



UNIVERSIDAD
EL BOSQUE

MODELAMIENTO MOLECULAR DE ANÁLOGOS AL FÁRMACO FLUOXETINA
QUE ACTÚA COMO INHIBIDOR SELECTIVO DE RECAPTACIÓN DE
SEROTONINA (*ISRS*) MEDIANTE RELACIONES CUANTITATIVAS
ESTRUCTURA - ACTIVIDAD (*QSAR*)

JUAN PABLO NARANJO ROMERO
CARLOS ANDRÉS SALCEDO VILLADIEGO

Universidad El Bosque
Facultad de Ingeniería
Bogotá, Colombia
2018

MODELAMIENTO MOLECULAR DE ANÁLOGOS AL FÁRMACO FLUOXETINA
QUE ACTÚA COMO INHIBIDOR SELECTIVO DE RECAPTACIÓN DE
SEROTONINA (*ISRS*) MEDIANTE RELACIONES CUANTITATIVAS
ESTRUCTURA - ACTIVIDAD (QSAR)

JUAN PABLO NARANJO ROMERO
CARLOS ANDRÉS SALCEDO VILLADIEGO

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título
de:

Bioingeniero

Tutor:

James O. Guevara Pulido PhD

Línea de Investigación:

Diseño asistido de fármacos

Grupo de Investigación:

INQA

Universidad El Bosque

Facultad de Ingeniería

Bogotá, Colombia

2018

Agradecimientos:

En primer lugar, agradecemos a Dios, por guiarnos a lo largo del trayecto de nuestra carrera, por ser el apoyo y fortaleza en todos los momentos vividos en la realización de este trabajo de grado y el proceso llevado a cabo en el transcurso de nuestra carrera. Gracias también a nuestros padres, por ser los principales impulsores y promotores de este recorrido, por tener confianza y creer en todas nuestras expectativas y todos nuestros proyectos, por los consejos brindados durante esta etapa y durante toda la vida.

Agradecemos a todos los docentes de la Universidad El Bosque, por guiarnos en nuestro proceso y trayecto de formación y por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la misma. De manera especial, agradecemos a James O. Guevara Pulido PhD tutor de nuestro proyecto, quien nos ofreció la oportunidad de trabajar junto a él, guiándonos durante el proceso con paciencia y brindándonos todo su conocimiento para el desarrollo de la investigación.

Resumen:

La depresión es considerada una de las enfermedades más importantes a nivel mundial en cuanto a trastornos mentales, ya que en los últimos años se ha evidenciado un alto crecimiento en sus cifras de afectación. (OMS, 2018) Por esta razón, se crean fármacos antidepresivos con el fin de mitigar los efectos que causa este trastorno; sin embargo, su efectividad en todos sus aspectos no es la suficiente generando así poca eficiencia y una gran cantidad de efectos secundarios. De aquí se da la creación de nuevos fármacos, en este caso antidepresivos de la clase *ISRS* (inhibidores selectivos de la recaptación de la Serotonina), los cuales buscan generar menos efectos secundarios y cómo su nombre lo dice, tener mayor selectividad para la recaptación de Serotonina. A pesar de esto, la creación de nuevos fármacos requiere una gran cantidad de gastos y de tiempo; requiriendo así de manera análoga, no solo la creación de nuevos fármacos, sino también la invención de nuevas metodologías para este proceso.

Para esta investigación se utilizó la metodología *QSAR*, la cual tiene el fin último de diseñar teóricamente posibles futuros nuevos fármacos, a partir de la unión de conjuntos de técnicas computacionales; con el objetivo de hallar, un análogo de la clase *ISRS* el cual presente potencialmente una mayor afinidad por el sitio activo de SERT, proteína recaptadora de Serotonina. (Lozano & Scior, 2012) De aquí, se siguió todo el proceso que requería la metodología; la cual contempla un proceso de *virtual screening* y uno de *machine learning*; considerando diferentes técnicas *in silico* de modelado molecular, datos de actividad biológica, propiedades fisicoquímicas, estadística y bioinformática; incorporadas entre en si para la creación teórica del nuevo fármaco de la clase *ISRS* con potencial mayor afinidad por su sitio de interacción.

Se obtuvieron 27 moléculas modeladas en 3D análogas de la clase *ISRS* de la literatura (con IC_{50} experimental conocido), las cuales siguiendo la metodología planteada por el virtual screening, mediante el software Autodock Vina proporcionaron un total de 1170

datos en cuanto a afinidad (Kcal/mol); además, mediante el software PaDEL se calcularon 34 descriptores por cada molécula, generando así junto con el IC_{50} un modelo matemático de regresión lineal múltiple, el cual permitiera determinar los descriptores más a fines en la investigación; de aquí, se determinaron los 4 mejores descriptores basados en el coeficiente de determinación; los resultados de estos permitieron generar y entrenar una red neuronal configurada como Levenberg-Marquardt backpropagation, de la cual se obtuvieron los IC_{50} teóricos de las nuevas moléculas que se agregaran a la red neuronal.

Conforme al avance de la investigación se modelaron 21 moléculas nuevas, análogas a la clase ISRS con sustituciones en su estructura; sin embargo, manteniendo siempre el núcleo de la molécula. A las moléculas modeladas, se les realizaron pruebas de afinidad, se les determinaron descriptores y se les predijo un IC_{50} con la red neuronal generada. Por último, para cada uno de los fármacos considerados como mejores candidatos, se realizaron pruebas de toxicidad; de aquí se consideraron dos moléculas análogas a los fármacos de la clase ISRS como mejores candidatos finales, Paroxetina con un patrón de sustitución en su hidrocarburo aromático en la posición orto con un Flúor y Desvenlafaxina benzoato con un patrón de sustitución en su hidrocarburo aromático en la posición meta con un trifluorometilo.

Palabras clave: *ISRS, QSAR, Docking* molecular, Depresión

Abstract:

Depression is considered one of the most important diseases worldwide in terms of mental disorders, because since in recent years there has been a high growth in its digit of affectation. (OMS, 2018) For this reason, antidepressant drugs are created in order to mitigate the effects caused by this disorder; however, its effectiveness in all its aspects is not enough, thus generating little efficiency and a large number of side effects. This is where the creation of new drugs, in this case antidepressants of the SSRIs class (Selective serotonin reuptake inhibitors), which search to generate fewer side effects and as the name says, have greater selectivity for the reuptake of Serotonin In spite of this, the creation of new drugs requires a great amount of expenses and time; thus requiring analogously, not only the creation of new drugs, but also the invention of new methodologies for this process.

For this research, the QSAR methodology was used, which has the ultimate goal of theoretically designing possible future new drugs, from the union of sets of computational techniques; with the aim of finding an analog of the SSRIs class which potentially presents a greater affinity for the active site of SERT, a serotonin reuptake protein. (Lozano & Scior, 2012) From here, the whole process that required the methodology was followed; which includes a process of virtual screening and one of machine learning; considering different molecular modeling techniques, biological activity data, physicochemical properties, statistics and bioinformatics; incorporated into each other for the theoretical creation of the new drug of the SSRIs class with potential greater affinity for its interaction site.

27 analog molecules were obtained in this study modeled in 3D of the SSRIs class of the literature were obtained (with known experimental IC_{50}), which following the methodology proposed by the virtual screening, using the Autodock Vina software, provided a total of 1170 data regarding affinity (Kcal / mol). In addition, through the PaDEL software, 34 descriptors were calculated for each molecule, thus generating together with the IC_{50} a

mathematical model of multiple linear regression, which would allow to determine the descriptors more at the end of the investigation; from here, the 4 best descriptors based on the coefficient of determination were determined; the results of these allowed generating and training a neural network configured as Levenberg-Marquardt backpropagation, from which the theoretical IC_{50} of the new molecules that were added to the neural network were obtained.

According to the progress of the research, 21 new molecules were modeled, analogous to the SSRIs class with substitutions in their structure; however, always maintaining the nucleus of the molecule. Modeled molecules were affinity tested, descriptors were determined and an IC_{50} was predicted with the generated neural network. Finally, for each of the drugs considered to be the best candidates, toxicity tests were carried out; hence, two molecules analogous to drugs of the SSRIs class were considered as best final candidates, Paroxetine with a substitution pattern in its aromatic hydrocarbon in the ortho position with a fluorine and Desvenlafaxine benzoate with a substitution pattern in its aromatic hydrocarbon in the meta position with a trifluoromethyl.

Key words: SSRIs, QSAR, Molecular Docking, Depression

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	10
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	11
1.2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	13
2. JUSTIFICACIÓN	14
3. OBJETIVOS	17
3.1. GENERAL:	17
3.2. ESPECÍFICOS:	17
4. MARCO REFERENCIAL	18
4.1. DEPRESIÓN	18
4.2. SEROTONINA COMO NEUROTRANSMISOR DE LA FELICIDAD	18
4.3. FÁRMACOS ANTIDEPRESIVOS (<i>ISRS</i>)	20
4.4. MODELADO <i>IN SILICO</i>	22
4.4.1. DOCKING MOLECULAR	22
4.4.2. DESCRIPTORES	23
4.4.3. MODELOS QSAR	26
5. ESTADO DE ARTE	27
6. METODOLOGÍA	29
6.1. IDENTIFICACIÓN DE FÁRMACOS <i>ISRS</i> COMERCIALES.	29
6.2. IDENTIFICACIÓN DE DESCRIPTORES ASOCIADOS A LA ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA DE <i>ISRS</i> COMERCIALES.	30
6.3. REALIZACIÓN DE MÉTODO DE REGRESIÓN LINEAL MÚLTIPLE PARA ESCOGER LOS DESCRIPTORES MÁS A FINES.	31
6.4. DISEÑO DE CANDIDATOS <i>ISRS</i> .	32
6.5. EVALUACIÓN DEL ACOPLAMIENTO DE LOS CANDIDATOS POR EL SITIO ACTIVO DE <i>SERT</i> .	34
7. RESULTADOS	36
7.1. OBTENCIÓN DEL RECEPTOR, PROTEÍNA DE MEMBRANA (<i>SERT</i>).	36
7.2. MODELAMIENTO MOLECULAR DE <i>ISRS</i> COMERCIALES O ALEACIONES DE LOS MISMOS.	37

7.3. DETERMINACIÓN SITIO ACTIVO DE LA PROTEÍNA DE MEMBRANA SERT.	
46	
7.4. DOCKING MOLECULAR DE ISRS COMERCIALES O ANÁLOGOS DE LOS MISMOS.	47
7.5. DESCRIPTORES	51
7.6. DESCRIPTORES SIN DATOS ATÍPICOS	60
7.7. CONSTRUCCIÓN DE LA RED NEURONAL	64
7.8. MODELAMIENTO DE NUEVAS MOLÉCULAS ANÁLOGAS A LA CLASE ISRS	
67	
7.9. TOXICIDAD	72
7.10. CONSIDERADO COMO MEJOR CANDIDATO	76
8. ANÁLISIS DE RESULTADOS	78
9. CONCLUSIONES	92
10. RECOMENDACIONES	96
11. REFERENCIAS	98
12. ANEXOS	106

1. INTRODUCCIÓN

La presente investigación propone la aplicación de técnicas modernas en cuanto a la creación de fármacos; en este caso, se quisieron modelar análogos a fármacos antidepresivos considerados como inhibidores selectivos de la recaptación de Serotonina (últimos en la industria). En los últimos años, la industria farmacéutica adoptó nuevas metodologías para la creación de fármacos; estas metodologías predicen posibles nuevas moléculas, las cuales al ser recreadas pueden ser adoptadas como nuevos fármacos de la clase que se requiera; esta nueva metodología tiene como nombre metodología *in silico*; llamada así por que todos los procedimientos realizados para la misma son mediante entornos digitales. (Ospino M, Olivero V, & Vivas R, 2005; Medina-Franco, Fernández-De Gortari, & Naveja, 2015)

La investigación se hace con el fin de predecir e identificar estructuras las cuales tengan mayor probabilidad de unirse a un objetivo; en este caso que las moléculas análogas de la clase *ISRS* tengan mayor afinidad por la proteína de membrana transportadora de Serotonina *SERT*; ya que, los fármacos que se venden en el momento de la clase *ISRS* tienen efectos secundarios, ya sean leves o graves en el cuerpo humano; esto dependerá de la cantidad recetada y del cuadro clínico el cual se va a tratar; además, se aplica un modelo *in silico* para la predicción de nuevos fármacos, con el fin de generar una relación entre la bioingeniería y la farmacéutica, encontrando como una nueva técnica la fármaco informática; disciplina la cual consiste en proponer modelos cuantitativos que relacionen la estructura – actividad en los fármacos por medio de modelamientos y diseños *in silico*. (Vargas,2008; Hernández Valdivieso, 2009)

Para la investigación se utilizó la metodología *in silico* llamada *QSAR* la cual está definida como la relación cuantitativa estructura – actividad de estructuras análogas moleculares,

que aunque son diferentes compuestos tienen un común mecanismo de acción. Lo que genera la metodología es un modelo matemático, el cual relacione datos de actividad biológica junto con propiedades fisicoquímicas, con el fin de predecir el acoplamiento de nuevos ligandos por el sitio activo de un receptor. Esta metodología se compone de una técnica llamada *virtual screening* la cual va a predecir moléculas teóricamente mejores a partir de un *Docking molecular* o la afinidad del ligando por el sitio activo del receptor y modelos matemáticos que predicen los datos de actividad biológica de esas nuevas moléculas. (Carpenter, 2018, Lozano & Scior, 2012)

Cabe recalcar que esta investigación es el primer paso para una metodología la cual conlleva mayor cantidad de tiempo; en esta solo se predicen algunos pocos mejores fármacos antidepresivos de la clase *ISRS*; lo que sigue corresponderá a modelar más moléculas y predecir su relación por la proteína de membrana *SERT*, para este tipo de metodologías se requieren una vasta cantidad de modelos y de resultados las cuales permitirán evaluar al final la creación y fabricación de alguna molécula de la clase *ISRS*.

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En los últimos años se ha evidenciado una alta tendencia en el incremento de depresión en la sociedad; y se calcula que afecta a más de 300 millones de personas aproximadamente a nivel mundial; aunque un porcentaje de estos casos, son depresiones leves las cuales no son necesariamente tratadas con medicamentos. La depresión es tratada con fármacos antidepresivos donde su efectividad en cuanto a dosis suministrada no es la óptima y la generación de efectos secundarios es alta. Por esto, se generaron fármacos como *Fluoxetina*, *Paroxetina*, *Sertralina*, entre otros; los cuales están basados en la inhibición de las enzimas selectivas recaptadoras de Serotonina y estas se encargan de disminuir o controlar los niveles de Serotonina en el cuerpo, causantes de la depresión; sin embargo, este tipo de fármacos también generan algunos efectos secundarios, como lo pueden ser el insomnio, síntomas físicos diversos, ansiedad, migraña, aumento de peso, disfunciones sexuales y pensamientos suicidas. (OMS, 2018)

Por lo tanto, el desarrollo de fármacos es un proceso muy complicado y extenso a nivel de varios años que busca resultados clínicos benéficos y pocos efectos secundarios. Este proceso consta de 3 etapas fundamentalmente donde cada una de ellas posee varias subetapas; la primera es de descubrimiento y optimización: se realiza una investigación básica como las causas y dianas moleculares de la enfermedad, identificación de compuestos activos y su optimización. La segunda etapa es de desarrollo donde se realizan evaluaciones clínicas y finalmente la etapa de mercado, donde se evalúa el producto final por un agente regulatorio. (Saldívar, Prieto & Medina, 2017) Este desarrollo de los fármacos se puede extender hasta 15 años debido al número elevado de moléculas que fracasan en alguna de las etapas. Por tal motivo, se espera que se acelere el proceso mediante técnicas computacionales como el diseño de fármacos asistido por computadora (DIFAC) que se encarga del diseño y la identificación de nuevos compuestos para a partir de allí, seleccionar nuevos candidatos para su posterior optimización para mejorar las propiedades deseadas y disminuir los efectos secundarios. (Saldívar, Prieto & Medina, 2017) Esta técnica *DIFAC* reúne estrategias computacionales principalmente para la identificación de moléculas candidatas, entre las cuales se encuentran el acoplamiento molecular para buscar la mejor posición de un ligando dentro de una diana molecular; el modelado del farmacóforo para realizar un arreglo tridimensional con las características necesarias para poder establecer interacciones óptimas para obtener una respuesta biológica; y el cribado virtual para realizar un filtrado *in silico* de estructuras químicas para posteriormente efectuar la selección de candidatos para que sean evaluados experimentalmente. (Saldívar, Prieto & Medina, 2017)

Por esta razón, esta investigación busca encontrar moléculas candidatas mediante técnicas computacionales que puedan generar potencialmente una mayor afinidad por el sitio activo de la proteína de membrana *SERT*.

1.2. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Los análogos a la *Fluoxetina* predichos por el modelo matemático calculado mediante QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationships*) tendrán potencialmente mayor afinidad por el sitio activo de la proteína de membrana *SERT*?

2. JUSTIFICACIÓN

A causa del aumento y prevalencia de los trastornos mentales en la sociedad actual, y la generación de efectos graves con respecto a la salud de las personas y como estas se desempeñan en su vida diaria; se crea una preocupación frente a uno de estos trastornos en específico, ya que es el que ha tenido mayor influencia y mayor frecuencia de afectación en los últimos años. (OMS, 2017) La depresión, es considerada mundialmente como la principal causa de discapacidad en términos de trastornos mentales; afectando en gran medida la carga mundial de morbilidad. (OMS, 2018)

Por esta razón, hace algunos años en los ámbitos biomédicos se produjo un gran auge en algunos medicamentos denominados placebos; los cuales apuntan a satisfacer más no beneficiar o curar al paciente; esto causaba, que el tratamiento tuviera una escasa efectividad y el aumento de efectos secundarios en las personas fuera considerablemente alto. (Morales, 2017) A consecuencia de esto, la industria farmacéutica se ha interesado en sintetizar fármacos, los cuales puedan generar una mayor efectividad para el tratamiento de este trastorno en las personas; además, de reducir los efectos secundarios. (Morales, 2017) A partir de esto, se generaron los antidepresivos que se conforman por inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (*ISRS*) e inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina (*ISRN*) (Ángel Martínez Hernández, 2007); los cuales, han tenido una gran popularidad en el tratamiento de la depresión severa; esto, debido a la evidencia de su efectividad en cuanto a respuesta de afinidad por el sitio activo. (Mental Health America, 2013)

Los fármacos antidepresivos de la clase *ISRS* son encargados de bloquear la reabsorción o recaptación de serotonina (neurotransmisor encargado del equilibrio anímico en una persona) en el cerebro, generando una mayor cantidad en el organismo; además, denominados selectivos porque afectan en mayor proporción la serotonina y no a otros neurotransmisores. (Mental Health America, 2013; Rojas, 2010) Sin embargo, aunque son los fármacos antidepresivos con mayor eficiencia en la actualidad, su efectividad, es proporcional a sus efectos secundarios; esto debido a la acción del mismo

en cuanto a su afinidad por el sitio activo de la proteína de membrana encargada del paso de la Serotonina en la neurona (*SERT*). (Chávez, Serrano & Ontiveros, 2008)

Aunque existen diferentes tipos de fármacos de la clase *ISRS* como lo son la *Paroxetina*, la *Sertralina*, la *Fluvoxamina*, el *Citalopram*, entre otros, el fármaco antidepresivo con mayor reconocimiento a nivel mundial es la *Fluoxetina*; llegado a considerar el fármaco de "la felicidad" y el medicamento usado contra la depresión con más demanda al año, entre (1996-2000). (Chávez, Serrano & Ontiveros, 2008; Griffin & Mellon, 1999) Sin embargo, su gran demanda empezó a disminuir luego de manifestar una gran cantidad de efectos secundarios en los pacientes; los cuales, evidenciaban síntomas comunes (mareos, dolor de cabeza, ansiedad, entre otros), sencillos de tratar o algunos de ellos en conjunto de acción inmediata y de graves repercusiones (agitación, alucinaciones, fiebre, arritmia cardíaca, reflejos hiperactivos, náuseas, vómito, diarrea, pérdida de coordinación, desmayo). (Chávez, Serrano & Ontiveros, 2008; Hernández Valdivieso, 2009)

Ahora bien, la bioingeniería es un área interdisciplinaria la cual utiliza los principios de la biología junto con herramientas o metodologías de la ingeniería, para el desarrollo y diseño de productos con el objetivo de mejorar la calidad de vida de los individuos (Vargas, 2008). La bioingeniería define como un campo de acción de la misma, la bioinformática; la cual está definida en resumen, como la aplicación de la informática en cuanto a ordenadores, softwares, modelamientos virtuales, etc., con el fin de gestionar la información biológica. (Vargas, 2008; Hernández Valdivieso, 2009) De ahí que, a inicios de este siglo se dio a emerger un área interesante, llamada biología *in silico*; la cual permite el diseño de modelos computacionales para predecir el comportamiento de diferentes moléculas en diferentes condiciones. (Hernández Valdivieso, 2009)

En consecuencia, la biología o modelamiento "*in silico*" le abre las puertas a un área desglosada de la bioinformática, llamada farmacoinformática; área de vital importancia en este estudio, ya que le da un sentido ingenieril a la investigación en proceso. Esta se encarga de realizar mediante bibliotecas moleculares un diseño asistido, modelado y

estudio cuantitativo (modelos matemáticos) de las relaciones estructura actividad en fármacos. (Universitat de Barcelona, 2018; Lahoz Beltrá, 2010) Por esta razón, este proyecto busca estudiar las diferentes características correspondientes de los *ISRS* para así proponer nuevos modelos estructurales análogos a la *Fluoxetina* basados en el fin último de dichos fármacos, para así, poder determinar la eficiencia de los modelos propuestos cuantitativamente en cuanto a la potencial reducción de efectos secundarios y efectividad de las moléculas planteadas; justificado en el cálculo de propiedades fisicoquímicas moleculares (descriptores); definidas gracias a la metodología que hace parte de la farmacoinformática, *QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationships)* que permite relacionar las estructuras químicas con sus respectivas actividades biológicas. (Ospino M, Olivero V, & Vivas R, 2005; Medina-Franco, Fernández-De Gortari, & Naveja, 2015)

De esta manera, se desarrolla un enfoque bioingenieril en el proyecto; debido a que, la metodología a usar 'QSAR' unifica un conjunto de técnicas computacionales relacionadas numéricamente para el modelamiento y la visualización espacial virtual de las moléculas; permitiendo así el cálculo de propiedades fisicoquímicas moleculares estudiadas y definidas mediante la bioinformática y la estadística; facilitando, la predicción y la propuesta teórica de la actividad biológica de una nueva molécula con actividad potencial como mejor inhibidor selectivo de la recaptación de la Serotonina. (Ospino M, Olivero V, & Vivas R, 2005; Medina-Franco, Fernández-De Gortari, & Naveja, 2015; Saldívar, Prieto & Medina, 2017)

3. OBJETIVOS

3.1. GENERAL:

Modelar moléculas *in silico* análogas a la clase *ISRS* que potencialmente tengan mayor afinidad por el sitio activo de la enzima recaptadora de la serotonina.

3.2. ESPECÍFICOS:

- Diseñar moléculas análogas a la *Fluoxetina* por medio del software *AVOGRADO*.
- Calcular descriptores físico-químicos por medio de los softwares *OChem* y *LogP* de las moléculas diseñadas mediante *AVOGADRO*.
- Establecer un modelo matemático que relacione los valores de IC_{50} de los *ISRS* con los descriptores calculados.
- Determinar a través de cálculos matemáticos valores teóricos de IC_{50} de los análogos diseñados por medio del software *AVOGADRO* y su interacción con el sitio activo de la enzima transportadora de serotonina (*SERT*) por medio de acoplamiento molecular.

4. MARCO REFERENCIAL

4.1. DEPRESIÓN

Existen una gran variedad de trastornos mentales; sin embargo, cada uno de ellos se da con manifestaciones distintas y por diferentes razones. (OMS, 2017) Estos, se caracterizan por una mezcla de alteraciones de pensamiento, percepción, conducta, emociones y como todas afectan las relaciones con los demás directa o indirectamente. (OMS, 2017) Uno de los trastornos mentales más frecuentes, es la depresión afectando a más de 300 millones de personas en el mundo; los pacientes que padecen de depresión presentan tristeza, pérdida de interés, baja autoestima, sentimientos de culpa y diversos síntomas físicos sin causas orgánicas aparentes (OMS, 2017; OMS, 2018)

La depresión, puede ser de larga duración o recurrente; las cuales, se pueden tratar eficazmente con terapias de diálogo o con antidepresivos respectivamente; sin embargo, se considera el no uso de antidepresivos en algunas clasificaciones etarias como niños, personas de tercera edad y se recomienda una prescripción cautelosa en el tratamiento a adolescentes. (OMS, 2018; Rojas, 2010) Al tratarse de una depresión recurrente, esta se convierte en una enfermedad compleja; la cual, compromete múltiples áreas del paciente, ocasionando diferentes síntomas emocionales, físicos, cognitivos y conductuales, afectando así la vida cotidiana del paciente en cuanto a su vida laboral e interpersonal. (Rojas, 2010; OMS, 2018) Todos estos síntomas afectan directamente la conducta del paciente, logrando generar discapacidad general o parcial; reduciendo en gran cantidad su productividad. (Rojas, 2010; AUGE, 2013)

4.2. SEROTONINA COMO NEUROTRANSMISOR DE LA FELICIDAD

Algunas de las explicaciones fisiológicas de la depresión están vinculadas a la Serotonina; una hormona localizada en diferentes partes del cuerpo y con diferentes efectos en cada

uno de ellos. La Serotonina es una sustancia que en la sangre se comporta como una hormona y que en cerebro actúa como un neurotransmisor. (Torres, 2015) Esto indica, que la Serotonina es una unidad de comunicación que las neuronas pueden recibir y a su vez, emiten para influir unas en otras; creando así, dinámicas de activación cerebral y diferentes efectos en el organismo en cadena. (Torres, 2015; Fox, Padilla Sierra, & Olivares Bari, 2017) Las diversas funciones de la serotonina, están directamente relacionadas conforme a que existen diferentes receptores de serotonina; se conocen aproximadamente 14 receptores (Fox, Padilla Sierra, & Olivares Bari, 2017); por ejemplo, las mayores cantidades de serotonina se encuentran en el tracto gastrointestinal y no en el cerebro. (Torres, 2015)

De hecho, en los intestinos es donde las concentraciones de serotonina cobran una relevancia importante; ya que, se encargará de la regulación de la digestión. Niveles demasiado altos de serotonina están ligados a la aparición de diarreas, por el contrario, un déficit excesivo de la misma podría ocasionar estreñimiento. Razón por la que esta sustancia estaría directamente ligada a la pérdida o aparición del apetito. (Torres, 2015) Además, entre las funciones que se asocian a la serotonina para mantenimiento básico del cuerpo, se encuentra la regulación térmica; equilibrio de control crucial, ya que una diferencia de pocos grados de la temperatura corporal puede suponer la muerte masiva de gran cantidad de grupos de tejidos musculares. (Torres, 2015)

Por último, en los últimos años se han generado varios estudios los cuales indican, que la serotonina es un neurotransmisor directamente ligado al comportamiento y la depresión en las personas; diferentes cantidades indican diferentes reacciones del cuerpo tanto físicas como fisiológicas. (Fox, Padilla Sierra, & Olivares Bari, 2017; Martin, 2013)

Ahora bien, la serotonina (*5- hidroxitriptamina* (5-HT)) como neurotransmisor usado por neuronas llamadas serotoninérgicas en lo que se denomina núcleos de la rafe; ubicados a lo largo de la línea media del tallo encefálico (Fox, Padilla Sierra, & Olivares Bari, 2017). La serotonina es una sustancia ya sea como hormona o como neurotransmisor que el

cerebro no produce y este se deriva del aminoácido *1-triptófano* (aminoácido obtenido en la dieta) (Fig. 1). Se tiene en estudio, si la cantidad de este aminoácido consumido en la dieta puede influir en la cantidad de serotonina producida en las neuronas. (Martin, 2013; Fox, Padilla Sierra, & Olivares Bari, 2017)

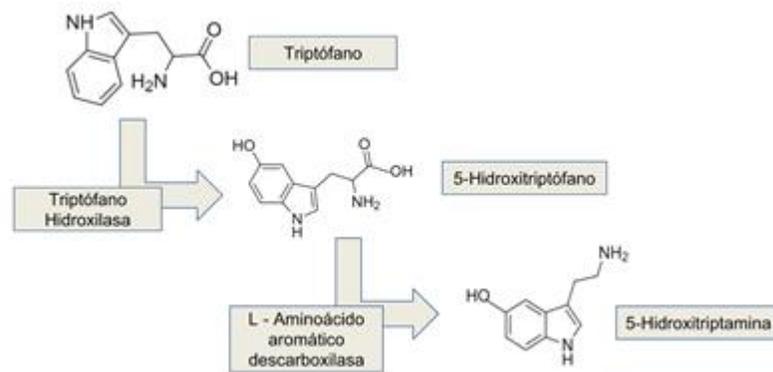


Figura 1. Síntesis de la Serotonina en el cuerpo.

4.3. FÁRMACOS ANTIDEPRESIVOS (*ISRS*)

El hecho de que existan diferentes tipos de receptores de la Serotonina tiene una clara relación con sus diversas funciones; por ejemplo, mientras se administra un fármaco para aliviar la depresión, otro medicamento que promueve la acción de esta sustancia, se utiliza para reducir el apetito en pacientes que sufren de obesidad. (Fox, Padilla Sierra, & Olivares Bari, 2017) Cada fármaco está diseñado para activar o tener relación con un receptor de Serotonina distinto; ya sea para el fin al cual está destinado ese receptor.

El papel que cumple la Serotonina en el equilibrio del estado anímico y la emoción en las personas creo en la actualidad un fuerte auge por los fármacos antidepresivos; especialmente los de la clase inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina (*ISRS*). (Fox, Padilla Sierra, & Olivares Bari, 2017; Martin, 2013) La inhibición de la recaptura de la serotonina sobre los receptores ubicados en la región presináptica de una

neurona serotoninérgica (*5HT1A*, *5HT2C* y *5HT3C*) aumenta la neurotransmisión en el sistema. (Chávez, Serrano & Ontiveros, 2008)

Los *ISRS* actúan directamente sobre la proteína de membrana o transportador de monoaminas '*SERT*'; esta se encarga de dar paso a la serotonina de los espacios sinápticos a las neuronas presinápticas. (Chávez, Serrano & Ontiveros, 2008; Guzman, 2016) La depresión en las personas es causada por una baja concentración de serotonina en los espacios sinápticos; esto es causado, gracias a que existen diferentes tipos de receptores de serotonina. Cuando uno de estos receptores es estimulado, inhibe la descarga de neuronas serotoninérgicas; es decir, el receptor actúa como un autorreceptor inhibitorio de la actividad serotoninérgica; limitando la posibilidad de que el proceso de neurotransmisión de la serotonina se produzca correctamente, dando inicio a la depresión. (Guzman, 2016; Chávez, Serrano & Ontiveros, 2008)

Debido a esto, la inhibición de la actividad serotoninérgica será directamente proporcional a la alta concentración de receptores de la serotonina en la región presináptica; al aparecer en el organismo moléculas de fármacos *ISRS*; los inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina bloquean el transportador *SERT*; de tal manera que cause un aumento en la concentración de serotonina en el espacio sináptico y una estimulación serotoninérgica. (Guzman, 2016; Chávez, Serrano & Ontiveros, 2008) Esto implica que se genere una regulación a la baja de los receptores de la serotonina (*downregulation*); este fenómeno es mediado por mecanismos genómicos por lo que no se dará inmediatamente, sino que podrá tardar semanas.

Al ser menor la concentración de los receptores de serotonina en la región somatodendrítica, la neurona se encontrará desinhibida; en consecuencia la tasa de disparo neuronal está aumentada; lo que generará un aumento en la liberación de la serotonina de la hendidura sináptica estimulando así, los receptores postsinápticos serotoninérgicos. (Guzman, 2016)

4.4. MODELADO *IN SILICO*

4.4.1. DOCKING MOLECULAR

Para lograr conocer la relación cuantitativa que se tiene en esta reacción neuronal, se tiene en cuenta, el acoplamiento molecular (*docking* molecular); el cual es una técnica ampliamente usada para predecir energías y modos de enlace entre ligandos y proteínas. Información de gran utilidad en el estudio de nuevos compuestos y fármacos propuestos teóricamente. (Reis, Zanatta, Carmona, & Machado Menten, 2015) De igual manera, en los últimos años en la industria farmacéutica para el desarrollo de nuevos productos, se desarrollaron diferentes herramientas computacionales (diseño de medicamentos *in silico*) (Lozano & Scior, 2012); estableciendo nuevas técnicas las cuales abordan esta disciplina; una de ellas es QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) la cual, relaciona mediante modelos matemáticos la relación estructura-actividad prediciendo las propiedades de destino fisicoquímicas, biológicas y ambientales a partir de su estructura química. (Smith, 2008; Lozano & Scior, 2012) Esta técnica, reúne un conjunto de técnicas computacionales, relacionadas con el modelamiento espacial virtual de moléculas, cálculo de propiedades fisicoquímicas (descriptores), bioinformática y estadística. (Lozano & Scior, 2012)

Esta técnica, se crea con el fin de desarrollar teóricamente diferentes tipos de fármacos mediante la predicción de la actividad biológica de los mismos; permitiendo evitar el proceso de prueba y error de síntesis orgánica; además, permitirá desmaterializar las necesidades de infraestructura; generando que el proyecto y desarrollo del mismo sea menos costoso. (Lozano & Scior, 2012; Beltrán, 2000)

Algunos parámetros importantes relacionados con la actividad biológica en los análisis QSAR son, la afinidad al sitio activo de la enzima, las constantes cinéticas, las constantes de inhibición o los valores de IC_{50} y los parámetros farmacocinéticos. Sin embargo,

podrán ser utilizados otros parámetros dependientemente de cómo lo requiera la investigación y como lo dicte la realización y el proceso de la misma. (Beltrán, 2000)

4.4.2. DESCRIPTORES

El docking molecular en la investigación, contiene diferentes descriptores; los cuales son, propiedades fisicoquímicas calculadas a partir de una estructura virtual 3D por métodos computacionales; siendo un reflejo cuantitativo o descriptores numéricos de cada molécula; permitiendo así obtener de la molécula modelada no solo características cualitativas; sino también, cuantitativas que brinden información vital para el desarrollo de la investigación. Estos son algunos de ellos:

4.4.2.1. IC₅₀

La mitad de la concentración inhibitoria máxima (IC₅₀), es una medida cuantitativa de la efectividad la cual una sustancia tiene para inhibir una función bioquímica específica o biológica. Esta medida, indica que cantidad de un fármaco u otra sustancia (inhibidor) se necesita para lograr la mitad de la inhibición en un componente de un proceso, como una enzima, una célula o receptor celular. Los valores de esta medida, la mayoría de las veces, se dan en concentraciones de molar. (Reis, Zanatta, Carmona, & Machado Menten, 2015)

4.4.2.2. Coeficiente de partición

El coeficiente de reparto o coeficiente de partición (P) es un parámetro cuantitativo fisicoquímico, el cual permite determinar de modo cuantitativo, que tan hidrofóbica es la molécula a estudiar; permitiendo inferir, el cómo se comportará esta en el entorno de fluidos biológicos del organismo y cómo será su comportamiento en cuanto a su paso mediante difusión pasiva a través de membranas. (Cabrera, Comini, Argüello & Nuñez,

2017) Este parámetro proporciona, una medida de balance hidrofílico – lipofílico de la sustancia en cuestión; además, tiene una gran importancia en cuanto a la velocidad de la absorción celular de fármacos, la cual viene definida por el concepto de liposolubilidad medido por este coeficiente; es decir, que a mayor liposolubilidad la velocidad de penetración y rapidez de acción es mayor. (US. Dpto. Ciencias Ambientales, 2015)

4.4.2.3. Momento dipolar

Se define como el producto de una de las cargas de un dipolo eléctrico por la distancia existente entre sus cargas. Esta magnitud, es una magnitud vectorial, siendo su sentido dirigido de la carga negativa a la carga positiva; definido de otra manera, es: “la magnitud vectorial cuyo producto vectorial por el campo eléctrico es igual al momento del par de fuerzas que actúa sobre el dipolo”. (Lleó & Lleó, 2008) Esto, quiere decir que al definir un campo eléctrico, el cual está actuando sobre un dipolo, este producirá un par de fuerzas que tenderán a orientar al dipolo en sentido y dirección hacia el campo.

4.4.2.4. Refractividad molar (AMR)

Este descriptor está definido conjuntamente, cómo la medida del total de polarizabilidad de un mol de una sustancia o en este caso una molécula en específico; esta medida, es dependiente de la temperatura, el índice de refracción y la presión. (Ghose & Crippen, 1987) Esta es definida cómo:

$$MR = \frac{4\pi N\alpha}{3} \quad (1)$$

Donde, N es el número de Avogadro y α es el radio de la molécula elevado a la 3. Así que, según (Ghose & Crippen, 1987) la refractividad molar vista desde un concepto físico, es igual al volumen real de las moléculas en un mol y que tanto estas se pueden polarizar.

4.4.2.4. Descriptor fMF

El descriptor fMF está definido como el número de átomos pesados (N_{heavy}) en la masa molecular o masa formal de la molécula, dividido sobre el total de átomos pesados en toda la molécula. Visto de una manera más sencilla, es que tantos átomos pertenecen al “núcleo” o a la masa formal (MF) de la molécula en sí. (Yang, Chen, Nilsson, Muresan, & Engkvist, 2010)

Una interpretación sencilla de este descriptor se evidencia en que las moléculas con valores bajos de este descriptor están compuestas con muchas o grandes cadenas laterales teniendo un MF relativamente pequeño; sin embargo, una molécula con un alto fMF , determinará que la molécula tiene un MF grande y solo pocos o pequeños átomos de cadena lateral; es decir que si el descriptor tiene un valor correspondiente de 1, la molécula no tiene cadenas laterales. (Yang, Chen, Nilsson, Muresan, & Engkvist, 2010)

4.4.2.5. Complejidad del fragmento (FragC)

En estudios moleculares de estructura – actividad ($QSAR$), la mayoría de las veces, se utilizan los descriptores de valores múltiples. El fundamento de estos es que, las estructuras moleculares pueden descomponerse en fragmentos de descriptores; es decir, que una molécula puede descomponerse y así producir varios descriptores para generar múltiples valores de una sola molécula concatenados en un descriptor $FragC$. Este descriptor se usa en su mayoría, para cálculos de similitud – disimilitud entre los descriptores, minería de bases de datos y $BigData$. (Ramaswamy Nilakantan, David S Nunn, Lynne Greenblatt, & Gary Walker, 2006)

4.4.3. MODELOS QSAR

La metodología *QSAR* es una herramienta computacional que proporciona una mejora en la economía y en la rapidez para el desarrollo de nuevos fármacos en el marco de la Química Farmacéutica, relacionando cuantitativamente las estructuras químicas de las moléculas con su actividad biológica. Esta metodología está integrada por un conjunto de herramientas *in silico* aplicadas hacia el diseño de moléculas, cálculo de descriptores y la implementación de técnicas estadísticas e informáticas. (Lozano & Scior, 2012)

Para el desarrollo de nuevos fármacos mediante modelos *QSAR* se requiere una información específica procedente de la bibliografía o bien, de un laboratorio. También se necesita un aprendizaje de los programas y herramientas computacionales que permiten el desarrollo de estos modelos. Con el fin de empezar a usar las herramientas computacionales de la metodología *QSAR* se necesita tener recolectado datos de los ligandos frente a la diana molecular del estudio, información sobre la actividad biológica de estos ligandos como el IC_{50} , y por supuesto, descriptores que ofrecen datos cuantitativos sobre las propiedades fisicoquímicas de los ligandos. (Lozano & Scior, 2012)

Al hablar de una reducción en los costos monetarios y de tiempo para el desarrollo de nuevos fármacos, se refiere a que se evita una de las etapas de la industria farmacéutica donde se encuentra implicado el método de prueba y error en un laboratorio. Según lo anterior, para el proceso *in silico* no se usa instrumental, equipos ni reactivos químicos o de laboratorio, ya que se emplean otras herramientas de carácter computacional como programas y softwares libres para predecir estructuras químicas candidatos a nuevos fármacos, generalmente no encontradas en la literatura, que posteriormente son llevadas a bioensayos a cargo de químicos orgánicos para confirmar los datos ofrecidos por esta metodología. (Lozano & Scior, 2012)

5. ESTADO DE ARTE

La investigación y el desarrollo de nuevos fármacos llevan a cabo grandes costos y un arduo proceso que integra muchas disciplinas de conocimiento. En los últimos años, para mitigar el tiempo y los costos involucrados en el desarrollo, se han venido aplicando procesos computacionales, como la metodología QSAR, con el fin de predecir teóricamente la actividad biológica posibilitando el diseño de nuevos fármacos sin entrar a la síntesis orgánica de ensayo y error. (Saldívar, Prieto & Medina, 2017)

Se han venido realizando en los últimos años evaluaciones farmacológicas de potenciales de afinidad serotoninérgica donde emplean técnicas computacionales para el estudio, como el realizado por Speranta Avram et al (Speranta, Buiu, Duda & Mihailescu, 2010); en el cual se plantea obtener nuevos derivados de *escitalopram*, un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina, con menos efectos secundarios junto con una mayor afinidad por SERT. En este estudio, se modelaron 24 derivados de *escitalopram* y de acuerdo a la relación cuantitativa estructura-actividad biológica, se predijo la afinidad por el sitio activo de la proteína de membrana transportadora de serotonina *SERT*.

El estudio realizado por Recabarren Gonzalo (Recabarren, 2008); donde se realiza una investigación con nuevas moléculas con potencial de acción antidepresiva derivadas de *2-[oxoalquil](4-arilpiperazinil)-benzo[b]tiofeno* sustituido (I), (II) y (III) mediante estudios de síntesis, afinidad serotoninérgica y modelamiento molecular. En el estudio se modelaron las moléculas con base en el acoplamiento de arilpiperazinas sustituidas por estructuras vinculadas a la inhibición de la recaptación de serotonina, y posteriormente, se investigó la influencia de estos sobre la afinidad del receptor *5-HT1A*. Después, se realizó la síntesis de 18 compuestos por medio de microondas y se evaluó la afinidad de estos a los receptores serotoninérgicos in vitro mediante estudios de competencia; y para racionalizar los resultados obtenidos en esta evaluación, se aplicó un estudio de *docking* molecular entre esos compuestos evaluados y un modelo de la estructura 3D del receptor *5-HT1A*.

Hasta hace poco, la comprensión estructural de cómo los *ISRS* se unen a *SERT* ha sido guiada en gran medida por los estudios sobre el homólogo bacteriano *LeuT*. Los autores en (Coleman & Gouaux, 2018) concluyeron que para acomodar varios *ISRS* dentro del sitio de unión central del transportador, los residuos que revisten el sitio de unión podrían adoptar diferentes conformaciones. Por lo tanto, determinaron las estructuras de rayos X de *Thr439 ts2 SERT* en complejo con paroxetina y la estructura del transportador *ts3* unido a sertralina y fluvoxamina, éstas proporcionaron información sobre cómo los diferentes *ISRS* están vinculados dentro del sitio de unión central del *SERT*. (Coleman & Gouaux, 2018) Lo que permitirá que se planteen nuevos estudios y se generen modelos ligados al desarrollo de nuevos agentes terapéuticos para el tratamiento de la depresión y los trastornos de ansiedad. (Coleman & Gouaux, 2018)

6. METODOLOGÍA

Este proyecto se elaboró mediante la aplicación de relaciones cuantitativas estructura-actividad (QSAR) donde se realizaron cálculos de distintas propiedades fisicoquímicas determinadas por los cambios de los radicales manteniendo el núcleo de la molécula de los compuestos que fueron usados de acuerdo a su estructura; para así, predecir sus actividades químicas.

Para el modelamiento molecular *in silico* de análogos a la *Fluoxetina*, se emplearon principalmente dos criterios:

- I. Similitud de sus propiedades fisicoquímicas; las cuales son, los radicales que se van a variar estructuralmente (manteniendo siempre el núcleo de la molécula) y los valores teóricos entregados por los descriptores al largo de la investigación, frente a un conjunto de compuestos con actividad y estructura conocida (*training set*).

- II. Potencial de acoplamiento selectivo frente a la proteína de membrana *SERT* determinado mediante *docking* molecular.

Este proceso de modelamiento molecular se desarrolló mediante cinco fases:

6.1. IDENTIFICACIÓN DE FÁRMACOS *ISRS* COMERCIALES.

Para esta fase, se desarrolló una revisión bibliográfica extensa; la cual, consistía en hallar la mayor cantidad de fármacos *ISRS* comerciales o análogos experimentales de los mismos. Cada uno de los fármacos identificados, tuvieron una previa investigación, realizada por diferentes entidades con un alto conocimiento y experticia en el tema; esto permitió tener determinadas características de cada uno de los fármacos como su

estructura molecular y su IC₅₀.

Posteriormente, se descargó su estructura mediante la base de datos de moléculas *PubChem* (NCBI) o se modeló en el software editor de moléculas *Chemdraw*; para así, poder ser modeladas, visualizadas y editadas en 3D en el software de edición molecular *Avogadro*.

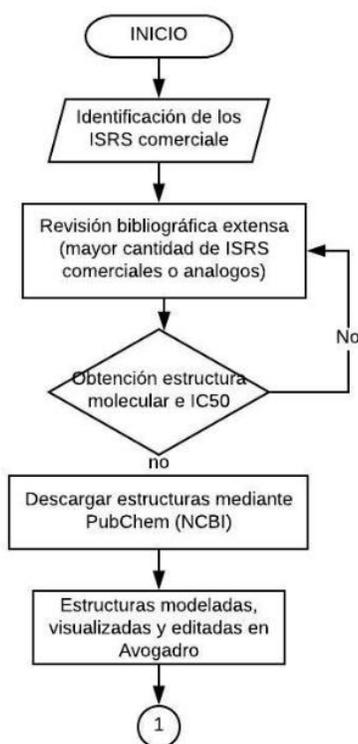


Diagrama. 1. Primera fase del desarrollo.

6.2. IDENTIFICACIÓN DE DESCRIPTORES ASOCIADOS A LA ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA DE ISRS COMERCIALES.

Primero, se realizó una revisión bibliográfica basada en estudios QSAR enfocados en ISRS con el objetivo de identificar tanto los descriptores moleculares que se relacionen estrechamente con su actividad química, como las relaciones cuantitativas

estructura-actividad establecidas. Seguidamente, mediante los resultados obtenidos de la revisión bibliográfica, se determinaron los descriptores que se van a emplear y el training set con los resultados de las moléculas de fármacos *ISRS* comerciales tomados como referencia para establecer las relaciones estructura-actividad de los compuestos diseñados.

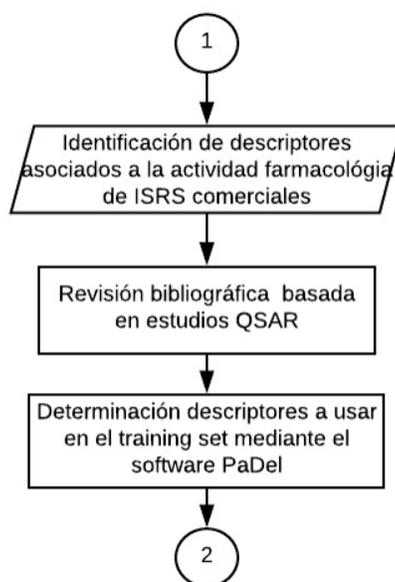


Diagrama. 2. Segunda fase del proyecto.

6.3. REALIZACIÓN DE MÉTODO DE REGRESIÓN LINEAL MÚLTIPLE PARA ESCOGER LOS DESCRIPTORES MÁS A FINES.

La determinación de los descriptores empleados para el training set; consistió en, hallar una alta variedad de descriptores tanto 2D como 3D de cada una de las moléculas encontradas y modeladas previamente. Al tener ya el valor de IC_{50} de cada uno de los fármacos, se realizó una regresión lineal múltiple con cada uno de los descriptores como variable 'y' (respuesta) y los IC_{50} obtenidos de la literatura como variable 'x' (predictor).

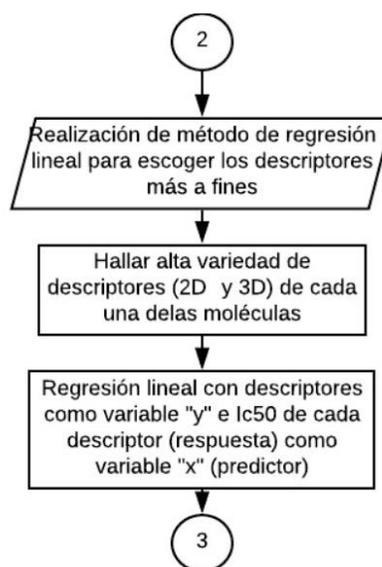


Diagrama. 3. Tercera fase del proyecto.

6.4. DISEÑO DE CANDIDATOS *ISRS*.

Este diseño se realizó, a partir de la previa identificación de descriptores moleculares que poseen una estrecha relación con la actividad farmacológica esperada, seguirá el diseño y la caracterización computacional de un conjunto de moléculas *ISRS* (*test set*). Esta relación, se realizó mediante una red neuronal sencilla; teniendo como entradas los IC_{50} teóricos o experimentales de las moléculas halladas o modeladas, respectivamente. Con estas entradas se tendrá una relación lineal del IC_{50} con alguno de los descriptores, lo que va a permitir proponer una ecuación y un modelo que determine una molécula con mayor afinidad selectiva por la proteína de membrana *SERT*. Cabe mencionar que el diseño de las moléculas se realizó mediante el software *Avogadro* y teniendo en cuenta los resultados experimentales reportados en la literatura y también, las variables claves que potencialmente determinaron la actividad fisicoquímica determinada por los cambios en los radicales de la molécula análoga más afín, manteniendo siempre el núcleo de la misma y los valores entregados de cada molécula por los descriptores usados (*AMR*, *FMF*, *fragC* y

LOBMAX).

Las moléculas diseñadas se someterán al proceso de caracterización computacional que comprenderá:

- I. Optimización conformacional empleando el software *Avogadro*.

- II. El cálculo de los descriptores moleculares que se determinaron previamente para las conformaciones estructurales más relevantes mediante los softwares *OChem*, *LogP* y *PaDEL*.

Posteriormente, los resultados obtenidos se relacionaron con el conjunto de datos obtenidos para el *training set*. Este proceso de diseño-caracterización se concibe como un modo iterativo ya que a partir de los resultados, se irán modificando las moléculas para optimizar al máximo las propiedades que potencian la actividad farmacológica.

El resultado final de esta fase es un conjunto de moléculas que por composición, estructura y propiedades fisicoquímicas (similitud estructural con la molécula de *Fluoxetina*) presentan un alto potencial de aplicación como *ISRS*.

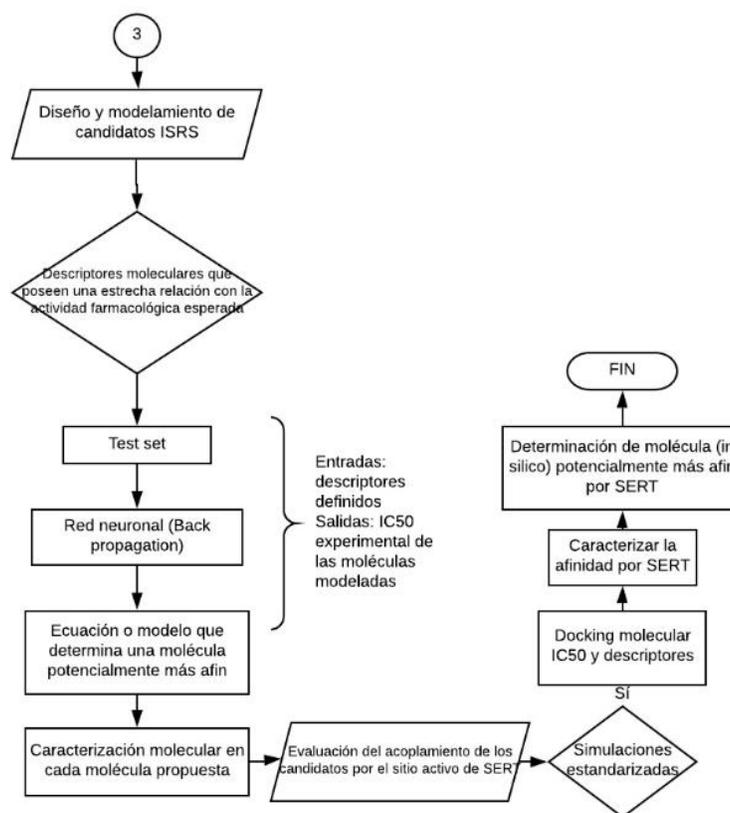


Diagrama. 4. Cuarta y última fase del proyecto.

6.5. EVALUACIÓN DEL ACOPLAMIENTO DE LOS CANDIDATOS POR EL SITIO ACTIVO DE *SERT*.

En esta fase se realizó una evaluación de la posibilidad de acople al sitio activo de la proteína de membrana *SERT* para cada una de las moléculas con mayor potencial de actividad farmacológica diseñados en la anterior fase. Para ello, se realizaron simulaciones estandarizadas de *docking* molecular, su IC₅₀ y sus descriptores usando el software *Autodock Vina*, *OCHEM*, *ALOGPS 2.1* y *PaDEL* con el fin de caracterizar el acople del ligando con *SERT* en términos de energías de interacción.

Sin embargo, no solo fue una interacción de energía la que definió a la molécula como posible mejor candidato; ya que, se obtuvieron primero de las moléculas de *ISRS* con IC_{50} teóricos un modelo matemático el cual está relacionado directamente con la energía de interacción, los valores obtenidos por los descriptores y las distancias de la reacción. A partir de la relación directa de estas dos variables junto con los IC_{50} teóricos y el estudio estadístico de la comparación entre las moléculas de *ISRS* teóricas y las moléculas análogas modeladas se generó la determinación de moléculas *in-silico* definidas potencialmente como mejor candidato.

7. RESULTADOS

7.1. OBTENCIÓN DEL RECEPTOR, PROTEÍNA DE MEMBRANA (SERT).

Para la obtención del receptor, en este caso, la proteína de membrana transportadora de serotonina (*SERT*) (Figura. 2); fue necesaria la consulta de la misma por medio del *Protein Data Bank*. De aquí se descargaron los archivos de la misma en formato .pdb; para posteriormente realizar todo el proceso conveniente para el *docking* molecular.

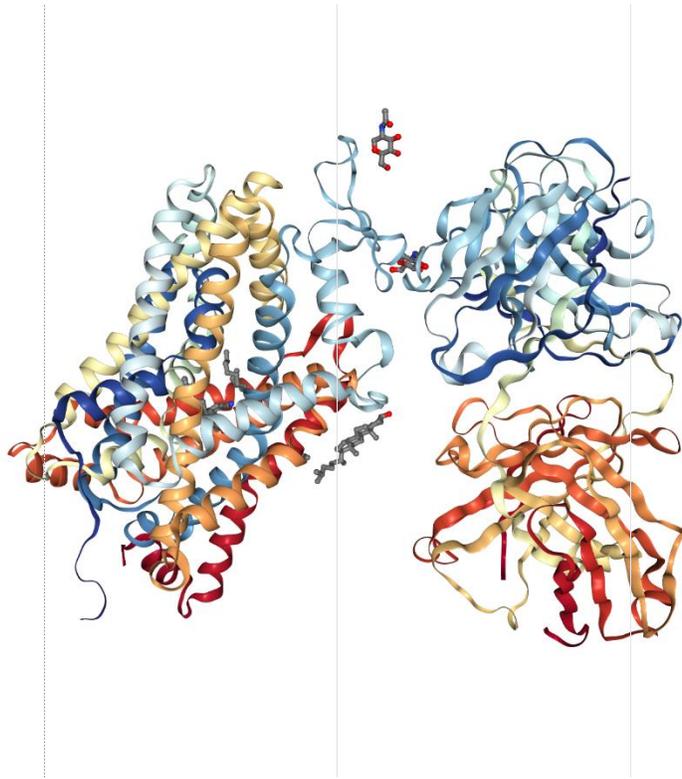


Figura. 2. Proteína de membrana transportadora de Serotonina (*SERT*). Tomado de: *Protein Data Bank*

Sin embargo, se puede observar en la (Figura. 2), que al descargar el modelo de la proteína; a este, se encuentran adheridas moléculas externas que no hacen parte de la misma. Para mejorar los resultados en cuanto a afinidad del ligando por el receptor, se

acondicionó la proteína, extrayendo los excedentes de la misma; obteniendo únicamente *SERT*. El acondicionamiento de la proteína de membrana se realizó mediante el software *PyMOL*, el cual se desempeña como un visor molecular; permitiendo así descartar cualquier otra molécula que venga adherida a *SERT*, proporcionando la ubicación y confirmación de cada una de estas moléculas externas; generando una mayor especificidad para retirarlas (Figura. 3).

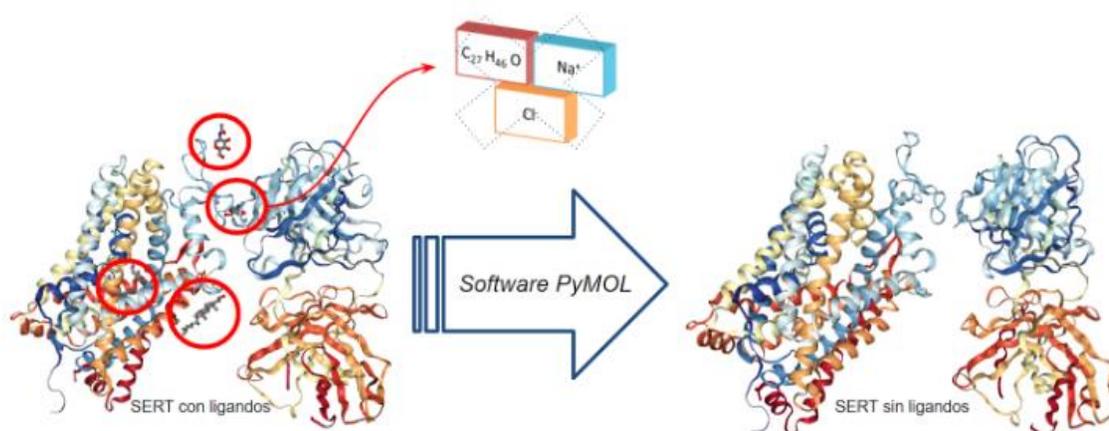


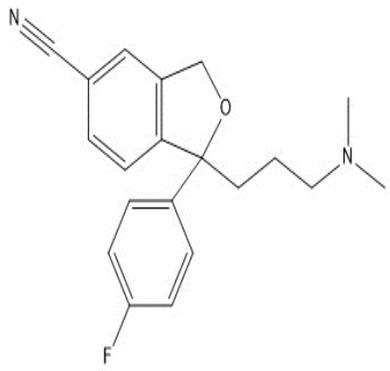
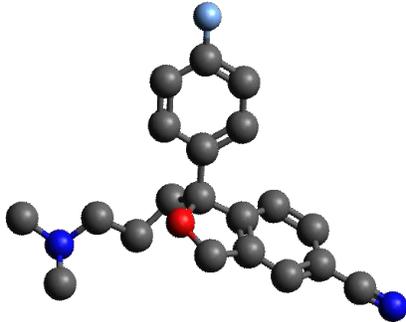
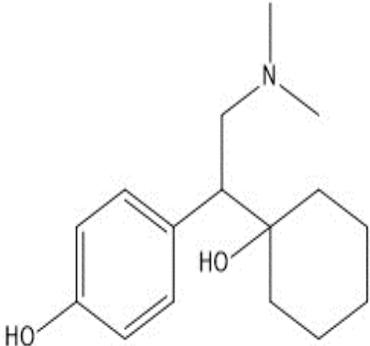
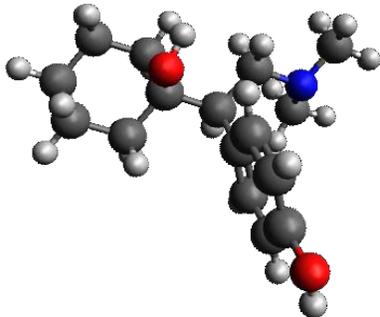
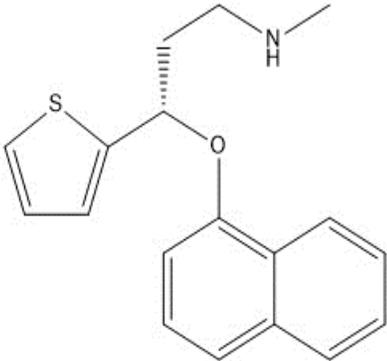
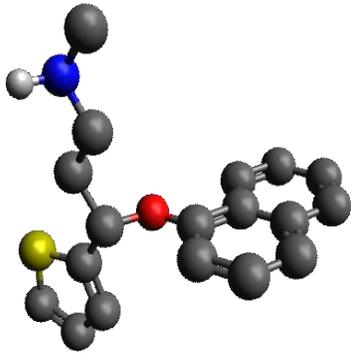
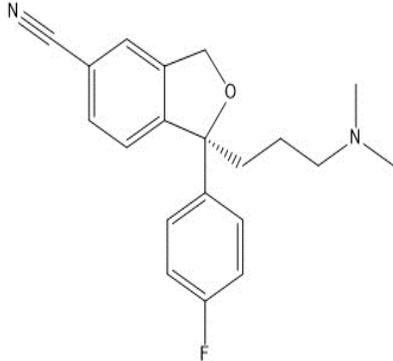
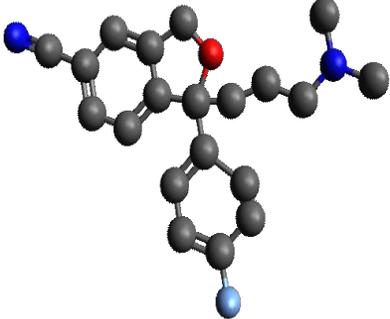
Figura. 3. Ilustración del procedimiento en el cual la proteína de membrana transportadora de Serotonina (*SERT*) es acondicionada. Tomada de: Software *PyMOL*.

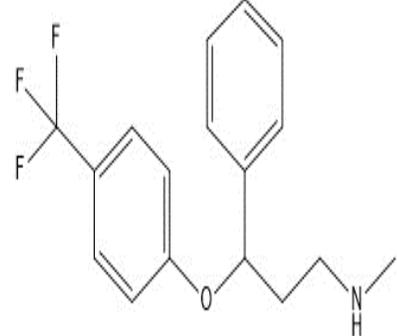
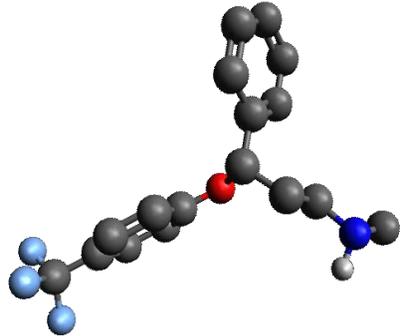
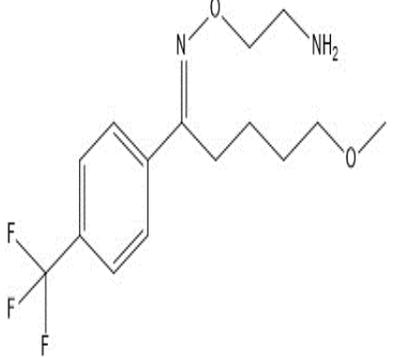
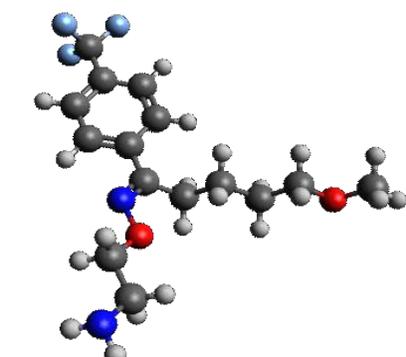
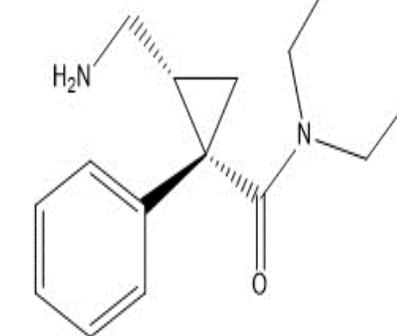
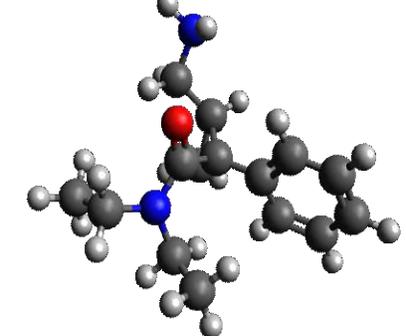
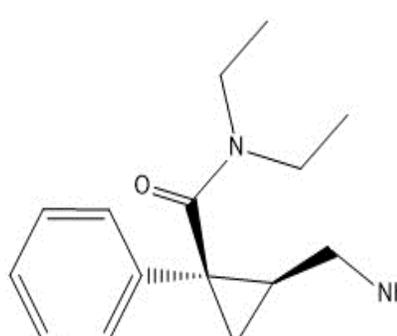
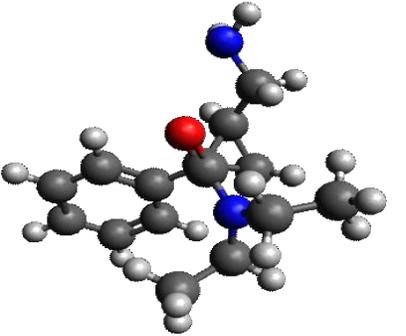
7.2. MODELAMIENTO MOLECULAR DE *ISRS* COMERCIALES O ALEACIONES DE LOS MISMOS.

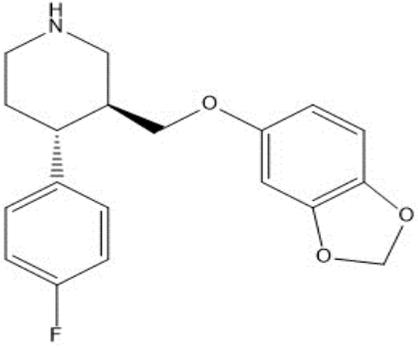
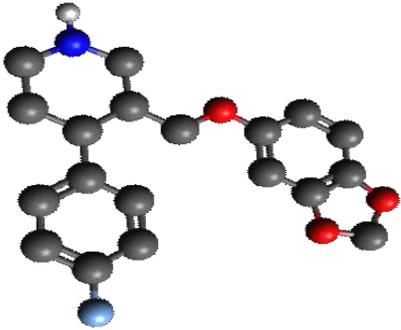
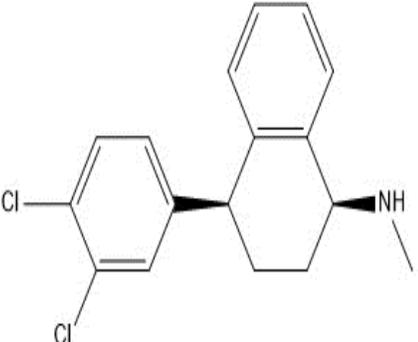
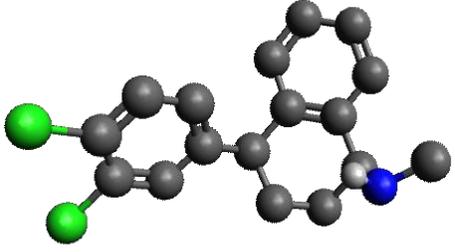
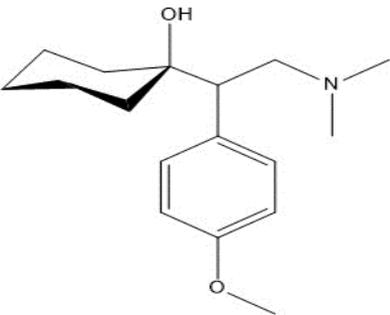
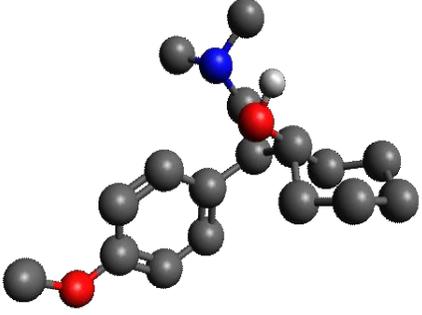
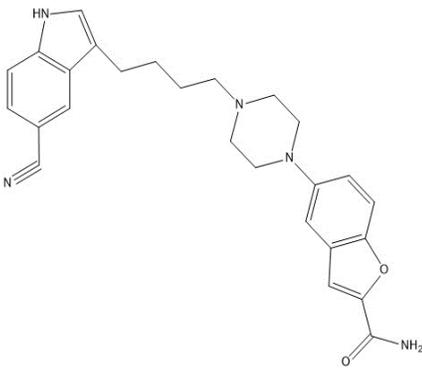
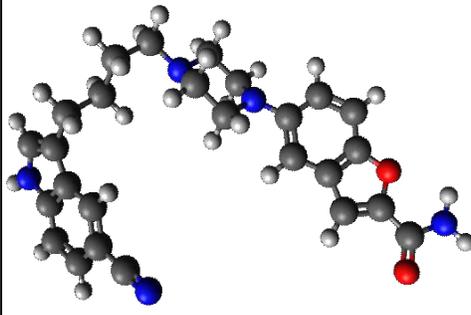
Tras una revisión bibliográfica se obtuvieron un total de 27 moléculas de la clase *ISRS*; donde, un 40% de ellas son comercializadas y certificadas, el porcentaje restante se encuentra todavía en estudios previos para contemplar sus efectos en el cuerpo humano a corto y/o largo plazo. Al tener un estudio previo de las mismas, todas las moléculas se encontraban en *PubChem* (*open chemistry database*); de aquí, se obtenían las estructuras ya modeladas para ser descargadas en el formato requerido. (NCBI. PubChem)

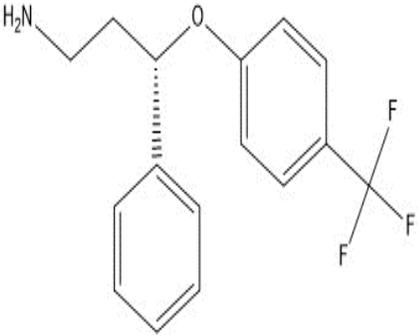
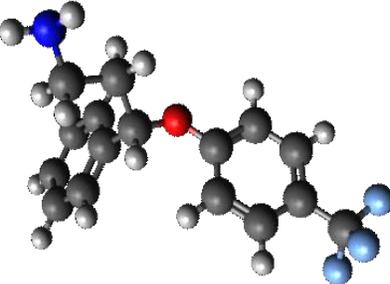
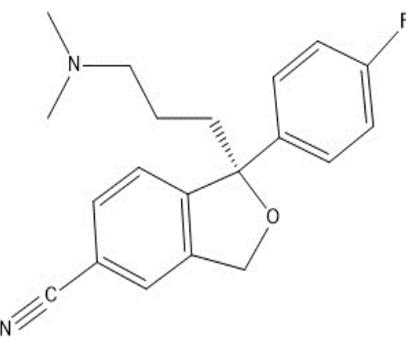
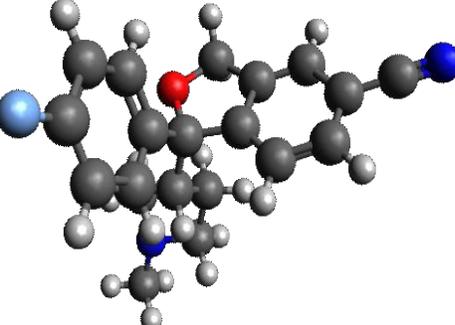
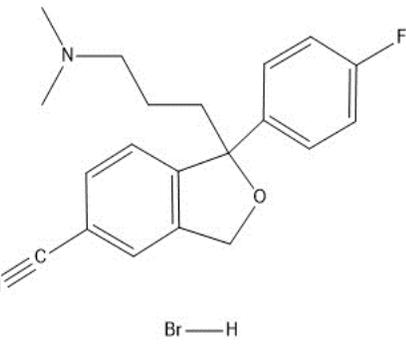
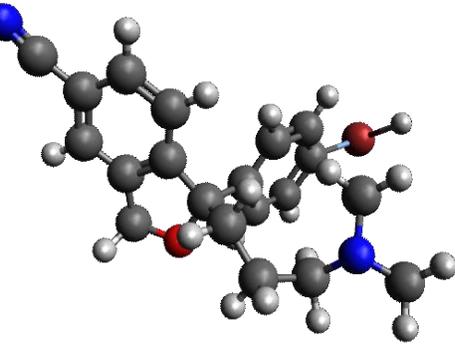
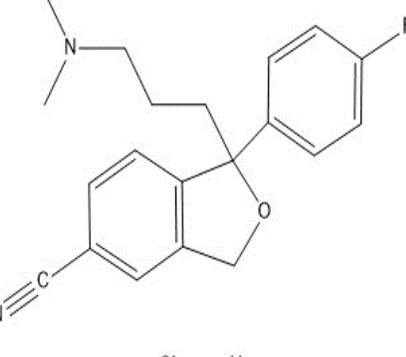
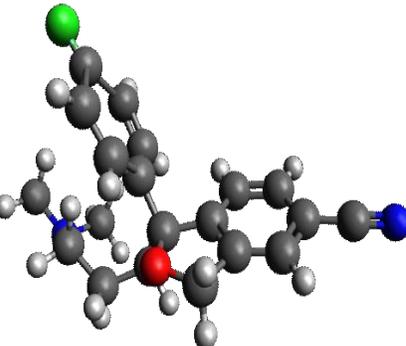
En este caso, el formato descargado fue *.xml*, para posteriormente abrir cada una de las moléculas en *ChemDraw Professional 16.0*; donde, se tendrá la estructura molecular de cada *ISRS* en 2D. Sin embargo, para hacer las configuraciones, análisis y el *docking* molecular requerido para la investigación, se es necesario poseer dichas moléculas en modelado 3D; para facilidad del usuario *ChemDraw* permite transferir las moléculas modeladas ahí, al software *Avogadro*, el cual es un editor molecular donde se es posible modelar las moléculas en 3D. Sin embargo, al hacer la transferencia del modelado 2D a 3D de los softwares utilizados; se generaban en las moléculas algún tipo de cambios en cuanto a su estructura o geometría. Por esta razón, se procedió a descargar las moléculas de *PubChem* (NCBI. PubChem) directamente en su configuración 3D en formato *.sdf*; generando que la estructura de la molécula fuera la correcta y no sufriera ningún tipo de cambio al abrirse en el software *Avogadro*.

Al obtener ya modeladas cada una de las moléculas en el editor; el software, nos permite mediante una de sus herramientas, una auto-optimización de la misma. La cual genera en la molécula una optimización en cuanto a su estructura y geometría. De aquí, se obtuvieron los modelos 3D de cada una de las moléculas de la clase *ISRS* comerciales, observados en la Tabla. 1.

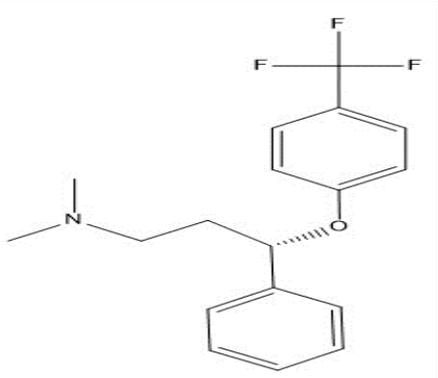
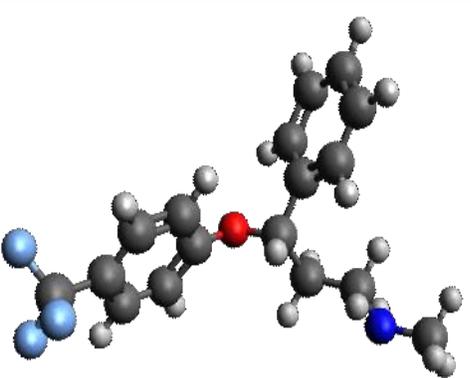
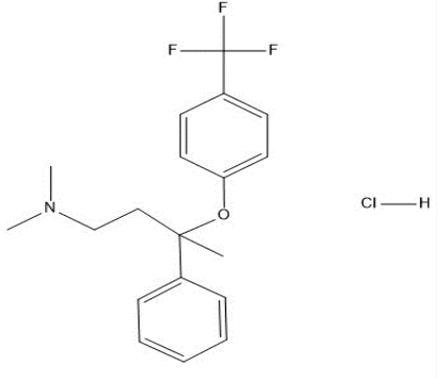
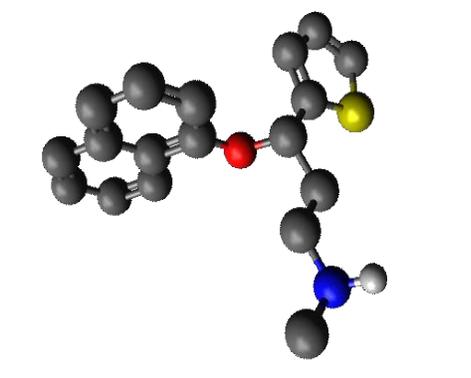
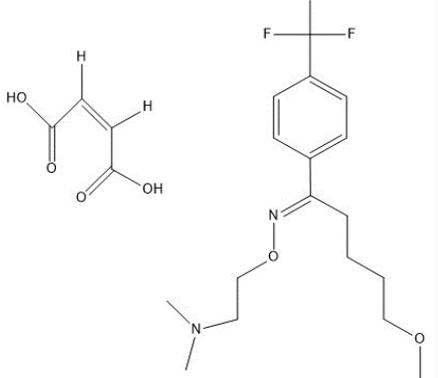
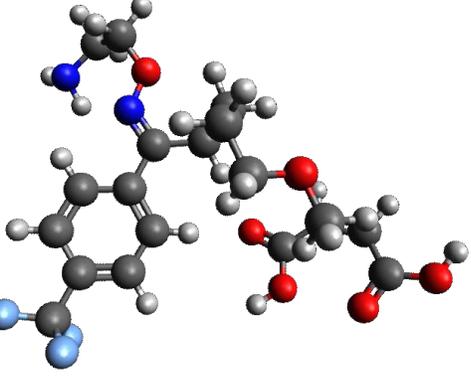
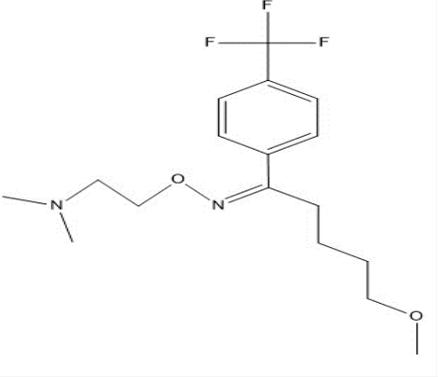
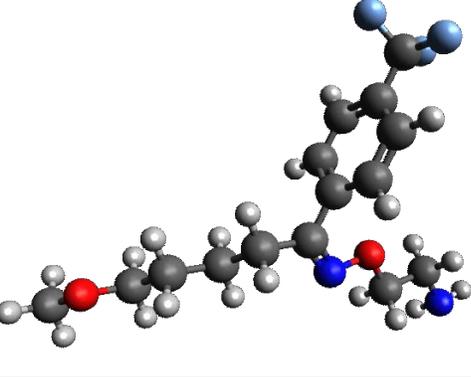
Estructuras con información 2D y 3D de las moléculas ISRS comerciales o experimentales		
NOMBRE	ESTRUCTURA 2D	ESTRUCTURA 3D
Citalopram	 The 2D structure of Citalopram shows a central chiral carbon atom bonded to a 4-cyano-2-furanylphenyl group, a 4-fluorophenyl group, and a dimethylpropylamino group.	 The 3D ball-and-stick model of Citalopram shows the spatial arrangement of atoms, with carbon in grey, oxygen in red, nitrogen in blue, and fluorine in light green.
Desvenlafaxina	 The 2D structure of Desvenlafaxina features a cyclohexane ring with a hydroxyl group and a dimethylaminoethyl side chain, and a 4-hydroxyphenyl group attached to the same carbon.	 The 3D ball-and-stick model of Desvenlafaxina shows the spatial arrangement of atoms, with carbon in grey, oxygen in red, and nitrogen in blue.
Duloxetina	 The 2D structure of Duloxetina consists of a naphthalene ring system with a thienylmethoxy group and a dimethylaminoethyl group attached to the same carbon.	 The 3D ball-and-stick model of Duloxetina shows the spatial arrangement of atoms, with carbon in grey, oxygen in red, nitrogen in blue, and sulfur in yellow.
Escitalopram	 The 2D structure of Escitalopram is similar to Citalopram but with the dimethylpropylamino group attached to the chiral center with a dashed bond, indicating its (S) configuration.	 The 3D ball-and-stick model of Escitalopram shows the spatial arrangement of atoms, with carbon in grey, oxygen in red, nitrogen in blue, and fluorine in light green.

Estructuras con información 2D y 3D de las moléculas ISRS comerciales o experimentales		
Fluoxetina	 <p>Chemical structure of Fluoxetine (2D): A benzene ring substituted with a trifluoromethyl group (-CF₃) and a propylamine chain (-CH₂-CH₂-CH₂-NH₂) via an ether linkage (-O-).</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Fluoxetine, showing the spatial arrangement of atoms (Carbon in grey, Hydrogen in white, Fluorine in red, Nitrogen in blue, and Oxygen in red).</p>
Fluvoxamina	 <p>Chemical structure of Fluvoxamine (2D): A benzene ring substituted with a trifluoromethyl group (-CF₃) and a propylamine chain (-CH₂-CH₂-CH₂-NH₂) via an imine linkage (=N-O-).</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Fluvoxamine, showing the spatial arrangement of atoms (Carbon in grey, Hydrogen in white, Fluorine in red, Nitrogen in blue, and Oxygen in red).</p>
Levomilnacipram	 <p>Chemical structure of Levomilnacipram (2D): A cyclopropyl ring substituted with a benzene ring, a primary amine group (-NH₂), and a diethylamide group (-C(=O)-N(CH₂CH₃)₂).</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Levomilnacipram, showing the spatial arrangement of atoms (Carbon in grey, Hydrogen in white, Nitrogen in blue, and Oxygen in red).</p>
Milnacipran	 <p>Chemical structure of Milnacipran (2D): A cyclopropyl ring substituted with a benzene ring, a primary amine group (-NH₂), and a diethylamide group (-C(=O)-N(CH₂CH₃)₂).</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Milnacipran, showing the spatial arrangement of atoms (Carbon in grey, Hydrogen in white, Nitrogen in blue, and Oxygen in red).</p>

Estructuras con información 2D y 3D de las moléculas ISRS comerciales o experimentales		
Paroxetina	 <p>2D chemical structure of Paroxetine, showing a piperidine ring connected via a methylene bridge to a benzofuran system, with a 4-fluorophenyl group attached to the piperidine ring.</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Paroxetine, showing the spatial arrangement of atoms (Carbon in grey, Oxygen in red, Nitrogen in blue, Fluorine in green).</p>
Sertralina	 <p>2D chemical structure of Sertraline, showing a tetrahydronaphthalene core with a 3,5-dichlorophenyl group and a methylamino group.</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Sertraline, showing the spatial arrangement of atoms (Carbon in grey, Chlorine in green, Nitrogen in blue, Hydrogen in white).</p>
Venlafaxina	 <p>2D chemical structure of Venlafaxine, showing a cyclohexane ring in a chair conformation with a hydroxyl group, a 4-methoxyphenyl group, and a dimethylaminoethyl group.</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Venlafaxine, showing the spatial arrangement of atoms (Carbon in grey, Oxygen in red, Nitrogen in blue, Hydrogen in white).</p>
Vilazodona	 <p>2D chemical structure of Vilazodone, showing a complex structure with a benzimidazole ring system, a piperazine ring, and a benzofuran system with an amide group.</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Vilazodone, showing the spatial arrangement of atoms (Carbon in grey, Oxygen in red, Nitrogen in blue, Hydrogen in white).</p>

Estructuras con información 2D y 3D de las moléculas ISRS comerciales o experimentales		
Seproxetina	 <p>2D chemical structure of Seroxetine, showing a benzene ring connected via an oxygen atom to a propyl chain with a primary amine group (H₂N) and a pentafluorophenyl group.</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Seroxetine, showing the spatial arrangement of atoms (Carbon in grey, Oxygen in red, Nitrogen in blue, Hydrogen in white, and Fluorine in light green).</p>
Citalopram (R)	 <p>2D chemical structure of Citalopram (R), showing a central benzene ring with a nitrile group (N≡C), a piperidine ring, and a 4-fluorophenyl group.</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Citalopram (R), showing the spatial arrangement of atoms (Carbon in grey, Oxygen in red, Nitrogen in blue, Hydrogen in white, and Fluorine in light green).</p>
Citalopram Hidrobromuro	 <p>2D chemical structure of Citalopram Hidrobromuro, showing the citalopram cation and a bromide counterion (Br⁻).</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Citalopram Hidrobromuro, showing the spatial arrangement of atoms (Carbon in grey, Oxygen in red, Nitrogen in blue, Hydrogen in white, and Fluorine in light green).</p>
Citalopram Clorhidrato	 <p>2D chemical structure of Citalopram Clorhidrato, showing the citalopram cation and a chloride counterion (Cl⁻).</p>	 <p>3D ball-and-stick model of Citalopram Clorhidrato, showing the spatial arrangement of atoms (Carbon in grey, Oxygen in red, Nitrogen in blue, Hydrogen in white, and Fluorine in light green).</p>

Estructuras con información 2D y 3D de las moléculas ISRS comerciales o experimentales		
Dapoxetina		
Desvenlafaxina benzoato		
Desvenlafaxina ácido fumárico		
Duloxetina clorhidrato		

Estructuras con información 2D y 3D de las moléculas ISRS comerciales o experimentales		
Fluoxetina (S)_		
Fluoxetina clorhidrato		
Fluvoxamina ácido maleico		
Fluvoxamina_ (Z)		

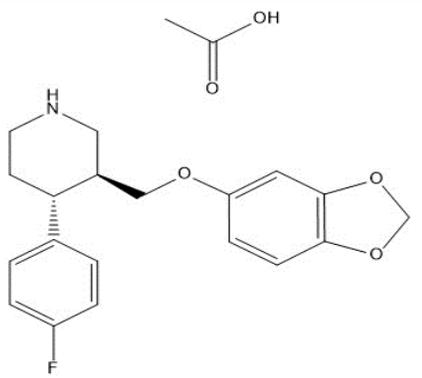
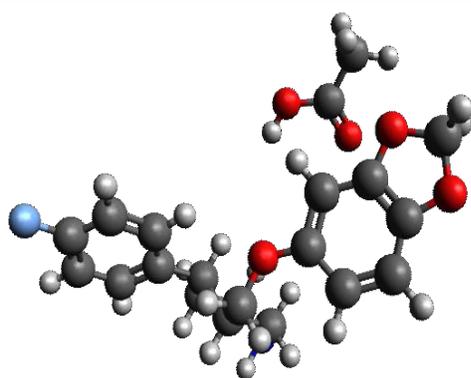
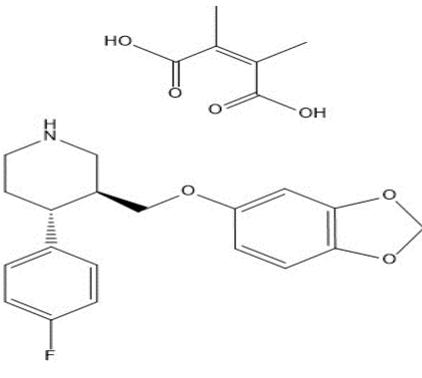
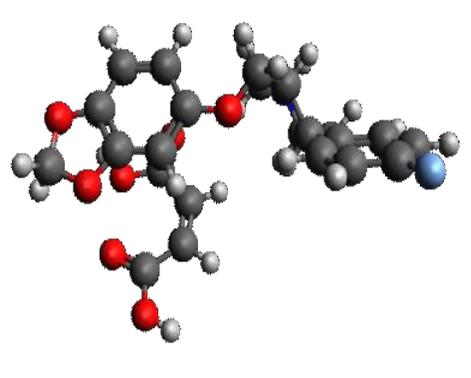
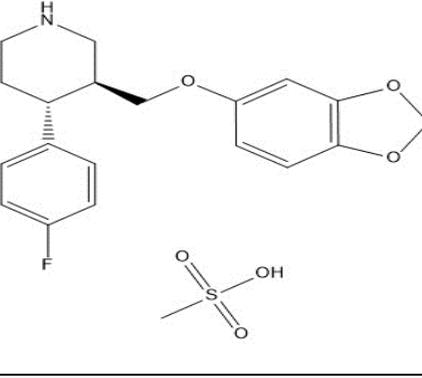
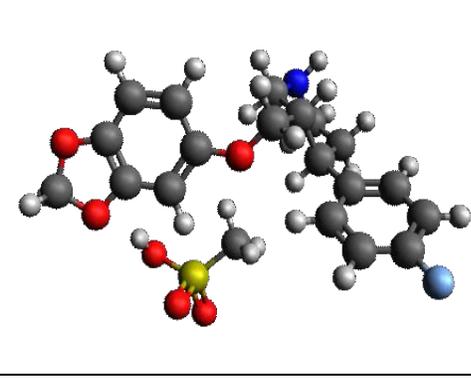
Estructuras con información 2D y 3D de las moléculas ISRS comerciales o experimentales		
Paroxetina acetato		
Paroxetina ácido maleico		
Paroxetina mesilato		

Tabla. 1. Resultados de los modelos 3D y 2D de las moléculas de la clase ISRS comerciales y/o experimentales. Tomados de: *PubChem* y *Avogadro*.

7.3. DETERMINACIÓN SITIO ACTIVO DE LA PROTEÍNA DE MEMBRANA *SERT*.

Tras la obtención y acondicionamiento de la proteína de membrana *SERT* como receptor; se procedió a determinar el sitio activo de la misma. Esto, para determinar la afinidad de cada uno de los ligandos antes modelados de las estructuras de moléculas de la clase ISRS. Para determinar el sitio activo de la misma se utilizaron los softwares Avogadro y Autodock Vina (Trott & Olson Autodock Vina, 2010), para posicionar el sitio activo en *SERT* y para determinar cuál sería el sitio activo que propondría mejores resultados en cuanto a afinidad, respectivamente.

Algunas de las proteínas halladas en el *Protein Data Bank (PDB)* (RCSB, PDB) se encuentran ya acondicionadas, tanto en estructura como en la ubicación de su sitio activo; es decir, al ser descargadas para su visualización y/o configuración, no traen consigo moléculas externas adheridas a ellas; además, en la base de datos donde se encuentra, el autor proporciona las coordenadas del sitio activo de la misma. Sin embargo, al ser *SERT* una proteína de membrana hallada en los últimos años (Coleman, Green, & Gouaux, 2016), no estaban determinadas las coordenadas de su sitio activo. Por esta razón, las coordenadas del sitio activo de *SERT*, en este caso tuvieron que ser halladas experimentalmente, teniendo como referencia cuantitativa la afinidad que tendría el ligando para con el receptor (*SERT*).

Así, se inició proponiendo un sitio activo el cual abarcara toda la sección donde se encontraba la proteína; de aquí, se procedía por medio del software *Autodock Vina* (Trott & Olson Autodock Vina, 2010) a analizar la afinidad (*kcal/mol*) que el ligando tenía por el receptor. Luego, el rango que podría abarcar el sitio activo propuesto se reducía consecutivamente con el fin de hacer el mismo más específico y así, obtener mejores resultados en cuanto la afinidad. El rango del sitio activo propuesto se redujo en cada una de las pruebas hasta obtener: coordenadas y un dato de afinidad destacado teniendo como referencia los datos obtenidos en las pruebas anteriores. De esta manera, se

determinó el sitio activo de *SERT* con el que se realizaron las pruebas de cada candidato *ISRS* en el transcurso de la investigación. Este potencial sitio activo de *SERT*, como se mencionó anteriormente, se determinó mediante el *software AutoDock Vina*; el cual arrojó las coordenadas de los centros espaciales y las dimensiones del cubo implicado en el cálculo de afinidad mediante la interfaz de configuración del *Grid Box* como se observa en la siguiente figura. Estas coordenadas espaciales son -34.036, -21.800 y 2.533 en los ejes X, Y y Z respectivamente. Las dimensiones del *Grid* son las mismas para cada uno de los ejes con un valor de 30 puntos con un tamaño uniforme de 0.375 Angstrom (valor por defecto del *software*).

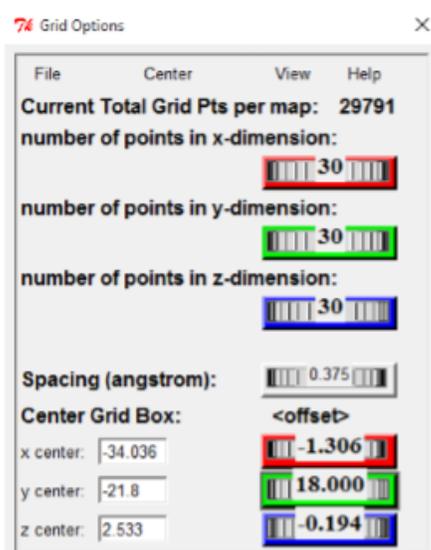


Figura. 4. Interfaz del *software AutoDock Vina* donde se encuentra la configuración del *Grid Box* establecido como el potencial sitio activo de *SERT*

7.4. DOCKING MOLECULAR DE *ISRS* COMERCIALES O ANÁLOGOS DE LOS MISMOS.

Tras la determinación del sitio activo de la proteína de membrana (*SERT*), y el modelado de cada una de las moléculas de los fármacos de la clase *ISRS* comerciales y análogos de los mismos (Tabla. 1); se dio inicio a la realización del *docking* molecular, de cada una

de las moléculas modeladas, lo cual nos daría un indicio de que tan a fin es cada uno de los fármacos *ISRS* con la proteína de membrana (*SERT*) y que tanta relación teórica lograrían tener a partir de su interacción. Para realizar el *docking* molecular se hizo uso de un software de código abierto, creado y utilizado por el Dr. Oleg Trott, en el laboratorio de gráficos moleculares del '*Scripps Research Institut*'; considerada como la institución con mayor influencia a nivel mundial por su impacto en la innovación dirigida hacia la ciencia; especialmente, las bio - ciencias. (Leadership, Scripps Research)

El software utilizado, tiene como nombre *Autodock Vina*; este, permitió en la investigación determinar qué tanta afinidad tienen los ligandos (moléculas *ISRS*) por *SERT*. (Trott & Olson, Autodock Vina, 2010) El software no tiene ningún tipo de plataforma visual para su funcionamiento; la carga del programa y su respectiva programación se hace mediante la consola de comandos (cmd) del equipo.

Los datos obtenidos, se dieron en unidades de medida de *Kcal/mol* (cantidad de energía generada en la interacción por número de moléculas), que gracias al software lograban obtenerse y ser almacenadas ordenadamente con un título específico. Cada una de las pruebas realizadas por cada molécula arrojaba 9 resultados de interacciones; por cada *ISRS* modelada; por una molécula, se realizaron 5 de estas pruebas; es decir, por molécula se obtuvieron 45 datos de afinidad. (Tabla. 2)

```

Detected 4 CPUs
Reading input ... done.
Setting up the scoring function ... done.
Analyzing the binding site ... done.
Using random seed: -1332340528
Performing search ... done.
Refining results ... done.

mode |  affinity | dist from best mode
      | (kcal/mol) | rmsd l.b. | rmsd u.b.
-----+-----+-----+-----
  1   |    -8.9   |    0.000   |    0.000
  2   |    -8.6   |    4.111   |    6.788
  3   |    -8.5   |    4.049   |    6.719
  4   |    -8.3   |    2.890   |    4.093
  5   |    -8.0   |    2.287   |    3.602
  6   |    -7.9   |    2.088   |    3.651
  7   |    -7.9   |    2.344   |    3.695
  8   |    -7.7   |    4.468   |    6.604
  9   |    -7.6   |    4.340   |    6.742
Writing output ... done.

```

Figura. 5. Ejemplo obtención de resultados afinidad (kcal/mol) por medio del software AutodockVina. (Trott & Olson, Autodock Vina, 2010)

Al tener inicialmente, 27 moléculas de la clase *ISRS* modeladas, se tienen en total 1170 datos de afinidad. Como se observa en la Tabla No. 2, con cada una de las 5 pruebas realizadas por cada molécula se realizó un promedio con el primer dato obtenido; de aquí se obtuvo un dato específico de afinidad por molécula; el cual va a ser usado conforme avance la investigación. (Trott & Olson, Autodock Vina, 2010) Además, se halló un dato por molécula en la literatura; que también es vital para el desarrollo de la investigación el cual es el IC₅₀. Este junto con la afinidad serán de gran importancia para cumplir el objetivo general de la investigación, de modelar moléculas *in silico* análogas a la clase *ISRS* las cuales sean potencialmente mejores a las moléculas *ISRS* comerciales y/o investigadas propuestas anteriormente.

	DATOS DE AFINIDAD (Kcal/mol)						IC ₅₀ (nM)
	1	2	3	4	5	PROM	
Citalopram	-9,6	-9,6	-9,5	-9,6	-9,6	-9,6	8,44
Desvenlafaxine	-7,5	-7,6	-7,5	-7,6	-7,6	-7,6	6,34
Duloxetine	-8,3	-8,3	-8,6	-8,6	-8,3	-8,4	10,4
Escitalopram	-9,6	-9,6	-9,6	-9,6	-9,6	-9,6	2,80
Fluoxetine	-9,2	-9	-9,1	-9,1	-9,1	-9,1	7,96
Fluvoxamine	-7,9	-7,9	-7,9	-7,8	-7,8	-7,9	10,00
Levomilnacipram	-7,7	-7,7	-7,7	-7,7	-7,6	-7,7	8,30
Milnacipran	-6,8	-6,8	-6,8	-6,8	-6,8	-6,8	7,80
Paroxetine	-10,6	-10,6	-10,7	-10,6	-10,6	-10,6	2,01
Sertraline	-9,5	-9,5	-9,5	-9,5	-9,5	-9,5	3,00
Venlafaxine	-7,7	-7,6	-7,7	-7,6	-7,6	-7,6	7,90
Vilazodone	-11,1	-10,8	-10,6	-10,7	-11	-10,8	0,20
Seproxetine	-9,1	-9	-9,1	-9,1	-9	-9,1	4,60
Citalopram (R)	-9,5	-9	-9,6	-9,5	-9	-9,3	5,43
Citalopram HBr	-9,8	-9,8	-9,8	-9,8	-9,8	-9,8	8,44
Citalopram HCl	-9,5	-9,1	-9,1	-9,1	-9	-9,2	3,97
Dapoxetina	-9,1	-9,1	-9,2	-9,1	-9,1	-9,1	1,12
Desvenlafaxine benzoato	-10,9	-10,9	-10,9	-10,9	-10,9	-10,9	6,34
Desvenlafaxine fumarato	-8	-8	-8	-8	-8	-8,0	6,34
Duloxetine HCl	-1,2	-1,2	-1,2	-1,2	-1,2	-1,2	10,40
Fluoxetine(S)_	-9,2	-9,3	-9,2	-9,3	-9,3	-9,3	10,00
Fluoxetine HCl	-9,4	-9,5	-9,5	-9,5	-9,4	-9,5	10,00
Fluvoxamine Maleat	-8	-7,7	-7,8	-8	-8	-7,9	7,96
Fluvoxamine_(Z)	-8,2	-8	-8,2	-8	-8,1	-8,1	7,96
Paroxetine Acetat	-10,4	-10,5	-10,6	-10,5	-10,6	-10,5	2,01
Paroxetine Maleat	-10,6	-10,5	-10,6	-10,6	-10,6	-10,6	2,01
Paroxetine Mesylat	-3,7	-3,8	-3,8	-3,8	-3,8	-3,8	2,01

Tabla. 2. Resultados *docking* molecular e IC₅₀ de las moléculas de la clase ISRS comerciales y/o experimentales.

7.5. DESCRIPTORES

Para la realización del *docking* molecular se requieren de diferentes tipos de descriptores; los cuales indiquen de forma cualitativa y cuantitativa propiedades fisicoquímicas calculadas computacionalmente de las moléculas de la clase *ISRS* comerciales y/o experimentales modeladas.

En este caso, para hallar los descriptores de cada una de las moléculas se iniciaron utilizando dos softwares libres los cuales tienen su sistema operativo directamente funcional en su página de internet. Estos softwares, son *ALOGPS2.1* y *OChem (Online Chemical Database)* los cuales permitían determinar el coeficiente de partición y seleccionar otro tipo de descriptores moleculares, respectivamente. Los primeros resultados de los descriptores de cada una de las moléculas modeladas se realizaron a partir de estos softwares; sin embargo, *OChem* permitía hallar el coeficiente de partición; brindando resultados iguales que el otro software, así que *ALOGSPS2.1* fue descartado. (OChem, 2010)

El software *OChem*, nos permitía hallar el resultado de múltiples descriptores al mismo tiempo de cada una de las moléculas propuestas para su evaluación; sin embargo, el software solo permitía una molécula por estudio, lo que generaba que la obtención de los resultados se prolongara aún más. Por esta razón, se decidió utilizar otro tipo de software el cual permitiera optimizar la obtención de los resultados esperados; en cuanto, a rapidez y rigidez descriptores de cada una de las moléculas modeladas.

Se halló un software llamado *PaDEL*; este, es un software de software libre y de código abierto, especializado para calcular descriptores moleculares. En su mayoría, *PaDEL* funciona aplicando el *Chemistry Development Kit (CDK)*; el cual es una colección de

bibliotecas modulares gratuitas de código abierto de Java, usadas para procesar información química; como lo son algunos descriptores QSAR, análisis de reacciones moleculares y algoritmos de procesamiento de moléculas. Este software nos permite calcular más de 60 tipos de descriptores, tanto 2D como 3D; además, permite calcular cada uno de ellos para una lista de moléculas propuestas, proporcionando los resultados de cada una de las moléculas en una base de datos descargable y compatible con distintos softwares de programación informática y/o estadística. (Yap CW, 2011) En consecuencia, la obtención de los resultados fue eficiente y favorecedora en cuanto a la organización y el tratamiento de los mismos.

En la siguiente tabla se encuentran los descriptores calculados con su respectiva abreviatura o explicación de los mismos según corresponda; con el fin de entender la implicación dentro de la acción biológica de las moléculas con el receptor:

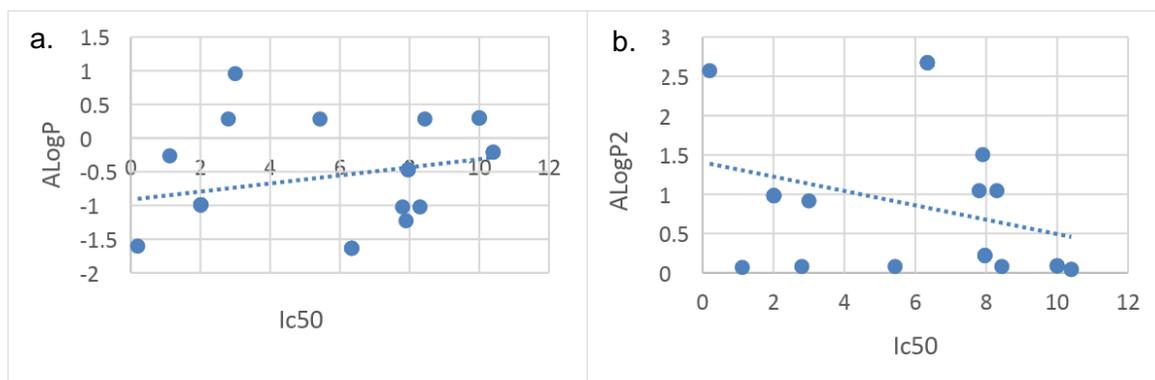
	DESCRIPTOR	Descripción		DESCRIPTOR	Descripción
2D	ALogP	Logaritmo del coeficiente de partición molecular 1-octanol-agua (Modelo de Ghose)		TopoPSA	Cálculo del área de superficie polar topológica de una molécula basada en contribuciones de fragmentos
	ALogP2	Potencia de ALogP		VABC	Mide el volumen molecular con base al método de Van der Waals
	AMR	Refractividad molar (Modelo de Ghose)		VAdjMat	Mide la magnitud de adyacencia del vértice
	apol	Suma de las polarizabilidades atómicas (incluidos los hidrógenos implícitos)		XLogP	Logaritmo del coeficiente de partición molecular 1-octanol-agua (Método de XLogP)
	bpol	Suma del valor absoluto de la diferencia entre las polarizabilidades atómicas de todos los átomos unidos en la molécula (incluidos los hidrógenos implícitos)		Zagreb	Proporciona la suma de los cuadrados de grado atómico sobre todos los átomos pesados
	CrippenLogP	Logaritmo del coeficiente de partición molecular 1-octanol-agua (Modelo de Crippen)		3D	LOBMAX

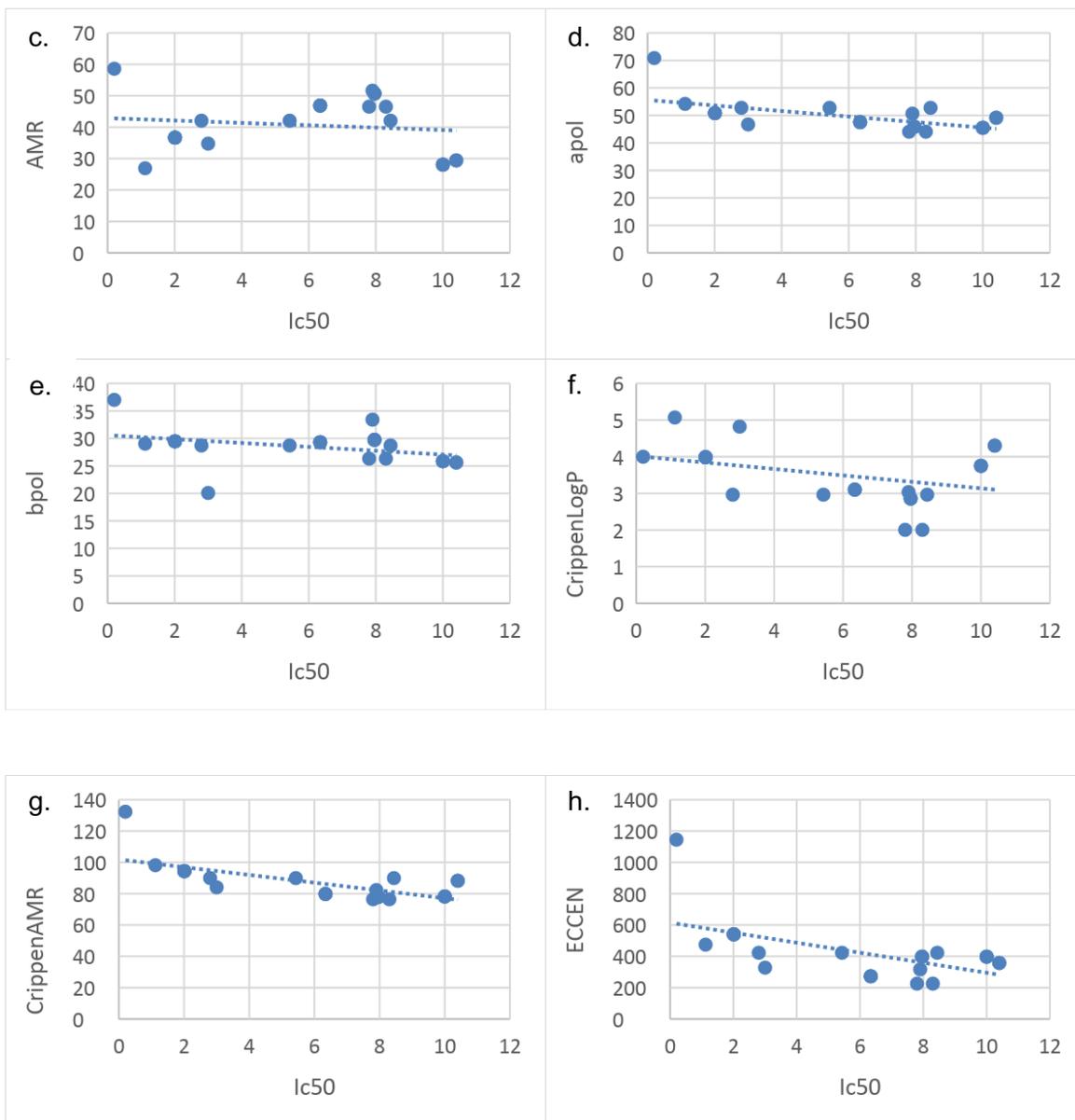
					longitudes de los ejes X y rotando cada 10 grados en el eje Z.
	Crippen AMR	Refractividad molar (Modelo de Crippen)		LOBMIN	Relación entre largo y ancho de una molécula mediante la rotación que resulta en el área mínima (definida por el producto de las extensiones X e Y para esa orientación)
	ECCEN	Descriptor de índice de conectividad excéntrica: combina información de distancia y adyacencia		MOMI-X	Momento de inercia sobre el eje X de una molécula
	FMF	Caracteriza la complejidad de una molécula vinculando el número de átomos sin incluir cantidad de enlaces, heteroátomos e hidrógenos.		MOMI-Y	Momento de inercia sobre el eje Y de una molécula
	fragC	Mide la complejidad de un sistema por fragmentos de una molécula.		MOMI-Z	Momento de inercia sobre el eje Z de una molécula
	hybratio	Descriptor de relación de hibridación: fracción de carbonos sp3 a carbonos sp2		MOMI-XY	Relación que existe entre los valores de momento de inercia en los ejes X y Y
	Kier1	Primer índice de forma molecular Kappa que mediante la reducción de la molécula al esqueleto eliminando el hidrógeno ejerce el conteo de fragmentos de un enlace		MOMI-XZ	Relación que existe entre los valores de momento de inercia en los ejes X y Z
	MLogP	Logaritmo del coeficiente de partición molecular 1-octanol-agua (Modelo de Mannhold)		MOMI-YZ	Relación que existe entre los valores de momento de inercia en los ejes Y y Z
	Kier2	Segundo índice de forma molecular Kappa que mediante la reducción de la molécula al esqueleto eliminando el hidrógeno ejerce el conteo de fragmentos de dos enlaces		MOMI-R	Evalúa el radio de giro de una molécula
	Kier3	Tercer índice de forma molecular Kappa que mediante la reducción de la molécula al esqueleto eliminando el hidrógeno ejerce el conteo de fragmentos de tres enlaces		geomRadius	Mide la excentricidad geométrica mínima de una molécula

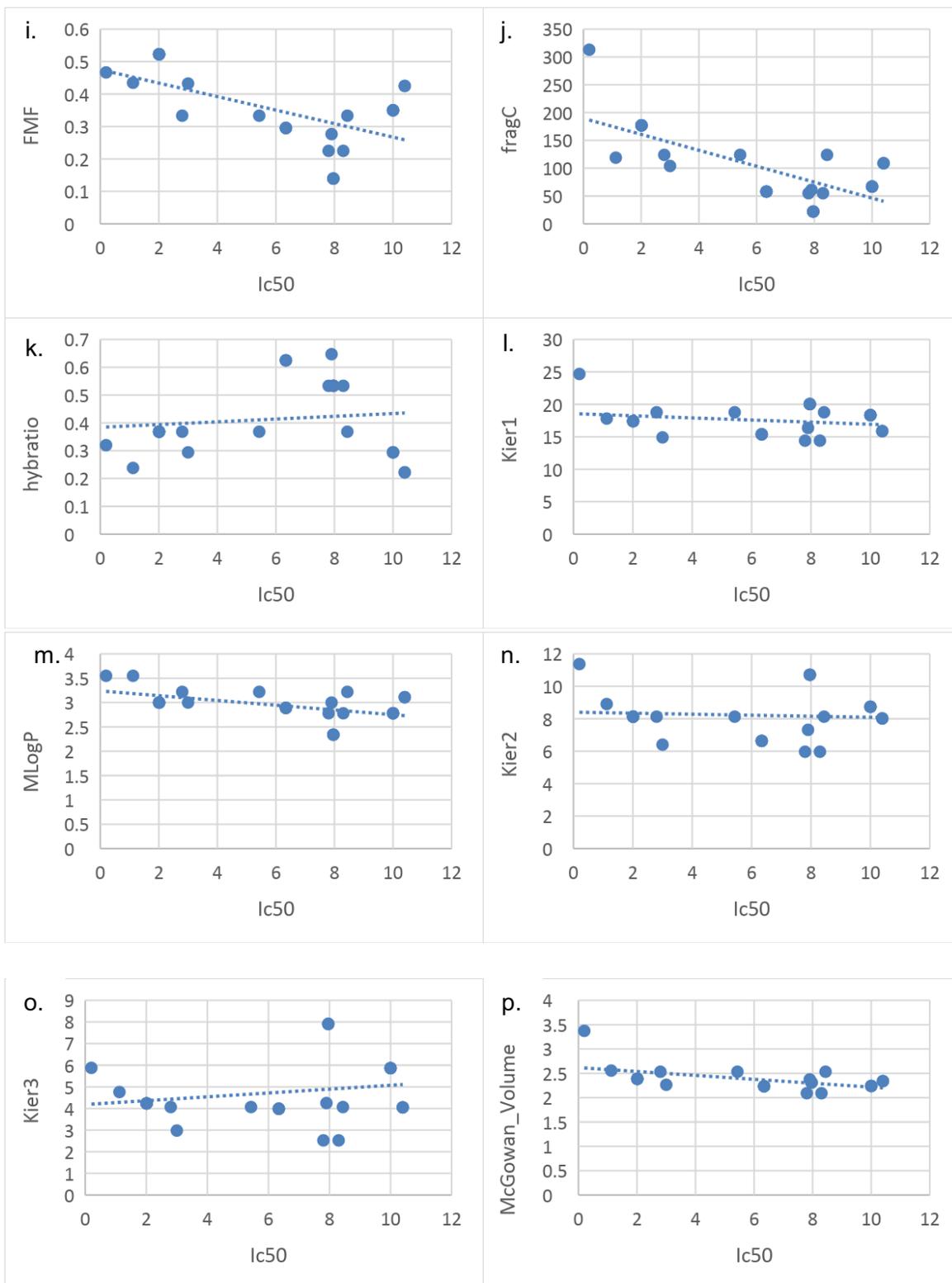
	McGowan_Volume	Mide el volumen molecular con base a la superficie de una molécula		geomDiameter	Mide la excentricidad geométrica máxima de una molécula
	PetitjeanNumber	Define la excentricidad de los átomos en una estructura molecular.		geomShape	Índice de forma geométrica de Petitjean

Tabla. 3 descriptores calculados con su respectiva descripción (Chemistry Development Kit, 2019; Yap CW, 2011)

Los resultados obtenidos para cada uno de los descriptores son cuantitativos; por esta razón se logró obtener una regresión lineal múltiple de cada uno de los resultados obtenidos junto con el IC₅₀ proporcionado de cada una de las moléculas; esto, a razón de obtener cuales descriptores son potencialmente destacados para el desarrollo de la investigación. Junto con la dispersión de los datos en la regresión lineal múltiple, es posible y necesario obtener un coeficiente de determinación; el cual nos brindará una medida de dispersión relativa del ajuste realizado y permita decidir si la linealidad en el modelo es suficiente o se deban buscar otro tipo de alternativas (Martínez Rodríguez, 2005). Los resultados obtenidos se pueden observar en las Figuras. 6 y 7







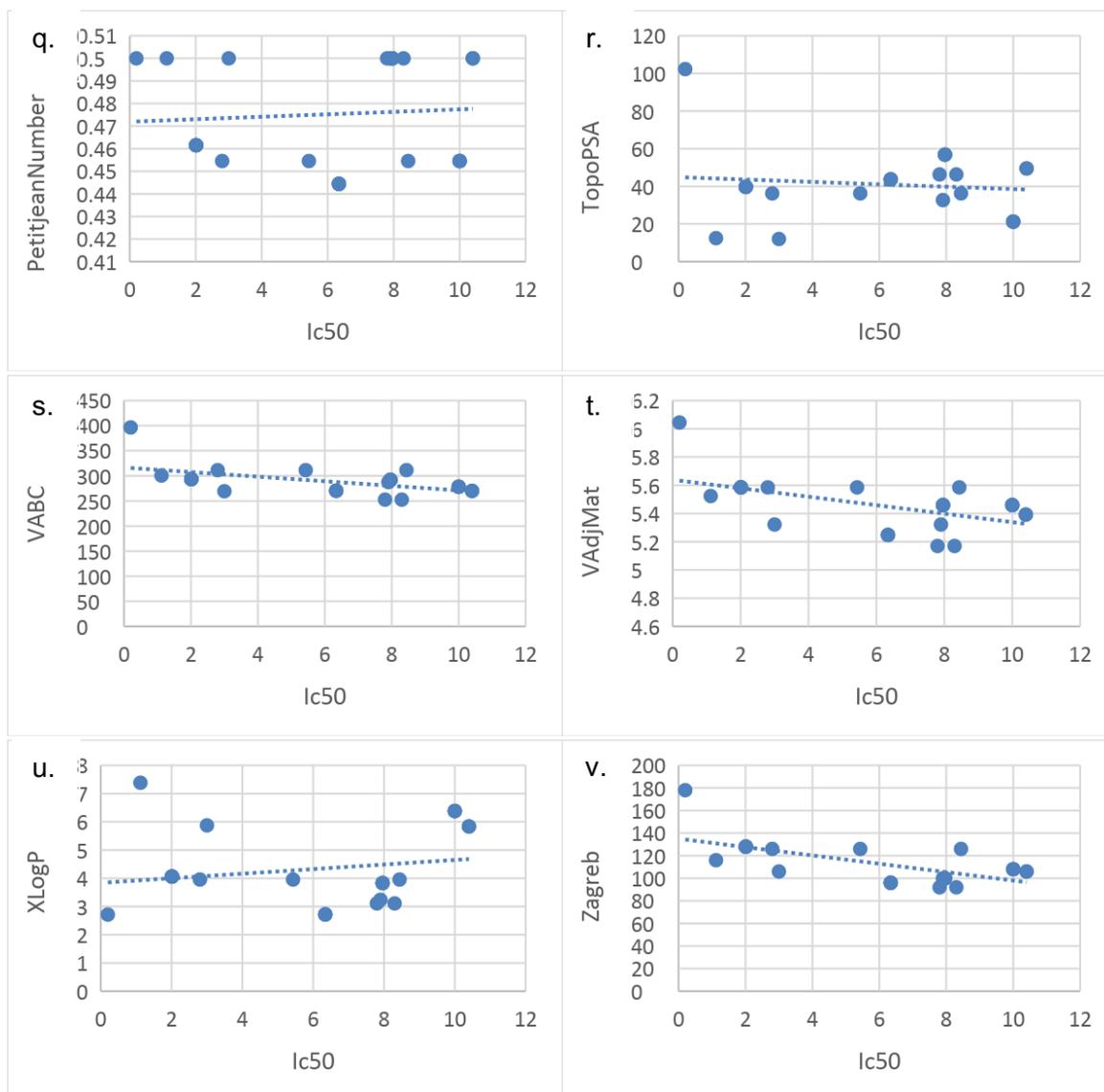
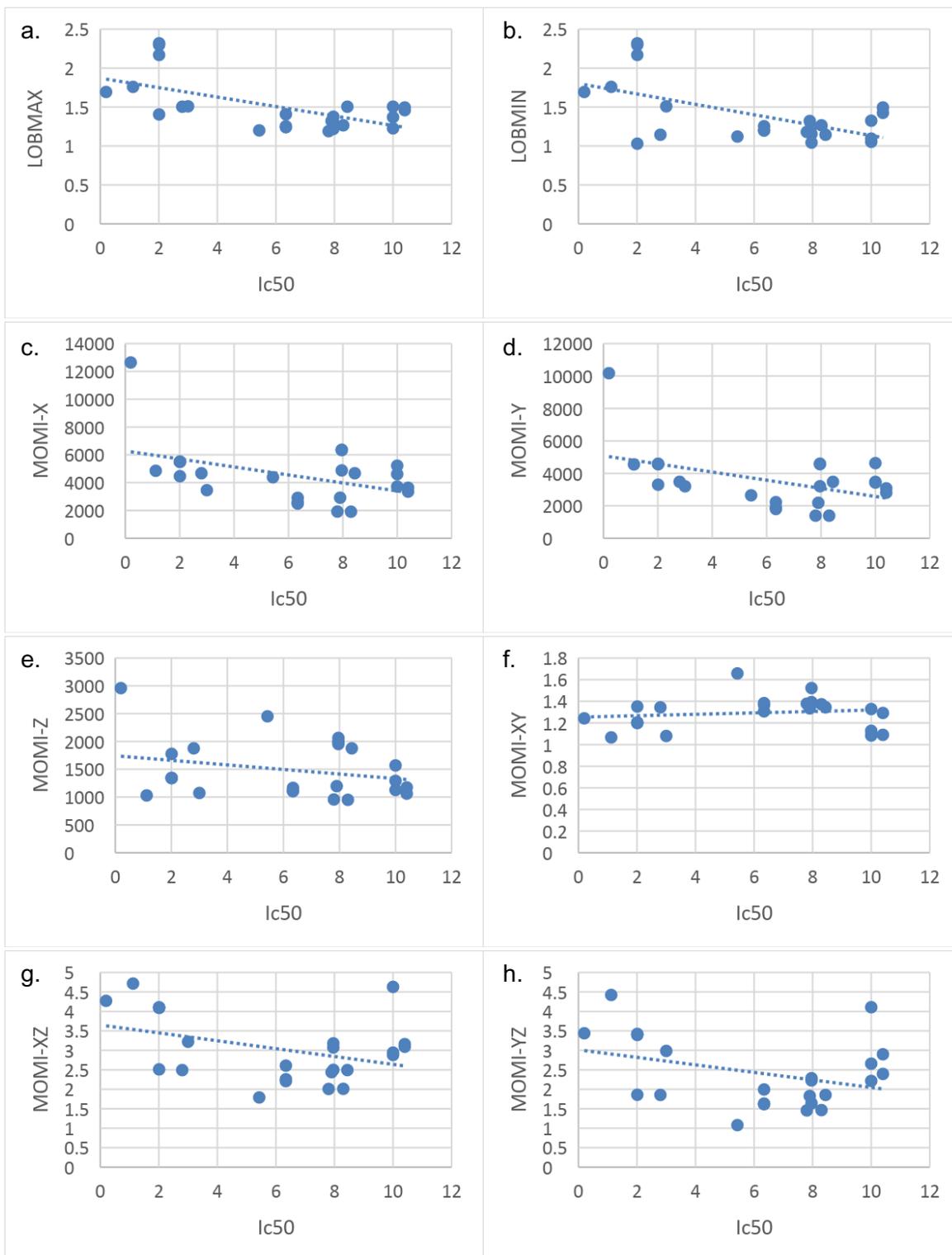


Figura. 6. Resultados regresión lineal múltiple de cada uno de los descriptores 2D, QSAR realizados a las moléculas de la clase ISRS comerciales o experimentales. a) ALogP b) ALogP2 c) AMR d) apol e) bpol f) CrippenLogP g) CrippenAMR h) ECCEN i) FMF j) fragC k) HybRatip l) Kier1 m) Kier2 n) Kier3 o) MLogP p) McGowan_Volume q) PetitjeanNumber r) TopoPSA s) VABC t) VAdjMat u) XLogP v) Zagreb.



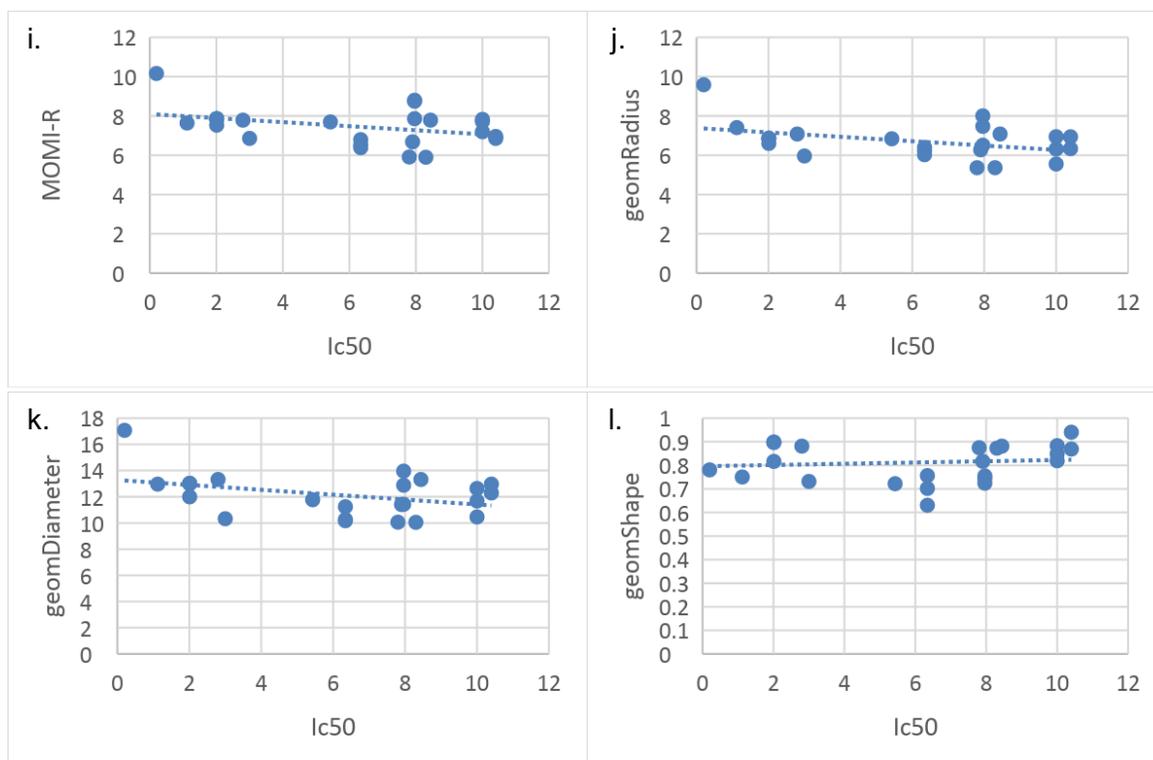


Figura. 7. Resultados regresión lineal de cada uno de los descriptores 3D, QSAR realizados a las moléculas de la clase ISRS comerciales o experimentales. a) LOBMAX b) LOBMIN c) MOMI-X d) MOMI-Y e) MOMI-Z f) MOMI-XY g) MOMI-XZ h) MOMI-YZ i) MOMI-R j) geomRadius k) geomDiameter l) geomShape.

En la siguiente tabla, se encuentran todos los valores del coeficiente de determinación de todos los descriptores 2D y 3D calculados, mediante las regresiones lineales realizadas con los valores de los descriptores de las moléculas mencionadas anteriormente.

	DESCRIPTOR	R ²		DESCRIPTOR	R ²
2D	ALogP	0,0705	3D	TopoPSA	0,0134
	ALogP2	0,1065		VABC	0,2903
	AMR	0,0189		VAdjMat	0,2871
	apol	0,38		XLogP	0,0376
	bpol	0,1426		Zagreb	0,04257
	CrippenLogP	0,1413		LOBMAX	0,3783
	Crippen AMR	0,4769		LOBMIN	0,3338
	ECCEN	0,3465		MOMI-X	0,1988
	FMF	0,3303		MOMI-Y	0,2246
	fragC	0,5091		MOMI-Z	0,0694

	hybratio	0,0142		MOMI-XY	0,0231
	Kier1	0,0559		MOMI-XZ	0,1541
	MLogP	0,2703		MOMI-YZ	0,1295
	Kier2	0,0049		MOMI-R	0,1307
	Kier3	0,0381		geomRadius	0,1741
	McGowan_Volum e	0,2958		geomDiameter	0,1509
	PetitjeanNumber	0,0059		geomShape	0,0122

Tabla. 4. Resultados de coeficiente de determinación en las regresiones lineales realizadas para cada uno de los descriptores.

7.6. DESCRIPTORES SIN DATOS ATÍPICOS

Con el fin de dar inicio en la estructura y funcionalidad del modelo QSAR, fue necesaria la eliminación de algunas moléculas tomadas como 'outliers' o valores atípicos, que generaban una mayor desviación en la regresión de linealidad realizada. Esto, favorece el modelo propuesto en cuanto a funcionalidad y obtención de resultados que se requieran del mismo. Se eliminaron de la regresión un total de 10 moléculas; estas fueron: *Citalopram*, *Dapoxetina*, *Duloxetina*, *Duloxetina hidroclicloruro*, *Escitalopram*, *Fluoxetina (S)*, *Fluoxetina hidroclicloruro*, *Paroxetina*, *Sertralina* y *Vilazodona*.

Utilizando el software *Statistica*, un sistema completo propuesto para el análisis de datos y gráficos de alta calidad, fácilmente personalizables y manejables; se determinó cuáles eran las moléculas consideradas como *outliers* y cuáles de ellas se podrían suprimir para generar un mayor coeficiente de determinación en las regresiones lineales; evitando afectar el modelo QSAR posteriormente propuesto, para el desarrollo de la investigación.

Tras obtener qué moléculas afectan en definitiva los resultados de linealidad en cuanto a cada uno de los descriptores, se realizó un nuevo análisis de regresiones lineales de las moléculas restantes, con su IC₅₀ y los resultados de los descriptores; es decir, igual que

con el análisis de los descriptores anteriormente realizado, pero esta vez sin las moléculas mencionadas anteriormente. Como se muestra en la Figura. 8.

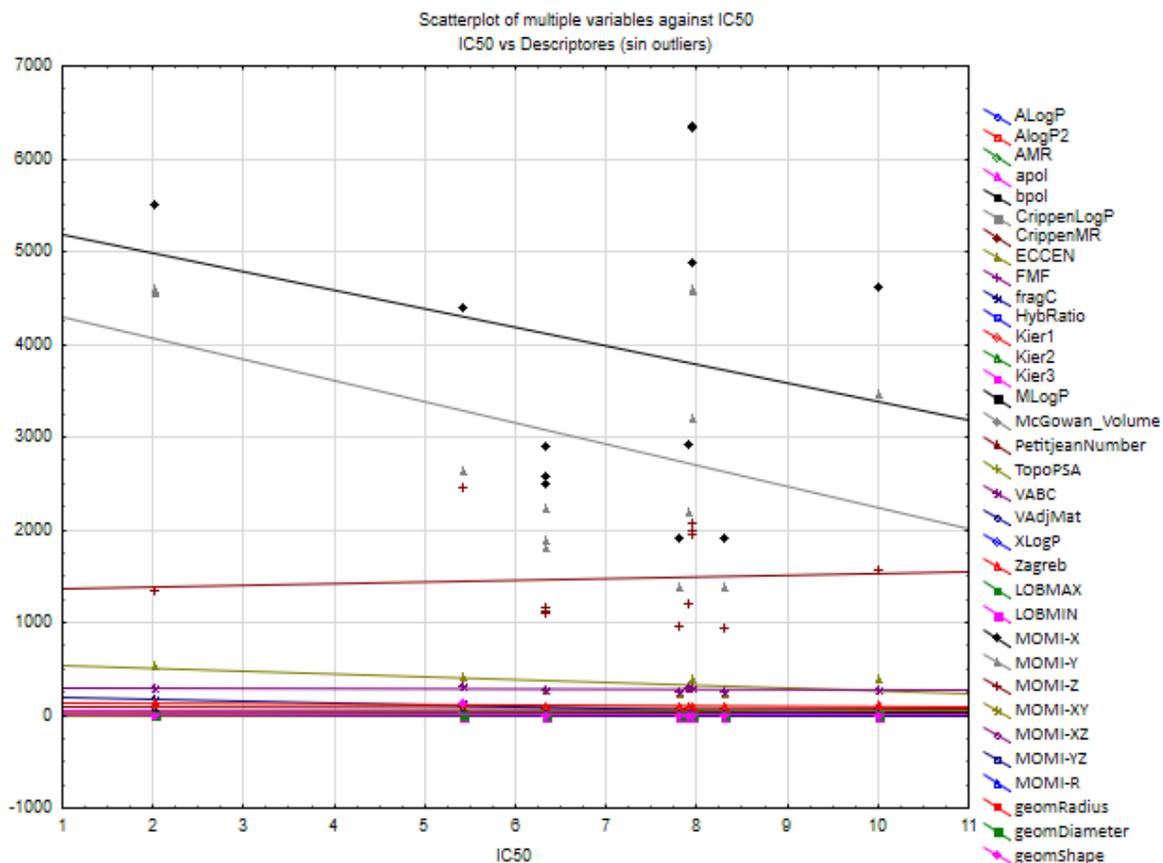


Figura. 8. Resultados regresión lineal múltiple de cada uno de los descriptores 2D y 3D, QSAR realizados a las moléculas de la clase *ISRS* comerciales o experimentales sin *outliers*. Tomado de: *Software Statistica*.

Cómo se observa en la Figura. 7, se obtuvieron resultados de todos los descriptores tanto 2D como 3D de las moléculas restantes junto con su coeficiente de linealidad y la ecuación de la línea de tendencia la cual la describe. Los descriptores 2D están simbolizados con las letras de la C a la X, los descriptores 3D de igual manera; pero, de la C a la H acompañados de las siglas 3D las cuales los caracterizan. De esta manera, C =

*A*LogP, D = *A*LogP2, E = AMR, F = *apol*, G = *bpol*, H = *CrippenLogP*, I = *CrippenAMR*, J = *ECCEN*, K = *fMF*, L = *FragC*, M = *HybRatip*, N = *Kier1*, O = *Kier2*, P = *Kier3*, Q = *MLogP*, R = *McGowan_Volume*, S = *PetitjeanNumber*, T = *TopoPSA*, U = *VABC*, V = *VAdjMat*, W = *XLogP*, X = *Zagreb*, C3D = *LOBMAX*, D3D = *LOBMIN*, E3D = *MOMI-X*, F3D = *MOMI-Y*, G3D = *MOMI-Z*, H3D = *MOMI-XY*, I3D = *MOMI-XZ*, J3D = *MOMI-YZ*, K3D = *MOMI-R*, L3D = *geomRadius*, M3D = *geomDiameter* y N3D = *geomShape*.

Sin embargo, al obtener los resultados de los descriptores y la linealidad otorgada sin los datos atípicos, no se lograron evidenciar valores que se acercaran a determinar una regresión lineal coherente; la cual funcionará, para determinar cuáles son los mejores descriptores hallados; que determinarían una relación entre las moléculas presentadas; ya que, una mínima parte de los descriptores, demostraron tener un coeficiente de determinación aproximado a uno; el cual determinaría la linealidad de los datos y que tan viable sería seleccionar ese descriptor para realizar el modelo QSAR en la investigación.

Por esta razón, se decidió quitar algunas moléculas en las regresiones lineales realizadas. Para este caso, se suprimió la molécula de *Fluoxetina*, obteniendo mejores resultados de linealidad y un coeficiente de determinación con mayor aproximación a 1. Los resultados, se evidencian en la Figura. 9 y Tabla. 5.

	DESCRIPTOR	R ²		DESCRIPTOR	R ²
2D	<i>A</i> LogP	0,0044	3D	<i>TopoPSA</i>	0,2638
	<i>A</i> LogP2	0,0014		<i>VABC</i>	0,1776
	AMR	0,9026		<i>VAdjMat</i>	0,4366
	<i>apol</i>	0,5187		<i>XLogP</i>	0,2374
	<i>bpol</i>	0,0049		<i>Zagreb</i>	0,7818
	<i>CrippenLogP</i>	0,7698		<i>LOBMAX</i>	0,8374
	<i>Crippen MR</i>	0,8946		<i>LOBMIN</i>	0,8339
	<i>ECCEN</i>	0,6129		<i>MOMI-X</i>	0,1516
	<i>fMF</i>	0,9224		<i>MOMI-Y</i>	0,2895
	<i>fragC</i>	0,9147		<i>MOMI-Z</i>	0,0063
	<i>hybratio</i>	0,5586		<i>MOMI-XY</i>	0,3269
	<i>Kier1</i>	0,0007		<i>MOMI-XZ</i>	0,5713

MLogP	0,3413	MOMI-YZ	0,6343
Kier2	0,0042	MOMI-R	0,0700
Kier3	0,0658	geomRadius	0,0518
McGowan_Volum e	0,2693	geomDiameter	0,2063
PetitjeanNumber	0,3554	geomShape	0,0056

Tabla. 5. Resultados de coeficiente de determinación en las regresiones lineales realizadas para cada uno de los descriptores sin *outliers*.

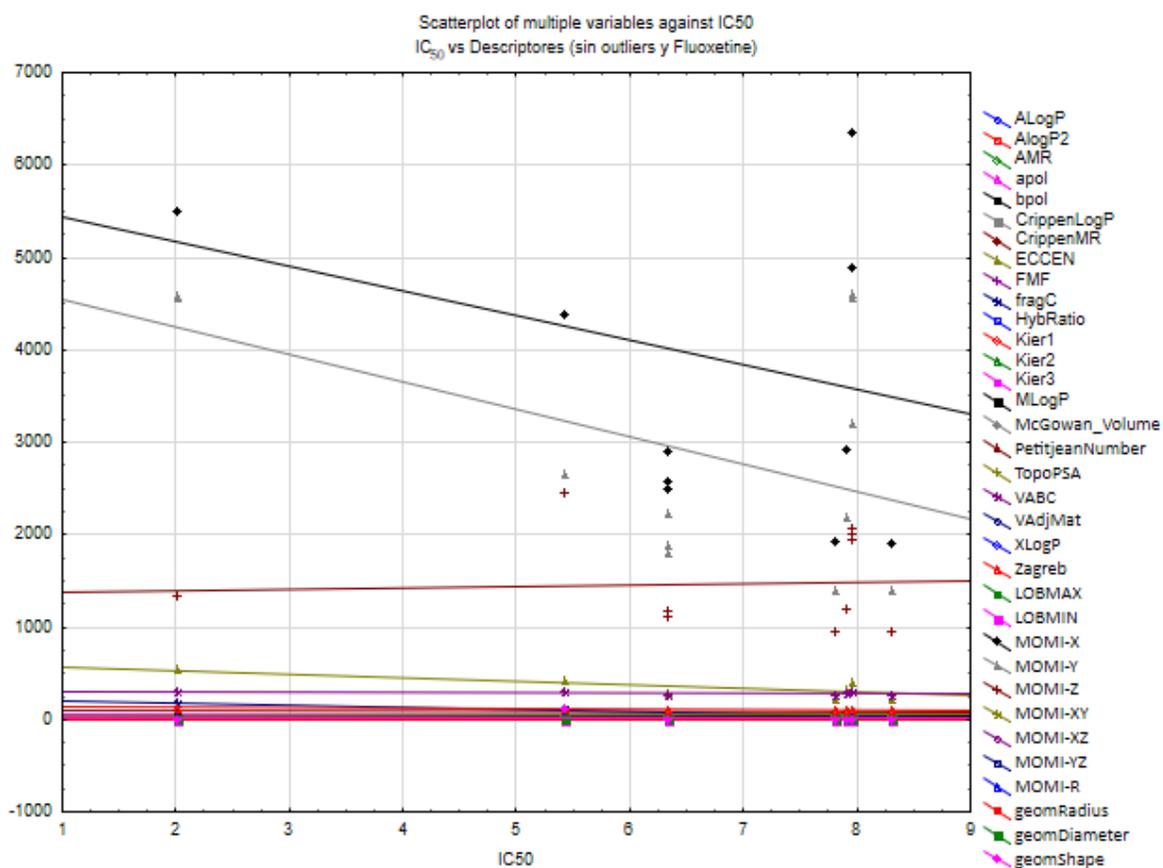


Figura. 9. Resultados regresión lineal múltiple de cada uno de los descriptores 2D y 3D, QSAR realizados a las moléculas de la clase ISRS comerciales o experimentales sin outliers considerando la Fluoxetine. Tomado de: Software Statistica.

Posteriormente se seleccionaron los mayores valores de los coeficientes de determinación de los descriptores sin datos atípicos, lo cual nos arrojó los mejores

descriptores que presentaban una alta linealidad al ser relacionados con los valores de IC_{50} correspondientes:

	Mejores descriptores	Abreviatura	R^2
2D	AMR	<i>Molar Refractivity (Modelo de Ghose)</i>	0,9026
	fMF	<i>Fraction of molecular framework</i>	0,9224
	fragC	<i>Fragment Complexity</i>	0,9147
3D	LOBMAX	<i>Length Over Breadth Maximum</i>	0,8374

Tabla. 6. Mejores descriptores con mayor coeficiente de determinación y su abreviatura correspondiente

7.7. CONSTRUCCIÓN DE LA RED NEURONAL

La red neuronal se creó mediante el *Toolbox* del software *Matlab* denominado *nnstart*, con el propósito de predecir el IC_{50} de las estructuras químicas análogas modeladas. Esta red se realizó con los 4 descriptores con mejor linealidad, calculada mediante regresiones lineales, de las moléculas de la clase *ISRS* comerciales o experimentales frente al IC_{50} correspondiente encontrado en la bibliografía. Cabe mencionar que estos mismos descriptores ingresados en la red neuronal ofrecen una descripción de tipo numérica de la actividad biológica de cada una de las estructuras químicas de las moléculas, y, además, estos datos cuantitativos son similares entre las moléculas de la clase *ISRS* comerciales o experimentales escogidas para la red neuronal.

Para crear la red neuronal se establecieron dos matrices inicialmente, correspondientes a los datos de entrada y los datos objetivos. La matriz de los datos de entrada tiene un

tamaño de 4x13 respectivos a los cuatro descriptores de mejor linealidad, que son *AMR*, un descriptor de clase 2D que corresponde a la refractividad molar de la molécula; *fMF*, *fraction of molecular framework*, descriptor 2D que caracteriza cuantitativamente la complejidad de una molécula vinculando el número de átomos sin incluir el número de enlaces, número de heteroátomos y el hidrógeno; *FragC*, descriptor 2D que mide la complejidad de un sistema por fragmentos en la molécula; y *LOBMAX*, descriptor 3D que describe numéricamente la relación máxima entre la longitud y el ancho de una molécula evaluando extensiones en los ejes Y y X rotando sobre el eje Z cada 10 grados la molécula. (Yap CW, 2011; Casanoba Sorní, 2015; Yap, 2011) Estos descriptores mencionados están en la matriz de entrada frente a las 13 moléculas *ISRS* comerciales o experimentales. Los datos objetivos, los cuales definen la salida de la red neuronal, se reflejan en la matriz de 1x13 que corresponde a los IC_{50} de las moléculas comerciales.

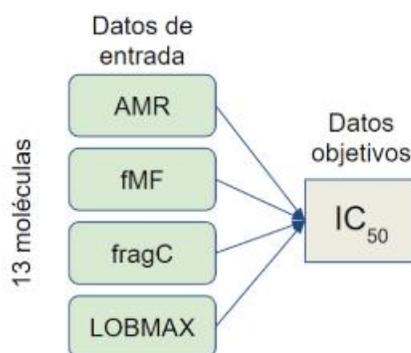


Figura. 10. Configuración de los datos de la red neuronal

Posteriormente, se eligieron los porcentajes para la muestra de entrenamiento (*Training*), la muestra de validación (*Validation*) y la muestra de prueba (*Testing*) que corresponden, por defecto, a 70%, 15% y 15% respectivamente. (“Validation of test with artificial neural network”) Después, se definió la arquitectura de la red neuronal donde se establecen las neuronas presentes en la capa oculta de la red que, por defecto, corresponden a 10. Según lo anterior, la estructura se ilustra de la siguiente forma:

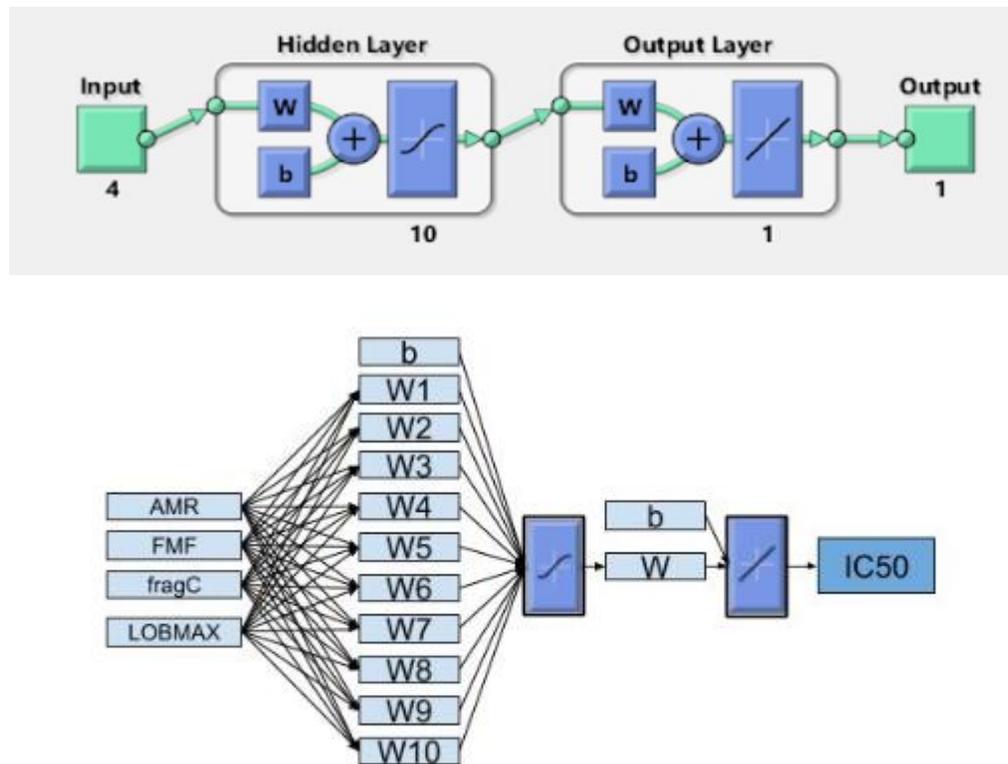


Figura. 11. Estructura de red neuronal. Tomado de: Software *Matlab*.

Para proceder con el entrenamiento de la red neuronal se requirió seleccionar el algoritmo que rige esta etapa. Para la red se optó por el algoritmo *Levenberg-Marquardt*, *backpropagation*, método implementado para resolver problemas de mínimos cuadrados no lineales, basado en el uso de derivadas de segundo orden; ya que este algoritmo se limita a redes pequeñas con pocos parámetros suponiendo que la función que se genera es lineal, testeando pruebas en la red mediante variaciones de los pesos sinápticos para determinar el error mínimo. (Caicedo & López, 2017)

Después de realizar varios re-entrenamientos de la red neuronal, se obtuvieron gráficas de la regresión de las muestras de *Training*, *Validation* y *Testing*:

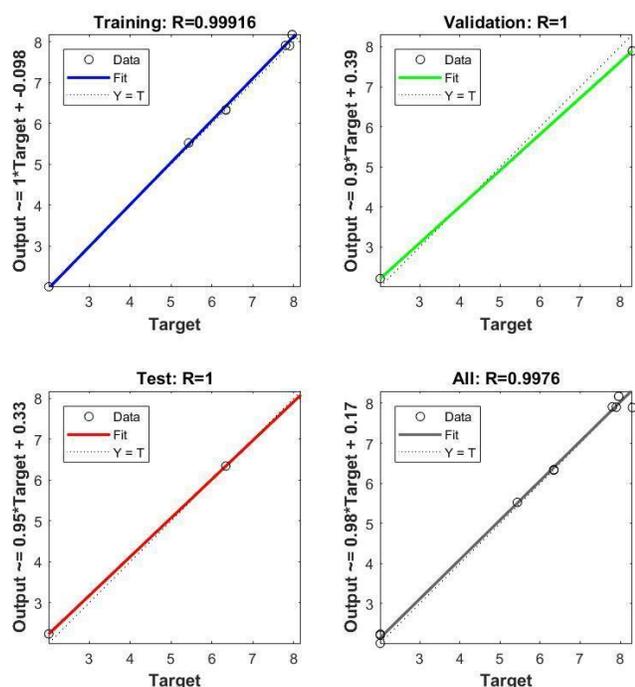


Figura. 12. Gráficas de la regresión de las muestras de *Training*, *Validation* y *Testing*.

Tomado de: Software *Matlab*.

Finalmente, se guardó la función resultante de la red neuronal en el software Matlab para posteriormente, cargar datos de descriptores de las moléculas diseñadas para obtener el valor de IC_{50} experimental.

7.8. MODELAMIENTO DE NUEVAS MOLÉCULAS ANÁLOGAS A LA CLASE ISRS

Para el modelamiento de las nuevas moléculas análogas a la *Fluoxetina*, se tuvieron en cuenta los resultados de la regresión lineal múltiple, la cual determinó el curso de la red neuronal y el *docking* molecular (afinidad ($kcal/mol$)) de las moléculas de la clase ISRS comerciales o experimentales. (Tabla. 2 y Tabla. 4) De aquí, se determinaron las mejores

moléculas basadas en los resultados de afinidad obtenidos, realizados por medio del software *AutodockVina* (Trott & Olson, *Autodock Vina*, 2010), las cuales fueron *Paroxetina*, *Vilazodona* y *Desvenlafaxina benzoato*. A cada una de estas moléculas, se le realizaron 8 modificaciones, todas en el núcleo de cada una, más específicamente en el benceno que presentan.

Los cambios fueron realizados siguiendo los patrones de sustitución en los hidrocarburos aromáticos (orto, meta, para). En primera instancia se sustituyen con las mismas moléculas o elementos, incluidas en la molécula original; luego, se agregaba un Metilo (CH_3) o un Trifluorometil (CF_3) continuando con los mismos patrones. (Fig. 13)

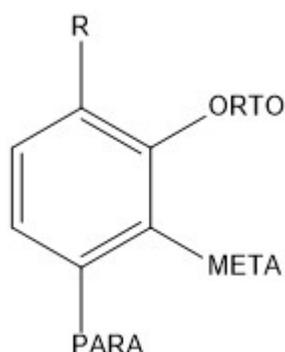


Figura. 13. Patrones de sustitución en los hidrocarburos aromáticos.

Ya teniendo modeladas todas las moléculas con sus respectivas sustituciones, se les realizó el docking molecular ($kcal/mol$) y se calculó los cuatro descriptores escogidos para realizar la red neuronal (*AMR*, *fMF*, *FragC* y *LOBMAX*); para el docking molecular se le realizaron 5 pruebas para cada molécula y cada una de las pruebas produce 9 resultados; es decir, en cuanto a afinidad se obtuvieron un total de 125 resultados. Ahora bien, los resultados de los descriptores, hallados mediante el software *PaDEL* (Yap CW, 2011), se ingresaron a una función de la red neuronal que permitió simular la misma para así obtener la salida correspondiente, el IC_{50} teórico de cada una de las moléculas.

La primera molécula a la cual se le realizaron las sustituciones fue la *Paroxetina*, en su composición esta molécula de la clase *ISRS* tiene un Flúor (F) en la posición '*para*'; es decir, se desplazó un F a la posición '*orto*' y '*meta*'. Luego se realizaron las mismas sustituciones, pero con *Metil* y *Trifluorometil* en las tres posiciones. (Fig. 14)

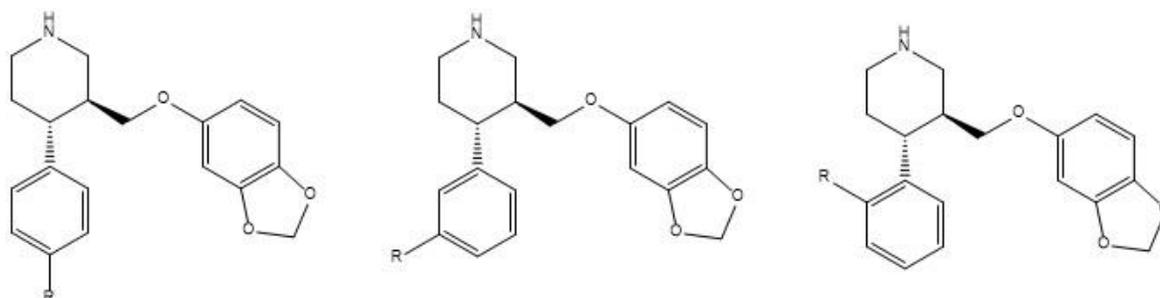


Figura. 14. Paroxetina con sus respectivas sustituciones.

	AFINIDAD (Kcal/mol)						IC ₅₀ (nM)
	1	2	3	4	5	PROM	
Paroxetina (original)	-10,6	-10,6	-10,7	-10,6	-10,6	-10,62	2,01
Paroxetina (orto)	-10,7	-10,8	-10,7	-10,6	-10,7	-10,7	1,946
Paroxetina (meta)	-10,5	-10,5	-10,5	-10,4	-10,5	-10,48	1,946
Paroxetina CH ₃ (orto)	-10,2	-10,2	-10,2	-10,2	-10,2	-10,2	3,453
Paroxetina CH ₃ (meta)	-10,7	-10,6	-10,7	-10,6	-10,6	-10,64	3,613
Paroxetina CH ₃ (para)	-10,6	-10,6	-10,6	-10,6	-10,6	-10,6	3,996
Paroxetina CF ₃ (orto)	-10,7	-10,7	-10,7	-10,7	-10,7	-10,7	4,587
Paroxetina CF ₃ (meta)	-11,2	-11,2	-11,2	-11,2	-11,1	-11,18	4,763
Paroxetina CF ₃ (para)	-11,2	-11,1	-11,2	-11,1	-11,2	-11,16	5,350

Tabla. 7. Resultados docking molecular e IC₅₀ de las moléculas modeladas de la clase *ISRS* teóricas (*Paroxetina*).

En segundo lugar, se realizó el mismo procedimiento con la molécula de *Vilazodona*; sin embargo, adherido al *benceno* no se encontraba la molécula de Flúor; pero sí se encuentra un grupo de cianuro como sustituyente. (Fig. 15)

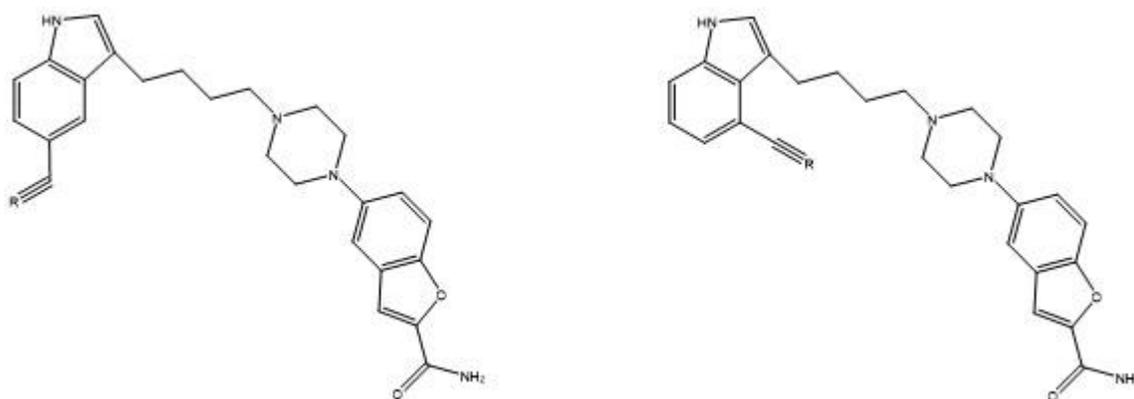


Figura. 15. *Vilazodona* con sus respectivas sustituciones.

	AFINIDAD (Kcal/mol)					PROM	IC ₅₀ (nM)
	1	2	3	4	5		
Vilazodone (original)	-11,1	-10,8	-10,6	-10,7	-11	-10,84	0,200
Vilazodone CH ₃ (orto)	-11,2	-11,2	-11,2	-11,3	-11,3	-11,24	9,046
Vilazodone CH ₃ (meta)	-11,2	-11,2	-11,2	-11,4	-11,2	-11,24	8,975
Vilazodone CF ₃ (orto)	-11,6	-11,5	-11,6	-11,5	-11,5	-11,54	3,512
Vilazodone CF ₃ (meta)	-11,4	-11,4	-11,4	-11,5	-11,5	-11,44	3,489
Vilazodone (orto)	-10,8	-10,8	-10,9	-10,7	-10,8	-10,8	1,524

Tabla. 8. Resultados docking molecular e IC₅₀ de las moléculas modeladas de la clase *ISRS* teóricas (*Vilazodona*).

Por último, se realizaron las sustituciones en la molécula de *Desvenlafaxina Benzoato* en su estructura original; esta tiene un grupo hidroxilo unido a su benceno (Fig. 16) y de aquí se realizó el mismo proceso que con las moléculas anteriores.

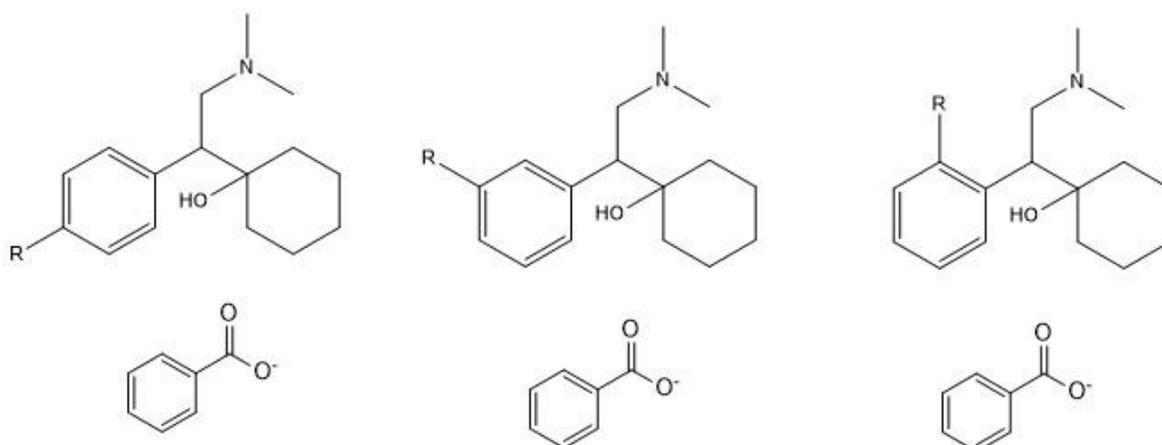


Figura. 16. *Desvenlafaxina Benzoato* con sus respectivas sustituciones.

	AFINIDAD (Kcal/mol)					PROM	IC ₅₀ (nM)
	1	2	3	4	5		
Desvenlafaxina benzoato	-10,9	-10,9	-10,9	-10,9	-10,9	-10,9	6,340
Desvenlafaxina benzoato CF ₃ (meta)	-12,4	-12,1	-12,1	-12,1	-12,1	-12,16	3,954
Desvenlafaxina benzoato CF ₃ (orto)	-11,2	-11,2	-11,2	-11,2	-11,2	-11,2	3,954
Desvenlafaxina benzoato CF ₃ (para)	-11,9	-11,9	-11,9	-11,9	-11,9	-11,9	4,126
Desvenlafaxina benzoato CH ₃ (meta)	-11,5	-11,5	-11,5	-11,5	-11,4	-11,48	7,576
Desvenlafaxina benzoato CH ₃ (orto)	-11,1	-11	-11,1	-11,1	-11,1	-11,08	7,576
Desvenlafaxina benzoato CH ₃ (para)	-11,3	-11,3	-11,3	-11,3	-11,3	-11,3	7,572
Desvenlafaxina benzoato (meta)	-11,1	-11	-11,1	-11,2	-10,9	-11,06	6,295
Desvenlafaxina benzoato (orto)	-10,9	-10,9	-11	-11,1	-10,9	-10,96	6,295

Tabla. 9. Resultados docking molecular e IC₅₀ de las moléculas modeladas de la clase *ISRS* teóricas (*Desvenlafaxina Benzoato*).

Como se dijo anteriormente, para cada una de las moléculas modeladas se hallaron los cuatro descriptores escogidos para la creación de la red neuronal y así, hallar el IC₅₀ teórico de cada una, evidenciadas en la Tabla. 7. 8. y 9., en la última columna de las

mismas. Los resultados de dichos descriptores se observan en la siguiente tabla. (Tabla. 10)

Nombre	AMR	FMF	fragC	LOBMAX
Desvenlafaxine benzoato CF ₃ (meta)	116.2176	0.3115	94.0700	1.0862
Desvenlafaxine benzoato CF ₃ (orto)	116.2176	0.3115	94.0700	1.0862
Desvenlafaxine benzoato CF ₃ (para)	116.2176	0.3115	94.0700	1.1818
Desvenlafaxine benzoato CH ₃ (meta)	49.8145	0.2826	58.0200	1.4799
Desvenlafaxine benzoato CH ₃ (orto)	49.8145	0.2826	58.0200	1.4799
Desvenlafaxine benzoato CH ₃ (para)	49.8145	0.2826	58.0200	1.3596
Desvenlafaxine benzoato (meta)	46.8770	0.2955	58.0300	1.4799
Desvenlafaxine benzoato (orto)	46.8770	0.2955	58.0300	1.4799
Paroxetina CF ₃ (meta)	42.2497	0.4894	198.0700	1.4461
Paroxetina CF ₃ (orto)	42.2497	0.4894	198.0700	1.4828
Paroxetina CF ₃ (para)	42.2497	0.4894	198.0700	1.3178
Paroxetina CH ₃ (meta)	41.3172	0.4894	177.0400	1.4299
Paroxetina CH ₃ (orto)	41.3172	0.4894	177.0400	1.4820
Paroxetina CH ₃ (para)	41.3172	0.4894	177.0400	1.3135
Paroxetina (meta)	36.6876	0.5227	177.0500	1.4820
Paroxetina (orto)	36.6876	0.5227	177.0500	1.4820
Vilazodona CF ₃ (meta)	129.3808	0.4242	331.0900	2.0794
Vilazodona CF ₃ (orto)	129.5876	0.4242	331.0900	2.3651
Vilazodona CH ₃ (meta)	57.9083	0.4516	304.0600	2.0200
Vilazodona CH ₃ (orto)	57.9083	0.4516	304.0600	2.3472

Tabla. 10. Resultados descriptores moléculas modeladas de la clase ISRS teóricas (AMR, fragC, fMF, LOBMAX)

7.9. TOXICIDAD

Por último, se realizó el análisis de toxicidad de las moléculas que en todo el proceso de la metodología QSAR realizada, sus resultados fueron mejores en cuanto a afinidad e IC₅₀ teórico. Estas son: Paroxetina con su radical de Flúor ubicado en los diferentes patrones de sustitución (orto y meta) (Figura. 14) y Desvenlafaxina Benzoato con un radical trifluorometil ubicado en todos sus patrones de sustitución (orto, meta y para) (Figura.16). (Younsey University, 2014) El análisis de toxicidad se realizó por medio del software

PreADMED un software de uso libre, para predecir datos de descriptores moleculares, predicción de similitud de drogas y predicción de toxicidad. Este *software* se encuentra en un servidor *web* y está realizado principalmente en un lenguaje de secuencias de comandos comúnmente utilizado para aplicaciones web que se comunica con el navegador llamado PHP y este, a su vez utiliza un conjunto de programas en C que proporcionan gran parte de la funcionalidad de PreADMED. (Younsey University, 2014)

En este caso, utilizamos únicamente la herramienta para hallar la toxicidad teórica que podría tener cada una de las moléculas escogidas. La predicción de toxicidad *in silico*, crea cada vez más importancia en cuanto al descubrimiento temprano de fármacos, ya que el 30% de los candidatos de fármacos en las metodologías QSAR realizadas *in silico*, fracasan debido a los problemas que se puedan presentar en este ámbito. La herramienta, nos permite evaluar la mutagenicidad de *Ames Salmonella TA100, TA98, TA1535*, la carcinogenicidad en roedores de 2 años (ratas y ratones). (Younsey University, 2014)

En primera instancia se realizaron las pruebas de toxicidad únicamente para las moléculas que tienen una afinidad y un IC_{50} teóricamente mejor que la molécula original. De aquí, solo se obtuvo que la Paroxetina con su radical de flúor en orto es seleccionado como mejor candidato potencial en cuanto a todos los aspectos (IC_{50} , afinidad y toxicidad), los demás candidatos evaluados en esta fase, aunque tuvieron un IC_{50} menor, tuvieron en varias de las variables de toxicidad valores mayores que las moléculas originales. Los resultados se pueden observar en las Tablas. 11 y 12; teniendo en cuenta que el círculo de color verde, indica que los valores de la molécula son menores o iguales que la original y que el círculo de color rojo indica que el valor obtenido es mayor en comparación con la molécula original.

	Paroxetina	Paroxetina (meta)		Paroxetina (orto)	
ID					
algae_at	0.0308725	0.0307709	●	0.0308298	●
Ames_test	mutagen	mutagen	●	mutagen	●
Carcino_Mouse	negative	negative	●	negative	●
Carcino_Rat	negative	negative	●	negative	●
daphnia_at	0.0759274	0.0761798	●	0.0695175	●
hERG_inhibition	medium_risk	medium_risk	●	medium_risk	●
medaka_at	0.00958605	0.00964596	●	0.00812274	●
minnow_at	0.0148405	0.014739	●	0.0145742	●
TA100_10RLI	negative	negative	●	negative	●
TA100_NA	negative	negative	●	negative	●
TA1535_10RLI	negative	negative	●	negative	●
TA1535_NA	negative	negative	●	negative	●

Tabla. 11. Resultados de toxicidad moléculas con mejor afinidad e IC₅₀ (Paroxetina)

	Desvenlafaxina Benzoato	Desvenlafaxina benzoato CF3 (orto)		Desvenlafaxina benzoato CF3 (meta)		Desvenlafaxina benzoato CF3 (para)	
ID							
algae_at	0.0534785	0.0192083	●	0.0193852	●	0.0187933	●
Ames_test	mutagen	mutagen	●	mutagen	●	mutagen	●
Carcino_Mouse	negative	negative	●	negative	●	negative	●
Carcino_Rat	negative	negative	●	negative	●	negative	●
daphnia_at	0.032867	0.130282	●	0.0887743	●	0.0826294	●
hERG_inhibition	high_risk	low_risk	●	low_risk	●	low_risk	●
medaka_at	0.00206205	0.0224562	●	0.0109259	●	0.00954888	●
minnow_at	2,00E-01	0.00537708	●	0.00543223	●	0.00546222	●
TA100_10RLI	negative	negative	●	negative	●	negative	●
TA100_NA	negative	negative	●	negative	●	negative	●
TA1535_10RLI	negative	negative	●	negative	●	negative	●
TA1535_NA	negative	negative	●	negative	●	negative	●

Tabla. 12. Resultados de toxicidad moléculas con mejor afinidad e IC₅₀ (Desvenlafaxina benzoato CF₃)

Sin embargo, se procedieron a realizar las pruebas de toxicidad de las demás moléculas (Tabla. 13, 14 y 15); ya que, siguiendo el objetivo general de la investigación, se debía hallar un fármaco con mayor afinidad por la proteína de membrana *SERT*; así que,

habiendo obtenido una mejor afinidad es válido realizar el análisis de toxicidad mediante *preADMED*.

	Paroxetina	Paroxetina CH ₃ (meta)		Paroxetina CF ₃ (orto)		Paroxetina CF ₃ (meta)		Paroxetina CF ₃ (para)	
ID									
algae_at	0.0308725	0.0236445	●	0.0164409	●	0.0160797	●	0.0168915	●
Ames_test	mutagen	mutagen	●	non-mutagen	●	non-mutagen	●	non-mutagen	●
Carcino_Mouse	negative	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●
Carcino_Rat	negative	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●
daphnia_at	0.0759274	0.0560628	●	0.030505	●	0.0366448	●	0.0369126	●
hERG_inhibition	medium_risk	medium_risk	●	medium_risk	●	medium_risk	●	medium_risk	●
medaka_at	0.00958605	0.00541544	●	0.00168693	●	0.0023805	●	0.00241327	●
minnow_at	0.0148405	0.0146169	●	0.00344442	●	0.00350723	●	0.00354838	●
TA100_10RLI	negative	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●
TA100_NA	negative	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●
TA1535_10RLI	negative	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●
TA1535_NA	negative	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●

Tabla. 13. Resultados de toxicidad moléculas con mejor afinidad e IC₅₀ (Paroxetina CH₃ meta y Paroxetina CF₃)

	Vilazodona	Vilazodona CH ₃ (orto)		Vilazodona CH ₃ (meta)		Vilazodona CF ₃ (orto)		Vilazodona CF ₃ (meta)	
ID									
algae_at	0.00701667	0.00478146	●	0.00504352	●	0.00341561	●	0.00346426	●
Ames_test	mutagen	mutagen	●	mutagen	●	non-mutagen	●	non-mutagen	●
Carcino_Mouse	negative	positive	●	positive	●	positive	●	positive	●
Carcino_Rat	positive	positive	●	positive	●	negative	●	negative	●
daphnia_at	0.00642079	0.0048113	●	0.00477165	●	0.00333472	●	0.00340345	●
hERG_inhibition	medium_risk	medium_risk	●	medium_risk	●	medium_risk	●	medium_risk	●
medaka_at	0.000123089	6,68E+00	●	6,58E+00	●	3,28E+00	●	3,41E+00	●
minnow_at	0.000563719	0.000328367	●	0.000331386	●	7,95E+00	●	7,65E+00	●
TA100_10RLI	negative	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●
TA100_NA	negative	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●
TA1535_10RLI	negative	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●
TA1535_NA	negative	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●

Tabla. 14. Resultados de toxicidad moléculas con mejor afinidad e IC₅₀ (Vilazodona CH₃ y Vilazodona CF₃)

	Desvenlafaxina Benzoato	Desvenlafaxina Benzoato CH ₃ (meta)		Desvenlafaxina Benzoato CH ₃ (orto)		Desvenlafaxina Benzoato CH ₃ (para)		Desvenlafaxina Benzoato (meta)		Desvenlafaxina Benzoato (orto)	
ID											
algae_at	0.0534785	0.0259173	●	0.0257683	●	0.025995	●	0.0315487	●	0.0309574	●
Ames_test	mutagen	non-mutagen	●	mutagen	●	non-mutagen	●	non-mutagen	●	mutagen	●
Carcino_Mouse	negative	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●
Carcino_Rat	negative	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●
daphnia_at	0.032857	0.143049	●	0.188001	●	0.134469	●	0.250003	●	0.249282	●
hERG_inhibition	high_risk	low_risk	●	low_risk	●	low_risk	●	low_risk	●	low_risk	●
medaka_at	0.00206205	0.0273889	●	0.0457566	●	0.0243852	●	0.081804	●	0.0813612	●
minnow_at	2,00E-01	0.0222239	●	0.0220501	●	0.0223181	●	0.0493157	●	0.0488226	●
TA100_10RLU	negative	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●
TA100_NA	negative	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●
TA1535_10RLU	negative	negative	●	positive	●	negative	●	negative	●	positive	●
TA1535_NA	negative	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●	negative	●

Tabla. 15. Resultados de toxicidad moléculas con mejor afinidad e IC₅₀ (Desvenlafaxina benzoato y Desvenlafaxina benzoato CH₃)

7.10. CONSIDERADO COMO MEJOR CANDIDATO

Al realizar las sustituciones siguiendo los patrones de sustitución en los hidrocarburos aromáticos, para el modelamiento de las nuevas moléculas análogas a la clase *ISRS*; se obtuvieron de las 21 moléculas modeladas 15 con mayor afinidad en comparación con las moléculas originales. Sin embargo, al obtener los resultados de los descriptores de dichas moléculas y agregarlas a la red neuronal propuesta, obteniendo así, un IC₅₀ teórico para cada una; nuevamente se realizó una comparación entre la molécula original y las moléculas nuevas modeladas; pero esta vez, teniendo en cuenta los valores de IC₅₀ obteniendo solo 7 moléculas consideradas como mejores candidatos (Tabla. 7 - 9).

Luego de realizar las pruebas de toxicidad para cada una de las moléculas modeladas (Tabla. 11 – 15); se consideraron sólo dos de ellas como mejores candidatos; en este caso, habiendo comparado ya datos de afinidad, IC₅₀ y toxicidad. Estas moléculas fueron: Paroxetina con un patrón de sustitución en su hidrocarburo aromático en la posición orto con un Flúor y Desvenlafaxina benzoato con un patrón de sustitución en su hidrocarburo aromático en la posición meta con un trifluorometilo; a continuación, se resaltan sus resultados en comparación con la molécula original (resaltada en gris).

Molécula	PROMEDIO AFINIDAD (Kcal/mol)	IC ₅₀ (nM)
Paroxetina (original)	-10,6	2,01
Paroxetina (orto)	-10,7	1,946
Desvenlafaxina benzoato	-10,9	6,34
Desvenlafaxina benzoato CF ₃ (meta)	-12,2	3,954

Tabla. 16. Resultados de afinidad e IC₅₀ de los mejores candidatos

Ames_test	Carcino_Mouse	Carcino_Rat	hERG_inhibition
Mutagen	Negative	Negative	Medium_risk
Mutagen	Negative	Negative	Medium_risk
TA100_10RLI	TA100_NA	TA1535_10RLI	TA1535_NA
negative	negative	negative	negative
negative	negative	negative	negative

Tabla. 17. Resultados de toxicidad del mejor análogo de la Paroxetina

Ames_test	Carcino_Mouse	Carcino_Rat	hERG_inhibition
Mutagen	Negative	Negative	High_risk
Mutagen	Negative	Negative	Low_risk
TA100_10RLI	TA100_NA	TA1535_10RLI	TA1535_NA
negative	negative	negative	negative
negative	negative	negative	negative

Tabla. 18. Resultados de toxicidad del mejor análogo de la Desvenlafaxina Benzoato

8. ANÁLISIS DE RESULTADOS

El sitio o centro activo de una enzima corresponde al lugar estructural de la misma donde se ancla un sustrato para llevar a cabo una reacción. La proteína de membrana SERT posee un sitio activo donde se unen diferentes sustratos como los fármacos ISRS. Como se mencionó anteriormente en la sección de resultados, SERT fue determinada estructuralmente en los últimos años (Coleman, Green, & Gouaux, 2016), por lo tanto, su centro activo no ha sido designado. Para el desarrollo de esta investigación, se encontró el potencial sitio activo de SERT mediante pruebas cuantitativas para con la afinidad de los sustratos.

Para esto, primeramente, se eliminaron todas las moléculas y ligandos anclados en la estructura de la proteína SERT, con el fin que estos no afectaran de ninguna manera con la determinación del sitio activo debido a la interacción que puedan tener con el sustrato. Posteriormente, mediante la visualización de la estructura de SERT, se determinó cual podría ser la zona donde se encuentre el sitio activo, ya que en la misma se observaba una hendidura en la proteína y la vez, una estructura tridimensional diferente que podría indicar el lugar donde se ancla el sustrato.

Las pruebas cuantitativas se realizaron mediante el software *AutoDock Vina*, que permite establecer la zona determinada anteriormente mediante un *grid* en forma de cubo, ubicado espacialmente para evaluar la afinidad de la proteína con el sustrato; y se estableció como este la Fluoxetina. Cabe mencionar que la zona establecida anteriormente, donde se observó una hendidura en la proteína, se validó con un grid que abarcó toda la estructura de SERT donde efectivamente los sitios con mayor afinidad se encontraban en esa zona. Debido que la zona o *grid* señalado inicialmente abarcaba un gran espacio en la proteína, se realizaban varias iteraciones donde el software realizaba el docking molecular algunas veces ubicando el sustrato en varios sitios estructurales de SERT, cada uno de ellos con diferente afinidad, donde los mayores datos de estas reflejaban los sitios en los cuales mejor se acoplaba la fluoxetina.

Según lo anterior, la ubicación de los sitios que presentaban datos de mayor afinidad con el sustrato indicaba una zona más reducida que tenía una mayor tendencia al sitio activo de SERT. Este procedimiento se realizó muchas veces hasta encontrar un *grid* muy reducido, que arrojará la mayor afinidad con el sustrato determinando así esta zona, como el potencial sitio activo de SERT. La determinación del sitio activo de SERT mediante este método no es del todo preciso, debido principalmente a la estricta forma que presenta el *grid* de mapeo del software *AutoDock Vina*. Este *grid* tiene una forma cúbica y el docking molecular que se lleva a cabo en el software, se realiza teniendo en cuenta los aminoácidos presentes en el *grid* especificado en el mismo, por lo tanto, a medida que se reduce de tamaño este *grid*, se puede ir descartando, sin propósito alguno, aminoácidos de la proteína SERT que puedan estar presentes en el sitio activo de la misma.

En cuanto a los resultados de afinidad obtenidos por medio del software *AutodockVina* (Trott & Olson, *Autodock Vina*, 2010) donde como se especificó en la sección de resultados, se obtuvieron 1170 resultados; es decir, 45 resultados por molécula. La mayoría de los programas encargados de hacer *Docking* molecular, funciona al relacionar “*in silico*” ligando y proteína; realizando una variación automatizada en el software, generando primero todas las posturas posibles de los ligandos (posición, orientación y conformación) como se puede observar en la siguiente figura:



Figura. 17. Posturas del ligando

Cada una de estas posturas representa un resultado obtenido; tomando así, los mejores resultados de las diferentes posturas realizadas y evidenciándose. (Young, 2009). Por esta razón, se decidieron hacer solo 5 pruebas por molécula modelada; ya que, el almacenamiento de todas las posturas realizadas por el software podría ocupar un espacio significativo en el disco, y de manera análoga, son muy pocas veces las que los investigadores necesitan examinar más resultados de las posturas además de las que generaron mejores resultados. Al tomar estas afirmaciones, los programas de acoplamiento toman una única posición como entrada (sitio activo de *SERT* ubicado manualmente), generan una gran cantidad de posturas y solo almacenan las mejores; es decir, si se realizarán más pruebas las posturas tomadas por el ligando se repetirían obteniendo los mismos resultados. (Young, 2009).

Según (Young, 2009) el resultado más importante del Docking molecular es la energía de acoplamiento del enlace del ligando al sitio activo determinado de *SERT*. Esta, es la cantidad de energía liberada por mol, a la hora de realizar el acoplamiento ligando y proteína. Para la investigación se tomaron los resultados de las posturas, las cuales reportarán la menor energía de unión expresadas en *kcal/mol*. Ahora bien, este fue el único resultado del Docking molecular que se tomó; sin embargo, el software nos brinda otros dos resultados, los cuales son dos diferentes tipos de resultados de *rmsd* (*Root Mean Square Deviation*) o distancia media cuadrática mínima; el cual, es la desviación estándar de los residuos o errores de predicción, estos dispondrán una medida la cual evidenciará que tan lejos de la línea de regresión están los puntos. En este caso, es que tanto cambia cada postura que toma el ligando una de otra; este resultado, no tendrá gran repercusión en cuanto al modelamiento de fármacos análogos a la clase *ISRS*; ya que, los datos que se tomaron en cuanto a afinidad fueron de las mejores posturas obtenidas en cada prueba y el *rmsd* en estas obtuvo un valor de 0. (Velásquez, 2013)

Para entender más a fondo el proceso que conlleva hacer la metodología QSAR, se debe explicar primero qué es *Virtual Screening* o selección virtual, es una técnica utilizada con el fin de identificar estructuras las cuales tengan mayor probabilidad de unirse a un objetivo. En esencia una selección virtual es la parte inicial de una metodología QSAR y

es lo que en esta investigación se realizó hasta la propuesta de la red neuronal. El *virtual screening* se divide en dos partes: *structure based in virtual screening* (estructuras basadas en selección virtual, *SBVS*) o *ligand based in virtual screening* (ligandos basados en selección virtual, *LBVS*). Como su nombre lo dice, *SBVS* estaba basado en las relaciones que tenga la estructura del ligando por el receptor o en este caso la proteína de membrana *SERT*; es decir, esta parte del *virtual screening* se realiza con *Docking molecular*; en cuanto al *LBVS* se basará en el ligando y a todas las propiedades fisicoquímicas que este pueda generar (descriptores), al crear una relación entre las propiedades fisicoquímicas y datos de actividad biológica de las moléculas, se puede crear un modelo matemático o *Machine Learning* el cual se encargará de predecir un IC_{50} teórico para las nuevas moléculas modeladas que se agreguen al modelo matemático. Juntas las dos partes del *virtual screening* nos permitieron predecir nuevas moléculas modeladas consideradas como candidatos para ser teóricamente mejores fármacos de la clase *ISRS* (Carpenter, 2018)

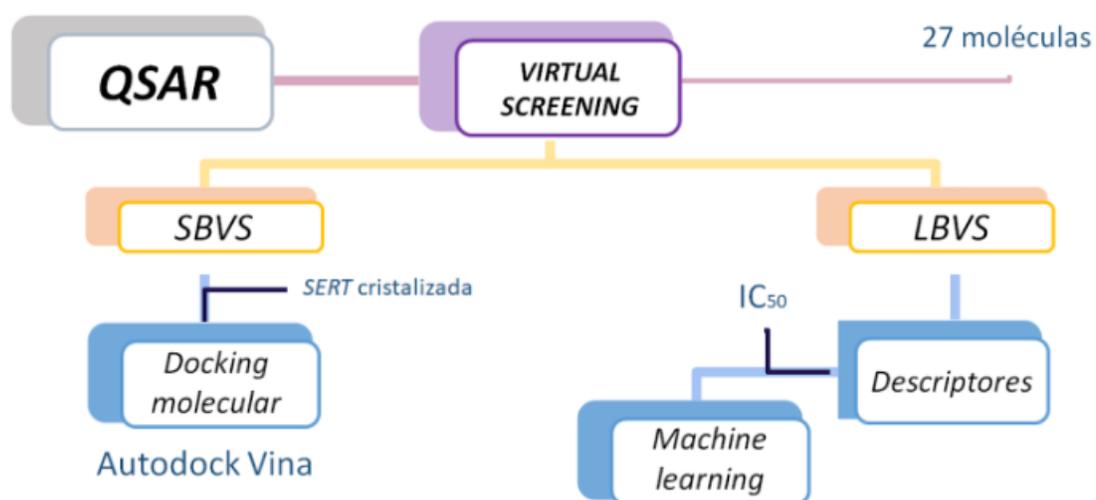


Figura. 18. Modelo metodológico seguido mediante *Virtual Screening*

Ahora bien, para llevar a cabo un estudio *QSAR* se necesitan tres tipos de información, lo primero es tener estructuras moleculares de diferentes compuestos que tengan en común su mecanismo de acción, en segundo lugar, se requieren datos de actividad biológica de cada uno de los ligandos, en este caso se tomó el IC_{50} ; por último, se requieren

propiedades fisicoquímicas (descriptores numéricos). (Lozano & Scior, 2012) Ya que, se obtuvo toda esta información, se procedió a utilizar una regresión lineal múltiple; la cual busca generar una posible relación entre varias variables independientes (descriptores) y otra variable dependiente (IC_{50}); obteniendo así una ecuación lineal o modelo QSAR; la cual sirvió para predecir qué descriptores serían los más afines y generarán una mayor relación para luego introducir los resultados de estos en cuanto a las moléculas nuevas modeladas en la red neuronal y predecir la actividad biológica de las mismas (Tipo prospectivo). (Lozano & Scior, 2012)

El valor de IC_{50} es un parámetro importante para llevar a cabo un análisis QSAR, ya que es una medida cuantitativa de la efectividad la cual una sustancia tiene para inhibir una función bioquímica específica. Como se mencionó anteriormente, para llevar a cabo un correcto análisis en esta investigación, se requiere obtener un valor de IC_{50} teórico de las moléculas modeladas. Con el fin de encontrar estos valores de la constante de inhibición experimentales se buscaron unas variables que se relacionarán directamente con este.

Teniendo en cuenta esta relación, se optó por escoger la red neuronal como método que permitiera obtener los valores de IC_{50} teóricos de las moléculas modeladas, mediante los valores de los descriptores de estas. Debido a lo anterior, se extrajeron los 4 descriptores de las 13 moléculas de la clase ISRS comerciales o experimentales con mejor linealidad, 3 de clase 2D y un descriptor 3D, los cuales son AMR, fMF, FragC y LOBMAX respectivamente. Solo se usaron los descriptores con mejor linealidad para configurar la red debido que si se ingresan más datos que sean atípicos eso significa que la salida de la red neuronal va a contener errores.

A diferencia de otros métodos predictivos, la red neuronal presenta una característica que influyó contundentemente en su selección para predecir el valor de IC_{50} teórico de las moléculas modeladas; esta característica es la capacidad que tiene la red para realizar un aprendizaje adaptativo, ya que aprende a ejercer diversas tareas mediante un entrenamiento y así, diferenciar patrones, liberando al usuario de elaborar modelos adicionales que retrasen o perjudiquen la investigación, ya que aunque las redes son

tolerantes a fallos de programación, debido que almacena información de forma redundante y así, puede seguir respondiendo de buena manera a las simulaciones que se le ejecuten posteriormente; estos modelos no lo son. (Redes neuronales, n.d.)

La red neuronal también se escogió como método de predicción porque permite encontrar soluciones a problemas no lineales como es el caso de obtener valores de IC_{50} teóricos, a partir de valores de descriptores que no presentan ningún tipo de linealidad como se puede ver en la siguiente figura:

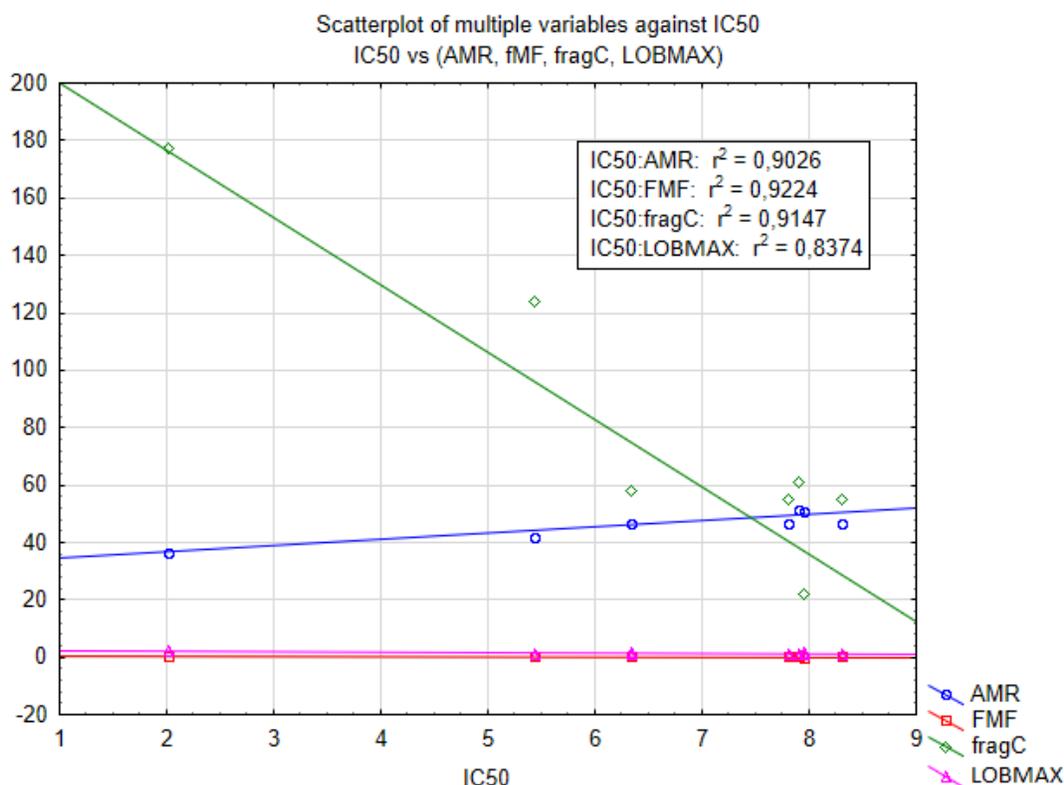


Figura. 19. Regresión lineal múltiple de los descriptores con mejor linealidad vs el IC_{50} experimental correspondiente con coeficientes de determinación.

Si bien en la figura anterior se observa que los mejores descriptores presentan una alta linealidad con los valores de los IC_{50} experimentales evidenciada mediante los coeficientes de determinación mostrados en la figura, también se puede ver que los

valores de los descriptores son muy distintos en magnitud de pesos numéricos, por lo tanto, la linealidad entre ellos es muy deficiente. Debido a este análisis, la red neuronal es un buen método para predecir un dato objetivo, como es el caso del IC_{50} , que presenta linealidad con diferentes valores numéricos, como son los descriptores, a pesar de la poca relación que hay entre ellos. Además de que la red neuronal permite predecir nuestro dato objetivo, este método consiste en varias etapas donde la representación de la información es creada por la misma red neuronal evitando que este complicado proceso lo realice el usuario. (Redes neuronales, n.d.)

Ya sabiendo el método, se escogió el software *Matlab* debido a que integra una herramienta para la creación, configuración y simulación de redes neuronales denominada *nnstart*. Esta herramienta permite realizar redes neuronales con una interfaz muy explicativa de los procedimientos a realizar por el usuario permitiendo ingresar datos para la configuración de la red y asignarle importancia a cada uno de ellos para las etapas correspondientes, evitando errores de programación mediante códigos de líneas de comando que generaría el usuario. Cabe mencionar, que se realizó una regresión lineal de los valores de los descriptores de las moléculas ISRS comerciales con sus valores de IC_{50} para mejorar la relación de dependencia entre estos dos tipos de datos; ya que aumentando la linealidad se encuentra una mayor relación entre los descriptores con el IC_{50} . Por lo tanto, se eliminaron moléculas y descriptores que contenían *outliers* o bien, que afectaban la relación entre los datos.

Como se explicó anteriormente en los resultados, se configuró la red neuronal con los datos de entrada como los descriptores y como datos objetivos los valores de IC_{50} de los ISRS comerciales. Posteriormente, se precisaron los porcentajes de la cantidad de datos destinados a cada una de las etapas de la red neuronal.

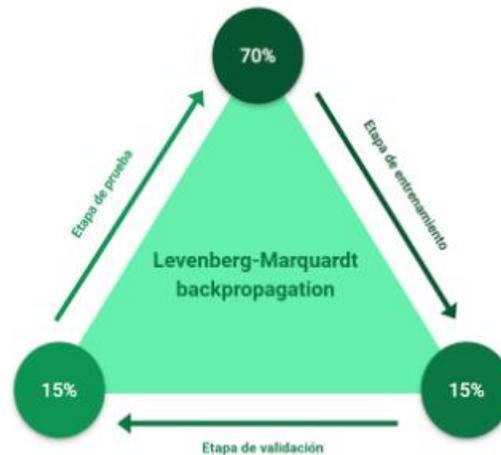


Figura. 20. Porcentajes establecidos de las etapas de la red neuronal.

Para la primera etapa, el entrenamiento, se definió un porcentaje de 70%, debido que es una de las partes más importantes ya que los modelos se ajustan a esta muestra de datos. Además, esta etapa de la red es una gran ventaja de este método, debido que procesa los datos de entrada para indicar una salida esperada. Para las otras etapas, la validación y la prueba, se fijó para ambas un porcentaje de 15%; debido que primero, la muestra de validación sirve para encontrar el modelo matemático predictivo con menos error y segundo, la muestra de prueba, que no influyó en la selección del modelo matemático, sirve para evaluar la universalidad de este. Los porcentajes de estas etapas se encuentran por defecto en la herramienta *nstart* del *software Matlab*, debido que, según la literatura, el objetivo del entrenamiento de una red es minimizar el error, pero algunas veces se sobre ajustan los datos dependiendo de los valores porcentuales obteniendo errores intolerables para la investigación. (Villamil Torres & Delgado Rivera, 2007). Esto se pudo evidenciar debido a que cada una de estas etapas arrojaron gráficas de regresión lineal con alta correlación, lo que es bueno ya que los porcentajes establecidos para la red permitieron que el modelo se ajuste correctamente a los datos ingresados.

Para el entrenamiento de la red neuronal, se eligió como algoritmo de entrenamiento Levenberg-Marquardt backpropagation, el método más usado en las redes neuronales

para resolver problemas no lineales. (Villamil Torres & Delgado Rivera, 2007) Es importante mencionar que, con la regresión lineal realizada anteriormente para establecer las moléculas y descriptores usados en la red, se busca una mayor dependencia de cada uno de los descriptores con el valor de IC_{50} correspondiente y en cambio, este algoritmo encuentra una relación de los cuatro descriptores, ya que no existe linealidad entre ellos; por lo tanto, este algoritmo es apropiado para el tipo de datos que se posee. También, Levenberg-Marquardt backpropagation, es un algoritmo que se usa para un conjunto pequeño de datos como en esta investigación, ya que la red neuronal está estructurada por una matriz de 4x13, respectiva a 4 descriptores y 13 moléculas, como variables de entrada; y una matriz de 1x13, correspondiente a los IC_{50} de las 13 moléculas, como datos objetivos. (Caicedo & López, 2017) Adicionalmente, se optó por implementar el método de *backpropagation* ya que permite obtener valores de salida de la red con el mínimo error; debido que este algoritmo predice una salida según los datos ingresados y realiza una diferencia de este valor con el dato objetivo correspondiente que, de igual modo, se ingresó a la configuración de la red. Esta diferencia se denomina error, dato que la red neuronal ingresa a su configuración donde lo procesa para entrenarse con el mismo, para que posteriormente, al ejecutar la red, este error no se presente.

Para el modelamiento de las nuevas moléculas se tuvieron en cuenta los resultados de todo el *virtual screening* realizado; esto incluye los resultados del *Docking molecular*, los resultados de los descriptores y el IC_{50} de cada una de las 27 moléculas análogas iniciales. Como se aprecia en la sección de resultados (7.8) las moléculas análogas escogidas fueron Paroxetina, Desvenlafaxina Benzoato y Vilazodona; a las cuales se les realizaron 3 cambios principalmente en el núcleo de su estructura con el fin de obtener una mejor afinidad por *SERT* y un mejor IC_{50} teórico.

Se decidieron hacer dichos cambios basados en el efecto inductivo; este, propone en cualquier cadena hidrocarbonada un efecto de polarización, provocando en la cadena desplazamientos electrónicos a través de los enlaces; originando así, la aparición de regiones de distinta densidad de carga. Ahora bien, se dice que un sustituyente en un compuesto o cadena tiene un efecto inductivo negativo (I-) cuando tira de los electrones

de esta y tiene un efecto inductivo positivo (I+) cuando administra densidad electrónica en el resto de la molécula.

Ya teniendo claro el concepto de efecto inductivo, se trae a lugar con el proceso de sustitución llevado a cabo; asimilando al trifluorometil (CF_3) como electrón atrayente o electrón aceptor por efecto inductivo negativo (I-) ya que, este sustituyente es más electronegativo que el carbono al que está sujeto. Por otro lado, la segunda sustitución se asimilará como un electrón dador o donante por efecto inductivo positivo (I+) a un metil (CH_3); debido a que, este será menos electronegativo que el carbono al que está sujeto. Además, se tuvo en cuenta que, a la hora de realizar las sustituciones en las moléculas, se podría asimilar como electrón atrayente a un sustituyente que tuviera mayor carga electronegativa; por ejemplo, uno con un ácido carboxílico, ya que este tiene una mayor carga de electronegatividad. Sin embargo, como se dijo anteriormente para los cambios realizados en las moléculas se mantuvo el núcleo de la misma; de aquí, también se mantuvieron algunos de los sustituyentes los cuales muchas de las moléculas análogas a la clase *ISRS* poseían en su estructura (CF_3); de igual manera la sustitución realizada como efecto inductivo positivo, pero con el efecto contrario (CH_3).

Manteniendo esta lógica, se esperaba que las moléculas con el trifluorometil como sustitución tuvieran una mejor afinidad por la proteína de membrana *SERT*; ya que, al aumentar la electronegatividad de la rama que contenía el trifluorometil, aumentaría proporcionalmente la afinidad. En la mayoría de los casos fue así (Tablas. 6,7 y 8); sin embargo, la diferencia no fue considerable con las demás sustituciones realizadas en las moléculas.

Las pruebas predictivas de toxicidad se realizaron para las moléculas de Paroxetina, Paroxetina meta, Paroxetina orto, Paroxetina CH_3 meta, Paroxetina CF_3 orto, meta y para; Desvenlafaxina Benzoato, Desvenlafaxina Benzoato orto y meta, Desvenlafaxina Benzoato CF_3 orto, meta y para, Desvenlafaxina Benzoato CH_3 orto, meta y para; Vilazodona, Vilazodona CH_3 orto y meta, Vilazodona CF_3 orto y meta. Cabe mencionar

que a estas moléculas antes mencionadas se le realizaron 12 pruebas predictivas de toxicidad, sin embargo, al ser estas moléculas candidatos de fármacos para el consumo humano, se descartaron algunas de estas.

1. algae_at	2. Ames_test	3. Carcino_Mouse	4. Carcino_Rat	5. daphnia_at	6. hERG_inhibition
Algas	Mutagenicidad	Cáncer		Ecosistema	Sindr. QT largo
7. medaka_at	8. minnow_at	9. TA100_10RLI	10. TA100_NA	11. TA1535_10RLI	12. TA1535_NA
Peces		Potencial mutagénico			

Tabla. 19. Descriptores de toxicidad calculados con su respectivo objetivo de predicción o sistema donde ejerce.

En la tabla anterior se evidencian los descriptores predictivos de toxicidad calculados para evaluar los efectos nocivos que puedan conllevar las moléculas modeladas. Los descriptores resaltados en amarillo son los que se descartaron debido a que predicen toxicidad en el medio ambiente más no en el ser humano como es el objetivo de esta investigación:

La primera prueba de toxicidad que se descartó es la encontrada en las tablas como *algae_at*, que corresponde a la prueba de toxicidad aguda en algas (Gómez & Huovinen, 2017), es para determinar si la molécula evaluada puede presentar efectos perjudiciales sobre las algas como consecuencias letales siendo la mortalidad el ejemplo más claro o consecuencias subletales como la restricción del crecimiento. La segunda prueba es *daphnia_at*, toxicidad aguda de daphnia magna, ya que es para determinar la toxicidad de un ecosistema permitiendo decretar la potencial letalidad de aguas residuales, lixiviados, entre otros. (Díaz, Granados & Ronco, n.d.) Las otras pruebas son *medaka_at* y *minnow_at*, ya que estas son pruebas para establecer la toxicidad aguda en peces, es decir, en ecosistemas acuáticos. ("Toxicity", 2019) *Medaka_at* es una prueba de toxicidad para el pez Medaka que habita en agua dulce y salada, presentando un amplio rango de tolerancia a la salinidad; mientras que la prueba de *minnow_at* es para el pez Piscardo que se encuentra en zonas de agua dulce. (Kataoka & Kashiwada, 2016) Lo anterior describe que estas dos pruebas se realizan para determinar si la molécula o compuesto evaluado presenta alguna toxicidad en ecosistemas acuáticos teniendo en cuenta la

salinidad, o bien, la naturalidad del agua. Es importante mencionar que, aunque estas pruebas no determinan toxicidad en el cuerpo humano, si lo hacen en el medio ambiente debido que los fármacos no se eliminan completamente el organismo, por lo que son liberados posteriormente mediante excreciones y por consiguiente, estas pueden llegar a los ecosistemas acuáticos y terrestres.

Ahora bien, la primera prueba de toxicidad que se tuvo en cuenta para con nuestras moléculas fue la prueba *Ames test*, que se utiliza para probar la mutagenicidad de un compuesto. Esta prueba es importante ya que predice la tendencia que presenta una molécula para ejercer mutaciones en genes, creando la posibilidad de padecer consecuencias graves en los seres humanos. ("Toxicity", 2019) Es importante mencionar que todos los fármacos originales o bien, los que no presentan modificaciones estructurales, poseen esa tendencia a producir mutaciones genéticas; pero se encuentran algunas moléculas modeladas que no son mutagénicas como Paroxetina CF₃ orto, meta y para, Viladozona CF₃ orto y meta, Desvenlafaxina Benzoato meta, Desvenlafaxina Benzoato CH₃ meta y para.

Las pruebas de toxicidad que también fueron tenidas en cuenta son *Carcino_Mouse* y *Carcino_Rat*, que determinan la capacidad que presenta un agente para provocar neoplasmas malignos en ratones y ratas respectivamente. ("Toxicity", 2019) Aunque estas pruebas sean para animales, se tuvieron en cuenta para la investigación debido que los ratones y ratas específicamente, han sido utilizados a lo largo de los años en la investigación biomédica debido a su similitud genética con los humanos. ("Cuarenta razones para defender la investigación con animales", 2015) Los ratones cuentan con que el 99% de sus genes tiene un homólogo en la especie humana y aunque las ratas no presentan ese alto porcentaje de semejanza genética con los seres humanos se deben tener en cuenta debido a que pertenecen a misma familia de los ratones. (Johnson, 2012) (Moreira, 1995) Con base a las tablas de resultados de toxicidad, todas las moléculas que no presentan modificaciones estructurales no tienen la capacidad para provocar cáncer en los seres humanos excepto la Vilazodona, ya que es positiva en la prueba de *Carcino_Rat*, correspondiente a las ratas. En las modificaciones de esta misma molécula,

la Vilazodona, presentaron resultados positivos para estas pruebas; ya que la Vilazodona CH₃ orto y meta dieron positivo para ambas pruebas, mientras la Vilazodona CF₃ orto y meta, solo dieron positivo para la prueba de cancerogenicidad en ratones.

Otra prueba tenida en cuenta fue la *hERG_inhibition*, donde *hERG* es un gen que codifica la subunidad alfa de un canal de iones de potasio, teniendo una importante contribución a la actividad eléctrica del corazón; por lo tanto, la inhibición de este gen desencadena el síndrome de QT largo, terminando con la vida del ser humano. (Lamothe, Guo, Li, Yang & Zhang, 2016) Cabe mencionar que todas las moléculas de Paroxetina y Vilazodona, incluyendo las originales, presentan un riesgo de nivel medio para inhibir este gen; mientras que todas las moléculas modeladas de Desvenlafaxina presentan un riesgo de nivel bajo en comparación con la original, que tiene un nivel de riesgo alto.

También se tuvieron en cuenta para la investigación *TA100_10RLI*, *TA100_NA*, *TA1535_10RLI* y *TA1535_NA*, siendo estas pruebas de toxicidad para determinar el potencial mutagénico de, en este caso, una molécula. ("Toxicity", 2019) Cada una de estas pruebas corresponde al *test de Ames*, mencionado anteriormente, realizado en las cepas de la bacteria *Salmonella typhimurium*; donde la prueba *TA100_10RLI* se realiza con la cepa TA100 más la activación metabólica, en la cual se añaden enzimas de hígado de rata para simular el efecto del metabolismo en el cuerpo humano, mientras que en la prueba *TA100_NA*, se realiza el *test de Ames* en la misma cepa, pero sin la activación metabólica. En la prueba *TA1535_10RLI* está implicada la cepa TA1535 más la simulación del metabolismo, mientras que en la prueba *TA1535_NA* no se agregan esas enzimas de hígado de rata. (Piloto, Ramos, Vizoso & García, 2000) Es importante mencionar que todas las moléculas dieron como resultado negativo a estas cuatro pruebas, excepto la Desvenlafaxina Benzoato orto y Desvenlafaxina Benzoato CH₃ orto, que son positivas para la prueba de *TA1535_10RLI*.

Estas pruebas antes mencionadas realizadas con cepas de la bacteria *Salmonella typhimurium*, presentan algunas desventajas ya que, aunque posiblemente existen

similitudes en la mutagenicidad del ADN con las células humanas, esta bacteria es una célula procariota, siendo no adecuada para el estudio mutagénico en el cuerpo humano.

Todos los descriptores predictivos de toxicidad mencionados anteriormente tenidos en cuenta en esta investigación, se compararon en las moléculas diseñadas por producción propia con las moléculas experimentales análogas correspondientes después de verificar que los resultados de afinidad e IC_{50} sean mejores en las moléculas diseñadas.

9. CONCLUSIONES

Se refleja el uso de la metodología QSAR cómo una nueva herramienta computacional para el desarrollo de nuevos fármacos, la cual relaciona numéricamente estructuras químicas con sus actividades biológicas; mediante el cumplimiento de los objetivos de la investigación de modelar y hallar una molécula *in silico*, análoga a la clase ISRS que tenga mayor afinidad por la proteína de membrana SERT. De esta manera, en la investigación se relacionaron y reunieron un conjunto de técnicas computacionales como diseño y modelamiento de las moléculas (in sílico), cálculo de propiedades fisicoquímicas (descriptores), bioinformática y estadística.

Además, se evidencia en la metodología QSAR una interdisciplinaridad debido al conjunto de técnicas usadas en la misma, antes mencionadas. Dejando en claro, que no solo se trata de una metodología la cual se centra en la química y farmacología, sino que también le abre camino a una nueva herramienta y disciplina llamada fármaco – informática, la cual consiste en el diseño asistido, modelado y estudio cuantitativo de las relaciones estructura actividad que puedan llegar a tener los fármacos a la hora de su producción. De esta manera, esta nueva herramienta nace a partir de la bioinformática, una disciplina que utiliza las aplicaciones de la informática con el fin de gestionar información biológica; la cual, es un importante campo de acción de la bioingeniería.

Ahora bien, tras realizar la metodología QSAR y cumplir con todos los requerimientos y procesos que esta conlleva, aunque la base de datos que se tenía para realizar la investigación era pequeña, se llega a la conclusión de que, mediante esta, se simplifica el trabajo en cuanto a la creación de nuevos fármacos. Del mismo modo, se puede entender y aplicar esta metodología a gran escala con bases de datos más grandes y llevada a nivel industrial, donde se pueda hacer más eficiente el proceso de creación y de síntesis de los fármacos.

Por consiguiente, se determina a la molécula Desvenlafaxina benzoato con un patrón de sustitución en su hidrocarburo aromático en la posición meta con un trifluorometilo, como la molécula modelada considerada como mejor candidato teórico análogo de la clase ISRS; teniendo en cuenta sus resultados en cuanto a afinidad, IC_{50} teórico y toxicidad en comparación con las demás moléculas modeladas; en especial, con la molécula original. Esta nueva molécula es considerada como mejor candidato teórico, ya que mejoró en afinidad en una proporción aproximada a las dos unidades y en cuanto a IC_{50} mejoró en casi un 40%. Sin embargo, según lo contemplado en el objetivo general de la investigación, se hallarían moléculas más afines por el sitio activo de la proteína de membrana SERT; con respecto a esto, de 21 moléculas nuevas modeladas se obtuvieron 19, las cuales obtuvieron datos de mejor afinidad en el Docking molecular; sin embargo, al hallar el IC_{50} teórico; 7 moléculas fueron consideradas como mejores candidatos de moléculas análogas de la clase ISRS. Por último, al realizar las pruebas de toxicidad en todas las nuevas moléculas modeladas, se obtuvo otro candidato considerado como mejor teórico: Paroxetina con un patrón de sustitución en su hidrocarburo aromático en la posición orto con un Flúor; para esta molécula los resultados mejoraron; sin embargo, no en una cantidad significativa.

Es importante mencionar que los 4 descriptores ingresados a la red neuronal sin datos atípicos, los cuales eran moléculas de las clases ISRS experimentales que afectan la regresión lineal múltiple, quedando 13 de las 27 iniciales; además de presentar una notable linealidad definida por el coeficiente de determinación que es un valor numérico, están relacionados entre sí debido que su información química es similar. Es decir, presentan una polarizabilidad molar, una relación entre su ancho y largo desde un panorama estructural, y una complejidad molecular y vista desde un sistema; como medidas biológicas que se relacionan entre estas 13 moléculas ISRS a partir del valor de su IC_{50} experimental correspondiente.

La red neuronal fue un gran método para predecir el valor de los IC_{50} de las moléculas modeladas porque nos permitió resolver el problema no lineal que se presentaba en la investigación como es el relacionar 4 descriptores con el IC_{50} experimental correspondiente. Además, la red neuronal realiza un aprendizaje adaptativo que nos evitó la elaboración de modelos adicionales que retrasen o perjudiquen la investigación como

también; las redes son tolerantes a fallos de programación para poder seguir respondiendo de buena manera a las simulaciones que se le ejecuten posteriormente. Los porcentajes definidos para la red junto con el algoritmo de propagación fueron apropiados debido que cada una de las etapas arrojaron gráficas de regresión lineal con alta correlación evidenciando que los datos se acoplaron de buena manera al modelo matemático.

Los cálculos predictivos de toxicidad realizados para el ser humano en esta investigación, impactan de gran manera a la Bioingeniería de la Universidad El Bosque, debido que mediante estas evaluaciones de las moléculas para determinar los efectos nocivos en humanos, ejercemos nuestro papel como bioingenieros con el fin de desarrollar soluciones que mejoren potencialmente la calidad de vida de las personas usando, en este caso, herramientas o metodologías de la ingeniería junto con principios de la química. Estos instrumentos computacionales, como el *software online PreADMET*, una importante alternativa que evita el estudio prolongado de toxicidad *in vitro*; se deben seguir implementando en diferentes líneas de investigación como el Diseño asistido de fármacos del Grupo INQA de la Universidad El Bosque, debido a su alto impacto en el modelamiento *in silico* de fármacos, ya que en una investigación de este tipo no solo se debe estudiar y analizar las afinidades de diferentes moléculas por una estructura proteica, debido que también se debe evaluar el impacto nocivo que presentan dichas moléculas en el ser vivo involucrado.

Aunque las pruebas predictivas de toxicidad descartadas en la investigación no determinan efectos en el cuerpo humano, si lo hacen en el medio ambiente, debido que los fármacos no se eliminan completamente el organismo, por lo que son liberados posteriormente mediante excreciones y, por consiguiente, estas pueden llegar a los ecosistemas acuáticos y terrestres. Por lo tanto, para un estudio completo de toxicidad, es importante evaluar efectos perjudiciales en el ser humano como también en el medio ambiente, ya que desde la Bioingeniería se plantea un esfuerzo notable por la vida de todos los seres vivos.

Sin embargo, el *software online PreADMET* presenta una limitación importante al momento de definir la molécula que se va a evaluar, debido que no deja ingresar desde el

ordenador la estructura de la misma, por lo tanto, se debe modelar en el *sketcher* 2D que proporciona el programa, el cual no es del todo recomendable por principalmente dos razones: la primera es que no permite modelar moléculas duales como la Desvenlafaxina Benzoato, por lo que se debe cargar desde un formato *MOLfile* desde la web y posteriormente no se puede editar; y segundo, solo se puede ingresar información 2D al *sketcher* lo que no es apropiado, ya que el cálculo pierde especificidad al momento de dar valores a los descriptores.

10. RECOMENDACIONES

Se recomienda al grupo de investigación INQA de la Universidad El Bosque que pertenece a la línea de investigación de Diseño asistido de fármacos, que analice implementando otro tipo de método el sitio activo de SERT, también usando una mejor herramienta para seleccionar los aminoácidos a tener en cuenta para evaluar la afinidad de SERT por un sustrato. Esto se debe realizar debido que el *Grid Box*, que lo integra el *software AutoDock Vina* tiene una forma cúbica y el docking molecular que se lleva a cabo en el software, se realiza teniendo en cuenta los aminoácidos presentes en el *grid* especificado, por lo tanto, a medida que se reduce de tamaño este *grid*, se puede ir descartando, sin propósito alguno, aminoácidos de la proteína SERT que puedan estar presentes en el sitio activo de la misma.

Para predecir variables como el IC_{50} teórico de moléculas que se modelen en otras investigaciones, se recomienda implementar redes neuronales debido a su alta especificidad de los resultados con un mínimo error de propagación siempre y cuando, se realice un análisis del tamaño del conjunto de datos con el cual se configura la red, ya que este rige el algoritmo de entrenamiento a implementar. De igual modo, se aconseja seguir estableciendo el *backpropagation* como método de cálculo de gradiente debido a la minimización del error que este realiza.

Al modelar nuevas moléculas análogas se recomienda editar otras sin afectar el núcleo de la misma y para esto; primero, implementar el *software ChemDraw Professional 16.0* con el fin de obtener una mejor visualización de la estructura molecular y definir con claridad las sustituciones a ejecutar para posteriormente, mediante el *software Avogadro*, modelar o editar las molecular realizando la optimización tridimensional de la estructura.

Para el cálculo de descriptores mediante el *software PaDEL*, se aconseja calcular en diferentes iteraciones del *software* los dos tipos de descriptores, con información 2D y 3D. Primero para el cálculo de descriptores 3D, se recomienda deshabilitar las opciones “Detectar aromaticidad” y “Estandarizar tautómeros” presentes en la interfaz de *PaDEL*, debido que esto eliminará la información 3D de las moléculas por lo que es mejor

especificar la aromaticidad y estandarizar los tautómeros utilizando otros métodos y desactivar estas dos opciones. Por otro lado, para el cálculo de descriptores 2D, se recomienda habilitar las dos opciones antes mencionadas. Si se presentan moléculas con diferentes tipos de archivos es necesario habilitar la opción “Estandarizar grupos nitro”, también presente en la interfaz de *PaDEL*, con el objetivo de asegurar que se obtengan los mismos resultados predictivos de los descriptores.

11. REFERENCIAS

- Antidepressivos, un arma de doble filo. (2007, Jul 9,). La Voz Hispanic, Retrieved from <https://search.proquest.com/docview/434598977>
- AUGE. (2013). Guía clínica AUGÉ depresión en personas de 15 años y más. Santiago. Chile.
- Avram, S., Buiu, C., Duda-Seiman, D. M., Duda-Seiman, C., & Mihailescu, D. (2010). 3D-QSAR design of new escitalopram derivatives for the treatment of major depressive disorders. *Scientia Pharmaceutica*, 78(2), 233-248. doi:10.3797/scipharm.0912-22
- Beltrán, J. (2000). Química teórica y computacional. Castellón de la Plana: Universitat Jaume I. Servei de Comunicació i Publicacions. Retrieved from [https://ebookcentral.proquest.com/lib/\[SITE_ID\]/detail.action?docID=3216899](https://ebookcentral.proquest.com/lib/[SITE_ID]/detail.action?docID=3216899)
- Bracciaforte, R. A., & Echenique, D. A. (2014). Manual de química general. Retrieved from <https://ebookcentral-proquest-com.ezproxy.unbosque.edu.co>
- C. Dearden, J. (2017). Whither QSAR? *Pharmaceutical Sciences*, 23(2), 82-83. doi:10.15171/PS.2017.13
- Cabrera, J. L., Comini, L. R., Argüello, G. A., & Núñez Montoya, S. C. Determinación del coeficiente de partición (log P) para derivados antraquinónicos aislados de *Heterophyllaea pustulata* Hook. f. (Rubiáceas). Retrieved from <http://hdl.handle.net/10915/6829>
- Caicedo, E., & López, J. (2017). Una aproximación práctica a las redes neuronales artificiales [Ebook] (21st ed., pp. 93-96). Colombia. Retrieved from <http://revistas.univalle.edu.co/omp/index.php/programaeditorial/catalog/book/64>
- Casanova Sorní, C. (2015). Selección de moléculas que inhiben la peroxidación lipídica mediante topología molecular

- Chávez-León, E., Serrano Gómez, C., & Ontiveros Uribe, M. (2008). Los antidepresivos inhibidores selectivos de recaptura de serotonina (ISRS, ISR-5HT). *Salud mental*, 31(4), 307-320. Retrieved from <http://dialnet.unirioja.es/servlet/oaiart?codigo=2729792>
- Chemistry Development Kit. (2019). Overview (CDK 1.4.18 API). Retrieved from <http://cdk.github.io/cdk/1.4/docs/api/overview-summary.html>
- Coleman, J. A., & Gouaux, E. (2018). Structural basis for recognition of diverse antidepressants by the human serotonin transporter. *Nature Structural & Molecular Biology*, 25(2), 170. doi:10.1038/s41594-018-0026-8
- Coleman, J. A., Green, E. M., & Gouaux, E. (2016). X-ray structures and mechanism of the human serotonin transporter. *Nature*, 532, 334-339. doi:10.2210/pdb5i6x/pdb
- Cuarenta razones para defender la investigación con animales. (2015). Retrieved from <http://eara.eu/es/campanas/cuarenta-razones-para-defender-la-investigacion-con-animales/>
- Dpto. Ciencias Ambientales. . (2015). Determinación del coeficiente de reparto del ácido acético entre alcohol amílico y agua. Sevilla, España: Retrieved from https://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/docencia/biotec_termo/Practica1TyCQ0506.pdf
- Fox, S. I., Padilla Sierra, G., & Olivares Bari, S. (2017). *Fisiología humana* (14a. ed.). Distrito Federal: McGraw-Hill Interamericana. Retrieved from [https://ebookcentral.proquest.com/lib/\[SITE_ID\]/detail.action?docID=4946203](https://ebookcentral.proquest.com/lib/[SITE_ID]/detail.action?docID=4946203)
- Ghose, A. K., & Crippen, G. M. (1987). Atomic physicochemical parameters for three-dimensional-structure-directed quantitative structure-activity relationships. 2. modeling dispersive and hydrophobic interactions. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*, 27(1), 21-35. doi:10.1021/ci00053a005
- Gómez, I., & Huovinen, P. (2017). ALGAS EN ECOTOXICOLOGÍA: Hacia el desarrollo de microbioensayos [Ebook] (pp. 42-43). Universidad Austral de Chile, Valdivia. Retrieved from <http://www.centroideal.cl/wp-content/uploads/2017/11/Rev-VD27-IDEAL.pdf>

Griffin, L & Synthia H. Mellon. (1999). Selective serotonin reuptake inhibitors directly alter activity of neurosteroidogenic enzymes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(23), 13512-13517. doi:10.1073/pnas.96.23.13512

Guzman, F. (2016). Mecanismo de acción de los ISRS. Retrieved from <http://psicofarmacologia.com/antidepresivos/isrs/mecanismo-de-accion-isrs>

Hernández Valdivieso, M. (2009). La bioingeniería en Colombia, por el camino de las alianzas estratégicas. *Revista Ingeniería Biomédica*, 3(5), 10-14. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1909-97622009000100002&lng=en&nrm=iso&tlng=es

Instituto nacional de ecología y cambio climático. Ensayo de toxicidad aguda con el cladóceros *Daphnia magna* (pp. 3-4). Mexico.

Johnson, M. (2012). Laboratory Mice and Rats. *Materials And Methods*, 2(113). doi: 10.13070/mm.en.2.113

K Failing, P Theis, & E F Kaleta. (2006). Determination of the inhibitory concentration 50% (IC₅₀) of four selected drugs (chlortetracycline, doxycycline, enrofloxacin and difloxacin) that reduce in vitro the multiplication of *Chlamydomonas psittaci*. *DTW. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 113(11), 412-417. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17147151>

K. A. Carpenter et al, "Deep learning and virtual drug screening," *Future Medicinal Chemistry*, vol. 10, (21), pp. 2557-2567, 2018. Available: <http://dx.doi.org/10.4155/fmc-2018-0314>. DOI: 10.4155/fmc-2018-0314.

Kataoka, C., & Kashiwada, S. (2016). Salinity-dependent Toxicity Assay of Silver Nanocolloids Using Medaka Eggs. *Journal Of Visualized Experiments*, (109). doi: 10.3791/53550

Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. (2013) *Fármacos antihipertensivos*. eds. *Farmacología básica y clínica*, 12e New York, NY: McGraw-Hill. Retrieved from: <http://accessmedicina.mhmedical.com.ezproxy.unbosque.edu.co/content.aspx?bookid=1499§ionid=98751476>.

Lahoz-Beltrá (2010) Bioinformática: Simulación, Vida Artificial E Inteligencia Artificial. Retrieved from <http://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliobosquesp/detail.action?docID=3196980>.

Lamothe, S., Guo, J., Li, W., Yang, T., & Zhang, S. (2016). The Human Ether-a-go-go-related Gene (hERG) Potassium Channel Represents an Unusual Target for Protease-mediated Damage. *Journal Of Biological Chemistry*, 291(39). doi: <https://dx.doi.org/10.1074%2Fjbc.M116.743138>

Lleó, A., & Lleó, L. (2008). Gran manual de magnitudes físicas y sus unidades: un estudio sistemático de 565 magnitudes físicas: cómo utilizar el sistema internacional de unidades si en la ciencia y la ingeniería, hoy obligatorio en todo el mundo. Madrid: Ediciones Díaz de Santos. Retrieved from [https://ebookcentral.proquest.com/lib/\[SITE_ID\]/detail.action?docID=3196640](https://ebookcentral.proquest.com/lib/[SITE_ID]/detail.action?docID=3196640)

Lozano-Aponte, J., & Scior, T. (2012). Qué sabe ud. acerca de...QSAR? *Revista Mexicana De Ciencias Farmacéuticas*, 43(2), 82-84. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000200010&lng=en&tlng=en

Martin JH. (2013) El sistema límbico y los circuitos cerebrales para la recompensa, emociones y memoria. eds. Neuroanatomía texto y atlas, 4e New York, NY: McGraw-Hill. Retrieved from: <http://accessmedicina.mhmedical.com.ezproxy.unbosque.edu.co/content.aspx?bookid=1486§ionid=102078084>.

Martínez Hernández Ángel. (2007). La mercantilización de los estados de ánimo. el consumo de antidepresivos y las nuevas biopolíticas de las aficciones la mercantilización de los estados de ánimo. el consumo de antidepresivos y las nuevas biopolíticas de las aficciones. *Política Y Sociedad*, 43(3), 43-56. Retrieved from <https://doaj.org/article/4284b7dd1c834775aa6f77ff99611caa>

Martínez Rodríguez, M. E. (2005). Errores frecuentes en la interpretación del coeficiente de determinación lineal. *Anuario jurídico y económico escurialense*, (38), 315-331. Retrieved from <http://dialnet.unirioja.es/servlet/oaiart?codigo=1143023>

- Medina-Franco, J. L., Fernández-De Gortari, E., & Naveja, J. J. (2015). Avances en el diseño de fármacos asistido por computadora. *Educación Química*, 26(3), 180-186. doi:10.1016/j.eq.2015.05.002
- Mental Health America. (2013). ¿Qué es la depresión? Retrieved from <http://www.mentalhealthamerica.net/conditions/%C2%BFqu%C3%A9-es-la-depresi%C3%B3n> (Mental Health America, 2013).
- Morales, J. (2017). OPS/OMS Colombia - día mundial de la salud 2017: #Depresión #Hablemos | OPS/OMS. Retrieved from https://www.paho.org/col/index.php?option=com_content&view=article&id=2703:día-mundial-de-la-salud-2017-la-depresion-es-una-enfermedad-que-puede-afectar-a-cualquier-persona-provoca-angustia-mental-y-repercute-en-la-capacidad-de-las-personas-para-llevar-a-cabo-tareas-cotidianas&Itemid=553
- Moreira, E. (1995). Fundamentos metodológicos de los bioensayos de toxicidad/carcinogenicidad. *Revista Cubana Enfermería*, 11(3). Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03191995000300001
- National Center for Biotechnology Information. The PubChem. Retrieved from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- O. Trott, A. J. Olson, AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading, *Journal of Computational Chemistry* 31 (2010) 455-461
- OMS (2018). Nota descriptiva. Depresión Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs369/es/>.
- OMS. (2017). Nota descriptiva. Trastornos mentales. Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs396/es/>.
- Online Chemical Modeling Environment, OCHEM. (2015) molecular descriptors. Retrieved from: <https://ochem.eu/login/show.do?render-mode=full>

OSPINO M, I., OLIVERO V, J., & VIVAS R, R. (2005). Modelo qsar para la predicción de los tiempos de vida media de bifenilos policlorados en humanos. *Vitae*, 12(1), 45-53. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-40042005000100006&lng=en&tlng=en

Pérez, V., Speranza, N., Tamosiunas, G., & Ormaechea, G. (2016). Perfil de riesgo de los antidepressivos inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS). *Revista Uruguaya De Medicina Interna*, 1(3), 25-33. Retrieved from http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2393-67972016000300003&lng=en&tlng=en

Pérez-Sánchez, H., Cano, G., García-Rodríguez, J., & Cecilia, J. M. (2015). Descubrimiento de fármacos basado en cribado virtual refinado con enfoques neuronales paralelos. *Revista Internacional de Métodos Numéricos para Cálculo y Diseño en Ingeniería*, 31(4), 207-211. doi:10.1016/j.rimni.2014.06.004 Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S021313151400056X>

Piloto, J., Ramos, A., Vizoso, A., & García, A. (2000). Evaluación del potencial genotóxico de un extracto fluido de incienso (*artemisia Absinthium L.*). *Revista Cubana De Plantas Medicinales*, 5(2). doi: ISSN 1028-4796

Ramaswamy Nilakantan, David S Nunn, Lynne Greenblatt, & Gary Walker. (2006). A family of ring system-based structural fragments for use in Structure–Activity studies: Database mining and recursive partitioning. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 46(3), 1069-1077. doi:10.1021/ci050521b

RCSB, PROTEIN DATA BANK. Home page. Retrieved from: <https://www.rcsb.org/>

Recabarren (2008). ESTUDIO DE SÍNTESIS DE 2-[OXOALQUIL](4-ARILPIPERAZINIL)-BENZO[B]TIOFENOSUSTITUIDOS. EVALUACIÓN DE SU AFINIDAD SEROTONINÉRGICA MEDIANTE ENSAYOS DE COMPETENCIA FRENTE A [3H]-8-OH-DPAT. Universidad de Chile. Retrieved from http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://repositorio.uchile.cl/tesis/uchile/2008/qf-recabarren_g/pdfAmont/qf-recabarren_g.pdf

Redes neuronales. [Ebook]. Bogotá. Retrieved from <http://disi.unal.edu.co/~lctorress/RedNeu/LiRna008.pdf>

- Reis, Mateus Zanatta, Marcelo Carmona, & José Otávio Machado Menten. (2015). Relationship between IC₅₀ determined in vitro/in vivo and the fungicide rate used in the field. *Summa Phytopathologica*, 41(1), 49-53. doi:10.1590/0100-5405/1997
- Rojas, G. (2010b). Depresión. *Medwave*, 10(4) doi:10.5867/medwave.2010.04.4495
- Saldívar-González, F., Prieto-Martínez, F. D., & Medina-Franco, J. L. (2017). Descubrimiento y desarrollo de fármacos: Un enfoque computacional doi://doi.org/10.1016/j.eq.2016.06.002
- Smith. J (2008) "Modelos de QSAR". European Chemical Agency (ECHA). Retrieved from <https://echa.europa.eu/es/support/registration/how-to-avoid-unnecessary-testing-on-animals/qsar-models>
- Torres. (2015). Serotonina: efectos de esta hormona en tu cuerpo y mente. Retrieved from <https://psicologiamente.net/neurociencias/serotonina-hormona>
- Toxicity. (2019). Retrieved from <https://preadmet.bmdrc.kr/toxicity/>
- Universitat de barcelona - MÁSTER DE BIOINFORMÁTICA PARA LAS CIENCIAS DE LA SALUD - perfil de competencias. (2018). Retrieved from http://www.ub.edu/web/ub/es/estudis/oferta_formativa/master_universitari/fitxa/B/M0105/perfildecompetencies/index.html
- Validation of test with artificial neural network. (n.d.). [ebook] India, p.7. Available at: http://shodhganga.inflibnet.ac.in/bitstream/10603/37613/15/15_chapter10.pdf
- Van Patten Rivera, A. (2015). Síndrome serotoninérgico. *Revista Clínica Escuela De Medicina UCR-HSJD*, 5(3) doi:10.15517/rc_ucr-hsjd.v5i3.19922
- Vargas J. (2008) Pregrados. BIOINGENIERÍA. Definición. Retrieved from <http://ingenieria.usc.edu.co/index.php/programas/bioingenieria>.

Velasquez, M, Drosos, Gueto, Márquez, & Vivas-Reyes. (2014). Método acoplado autodock-PM6 para seleccionar la mejor pose en estudios de acoplamiento molecular. *Revista Colombiana De Química*, 42(1), 51-58. Retrieved from <https://doaj.org/article/f712fd99744a41e99525ea2ad98e9406>

Villamil Torres, J., & Delgado Rivera, J. (2007). Training a multilayer neural network for the Euro-dollar (EUR/USD) exchange rate. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-56092007000300012

Yang, Y., Chen, H., Nilsson, I., Muresan, S., & Engkvist, O. (2010). Investigation of the relationship between topology and selectivity for druglike molecules. *Journal of Medicinal Chemistry*, 53(21), 7709-7714. doi:10.1021/jm1008456

Yap CW (2011). PaDEL-Descriptor: An open source software to calculate molecular descriptors and fingerprints. *Journal of Computational Chemistry*. 32 (7): 1466-1474

YONSEI UNIVERSITY. YONSEI ENGINEERING RESEARCH COMPLEX, SEOUL "Toxicity," 2014. Available: <https://preadmet.bmdrc.kr/toxicity/>.

Young, "Computational Drug Design : A Guide for Computational and Medicinal Chemists," .