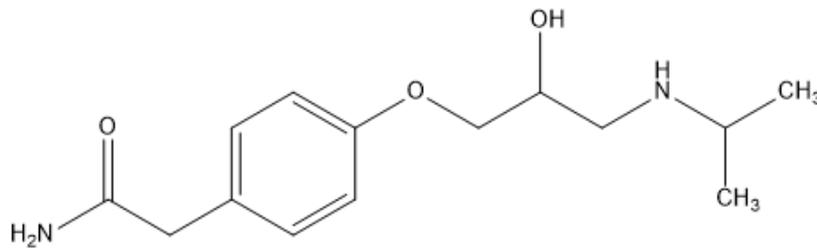


Fig. 6. Estructura química Atenolol

- **Inhibidores de la enzima convertora de la angiotensina (IECA)** como el Enalapril son eficaces y bien tolerados por muchos pacientes. Se pueden administrar en la insuficiencia cardíaca, disfunción ventricular izquierda y nefropatía diabética, pero deben evitarse en caso de enfermedad vascular renal y en la gestación. (OMS, 2017)

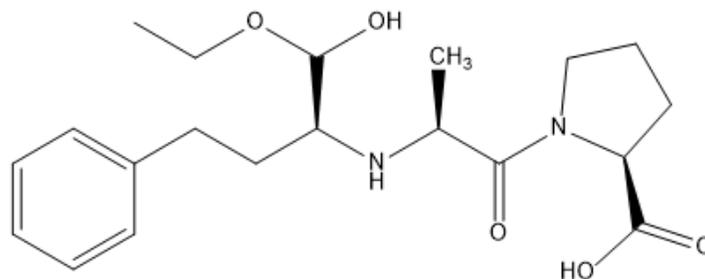


Fig. 7. Estructura química Enalapril

- **ARA II:** Actúan bloqueando a distinto nivel el sistema renina-angiotensina, un mecanismo que tiene el organismo para regular de forma precisa la presión arterial. Por regla general nombre genérico del principio activo acabado en -SARTAN donde el más distinguido es el candesartán. (OMS, 2017)

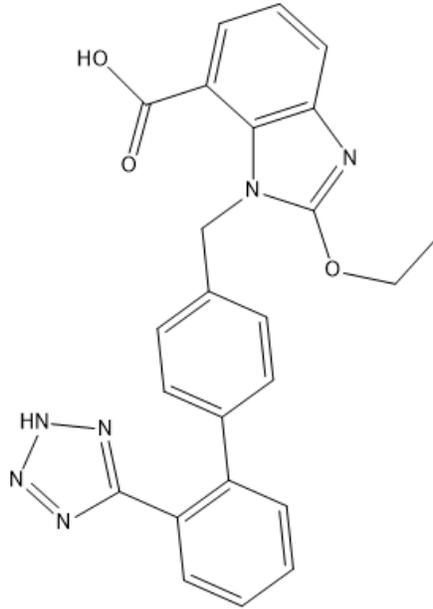


Fig. 8. Estructura química Candesartán

Enalapril:

- **Mecanismo de acción:** El enalapril maleato es un derivado de dos aminoácidos, L-alanina y L-prolina, su mecanismo de acción es inhibir la enzima convertidora de angiotensina I en angiotensina II, bloqueando la producción de esta última, como resultado de la unión directa de su grupo funcional carboxilo en el sitio del ión zinc de la enzima, atenuando o suprimiendo la respuesta a la angiotensina II. El enalapril maleato es un profármaco altamente selectivo y no interactúa directamente con otros componentes del sistema renina angiotensina (SRA), y como anteriormente se ha mencionado, la inhibición de la enzima que convierte la angiotensina en un vasoconstrictor activo, hace que la concentración de angiotensina II, a nivel de los receptores de angiotensina (AT1 y AT2), disminuya. Así, se reduce el tono vascular, lo que atenúa la resistencia vascular sistémica y la presión sanguínea, tanto sistólica como diastólica, disminuye. La reducción del nivel de angiotensina II conlleva a una reducción de la secreción de la hormona aldosterona de la glándula suprarrenal y con ello determina el contenido de agua. La bradiquinina es un potente vasodilatador por medio de la liberación del óxido nítrico y la prostaciclina. El enalapril es capaz de mantener la acción de la bradiquinina produciendo una disminución de la resistencia vascular periférica y, por ende, la presión arterial, como puede observarse en la Fig. 5 (Ariza, 2013).

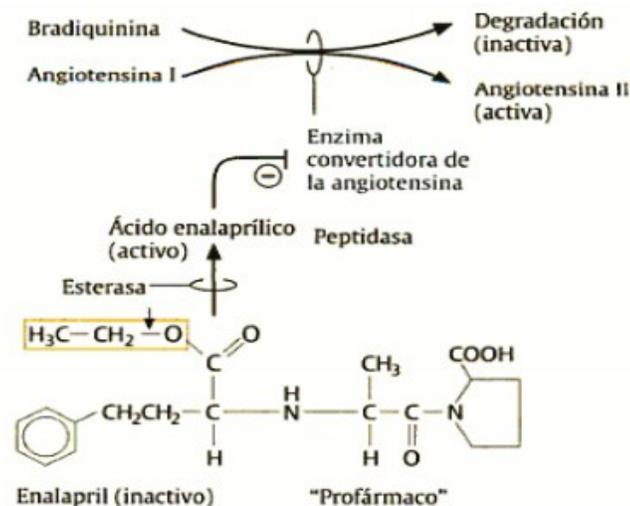


Fig. 9. Mecanismo de acción de enalapril maleato (Ariza, 2013)

- **Farmacocinética:** El ácido enalaprílico cuando se administra por vía peroral, tiene absorción de aproximadamente 10 % y es debido a la presencia de dos grupos carboxílicos en la molécula. La conversión de estos grupos en derivado carboxílico éster de etilo del mismo, que es más lipófilo, da lugar a la absorción por el organismo del orden de 70 %. El éster de enalapril, una vez absorbido, se convierte en el ácido enalaprílico (Ariza, 2013).

El enalaprilato está disponible en solución para uso intravenoso, principalmente en casos de urgencias hipertensivas, cuando el tratamiento peroral no es apropiado. Es una molécula de carácter hidrófilo por lo que no atraviesa la barrera hematoencefálica y por lo tanto el enalaprilato no entra en el cerebro. El enalapril es un profármaco y como tal debe sufrir hidrólisis por esterases en el hígado para producir el ácido dicarboxílico. Una vez absorbido, el enalapril se hidroliza a enalaprilato, el verdadero inhibidor de la ECA. Las concentraciones máximas de enalaprilato se alcanzan 4 horas después de la administración peroral de una dosis de enalapril (Ariza, 2013).

El enalapril se elimina con la orina (60-78 %) y en menor medida con las heces (33 %) en unas 24-48 horas. La mayor parte de la dosis absorbida se elimina en forma de enalaprilato y se desconoce si la eliminación fecal procede de enalapril no absorbido, o se excreta a través de la bilis. Sin embargo, al administrar el enalapril por vía intravenosa, alrededor del 90 % de la dosis se elimina como enalaprilato en orina. La semivida del enalapril es de 2 horas, mientras que el enalaprilato presenta una semivida de 35-38 horas (Ariza, 2013).

Metodología *In silico*:

Esta metodología avanzada se utiliza en diversas etapas del desarrollo de sustancias mediante la predicción de propiedades que se correlacionan con puntos finales de toxicidad, modelos de relación de actividad de estructura para nuevas formulaciones químicas y creación/recuperación de información en bases de datos químicas (Parthasarathi, R., & Dhawan, A., 2018).

En el campo de la farmacología inversa, las técnicas *in silico* han jugado un papel crucial en la determinación de los éxitos potenciales del objetivo. Estas aplican enfoques racionales basados en principios bien conocidos de biología, química y física. Estas técnicas se están utilizando para estimular el proceso de descubrimiento de fármacos, ya que es posible analizar grandes bibliotecas de pequeñas moléculas similares a los medicamentos contra un objetivo o modelo de manera eficiente en un tiempo comparativamente menor que el cribado *in vitro*. Las técnicas *in silico* tienen pasos beneficiosos sobre el *in vitro* para reducir el costo, el tiempo y el trabajo humano. El diseño de fármacos computacionales incluye dos enfoques principales que comprenden el diseño de fármacos basado en la estructura (SBDD) y el diseño de fármacos basados en ligandos (LBDD) (Mehra, R., Khan, I. A., & Nargotra, A. 2017).

QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationships):

La noción de relación estructura-actividad (SAR) establece una relación entre varias características de comportamiento de los compuestos químicos como la actividad, propiedades, toxicidad e información química derivable de estructuras químicas. Tal proceso implica un conocimiento significativo de la química y física (que define los compuestos), matemáticas (que permite el análisis de modelos) y biología (da razones del perfil de actividad biológica de los productos químicos) para desarrollar una base racional. En otras palabras, el estudio QSAR proporciona una opción para construir una ecuación matemática para un conjunto de sustancias químicas para su actividad, propiedad, toxicidad específica y comportamiento utilizando información sobre su estructura química. El establecer el término "QSAR" hace referencia al estudio cualitativo y cuantitativo. Para esta metodología se implementa una ecuación que se presenta con la siguiente expresión:



En esta expresión, Y es la actividad de respuesta a propiedad y toxicidad en forma de cantidades numéricas o descripciones, a_1 , a_2 , son contribuciones de descriptores individuales a la respuesta, y a_0 es una constante modelada, X_1 , X_2 , X_n son diferentes características estructurales o propiedades físico-químicas. También se puede observar que, aunque se pueden emplear varios parámetros de propiedad como variables de predicción, también se pueden usar como variable dependiente o de respuesta durante el modelado de la propiedad como punto final.

Docking Molecular :

El acoplamiento molecular es un método que descubre la orientación preferida de una o más moléculas en los sitios activos de las proteínas. La mejor conformación se selecciona mediante funciones de puntuación, mientras que el acoplamiento genera una serie de posibles complejos. Al mismo tiempo, la orientación preferida puede usarse para predecir la afinidad establecida por la unión. El acoplamiento molecular se emplea frecuentemente para el diseño de fármacos porque tiene la capacidad de predecir la conformación óptima entre moléculas pequeñas y los sitios de unión de proteínas. La caracterización de la estructura de unión juega un gran papel en el diseño razonable de los fármacos, así como en la clarificación esencial de los procesos bioquímicos (Liu Z, Liu Y., Zeng G, Shao B, Chen M, 2018).

El acoplamiento molecular se basa en el principio de la complementariedad. Hay dos partes claves que incluyen la geometría y la energía en el proceso de acoplamiento. La vista de los puntos geométricos complementarios señala que las proteínas y los ligandos coinciden con los descriptores de las características topográficas para generar una configuración favorable (Liu Z, Liu Y., Zeng G, Shao B, Chen M, 2018).

Se presenta mucha afinidad entre el sustrato y la enzima, la cual tiene en cuenta interacciones iónicas, enlaces de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y fuerzas de van der Waals, etc. Por lo general, los enlaces de hidrógeno están formados por un átomo de hidrógeno unido a un átomo muy electronegativo, como el flúor, el oxígeno y el nitrógeno (Cleland, 2010), jugando un papel vital para mantener la estabilidad de las interacciones. Las interacciones iónicas implican la atracción de iones o moléculas con carga opuesta y son fuerzas electrostáticas fuertes entre las moléculas. Las interacciones de van der Waals hacen referencia a las fuerzas repulsivas o atractivas entre entidades moleculares diferentes a las que forman enlaces iónicos o enlaces covalentes (Mc Naught y Wilkinson, 2012). Las interacciones hidrofóbicas, que representan las relaciones entre hidrófobos y agua, son las interacciones más débiles que pueden haber entre las moléculas. Las interacciones hidrofóbicas son importantes para la estabilidad de la estructura espacial y la actividad biológica, porque la superficie hidrófila de las proteínas se reducirá y disminuirá las malas interacciones con el agua (Liu Z, Liu Y., Zeng G, Shao B, Chen M, 2018).

Concentración inhibitoria máxima media (IC₅₀):

Es la medida cuantitativa que indica la cantidad de un fármaco particular u otra sustancia (inhibidor) que se necesita para inhibir a la mitad un proceso biológico dado (o un componente de un proceso, es decir, una enzima, célula, receptor celular o microorganismo). Los valores se expresan típicamente como concentración molar, dado en una metodología in vitro. (Bachmann, K. 2009).

Toxicidad y Ecotoxicidad de compuestos químicos (fármacos):

Hoy en día, la aparición de productos farmacéuticos en ambientes acuáticos es un tema bien establecido y se ha convertido en un asunto tanto de interés científico como público, dado que los residuos farmacéuticos se descargan continuamente en aguas superficiales que involucran la exposición de organismos acuáticos durante todo su ciclo de vida. (Villain et. al., 2016) Además, estos compuestos farmacéuticos están diseñados para actuar sobre una diana biológica conocida con un modo de acción particular (MOA). Están diseñados para interactuar altamente con los sistemas biológicos y resistir la inactivación antes de ejercer su efecto terapéutico deseado. (Villain et. al., 2016) El riesgo potencial de los medicamentos para los ecosistemas acuáticos ha causado serias preocupaciones debido a sus amplias distribuciones y propiedades bioactivas. (Ling Fu, 2017) Por lo tanto, en este contexto de contaminación múltiple, es muy importante poder estimar rápidamente los niveles de toxicidad de los compuestos farmacéuticos. La información sobre la ecotoxicología de los fármacos es muy valiosa para la evaluación de riesgos para el medio ambiente. (Ling Fu, 2017) (Villain et. al., 2016)

Las algas desempeñan un papel importante en todo el ecosistema acuático como productores primarios. Los efectos nocivos de los fármacos sobre las algas podrían alterar los organismos de niveles tróficos más altos. Por lo tanto, es importante explorar los posibles efectos adversos que estos pueden tener sobre las algas para evaluar su riesgo para el medio ambiente acuático. También se evalúa el riesgo que representa un producto en peces y bacterias, entre otros. (Ling Fu, 2017)

El conocimiento de la toxicidad de un producto químico normalmente se limita a efectos simples y generales como letalidad, inhibición del crecimiento o reproducción, y se expresa como la LC_{50} , o Dosis letal, que se refiere a la concentración acuosa que produce una letalidad del 50 %, en este caso para toxicidad aguda. (Henk et. al, 92)

Clasificación de productos químicos según la estimación de las toxicidades acuáticas agudas:

Existe una clasificación de productos químicos según la estimación de las toxicidades acuáticas agudas en los mismos, esta clasificación está dada en cuatro grupos:

Productos químicos inertes (Clase 1): Las sustancias químicas inertes son sustancias que no son reactivas cuando se consideran los efectos agudos generales y que no interactúan con receptores específicos en un organismo. Su

modo de acción en la toxicidad acuática aguda se llama narcosis. Se considera que la toxicidad del tipo de narcosis es provocada por un modo de acción inespecífico, en el sentido de que la potencia de un producto químico para inducir la narcosis depende por completo de su hidrofobicidad. La toxicidad de tipo narcosis también se denomina toxicidad "de referencia" o toxicidad mínima. (Ling Fu, 2017) (Henk et. al, 92)

Para clasificar como compuesto de tipo **clase 1**, los productos químicos deben:

- NO contener compuestos orgánicos que contengan yodo unido covalentemente, generalmente son agentes alquilantes potentes.
- NO contener grupos iónicos.
- Contener solo C & H

Si contiene sólo C, H y halógeno:

- ser compuestos acíclicos que NO contengan halógeno en Beta posiciones de insaturaciones (por ejemplo, halógenos alílicos / propargílicos).
- Ser compuestos monocíclicos sustituidos con halógenos.
- Ser compuestos monocíclicos que estén sin sustituir o sustituidos con estructuras acíclicas que contengan sólo C y H.
- Ser compuestos policíclicos que estén sin sustituir o sustituidos con estructuras acíclicas que contengan solo C y H.

Si contienen C, H y O

- Ser éteres lineales o monoéteres monocíclicos, pero NO epóxidos o peróxidos
- Ser alcoholes alifáticos, pero NO alcoholes alílicos / propargílicos
- Ser alcoholes con restos aromáticos, pero NO fenoles o alcoholes bencílicos
- Ser cetonas, pero NO cetonas alfa, beta-insaturadas (por ejemplo, 1-butenona o acetofenona)

Si contienen C, H & N

- Ser aminas secundarias o terciarias alifáticas.

Si contienen C, H, O y halógeno.

- Ser compuestos halogenados pero NO compuestos alfa o beta sustituidos con halógeno.

Productos químicos menos inertes (Clase 2): Los químicos menos inertes son químicos que no son reactivos cuando se consideran los efectos agudos generales, pero son un poco más tóxicos que la toxicidad de referencia. (Ling Fu, 2017) (Henk et. al, 92)

Para clasificar como compuesto de tipo clase 2, los productos químicos deben:

- Ser fenoles no ácidos o débilmente ácidos; es decir, fenoles con un sustituyente nitro o uno a tres sustituyentes de cloro, o sustituyentes alquilo.
- Ser anilinas con un sustituyente nitro o uno a tres sustituyentes de cloro o sustituyentes alquilo.
- Ser mono-nitroaromáticos con uno o dos sustituyentes de cloro o sustituyentes de alquilo.
- Ser alquilaminas primarias (que contienen solo C, H y N).
- Ser piridinas con uno o dos sustituyentes de cloro o sustituyentes de alquilo.

Productos químicos reactivos (Clase 3): Los productos químicos reactivos pueden tener todo tipo de modos de acción diferentes con mayor toxicidad en comparación con la toxicidad inicial. (Ling Fu, 2017)(Henk et. al, 92)

Para clasificar como compuesto del tipo clase 3, los productos químicos deben:

- Poseer activación alílica / propargílica. Compuestos con un grupo saliente (bueno) en una posición α de un enlace doble o triple carbono-carbono
- Poseer activación bencílica. Compuestos con un grupo saliente (bueno) en una posición α de un enlace aromático
- Ser otros compuestos con un grupo saliente (bueno) en una (posición x de un fragmento de doble o triple enlace).
- Poseer un anillo heterocíclico de tres miembros. Compuestos que contienen una función epóxido o azaridina.
- Poseer enlaces carbono / carbono dobles / triples activados. Compuestos que contienen un sustituyente polarizable R1 (carbonilo, nitrilo, amida, nitro, sulfona, etc.) en una posición α de un doble o triple enlace.
- Sean hidrazinas u otros compuestos con un enlace simple, doble o triple de nitrógeno-nitrógeno.
- Ser nitrilos activados, como α -hidroxinitrilos (cianohidrinas) o nitrilos alílicos / propargílicos.
- Contiene una de las siguientes entidades estructurales: anhídridos de ácido, lactonas, haluros de ácido, haluros de carbamilo, cetenos, aldehídos, isocianatos, isotiocianatos, tiocianatos, disulfuros, ésteres sulfónicos, ésteres sulfúricos, ésteres sulfónicos/cíclicos, ésteres α -haloeteros, α -haloeteros, mostazas de nitrógeno y mostaza.

Productos químicos de acción específica (Clase 4): Los productos químicos de acción específica forman un conjunto diverso de productos químicos que muestran toxicidad debido a la interacción específica con ciertas moléculas receptoras, como los ésteres de fósforo orgánicos, que inhiben la acetilcolinesterasa, o DDT, que interactúa con los receptores reguladores del canal de sodio en las neuronas (toxicidad específica o del receptor). (Ling Fu, 2017) (Henk et. al, 92)

No es posible dar reglas estructurales definidas para esta clase. La inclusión en esta clase debe, y debe, basarse en un conocimiento específico sobre el modo de acción tóxica de (grupos de) sustancias químicas. Ejemplos de grupos de compuestos que se sabe que actúan mediante un modo específico de acción tóxica son:

- DDT y análogos
- (Ditio) carbamatos
- Compuestos de organoestaño
- Piretroides
- Ésteres organofosforo-tionados

Los compuestos que no pueden clasificarse como pertenecientes a la clase 1, 2 o 3 y que no se sabe que son compuestos que actúan por un mecanismo específico sólo pueden clasificarse como "no es posible clasificarlos de acuerdo con estas reglas". (Ling Fu, 2017)

4. ESTADO DEL ARTE

La metodología QSAR ha sido ampliamente utilizada en los últimos años para el desarrollo de nuevos fármacos (*Lozano-Aponte y Scior, 2012*)(*Mandal et al., 2009*)(*Puzyn et al., 2010*). Se han encontrado algunos estudios que relacionan la herramienta QSAR con la síntesis de moléculas IECAS, inclusive el captopril, el primer IECA clínicamente disponible, su descubrimiento y desarrollo se atribuye al uso de la metodología QSAR (*Cushman y Ondetti, 1991*) (*Lozano-Aponte y Scior, 2012*)(*Smith y Vane, 2003*).

La enzima convertidora de angiotensina (ECA) es la principal responsable de la hipertensión. San Juan y Cho (2005) hicieron representaciones gráficas de los resultados computacionales 3D-QSAR, y muestran algunas características estructurales que deben tener los compuestos que poseen potencial como fármacos contra la ECA, tomando como base algunos grupos funcionales presentes en el captopril (propionilo y sulfonilo) y como las posibles sustituciones en esa estructura pueden actuar sobre el dominio-C de la ECA, característica funcional de los inhibidores.

Se han desarrollado a lo largo de estos años nuevos métodos matemáticos computacionales en el análisis de los descriptores de QSAR (*Long et al., 2010*), como el OSC-PLS (ortogonal signal correction – partial least squares), en donde el conjunto de descriptores caracterizaba de mejor forma la estructura de los péptidos estudiados por QSAR, siendo mejor que el método tradicional. Cambios en las variables computacionales, y un mejor manejo de los descriptores usados en QSAR han sido las principales estrategias en la mejora de los modelos predictivos de la actividad de los diferentes compuestos evaluados con respecto a los tradicionales, tal como se describe en Hemmateenejad *et al.* (2012).

Durante las últimas décadas se han estudiado tipos de compuestos con los que se puedan diseñar nuevos medicamentos. Aún se está recopilando información e investigando en el desarrollo de modelos QSAR aplicados a IECAS, enfocado principalmente a: conjuntos de datos aplicados, descriptores usados, métodos de selección de características, desarrollo de modelos y métodos de validación, entre otros (*Jahangiri et al., 2014*) (*Regulska et al., 2014*). El desarrollo de IECAS es una de las prioridades en la ciencia médica moderna, la idea es recopilar información estructural y farmacéutica de moléculas existentes y de nuevas que permitan el desarrollo de nuevos análogos a IECAS que tengan perfiles clínicos y toxicológicos más favorables a los existentes hoy en día para los pacientes (*Regulska et al., 2014*).

5. OBJETIVOS

5.1 General

- Predecir la actividad antihipertensiva de nuevas moléculas análogas al enalapril, basadas en la relación estructura-actividad biológica, mediante una metodología *in silico*.

5.2 Específicos

- Diseñar moléculas análogas al Enalapril, que tengan actividad potencial como IECA.
- Estimar la actividad biológica de los diferentes análogos diseñados a partir de modelos matemáticos (QSAR).
- Identificar el análogo que presente mejor afinidad por la enzima convertidora de la angiotensina, mediante evaluación de docking molecular.

6. REQUERIMIENTOS

- La estructura base de las moléculas a diseñar y evaluar debe ser la estructura del Enalapril, pues lo que se requiere es la obtención de moléculas análogas a dicho compuesto y la posible mejora de la actividad antihipertensiva del mismo. Esta actividad debe ser evaluada a partir del valor de IC_{50} obtenido, el cual debe ser menor a 1.2 (valor de IC_{50} del enalapril) y debe ser calculado a partir de la estimación de los descriptores escogidos en la fase previa de desarrollo del proyecto, los cuales son Log P, Refractividad molar y momento dipolar, y mediante la implementación de un modelo matemático, también previamente establecido.

- Otra de las variables que se requiere evaluar porque define la actividad antihipertensiva de este tipo de fármacos es la energía de acoplamiento, de la cual se sabe que entre más negativo sea el valor de éste parámetro, se considera que va a tener un mejor funcionamiento el medicamento.

REQUISITOS:

- Representación 3D de forma precisa de la estructura de cada molécula a evaluar; el software Avogadro es un software de diseño y modelamiento 3D de moléculas que permite la optimización de la geometría de las mismas, por lo que debió ser adquirido. Debido a que este software permite realizar únicamente el diseño de moléculas, es necesario que tenga la capacidad de establecer vínculos con otras plataformas que permitan llevar a cabo la caracterización y evaluación de las mismas. Para el docking propiamente, fue necesaria la instalación de los software AutoDock Tools y AutoDock Vina, establecidos previamente, de los cuales AutoDock Tools permite definir las coordenadas del sitio activo en el receptor y generar un archivo .pdbqt del ligando y el receptor, lo cual es requerido por Vina para evaluar el acoplamiento. Estos archivos deben estar en la misma carpeta con un archivo .txt donde estén definidos como receptor y ligando, las coordenadas del sitio activo, el área donde se evaluará el acoplamiento, la exhaustividad, el número de configuraciones que intentará, el rango de energías, y la magnitud de las fuerzas de Gauss, de repulsión, hidrofóbicas y de los enlaces de hidrógeno. Este archivo de configuración en .txt debe ser definido en la ventana de comandos del sistema operativo que se esté utilizando, junto con otro archivo del mismo tipo en donde están tabuladas las energías de cada configuración. El programa dará como resultado a su vez un archivo .pdbqt de salida, el cual podrá ser visualizado en PyMol, el cual va a permitir visualizar las configuraciones usadas en Vina y medir las distancias entre los átomos.

Los software anteriormente mencionados cuentan con múltiples marcos y librerías que contienen información necesaria y suficiente para el reconocimiento de las moléculas y su correcta caracterización, por lo que se hace necesaria la adquisición de todas las plataformas mencionadas. Estas deben poseer un lenguaje de programación C++, ya que es un lenguaje multiplataforma (funciona en distintos sistemas operativos) que incorpora librerías de manejo de archivos,

funciones matemáticas, e incluso permite la creación de las mismas teniendo en cuenta las necesidades del usuario, además es un lenguaje flexible que permite programar con múltiples estilos.

7. METODOLOGÍA

El proyecto se basó en la modificación estructural de una molécula ya existente, con actividad farmacológica antihipertensiva conocida (Enalapril), que presenta un valor de concentración inhibitoria media máxima (IC_{50}) de 1,2 y una afinidad por la ECA de -7,5. Para realizar este rediseño, se parte de su estructura molecular, la cual se muestra en la **Fig. 10**.

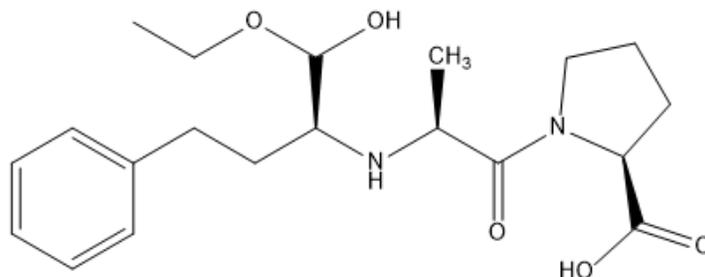


Fig. 10. Estructura molecular Enalapril.

En una fase previa de trabajo, realizada por el grupo de investigación, se evaluó la afinidad por la Enzima Convertidora de la Angiotensina, de nuevas moléculas análogas al Enalapril. De estas moléculas diseñadas, se escogieron dos análogos que se diferencian estructuralmente del Enalapril, como puede observarse en la **Fig. 10**, gracias a la sustitución en la posición R, debido a que el Enalapril presenta un grupo alquilo (metilo), mientras que en esta misma posición, los sustituyentes de los dos análogos diseñados previamente son un grupo amida ($CONH_2$) para el análogo 22, como se observa en la **Fig. 11** y un grupo hidroxilo (COH) para el análogo 33, como lo muestra la **Fig. 12**, estas fueron las moléculas que presentaron la mayor actividad predicha por los modelos pre-establecidos en el trabajo anterior realizado por el grupo de investigación INQA. Se escogieron estas moléculas para ser modificadas en esta fase del proyecto dado que presentaron los mejores resultados predictivos en la anterior fase de evaluación. Lo que se buscó fue generar nuevas moléculas a partir de éstas y evaluarlas. Las dos moléculas escogidas y establecidas para las modificaciones cuentan con valores de IC_{50} de 1,3 y 1,1, y valores de afinidad por la ECA de -8,1 y -7,6, respectivamente, teniendo en cuenta que estos valores fueron predichos, por la implementación de un trabajo modelado por metodologías *in silico*, mediante cálculos con los modelos QSAR diseñados previamente.

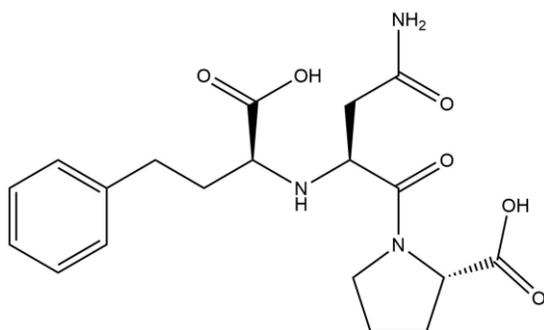


Fig. 11. Estructura Análogo 22, obtenida en fase previa de desarrollo del proyecto

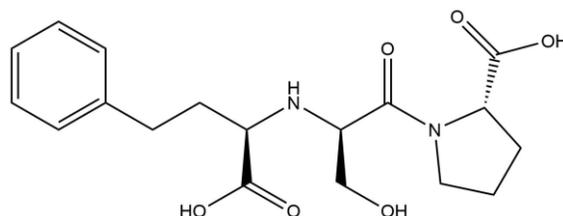


Fig. 12. Estructura Análogo 33, obtenida en fase previa de desarrollo del proyecto

Cada una de estas moléculas fue modificada hasta finalmente obtener 220 diseños, y cada vez que se realizó un cambio estructural a la molécula se evaluaron importantes variables a tener en cuenta, entre ellas los valores de afinidad por la enzima, cálculo de descriptores y actividad biológica (IC_{50}).

Para esto se desarrolló una serie de actividades:

- Diseño 3D de moléculas análogas al Enalapril
- Cálculo de descriptores para cada molécula diseñada
- Estimación de la actividad biológica (IC_{50})
- Evaluación de acoplamiento entre moléculas
- Análisis de datos y elección de moléculas con actividad antihipertensiva promisorias.

De manera adicional, se simularon 12 test para evaluar la toxicidad que podrían llegar a tener las moléculas diseñadas en distintos aspectos o sistemas biológicos.

- **Diseño 3D de moléculas: CHEMDRAW Y AVOGADRO**

Inicialmente fue necesario conocer la conformación estructural 2D de la molécula base sobre la cual se iba a trabajar (Enalapril), para poder realizar sobre ella modificaciones y re-diseñar su estructura. Para esto se diseñaron las moléculas en 2D utilizando el software ChemDraw, que permite observar su orientación espacial y su posición y así poder llevar dichos diseños a una vista tridimensional, la cual es proporcionada por el programa Avogadro. Ésta última herramienta computacional permitió llevar a cabo la optimización geométrica de cada molécula diseñada y guardar el archivo en un formato compatible con los demás programas utilizados posteriormente. (Jekyll & Minimal Mistakes, 2019)

Para esto, hay que tener en cuenta que la molécula debía cumplir con parámetros que permitieran que se diera una interacción efectiva con la enzima. Estos parámetros fueron establecidos en la anterior fase de investigación del proyecto y se refieren al tipo de composición que debe tener cada molécula:

- Un terminal carboxilo, para satisfacer las interacciones iónicas con el sitio catiónico de la ECA.
- Un grupo aceptor de oxígeno.
- Un grupo ionizable que se pueda coordinar con el ion Zn^{2+} , ya que cada dominio tiene su propio centro activo con zinc como componente catalítico, para que logre adaptarse a la geometría. Teniendo en cuenta que, las secuencias de unión a zinc específicas de la ECA forman las llamadas 'hélices de sitio activo'.
- Un carbonilo de naturaleza amídica, para actuar como un aceptor de enlace de hidrógeno. (Katarzyna Regulska, Beata Stanis, Miłosz Regulski and Marek Murias, 2014)

Las primeras modificaciones se basaron en aumentar la apolaridad de las moléculas a través de la sustitución de los grupos amida e hidroxilo, de los análogos 22 y 33, respectivamente, por radicales alquilo, de manera sucesiva desde un metilo hasta un decilo en ambos casos. Cada 'R' señalada en la estructura de cada molécula indica la posición del sustituyente.

Puede observarse en la **Fig. 13** la estructura base de las moléculas y la posición de sustitución en cada caso.

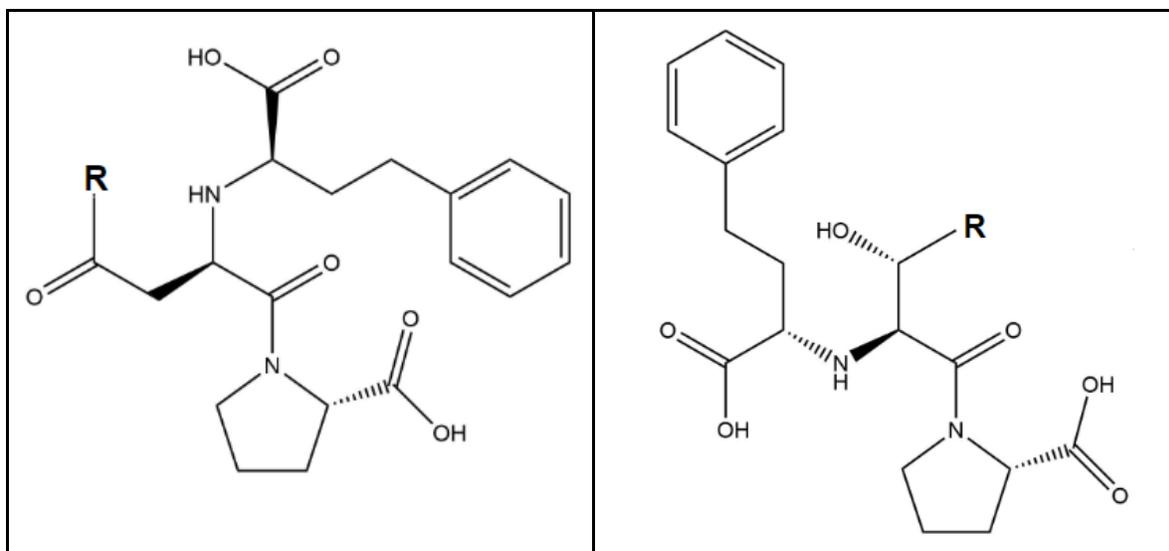


Fig. 13. Primera posición de cambios estructurales para los análogos 22 (izquierda) y 33 (derecha). Sustitución de grupos amida (izquierda) e hidroxilo (derecha) por grupos alquilo.

Posteriormente se realiza el mismo tipo de sustitución pero en el extremo opuesto de cada molécula, es decir, en donde cada una de ellas presenta un fenilo. El fenil en cada caso es sustituido por un grupo alquilo, como lo indica el radical en cada estructura mostrada en la **Fig. 14.**, nuevamente desde un metilo, consecutivamente, hasta un decilo.

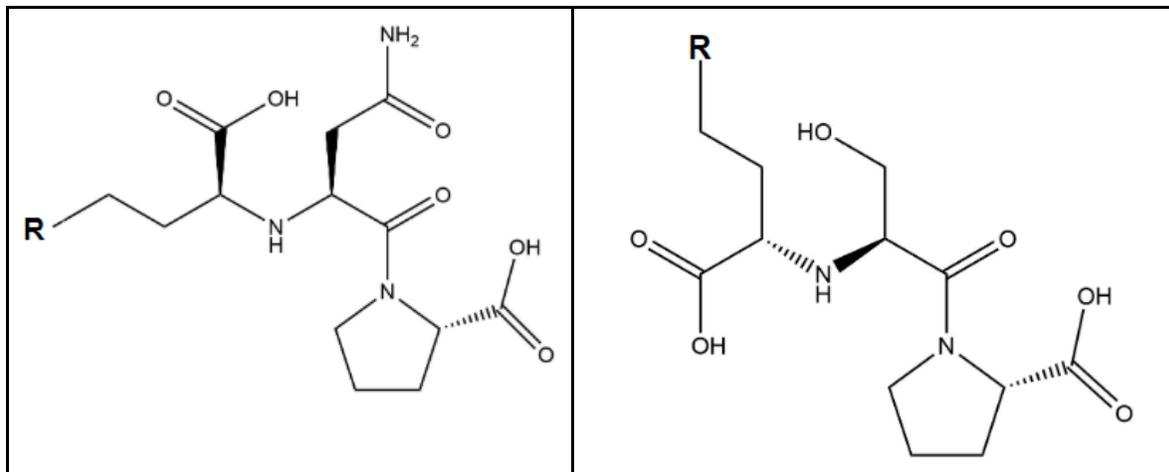
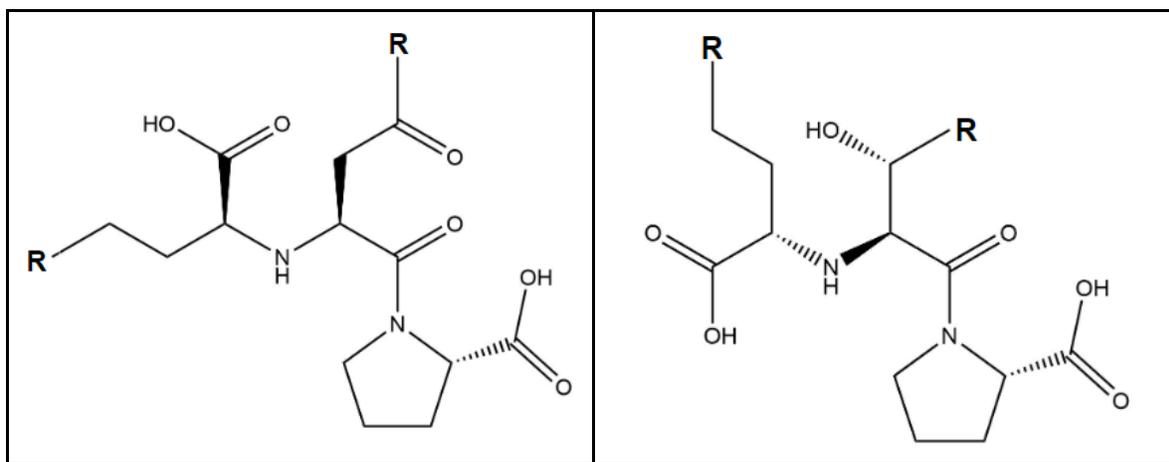


Fig. 14. Segunda posición de cambios estructurales para los análogos 22 (izquierda) y 33 (derecha). Sustitución de Fenil por grupos alquilo.

El siguiente cambio realizado a la estructura de las moléculas es la sustitución nuevamente de los grupos amida e hidroxilo, pero esta vez de manera simultánea con la sustitución del fenil de ambas moléculas, por un grupo alquilo. Así lo muestra la **Fig. 15.** para cada caso.



--	--

Fig. 15. Tercera posición de cambios estructurales para los análogos 22 (izquierda) y 33 (derecha). Sustitución de grupos amida (análogo 22), hidroxilo (análogo 33) y fenil, por grupos alquilo.

Hasta entonces se realizaron alrededor de 80 diseños (40 por cada molécula preestablecida).

El hecho de sustituir de esta manera los terminales de las moléculas, tiene como fin observar si de esta forma aumenta el número de interacciones hidrófobas de las mismas con respecto a la enzima; es por esto que se aumenta el tamaño de las cadenas de carbono en los sustituyentes, desde un metilo hasta un decilo, para evaluar si con mayor o un menor voluminosidad se ven afectadas este tipo de interacciones.

La sustitución por grupos alquilo también se lleva a cabo teniendo en cuenta la clasificación existente de productos químicos con respecto a la toxicidad que generan. Los compuestos pueden ser desde clase 1 hasta clase 4, siendo los de la primera clase los que menor toxicidad generan y los de la cuarta clase los que más tóxicos se consideran. Como es mencionado en el marco teórico, una de las condiciones existentes para clasificar como compuesto químico de tipo **clase 1**, es que la composición de la molécula en su mayoría esté dada por carbono e hidrógeno.

Se procedió a realizar un nuevo cambio, esta vez relacionado con el aumento de polaridad de cada molécula, mediante la adición de un grupo hidroxilo al anillo aromático (fenil), en tres diferentes posiciones: Orto, meta y para, como puede evidenciarse en la **Fig. 16**. Este mismo tipo de modificación se realizó añadiendo halógenos (cloro y trifluorometilo) y nuevamente un grupo alquilo (metilo) al anillo aromático (fenil) de la misma manera que se realizó con el hidroxilo. Cabe resaltar que con cada compuesto mencionado se realizó de manera separada y con cada posición a la vez, es decir, no se realizó con más de una posición (orto, meta o para) simultáneamente.

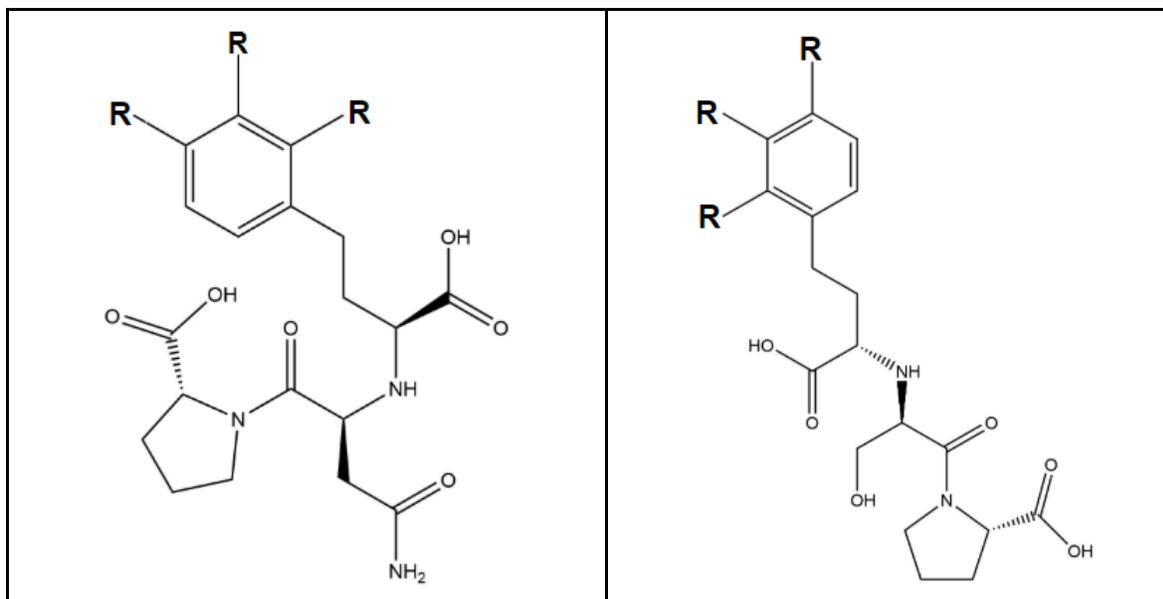


Fig. 16. Cuarta posición de cambios estructurales para los análogos 22 (izquierda) y 33 (derecha). Adición de grupos funcionales cloruro, fluoruro y alquilo, en las posiciones Orto, Meta y Para del terminal aromático (fenil).

Se lleva a cabo la adición de halógenos en este anillo aromático, dado que en teoría, de esta forma se generará un efecto inductivo, lo que a su vez va a hacer que varíe de algún modo la densidad de carga, lo cual va a influir sobre las interacciones hidrófobas que pueda tener la molécula.

Se evaluó cada una de ellas sin adicionar o sustituir ningún otro grupo o compuesto en ninguna parte de la molécula, y teniendo en cuenta los resultados obtenidos en cada una de las evaluaciones se realizaron combinaciones de las 100 primeras modificaciones que proporcionaron los mejores resultados. Estas combinaciones se basan en la sustitución de los grupos amida e hidroxilo de los análogos 22 y 33, por grupos alquilo, a la vez que se adicionan halógenos, como cloruro y fluoruro en cada posición del fenil (orto,meta,para). Pueden observarse las posiciones de modificación del sustituyente para cada caso en la **Fig. 17**.

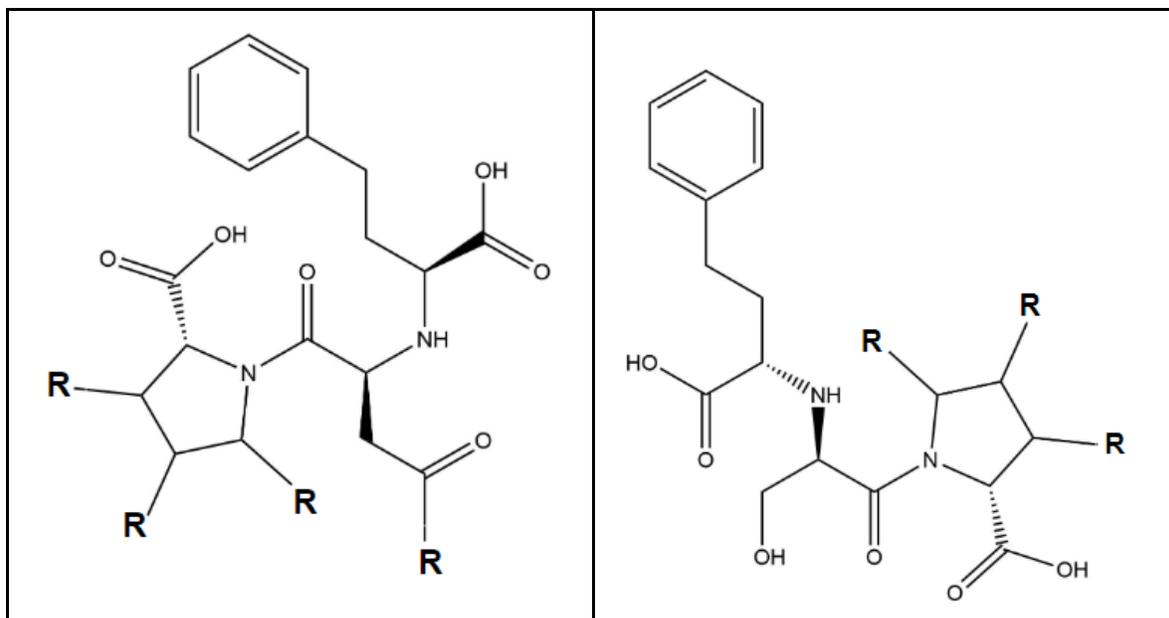


Fig. 18. Sexta posición de cambios estructurales para los análogos 22 (izquierda) y 33 (derecha). Modificaciones sobre el terminal donde se ubica la Prolina.

Los valores de IC_{50} se calcularon utilizando dos ecuaciones obtenidas mediante modelamiento QSAR, el cual se explica más adelante. Estas ecuaciones utilizan los valores de tres descriptores, los cuales se obtienen de la siguiente manera:

- **Cálculo de descriptores: ALOGPS 2.1 Y OCHEM**

Se tienen establecidos 3 descriptores como parámetros de evaluación para las moléculas diseñadas. Dichos descriptores son:

1. Momento de partición (LogP).
2. Momento dipolar (DMo).
3. Refractividad molar (AMR).

Para realizar el cálculo del primer descriptor mencionado, se utilizó una plataforma en línea denominada ALogPs 2.1. Dicha plataforma se especializa en el cálculo del descriptor LogP para la molécula que analiza, que debe ser proporcionada por el usuario en el formato requerido (extensión .mol2). En cuanto al cálculo de los descriptores DMo y AMR, la plataforma (también en línea) Ochem fue de uso apropiado, debido a que al proporcionarle el archivo de la molécula a analizar y al establecer los parámetros a evaluar se genera una hoja de excel con los resultados obtenidos de la información solicitada. Cabe resaltar que esta última herramienta también se utilizó para calcular el valor de LogP de cada molécula y compararlo con el resultado proporcionado por la plataforma ALogPs, para validar el resultado obtenido.

Gracias al uso de las herramientas computacionales mencionadas, se obtuvieron los valores designados para ser reemplazados en las ecuaciones preestablecidas y posteriormente realizar una comparación con los valores de las moléculas base. A continuación la explicación de dichos modelos matemáticos:

- **Estimación de la actividad molecular: MODELOS QSAR**

Se utilizaron 2 modelos matemáticos establecidos en la anterior fase del proyecto, los cuales se basaron en la Regresión lineal múltiple y la Regresión de mínimos cuadrados lineales. Son ecuaciones que para generar un resultado dependen de tres variables, que son los valores de los descriptores mencionados (LogP, AMR y DMo), para realizar el cálculo predictivo de la actividad biológica (IC₅₀) de las moléculas.

Se utilizaron dos ecuaciones, que son los modelos QSAR desarrollados por el grupo de investigación en una fase previa del proyecto, que proporcionan la misma información: estimación de la actividad biológica (IC₅₀) de una molécula con base en los valores de sus descriptores, para comparar entre ellas los resultados generados y validar los resultados proporcionados por las mismas.

Cabe resaltar que la unidad en la que se obtienen los resultados es en nanomoles (nM).

Los modelos QSAR mencionados se observan en las **Ecuaciones 1 y 2**.

$$IC_{50} = (1/10^{(10,567 + (0,248 * (LogP)^{(2+0,49 * (LogP)) - (0,021 * (AMR)) + (0,0074 * (DMo))}))}) * 1000000000$$

Ecuación 1. Modelo matemático 1 para la estimación de IC₅₀ de una molécula, basado en la Regresión Lineal Múltiple (MLR).

$$IC_{50} = (1/10^{(10,7796 + (0,2768 * (LogP)^{(2+0,0535 * (LogP)) - (0,02308 * AMR) + (0,00584 * (DMo))}))}) * 1000000000$$

Ecuación 2. Modelo matemático 2 para la estimación de IC₅₀ de una molécula, basado en la Regresión de Mínimos Cuadrados Lineales (PLS).

- **Evaluación de afinidad de acoplamiento a la enzima: AutoDock Tools y Vina**

Se utilizaron los software AutoDock Tools y AutoDock Vina para evaluar la afinidad por la ECA de cada molécula modificada, en una región específica de la enzima, conocida como *grid*, considerada el área o sección de ésta en donde se encuentra el sitio activo que permite la interacción entre enzima- ligando (fármaco). En este caso, se tenía un conocimiento previo de la ubicación (coordenadas en el plano x,y,z) del sitio activo de la enzima, por lo que en el *grid* se indicaba la misma y el programa realizaba la evaluación de afinidad únicamente en el área o volumen indicado.

Éstos software realizan por defecto 9 iteraciones o intentos de acoplamiento de la molécula evaluada con el sitio activo de la ECA; gracias a estas iteraciones, se pueden establecer los valores indicados de acoplamiento. Para este caso se evalúa la negatividad del resultado, puesto que, entre más negativos fueran estos valores, indicaba que se estaba presentando una mayor afinidad del ligando por la enzima.

Con base en los resultados obtenidos de estos dos factores evaluados (IC_{50} y afinidad por la enzima) se escogieron las 20 moléculas que mayor actividad antihipertensiva mostraron teóricamente, la mitad de ellas correspondientes al rediseño del análogo 22 y la otra mitad correspondientes al análogo 33.

- **Pruebas de toxicidad: PREADMET**

Seguido de esto, a las 20 moléculas escogidas se les realizaron pruebas de toxicidad, también *In silico*, a través de una plataforma en línea denominada PreADMET (Kang, 2005). En esta plataforma es posible realizar tanto predicciones de la toxicidad de algún elemento o compuesto con base en su estructura química, como la forma en que pueda darse su absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADMET) en el cuerpo humano.

En la evaluación toxicológica de nuevas sustancias se emplean baterías de ensayos en diferentes especies animales, que comprenden modelos experimentales *in vitro* e *in vivo*. Las mismas abarcan diferentes dianas de toxicidad, que van desde la toxicidad intrínseca de la sustancia evaluada en los ensayos de toxicidad aguda, hasta la evaluación de sus posibles efectos tóxicos en los diferentes sistemas y órganos mediante la conducción de ensayos denominados de toxicología especial, como son los estudios de genotoxicidad, de teratogénesis y carcinogénesis. La valoración armónica de los resultados de estos estudios permite llegar a un criterio más integral de la toxicidad de la sustancia evaluada y sus posibles consecuencias para el ser humano. (Gámez y Más, 2007)

En este caso, se simularon 12 pruebas de toxicidad relacionadas a la inhibición del crecimiento y reproducción de especies acuáticas (peces y algas), carcinogenicidad en roedores y mutagenicidad en bacterias, entre otras. (Kang, 2005)

La razón por la que se evalúa la toxicidad en ecosistemas acuáticos es que el consumo mundial de productos farmacéuticos hace que sea difícil evaluar y analizar sus efectos en la salud humana y el medio ambiente. Se ha detectado una amplia gama de ingredientes farmacéuticos activos (API) en sistemas acuáticos. Como estos productos químicos no pueden ser eliminados adecuadamente por las plantas convencionales de tratamiento de aguas residuales y sistemas de tratamiento de agua potable y están diseñados como compuestos biológicamente activos, su liberación al medio ambiente también puede tener impacto en organismos acuáticos. (Minovski et al., 2019) A nivel mundial los ecosistemas marinos están contaminados con microplásticos y productos farmacéuticos, las concentraciones encontradas en las aguas marinas son variables, sin embargo la contaminación persiste. El impacto de estos contaminantes en el medio ambiente es controvertido y puede causar un efecto adverso en las especies acuáticas, lo que ha generado serias preocupaciones en la comunidad científica y la necesidad de evaluar los niveles de toxicidad que generan estas sustancias en los ecosistemas, pues como resultado de su amplio e intensivo uso en medicina humana y animal, producción de alimentos y varias otras aplicaciones, los productos farmacéuticos se consideran contaminantes ambientales distribuidos en todo el mundo. (Patibandla et al., 2018)(Prata et al., 2018)

8. RESULTADOS

- Diseño 3D de moléculas

Se encuentran en la sección de Anexos las representaciones 2D de las 220 modificaciones estructurales realizadas a las moléculas, evidenciando de esta forma el cumplimiento del primer objetivo específico del proyecto, basado en el diseño de las moléculas.

A continuación, se presentan los resultados que evidencian el cumplimiento del segundo objetivo específico del proyecto (Estimación de actividad biológica a partir de modelos QSAR).

- Cálculo de descriptores, Estimación de la actividad molecular (modelos QSAR) y Evaluación de afinidad de acoplamiento a la enzima:

Los resultados obtenidos tras las evaluaciones de los parámetros simulados en los distintos software, que proporcionaron la información cuantitativa de distintas variables de las moléculas escogidas pueden observarse en las siguientes tablas:

Tabla 1. Valores de descriptores, IC_{50} y Afinidad por la ECA, de cada molécula diseñada a partir del análogo 33.

Variación	LogP	Dmo	AMR	MLR IC_{50} (nM)	PLS IC_{50} (nM)	Afinidad
0 (33)	-0,67	14,8	86,3	1,14099253	1,09561974	-7,6
1	-0,42	15,9	90,9	1,58881306	1,58511818	-7,7
2	-0,16	17,4	93,8	1,88595445	1,92882574	-7,7
3	0,03	10,4	96,7	2,4268716	2,45273421	-6,8
4	0,32	10,2	99,7	2,57125293	2,6119687	-7,8
5	0,58	9,69	103	2,58491817	2,62196716	-7,4
6	0,94	12,2	105	1,9165811	1,91516216	-7,1
7	1,31	13	108	1,30321839	1,26126096	-7,6
8	1,69	16,8	111	0,70559777	0,65736678	-7,3

9	2,1	8,73	114	0,36797473	0,30908505	-7
10	2,49	26,1	117	0,10894949	0,08926431	-6,8
11	0,54	0,301	111	4,60252123	4,70338221	-6,4
12	1,4	0,9	127	3,45668655	3,45868651	-6,7
13	1,3	16,7	119	2,11641095	2,19130485	-6,4
14	-0,67	5,51	89,2	1,53790249	1,44825637	-7,6
15	-0,49	14,8	92,2	1,67550296	1,67081603	-7,9
16	-0,24	9,21	95,1	2,28781656	2,284088	-7,7
17	0,02	17	98	2,31270799	2,40869232	-6,4
18	0,38	11,5	101	2,59698117	2,65925147	-8,4
19	0,76	20,8	104	1,91688121	2,00292936	-7,1
20	1,14	15,2	107	1,54653303	1,53860334	-7,2
21	1,55	24,6	110	0,77480069	0,75840258	-7,8
22	1,95	19	113	0,42347717	0,38026977	-7,9
23	2,35	28,4	115	0,14226891	0,1209668	-7,1
24	-1,44	15,2	64,7	0,17199951	0,13759174	-6,2
25	-1,21	12,6	67,6	0,28546522	0,23658778	-6,1
26	-0,98	19,1	70,5	0,38194497	0,33690273	-6,4
27	-0,65	17,2	73,4	0,59455221	0,54201861	-6,6
28	-0,33	9,5	76,3	0,89983483	0,82033841	-6,5
29	0,06	21,6	79,2	0,85610533	0,8279497	-6,4

30	0,45	13	82,2	0,97888123	0,91741492	-6,8
31	0,91	26,1	85,1	0,59841325	0,57335129	-6,7
32	1,34	16,5	88	0,44456084	0,39405913	-7
33	1,74	16,3	90,9	0,24275892	0,20302599	-6,2
34	2,16	20,1	93,8	0,09798311	0,07670255	-7,3
35	-1,26	16,4	69,3	0,27224205	0,22917056	-6,4
36	-0,7	3,32	75,1	0,79124686	0,68967741	-6,3
37	-0,19	4,68	80,9	1,25206017	1,14973606	-6,6
38	0,51	7,96	86,7	1,27438661	1,19398984	-6,3
39	1,25	1,28	92,6	0,83057337	0,72236684	-6,9
40	1,99	8,91	98,4	0,22586618	0,18075596	-6,8
41	2,7	23,9	104	0,03161695	0,02270632	-6,3
42	3,48	18	110	0,00272835	$1,51 \cdot 10^{-3}$	-6,6
43	4,14	32,3	116	$1,50 \cdot 10^{-4}$	$6,78 \cdot 10^{-5}$	-6,2
44	4,87	24,7	122	$4,92 \cdot 10^{-6}$	$1,54 \cdot 10^{-6}$	-7,4
45	5,54	7	127	$1,46 \cdot 10^{-7}$	$2,99 \cdot 10^{-8}$	-7,2
46	-0,19	12,9	91,1	1,78236728	1,77014708	-7,5
47	-0,2	12,6	91,1	1,78953419	1,77515713	-7,3
48	-0,19	13,1	91,1	1,77630362	1,7653928	-7,7
49	-0,44	12	86,5	1,36221984	1,3112417	-7,4
50	-0,45	11,7	86,5	1,36379785	1,31084638	-7,2

51	-0,44	12,3	86,5	1,35527429	1,30596264	-7,4
52	-0,51	4,7	91,4	1,89716542	1,81587116	-8
53	-0,5	6,1	91,4	1,86105839	1,79109244	-8,4
54	-0,51	6	91,4	1,85560357	1,78440336	-7,9
55	2,2	16,5	120	0,33325755	0,28907385	-8
56	2,55	16,4	119	0,11832323	0,09292227	-7,3
57	2,19	18	119	0,31772925	0,27645888	-8,1
58	2,17	8,75	120	0,41125652	0,3495353	-7,7
59	2,55	16,5	119	0,11812178	0,0927974	-7,7
60	2,18	17,9	119	0,32668169	0,28485377	-7,5
61	2,17	20,7	120	0,33549249	0,29764805	-7,9
62	2,54	9,83	119	0,13639586	0,10491851	-7,2
63	2,18	7,94	119	0,38710502	0,32567796	-8
64	2,92	25,3	122	0,03549382	0,02604568	-7,9
65	2,53	48,8	123	0,08779844	0,07941389	-7,6
66	2,65	20,5	122	0,09372814	0,07358549	-8,5
67	2,53	42,6	123	0,09758135	0,08631862	-7,5
68	2,93	23,8	122	0,03517668	0,02558983	-6,9
69	2,63	19,1	122	0,10218774	0,08030223	-7,2
70	2,92	27,4	122	0,03424623	0,02532046	-6,3
71	2,53	45,3	123	0,09319375	0,08324085	-7,2

72	2,63	26,1	122	0,09069823	$7,31 \cdot 10^{-2}$	-6,9
73	4,11	28,6	112	0,00015231	$6,75 \cdot 10^{-5}$	-6,9
74	3,05	4,75	110	0,01783939	0,0109896	-6,5
75	2,98	0,12	111	0,0259868	$1,62 \cdot 10^{-2}$	-7
76	4,17	13,7	109	0,00012701	$5,11 \cdot 10^{-5}$	-7,5
77	3,22	4,93	109	0,0090443	0,00522603	-6,1
78	3,01	30	109	0,01275279	8,68E-03	-6,4
79	4,12	31,7	111	0,00013119	5,82E-05	-7,6
80	3,24	3,75	110	0,00897605	0,00515195	-6,6
81	3,01	23,9	110	$1,49 \cdot 10^{-2}$	$9,93 \cdot 10^{-3}$	-7
82	4,71	20,3	118	$1,07 \cdot 10^{-5}$	$3,52 \cdot 10^{-6}$	-7,7
83	3,7	19,5	115	0,00134054	0,00069738	-6,9
84	3,7	10,1	117	$1,73 \cdot 10^{-3}$	$8,80 \cdot 10^{-4}$	-6,6
85	4,74	28,7	115	$6,78 \cdot 10^{-6}$	$2,24 \cdot 10^{-6}$	-7,1
86	3,78	9,2	115	0,00112506	0,00054547	-6,7
87	3,81	21,1	115	$8,04 \cdot 10^{-4}$	$4,02 \cdot 10^{-4}$	-6,9
88	4,74	18,9	116	$8,41 \cdot 10^{-6}$	$2,69 \cdot 10^{-6}$	-7
89	3,88	17,5	116	0,00065447	0,00031472	-7,2
90	3,81	10,1	116	$1,02 \cdot 10^{-3}$	$4,91 \cdot 10^{-4}$	-7,4
91	5,23	36,9	124	$5,30 \cdot 10^{-7}$	$1,43 \cdot 10^{-7}$	-6,7
92	4,41	32,1	123	$5,49 \cdot 10^{-5}$	$2,25 \cdot 10^{-5}$	-7,4

93	4,31	16,1	122	$1,14 \cdot 10^{-4}$	$4,62 \cdot 10^{-5}$	-7,1
94	5,33	7,19	121	$4,11 \cdot 10^{-7}$	$9,29 \cdot 10^{-8}$	-6,7
95	4,49	13,1	120	$4,33 \cdot 10^{-5}$	$1,57 \cdot 10^{-5}$	-6,7
96	4,55	15,8	121	$3,16 \cdot 10^{-5}$	$1,13 \cdot 10^{-5}$	-6,7
97	5,33	43,3	122	$2,33 \cdot 10^{-7}$	$6,03 \cdot 10^{-8}$	-7,7
98	4,52	31,7	121	$2,83 \cdot 10^{-5}$	$1,09 \cdot 10^{-5}$	-6,6
99	4,55	17,1	122	$3,25 \cdot 10^{-5}$	$1,17 \cdot 10^{-5}$	-7,6
100	-0,38	13,4	91,5	1,73040914	1,71815922	-7,9
101	-0,56	15,1	94,2	1,7747092	1,78284321	-8,4
102	-0,32	12,5	92,7	1,89445721	1,88893045	-7,7
103	-0,41	18,7	90,9	1,52027166	1,53260272	-7,7
104	-0,48	8,5	93,5	1,99517411	1,95805519	-7,5
105	-0,47	5,9	92	1,94799034	1,88119964	-7,6
106	-0,13	7,45	90,9	1,94513075	1,89333563	-7,2
107	-0,29	13,4	92,4	1,85179625	1,8509842	-7,4
108	-0,17	13,7	92,4	1,87578388	1,88030131	-6,9

Tabla 2. Valores de descriptores, IC_{50} y Afinidad por la ECA, de cada molécula diseñada a partir del análogo 22.

Variación	LogP	AMR	DMo	MLR IC_{50} (nM)	PLS IC_{50} (nM)	Afinidad
Enalapril	-0,67	86,3	14,8	1,14099252	1,095619739	-7,5
0 (22)	-0,79	91	10,9	1,40369644	1,348135398	-8,1
1	-0,67	96,7	15,4	1,86742341	1,88880815	-8,2

2	-0,34	101	24,1	2,31020862	2,497582208	-8
3	-0,09	105	15,3	3,36652000	3,606304485	-7,9
4	0,22	107	7,24	4,01458631	4,195261997	-7,6
5	0,47	110	30,7	2,74161709	3,124301145	-7,7
6	0,81	113	35,9	2,17739489	2,49574237	-7,2
7	1,2	116	28,3	1,75250796	1,892294818	-8
8	-4,63	119	21,3	0,00004840	0,000048461	-7,8
9	1,98	122	26,8	0,53382732	0,511238707	-7,3
10	2,35	125	11,4	0,30825490	0,258670081	-7,2
11	2,69	131	44,1	0,08536841	0,075251879	-7,2
12	3	135	11,8	0,06334028	0,045884710	-7,2
13	3,24	138	12,5	0,02994575	0,020282058	-8
14	3,52	141	13,6	0,01117019	0,006929663	-7,5
15	3,87	144	14,3	0,00280077	0,001529110	-7,4
16	-0,37	102	21,3	2,52091846	2,708756759	-8,1
17	0,33	111	7,3	4,64304400	4,925009222	-8,2
18	0,86	118	6,04	4,37263473	4,58798376	-8
19	1,47	124	10,2	2,25728710	2,275273916	-7,7
20	2,12	130	2,28	0,84651917	0,746493805	-7,9
21	-1,48	69,4	2,48	0,25196997	0,195776665	-6,5
22	-1,36	72,3	3,76	0,33995012	0,273770262	-6,3
23	-1,07	75,2	2,34	0,57993430	0,488145138	-6,2
24	-0,75	78,1	8,46	0,80862283	0,725849530	-6,8
25	-0,46	81	20,5	0,89611387	0,865530770	-7
26	-0,05	84	22,9	1,06996605	1,065074042	-7
27	0,35	86,9	12,1	1,32077852	1,268767951	-7,3
28	0,76	89,8	10,5	1,14978119	1,081637242	-6,8
29	1,18	92,7	31,7	0,55205811	0,541216175	-7,1
30	1,64	95,6	25,1	0,32172084	0,289609945	-7,2
31	-1,4	75,1	2,18	0,37712732	0,304357494	-6,9
32	-0,83	82,3	9,73	0,91016640	0,832348973	-6,7
33	-0,27	88,7	15,5	1,50020566	1,484962642	-7,5

34	0,4	94,6	13,6	1,81836054	1,817503266	-6,7
35	1,08	100	7,53	1,36486846	1,287529677	-7
36	1,76	106	17	0,47726017	0,428434102	-6,7
37	2,49	112	10,5	0,11160025	0,084407654	-7,4
38	3,28	118	20,4	0,00853565	0,005325763	-6,8
39	4,07	124	33,4	0,00030360	0,000147627	-6,9
40	-	-	-	-	-	-
41	-0,68	92,7	5,19	1,81944444	1,739248222	-7,9
42	-0,71	92,7	14	1,53416898	1,510730899	-7,7
43	-0,74	92,7	16,1	1,44882256	1,434531311	-8
44	-0,28	95,8	11,2	2,27089367	2,289477016	-7,8
45	-0,28	95,8	11,1	2,27476637	2,292557769	-8,1
46	-0,29	95,8	10,9	2,27768257	2,293373089	-8,3
47	0,32	97	12,3	2,17723245	2,199824163	-7,8
48	0,43	97	10,5	2,11531378	2,111549992	-8,6
49	0,48	97	7,52	2,15621865	2,123088647	-8,8
50	-0,63	96,1	3,15	2,29207487	2,217518277	-8,3
51	-0,62	96,1	7,81	2,12987835	2,096591438	-7,6
52	-0,62	96,1	10,5	2,03445833	2,022107351	-7
53	2,24	125	48,5	0,22129683	0,218342577	-8,2
54	2,24	125	54,1	0,20115702	0,202504385	-8,6
55	2,22	125	34,2	0,29778087	0,280513836	-8,9
56	3,56	144	25,1	0,00899015	0,005803798	-7,4
57	3,58	144	14,8	0,00985355	0,006081328	-8,9
58	3,6	144	15	0,00902651	0,005530281	-9,3
59	3,95	147	49,9	0,00122396	0,000743929	-7,3
60	3,97	147	45,2	0,00120861	0,000715938	-7,4
61	4	147	15,1	0,00175493	0,000920653	-7,6
62	-	-	-	-	-	-
63	-	-	-	-	-	-
64	-	-	-	-	-	-
65	1,72	124	41,4	0,81785591	0,880614613	-7,9

66	1,73	124	40,9	0,80785013	0,866558582	-7,8
67	1,74	124	21,3	1,10477846	1,102299555	-7,8
68	3,34	144	14,7	0,02618009	0,017726728	-6,7
69	3,35	144	14	0,02547240	0,017139817	-7,6
70	3,36	144	44,1	0,01466220	0,010951093	-8,5
71	3,65	146	44	0,00490422	0,003299044	-7,7
72	3,66	146	44,5	0,00465855	0,003126607	-6,7
73	3,67	146	14,9	0,00738963	0,004441076	-7,2
74	-	-	-	-	-	-
75	-	-	-	-	-	-
76	-	-	-	-	-	-
77	5,18	129	35,2	0,00000094	0,000000266	-7,2
78	5,01	132	36,8	0,00000289	0,000000922	-7
79	5,17	130	38,8	0,00000098	0,000000285	-7
80	4,31	128	18,3	0,00014706	0,000061720	-7,1
81	4,24	131	14,5	0,00025733	0,000111739	-6,7
82	4,38	129	14,6	0,00011524	0,000046356	-7,2
83	4,86	151	38,7	0,00001666	0,000006345	-7,8
84	4,72	152	30,9	0,00004365	0,000017497	-8,2
85	4,87	149	34	0,00001548	0,000005712	-7,9
86	4,2	150	11,5	0,00082676	0,000396373	-7,2
87	4,09	151	13,2	0,00143661	0,000732633	-7,3
88	4,17	149	23,8	0,00073978	0,000374124	-7,1
89	0,99	97,4	12,6	1,24046695	1,190061573	-8,7
90	0,65	98,9	11,2	1,95159636	1,94108342	-8,2
91	0,8	96,2	13,9	1,42043053	1,389456005	-7,7
92	4,46	145	30,7	0,00012565	0,000055584	-7,4
93	4,25	146	28	0,00040183	0,000195868	-8,5
94	4,48	144	38,1	0,00009507	0,000042560	-7,1
95	3,04	124	25,1	0,02572664	0,018295240	-7,7
96	2,92	127	10,2	0,05846457	0,041621684	-7,8
97	3,1	125	43	0,01601843	0,011955980	-8,3

98	4,66	148	33,7	0,00004762	0,000019517	-7,2
99	4,49	149	29,8	0,00013236	0,000058610	-7,5
100	4,66	147	48,1	0,00003550	0,000015249	-7,3
101	-0,53	96,7	5,92	2,37792854	2,342627774	-8,1
102	-0,57	98,2	6,5	2,48001781	2,461059808	-7,8
103	-0,54	95,6	9,1	2,12521660	2,105581771	-7,6
104	3,58	144	14,6	0,00988718	0,006097705	-6,6
105	3,45	146	44,5	0,01118999	0,008164955	-7,4
106	3,53	143	4,11	0,01387754	0,008367684	-7
107	1,89	124	21,7	0,79054973	0,765612247	-7,8
108	1,83	126	42	0,70469761	0,750699018	-7,9
109	1,9	125	21,8	0,80965499	0,786453772	-7,9
110	3,89	147	14,3	0,00295671	0,001623469	-6,9
111	3,75	149	14,6	0,00606331	0,003572160	-7
112	3,81	146	34,9	0,00284483	0,001732586	-6,7

Se observa en las **Tablas 1 y 2**, los respectivos valores de IC₅₀ en escala nanomolar, calculados por los dos modelos QSAR (MLR y PLS) desarrollados en la fase anterior del proyecto, implementando el uso de los valores de los tres descriptores establecidos: LogP, AMR y DMO. También se observan los valores de afinidad que presentaron las 220 moléculas diseñadas, a partir de los análogos 22 y 33, por la Enzima convertidora de la Angiotensina.

A modo general, lo que se evidencia respecto a cada uno de los descriptores utilizados es que presentan patrones de comportamiento. Por ejemplo, los valores de coeficiente de partición (Log P), a pesar de que en dependiendo el caso pueden tomar valores positivos o negativos, se encuentran siempre en un rango mayor a -5 y menor a 5. Así mismo, se evidencia que dependiendo del tipo de modificación al que pertenezcan (entre los 6 establecidos), si pertenecen al mismo grupo, presentan valores de Log P muy próximos entre sí.

Por el contrario, los valores de Refractividad molar (AMR) son valores bastantes altos, en comparación con los anteriormente descritos, pues se encuentran en un rango de 70 a 150 aproximadamente. En este caso, como en el de Momento dipolar (DMO), todos los valores obtenidos son positivos y los valores de éste último descriptor varían en un rango de 3 a 50 aproximadamente.

En la **Tabla 1**, las primeras diez variaciones, hacen relación a las modificaciones de sustitución por radicales alquilo, de manera sucesiva desde un metilo hasta un decilo, en este caso se realizó en el terminal hidroxilo, como se evidencia en la

Fig. 13, en estos cambios se denota que las 7 primeras modificaciones cuentan con valores de IC_{50} mayores a los del Enalapril (1,1) y al análogo 33 (1,1), sin embargo, las variaciones 8, 9 y 10 arrojaron valores inferiores de IC_{50} , resaltando que ninguna de estas variaciones presentó valores superiores de afinidad con la ECA, excepto por la variación 7 que presentó el mismo valor de afinidad que el análogo 33 (-7,6).

Las variaciones 11, 12 y 13 hacen referencia a la adición de 1 y 2 fenilos respectivamente, como sustituyentes del hidroxilo, para posteriormente en la variación 13, agregar átomos de oxígeno en todas sus posiciones. Para este caso, se evidencia que en estas variaciones se presentó un aumento significativo tanto en los valores de IC_{50} como en los valores de afinidad por la ECA, ya que son superiores a los valores que posee el Enalapril y el análogo 33. Por lo tanto, estas variaciones fueron descartadas para realizar cambios en las mismas.

Las variaciones 14 a 23, hacen referencia a la adición de sustituyentes alquilo, de manera sucesiva desde un metilo hasta un decilo, en el terminal hidroxilo como se evidencia en la **Fig. 17**, en estas es posible evidenciar, que las variaciones 14 hasta la 20 presentaron un valor de IC_{50} mayor al del Enalapril (1,1), mientras que las variaciones 21, 22 y 23, presentan un valor inferior de IC_{50} . Con respecto, a los valores de afinidad por la ECA, las variaciones que mejores valores presentaron, en comparación con el Enalapril y el análogo 33, fueron las moléculas 18, 21 y 22.

Las moléculas que representan la modificación estructural donde se realizó la sustitución del anillo aromático (Fenil) por radicales alquilo, de manera sucesiva desde un metilo hasta un decilo, como se evidencia en la **Fig. 14**, son las variaciones 24 a 34. En ellas es posible observar que todas presentan un valor de IC_{50} menor al del Enalapril (1,1) y al análogo 33 (1,1). Sin embargo, en cuanto a afinidad por la enzima, todas las modificaciones arrojaron valores inferiores de afinidad, en relación a las dos moléculas base.

Las variaciones 35 a 45, hacen referencia al cambio estructural realizado, referente a la sustitución por grupos alquilo, tanto en el terminal hidroxilo como en el fenil terminal, tal como se evidencia en la **Fig. 15**. En este caso, todos los valores de IC_{50} son inferiores a la molécula del Enalapril (1,1) y al análogo 33 (1,1). Sin embargo, ninguna de estas variaciones presentó valores superiores de afinidad por la enzima en comparación con la molécula base (-7,6).

Posteriormente, las modificaciones que hacen referencia a la adición de halógenos en los patrones de sustitución en el anillo aromático, se pueden evidenciar de la variación 46 a 54 (**Fig. 16**). En estas modificaciones se denota que todas las moléculas presentaron valores superiores de IC_{50} en comparación con el enalapril y el análogo 33. Sin embargo, en torno a los valores de afinidad por la ECA, las variaciones 46, 48, 52,53 y 53 presentaron valores superiores al análogo 33 (-7,6).

Tras la evaluación de las anteriores modificaciones, se decidió tomar las 10 moléculas que presentaran los mejores valores teóricos de IC_{50} y de afinidad por la enzima, y adicionar halógenos en los patrones de sustitución de los anillos presentes en las modificaciones, estos se pueden observar desde la variación 55 a 99. En estas, se evidenció que todas las variaciones presentan valores inferiores de IC_{50} , en comparación con la molécula del enalapril (1,1) y al análogo 33 (1,1), pero los valores que presentaron de afinidad por la enzima, son inferiores, excepto por la variación 82 que presentó un valor de -7,7.

Para finalizar, las variaciones 100-108 son las modificaciones que se realizaron sobre el terminal donde se ubica la Prolina, como se muestra en la **Fig. 18**. Estas presentaron valores de IC_{50} superiores al enalapril y al análogo 33. Mientras que, en relación a los valores de afinidad por la enzima, las moléculas 100,101, 102 y 103 fueron las que evidenciaron valores superiores a la molécula base (-7,6).

Para las variaciones realizadas a la molécula base del análogo 33, se presenta un patrón con respecto a los valores arrojados por los descriptores para cada grupo de variación.

Para cada grupo de variaciones se evidencia el aumento en los valores del coeficiente de partición (Log P) y refractividad molar (AMR), se tornan valores positivos a los que presenta el análogo 33 (-0,67 y 90,9) respectivamente, sin embargo, para el Momento dipolar (Dmo) las variaciones se presentan aleatoriamente, arrojando valores superiores e inferiores a la molécula base (14,8).

En lo que respecta a la **Tabla 2, Valores de descriptores, IC_{50} y Afinidad por la ECA, de cada molécula diseñada a partir del análogo 22**, las moléculas correspondientes a las variaciones 1 a 20 hacen parte del primer tipo de modificación realizada, es decir, adición de cadenas de carbono, en este caso en el terminal amídico. Es posible evidenciar que las 7 primeras modificaciones realizadas cuentan con valores de IC_{50} mayores a los del Enalapril (1,1) y el análogo 22 (1,4), al igual que las modificaciones 16-19. Sin embargo, la afinidad que presentan por la ECA es mayor a la del Enalapril (-7,5). Los casos en que dicha afinidad es menor es en los diseños 6, 9, 10, 11 y 12.

Las moléculas que representan el segundo tipo de modificación estructural realizado, representado en la **Fig. 14.**, sustitución del anillo de benceno terminal por cadenas de carbono, son las variaciones 21 a 30. En ellas es posible observar que todas presentan un valor de IC_{50} menor al del Enalapril (1,1), a excepción de las número 26, 27 y 28, que presentan valores equivalentes o mayores. Sin embargo, en cuanto a afinidad por la enzima, todas se encuentran por debajo de las dos moléculas base.

Para el tercer tipo de cambio estructural realizado, adición de cadenas de carbono tanto en el terminal amídico como en el fenil terminal, deben observarse los datos

de las variaciones número 31 a 40. En ellas se evidencia que en teoría todos los valores de afinidad por la ECA son menores que los del medicamento comercial (-7,5), al igual que los valores de IC_{50} que presentan 7 de las 10 moléculas. El caso de la molécula número 40 es muy particular, debido a que ninguna de las plataformas digitales fue capaz de evaluar las propiedades requeridas, por ejemplo, generar los valores de los descriptores, por ende, no se llegó a un cálculo del valor de concentración inhibitoria media máxima, ya que los dos modelos QSAR dependen de los valores de descriptores para generar un resultado, por lo que no se cuenta con ningún dato numérico de este diseño.

Las variaciones número 41 a 52 corresponden al cuatro tipo de modificación estructural realizado al análogo 22 del Enalapril, representado en la **Fig. 16**. En este caso es posible observar que todas las moléculas presentan valor de afinidad por la ECA mayor al del Enalapril (-7,5) e incluso en algunos casos, mayor al del análogo 22 (-8,1), a excepción de la número 52 (-7). Sin embargo, todos los diseños de moléculas pertenecientes a este grupo presentan un valor de IC_{50} más alto que las moléculas base, siendo esto contrario a lo que se busca.

El quinto tipo de variación realizado se evidencia en las moléculas número 53 a 76. Las moléculas 62, 63, 64, 74, 75 y 76 no pudieron ser evaluadas por los software utilizados, igual que en el caso de la molécula 40, anteriormente mencionada, por lo que no se cuenta con datos de las mismas. En cuanto a las demás moléculas, todas presentan valor de IC_{50} menor al de las dos moléculas base al igual que una mayor afinidad por la enzima, siendo excepción de esto la molécula 67, que presenta un valor de IC_{50} equivalente al del Enalapril (1,1) y las moléculas que presentan valores de afinidad por la enzima que están por debajo de -7,5 (Enalapril), las cuales son 56 (-7,4), 59 (-7,3), 60 (-7,4), 68 (-6,7), 72 (-6,7) y 73 (7,2).

Finalmente, los resultados que respecta al sexto tipo de cambio realizado, modificaciones sobre el terminal donde se ubica la Prolina, representado estructuralmente en la **Fig. 18.**, se observan en las moléculas número 77 a 112. Las moléculas 89, 90, 91, 101, 102, y 103 cuentan con un valor de concentración inhibitoria media máxima por encima de 1,1, valor de IC_{50} del Enalapril. Mientras que, en cuanto a afinidad por la enzima, 20 de las 37 moléculas diseñadas se encuentran por debajo de lo esperado (-7,5). Las 17 moléculas restantes presentan valores de afinidad por enzima mayores que el valor de afinidad del Enalapril (-7,5), éstas son las que se encuentran entre las número 83 a 109, a excepción de 86, 87, 88, 92, 94, 98, 99 y 100, 104, 105, 106, 110, 111 y 112.

Cabe resaltar, nuevamente, que los datos anteriormente descritos respectan a los resultados plasmados en las **Tablas 1 y 2**, y hacen referencia a los valores teóricos, obtenidos de los tres descriptores que en este caso influyen directamente sobre el valor de IC_{50} de cada molécula; los valores teóricos obtenidos de actividad biológica y Afinidad por la ECA, de cada molécula diseñada a partir de los análogos 33 (**Tabla 1**) y 22 (**Tabla 2**), respectivamente.

- Pruebas de Toxicidad

Posterior a las pruebas de afinidad y de concentración inhibitoria media máxima, o IC_{50} , y de manera adicional, a las 10 moléculas que se consideran presentaron, en teoría, los mejores resultados, se les realizaron 12 test de toxicidad diferentes y los resultados se muestran desde la **Tabla 3** hasta la **Tabla 12**, distribuidos de la siguiente forma: **Tablas 3 y 4** muestran resultados de *Toxicidad aguda en algas*. **Tablas 5 y 6**: *Toxicidad aguda en peces*, **Tablas 7 y 8**: *Test de Ames (mutagenicidad en bacterias)*, **Tablas 9 y 10**: *Carcinogenicidad en roedores* y **Tablas 11 y 12**: *Inhibición del gen hERG*.

Al observar los datos que se muestran en las **Tablas 3 y 4**, es posible notar la similitud que existe entre los valores de ecotoxicidad de dos fármacos antihipertensivos comerciales: Lisinopril (0,023) y Enalapril (0,026). En cuanto a los análogos diseñados, se resalta el hecho de que los valores de ecotoxicidad acuática en algas, en todos los casos son menores a los que presentan las dos moléculas análogas que fueron sometidas a re-diseño estructural: 33 (0,44) y 22 (0,054) y los dos medicamentos antihipertensivos mencionados. Un ejemplo de esto son las dos moléculas con menor valor obtenido en cada caso: $5,8 \times 10^{-4}$ para el diseño 58 del análogo 33 y $1,45 \times 10^{-4}$ para el diseño 84 del análogo 22.

Tabla 3. *Ecotoxicidad: Toxicidad aguda aguda en algas: inhibición de crecimiento crecimiento y reproducción, análogo 33. análogo*

Tabla 4. *Ecotoxicidad: Toxicidad en algas: inhibición de y reproducción, 22.*

Variación	alga_at
Lisinopril	0,0235673
0 (33)	0,443204
58	0,00058782
61	0,00058782
55	0,00061398
66	0,00068224
63	0,00085622
57	0,0008763
22	0,00227854
21	0,00254247
34	0,00334963
101	0,027845

Variación	algae_at
Enalapril	0,0263535
0 (22)	0,0547759
13	0,000787472
97	0,00172468
55	0,00124536
54	0,00120935
53	0,00114327
70	0,000385211
93	0,000344122
58	0,000267746
57	0,000260073
84	1,45*10 ⁻⁴

Así mismo ocurre respecto a la toxicidad en peces que presentan las moléculas análogas diseñadas, pues estos valores, en teoría, son menores que los de las mismas moléculas base, como es posible observar en las **Tabla 5 y 6**.

Tabla 5. *Ecotoxicidad: Toxicidad aguda en peces: inhibición de desarrollo y reproducción, análogo 33.*

Variación	Daphnia_at	Medaka_at	Minnow_at
Lisinopril	0,268264	0,121819	0,18897
0 (33)	0,411032	0,269716	0,791226
58	0,00236716	1,46*10 ⁻⁵	5,37*10 ⁻⁵
61	0,00236716	1,46*10 ⁻⁵	5,37*10 ⁻⁵
55	0,00227301	1,91*10 ⁻⁵	5,40*10 ⁻⁵
66	0,00330363	2,83*10 ⁻⁵	1,186 x 10 ⁻⁴

63	0,00359696	$3,28 \times 10^{-5}$	$2,204 \times 10^{-4}$
57	0,00396935	$3,95 \times 10^{-5}$	$2,212 \times 10^{-4}$
22	0,0123397	$3,477 \times 10^{-4}$	0,00148371
21	0,0157112	$5,554 \times 10^{-4}$	0,002249813
34	0,0262996	0,00126633	0,00112748
101	0,258304	0,11151	0,34599

Tabla 6. Ecotoxicidad: Toxicidad aguda en peces: inhibición de desarrollo y reproducción, análogo 22.

Variación	Daphnia_at	Medaka_at	Minnow_at
Enalapril	0,132963	0,030054	0,0811454
0	0,521971	0,452762	1,09835
13	0,00233019	$1,55 \times 10^{-5}$	$2,03 \times 10^{-4}$
97	0,00827978	$1,73 \times 10^{-4}$	0,00128643
55	0,00663487	$1,11 \times 10^{-4}$	$3,199 \times 10^{-4}$
54	0,00575288	$8,48 \times 10^{-5}$	$3,183 \times 10^{-4}$
53	0,00478279	$6,00 \times 10^{-5}$	$3,154 \times 10^{-4}$
70	$3,852 \times 10^{-4}$	$6,96 \times 10^{-6}$	$3,49 \times 10^{-5}$
93	0,00128802	$5,05 \times 10^{-6}$	$3,42 \times 10^{-5}$
58	0,00105017	$3,35 \times 10^{-6}$	$8,44 \times 10^{-6}$
57	$9,105 \times 10^{-4}$	$2,56 \times 10^{-6}$	$8,40 \times 10^{-6}$
84	$4,937 \times 10^{-4}$	$8,16 \times 10^{-7}$	$6,26 \times 10^{-6}$

Los datos presentados en las dos tablas anteriores hacen referencia a los resultados de tres test de ecotoxicidad en tres especies de peces: Daphnia, Medaka y Minnow, y como ya ha sido mencionado, los datos de toxicidad obtenidos de moléculas diseñadas cuentan con valores menores a los de las

moléculas base, por ejemplo, los diseños 58 y 61 del análogo 33 presentan los mismos resultados: 0,002, $1,46 \times 10^{-4}$ y $5,37 \times 10^{-5}$ para Daphnia, Medaka y Minnow, respectivamente, mientras que el análogo 33 propiamente, presenta valores de 0,41; 0,26 y 0,79; el análogo 22 presenta valores de 0,52; 0,45 y 1,09, los cuales en los tres casos son mayores a los de Lisinopril (0,26; 0,12 y 0,18), Enalapril (0,13; 0,03 y 0,08). En cuanto al diseño 84 del análogo 22, es la molécula que presenta los valores más bajos de toxicidad en todos los casos y en comparación con todas las moléculas: 4×10^{-4} para Daphnia, $8,16 \times 10^{-7}$ para Medaka y $6,26 \times 10^{-6}$ para Minnow.

En cuanto a mutagenicidad en bacterias, la plataforma de PreADMET permite realizar simulación del test de toxicidad conocido como *Test de Ames*, que es un ensayo biológico para evaluar el potencial mutagénico de compuestos químicos. En este caso se evalúa en 4 cepas de Salmonella: TA100 con activación metabólica por homogeneizado de hígado de rata (RLI), TA100 sin activación metabólica (NA), TA1535 con activación metabólica por homogeneizado de hígado de rata (RLI) y TA1535 sin activación metabólica (NA).

Los resultados de la simulación de estos test se muestran a continuación, en las **Tablas 7 y 8**, para los análogos del Enalapril 33 y 22, respectivamente.

Tabla 7. Test de Ames: mutagenicidad en bacterias, análogo 33.

Variación	Ames_test	TA100_10RLI	TA100_NA	TA1535_10RLI	TA1535_NA
Lisinopril	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
0 (33)	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
58	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
61	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
55	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
66	mutágeno	positivo	negativo	negativo	negativo
63	mutágeno	positivo	negativo	negativo	negativo
57	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
22	mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo

21	mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
34	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
101	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo

Tabla 8. Test de Ames: mutagenicidad en bacterias, análogo 22.

Variación	Ames_Test	TA100_10RLI	TA100_NA	TA1535_10RLI	TA1535_NA
Enalapril	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
0 (22)	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
13	mutágeno	positivo	negativo	negativo	negativo
97	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
55	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
54	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
53	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
70	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
93	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
58	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
57	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo
84	no mutágeno	negativo	negativo	negativo	negativo

Puede observarse en la **Tabla 8**, que hay un único compuesto que en teoría resulta ser mutágeno, este es el diseño número 13, el cual presenta un resultado positivo para mutagenicidad en la cepa TA100 con activación metabólica. Los demás diseños evaluados son negativos para todas las cepas de Salmonella en

las que se evalúa la toxicidad, con y sin activación metabólica, incluidas las dos moléculas base, Enalapril y análogo 22.

En cuanto a carcinogenicidad, la cual se evalúa en roedores (ratones y ratas) y de la cual se presentan los resultados en las **Tablas 9 y 10**, es importante resaltar que para las variaciones que se realizaron al análogo 22, todas las moléculas presentan carcinogenicidad positiva en ratas, sin embargo, las dos moléculas comerciales de fármacos antihipertensivos (Lisinopril y Enalapril) presentan el mismo resultado. Para el caso de los ratones, todas las moléculas diseñadas, tanto para el análogo 22 como para el análogo 33, las moléculas de fármacos comerciales y los dos análogos (22 y 33) sin ser modificados, presentan carcinogenicidad negativa, a excepción del diseño 55 del análogo 33, el cual se considera carcinógeno para ambos casos.

Tabla 9. Carcinogenicidad en roedores, análogo 33.

Variación	Carcino_ mouse	Carcino_ rat
Lisinopril	Neg.	Pos.
0 (33)	Neg.	Neg.
58	Neg.	Neg.
61	Neg.	Neg.
55	Neg.	Pos.
66	Neg.	Neg.
63	Neg.	Neg.
57	Neg.	Neg.
22	Neg.	Pos.
21	Neg.	Neg.
34	Neg.	Pos.
101	Neg.	Neg.

Tabla 10. Carcinogenicidad en roedores, análogo 22.

Variación	Carcino_ Mouse	Carcino_ Rat
Enalapril	Neg.	Pos.
0 (22)	Neg.	Pos.
13	Neg.	Pos.
97	Neg.	Pos.
55	Neg.	Pos.
54	Neg.	Pos.
53	Neg.	Pos.
70	Neg.	Pos.
93	Neg.	Pos.
58	Neg.	Pos.
57	Neg.	Pos.
84	Neg.	Pos.

Tabla 11. Inhibición del gen hERG, análogo 33.

Variación	hERG_inhibition
Lisinopril	Ambiguo
0 (33)	Bajo riesgo
58	Ambiguo
61	Ambiguo
55	Ambiguo
66	Ambiguo
63	Ambiguo
57	Ambiguo
22	Ambiguo
21	Ambiguo
34	Ambiguo
101	Ambiguo

Tabla 12. Inhibición del gen hERG, análogo 22.

Variación	hERG_inhibition
Enalapril	Bajo riesgo
0 (22)	Ambiguo
13	Bajo riesgo
97	Ambiguo
55	Ambiguo
54	Ambiguo
53	Ambiguo
70	Bajo riesgo
93	Bajo riesgo
58	Bajo riesgo
57	Bajo riesgo
84	Bajo riesgo

En las **Tablas 11 y 12**, se evidencia el riesgo que puede presentar cada diseño realizado en cuanto a inhibición del gen humano hERG, el cual cumple una función importante en la actividad eléctrica del corazón, pues conduce la corriente necesaria en el potencial de acción cardíaco, es decir, media la polarización del corazón, por lo que si se inhibe representa un alto riesgo de generar anomalías cardíacas, como el síndrome de QT largo, pudiendo generar incluso la muerte de una persona.

Se observa entonces, en la **Tabla 11**, que todas las moléculas diseñadas a partir del análogo 33 presentan un resultado ambiguo, es decir que no se conoce el riesgo que pueden llegar a tener en la inhibición de este gen, al igual que las moléculas 53, 54, 55 y 97, que se encuentran en la **Tabla 12**, e incluso, del mismo modo ocurre con el Lisinopril y el análogo 22.

Caso contrario ocurre con el Enalapril, que presenta un bajo riesgo de inhibición del gen, así como las demás moléculas que se muestran en la **Tabla 12**.

Finalmente, de las 220 modificaciones estructurales realizadas, se escogieron 3 de las moléculas resultantes, por cada análogo modificado (22 y 33), que fueron las que presentaron resultados en teoría promisorios. La selección de estas tres moléculas por cada análogo modificado se realizó teniendo en cuenta los resultados obtenidos en cada uno de los parámetros evaluados, es decir, las moléculas que presentaran resultados más promisorios en la mayor cantidad de parámetros evaluados, fueron las moléculas seleccionadas, las cuales pueden observarse a continuación en las **Tablas 13 y 14**, en donde adicional a cada una

de las características que presenta cada molécula, se muestra el nombre que le corresponde a cada molécula, a partir de su composición estructural.

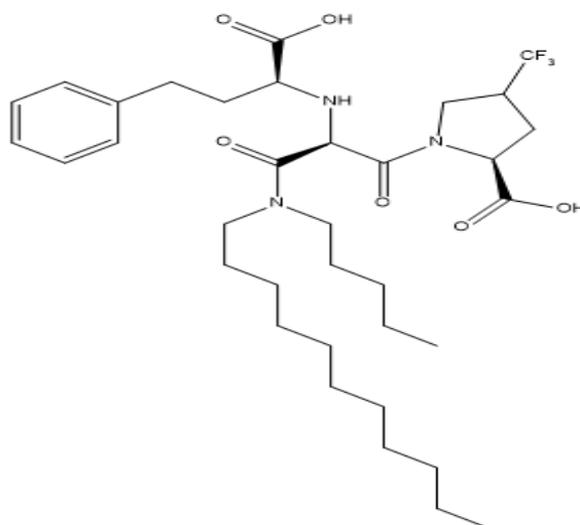
En la **Tabla 13**, se observan las características estructurales y de valores calculados de las modificaciones número 57, 58 y 84, realizadas al análogo número 22 del Enalapril. Estas constan de la sustitución del radical amídico por un grupo alquilo, en este caso dos cadenas, de 10 y 5 carbonos, en los tres casos, más la adición de un grupo trifluorometilo, unido en dos de los casos (57 y 58) al anillo bencénico en las posiciones Orto y Para, mientras que en el caso de la modificación 84, el grupo trifluorometilo se une a uno de los carbonos que conforman la estructura de la prolina, que hace parte del Enalapril.

Tabla 13. Características de las 3 moléculas que presentan resultados promisorios, tras modificaciones realizadas al **análogo 22**.

Parámetro evaluado	Valor	Estructura molécula 57: N ² -((S)-1-carboxy-3-(3-(trifluoromethyl)phenyl)propyl)-N ⁴ -decyl-N ⁴ -propyl-L-asparaginy-L-proline
IC ₅₀ :	0,009	
Afinidad:	-8,9	
Algae_at:	2 x 10 ⁻⁴	
Daphnia_at	9 x 10 ⁻⁴	
Medaka_at	2,5*10 ⁻⁶	
Minnow_at	8,4*10 ⁻⁶	
Ames_test	no mutágeno	
TA100_10RLI	negativo	
TA100_NA	negativo	
TA1535_10RLI	negativo	
TA1535_NA	negativo	
Carcino_mouse	negativo	
Carcino_rat	positivo	
hERG_inhibición	Bajo riesgo	

Parámetro evaluado	Valor	Estructura molécula 58: N²-((S)-1-carboxy-3-(4-(trifluoromethyl)phenyl)propyl)-N⁴-decyl-N⁴-propyl-L-asparaginyl-L-proline
IC ₅₀ :	0,009	
Afinidad:	-9,3	
algae_at:	2 x 10 ⁻⁴	
Daphnia_at	0,001	
Medaka_at	3,3*10 ⁻⁶	
Minnow_at	8,4*10 ⁻⁶	
Ames_test	no mutágeno	
TA100_10RLI	negativo	
TA100_NA	negativo	
TA1535_10RLI	negativo	
TA1535_NA	negativo	
Carcino_mouse	negativo	
Carcino_rat	positivo	
hERG_inhibición	Bajo riesgo	
Parámetro evaluado	Valor	
IC ₅₀ :	4 x 10 ⁻⁵	
Afinidad:	-8,2	
algae_at:	1 x 10 ⁻⁴	
Daphnia_at	4 x 10 ⁻⁴	
Medaka_at	8,1*10 ⁻⁷	
Minnow_at	6,2*10 ⁻⁶	
Ames_test	no mutágeno	

TA100_10RLI	negativo
TA100_NA	negativo
TA1535_10RLI	negativo
TA1535_NA	negativo
Carcino_mouse	negativo
Carcino_rat	positivo
hERG_inhibición	Bajo riesgo



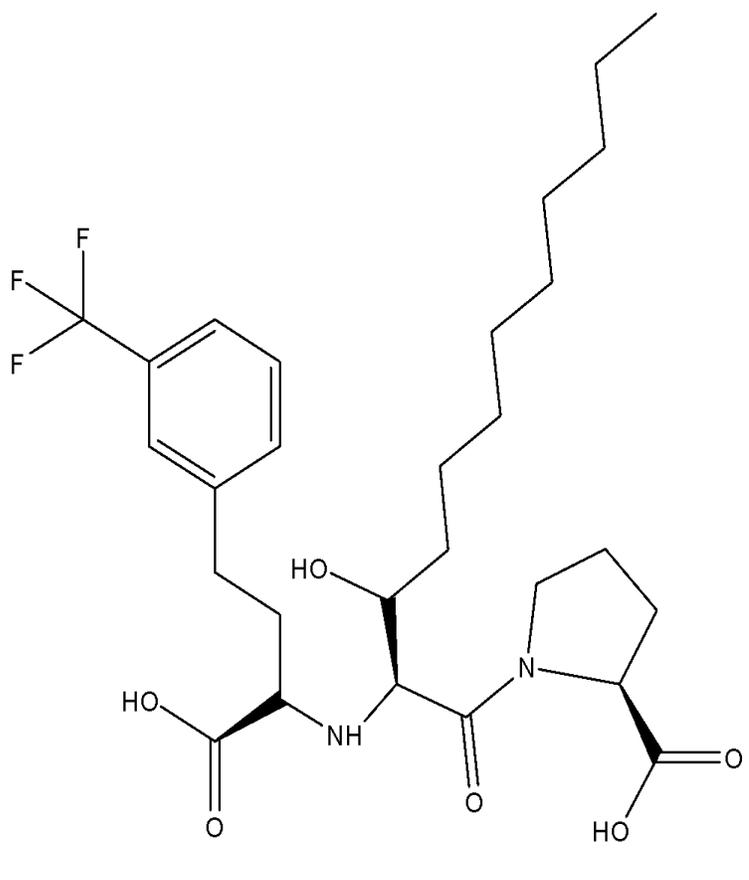
En cuanto a las modificaciones realizadas al análogo 33, las tres mejores moléculas fueron las variaciones 55, 58 y 61. Estas constan de la adición de una cadena de un grupo alquilo (9 carbonos) como sustituyentes del hidroxilo, como se evidencia en las tres moléculas, las tres variaciones se diferencian por los patrones de sustitución con adición de un grupo trifluorometilo en el anillo aromático en posición orto y meta. Estas tres moléculas se observan a continuación, en la **Tabla 14**.

Tabla 14. Características de las 3 moléculas que presentan resultados promisorios, tras modificaciones realizadas al **análogo 33**.

Parámetro evaluado	Valor	Estructura molécula 55: ((2S,3R)-2-(((R)-1-carboxy-3-(4-(trifluoromethyl)phenyl)propyl)amino)-3-hydroxydodecanoyl)-L-proline
IC ₅₀ :	0,3	[Redacted]
Afinidad:	-8	
Algae_at:	6 x 10 ⁻⁴	
Daphnia_at	0,002	
Medaka_at	1,9*10 ⁻⁵	
Minnow_at	5,4*10 ⁻⁵	
Ames_test	no mutágeno	
TA100_10RLI	negativo	
TA100_NA	negativo	

TA1535_10RLI	negativo	
TA1535_NA	negativo	
Carcino_mouse	negativo	
Carcino_rat	positivo	
hERG_inhibiti n	Ambiguo	
Parámetro evaluado	Valor	Estructura molécula 58: ((2S,3R)-2-(((R)-1-carboxy-3-(3-(trifluoromethyl)phenyl)propyl)amino)-3-hydroxydodecanoyl)-L-proline
IC ₅₀ :	0,4	
Afinidad:	-7,7	
Algae_at:	5 x 10 ⁻⁴	
Daphnia_at	0,002	
Medaka_at	1,4*10 ⁻⁵	
Minnow_at	5,3*10 ⁻⁵	
Ames_test	no mutágeno	
TA100_10RLI	negativo	
TA100_NA	negativo	
TA1535_10RLI	negativo	
TA1535_NA	negativo	
Carcino_mouse	negativo	
Carcino_rat	negativo	
hERG_inhibiti n	Ambiguo	
Parámetro evaluado	Valor	Estructura molécula 61: ((2S,3R)-2-(((R)-1-carboxy-3-(3-(trifluoromethyl)phenyl)propyl)amino)-3-hydroxydodecanoyl)-L-proline
IC ₅₀ :	0,3	

Afinidad:	-7,9
Algae_at:	5×10^{-4}
Daphnia_at	0,002
Medaka_at	$1,4 \times 10^{-5}$
Minnow_at	$5,3 \times 10^{-5}$
Ames_test	no mutágeno
TA100_10RLI	negativo
TA100_NA	negativo
TA1535_10RLI	negativo
TA1535_NA	negativo
Carcino_mouse	negativo
Carcino_rat	negativo
hERG_inhibiti on	Ambiguo



9. ANÁLISIS DE RESULTADOS

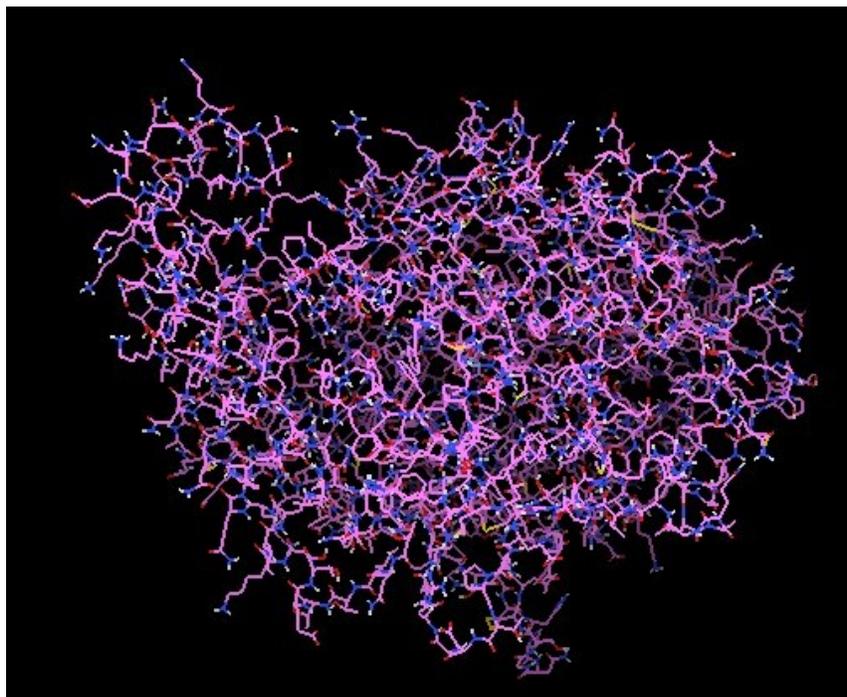
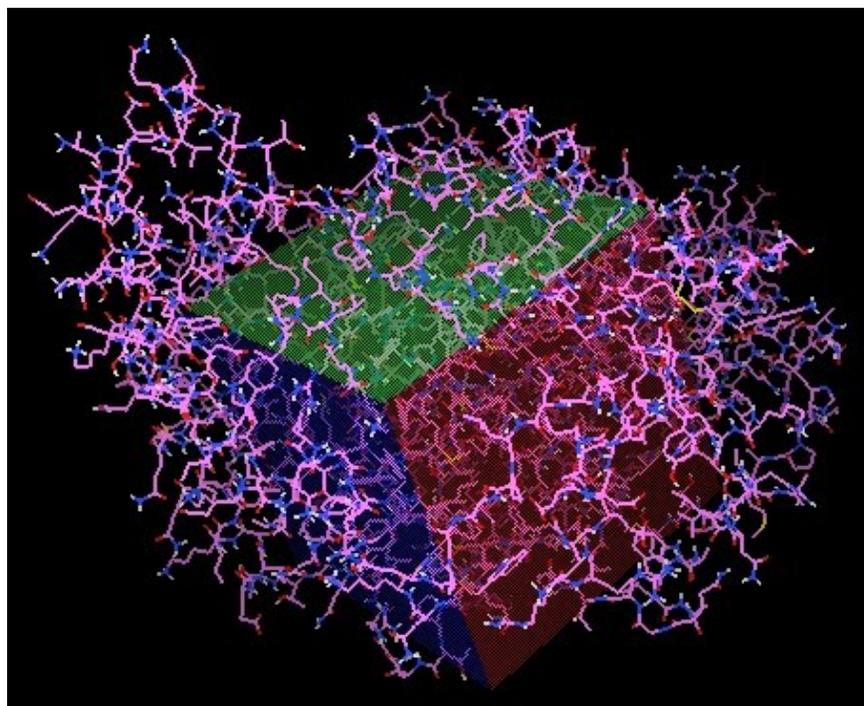


Fig. 19. Representación 3D de la enzima convertidora de la angiotensina. (Autodock).



Para las primeras variaciones, a medida en que se aumenta el sustituyente del aminoácido (CH_2OH Tirosina), aumentando el tamaño del sustituyente con cadenas de carbono alifáticas desde la variación 8, se evidencia una relación inversamente proporcional, debido a que cuando se aumenta la apolaridad del sistema, se obtiene una disminución en los valores de IC_{50} , lo que indica que entre más apolar sea el residuo del aminoácido, el compuesto tendrá un valor menor de IC_{50} .

Las segundas modificaciones, realizadas con el fin de evaluar la efectividad del grupo hidroxilo como sustituyente, permitieron evidenciar que al aumentar la apolaridad, los valores de IC_{50} disminuyen. Por el contrario, en las variaciones donde se añaden anillos aromáticos como sustituyentes, se da un aumento significativo en los valores de IC_{50} , lo que indica que el residuo del aminoácido no favorece la interacción con la enzima.

En las modificaciones donde se suprime el fenil de la molécula base y se aumenta la apolaridad de este terminal sincrónicamente con la apolaridad del sustituyente, se evidencia una disminución significativa en los valores de IC_{50} , sin embargo, la afinidad que se presenta, en comparación con la molécula base, es inferior. Esto indica, que los cambios realizados permiten que el residuo del aminoácido contribuya a la disminución de los valores de IC_{50} , pero disminuyen entonces la energía liberada en la interacción con la enzima, lo que se ve reflejado en los valores de afinidad por la misma.

Para los compuestos que en los que se modificó la posición en el anillo aromático (fenil), se moduló su potencia en este orden: para < meta < orto. Grupos en para muy voluminosos disminuyen apreciablemente la potencia de bloqueo. Mientras que, la presencia de grupos en orto muy voluminosos no provoca una disminución importante de la capacidad, en comparación a los datos procedentes de las moléculas base.

Todas estas modificaciones, se realizaron con el fin de evidenciar, las interacciones hidrófobas con la enzima (ECA), evaluando si a mayor volumen se evidenciaba un cambio significativo; hipótesis que se afirmó, ya que se evidenció una disminución significativa, en comparación con la molécula base, que presentaba un IC_{50} de 1,1 y una afinidad de -7,6.

Las modificaciones que se realizaron, al adicionar halógenos en el anillo aromático, se ejecutaron con el fin de evidenciar la existencia de las interacciones que se pueden presentar, debido al efecto inductivo, ya que, se varía la densidad de carga en el benceno. En estas, las que mejores resultados arrojaron fueron las

sustituidas por un metilo, obteniendo valores de IC_{50} entre 0,07 y 0,03 y a la vez presentando afinidades superiores a -7,9, teniendo en cuenta que son valores significativos, en comparación a las moléculas base.

Los descriptores pueden representar diferentes mecanismos de inhibición, para este caso los descriptores implementados fueron: coeficiente de partición (Log P), Momento dipolar (Dmo) y refractividad molar (AMR).

El logaritmo del coeficiente de partición octanol-agua (Log P), describe la hidrofobicidad, conduciendo a las relaciones estadísticas. Este presenta una relación con la biodisponibilidad, es por esto que teniendo en cuenta las variaciones realizadas a los análogos, la presencia de anillos de benceno en una molécula y la sustitución en los anillos aromáticos conduce a una disminución de la biodisponibilidad. También se puede observar que cuanto más átomos de oxígeno haya en una molécula, menor será la biodisponibilidad.

Se ha determinado que los átomos de oxígeno son aceptores de enlaces de hidrógeno. Esto está de acuerdo con la "regla de los cinco" de Lipinski (Lucic, 1999), según la cual se observa una buena biodisponibilidad cuando el fármaco corresponde a las siguientes características físico-químicas: peso molecular < 500; $\text{Log P} \leq 5$; número de grupos - donantes de protones ≤ 5 ; número de grupos - aceptores de protones ≤ 10 . (Tomasz Puzyn, Jerzy Leszczynski y Mark T.D. Cronin, 2010)

Debido a lo mencionado anteriormente, se establece que para las variaciones realizadas tanto para el análogo 33 y 22, cada una de estas variaciones presentan una buena biodisponibilidad, ya que, los valores de este descriptor se encuentran inferiores a 5.

IC_{50} :

Se observan a continuación, en la **Tabla 15.**, los rangos de valores que establecen el potencial de inhibición con el que cuenta un fármaco, pudiendo ser este alto, moderado o bajo, dependiendo del valor de concentración inhibitoria máxima media (IC_{50}) que presente.

Tabla 15. *Potencial de inhibición de un fármaco de acuerdo al valor de IC_{50} que presenta.* (Parmentier et al., 2007) (Krippendorff, 2007)

Potencial de Inhibición	Valor de IC ₅₀
Alto	<1 µM
Moderado	1 µM < IC ₅₀ < 10 µM
Bajo	> 10 µM

Todos los valores predictivos de IC₅₀ obtenidos como resultado de las diferentes modificaciones realizadas a las dos moléculas base (33 y 22), se encuentran por debajo de 1 µM e incluso gran cantidad de estos presenta valores inferiores a 1 nM.

Puntualmente, 74 y 69 de las moléculas diseñadas a partir de las estructuras de los análogos 33 y 22, respectivamente, (en total 143 de las 220 moléculas diseñadas) tienen valores de IC₅₀ menores a 1 nM y las restantes oscilan entre valores de 1 a 5 nM, aproximadamente, lo que indica que ninguna de las moléculas diseñadas tendría, en teoría, un bajo o incluso un moderado potencial de inhibición de la enzima (Parmentier et al., 2007) (Krippendorff, 2007).

Las tres moléculas que respectan a las modificaciones realizadas sobre el análogo 22, escogidas como promisorias, presentan valores de IC₅₀ entre cien mil (100.000) y diez millones (10.000.000) de veces más pequeños que el valor de IC₅₀ del Enalapril; también presentan mayor afinidad por la enzima, estando 6, 13 y 17 unidades por encima que el valor de afinidad del Enalapril por la ECA y finalmente presentando datos de toxicidad próximos o menores, indicando así, en teoría, que son menos tóxicos que el Enalapril.

Ecotoxicidad:

- ***Toxicidad aguda en algas y peces: inhibición de crecimiento y reproducción***

Como se menciona en el marco referencial, la clasificación de productos químicos según la estimación de las toxicidades acuáticas agudas en los mismos los divide en cuatro grupos:

1. Productos químicos inertes (toxicidad basal)
2. Productos químicos menos inertes
3. Productos químicos reactivos
4. Productos químicos de acción específica.

Estos se diferencian a partir de los valores de RFT (Factores de Rango de Toxicidad) que pueden llegar a tener, como puede observarse en la siguiente tabla:

Tabla 16. Estadísticas de resumen para el índice de toxicidad logarítmica para las clases 1, 2, 3 y 4.

	Clase 1	Clase 2	Clase 3	Clase 4
Log RFT	< 0,7	0,7 - 1,0	1,0 - 4,0	> 4,0

Teniendo en cuenta los resultados que se muestran de la **Tabla 3.** a la **Tabla 6.,** y relacionándolos con la información plasmada en la **Tabla 13.,** es posible clasificar todos los diseños generados como **Sustancias Químicas de Clase 1,** o **Sustancias Químicas Inertes,** pues los valores predichos por la plataforma PreADMET son en su mayoría menores a 0,7.

Las sustancias químicas inertes son sustancias que no son reactivas cuando se consideran los efectos agudos generales y que no interactúan con receptores específicos en un organismo. Su modo de acción en la toxicidad acuática aguda se llama narcosis. Se considera que la toxicidad del tipo de narcosis es provocada por un modo de acción inespecífico, en el sentido de que la potencia de un producto químico para inducir la narcosis depende por completo de su hidrofobicidad. La toxicidad de tipo narcosis también se denomina toxicidad "de referencia" o **toxicidad mínima.** (Ling Fu, 2017)

34, 13, 26, 31, 28

10. CONCLUSIONES

Se logró obtener un total de 220 diseños moleculares de forma tridimensional, de los cuales, al evaluar teóricamente la actividad biológica que presentan, mediante el uso de modelos QSAR, se determinó que todos tendrían potenciales de inhibición alto o moderado de la ECA, presentando el 65 % de estos un menor valor de IC_{50} y una mayor afinidad por la enzima que medicamentos antihipertensivos comerciales, como el mismo Enalapril, considerando que tendrían una actividad antihipertensiva promisorio como IECA, confirmando la hipótesis planteada inicialmente.

Las moléculas sometidas a pruebas de toxicidad presentan resultados de valores semejantes o menores a los del Enalapril y el Lisinopril, lo que indica que las modificaciones estructurales que presentan éstas moléculas no sólo las mantienen en el grupo de sustancias químicas de toxicidad mínima (clase 1), sino que minimizan aún más los niveles de toxicidad, en comparación con los fármacos antihipertensivos existentes.

Según los cálculos teóricos realizados, se predice que las moléculas obtenidas pueden llegar a tener una actividad biológica mayor que los fármacos IECAS comerciales, basado en los índices de IC_{50} y las pruebas de toxicidad evaluadas, por lo que se considera que la metodología implementada (*In silico*) puede aportar al desarrollo de nuevos fármacos con mayor actividad antihipertensiva que los medicamentos actualmente existentes.

Los valores que arrojó el descriptor de coeficiente de partición (LogP), para las 220 modificaciones realizadas a cada análogo, evidenciaron valores inferiores a 5, lo que indica que según la "ley de los 5" de Lipinski, todas las variaciones tendrían valores promisorios para tener una buena biodisponibilidad.

Las moléculas que mostraron una mayor actividad antihipertensiva promisorio presentan en su estructura modificaciones correspondientes a la sustitución y adición de grupos funcionales como halógenos y alquilos, puntualmente la presencia de trifluorometilo en el terminal fenílico y la presencia de cadenas alifáticas extensas, siendo las variaciones número 57, 58 y 84 las escogidas a partir del análogo 22 y las variaciones número 55, 58 y 61 correspondientes al análogo 33.

Los valores de afinidad presentados por la enzima, fueron promisorios gracias a que la presencia del grupo funcional trifluorometilo favorece el aumento de interacciones que se presentan entre la enzima y el ligando, dado que cada fluoruro actúa como aceptor de puentes de hidrógeno.

12. LUGAR DE EJECUCIÓN DEL PROYECTO

Dadas las condiciones de trabajo del proyecto, no se requería de algún espacio en específico o especializado para llevar a cabo su desarrollo, pues los programas y software implementados se encuentran instalados en los computadores personales de las dos estudiantes, por ende, el proyecto en su mayoría se ejecutó en las instalaciones de la Universidad El Bosque, contando con el apoyo de los docentes encargados (Tutor y cotutor) al momento de la resolución de dudas y aportes, y constante revisión de avances y tutorías.

REFERENCIAS:

American Heart Association. (2015). "*Heart Disease and Stroke Statistics – At-a-Glance*". Recuperado de: https://www.heart.org/idc/groups/ahamah-public/@wcm/@sop/@smd/documents/downloadable/ucm_470704.pdf

Ariza Javier. (2013). "*Estudios de estabilidad física y química de una preparación extemporánea de enalapril maleato para uso hospitalario*". Universidad Nacional de Colombia, Maestría en Ciencias Farmacéuticas.

Arvidson KB (2008) FDA toxicity databases and real-time data entry. *Toxicol Appl Pharmacol* 233:17–19. doi:10.1016/j.taap.2007.12.033

Bachmann, K. (2009). Chapter 12 - Drug–Drug interactions with an emphasis on drug metabolism and transport. In M. Hacker, W. Messer & K. Bachmann (Eds.), *Pharmacology*, pp. 303-325.

Bakris G. y Sorrentino M. (2018). "*Hypertension: A Companion to Braunwald's Heart Disease*", pp 1-14.

Caldwell G., Yan Z., Lang W. and Masucci J. (2012). "*The IC₅₀ Concept Revisited*". *Current Topics in Medicinal Chemistry*, Vol. 12, pp. 1282-1290

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2014). "About High Blood Pressure". Recuperado de: <https://www.cdc.gov/bloodpressure/about.htm>

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2014). "*Effects of High Blood Pressure*". Recuperado de: <https://www.cdc.gov/bloodpressure/effects.htm>

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2016). "*High Blood Pressure Fact Sheet*". Recuperado de: https://www.cdc.gov/dhdsp/data_statistics/fact_sheets/fs_bloodpressure.htm

Cern, A., Barenholz, Y., Tropsha, A., Goldblum, A. (2014). "*Computer-aided design of liposomal drugs: In silico prediction and experimental validation of drug candidates for liposomal remote loading*". *Journal of Controlled Release*. Volume 173, 10, pp 125-131

Cleland, W.W. (2010). The low-barrier hydrogen bond in enzymic catalysis. In: John, P.R. (Ed.), *Adv. Phys. Org. Chem*. Academic Press, pp. 1-17.

Cristancho, E. D. (2014). *Universidad Nacional*. Obtenido de Universidad Nacional: <http://bdigital.unal.edu.co/48858/1/DOC.%20TRABAJO%20DE%20GRADO%2013.pdf>

Cushman, D.W., Ondetti, M.A. (1991). History of the design of captopril and related inhibitors of angiotensin converting enzyme. *Hypertension*. 17(4), 589-592.

FUNINTEC (Fundación Innovación y Tecnología), "*CAPTOPRIL, EL POTENTE AGENTE ANTIHIPERTENSIVO CONCEBIDO Y DESARROLLADO POR UN INVESTIGADOR ARGENTINO: MIGUEL ANGEL ONDETTI*", Universidad Nacional de San Martín, Argentina. Recuperado de: <http://aargentnapciencias.org/wp-content/uploads/2018/01/RevistasCel/tomo66-1/4-Rodriguez.pdf>

Gámez R. & Más R. (2007) "*Aspectos generales de los estudios toxicológicos preclínicos más empleados*". *CENIC Ciencias Biológicas*, Vol. 38, No. 3, pp 204-208.

Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E., & Hutchison, G. R. (2012). "*Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform*". *Journal of Cheminformatics*, 4(1), 17-17.

Henk J.M. Verhar , Cees J. Van Leeuwen & Joop L.M. Hermens. (1992). "*Classifying Environmental Pollutants. 1: Structure-activity Relationships For Prediction Of Aquatic Toxicity*". *Chemosphere*, Vol.25, No.4, Pp 471-491.

HIT (Health I Talk) (s.f), "*What is Hypertension? High Blood Pressure Problems*". Recuperado de: <https://www.healthitalk.com/what-is-hypertension-high-blood-pressure-problems/> https://www.heart.org/idc/groups/ahamah-public/@wcm/@sop/@smd/documents/downloadable/ucm_470704.pdf

Hemmateenejad, B., Miri, R., Elyasi, M. (2012). A segmented principal component analysis-regression approach to QSAR study of peptides. *J. Theor. Biol.*, 305, 37–44.

Jahangiri, R., Soltani, S., Barzegar, A. (2014). A review of QSAR studies to predict activity of ACE peptide inhibitors. *Pharmaceutical Sciences*, 2014, 20(3), 122-129.

Katarzyna Regulska, Beata Staniszl, Miłosz Regulska and Marek Murias. (2014). how to design a potent, specific, and stable angiotensin-converting enzyme inhibitor . *Drug discovery* , 13.

Khedr S, Deussen A, Kopalani I, Zatschler B & Martin M. (2018). “*Effects of tryptophan-containing peptides on angiotensin-converting enzyme activity and vessel tone ex vivo and in vivo*”, *European Journal of Nutrition*, Volume 57, Issue 3, pp 907–915.

Krippendorff B., Lienau P., Reichel A. & Huisinga W. (2007). “*Optimizing Classification of Drug-Drug Interaction Potential for CYP450 Isoenzyme Inhibition Assays in Early Drug Discovery*”. *Journal of Biomolecular Screening*, 12(1), pp.92-99, DOI: 10.1177/1087057106295897

L. Bouillet. (2016). “*Angioedemas hereditarios y adquiridos*”, *EMC:Dermatología* , Elsevier Masson, vol. 50.

Lill, M. A., & Danielson, M. L. (2011). “*Computer-aided drug design platform using PyMOL. Journal of Computer - Aided Molecular Design*”. 25(1), 13-9.

Ling Fu, Tao Huang, Shuo Wang, Xiaohong Wang, Limin Su, Chao Li & Yuanhui Zhao. (2017). “*Toxicity of 13 different antibiotics towards freshwater green algae Pseudokirchneriella subcapitata and their modes of action*”. *Chemosphere*, Vol.168, pp 217-222.

Liu, Z (et al.). (2018). “*Application of molecular docking for the degradation of organic pollutants in the environmental remediation: A review*”, *Chemosphere*, 203:139-150

Long, H.X., Wang, Y.Q., Lin, Y., Lin, Z.H. (2010). QSAR Study on ACE Inhibitors by Using OSC-PLS Algorithm. *J. Chin. Chem. Soc-Taipei*, 57, 417-422.

Lozano-Aponte, J., Scior, T. (2012). ¿Qué sabe Ud. acerca de...QSAR?. *Rev. Mex. Cienc. Farm.*, 43(2), 82-84.

Lucic B, Trinajstić N, Sild S et al. (1999) A new efficient approach for variable selection based on multiregression: Prediction of gas chromatographic retention times and response factors. *J Chem Inf Comput Sci* 39:610–621

Mandal, S., Moudgil, M., Mandal, S.K. (2009). Rational drug design. *Eur. J. Pharmacol.*, 625, 90-100

March-Vila, E., Pinzi, L., Sturm, N., Tinivella, A., Engkvist, O., Chen, H. and Rastelli, G. (2017). "*On the Integration of In Silico Drug Design Methods for Drug Repurposing*", *Frontiers in Pharmacology*. 8:298

Mc Naught, A.D., Wilkinson, A. (2012). *Compendium of Chemical Terminology-Gold Book*.

Mehra, R., Khan, I. A., & Nargotra, A. (2017). "*Anti-tubercular drug discovery: In silico implications and challenges*", *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 104:1-15

Melgarejo D, Maestre G, Thijs L, Asayama K, Boggia J, Casiglia E, Hansen T, Imai Y, Jacobs L, Jeppesen J, Kawecka-Jaszcz K, Kuznetsova T, Li Y, Malyutina S, Nikitin Y, Ohkubo T. et al. (2017) "*Prevalence, Treatment, and Control Rates of Conventional and Ambulatory Hypertension Across 10 Populations in 3 Continents*", *Hypertension*. 70: 50-58

Mentz R., Bakris G., Waeber B., McMurray J., Gheorghide M., Ruilope L., Maggioni A., Swedberg K., Piña I., Fiuzat M., O'Connor C., Zannad F. & Pitt B. (2013). "*The past, present and future of renin-angiotensin aldosterone system inhibition*", *International Journal of Cardiology*, Volume 167, Issue 5, 1. Pages 1677-1687

Minovski N., Saçan N., Eminoğlu E., Erdemci S. & Noviča M. (2019) "*Revisiting fish toxicity of active pharmaceutical ingredients: Mechanistic insights from integrated ligand-/structure-based assessments on acetylcholinesterase*". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 170, Pages 548-558

Natesh R, Schwager S, Sturrock E y Acharya K. (2003). "*Crystal structure of the human angiotensin-converting enzyme-lisinopril complex*". *NATURE* |VOL 421

OMS. (2013) "*Hipertensión*". Recuperado de: <http://www.who.int/topics/hypertension/es/>

Oprisiu, Novotarskyi and Tetko. (2013) "*Modeling of non-additive mixture properties using the Online CHEmical database and Modeling environment (OCHEM)*", *Journal of Cheminformatics* 5:4

PAHO (Pan American Health Organization)/WHO (World Health Organization). (2017), "*World Hypertension Day 2017: Know your numbers*". Recuperado de

:http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=13257%3Adia-mundial-de-la-hipertension-2017-conoce-tus-numeros&catid=9283%3Aworld-hypertension-day&Itemid=42345&lang=en

Parmentier Y., Bossant M., Bertrand M. & Walther B. (2007). "In Vitro Studies of Drug Metabolism". *Comprehensive Medicinal Chemistry II*, Volume 5, Pages 231-257

Parthasarathi R. & Dhawan A. (2018). "*Chapter 5 - in silico approaches for predictive toxicology*". In A. Dhawan, & S. Kwon (Eds.), *In vitro toxicology*, pp. 91-109

PatibandLa S., Jiang J. & Shu X. (2018) "*Toxicity assessment of four pharmaceuticals in aquatic environment before and after ferrate(VI) treatment*". *Journal of Environmental Chemical Engineering*, Volume 6, Issue 4, Pages 3787-3797

Prata J., Lavorante B., Montenegro M. & Guilhermino L. (2018) "*Influence of microplastics on the toxicity of the pharmaceuticals procainamide and doxycycline on the marine microalgae Tetraselmis chuii*". *Aquatic Toxicology*, Volume 197, Pages 143-152

PubChem(a). (s.f) "*Angiotensin I*". [En línea] Disponible: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/angiotensin_i

PubChem(b). (s.f) "*Angiotensin II*". [En línea] Disponible: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/angiotensin_ii

Puzyn, T., Leszczynski, J., Cronin, M.T.D. (2010). *Recent advances in QSAR studies. Methods and Applications*. London; New York: Springer.

PyMOL by Schrödinger. Disponible: <https://pymol.org/2/>

Regulska, K., Stanisiz, B., Regulski, M., Murias, M. (2014). How to design a potent, specific, and stable angiotensin-converting enzyme inhibitor. *Drug Discovery Today*, 19(11), 1731-1743.

Riordan James. (2003) "*Angiotensin-I-converting enzyme and its relatives*". *Genome Biology*, 4:225.

Rivero Buceta y María Virginia. (06 de Noviembre de 2015). *Universidad de Vigo*. Obtenido de *Universidad de Vigo*: <http://www.investigacion.biblioteca.uvigo.es/xmlui/handle/11093/523>

Rodrigo José Vargas Rosales, Silvia Lucrecia Oliva Flores y Keila Mariana Guerrero Gutiérrez. (30 de Noviembre de 2011). *UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA*. Obtenido de UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA: <http://digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/rapidosp2011/INF-2011-38.pdf>

Roy, K., Kar, S. and Das, R. (2015). “*CHAPTER 1 - Background of QSAR and Historical Developments*”, *Understanding the Basics of QSAR for Applications in Pharmaceutical Sciences and Risk Assessment*, pp 20-35.

Ruyck, J., Brysbaert, G., Blossey, R., Lensink M. (2016) “*Molecular docking as a popular tool in drug design, an in silico travel*”, *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry*, Volume 9, Pages 1-11.

San Juan, A.A., Cho, S.J., (2005). 3D-QSAR studies on angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors: a molecular design in hypertensive agents. *Bull. Korean Chem. Soc.*, 26(6), 952-958.

Smith, C.G., Vane, J.R. (2003). The discovery of Captopril. *FASEB J.*, 17(8), 788–789.

SOURCEFORGE, “*PyMOL Molecular Graphics System*”. Disponible: <https://sourceforge.net/projects/pymol/>

Stone C., Brown N. (2017) “*Angiotensin-converting Enzyme Inhibitor and Other Drug-associated Angioedema*”, *Immunology and Allergy Clinics of North America*, Volume 37, Issue 3, Pages 483-495.

Tomasz Puzyn, Jerzy Leszczynski y Mark T.D. Cronin. (2010). *CHALLENGES AND ADVANCES IN COMPUTATIONAL CHEMISTRY AND PHYSICS*. New York : Springer .

U. d. M. (2008). «Contribution à l'étude de la physiopathologie des effets secondaires associés aux iECA: Approche expérimentale et clinique des mécanismes régulant l'activité pharmacologique des kinines,» *ProQuest Dissertations Publishing*, p. 242.

Villain Jonathan, Minguez Laetitia, Halm-Lemeille Marie-Pierre, Durrieu Gilles & Bureau Ronan. (2016). “*Acute toxicities of pharmaceuticals toward green algae. Mode of action, biopharmaceutical drug disposition classification system and quantile regression models*”. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol.124, pp 337–343.

