
Aplicaciones de la informática en el estudio de productos naturales

Barceló S¹, Miozza V¹, Passero P¹, Farah E², Pérez C¹

¹Farmacología, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires.

²Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

Recibido 10/12/2016

Aceptado 13/03/2017

RESUMEN

En los últimos tiempos, las técnicas computacionales se han constituido en valiosas herramientas para la investigación de sistemas biológicos. Ellas pueden guiar proyectos y complementar métodos experimentales en diversas áreas de aplicación como la medicina, alimentación y agricultura.

En este artículo resumimos y actualizamos los principales conocimientos acerca de los métodos utilizados por la bioinformática y brindamos algunos ejemplos de sus contribuciones en distintos campos. Enfatizamos en el diseño y descubrimiento de nuevas drogas de origen natural, principalmente antimicrobianas. En este sentido, la búsqueda de nuevos medicamentos y estrategias farmacológicas está plenamente justificada por distintas razones, que incluyen la emergencia de resistencia e interacciones farmacológicas, particularmente en pacientes inmunocomprometidos.

Palabras claves: estudios computacionales, estudios teóricos, bioinformática

ABSTRACT

In the last times, computational techniques have become valuable tools for research of biological systems. They can lead and complement experimental methods in different fields of application such as medicine, bromatology and agriculture.

In this review we summarize the main knowledge on bioinformatic tools and give some examples of their contributions in diverse knowledge areas. We make emphasis in the design and discovery of new potential drugs, mainly antimicrobial agents of natural origin. In this sense, the search for new medicaments or pharmacological strategies is fully justified because of different reasons, including emergence of resistance and pharmacological interactions, in particular in immunocompromised patients.

Keywords: computational studies, theoretical studies, bioinformatics.

INTRODUCCIÓN

Los seres vivos son entidades complejas poseedoras de intrincadas redes moleculares que mantienen los procesos vitales. Éstos engloban un vasto abanico de interacciones moleculares metabólicas y reguladoras. Para entender su complejidad es necesario analizar y generar conocimientos detallados acerca de las interacciones involucradas (Lengauer y Rarey, 1996).

En una larga marcha de investigaciones científicas, se dilucidaron numerosos mecanismos

moleculares y la secuencia de genomas. Esto representó un hito mayúsculo que hizo cambiar la consideración de los seres vivos desde simples recipientes de genes o proteínas a complejos sistemas de interacciones dinámicas clasificados como “transcriptomas”, “interactomas”, “metabolomas”, etc.. En la secuenciación de genomas tuvieron un papel crucial las técnicas de simulación mediadas por computadoras, que se utilizaron en forma complementaria a las tradicionales herramientas

experimentales (ver luego sección “Un logro excepcional: la secuenciación del genoma humano”). En realidad, las herramientas informáticas en sus distintas modalidades se utilizan desde hace más de 40 años. En el decenio de 1960 surgieron algunos métodos pioneros que fueron desarrollados con posterioridad. Así, Dayhoff y Eck, en 1968 publicaron atlas que contenían la secuencia y estructura de algunas proteínas. A comienzos de la década de 1970, Hesper y Hogeweg comenzaron a utilizar el término bioinformática y lo definieron como el estudio de procesos informáticos en sistemas bióticos (Hesper y Hogeweg, 1970; Hogeweg, 1978; Hogeweg y Hesper, 1978).

Algunos métodos de análisis de patrones se utilizaron para estudiar tanto datos reales como derivados de estudios de modelación. Así, se pudo demostrar que los patrones de variación del genotipo y del fenotipo no necesariamente coinciden (Lindenmayer, 1968).

Durante las décadas de 1970 y 1980, no solamente se desarrollaron métodos de análisis de patrones sino que también se aplicaron técnicas de modelaje como el análisis de planos de fase y diagramas de bifurcación de fenómenos biológicos (May, 1974).

Al final de los 80, la bioinformática tuvo un papel hegemónico debido al incremento exponencial de secuencias de datos, determinación de estructuras proteicas, así como de predicción basada sobre la homología y la filogenia.

Actualmente, la bioinformática puede ser aplicada a la bioquímica, farmacología, toxicología y otros campos relacionados con la medicina, dado que permite predecir la estructura química de compuestos potencialmente activos. De esta forma, a efectos de desarrollar nuevas drogas, existe una marcada tendencia orientada hacia la actividad biológica de compuestos candidatos usando redes de trabajo neural.

En este trabajo realizamos una reseña actualizada de las definiciones, métodos y aportes de la bioinformática en distintas áreas del conocimiento, particularmente en relación con el estudio de productos naturales.

Bioinformática: definiciones y conceptos

En las últimas décadas, las técnicas de computación se han convertido en valiosas herramientas para el estudio de drogas. Cuando ellas se aplican a fenómenos bioquímicos surge la bioinformática, que ha sido definida como la ciencia

que utiliza técnicas de computación avanzadas para el manejo y análisis de datos biológicos (International Human Genome Sequencing Consortium, 2001).

Según otros autores, la bioinformática sería una disciplina práctica que emplea un amplio rango de técnicas computacionales tales como secuenciación y alineamiento estructural, diseño de bases de datos, geometría macromolecular, construcción de árboles filogenéticos, predicción de estructura y función de proteínas, organización de hallazgos de genes y su expresión (Luscombe y Greenbaum, 2001).

La informática ha contribuido al lanzamiento de la biología molecular dentro de la era genómica y seguramente continuará siendo un factor fundamental de éxito en la era posterior. En 2003, Bajic et al (2003) describen algunos avances en integración de datos y tecnologías que resultan relevantes para la biología molecular y ciencias biomédicas. En particular, ellos actualizan hallazgos científicos relacionados con la aplicación de herramientas bioinformáticas en diferentes tópicos tales como: a) organización de datos provenientes de fuentes autónomas heterogéneas; b) predicción de capacidad inmunogénica en péptidos; c) descubrimiento de factores estructurales genéticos; d) clasificación de perfiles de expresión genética; e) selección de información acerca de interacciones de proteínas sobre la base de datos bibliográficos.

La bioinformática permite el conocimiento de nuevas estructuras y funciones químicas, así como de nuevos blancos para guiar el diseño de drogas en forma más precisa y certera. También ofrece la ventaja de sus bajos costos y la adquisición rápida de información. En el contexto de optimizar la investigación científica, puede guiar, complementar y precisar los procedimientos experimentales. La bioinformática usa diferentes métodos y programas que serán consignados abajo en la sección homónima. Un logro excepcional: la secuenciación del genoma humano

En las fases finales de la investigación genética, se desarrolló un proyecto internacional sobre el genoma humano, cuyo objetivo fue el mapeo completo y entendimiento de los genes del ser humano.

En 2001, el Consorcio internacional constituido por numerosos investigadores publicó el primer borrador del genoma humano completo, consignando el 90 % de la secuencia de 3 billones de pares de bases constitutivas; en 2004 la entidad publicó la secuencia completa (Lander et al, 2001; International Human Genome Sequencing Consortium, 2004; ver figura 1).

Como antecedente crucial, en 1913 Alfred Sturtevant había sentado las bases teóricas de intercambio de material genético y construido el primer mapa homónimo, correspondiente a la mosca de las frutas *Drosophila* (Sturtevant, 2001). En otros trabajos notables, reportados entre 1977 and 1982, se dilucidó la secuencia genética de los virus bacterianos Φ X174 y lambda, del virus animal SV40 y de la mitocondria humana (Sanger et al, 1982; Petrov et al, 1981).

Para determinar las secuencias de cientos de nucleótidos de los genomas se utilizaron distintos métodos, algunos de ellos simples, como el de “más y menos”, en el caso del bacteriófago Φ X174. Otras técnicas de secuenciación de ADN, como la de fraccionamiento enzimático, condujeron a dilucidar rápidamente largas secuencias de nucleótidos. Estos proyectos demostraron la variabilidad en el ensamble de pequeños fragmentos dentro del genoma completo y evidenciaron la importancia de obtener catálogos completos de genes y otros elementos funcionales (Fang et al, 2016; Petrov et al, 1981; figura 2).

Aplicaciones farmacológicas. Productos naturales y sintéticos

La biología computacional es una ciencia multidisciplinaria que se nutre de campos tan diversos como las matemáticas, química, física, biología, estadística e informática. Por otra parte, es aplicada a

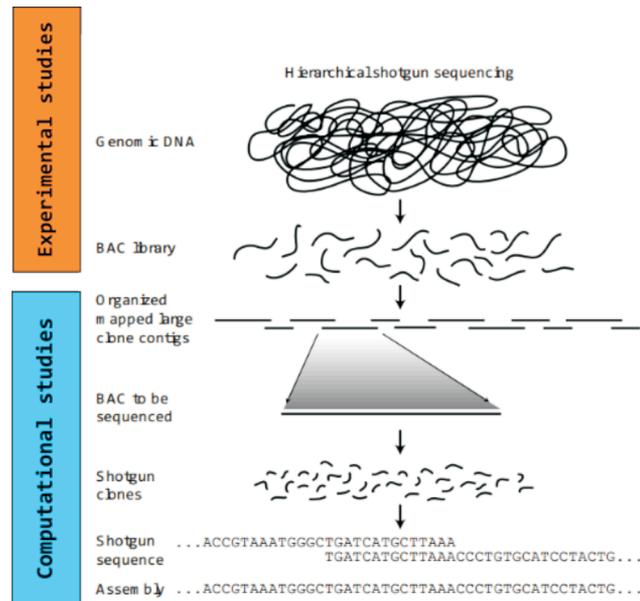


Figura 1. Contribuciones de los métodos computacionales en la secuenciación del genoma humano. Esta figura añade una pequeña modificación didáctica a la publicada por Lander et al (2001). Como explican los autores, una biblioteca se construye por fragmentación del genoma y clonando éste dentro de un vector de clonación grande. Aquí se muestran los vectores BAC. Los fragmentos de DNA genómicos representados en la biblioteca son luego organizados en un mapa físico y los clones individuales BAC son seleccionados y secuenciados por una estrategia de disparo de escopeta al azar. Finalmente, la secuencia de clones es ensamblada para reconstruir la secuencia del genoma.

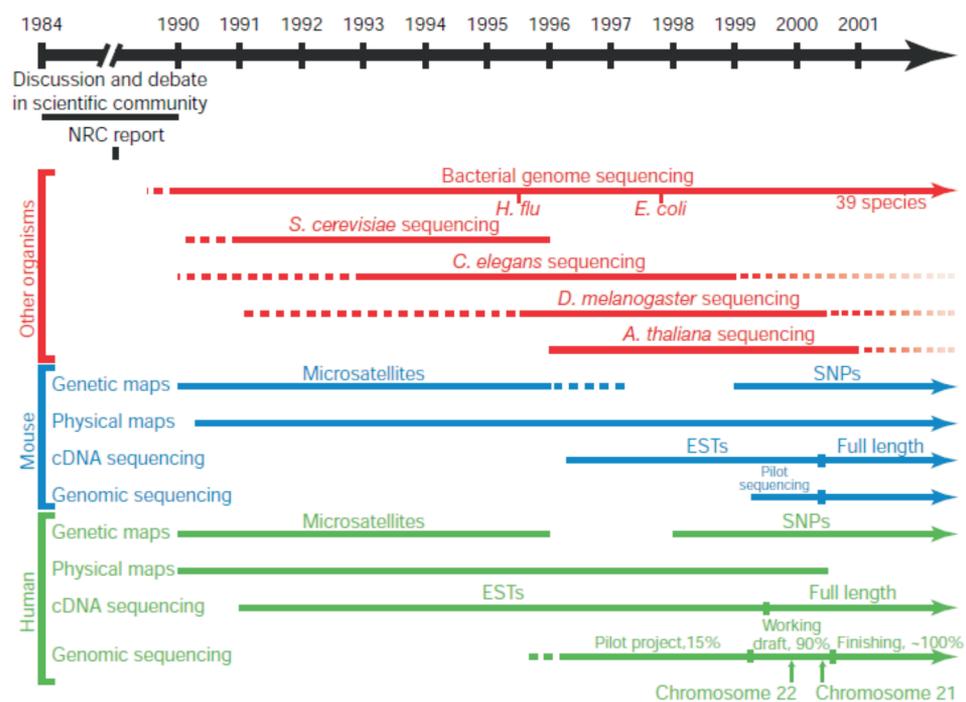


Figura 2. Secuenciación del genoma humano: cronograma de obtención de datos. Se muestran hallazgos relacionados con organismos invertebrados (rojo), ratones (azul) y hombres (verde), aquilatados desde 1990. SNPs: polimorfismo de nucleótidos simples; ESTs: etiqueta de secuencias expresadas. Esta figura fue publicada por Lander et al (2001).

diferentes áreas como la bioquímica, biofísica, genética, farmacología, toxicología, inmunología, bromatología, agricultura, etc.

En relación con la farmacología, si bien es difícil precisar sus límites, la bioinformática continúa siendo aplicada a la búsqueda de nuevas drogas o efectos terapéuticos. En este sentido, puede utilizarse para dilucidar potenciales efectos de compuestos de fórmula química conocida o para guiar el diseño de drogas a obtener ya sea por síntesis química o extracción a partir de recursos naturales.

En los últimos años la investigación de nuevos blancos terapéuticos se ha relacionado con la genómica y áreas afines. El rastreo y el análisis comparativo de genomas permiten identificar aquellas modificaciones que se asocian con ciertas patologías y obtener información sobre posibles blancos de tratamiento. En el cáncer, por ejemplo, la transformación de una célula normal en una maligna obedece a mutaciones genéticas y cambios somáticos. El conocimiento de estos cambios conduce a la identificación de nuevos objetivos. A partir de la década del 80 surge la idea del uso racional de fármacos, aplicándose el "diseño racional de nuevos fármacos", que es guiado por la estructura (DFGE) y que utiliza tecnologías relacionadas con la biología estructural para generar *in silico* una proteína diana y/o pequeñas moléculas como base para la generación de nuevos fármacos (Peláez, 2011).

Algunas sustancias portadoras del núcleo tiazol, como las bases de Schiff, son utilizadas comúnmente como pigmentos, colorantes, catalizadores o estabilizadores de polímeros (Menati, 2013). Muchas de ellas tienen efectos antitumorales, antibacterianos y fungicidas (Nagesh, 2015; Zayed y Zayed, 2015). Combinando estudios de toxicidad *in vitro* con técnicas informáticas, Abd-Elzaher et al (2016) estudiaron y seleccionaron varios compuestos de fórmulas similares sintetizados por ellos mismos.

Recientes investigaciones revelaron otras aplicaciones de los compuestos tiazólicos, para el tratamiento de alergias (Brzezińska et al, 2003), hipertensión arterial (Mishra et al, 2015), esquizofrenia (Jaen et al, 1990), ansiedad (Ergenc et al, 1999), inflamación (Sharma et al, 1998), trombosis (Badorc et al, 1997) o infecciones producidas por bacterias (Suzuki et al, 1994) y virus VIH (Ergenc et al, 1999).

Las cumarinas son drogas utilizadas como anticoagulantes; muchas de ellas son productos vegetales o derivan de ellos. Su espectro de actividad ha sido extendido a otros campos terapéuticos para el tratamiento de patologías psiquiátricas, Parkinson, etc.

Siguiendo algunos algoritmos y métodos de acoplamiento Mousavi et al (2012) diseñaron fórmulas de derivados cumarínicos y luego evaluaron sus interacciones con lípidos de la membrana de hongos. Tras aplicar criterios físico-químicos, seleccionaron varios compuestos potencialmente antifúngicos que podrían resultar útiles en el diseño de medicamentos antimicóticos.

Los productos naturales constituyen un campo de investigación muy explorado en la actualidad. Entre ellos, los flavonoides merecen especial atención debido a su amplia distribución en plantas, inocuidad y amplio consumo, ya sea como medicamentos, alimentos o suplementos dietarios. Fang et al (2016) compararon la actividad de distintos compuestos de ese tipo sobre la bacteria *Escherichia coli*. Los autores estudiaron la relación estructura-actividad inhibitoria de distintos flavonoides sobre la subunidad GyrB de la enzima ADN girasa a través de modelos y métodos de 3D-QSAR. Los grupos químicos involucrados y su ubicación estereoespecífica en la molécula serían de gran importancia para el descubrimiento de nuevos agentes antibacterianos.

En atención al considerable incremento en la resistencia a antibióticos, el descubrimiento de nuevos productos con mejor relación beneficios/riesgos reviste gran importancia. En este sentido, se descubrió que la actividad antituberculosa de la droga natural quinazolinona es incrementada si se incorporan en la posición 3 de su molécula el núcleo amido tiamida imidamido N,N-dimetil guanidinil o el N-piridoxil (Rajasekhar et al, 2016).

Utilizando especies de hongos como fuentes de actividad antimicrobiana, Alves et al (2013) evaluaron la relación estructura-actividad de sus compuestos principales mediante técnicas de acoplamiento. Sus resultados indican que los ácidos 2,4-dihidroxibenzoico y protocatequínico muestran la mayor actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina y que ésta es mayor que sobre la cepa sensible. La presencia de grupos carboxilo, hidroxilo y metoxilo en ciertas posiciones parecen ser importantes para la actividad biológica (Alves et al, 2014).

A partir de muestras de suelo, Singh et al (2015) aislaron el hongo *Penicillium radicum* y de sus cultivos identificaron la wortmanina. Este compuesto hidrofóbico está emparentado con los estrógenos y presenta un amplio espectro antifúngico que abarca al menos 38 especies. Su mecanismo de acción parece relacionarse con la inhibición irreversible de la

fosfoinositido 3-kinasa (PI3K). Los autores mostraron que la wortmanina se une in silico con mayor afinidad y especificidad al sitio activo de la enzima que los antiúngicos de referencia voriconazol y dipirobencimidazol. Sus datos resultan promisorios dentro de la búsqueda de antimicóticos más eficaces y seguros (fig. 3).

En Argentina, Fabián et al (2013), utilizando modelos moleculares tridimensionales, estudiaron in silico la relación estructura- actividad antiparasitaria de distintas lactonas sesquiterpénicas aisladas por su equipo a partir de plantas medicinales de la familia Asteraceae sobre *Trypanosoma cruzi*, causante de la enfermedad de Chagas. Esta infección representa un gran problema de salud, principalmente en Latinoamérica, donde existen 10 millones de personas infectadas y alrededor de 100 millones en riesgo de serlo.

Los estudios computacionales pueden ayudar a comprender más profundamente las complejas estructuras de diversas moléculas y sus interacciones. Por ejemplo, Chen et al en 2014 proponen que la sustitución de aminoácidos en el transportador ABC Pdr5p podría perjudicar los enlaces de tipo puente de hidrógeno y van der Waals que la macromolécula sostuviera con diferentes compuestos, impidiendo la unión y subsecuente eflujo de drogas eficaces. Estos efectos tendrían importancia en estrategias farmacológicas de reversión de resistencia.

En la búsqueda de nuevos inhibidores de bombas de eflujo de antimicóticos azólicos, nuestros laboratorios descubrieron que un flavonoide prenilado 2', 4'-hidroxi -5'-(1''- metilalil)-6-prenil pinocembrina (6PP) actúa en forma competitiva sobre transportadores de tipo ABC cdr, además de ser antimicótico por sí mismo (Pérez et al, 2003; Peralta et al, 2012). La interacción de dos sitios del transportador cdr2 con 6PP, fluconazol y adenosina trifosfato (ATP) fue propuesta a partir de datos de acoplamiento molecular (Barceló et al, 2014; fig. 4).

En un estudio de acoplamiento inverso se descubrió que la tanshinona IIA puede unirse a distintos receptores, tales como el ácido retinoico, un blanco patológico en la leucemia. La tanshinona es un abundante compuesto activo aislado de las raíces de *Salvia miltiorrhiza*, planta utilizada en medicina tradicional china para el tratamiento de patologías cardiovasculares durante más de 2000 años en China y otros países asiáticos. Los estudios informáticos podrían proporcionar información útil para posteriores investigaciones sobre productos naturales (Chen, 2014).

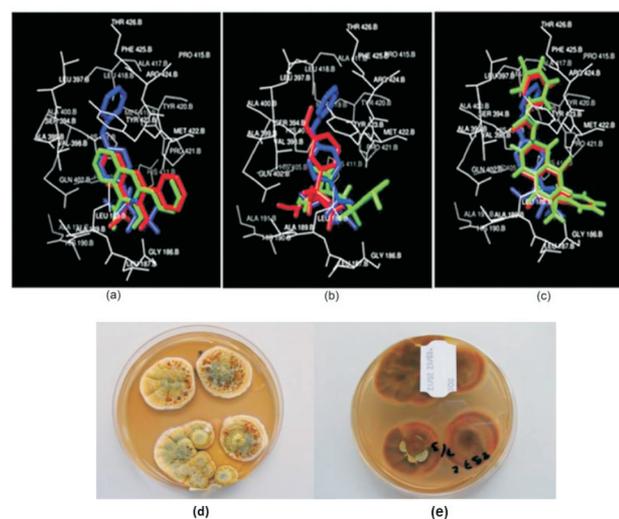


Figura 3. Acoplamiento molecular del sitio activo de la enzima fosfoinositido 3 kinasa (PI3K) con los compuestos wortmanina (a), voriconazol (b) y piridobencimidazol (c). Se especifican los aminoácidos involucrados en la unión estereoespecífica. Resultados obtenidos con los programas Autodock (rojo) y Flexidock (verde) en comparación con datos obtenidos de la estructura cristalina del ligando (azul). Se muestran imágenes de cultivo de *P. radicum* (d y e). Ensamble de figuras publicadas por Singh et al (2015) y de Vos et al (2009).

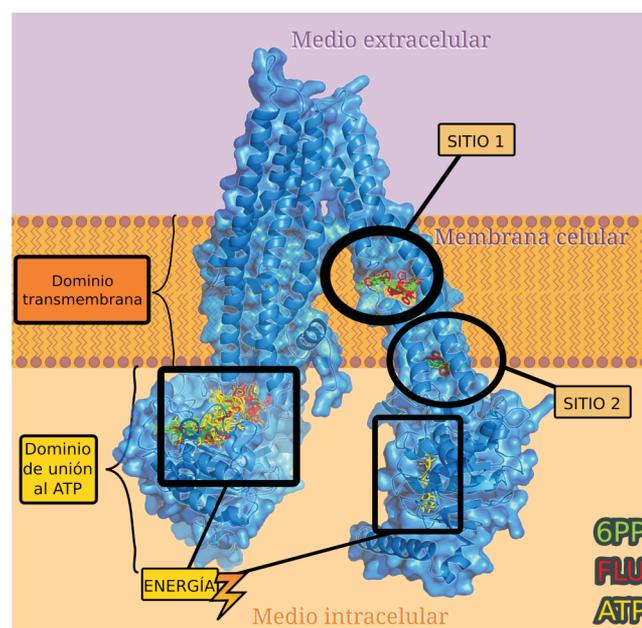


Figura 4. Representación esquemática del transportador ABC cdr2 de *Candida albicans* resistente a azoles. Se diseñó un modelo tridimensional a través de estudios de homología comparando con diferentes moléculas. Los sitios 1 y 2 reconocen con gran afinidad al fluconazol (FLU) y el flavonoide 6PP en el dominio transmembrana del transportador, mientras el nucleótido ATP y el 6PP se unen a dos sitios del dominio generador de energía. La figura fue adaptada de aquella publicada por Barceló et al (2014).

Aplicación de la informática a otras áreas de la biología
Como se mencionara en la sección anterior, la bioinformática también puede ser aplicada en otras áreas biológicas. En efecto, permite obtener una mejor comprensión de los sistemas biológicos al desarrollar herramientas de análisis de datos que facilitan el descubrimiento y la inferencia de información. De esta manera, muchos métodos bioinformáticos resultan útiles para complementar la investigación sobre procesos enzimáticos, estructura de proteínas, secuenciación proteica y dinámica molecular.

Existen varios temas de estudios relacionados con proteínas; entre ellos: cómo lograr su desnaturalización, cuál es la influencia de factores biológicos o físicos en sus propiedades y cómo es el agrupamiento de grandes familias de proteínas y sus subfamilias. En la Argentina, por ejemplo, diversos grupos de investigación están trabajando en hemoproteínas, simulación de desnaturalización por presión, reacciones de transferencia de protones e influencia de mutaciones en la dinámica y funciones de las proteínas, adaptación al frío, afinidades de ligandos, alosterismo y diversidad conformacional (Bassi et al, 2007).

El conocimiento de las estructuras proteicas, su dinámica e interrelaciones permitió conocer posibles aplicaciones terapéuticas y proponer algunos modelos fisiológicos como el del funcionamiento de las dendritas o de la red de células auditivas periféricas. En relación con las aplicaciones terapéuticas, algunos investigadores argentinos han utilizado la dinámica molecular para estudiar la guanaco, un metabolito vegetal que posee propiedades antitumorales, además de varios péptidos con actividad antifúngica. La secuenciación del genoma de *Trypanosoma cruzi* y de diferentes bacterias patógenas como *Brucella abortus*, *Campylobacter fetus*, *Tupaia belangeri* impulsa el desarrollo de posibles dianas de fármacos para el tratamiento de enfermedades parasitarias humanas (Bassi et al, 2007).

Las técnicas bioinformáticas son herramientas accesibles que pueden ser aplicadas a la investigación inmunológica. Así, permiten la obtención de información de la población humana acerca de secuencias y estructuras, patrones diversos en la expresión de los genes y variabilidad genética entre individuos. Han sido utilizadas, por ejemplo, para entender cómo el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) afecta las interacciones individuales con bacterias y virus o para relacionar el estrés con la patogenicidad intestinal de *Pseudomonas aeruginosa*. (Whelan et al, 2013).

En áreas de la salud y la alimentación, existen muchos estudios sobre agentes antibacterianos involucrados en intoxicaciones severas producidas por alimentos que contienen microorganismos como el *Clostridium perfringens*. Esta bacteria Gram positiva formadora de esporas causa gangrena gaseosa en humanos, al igual que enterotoxemia en el ganado, a través de la secreción de toxinas y enzimas. Entre éstas últimas, la neuraminidasa juega un papel importante en la nutrición, proliferación, crecimiento y estadíos iniciales de la infección bacteriana. A partir la raíz de *Corydalis turtchaninovi*, Kim et al (2014) aislaron varios compuestos que inhiben la neuraminidasa en forma no competitiva. Entre ellos, la palmitina y la berberina, que contienen un esqueleto alcaloide de isoquinolina cuaternaria. Los estudios bioinformáticos sobre simulaciones moleculares permiten predecir un mecanismo alostérico para la unión de los ligandos. Dado que los autores obtuvieron resultados similares con las de de enzimas de bacterias y hongos, dentro del cual los alcaloides estudiados serían potenciales agentes antibacterianos y antivirales.

En la agricultura, a través de la búsqueda de genomas útiles y dilucidación de sus funciones, la bioinformática puede conducir a la generación de cultivos más resistentes a la sequía, frío e insectos, así como a mejorar la calidad del ganado, tornándolo más saludable y productivo. *Arabidopsis thaliana* (berro), *Oryza sativa* (arroz), *Triticum aestivum* (trigo) y *Zea mays* (maíz) son ejemplos de genomas de plantas disponibles en forma completa. La transferencia de genes de *Bacillus thuringiensis*, un controlador de plagas graves, al algodón, maíz y papa, ha reducido la cantidad de insecticidas utilizados. Muchas otras herramientas bioinformáticas proporcionan alineamiento de secuencias moleculares, árboles filogenéticos y modelos de homología que permiten asignar funciones a genes y proteínas (Singh et al, 2011).

Una aplicación importante de la bioinformática en la agricultura está relacionada con las enfermedades que afectan a las plantas (Srinivasan et al, 2012). Se sabe que una parte significativa de la producción agrícola se pierde debido a enfermedades producidas por fitopatógenos como *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp. Plaguicidas y fungicidas suelen ser comúnmente empleados para reducir estas pérdidas. Una de las mejores alternativas son los elaborados a partir de metabolitos de plantas y otros productos de origen vegetal, pues tienen generalmente un mínimo impacto ambiental y son poco riesgosos para quienes los consumen, en contraposición a los

plaguicidas sintéticos (Dubey et al, 2008; Satish et al, 2007). Los productos naturales provenientes de plantas también pueden ser una nueva fuente de agentes antimicrobianos con un mecanismo de acción posiblemente novedoso, en contraste con las drogas sintéticas (Farooqi et al, 2003).

Recientemente, a partir de la semilla de *Psoralea corylifolia* L. (Fabaceae), una planta tradicionalmente usada en la medicina china para el tratamiento de diversos tipos de patologías humanas, algunos investigadores aislaron y evaluaron varios compuestos empleando técnicas de acoplamiento molecular y estudios experimentales (Srinivasan et al, 2012). Así, descubrieron un nuevo derivado fenílico de la piranocumarina (PDP). Este compuesto tiene actividad antifúngica in vitro contra especies de *Fusarium*, uno de los géneros de hongos de mayor importancia en la agricultura, que causa marchitamiento vascular; pudrición de raíz, corona, tallo, fruto y semillas, además de efectos nocivos importantes para la salud animal y humana mediados por la liberación de micotoxinas. El mecanismo de acción involucraría la inhibición de la enzima tricoteceno 3-O-acetiltransferasa (Tri101), que cataliza la transferencia de un grupo acetilo a varias micotoxinas. El cambio generado por este mecanismo sería letal para los hongos (McCormick et al, 2011). Cabe destacar que las cumarinas son fármacos utilizados como anticoagulantes y tienen otros efectos potencialmente terapéuticos en enfermedades humanas, como se mencionara anteriormente (aplicaciones farmacológicas).

Métodos

Los métodos bioinformáticos utilizados dependen de las características de los seres vivos. Una buena forma de entender sus procesos consiste, por ejemplo, en construir modelos tridimensionales de las moléculas involucradas y de sus interacciones (Chen, 2014). La bioinformática usa diferentes métodos como acoplamiento, alineamiento secuencial y estructural, sumados a otros que se describirán a continuación.

a. Acoplamiento biomolecular

Comprende el estudio de posibles interacciones entre un ligando y el sitio de unión de una macromolécula, usualmente un receptor, una enzima o un transportador. Necesita la combinación de un algoritmo conformacional de muestra que genere distintas interacciones correspondientes a las posibles posiciones del ligando y una escala cuantitativa que evalúe comparativamente cada posición. La escala de referencia refleja la energía libre de las interacciones y

proviene del cálculo rápido de una gran serie de datos cuyo número puede acotarse (Chaskar et al, 2014). Una información detallada de datos es importante para encontrar el mejor modelo que interprete los hechos en consideración de los diversos factores que pueden modificar la superficie de las proteínas (Lengauer y Rarey, 1996).

Una variante de este método es el acoplamiento inverso, en que el ligando es evaluado in silico en su potencial unión a una serie de moléculas proteicas incluidas en una base de datos digital. Por ejemplo, la sustancia vegetal tanshinona IIA, mencionada en la sección “Aplicaciones farmacológicas”, ha sido asociada con 10 blancos patológicos que incluyen enzimas metabolizadoras de glucocorticoides (11-beta-deshidrogenasa isoenzima 1), aldosa reductasa y receptor alfa del ácido retinoico, vinculados a la deficiencia de cortisona, diabetes y leucemia, respectivamente (Chen, 2014). Este tipo de estudios puede proveer información útil para futuros estudios farmacológicos.

b. Alineamiento secuencial y estructural

Se aplica a la comparación de estructuras moleculares de ADN, ARN y proteínas, entre otras. El estudio de similitud de diversas secuencias comparadas permite inferir funciones de genes y proteínas, además de profundizar estudios y formular hipótesis (Singh et al, 2011). El alineamiento múltiple de secuencias constituye una poderosa herramienta para ubicar una función dentro de una secuencia determinada (Lipman et al, 1989).

Algunos programas bioinformáticos

a. Autodock

Permite predecir la forma en que un potencial ligando puede unirse a una macromolécula de estructura tridimensional conocida (Autodock, <http://autodock.scripps.edu/#WHAT>)

b. Clustal Omega

Permite generar alineamientos de múltiples secuencias para proteínas de diferentes estructuras divergentes (Clustal Omega, <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>)

c. PYMOL

Es un sistema que permite la visualización de moléculas (<https://www.pymol.org/pymol>)

d. Avogadro

Avogadro es un avanzado visualizador y editor de moléculas diseñado para intercambiar información acerca de química computacional, modelado de moléculas, materiales científicos, etc. (http://avogadro.cc/wiki/Main_Page).

e. UCSF quimera

UCSF Chimera es un extenso programa diseñado para visualizar y analizar en forma interactiva estructuras moleculares y datos que incluyen mapas de densidad, ensambles supramoleculares, alineamiento de secuencias, acoplamiento, etc. (<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/>).

f. VMD (Visual Molecular Dynamics)

Fue diseñado para el modelado, visualización, simulación y análisis de sistemas biológicos como proteínas, ácidos nucleicos, ensamble de capas bilipídicas, etc. Permite realizar dibujos animados, coloración de áreas y espacios importantes, trayectorias seguidas por las moléculas, posiciones de los átomos involucrados, etc. (VMD, http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/allversions/what_is_vmd.html).

CONCLUSIONES

En las últimas décadas el empleo de técnicas computacionales ha realizado importantes contribuciones a diversas áreas relacionadas con la biología, medicina, alimentación, agricultura, etc.. Dentro de la farmacología, ellas constituyen valiosas herramientas destinadas al descubrimiento, desarrollo y control de medicamentos, tanto en sus efectos terapéuticos como tóxicos. A través de distintos enfoques, pueden ser utilizadas para complementar métodos experimentales, profundizar sus hallazgos, diseñar sustancias o guiar su búsqueda mediante estudios de estructura- actividad.

La emergencia de resistencia y otros factores justifican la profundización y ampliación de estudios acerca de nuevos medicamentos antimicrobianos y estrategias para su uso. En este contexto, la bioinformática ha realizado importantes contribuciones, algunas de las cuales se consignan en este artículo.

Financiación: UBACYT 2016, 20020150200189BA0.

BIBLIOGRAFIA

Abd-Elzaber MM, Labib AA, Mousa HA, Moustafa SA, Ali MM, El-Rashedy AA. *Synthesis, anticancer activity and molecular docking study of Schiff base complexes containing thiazole moiety*. Beni-suef university journal of basic and applied sciences 2016: 85–96.

Alves MJ, Ferreira ICFR, Froufe HJC, Abreu RMV, Martins A, Pintado M. *Antimicrobial activity of phenolic compounds identified in wild mushrooms, SAR analysis and*

docking studies. J. Appl. Microbiol. 2013; 115 (2): 346–357.
Alves MJ, Froufe HJC, Costa AFT, Oliveira LG, Ferreira ICFR, Osório SRM et al. *Docking studies in target proteins involved in antibacterial action mechanisms: extending the knowledge on standard antibiotics to antimicrobial mushroom compounds*. Molecules 2014; 19 (2): 1672-1684.

Badorc A, Bordes MF, De Cointet P, Savi P, Bernat A, Lale A et al. *New orally active non-peptide fibrinogen receptor (GpIIb-IIIa) antagonists: identification of ethyl 3-[N-[4-[4-[amino[(ethoxycarbonyl) imino]methyl]phenyl]-1,3-thiazol-2-yl]-N-[1-[(ethoxycarbonyl) methyl] piperid-4-yl] amino] propionate (SR 121787) as a potent and long-acting antithrombotic agent*. J. Med. Chem. 1997; 40: 3393–3401.

Bajic VB, Brusic V, Li J, Ng S, Wong L. *From Informatics to Bioinformatics. Proceedings of the first Asia-Pacific bioinformatics conference on bioinformatics, Adelaide, Australia, 2003: 3-12*.

Barceló S, Peralta MA, Ortega MG., Cabrera JL, Pérez C. *Interacciones moleculares de un flavonoide prenilado con transportadores de antimicóticos dependientes de ATP*. Rev. Facultad Odontología (UBA) 2014; vol. 29, n° 66: 26-36.

Bassi S, Gonzalez V, Parisi G, *Computational Biology in Argentina*, PLoS Comput. Biol. 2007; 3 (12): 2426-2431.

Brzezinska E, Koska G, Walczynski K. *Application of thin-layer chromatographic data in quantitative structure–activity relationship assay of thiazole and benzothiazole derivatives with H1-antihistamine activity*. J. Chromatogr. 2003; 1007: 145–155.

Chaskar P, Zoete V, Röhrig UF. *Toward On-The-Fly Quantum Mechanical/Molecular Mechanical (QM/MM) Docking: Development and Benchmark of a Scoring Function*. J. Chem. Inf. Model. 2014; 54: 3137–3152

Chen SJ. *A potential target of Tanshinone IIA for acute promyelocytic leukemia revealed by inverse docking and drug repurposing*, As-an. Pacific. J. Cancer. Prev. 2014; 15: 4301-4305.

Chen Z, Li J, Wang W, Guo X, Li Y, Mao X et al. *Mutations adjacent to the end of transmembrane helices 6 and 7 independently affect drug efflux capacity of yeast ABC transporter Pdr5p*. Biochim. Biophys. Acta 2014; 1838 (3): 932–939.

- Dayhoff M, Eck R. *Atlas of protein sequence and structure 1967–1968*, Maryland (Silver Spring). National Biomedical Research Foundation, 1968.
- Dubey NK, Srivastava B, Kumar. *A Current status of plant products as botanical pesticides in storage pest management 2008*; 1 (2):182–186.
- Ergenc N, -apan G, Günay NS, Özkeirimli S, Güngör M, Özbey S et al. *Synthesis and hypnotic activity of new 4-thiazolidinone and 2-thioxo-4,5-imidazolidinedione derivatives*, *Arch. Pharm.* 1999; 332: 343–347.
- Fabian L V, Sülsen F, Frank S, Cazorla E, Malchiodi V, Martino E, Lizarraga C, Catalán A, Moglioni L, Muschiatti L, Finkelsztein. *In Silico Study of Structural and Geometrical Requirements of Natural Sesquiterpene Lactones with Trypanocidal Activity. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry 2013*; 13 (10): 1407-14.
- Fang Y, Lu Y, Zang X, Wu T, Qi XJ, Pan S, Xu X. *3D-QSAR and docking studies of flavonoids as potent Escherichia coli inhibitors*. *Sci. Rep.* 2016; 6: 23634. (DOI: 10.1038/srep23634)
- Farooqi A A, Sreeramu B S. *History, importance, present status and future prospects of medicinal plant, in Cultivation of Medicinal and Aromatic Plants, Universities Press (India) Limited, Hyderabad, India 2003*: 1–18
- Hesper B, Hogeweg P. *Bioinformatica: een werkconcept. Kameleon 1970*; 1(6): 28–29. (InDutch.) Leiden: Leidse Biologen Club.
- Hogeweg P. *Simulating the growth of cellular forms. Simulation 1978*; 31: 90–96.
- Hogeweg P, Hesper B. *Interactive instruction on population interactions. Comput. Biol. Med.* 1978; 8: 319–327.
- International Human Genome Sequencing Consortium (2001). *The Human Genome Project Information Archive glossary 2001* (http://web.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/glossary.shtml#B)
- International Human Genome Sequencing Consortium. *Finishing the euchromatic sequence of the human genome. Nature 2004*; 431 (7011): 931-945.
- Jaen JC, Wise LD, Caprathe BW, Teclé H, Bergmeier S, Humblet CC et al. *4-(1,2,5,6-Tetrahydro-1-alkyl-3-pyridinyl)-2-thiazolamines: a novel class of compounds with central dopamine agonist properties*, *J. Med. Chem.* 1990; 33: 311–317.
- Kim JH, Ryu YB, Lee WS, Kim H. *Neuraminidase inhibitory activities of quaternary isoquinoline alkaloids from Corydalis turtschaninowii rhizome*. *Bioorg. Med. Chem.* 2014; 22: 6047–6052.
- Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J et al. *International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome*, *Nature* 2001; 409 (6822): 860-921.
- Lengauer T, Rarey M. *Computational methods for biomolecular docking. Curr. Opin. Struct. Biol.* 1996; 6(3): 402-406.
- Lindenmayer A, *Mathematical models for cellular interactions in development I. Filaments with one-sided inputs. J Theor Biol.* 1968; 18: 280–299.
- Lipman DJ, Altschul SF, Kececioglu JD. *A tool for multiple sequence alignment (proteins/structure/evolution/dynamic programming)*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1989 *Biochemistry* 86: 4412-4415.
- Luscombe NM, Greenbaum D, Gerstein M. *What is bioinformatics? A proposed definition and overview of the field. Methods Inf. Med.* 2001; 40(4): 346-358.
- May R. *Biological populations with non overlapping generations: stable points, stable cycles and chaos. Science* 1974; 186: 645–647.
- McCormick PS, Stanley M A, Stover A N, Alexander J N. *Trichothecenes: from simple to complex mycotoxins. Toxins (Basel)* 2011; 3, 7: 802–814.
- Menati S, Azadbakht A, Azadbakht R, Taeb A, Kakanejadifard A, *Synthesis, characterization, and electrochemical study of some novel, azo-containing Schiff bases and their Ni(II) complexes*, *Dyes. Pigm.* 2013; 98(3): 499–506.
- Mishra CB, Kumari S, Tiwari M. *Thiazole: a promising heterocycle for the development of potent CNS active agents. Eur. J. Med. Chem.* 2015; 92: 1–34.
- Mousavi SS, Bokbarae H, Mirhafez SR, Alavi SM, Safari H, Mirzazadeh Z, Hamidi M. *Evaluation of binding interaction of coumarin antifungals to bilipid membrane using Dock scoring function and Levenberg-Marquardt neural network*, *Indian Jour. Biotech.* 2012; 11: 163-170.

- Nagesh GY, Raj KM, Mruthyunjayaswamy BHM. Synthesis, characterization, thermal study and biological evaluation of Cu(II), Co(II), Ni(II) and Zn(II) complexes of Schiff base ligand containing thiazole moiety. *J. Mol. Struct.* 2015; 1079: 423-432.
- Pérez F. Paradigmas actuales en las etapas tempranas del proceso de descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos. *An. Quim.* 2011; 107 (1): 36-45.
- Peralta MA, Calise M, Fornari MC, Ortega MG, Diez RA, Cabrera JL, Pérez C. A prenylated flavanone from *Dalea elegans* inhibits rhodamine 6G efflux and reverses fluconazole resistance in *Candida albicans*. *Planta Med.* 2012; 78 (10): 981-987.
- Pérez C, Tiraboschi IN, Ortega MG, Agnese AM, Cabrera JL. Further antimicrobial studies on 2'-4'-dihydroxy-5'-(1''-dimethylallyl)-6-prenylpinocembrin from *Dalea elegans*. *Pharm Biol.* 2003; 41, 3: 171-175.
- Petrov NA, Karginov VA, Mikriukov NN, Serpinski OI, Kravchenko VV. Complete nucleotide sequence of the bacteriophage lambda DNA region containing gene Q and promoter pR'. *Febs. Lett.* 1981; 133 (2): 316-320.
- Rajasekhar KK, Nizamuddin ND, Surur AS, Mekonnen YT. Synthesis, characterization, antitubercular and antibacterial activity, and molecular docking of 2,3-disubstituted quinazolinone derivatives. *Res. Rep. Med. Chem.*; 2016; 6: 15-26.
- Sanger F, Coulson AR, Hong G, Hill DF, Petersen GB. Nucleotide sequence of bacteriophage lambda DNA. *J. Mol. Biol.* 1982; 162 (4): 729-773.
- Satish S, Mobana DC, Raghavendra MP, Raveesha KA. Antifungal activity of some plant extracts against important seed borne pathogens of *Aspergillus* sp., *Journal of Agricultural Technology* 2007; vol. 3, 1:109-119.
- Sharma PK, Sawnbney SN, Gupta A, Singh GB, Bani S. Synthesis and antiinflammatory activity of some 3-(2-Thiazolyl)-1,2-benzisothiazoles. *Indian J. Chem.* 1998; 37(4): 376-381.
- Singh VK, Singh AK, Chand R, Kushwaha C. Role of Bioinformatics in agriculture and sustainable development. *Int. J. Bioinformatics Res.* 2011; 3 (2): 221-226.
- Singh V, Vandana P, Tripathi D, Haque S, Somvanshi C, Katti, Tripathi KM. Isolation, characterization and antifungal docking studies of wortmannin isolated from *Penicillium radicum*. *Sci. reports* 2015; 5:11948 | DOI: 10.1038/srep11948
- Srinivasan S, Sarada CVL. Antifungal activity of phenyl derivative of pyranocoumarin from *Psoralea corylifolia* L. seeds by inhibition of acetylation activity of Trichothecene 3-O-Acetyltransferase (Tri101). *J. Biomed. Biotechnol.* 2012, Article ID 310850 (doi:10.1155/2012/310850)
- Sturtevant AH. *A History of Genetics*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Electronic Scholarly Publishing Project, Cold Spring Harbor, 2001.
- Suzuki N, Shiota T, Watanabe F, Haga N, Murashi T, Obara T et al. Synthesis and evaluation of novel pyrimidine-based dual EGFR/Her-2 inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1994; 4: 1601-1606.
- Vos JP, van Garderen E, Hensen H, Tange I, Curfs-Breuker I, Vandeveld B, Meis JF. Disseminated *Penicillium radicum* infection in a dog, clinically resembling multicentric malignant lymphoma. *Gedissemineerde Penicillium radicum infectie bij een hond klinisch gelijkend op een multicentrisch maligne lymfoom. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 2009; 78: 183-188.
- Whelan F, Yap NVL, Surette MG, Golding GB, Bowdish DME. *A guide to bioinformatics for immunologists*, *Front. Immunol.* 2013; 4: 416.
- Zayed E.M., Zayed M.A., Synthesis of novel Schiff's bases of highly potential biological activities and their structure investigation. *Spectrochim Acta A. Mol. Biomol. Spectrosc.* 2015; 143: 81-90.

Dirección para correspondencia;
Cátedra de Farmacología, Facultad de Odontología
Universidad de Buenos Aires
Marcelo T. Alvear 2142 CP 1125, Buenos Aires
Argentina
cristina.perez@odontologia.uba.ar: