



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
LICENCIATURA EN BIOTECNOLOGÍA**

**ESTUDIO COMPUTACIONAL DE LA INTERACCIÓN
DE UN GRUPO DE HIDROXIXANTONAS CON
ACTIVIDAD ANTICANCERÍGENA CON
P-GLICOPROTEÍNA.**

**Tesis que para obtener el título de:
LICENCIADA EN BIOTECNOLOGÍA**

**PRESENTA:
MARÍA JOSÉ VEGA DEL REAL**

**DIRECTOR DE TESIS: DR. FRANCISCO JAVIER
MELÉNDEZ BUSTAMANTE
CO-DIRECTORA DE TESIS: DRA. NORMA ANGÉLICA
CABALLERO CONCHA**



NOVIEMBRE 2018

Agradecimientos.

Se agradece el extenso y constante apoyo del Laboratorio de Química Teórica (LabQT) de la Facultad de Ciencias Químicas para la realización, revisión y conclusión de esta tesis.

La realización de esta tesis fue posible gracias a los recursos computacionales del Clúster del LabQT y del Laboratorio Nacional de Supercómputo del Sureste de México (LNS-BUAP) de la red CONACYT de laboratorios nacionales, a través de los proyectos: “Estudio Estructural y Espectroscópico de Diferentes Sistemas Moleculares” e “Identificación de estructuras químicas con relevancia terapéutica empleando técnicas de Docking Molecular y QSAR”.

Se agradece también al Laboratorio de Supercómputo y Visualización en Paralelo (LSVP) de la Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Iztapalapa por los recursos de cómputo provistos.

Se agradece a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP) BUAP



A través de los proyectos: 100256733-VIEP2018 y 100517029-VIEP2018.

Finalmente, se agradece al Cuerpo Académico (CA) BUAP-CA263 “Investigación experimental-computacional de nuevos materiales y sistemas moleculares.

Esta investigación fue realizada gracias al apoyo del Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Puebla (CONCyTEP).



Dedicatoria.

Dedico esta tesis a mis padres, pero en especial a mi madre. Mamá, gracias por estar al pie del cañón en todo momento. Esta tesis es tanto suya como mía.

...

A mi comité revisor, especialmente a la Dra. Norma Caballero por su inagotable paciencia, y a todos los que dedicaron tiempo corrigiendo o simplemente leyendo esta tesis, ¡muchas gracias!

A los doctores Sergio Juárez del Carmen y Víctor de Gante Cabrera, dos de los mejores profesores que he tenido.

A mis compañeros de laboratorio, especialmente a Mari, Viole y Liz: Muchas gracias por su ayuda.

A H.B., donde quiera que estés.

Resumen.

Las células cancerígenas pueden presentar resistencia a múltiples fármacos, por lo que la quimioterapia requiere de terapias coadyuvantes que aseguren el éxito del tratamiento en el paciente, y una propuesta interesante es la inhibición de factores que confieren resistencia, como es la glicoproteína de permeabilidad (P-glicoproteína).

Diferentes fitoquímicos como las hidroxixantonas han demostrado poseer actividad anticancerígena, sin embargo, el mecanismo mediante el cual actúan es fundamentalmente desconocido. En el presente trabajo se estudiaron doce hidroxixantonas cuya actividad antitumoral ha sido reportada y que presentan una alta afinidad con la P-glicoproteína (P-gp), la cual ha sido demostrada tras la realización de un acoplamiento molecular donde se utilizó como receptor la conformación “hacia adentro” y la conformación “hacia afuera” de P-glicoproteína, y cuyos resultados se compararon con las afinidades de inhibidores de tercera generación específicos para P-glicoproteína como zosuquidar, laniquidar y tariquidar. Previamente se realizó una predicción del sitio activo de la conformación “hacia afuera” de la P-glicoproteína tomando como base la página <https://proteins.plus/> para localizarlo con exactitud.

Utilizando como receptor la conformación “hacia adentro” de la P-glicoproteína y las doce hidroxixantonas como ligandos, se comprobó que las hidroxixantonas X1, X4 y X6 presentan energías de interacción comparables a las del ATP en el dominio de unión al nucleótido de la conformación “hacia adentro” de P-glicoproteína, siendo posibles inhibidores de la hidrolización de ATP, mientras que las hidroxixantonas X1, X3 y X5 presentan las energías de interacción más altas en el dominio de unión al sustrato, pero esos valores no son comparables a las energías de interacción que presentan los inhibidores zosuquidar, laniquidar y tariquidar. Se comprobó que las energías de interacción en el dominio de unión al sustrato de la conformación “hacia afuera” de P-glicoproteína fueron menores a las obtenidas en los anteriores acoplamientos moleculares, debido a que el tamaño de la cavidad no favorece las interacciones. Por último, se considera que una de las aportaciones interesantes del presente estudio fue encontrar hidroxixantonas que presentaron los valores más favorables de potencial tipo

droga y que correspondieron a X4, X6 y X8 Este valor implica que podrían ser propuestas como fármacos en un futuro.

Se realizó también un estudio computacional que incluye un acoplamiento molecular en el dominio de unión al sustrato de las dos conformaciones de P-gp utilizando el programa SYBYL-X. Las hidroxixantonas que presentaron los mejores valores de afinidad en la conformación hacia adentro fueron X4, X6 y X12 mientras que en la conformación “hacia afuera”, los mejores valores de afinidad corresponden a las hidroxixantonas X1, X8 y X9

Contenido.

Capítulo 1. Introducción, antecedentes, justificación, hipótesis y objetivos.....	8
1.1 Introducción	8
1.2 Antecedentes.....	11
1.3 Planteamiento y Justificación	24
1.4 Hipótesis.....	25
1.5 Objetivos generales y específicos	25
Capítulo 2. Marco teórico.....	26
2.1 Fundamentos de teoría cuántica y molecular.....	26
2.1.1 Ecuación de Schrödinger.....	26
2.1.2 Teoría de los funcionales de la densidad.....	27
2.1.3 Funciones base	28
2.2 Búsqueda de secuencias relacionadas con la secuencia objetivo	29
2.3 Acoplamiento molecular	30
2.4 Potencial tipo droga.....	32
Capítulo 3. Metodología.....	34
3.1 Preparación de los ligandos.....	34
3.2 Elección y preparación del receptor.....	36
3.2.1 Alineación de secuencias	36
3.2.2 Localización del sitio activo	39
3.2.3 Preparación del receptor para acoplamiento molecular.....	39
3.3 Acoplamiento molecular.....	40
3.3.1 AutoDock Tools y AutoDock Vina.....	40
3.3.2 SYBYL-X 2.1	42
3.4 Potencial tipo droga.....	43

4. Resultados y discusión.....	44
4.1 Acoplamiento molecular en AutoDock Vina.....	44
4.1.1 Acoplamiento molecular en el NBD de la conformación “hacia adentro” (6FN1)..	44
4.1.2 Acoplamiento molecular en el SBD de la conformación “hacia adentro” (6FN1).	50
4.1.3 Acoplamiento molecular en el SBD de la conformación “hacia afuera” (6C0V)....	55
4.2 Acoplamiento molecular en SYBYL-X	57
4.3 Predicción de la característica Potencial tipo droga	58
5. Conclusiones.....	62
6. Referencias.	64
Apéndice A Abreviaturas	76
Apéndice B Lista de figuras	76
Apéndice C Lista de tablas	77
Apéndice D Códigos de los aminoácidos	78
Apéndice E Programas utilizados.....	79
Apéndice F Ruta de trabajo para los cálculos de optimización (funcional B3LYP).....	84
Apéndice G Matriz-Z para una hidroxixantona optimizada.	85
Apéndice H Coordenadas cartesianas para ATP, zosuquidar, tariquidar y laniquidar...	88
Apéndice I Formatos FASTA.....	110
Apéndice J Posición del sitio activo.....	113
Apéndice K Localización de las cajas grid en AutoDock Tools.....	116
Apéndice L Resultados omitidos del acoplamiento molecular con AutoDock Vina.....	119
Apéndice M Resultados omitidos de la predicción del potencial tipo droga.	128

Capítulo 1. Introducción, antecedentes, justificación, hipótesis y objetivos.

1.1 Introducción

El cáncer es la segunda causa de muerte a nivel mundial, siendo responsable de 8.8 millones de muertes sólo en el año 2015 [1]. Si bien se trata de una patología ampliamente estudiada, existen obstáculos significativos que impiden proveer de un tratamiento efectivo a los pacientes con cáncer, uno de los cuales es la resistencia a los múltiples fármacos empleados en la quimioterapia. Este fenómeno consiste en el flujo anormal de agentes quimioterapéuticos hacia el exterior de la célula tumoral, debido principalmente a la sobreexpresión de proteínas conocidas como transportadores dependientes de ATP [2, 3]. El miembro más notable de estos transportadores es la Glicoproteína de Permeabilidad (P-gp, por sus siglas en inglés) [4], que se expresa selectivamente en los puntos de entrada de xenobióticos, donde actúa como una bomba de flujo y previene la entrada de sustancias nocivas a los órganos y tejidos sensibles como son el hígado, los riñones, la placenta o la barrera hematoencefálica [5]. La importancia de P-gp radica en su efectividad como transportador [6], además de que su sobreexpresión está relacionada con la resistencia a múltiples fármacos (MDR) en tumores. Es el miembro mejor caracterizado de la familia de transportadores ABC [7] y su inhibición como un método para revertir la MDR en pacientes con cáncer ha sido estudiada de manera extensiva, e incluso existe una clasificación basada en la especificidad, afinidad y toxicidad para los inhibidores de ésta, la cual cuenta ya con tres generaciones [8].

Hoy en día, la búsqueda de inhibidores selectivos y no tóxicos para P-gp continúa, principalmente para asegurar el éxito de la quimioterapia. Fitoquímicos como los derivados de xantonas podrían ser perfilados como una alternativa, puesto que sus características antitumorales han sido reportadas numerosas veces, por ejemplo, en líneas celulares de cáncer de próstata [9], líneas celulares de cáncer colorrectal [10] y líneas celulares de cáncer de mama [11]. Estudios como el de Tchamo *et al.*, en el cual se estudian xantonas preniladas, han propuesto estas moléculas como moduladores de P-gp [12]. Más aún, los compuestos derivados de xantonas conocidos como

hidroxixantonas han demostrado su efectividad como agentes anticancerígenos en diversos trabajos, incluyendo su rol efectivo en la inhibición de las células cancerígenas del cáncer de mama [13, 14]. Debido a los resultados de los estudios previamente mencionados, se propone que un posible mecanismo de acción antitumoral de las hidroxixantonas puede llevarse a cabo mediante la modulación o la inhibición de proteínas transportadoras.

La finalidad de este trabajo es medir y documentar la afinidad y las interacciones de doce hidroxixantonas con P-gp a través de estudios *in silico* para sentar las bases para estudios posteriores *in vitro* e *in vivo*.

Este escrito se divide en los siguientes capítulos:

- Capítulo 1. Introducción, antecedentes, justificación, hipótesis y objetivos: En este capítulo se contextualiza el trabajo, mencionando trabajos previos realizados en el campo de las hidroxixantonas, los aspectos más relevantes de P-gp y de sus inhibidores. Se justifica la importancia de la tesis, además de plantearse la hipótesis y los objetivos generales y específicos que se pretenden alcanzar mediante la realización de la metodología.
- Capítulo 2. Marco teórico. Se presentan los conceptos en los cuales se basan los estudios llevados a cabo en esta tesis, los cuales son la búsqueda de secuencias relacionadas con la secuencia problema, y los fundamentos considerados para llevar a cabo la optimización de las moléculas de zosuquidar, laniquidar y tariquidar, cuyos valores de afinidad se utilizaron como referencia, además de los fundamentos teóricos de las herramientas computacionales utilizadas, las cuales corresponden al acoplamiento molecular y al cálculo de valor del potencial tipo droga, el cual hace referencia al potencial que presenta una molécula para convertirse en fármaco.
- Capítulo 3. Metodología: Se describen los métodos utilizados en la elaboración del presente trabajo, como la optimización de las estructuras de zosuquidar, laniquidar y tariquidar, la búsqueda de las secuencias y estructuras más adecuadas para utilizarlas como receptoras en el estudio del acoplamiento molecular, la localización de los sitios activos (el dominio de unión al nucleótido y el dominio de unión al sustrato) que se

consideraron para posicionar las cajas *grid* en el estudio de acoplamiento, tanto en AutoDock Vina como en SYBYL-X, y el cálculo del valor del potencial tipo droga.

- Capítulo 4. Resultados y discusión. Se presentan e interpretan los resultados obtenidos tras el estudio de los doce compuestos. Se enlistan las hidroxixantonas con las energías de interacción más favorables tanto en el dominio de unión al nucleótido como en el dominio de unión al sustrato, además de las hidroxixantonas que presentaron los valores más favorables de potencial tipo droga.
- Capítulo 5. Conclusiones. Se presentan los argumentos relativos a los resultados obtenidos y posibles enfoques posteriores que se podría dar a la investigación.
- Bibliografía. Se enlistan las referencias utilizadas en el presente trabajo.

1.2 Antecedentes

❖ Hidroxixantonas

Las xantonas o 9H-xanten-9-onas son compuestos heterocíclicos oxigenados presentes en la naturaleza. Estos compuestos se encuentran principalmente en individuos de la familia *Gentianaceae* [15] de distribución cosmopolita, y del género *Garcinia* [16] cuyas especies pueden producir frutos comestibles como el mangostino morado, fruto del árbol mangostán (*Garcinia mangostana*, *Clusiaceae*, *Linn*). Históricamente se ha utilizado el pericarpio del mangostino morado como un agente medicinal en el tratamiento de infecciones cutáneas y heridas, disentería amebiana, diarrea y cólera [16]. El extracto metanólico del pericarpio contiene cantidades considerables de xantonas, así como también de terpenos, antocianinas, taninos y fenoles. Estudios experimentales han demostrado que los extractos del mangostino morado poseen actividad antitumoral, antioxidante, anti-alérgica y antiviral, entre otras características interesantes [17].

Hacia el 2008 se habían reportado cerca de 68 xantonas obtenidas del mangostino morado, de las cuales las más abundantes y frecuentemente estudiadas son la α -mangostina, β -mangostina y γ -mangostina, la garcinona E y la gartanina, a las cuales se han atribuido aspectos quimiopreventivos y antiproliferativos [18, 19]. La actividad antitumoral de las xantonas incluye: supresión de la proliferación celular en tumores, inducción de la apoptosis, reducción de la inflamación, inhibición de la adhesión, invasión y metástasis [9, 17, 20].

La actividad biológica de las xantonas está asociada a su esqueleto tricíclico, sin embargo, esta actividad varía en dependencia de la naturaleza y/o posición de los sustituyentes que presenta la molécula [21]. El presente trabajo es un estudio teórico de la afinidad de doce hidroxixantonas (xantonas con uno o más grupos hidroxilo en posiciones variables de su estructura xanthen-9-ona) cuya actividad antitumoral ha sido reportada con los dominios de unión a ATP y a sustrato de P-gp. Con el fin de resumir los antecedentes encontrados en la literatura acerca de las hidroxixantonas estudiadas en esta tesis y con el afán de realizar una presentación condensada de dichos

antecedentes, se presenta a continuación parte del conocimiento científico publicado hasta el momento con respecto a las hidroxixantonas.

Tabla 1.1. Resumen de los antecedentes de la síntesis y comportamiento biológico de las hidroxixantonas utilizadas en este trabajo. La tabla fue tomada de Caballero *et al.* [22].

Año de publicación	Aportaciones de la investigación	Referencia
1970	Química del <i>Guttiferae</i> XXIII brasileño. Síntesis de hidroxixantonas del género <i>Kielmeyera</i> vía desmetilación selectiva de metoxixantonas.	Gottlieb <i>et al.</i> [23].
1998	Estudio teórico del efecto de un disolvente en las propiedades del espectro luminiscente de moléculas con heteroátomos de nitrógeno y oxígeno.	Korotkova <i>et al.</i> [24].
2004	Xantonas naturales bioactivas.	Imperato [25].
2010	Síntesis y citotoxicidad en células cancerígenas de xantenos sustituidos.	Giri <i>et al.</i> [26]
2011	Construcción y uso de tetrahidroxixantonas por enlace C-O y C-C catalizados por Pd en la identificación del farmacóforo "Anti-austero" de kigamicinas.	Turner <i>et al.</i> [27].

2011	Efectos anti-tumorales de derivados de xantonas y posibles mecanismos de acción.	Su <i>et al.</i> [28].
2011	Modelado molecular y estudios espectroscópicos en la caracterización de dos xantonas enlazadas a albúmina del suero humano.	He <i>et al.</i> [29].
2012	Xantonas preniladas enjauladas. Química y biología.	Anantachoke <i>et al.</i> [30].
2013	Ácido gambógico: Una xantona prenilada enjaulada de <i>Garcinia</i> como potente agente anticancerígeno farmacéuticamente prometedor.	Brahmachari [31].
2013	Modelado de compuestos naturales anti alérgicos por topología molecular.	Garcia-Domenech <i>et al.</i> [32].
2014	Modelado del farmacóforo y estudios de acoplamiento molecular en <i>Pinus roxburghii</i> como blanco para diabetes mellitus.	Kaushik <i>et al.</i> [33].
2014	Diseño, síntesis y evaluación biológica de nuevos derivados de 1-hidroxil-3-aminoalquil xantona como agentes anticancerígenos potentes.	Yang <i>et al.</i> [34].

2014	Xantona poliisoprenilada tetracíclica con actividad anticancerígena.	Xu <i>et al.</i> [35].
2015	Preparación de derivados de xantona con puente de carbamato como agentes anticancerígenos.	Zhang <i>et al.</i> [36].
2015	Cuatro nuevas xantonas citotóxicas de <i>Garcinia nujiangensis</i> .	Tang <i>et al.</i> [37].
2016	Nuevo análogo de xantona de <i>Garcinia</i> con actividad citotóxica y antiangiogénica como potente inhibidor de Hsp90.	Xu <i>et al.</i> [38].
2016	Síntesis y evaluación biológica de derivado de xantona como inhibidor catalítico de topoisomerasa IIa.	Park <i>et al.</i> [39].
2016	Actividad farmacológica de derivados sintéticos de xantonas para varios blancos terapéuticos.	Shagufta [40].
2016	Nuevo modelo para el diseño de hidroxixantonas con sustituyente halógeno.	Yuanita <i>et al.</i> [41].
2017	<i>Garcinia Subelliptica</i> Merr. (<i>Fukugi</i>) Un árbol costero multipropósito con propiedades medicinales prometedoras.	Inoue <i>et al.</i> [42].

2018	Dos nuevas xantonas y citotoxicidad de la corteza de <i>Garcinia schomburgkiana</i>	Kaennakam <i>et al.</i> [43].
------	-------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------

❖ Resistencia a quimioterapia en tumores malignos

En las líneas de células tumorales, la resistencia a múltiples fármacos (MDR, por sus siglas en inglés) está asociada con el decremento en la acumulación del fármaco en la célula, atribuido a ciertas proteínas transportadoras llamadas en conjunto transportadores ABC (ATP-Binding Cassette) [44].

La superfamilia de transportadores ABC representa un extenso grupo de proteínas transmembranales involucradas en los procesos de transporte dependiente de ATP a través de las membranas celulares. Estas proteínas son de especial interés desde un punto de vista farmacológico debido a su habilidad para transportar numerosas moléculas de naturaleza variada (las cuales pueden ser fármacos), modificando las concentraciones intracelulares y los efectos de estas moléculas [45].

Las proteínas ABC que confieren resistencia a fármacos incluyen: La proteína relacionada a multirresistencia a fármacos 1 (MRP1) codificada por el gen ABCC1 [46, 47], la proteína relacionada a multirresistencia a fármacos 2 (MRP2) codificada por el gen ABCC2 [47], la proteína de resistencia en cáncer de mama ABCG2, antiguamente llamada Proteína de resistencia en cáncer de mama, codificada por el gen ABCG2 [48] y la glicoproteína de permeabilidad (P-gp) codificada por el gen ABCB1.

Existen dos clases de resistencia a los fármacos utilizados contra el cáncer: Los que dificultan el suministro de los fármacos a las células cancerígenas y los que surgen durante el padecimiento de cáncer debido a alteraciones genéticas y epigenéticas que afectan la sensibilidad a los fármacos. Las alteraciones en el suministro de fármacos pueden resultar en el incremento de su metabolismo o un incremento en la excreción de estos, resultando en niveles bajos del fármaco en la sangre y en una reducción de la difusión del fármaco a la masa tumoral. Experimentos *in vitro* han demostrado que las células cancerígenas pueden desarrollar resistencia a un solo fármaco o a un grupo de fármacos con mecanismos de acción similares. Después de adquirida esta resistencia,

las células cancerígenas usualmente desarrollan una resistencia cruzada a otros fármacos que no comparten estructura o mecanismos de acción similares entre sí [4], lo cual explicaría porque los regímenes que combinan múltiples agentes con diferentes blancos no son más efectivos. La MDR clásica se debe generalmente a la expresión de transportadores dependientes de ATP los cuales pueden transportar una extensa variedad de sustratos, entre los cuales se encuentran los alcaloides Vinca (Vinblastina y Vincristina), antraciclinas como la Doxorubicina y la Daunorrubicina, el inhibidor de la transcripción de RNA Actinomicina D, y el fármaco estabilizador de microtúbulos Paclitaxel.

❖ P- glicoproteína

La glicoproteína de permeabilidad (P-gp por sus siglas en inglés) es un transportador de 170 kD producto del gen MDR1 en *Homo sapiens*. Consta de 1280 aminoácidos repartidos en dos mitades simétricas, cada una de las cuales contiene seis dominios trans-membranales separados por una región de ~75 aminoácidos que conecta el dominio trans-membranal C-terminal con el dominio de unión a ATP N-terminal [49, 50]. Fue identificada en 1976 por Juliano y Ling como una glicoproteína expresada en células CHO resistentes a múltiples fármacos [51]. Se expresa de manera natural en tejidos como los riñones, el hígado, el intestino delgado y grueso, la barrera hematoencefálica, los testículos, la glándula adrenal y la placenta [45, 52] y su función principal es la de excretar xenobióticos y metabolitos a la orina, la bilis y el lumen intestinal, previniendo así su acumulación en el cerebro o protegiendo al feto en la gestación de éstos.

La expresión de P-gp es usualmente alta en tumores que derivan de tejidos en los cuales P-gp se expresa de manera natural, lo cual resulta en una resistencia potencial a algunos agentes citotóxicos incluso antes de que se inicie el tratamiento con quimioterapia. En tumores que no provienen de esos tejidos, la expresión de P-gp es aparentemente baja cuando se realiza el primer diagnóstico, pero se incrementa después de la exposición a agentes quimioterapéuticos, resultando en el desarrollo de MDR en las células que conforman estos tumores [53].

Una de las características más interesantes de P-gp es que puede reconocer y transportar fármacos con un amplio espectro de estructuras químicas [54]. Aparentemente, la única característica en común que tienen los sustratos de P-gp es que son de naturaleza hidrofóbica, lo cual sugiere que la partición de la membrana lipídica de las células es un paso esencial para permitir la interacción del sustrato con el dominio de unión a sustrato de P-gp [55].

Se seleccionó P-gp como blanco para esta tesis debido a los múltiples trabajos previos donde se reporta que fitoquímicos diversos, además de xantonas, flavonoides y cumarinas (cuyas estructuras son parecidas al esqueleto de las xantonas), son capaces de inhibir la actividad de miembros de la familia de transportadores ABC, reduciendo de esta manera la MDR que pueden presentar las células cancerígenas. En la tabla 1.2 se enlistan algunos de estos trabajos, la mayoría de los cuales utilizan como blanco diversas estructuras de P-gp, principalmente la que proviene del organismo *Mus musculus*.

Tabla 1.2. Trabajos reportados con respecto a la inhibición de P-gp y otros transportadores ABC utilizando fitoquímicos.

Código PDB	Nombre de la proteína	Ligandos (inhibidores)	Referencia
2CBZ	Estructura del Dominio de Unión a Nucleótido 1 de la Proteína Humana 1 de Resistencia a Múltiples Fármacos.	Flavonoides varios.	Cassidy, C. E., & Setzer [56].
1MV5	Estructura Cristalina del Dominio de Unión a ATP de LmrA.		
1L2T	Estructura dímica de MJ0796, un transportador ABC bacteriano		

3G5U	Estructura de P-glicoproteína (Organismo: <i>Mus musculus</i>).	Derivados de flavonas. Fitoquímicos varios (Shogaol).	Kothandan <i>et al.</i> [57]. Eichhorn, T., & Efferth, T. [58].
3G5U y 3G61	Estructura de P-glicoproteína (Organismo: <i>Mus musculus</i>).	Flavonoides. Quasinoides (Glaucarubina).	Mohana <i>et al.</i> [59]. Karthikeyan <i>et al.</i> [60].
--	Estructura de P-gp construida en SWISS-MODEL	Xantonas.	Wu <i>et al.</i> [61].
4XWK	P-glicoproteína co-cristalizada con BDE-100	Fitoquímicos varios (Curcumina, piperina, epicatequina).	Mamizadeh <i>et al.</i> [62].

❖ Cambios conformacionales de P-gp e inhibición selectiva

Las dos mitades que conforman P-gp tienen un papel central en el proceso de transporte de sustratos: En primera instancia, permiten la translocación del sustrato a través de la membrana celular y proveen también de los residuos de aminoácidos que interactúan directamente con el sustrato y forman el sitio de unión del sustrato.

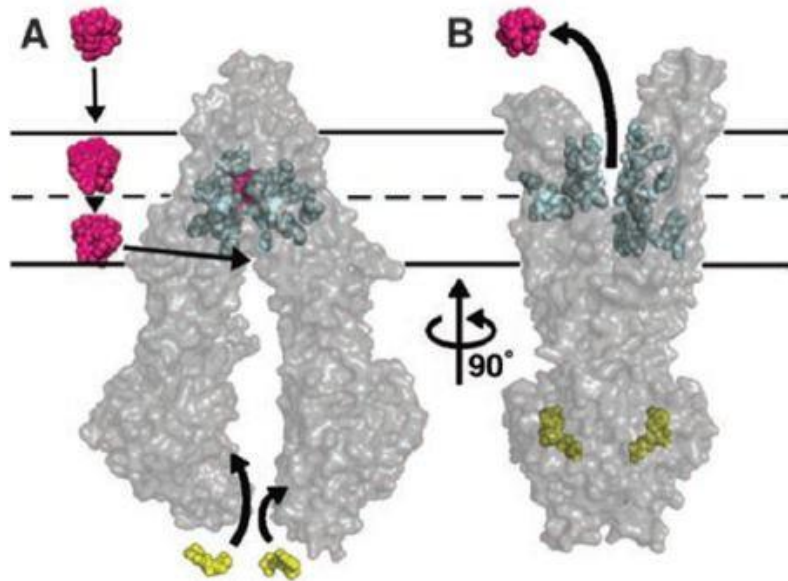
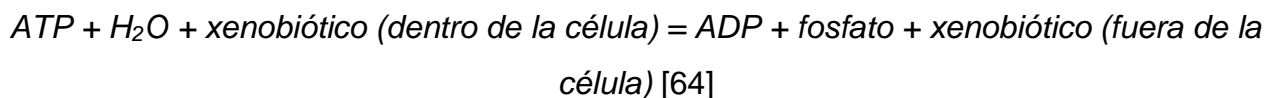


Figura 1.1. Modelo de transporte del sustrato en P-gp. (Modificado de: Binkhathlan, Z., & Lavasanifar, A. (2013) [63]).

Como se puede observar en la figura 1.1, el sustrato (en magenta), entra a la bicapa lipídica desde el exterior al interior de la célula e ingresa al sitio de unión (A). Los residuos en el sitio de unión (esferas en gris oscuro) interactúan con los ligandos en la conformación “hacia adentro”. El ATP (en amarillo) se une al dominio de unión al nucleótido (NBD) en la conformación “hacia adentro” de P-gp, causando que ésta cambie a su conformación “hacia afuera”, y por lo tanto, exponga el sustrato y al dominio de unión a sustrato (SBD) hacia el exterior de la célula. La salida del sustrato provoca que la vía hacia el interior de la célula quede bloqueada de manera estérica, lo cual asegura un transporte unidireccional hacia el exterior (B).

Los cambios conformacionales que lleva a cabo P-gp en presencia de ATP y de un sustrato (xenobiótico) pueden resumirse de la siguiente manera:



Durante este proceso la proteína presenta una conformación “hacia adentro” en ausencia de ATP, cambiando a una conformación “hacia afuera” en presencia de ATP [65], por lo tanto, P-gp puede ser inhibida mediante tres mecanismos [66]:

- 1.- Bloqueando el sitio activo de la proteína tanto competitiva como no competitivamente o alostéricamente.
- 2.- Interfiriendo con la hidrólisis de ATP.
- 3.- Alterando la integridad de los lípidos de la membrana celular.

En el presente trabajo se abordarán los mecanismos de inhibición 1 y 2 antes mencionados.

La conformación “hacia afuera” de P-gp ha sido recientemente publicada, por lo que no existen muchos trabajos basados en dicho artículo según la página Altmetric [67]. En esta investigación se utilizó dicha conformación para recabar datos de afinidad obtenidos al realizar un estudio de acoplamiento molecular en su dominio de unión al sustrato y así evaluar la posibilidad de que las hidroxixantonas permanezcan en dicha cavidad o sean transportadas por la proteína al cambiar de conformación.

A continuación se presenta la estructura de P-gp en su conformación “hacia afuera”: De acuerdo la figura 1.2, la mitad N-terminal está representada en anaranjado y engloba el dominio transmembrana 1 y el dominio de unión a nucleótido 1. La mitad C-terminal está representada en azul y corresponde al dominio transmembrana 2 y al dominio de unión al nucleótido 2.

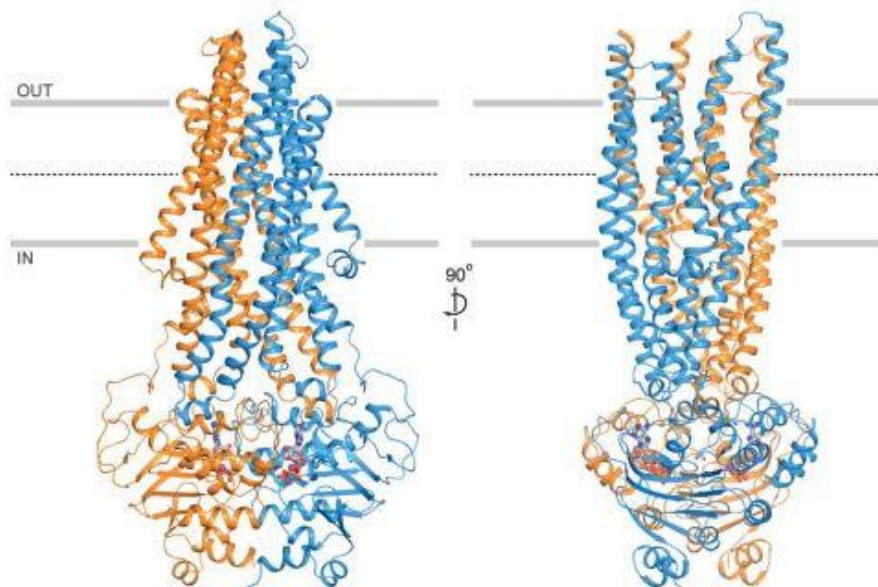


Figura 1.2. Estructura de P-gp en su conformación “hacia afuera”. Debe subrayarse que esta conformación contiene dos moléculas de ATP en los NBD, ubicadas en la parte inferior del transportador. (Figura modificada de Kim, Y. & Chen, J. (2018) [65]).

❖ Inhibidores de P-gp

Los inhibidores de P-gp son estructuralmente diversos y están clasificados en tres generaciones basadas en su especificidad, afinidad y toxicidad [68].

Los inhibidores de primera generación son sustancias farmacológicamente activas que se utilizan en tratamientos específicos, pero tienen la habilidad de inhibir P-gp. El uso de estos inhibidores está limitado por su toxicidad y la alta dosis requerida de éstos para inhibir efectivamente P-gp, también son sustratos para otros transportadores y sistemas enzimáticos, lo cual conduce a interacciones farmacocinéticas impredecibles.

Los inhibidores de segunda generación poseen mejor afinidad con P-gp que los fármacos de primera generación e incluyen análogos de Ciclosporina A e Isómeros D de Verapamilo; Inhiben a otros transportadores ABC y su metabolización es lenta. Su principal desventaja es que al inhibir dos o más transportadores ABC, presentan alteraciones farmacocinéticas complicadas.

Los inhibidores de tercera generación presentan mayor especificidad y afinidad con P-gp con respecto a los inhibidores de segunda generación, presentando también menor toxicidad que sus predecesores. Usualmente se desarrollan utilizando relaciones estructura/actividad [69]. Los inhibidores utilizados como valores de referencia en la metodología del presente trabajo pertenecen a la tercera generación, siendo estos zosuquidar, laniquidar y tariquidar. A continuación en la tabla 1.2 se presenta la clasificación respecto a la generación, especificidad y limitaciones de los inhibidores del P-gp.

Tabla 1.3. Clasificación de inhibidores de P-gp.

Generación de inhibidores.	Ejemplos de fármacos representativos de la generación.	Especificidad con P-gp.	Limitaciones.
Primera generación	Verapamilo, Ciclosporina A, quinidina, tamoxifen, toremifeno [68], Imatinib [70].	Su especificidad no es selectiva y presentan afinidades bajas.	Son sustratos de otros transportadores y sistemas enzimáticos. Son farmacológicamente activos y debido a su baja afinidad, son transportados por P-gp hacia el exterior de la célula.
Segunda generación	Nilotinib, Dasatinib [70] Dexverapamilo, Dexniguldipina, Valspodar [68, 71], Bricodar [71]	Presentan mejores afinidades que los inhibidores de primera generación, pero tienden a interaccionar con otros sistemas.	Son sustratos de otros transportadores ABC, por lo que su afinidad con P-gp no es tan alta como la que presentan los inhibidores de tercera generación.

Tercera generación	Mitotano, Elacridar, [68] Zosuquidar, Tariquidar Laniquidar [68, 72]	Afinidad alta: Son inhibidores específicos de P-gp.	No presentan las limitaciones de los inhibidores de primera y segunda generación.
--------------------	----------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------

Tomando en cuenta que la afinidad de algunos inhibidores de primera y segunda generación de P-gp es relativamente alta, es de esperar que las afinidades de los inhibidores de tercera generación utilizados como referencia en este trabajo sean mayores, puesto que son inhibidores específicos para P-gp.

Partiendo de esta consideración, se espera que los valores de afinidad obtenidos para zosuquidar, laniquidar y tariquidar sean mayores a los de nilotinib.

Tabla 1.4. Valores de referencia. Afinidad de algunos inhibidores para P-gp en el dominio de unión a sustrato. Valores calculados en AutoDock Vina por Bender *et al.* [70].

Molécula	Generación de inhibidores	Afinidad (Kcal/mol)
Nilotinib	Segunda	-11.1
Imatinib	Primera	-10.3
Dasatinib	Segunda	-8.8

En ensayos clínicos, los inhibidores de tercera generación han demostrado ser alternativas prometedoras, pero por desgracia denotan efectos secundarios indeseables en órganos que no son objetivo [71]. Idealmente, un candidato para inhibidor de P-gp debe ser selectivo, potente y relativamente no tóxico. Es por ello que el desarrollo de una cuarta generación de inhibidores de P-gp derivados de productos naturales ha ganado importancia debido a que los inhibidores de las generaciones previas exhiben múltiples efectos secundarios [59]. La finalidad de inhibir P-gp es la de mejorar la biodisponibilidad de los fármacos, mejorar su recepción del fármaco a un órgano específico y asegurar la eficacia de la quimioterapia.

1.3 Planteamiento y Justificación

El diseño racional de fármacos es una metodología emergente en México. En países que no cuentan con una amplia infraestructura, la fase que comprende desde la obtención de un fármaco hasta la primera aplicación en seres humanos puede abarcar entre 5 y 6 años [73], sin considerar la fase de desarrollo que comprende la de estudios clínicos y registro farmacéutico. En total, el proceso desde la obtención hasta el registro de un nuevo fármaco puede abarcar más de doce años [74], durante los cuales se emplean grandes cantidades de recursos económicos, humanos, y de modelos animales. Sin embargo, de entre millones de moléculas experimentales sólo una ínfima parte logra llegar al mercado tras atravesar todo el costoso proceso de desarrollo, el cual puede catalogarse de “ensayo y error”. Uno de los objetivos del diseño racional de fármacos es la reducción del tiempo, de la inversión de recursos de diversas índoles y del uso innecesario de animales de laboratorio [75].

La principal ventaja del diseño racional de fármacos hoy en día es su bajo costo, puesto que pueden utilizarse programas computacionales gratuitos para realizar predicciones. Se puede acceder y emplear información sustancial ya reportada, y no se utiliza instrumental ni reactivos químicos, además de que la construcción de las moléculas y el cálculo de descriptores pueden resultar sumamente rápidos dependiendo tanto de la metodología como de la infraestructura empleadas, reduciendo así el tiempo estimado que comprenden la fase de descubrimiento y la fase preclínica.

En México y según la Secretaría de Salud en un artículo publicado el 27 de agosto del 2017, cada año mueren 90 mil personas a causa de cáncer, ubicándose esta patología como la tercera causa de muerte en el país [76]. Aunado a esta problemática, se ha demostrado que las células cancerígenas pueden presentar resistencia a múltiples fármacos, algunos de los cuales se emplean en la quimioterapia, y por ello ésta requiere de terapias coadyuvantes más específicas y menos tóxicas que aseguren el éxito del tratamiento en el paciente de cáncer. Una propuesta interesante es la inhibición de los factores que confieren la resistencia a múltiples fármacos, siendo uno de estos factores la Glicoproteína de Permeabilidad.

1.4 Hipótesis

Las doce hidroxixantonas utilizadas en este estudio tendrán la capacidad de interactuar con la P-glicoproteína (P-gp), actuando como inhibidores de la misma al acoplarse al NBD. En este estudio se analizará la afinidad de estos compuestos con P-gp haciendo uso de diferentes programas computacionales. Se partirá de la suposición de que una o varias de las hidroxixantonas estudiadas tienen igual o mayor afinidad que el ATP en el sitio de unión del ATP de la conformación “hacia adentro”.

1.5 Objetivos generales y específicos

Objetivo general

- Describir el acoplamiento molecular de las 12 moléculas de hidroxixantonas con la P-gp en sus conformaciones “hacia adentro” y “hacia afuera”, haciendo uso de métodos *in silico* como es el acoplamiento molecular.

Objetivos específicos

- Analizar el acoplamiento molecular de un grupo de moléculas de hidroxixantonas con actividad anticancerígena y la P-gp en su conformación “hacia adentro” mediante los programas AutoDock Vina y SYBYL-X.
- Usando la conformación “hacia afuera” del P-gp se analiza el acoplamiento molecular de un grupo de moléculas de hidroxixantonas con actividad anticancerígena usando los programas AutoDock Vina y SYBYL-X.
- Determinar y documentar los mejores sitios de unión y su conservación entre las moléculas de hidroxixantonas con las diferentes conformaciones de P-gp.
- Establecer el potencial “tipo droga” (*druglikeness*) del grupo de 12 moléculas de hidroxixantonas haciendo uso del programa OSIRIS DataWarrior.

Capítulo 2. Marco teórico.

En este capítulo se presentan de manera breve, concisa y usando el menor número de ecuaciones posibles los conceptos teóricos en los cuales se fundamenta la teoría utilizada en el presente trabajo de tesis.

2.1 Fundamentos de teoría cuántica y molecular

Conocer la geometría molecular adecuada de una molécula es una consideración importante al momento de realizar cualquier estudio referente a la química computacional, para ello se lleva a cabo un proceso de optimización, que consiste en ajustar la geometría inicial de la molécula (coordenadas cartesianas o matriz-Z) hasta encontrar un mínimo local o global de energía. Debido a que en el presente trabajo se optimizaron tres estructuras de las cuales no se encontraron datos cristalográficos, se mencionarán algunos fundamentos de la teoría cuántica y molecular concernientes al proceso de optimización.

2.1.1 Ecuación de Schrödinger

Schrödinger postuló su modelo para la descripción de la estructura atómica basándola en la hipótesis de De Broglie, la cual considera que un electrón puede comportarse como una partícula y también como una onda. La ecuación de Schrödinger describe al electrón usando las ecuaciones matemáticas de las ondas estacionarias o similares a ellas; con estas ecuaciones se describe la evolución de la posición del electrón en el entorno atómico en el que se halla: La función que describe dicho fenómeno se llama función de onda, representada como Ψ [77]. En 1926, Schrödinger propone la conocida Ecuación de Schrödinger, la cual permite estudiar el comportamiento del electrón y sus valores energéticos.

La resolución para la ecuación de Schrödinger es sencilla para sistemas de un solo electrón, pero se complica para sistemas reales con muchos electrones, los cuales son poli-electrónicos, por lo cual se emplean diversas aproximaciones para la resolución de

la ecuación. La química teórica tiene su fundamento en la obtención de la función de onda que forma parte de la Ecuación de Schrödinger, para lo cual se hace uso de diversos algoritmos implementados en un gran número de programas que confieren de herramientas para obtener dicha resolución haciendo uso de recursos computacionales relativamente modestos.

Las moléculas poli-atómicas dependen de parámetros como las distancias de enlaces, los ángulos de enlace o los ángulos diedros, por lo que se debe calcular la función de onda electrónica para una determinada geometría con el fin de calcular correctamente las propiedades moleculares, por lo tanto, en este caso la resolución de la ecuación de Schrödinger corresponde a un sistema poli-atómico con muchos electrones y núcleos. Existen diferentes aproximaciones para poder calcular las propiedades moleculares, algunas de ellas están basadas en métodos semi-empíricos, *Ab Initio*, y Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT, por sus siglas en inglés), la cual fue utilizada en la presente tesis.

2.1.2 Teoría de los funcionales de la densidad

La teoría DFT se basa en la premisa de que el estado fundamental de un sistema es sólo funcional de la densidad electrónica y sólo se necesitan datos con respecto a la densidad para calcular todas las propiedades de dicho sistema.

El conocimiento de la geometría molecular adecuada es una de las bases de la química computacional. Es necesario especificar la posición de los átomos de la molécula, lo cual puede realizarse determinando las coordenadas cartesianas en función de la posición de cada uno de los átomos de la molécula en los ejes x, y, z respecto a un punto de origen, el cual es el centro de masas de la molécula. Otra forma de especificar la posición de los átomos es utilizar la matriz-Z: Esta representación consta de una lista de identificación para cada átomo, la distancia de éste hacia otro átomo definido con anterioridad, el ángulo que ambos forman respecto a un tercer átomo y ángulos de torsión respecto de un cuarto átomo. Existen programas como GaussView o Avogadro que permiten generar las coordenadas cartesianas o la matriz-Z de diferentes moléculas facilitando al usuario la obtención de dicha matriz.

Conocer la posición y el espacio de los átomos de la molécula es el primer paso que se realiza para llevar a cabo un proceso de optimización, el cual consiste en ajustar las coordenadas cartesianas o la matriz-Z inicial de una molécula hasta encontrar un mínimo local o global de energía. Los algoritmos utilizados para encontrar estos requerimientos son llamados algoritmos de optimización entre los cuales los más eficientes son el algoritmo utilizado por defecto en el programa Gaussian, llamado algoritmo de Berny [78]. Otro algoritmo ampliamente utilizado es el quasi-Newton, el cual asume la superficie de potencial de forma cuadrática.

En el apéndice G puede observarse un ejemplo de matriz-Z para una hidroxixantona optimizada. La matriz-Z puede utilizarse para la optimización de una molécula, especificándola durante el procedimiento.

En el apéndice H se enlistan las coordenadas cartesianas de algunos inhibidores de tercera generación para P-gp, cuyos valores de afinidad se utilizarán como referencias: Las coordenadas cartesianas se pueden utilizar para modelar una molécula en formato PDB (el formato por defecto de la base de datos *Protein Data Bank*).

2.1.3 Funciones base

Para poder realizar un estudio mecanocuántico a nivel de la teoría DFT, es necesario elegir una combinación entre un funcional y un conjunto de funciones base, los cuales se aproximarán lo mejor posible a la resolución de la ecuación de Schrödinger.

La descripción matemática de los orbitales moleculares como una combinación lineal de funciones se llama Función Base. Las funciones base utilizadas en el presente trabajo son los conjuntos de base mínima STO-3G* y DGTZVP, donde STO significa *Slater type orbitals* (Orbitales tipo Slater). Una base mínima contiene el número mínimo de funciones necesarias para describir el estado fundamental de los átomos en una molécula. Por ejemplo, para la molécula de agua, la base mínima está constituida por un orbital 1s por cada hidrógeno, más los orbitales 1s, 2s, 2px, 2py y 2pz del átomo de oxígeno; es decir que los orbitales moleculares quedarían expresados como combinación lineal de estas siete funciones atómicas (para este ejemplo específico)

2.2 Búsqueda de secuencias relacionadas con la secuencia objetivo

Para este fin se utilizan métodos que comparan la secuencia de interés con otras obtenidas de diferentes bases de datos en un proceso llamado “Alineamiento de secuencias”, el cual es una de las herramientas bioinformáticas más importantes. El alineamiento de secuencias se utiliza para fines como la comparación de secuencias para encontrar similitudes, la búsqueda de elementos estructurales característicos de una o más secuencias, búsqueda de información referente a estas secuencias en bases de datos, entre otros. Una de las herramientas empleadas para su realización es la conocida como BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI).

La página principal de BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) lista la variedad de búsquedas que pueden hacerse: Por nucleótido, proteína, genoma o traducción. Se puede realizar una búsqueda indexando una secuencia en formato FASTA o como un número de identificación (por ejemplo, los códigos alfanuméricos de Protein Data Bank). La búsqueda se envía al servidor BLAST, obteniendo un Identificador de solicitud (*Request Identifier*, RID).

El método más simple para realizar un alineamiento parte del concepto *Edit distance* entre dos secuencias, con el mínimo número de operaciones (inserciones, deleciones y sustituciones) necesarias para transformar una secuencia en otra. La *Edit Distance* se evalúa a partir de una función w , que describe los costes de todas estas operaciones, de forma que el coste de un alineamiento entre dos secuencias es la suma de los costes de cada operación. El alineamiento óptimo será aquel que muestre el mínimo coste entre todos los posibles alineamientos [79].

Además de las sustituciones, las deleciones e inserciones, se generan *indels* (aminoácidos de la secuencia que se alinean frente a posibles espacios en blanco) en alguna de las secuencias. Cada serie de espacios consecutivos en el alineamiento define un *gap*, caracterizado por su longitud. Cada *gap* se entiende como una unidad y permite la búsqueda de mayor significado biológico. Existen muchas maneras de evaluar los gaps (*gap penalty models*), pero en general se penaliza la adición de un nuevo gap en el

alineamiento (*gap opening penalty*) y la extensión del alineamiento añadiendo más gaps (*gap extensión penalty*).

2.3 Acoplamiento molecular

Muchos procesos biológicos se pueden describir como interacciones entre receptores y ligandos, por ejemplo: interacciones enzima-sustrato, proteína e inhibidores y ácido nucleicos e inhibidores.

El acoplamiento molecular es una herramienta computacional utilizada para explorar y predecir las posibles conformaciones de complejos receptor-ligando. Esta herramienta se utiliza para predecir los modelos de interacción entre un ligando y un receptor de interés, obteniendo de ésta valores de afinidad, lo cual permite esbozar diversos procesos bioquímicos. En un acoplamiento molecular se puede mantener el ligando y la proteína rígidos, al ligando y a la proteína flexibles, o bien, mantener solamente a la proteína rígida y al ligando flexible [80]. El proceso del acoplamiento molecular consiste en dos pasos: El primero es respecto a la predicción de la conformación del ligando y la orientación de los sitios de unión, el segundo paso consiste en la predicción de la afinidad de enlace [80].

En los programas de acoplamiento molecular se utilizan diversos algoritmos de optimización para describir cada una de las conformaciones que puede presentar la interacción del ligando con el receptor. Algunos de ellos son:

- a) *Lamarckian Genetic Algorithms (GA)*, o Algoritmo genético Lamarckiano: Método que busca la conformación espacial de manera aleatoria, modificando la población del ligando. Este algoritmo está implementado en AutoDock y se inspira en la selección natural. Se consideran en forma binaria los grados de libertad del ligando, los cuales formarían los “genes”, mientras que las diferentes poses del ligando darían lugar a los “cromosomas”. Dos cromosomas que experimentan mutaciones generan genes alterados, es decir, nuevas poses del ligando, cada una de las cuales se evalúa con una función *score*. Aquellas conformaciones que “sobreviven” pasan a la siguiente generación y así sucesivamente hasta encontrar la conformación más óptima del ligando.

- b) *Iterated Local Search Global Optimizer (ILSGO)*: Algoritmo añadido por AutoDock, el cual se basa en la sucesión de una serie de pasos que consisten en una mutación y una optimización local. Este algoritmo está implementado en AutoDock Vina [81] y considera como variables independientes los ángulos de torsión y de enlace, así como las distancias de enlace.

Así mismo, es necesario utilizar una función *score*, cuya finalidad consiste en separar las poses incorrectas del ligando de las correctas. Estas funciones estiman la afinidad de enlace entre el ligando y el receptor. Abajo se mencionan las utilizadas por los programas de la presente tesis:

- a) *Basadas en campos de fuerza*: Consideran las contribuciones de los enlaces como puentes de hidrógeno, además de la solvatación y la entropía.
- b) *Funciones Score Empíricas*: En este tipo de funciones la energía se separa en diferentes componentes como puentes de hidrógeno, interacciones iónicas, efectos hidrofóbicos y entropía de enlace. Cada componente es multiplicado por un coeficiente y luego sumado para dar una puntuación.
- c) *Funciones Score Knowledge-Based*: Utilizando un análisis estadístico del complejo receptor-ligando, obtienen las frecuencias de ocurrencia de los contactos interatómicos y/o las distancias entre el ligando y el receptor. Está basado en el supuesto de que entre más favorable es la interacción, más grande será la frecuencia de ocurrencia.
- d) *Surflex-Dock*: Usa una función *score* empírica que está basada en las afinidades de enlace de los complejos proteína-ligando y en sus estructuras de rayos X. La función *score* del Surflex Dock es una suma de funciones no lineales que involucran las distancias de superficie de Van der Waals entre los pares de átomos de ligandos y proteínas apropiadamente expuestos. El algoritmo utilizado por *Surflex-dock* utiliza un sitio activo “idealizado”, llamado protomol [82]. El protomol se construye a partir de un archivo .mol2 y está basada en los residuos de la proteína que constituyen el sitio activo.

2.4 Potencial tipo droga

El término “potencial tipo droga” (*druglikeness*) hace referencia al potencial de una sustancia para convertirse en fármaco, con respecto a su biodisponibilidad y su peso molecular. Generalmente significa: “moléculas que contienen grupos funcionales y/o poseen propiedades físicas consistentes con la mayoría de los fármacos conocidos” [83]. Existen múltiples aproximaciones para medir el potencial tipo droga de un compuesto, generalmente basadas en descriptores topológicos. Actualmente existen programas computacionales que se encargan de documentar estos descriptores y asignarlos a una molécula problema, a fin de calcular su potencial tipo droga. Uno de estos programas es OSIRIS DataWarrior [84], el cual es un programa de libre acceso y combina la visualización de datos indexados por el usuario, el análisis de éstos y su comparación con una base de datos (OSIRIS).

La metodología que utiliza DataWarrior para calcular el potencial tipo droga se basa en la comparación de los sustituyentes de las moléculas indexadas con una lista de 5300 fragmentos relacionados con las estructuras moleculares de fármacos comercializados y sus valores de potencial tipo droga asociados. El potencial tipo droga se calcula mediante una ecuación que es una sumatoria de los valores de esos fragmentos cuando están presentes en la molécula analizada:

$$d = \frac{\sum v_i}{\sqrt{n}}$$

Donde d (*druglikeness*) es la sumatoria del número de fragmento asociado a potencial tipo droga que se encuentran en la molécula problema sobre el número de veces que se repiten dichos fragmentos [85].

La lista de fragmentos indexada en DataWarrior fue creada “segmentando” 3300 fármacos comerciales, así como también 15000 sustancias químicas disponibles comercialmente. Para la segmentación de estas moléculas se consideraron sólo los enlaces con rotación libre. La figura 2.1 compara los valores de potencial tipo droga entre compuestos comercializados por FLUKA Honeywell™ y los fármacos comercializados durante el año 2013.

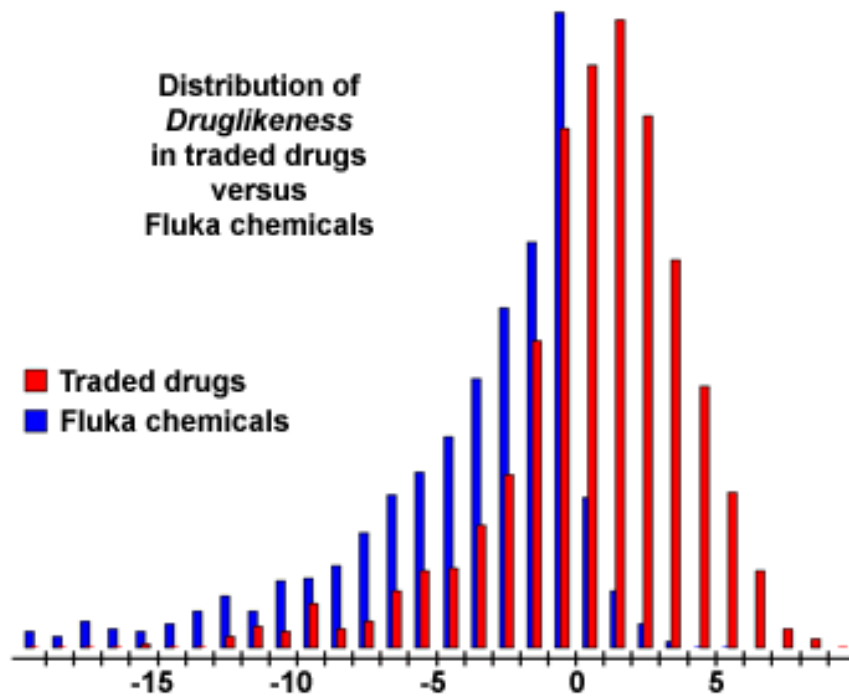


Figura 2.1. Valores de potencial tipo droga de los compuestos comercializados por FLUKA Honeywell™ (azul) vs. valores de potencial tipo droga de fármacos comercializados en el 2013. Nótese que la gran mayoría presentan valores de potencial tipo droga cercanos o mayores a cero [85].

Capítulo 3. Metodología.

Todos los programas utilizados en la presente metodología se enlistan en el apéndice E de la presente tesis.

En este trabajo se estudiaron doce hidroxixantonas de las cuales no se tenían datos cristalográficos, por lo cual se utilizaron las geometrías de partida de los compuestos construidos y optimizados siguiendo la metodología usada en el trabajo de Caballero *et al.* y donde los resultados obtenidos se visualizaron usando GaussView 5.0 [86] (la interfaz gráfica del paquete Gaussian [87]).

La geometría optimizada de las doce hidroxixantonas se obtuvo utilizando el funcional DFT M06-2X, el cual es un funcional híbrido Meta GGA [88], y el conjunto base DGTZVP [89, 90]. Para la optimización de las moléculas de zosuquidar, laniquidar y tariquidar se utilizó el funcional B3LYP [91], el cual es un funcional híbrido semi-empírico y el conjunto base STO-3G* [92] debido a que requiere pocos recursos computacionales. En el apéndice F se menciona la ruta de trabajo utilizada.

Para el acoplamiento molecular se seleccionó como blanco la conformación “hacia afuera” de P-gp presentada por Kim & Chen, [65]. Previamente, y para comprobar que las moléculas de hidroxixantonas utilizadas en el presente trabajo no presentaban valores de afinidad mayores a los que el ATP presenta en el NBD, se realizó un acoplamiento molecular en dichos sitios de unión utilizando la estructura de P-gp presentada por Alam *et al.* [93], cuya conformación es “hacia adentro”, así como también un acoplamiento molecular en el SBD de esta conformación para conocer las energías de interacción de las hidroxixantonas en esta cavidad. Se realizaron también acoplamientos moleculares en el SBD de las dos conformaciones de P-gp utilizando el programa SYBYL-X. Finalmente y para obtener una mayor gama de resultados, se calcularon los valores de *potencial tipo droga* utilizando el *software* Osiris DataWarrior.

3.1 Preparación de los ligandos

A continuación se presenta la figura 3.1., en la cual se pueden observar las estructuras optimizadas de las hidroxixantonas utilizadas en el presente trabajo.

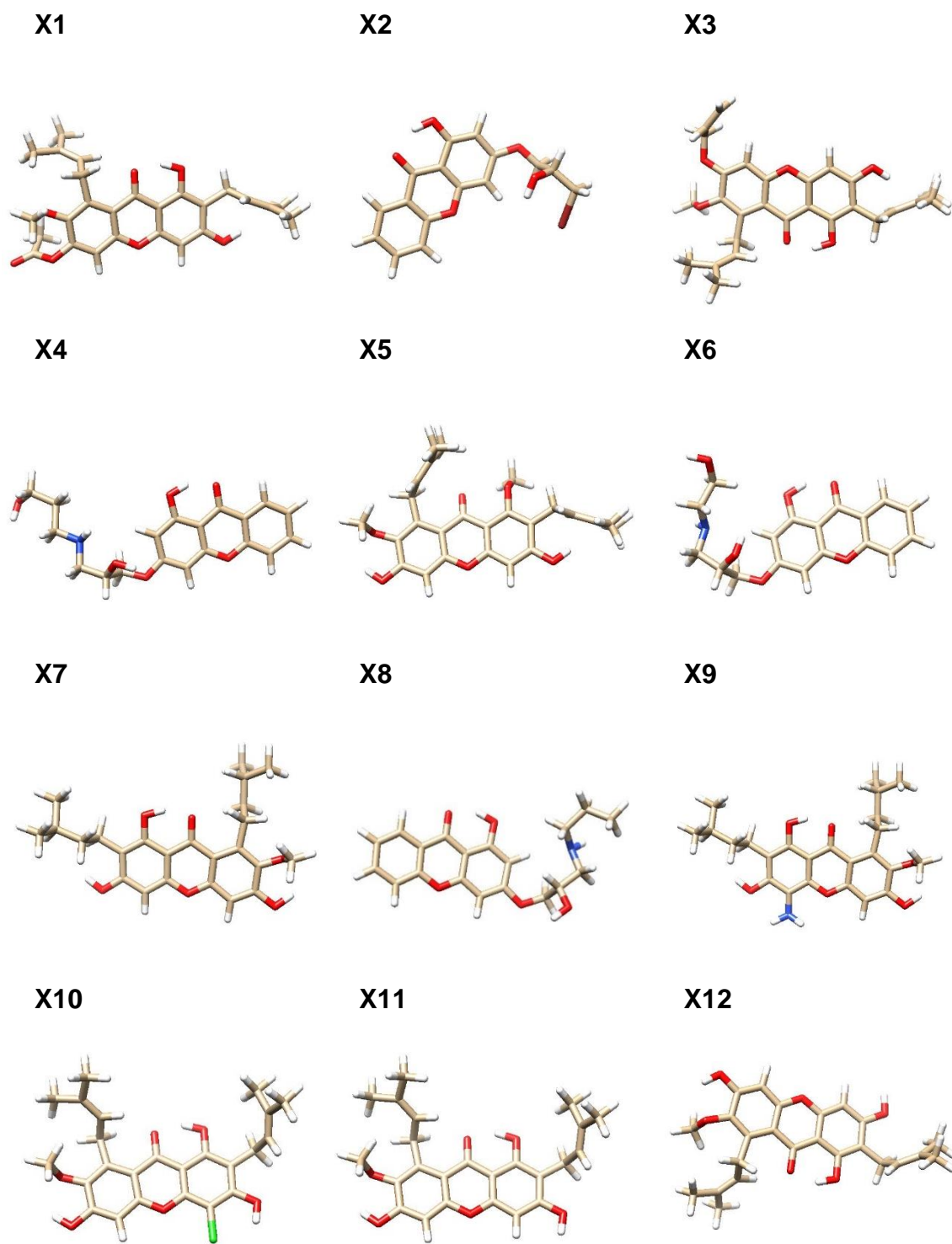


Figura 3.1. Estructura química de las hidroxixantonas utilizadas en este trabajo.

Las doce hidroxixantonas se optimizaron utilizando el funcional DFT M06-2X y el conjunto base DGTZVP.

Además, se optimizaron las moléculas de zosuquidar, tariquidar y laniquidar obtenidas en formato PDB de la base de datos de The European Bioinformatics Institute (<https://www.ebi.ac.uk/>) y The DrugBank Database (<https://www.drugbank.ca>). Para realizar la optimización se empleó el funcional B3LYP y la función base STO-3G*, se eligieron estos parámetros debido al breve tiempo que requiere el cálculo y a que se disponía de referencias bibliográficas con respecto a los valores de afinidad obtenidos con AutoDock Vina de la interacción entre estas moléculas y P-gp. Los cálculos se llevaron a cabo en fase gas y en agua como disolvente.

3.2 Elección y preparación del receptor

Puesto que existen múltiples estructuras reportadas de P-gp, provenientes de diferentes organismos y que cuentan con sus respectivos artículos reportados a partir de ellas, es necesario elegir una estructura idónea que fungirá como receptor en los estudios de acoplamiento molecular. La siguiente metodología se realizó con el fin de elegir una estructura “hacia adentro” de P-gp cuya identidad fuera lo más parecida posible a 6C0V, la más reciente conformación “hacia afuera” cristalizada, en segunda instancia se llevó a cabo la localización de los sitios activos de interés. Por último, se realizaron algunos pasos de preparación para poder utilizar las proteínas como receptores en un acoplamiento molecular con AutoDock Vina.

3.2.1 Alineación de secuencias

Se realizó una alineación de secuencias utilizando la herramienta Protein BLAST del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) [94] para obtener datos con respecto a la identidad entre diferentes estructuras consideradas para su utilización en el presente trabajo y sus residuos conservados, con el fin de seleccionar una conformación lo más parecida posible a la conformación “hacia afuera” originalmente estudiada.

Las conformaciones de la proteína en su forma “hacia adentro” y “hacia afuera” las cuales son estudiadas en este trabajo, fueron obtenidas de la base de datos Protein Data Bank (PDB). Los códigos de identificación para las estructuras empleadas se enlistan a continuación en la tabla 3.1.

Tabla 3.1. Códigos de identificación de las estructuras consideradas para ser utilizadas como receptores.

Código PDB	Conformación	Organismo	Referencia
6FN1	“Hacia adentro”	<i>H. Sapiens</i>	[95], [93]
4F4C	“Hacia adentro”	<i>C. elegans</i>	[96], [97]
5KPD	“Hacia adentro”	<i>M. musculus</i>	[98], [99]
6C0V	“Hacia afuera”	<i>H. Sapiens</i> expresada en <i>M.</i> <i>musculus</i> (quimérica)	[100], [65]

6C0V se consideró como la estructura de referencia para seleccionar una conformación “hacia afuera”, debido a que es la estructura de P-gp en conformación “hacia afuera” más recientemente reportada (en Febrero del 2018).

Se optó por analizar diferentes conformaciones “hacia adentro” debido a que la estructura previamente utilizada correspondía a *C. elegans*, con solo un 46% de identidad con respecto a 6C0V. P-gp de *M. musculus* alberga un 87% de identidad, coincidiendo con el trabajo de Aller *et al.* [101], sin embargo, 6FN1 resultó la estructura más parecida a 6C0V, dando como resultado un 90% de identidad y siendo la más recientemente reportada, coincidentemente el mismo mes en el cual se publicó el artículo referente a 6C0V. En la figura 3.2 se pueden observar las dos estructuras de P-gp con sus ligandos originales.

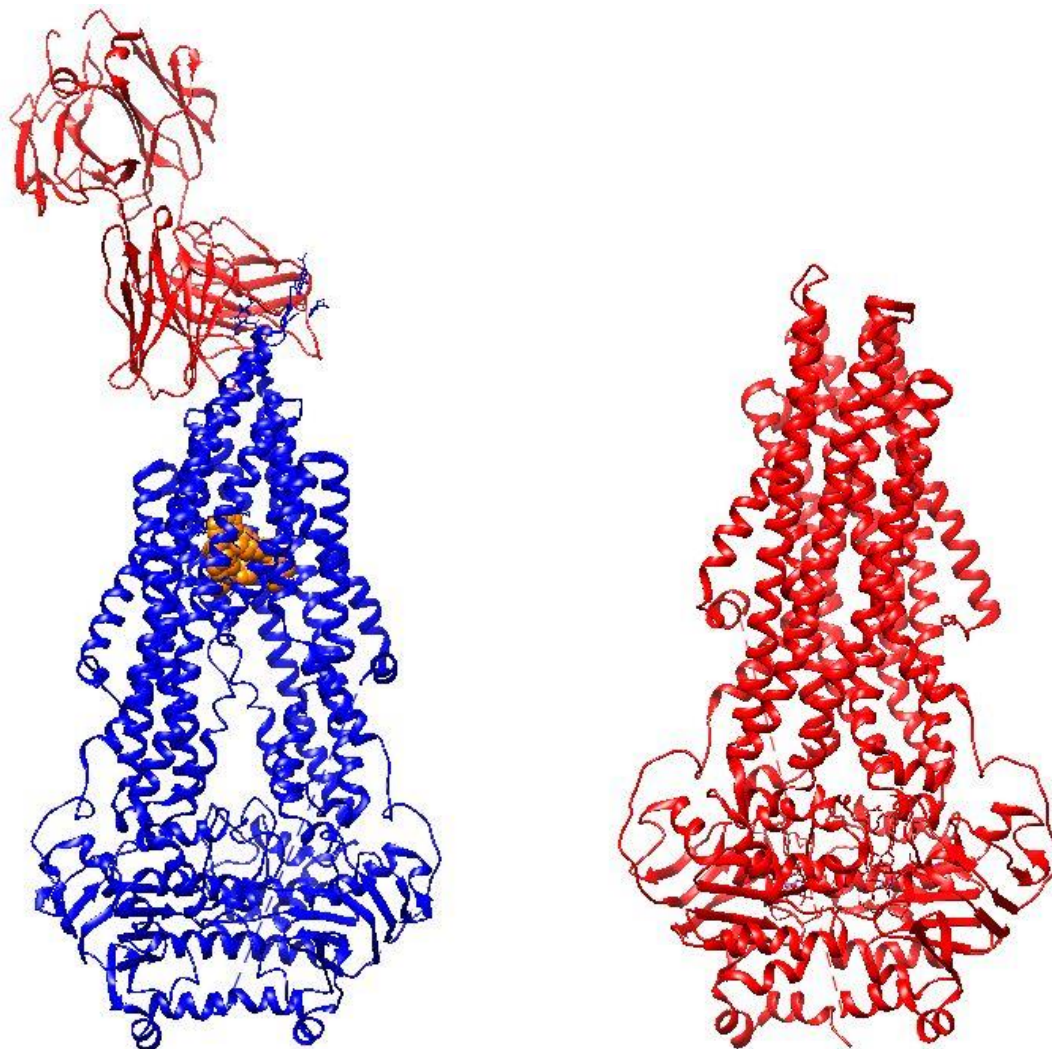


Figura 3.2. (Izquierda) Estructura de la proteína quimérica P-gp en su conformación hacia adentro (código PDB 6FN1). Esta estructura incluye las cadenas pesada y ligera de UIC2-Fab (en rojo) y el inhibidor zosuquidar (en esferas anaranjadas). (Derecha) En rojo: conformación “hacia afuera” de P-glicoproteína (código PDB 6C0V), visualizada en el programa USFC Chimera.

Los formatos FASTA de las diferentes conformaciones de P-gp se enlistan en el apéndice I de la presente tesis.

3.2.2 Localización del sitio activo

El sitio activo de P-gp es conocido, pero su ubicación varía en cada una de las múltiples estructuras de P-gp reportadas hasta la fecha, por lo tanto se utilizaron dos metodologías con la finalidad de contar con datos que aseguraran la localización exacta de los sitios activos en las estructuras utilizadas en el presente trabajo y de esa manera, asegurar el correcto posicionamiento de las cajas *grid* utilizadas en el acoplamiento molecular.

La localización exacta del sitio activo se realizó tanto en la página ProteinPlus (<https://proteins.plus>) como en la interfaz gráfica de SYBYL-X [102].

En la página ProteinsPlus se utilizó la herramienta DoGSiteScorer, la cual detecta posibles sitios de unión, basándose en la estructura tridimensional de la proteína y posteriormente fragmentando dichos sitios de unión en sub-sitios [103] para describir el tamaño, la forma y algunas características químicas.

En SYBYL-X, se utilizó la metodología descrita en el manual [82]. El análisis del sitio activo es un paso que se realiza durante la metodología del acoplamiento molecular por defecto del programa. La posición de las cavidades en ProteinsPlus y SYBYL-X se pueden observar con mayor detalle en el apéndice J.

3.2.3 Preparación del receptor para acoplamiento molecular

La siguiente metodología se aplicó a 6FN1 y 6C0V:

Previamente a la realización de un acoplamiento molecular en AutoDock Vina se deben considerar ciertos pasos para preparar el receptor. Se eliminaron las moléculas de agua, se añadieron hidrógenos y se asignaron las cargas atómicas parciales utilizando el método Gasteiger- Marsili. Estos pasos se realizaron con el programa AutoDock Tools 1.5.6 [104].

Se utilizó el *software* ProteinsPlus de la universidad de Hamburgo (<https://proteins.plus>) para corroborar el sitio activo reportado por Alam *et al.* y proceder a posicionar la caja *grid*, resaltando para mayor precisión algunos aminoácidos que interaccionan con la molécula de zosuquidar incluida en 6FN1, posteriormente se buscaron dichos

aminoácidos en la conformación hacia afuera de P-gp (6C0V), utilizando la interfaz de AutoDock Tools 1.5.6 para posicionar la caja *grid* en el sitio activo de 6C0V.

Los aminoácidos de interés reportados por Alam *et al.* que interaccionan con las moléculas de Zosuquidar en 6FN1 se enumeran con ligeras modificaciones tras preparar la proteína en AutoDock Tools, siendo éstos: Leu64, Met68, Ala232, Phe302, Tyr309, Leu338, Ile339, Phe342, Gln346, Gln724, Glu874, Leu878, Met948, Tyr952, Tyr953, Phe982, Met985, Ala986, Gln989 y Val990, los cuales se conservan en 6C0V.

Antes de realizar el acoplamiento molecular utilizando 6FN1 como receptor, se tomó en cuenta que experimentalmente esta conformación se encuentra inhibida a pesar de la presencia de dos moléculas de ATP en sus sitios de unión. En su estructura se encuentran dos moléculas de zosuquidar en su sitio activo y dos moléculas del anticuerpo UIC2 localizadas en el dominio extracelular de P-gp. Se eliminaron las moléculas de UIC2, de zosuquidar y de ATP utilizando el software USCF Chimera 1.12 [105] y se analizaron las interacciones de las doce hidroxixantonas en el sitio de unión a ATP (o NBD), comparándolas con la afinidad que el propio ATP tiene en este sitio.

3.3 Acoplamiento molecular

Se utilizaron dos programas computacionales para llevar a cabo el acoplamiento molecular: AutoDock Vina y SYBYL-X, además de AutoDock Tools, el cual se utilizó para preparar los receptores previamente a la realización del acoplamiento molecular con AutoDock Vina. Los resultados de SYBYL-X, aunque no son comparables con los resultados de AutoDock Vina debido a que el programa utiliza diferentes unidades, aportan una gama de resultados más variable.

3.3.1 AutoDock Tools y AutoDock Vina

La siguiente parte de esta investigación consistió en predecir la interacción entre cada hidroxixantona y P-gp en sus dos conformaciones, considerando diferentes sitios activos en cada una. Las estructuras de P-gp en sus conformaciones “hacia adentro” y “hacia

afuera” (la conformación adoptada por la proteína después de la hidrolización de ATP) se obtuvieron de la base de datos Protein Data Bank (PDB).

El código de identificación de la conformación “hacia adentro” utilizada en el presente trabajo es 6FN1. La estructura tienen una resolución de 3.58 Å y se obtuvo mediante el método de microscopía electrónica. Consta de 1249 aminoácidos, con un total de 12739 átomos.

El código de identificación de la conformación “hacia afuera” es 6C0V. La estructura tiene una resolución de 3.4 Å y se obtuvo mediante el método de microscopía electrónica. Consta de 1289 aminoácidos, con un total de 8976 átomos.

Inicialmente se realizó una serie de acoplamiento moleculares en el NBD de 6FN1 para conocer las energías de interacción de cada hidroxixantona en el sitio de unión a ATP de la conformación “hacia adentro”, la cual no ha realizado el cambio conformacional.

Para analizar las interacciones de los ligandos en el NBD de 6FN1 se tomó en cuenta también que a pesar de contar con dos NBDs, P-gp hidroliza solamente una molécula de ATP a la vez [106], por lo cual era necesario analizar las interacciones de los ligandos en un solo NBD. En la conformación “hacia adentro” (6FN1), ambos NBDs se encuentran demasiado cerca uno del otro, y no es posible posicionar una caja *grid* demasiado grande de manera precisa sin abarcar aminoácidos correspondientes al segundo NBD. Para localizar un único NBD en 6FN1 (la conformación hacia adentro de P-gp), se utilizó una caja *grid* de 20x20x20 Å³ y se tomaron como referencia algunos aminoácidos que interaccionan con ATP en la estructura “hacia afuera” (6C0V), en la cual ambos NBDs se encuentran más alejados entre sí. Estos aminoácidos se conservan en ambas conformaciones con ligeras modificaciones en su numeración, correspondiendo en 6FN1 a Asp163, Tyr400, Arg403, Ile408, Ser428, Lys432, Ser433, Thr434 y Gln474. Se visualizaron primeramente en el programa Chimera y se localizaron con AutoDock Tools.

En segundo lugar se realizaron una serie de acoplamiento moleculares en el SBD de la conformación “hacia adentro” y de la conformación “hacia afuera” de P-gp, en la cual el ATP ha sido hidrolizado en el NBD.

Las localizaciones de las cajas *grid* se pueden observar en el apéndice K. Las dimensiones de la caja *grid* utilizada para analizar el SBD fueron 30x30x30 Å³ sobre los

ejes X, Y y Z, respectivamente, con un espaciado por defecto de 0.375 Å. En principio se asignó un valor de *exhaustiveness* de 100, pero debido al tiempo requerido por el programa AutoDock Vina para realizar los cálculos, se optó por omitir esta instrucción extra tras comparar los valores obtenidos entre un cálculo donde se mantuvo el valor de *exhaustiveness* = 8 (siendo este el valor por defecto) y un cálculo de la misma molécula que incluía un valor de *exhaustiveness* = 50 y corroborar que no diferían significativamente entre sí. El método empleado en el acoplamiento molecular es el método semiflexible, pues los receptores fueron tratados como un cuerpo rígido, y las rotaciones de enlace y del ligando fueron permitidas.

La visualización de los resultados obtenidos en AutoDock Vina se realizó con el programa Discovery Studio 2017 [107].

3.3.2 SYBYL-X 2.1

Para la realización del acoplamiento molecular con SYBYL-X se siguió paso a paso la metodología presentada en el *Docking Suite Manual*, obtenido de la librería de Tripos incluida en el programa.

La simulación de acoplamiento molecular se realizó utilizando el programa SurflexDock incorporado en SYBYL-X 2.1 (Tripos International, USA). El primer paso de la metodología por defecto es optimizar la proteína receptor removiendo todas las estructuras no relacionadas, en este caso se habían removido previamente utilizando el *software* USCF Chimera, por lo que el *software* SYBYL-X no detectó ninguna salvo las dos moléculas de ATP presentes en la estructura 6C0V.

Cómo en AutoDock, la preparación del receptor en SYBYL-X conlleva a la adición de hidrógenos y cargas. Finalmente se sometió la estructura a una minimización por etapas utilizando el campo de fuerza AMBER7 FF99 y los parámetros por defecto, obteniendo así un archivo con la terminación .mol2, la cual es el formato por defecto de SYBYL-X. El siguiente paso consiste en la generación de un Protomol, el cual se refiere a una descripción computacional del sitio de unión donde se analizará la interacción de la proteína con los ligandos.

En este caso se seleccionó el modo automático para 6FN1, puesto que en este modo el programa selecciona la cavidad más grande detectada, la cual corresponde al SBD por completo. Para 6C0V se optó por seleccionar el modo MOLCAD o superficie multi-canal (*Multi-Channel Surface*), puesto que en 6C0V el programa detecta múltiples cavidades de dimensiones variables, como se puede observar en el apéndice J. Se seleccionó la cavidad visualmente más parecida a la creada etiquetando aminoácidos para posicionar la caja *grid* en el acoplamiento molecular del SBD en 6C0V realizado con AutoDock Vina (enlistados en la tabla 3.2 del presente capítulo). La imagen correspondiente a la cavidad señalizada y la caja *grid* localizada en ésta se encuentran en el apéndice K.

3.4 Potencial tipo droga

Para obtener una mayor variedad de parámetros que describan las hidroxixantonas estudiadas, se calculó el potencial tipo droga en el programa OSIRIS DataWarrior Versión 4.7.3, utilizando las doce hidroxixantonas las cuales se convirtieron a un formato soportado por OSIRIS DataWarrior utilizando OpenBabel GUI Versión 2.4.1. El formato elegido fue .sdf (Spatial Data File), siendo el más adecuado para visualizar las moléculas, puesto que las otras opciones incluían formatos del tipo .txt, .csv, .ode, mayormente utilizados por Microsoft Office.

Para visualizar la primer estructura se utilizaron las opciones File > Open, para añadir más estructuras al trabajo es necesario dirigirse a File > Merge File y seleccionar la siguiente estructura. Este paso se realizó sucesivamente hasta crear una tabla con las doce hidroxixantonas. Se calcularon algunas propiedades a partir de la estructura química además del valor *potencial tipo droga*, siendo éstas cLogP, cLogS, peso molecular, entre otras documentadas en la tabla 4.9 del siguiente capítulo. OSIRIS DataWarrior guarda los resultados de visualización y cálculo de propiedades en un archivo con terminación .dwar (Data Warrior Data Files).

4. Resultados y discusión.

En esta sección se presentan los resultados obtenidos tras la realización de la metodología descrita en el capítulo anterior. Esta sección está dividida en dos partes: La primera recopila los resultados concernientes al estudio de acoplamiento molecular y la segunda, los correspondientes al análisis realizado con el *software* OSIRIS DataWarrior.

4.1 Acoplamiento molecular en AutoDock Vina

Una de las partes importantes de esta investigación fue la realización de un estudio de acoplamiento molecular con el fin de conocer las energías de interacción entre las 12 moléculas de hidroxixantonas y los diferentes sitios de interés de P-gp en sus diferentes conformaciones, siendo éstos el dominio de unión al nucleótido (NBD) y el dominio de unión al sustrato (SBD). Puesto que esta sección resume los resultados, la totalidad de éstos puede consultarse en el apéndice L de la presente tesis.

4.1.1 Acoplamiento molecular en el NBD de la conformación “hacia adentro” (6FN1)

Este acoplamiento se realizó en el NBD de 6FN1 con el propósito de obtener las energías de interacción de las doce hidroxixantonas y compararlas a las del ATP, sin embargo y como se puede observar en la tabla 4.1, las energías de interacción altas obtenidas no difieren significativamente de las que presenta el ATP. La inhibición del cambio conformacional de P-gp por medio de la inhibición de la hidrólisis del ATP requiere que los compuestos analizados en el acoplamiento molecular presenten energías de interacción mucho mayores a las del sustrato natural.

Tabla 4.1. Resultados del acoplamiento molecular entre P-gp conformación “hacia adentro” (6FN1), una molécula de ATP y las doce hidroxixantonas en el sitio de unión con ATP (NBD).

Molécula	E_{Vina} (kcal/mol)
ATP	-7.0
X6	-7.1
X1	-7.0
X4	-7.0
X10	-6.8
X12	-6.7
X11	-6.6
X2	-6.5
X9	-6.5
X7	-6.4
X8	-6.4
X3	-6.3
X5	-6.2

La afinidad de ATP con NBD obtenida con AutoDock Vina coincide con los resultados reportados por Bender *et al.* [70]. La afinidad de las hidroxixantonas con el NBD no es remarcable, sin embargo las moléculas X6, X1 y X4 podrían competir con el ATP por ocupar el NBD, inhibiendo de esa manera el cambio conformacional de P-gp. Cabe resaltar que las interacciones que el ATP presenta en el NBD se caracterizan por una profusión de puentes de hidrógeno, lo cual sugiere que su afinidad se basa en este tipo de interacciones.

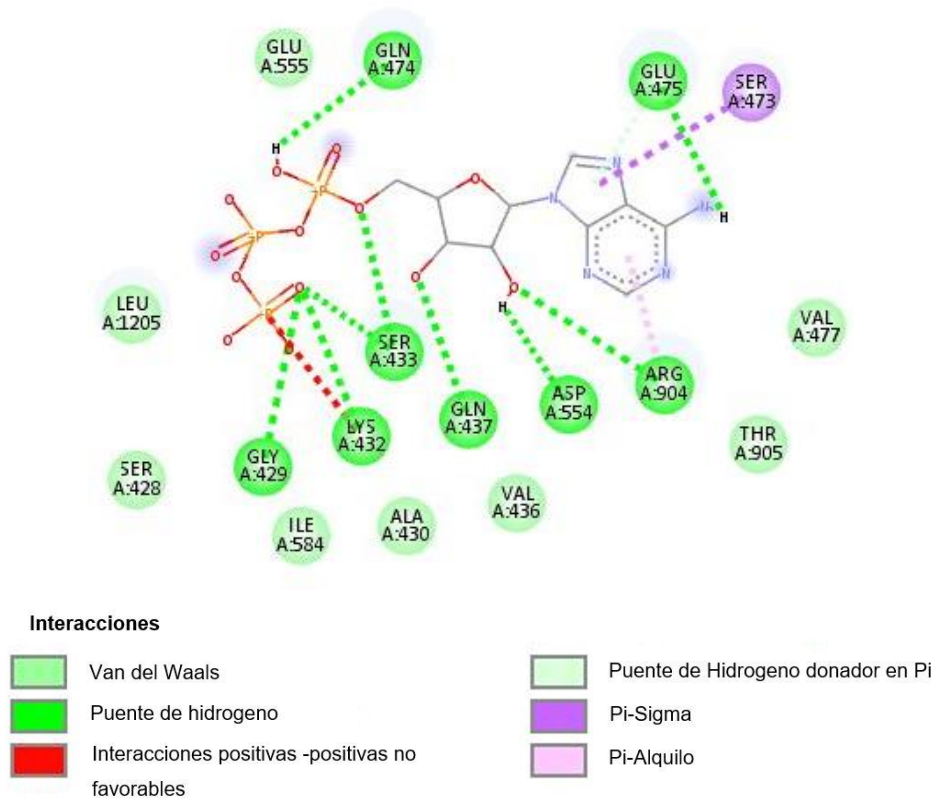


Figura 4.1. Interacciones del ATP en el NBD de la conformación “hacia adentro” visualizadas con DiscoveryStudio.

En la figura 4.1 se pueden observar las interacciones que presenta el ATP en el NBD, caracterizándose éstas por interacciones del tipo puente de hidrógeno.

Si bien los valores de afinidad reflejados en la tabla 4.1 no son muy favorables, se puede observar en la figura 4.2 que las hidroxixantonas que obtuvieron las mejores energías de interacción interactúan con algunos aminoácidos con los cuales el ATP presenta interacciones del tipo puente de hidrógeno, siendo éstas Lys432, Ser433, Gln437, Asp554 y Arg904. Esto indica que dichas interacciones son importantes para la inhibición de P-gp.

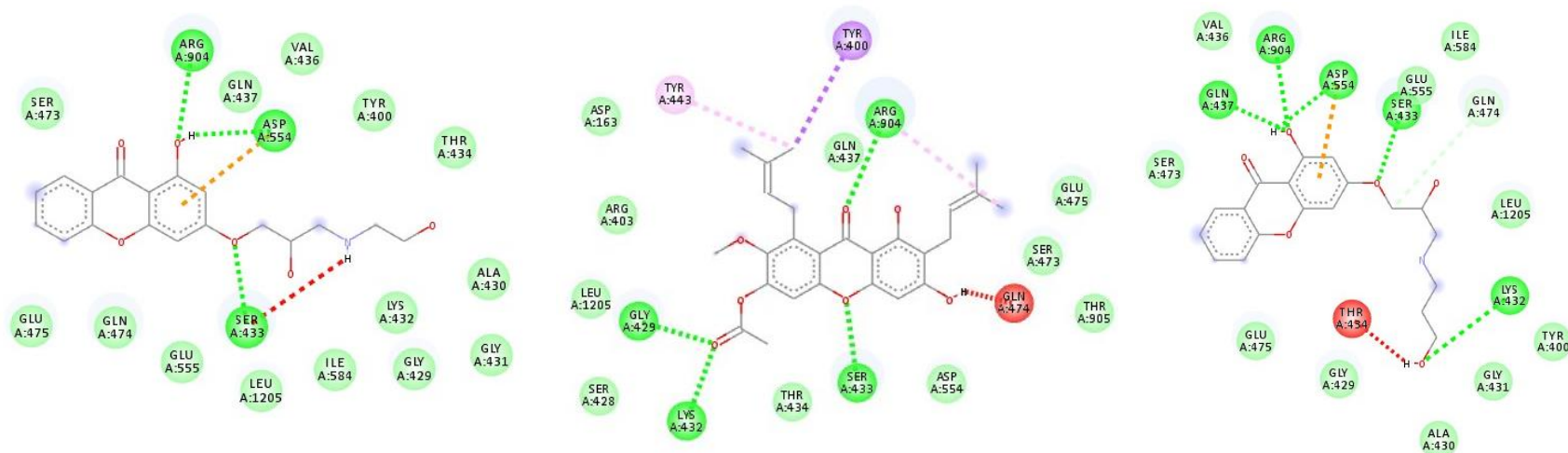


Figura 4.2. Resultados del acoplamiento molecular entre P-gp conformación “hacia adentro” (6FN1) y las hidroxixantonas X6, X1 y X4, las cuales presentaron las mejores energías de interacción en el NBD. Las esferas verde pálido representan las interacciones del tipo Van der Waals, las esferas verdes representan puentes de hidrógeno, las esferas rosadas y moradas representan interacciones del tipo π .

Tabla 4.2. Interacciones entre P-gp y las doce hidroxixantonas en el NBD de la conformación “hacia adentro” (6FN1).

Ligando	Tipo de interacción			
	Puente de H	Interacción Carbono-Hidrógeno	Interacción π	Pi-anión
X1	Gly429 Lys432 Ser433 Arg904		Tyr400 Tyr443 Arg904	
X2	Ser433	Gln474		Asp554
X3	Ser433 Arg904		Tyr400 Ile408 Tyr443 Arg904	Asp554
X4	Lys432 Ser433 Gln437 Asp554 Arg904	Gln474		Asp554
X5	Gln474 Asp554		Tyr400 Arg904 Leu1205	
X6	Ser433 Asp554 Arg904			Asp554
X7	Gly429 Gln437 Arg904		Tyr400	
X8	Ser433	Gln474		Asp554
X9	Gly429 Glu437 Asp554		Tyr400 Arg904	
X10	Ser433 Gln474 Arg904		Tyr400 Tyr443 Arg904	
X11	Gly429 Ser433 Gln437		Tyr400 Arg904	
X12	Gly429 Ser433 Gln437		Tyr400 Arg904	

En el artículo de *Esser et al.* se reporta que los aminoácidos que interactúan con ATP (mismos que coinciden con las interacciones obtenidas en este trabajo) son Asp163, Arg904, Tyr400, Tyr443, Arg403, Thr434, Ser428, Gly429, Gly431, Lys432, Ser433 y Asp554 (Tabla 4.3.). De estos aminoácidos, Gly429, Lys432, Ser433, Asp554 y Arg904 presentan interacciones del tipo puente de hidrógeno con el ATP, así como también lo presentan los aminoácidos Gln437, Gln474 y Glu475, los cuales no aparecen entre los reportados por *Esser et al.* En la tabla 4.2 se enlistan las interacciones obtenidas en el presente trabajo. A continuación se desglosan más detalladamente:

Todas las hidroxixantonas estudiadas interaccionan con el aminoácido Gln437. Los compuestos X1, X2, X3, X5, X6 y X10 presentan interacciones del tipo Van der Waals, mientras que las hidroxixantonas X4, X7, X9, X11 y X12 interaccionan por medio de puentes de hidrógeno. En el caso de X8 se obtuvieron interacciones donador-donador que no son favorables.

Entre las interacciones con el aminoácido Gln474, las hidroxixantonas X2, X4 y X8 presentan interacciones Carbono-Hidrógeno con este aminoácido, mientras que X5 y X10 forman enlaces de hidrógeno. Las hidroxixantonas X3, X6, X7, X9, X11 y X12 interaccionan por medio de fuerzas de Van der Waals. Por último, la hidroxixantona X1 presenta interacciones no favorables con este aminoácido.

En el caso del aminoácido Glu475, todas las hidroxixantonas interaccionan con este aminoácido por medio de fuerzas de Van der Waals con la excepción de X5.

La tabla 4.3 muestra las interacciones de interés que presentan las hidroxixantonas utilizadas en este trabajo tomando en cuenta sólo los aminoácidos reportados por *Esser et al.*, excluyendo los que no son mencionados por los autores antes citados.

Tabla 4.3. Interacciones de interés basadas en los aminoácidos reportados por *Esser et al.*

	Tipo de interacción		
	Puente de H	Interacción Pi	Pi- anión
Arg904	X3, X4, X6, X7, X10	X1, X3, X5, X9, X10, X11, X12.	

Tyr400		X1, X3, X5, X7, X9, X10, X11, X12	
Tyr443		X1, X3, X10	
Gly429	X1, X7, X9, X11, X12		
Lys432	X1, X4		
Ser433	X1, X2, X3, X6, X8, X10, X11, X12		
Asp554			X2, X3, X4, X6, X8, X11

En el caso de los aminoácidos Asp163, Arg403, Gly431, Thr434 y Ser428 se obtuvieron sólo interacciones del tipo Van der Waals.

4.1.2 Acoplamiento molecular en el SBD de la conformación “hacia adentro” (6FN1)

Las energías de interacción de zosuquidar, tariquidar y laniquidar han sido reportadas en trabajos previos, lo cual representa una ventaja puesto que se cuenta con datos teóricos de acoplamiento molecular que ofrecen una comparativa para clasificar las hidroxixantonas estudiadas en el presente trabajo.

El compuesto tariquidar presenta una afinidad con P-gp de -12.9 a -11.8 kcal/mol, resultado obtenido al realizar un acoplamiento molecular en Autodock Vina en el NBD de P-gp [108], mientras que zosuquidar y laniquidar presentan afinidades aproximadas a -11.5 kcal/mol, siendo catalogados como moduladores de P-gp [109].

En la tabla 4.4 se adjuntan los resultados obtenidos tras la realización del acoplamiento molecular posicionando la caja *grid* en el sitio activo de la P-glicoproteína (SBD) en su conformación “hacia adentro”. Estos resultados fueron obtenidos utilizando el programa Autodock Vina.

Tabla 4.4. Mejores energías de interacción en kcal/mol obtenidas con AutoDock Vina, entre P-gp conformación “hacia adentro” (en el SBD) y las doce hidroxixantonas.

Molécula	E_{Vina} (kcal/mol)
Zosuquidar	-12.2
Tariquidar	-11.7
Laniquidar	-11.2
X5	-9.0
X3	-8.9
X1	-8.8
X10	-8.7
X12	-8.7
X11	-8.7
X9	-8.4
X7	-8.1
X2	-7.7
X8	-7.6
X6	-7.5
X4	-7.2

Como puede observarse, incluso las mejores interacciones, las cuales corresponden a X5 (-9.0 kcal/mol), X3 (-8.9 kcal/mol) y X1 (-8.8 kcal/mol), están sumamente alejadas de los valores que presentan los inhibidores de tercera generación. Sin embargo, debe remarcarse que las moléculas de zosuquidar, laniquidar y tariquidar ocupan una mayor área de superficie y por lo tanto ocupan un mayor espacio dentro de la cavidad. Las figuras 4.3 y 4.4 muestran las interacciones obtenidas entre los compuestos de referencia y las hidroxixantonas que obtuvieron los mejores resultados de afinidad.

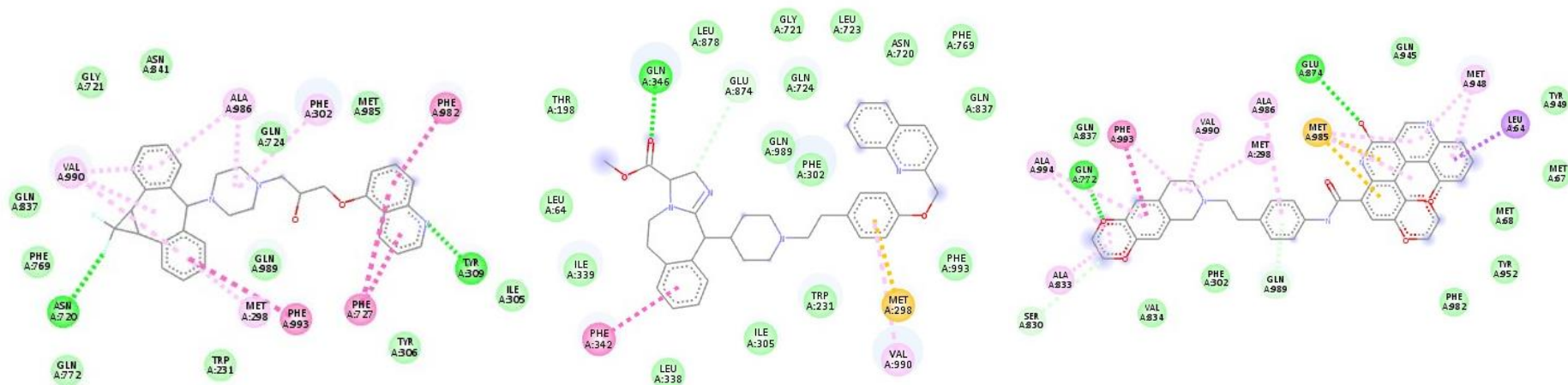


Figura 4.3. Resultados del Docking entre P-gp conformación “hacia adentro” (6FN1), y los inhibidores zosuquidar, laniquidar y tariquidar en el SBD. Interacciones visualizadas con Discovery Studio.

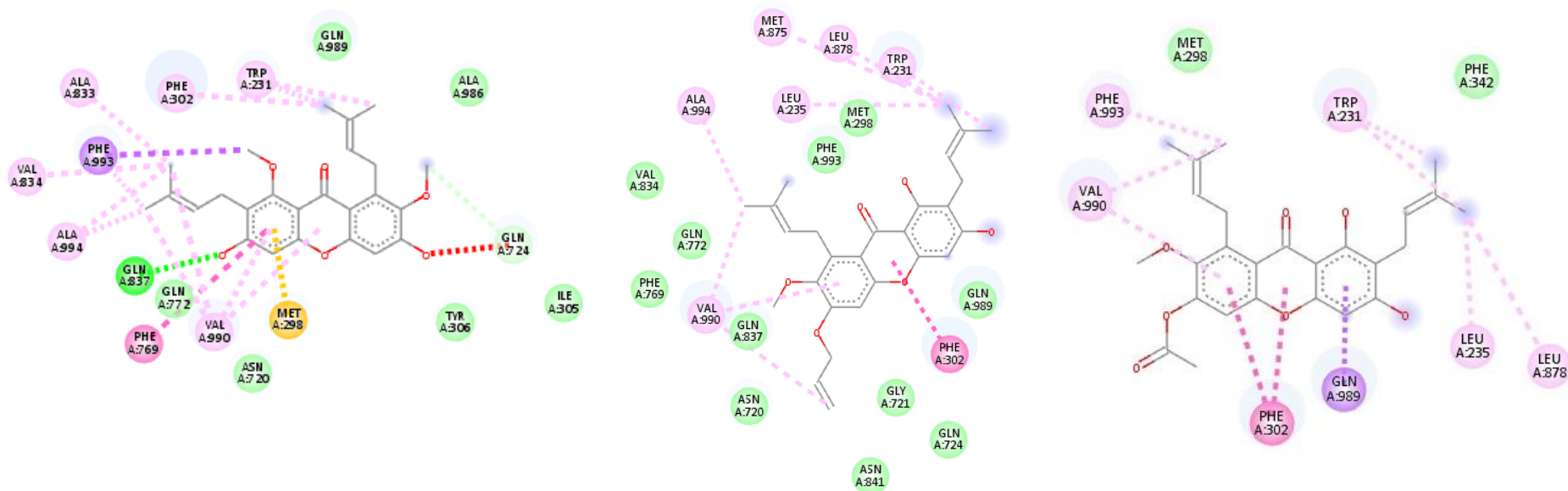


Figura 4.4. Resultados del Docking entre P-gp conformación “hacia adentro” (6FN1), y las hidroxixantonas X5, X3 Y X1, las cuales presentaron las mejores energías de interacción en el SBD. La hidroxixantona X5 presenta una interacción tipo π –Sulfuro, la cual también presentan los inhibidores Tariquidar y Laniquidar.

Como puede observarse en la figura 4.4, la hidroxixantona X5 presenta una interacción tipo π –Sulfuro, la cual también presentan los inhibidores tariquidar y laniquidar (figura 4.3), además las interacciones más representativas entre los ligandos y el SBD de esta conformación de P-gp son del tipo π .

A continuación se presentan las interacciones más importantes de los tres inhibidores y las doce hidroxixantonas con el SBD de 6FN1. Las interacciones del tipo π , en conjunción con el enlace π -Sulfuro parecen estar relacionadas con las energías de interacción altas.

Tabla 4.5. Interacciones entre P-gp y las doce hidroxixantonas en el SBD de la conformación “hacia adentro” (6FN1).

Ligando	Tipo de interacciones			
	Puente de Hidrógeno	Interacción C-H	Interacción π	π – Sulfuro
Zosuquidar	Tyr309 Asn720		Met298 Phe302 Phe727 Phe982 Ala986 Val990 Phe993	
Laniquidar	Gln346	Glu874	Phe342 Val990	Met298
Tariquidar	Gln772 Glu874	Ser830 Gln989	Leu64 Met298 Ala833 Met948 Ala986 Val990 Phe993 Ala994	Met985
X1			Trp231 Leu235 Phe302 Leu878 Gln989 Val990 Phe993	
X2	Gln837		Gln989 Val990 Phe993	
X3			Trp231 Leu235 Phe302 Met875 Leu878 Val990 Ala994	
X4	Gln772		Phe302 Val990	Met298
X5	Gln837	Gln724	Trp231 Phe302 Phe769 Ala833 Val834 Val990 Ala994	Met298
X6		Gly721	Phe302 Met875 Ala986	
X7			Trp231 Met298 Phe302 Met875 Val990 Phe993 Ala994	
X8	Gln837		Phe302 Met875 Ala986	

X9	Tyr306 Gln724		Trp231 Met298 Phe302 Phe727 Met875 Phe982 Met985 Val990 Phe993	
X10	Gln989		Phe302 Leu723 Phe727 Phe769 Phe982 Met985 Ala986	
X11	Gln724 Gln989		Phe302 Leu723 Phe727 Phe769 Phe982 Met985 Ala986	
X12	Asn720 Gln724 Gln772 Gln837		Trp231 Phe302 Phe769 Ala833 Val834 Val990 Phe993 Ala994	Met298

Según diversos autores, los residuos relacionados con la unión al sustrato son: Ser222, Ile306, Leu339, Ala342, Ile868, Phe942, Thr945, Gly984 [110] [111], Ile340, Phe343, Leu975, Val981, Val982, Ala 985 [112]. Met948, phe983, Met986, Val988, Gln990 [113], de los cuales, Ile305, Phe342, Phe982, Met985 y Gln989 coinciden con las interacciones obtenidas en este trabajo. Estos residuos están reportados en una secuencia de P-gp de *Homo sapiens* y coinciden con la secuencia de la estructura utilizada en el presente trabajo (6FN1 preparada para su uso en Autodock Vina), si bien se encuentran una posición antes.

4.1.3 Acoplamiento molecular en el SBD de la conformación “hacia afuera” (6C0V)

Por tratarse de una estructura relativamente reciente, el dominio de unión al sustrato de 6C0V no se encuentra bien definido, por lo tanto, partiendo de la identidad con 6FN1 y los aminoácidos que interaccionan con Zosuquidar en 6FN1 reportados en los datos suplementarios del artículo de Alam *et al.*, se procedió a localizarlos utilizando la interfaz de AutoDock Tools. Las energías de interacción obtenidas son sustancialmente menores comparadas con las obtenidas en el acoplamiento molecular en la conformación “hacia adentro”, incluso tratándose de los inhibidores de tercera generación.

Tabla 4.6. Mejores energías de interacción en kcal/mol obtenidas con AutoDock Vina, en el SBD de

P-gp conformación “hacia afuera” (6C0V) y las doce hidroxixantonas.

Molécula	E_{Vina} (kcal/mol)
Zosuquidar	-8.8
Tariquidar	-7.2
Laniquidar	-6.1
X4	-8.5
X2	-8.4
X8	-8.2
X12	-7.7
X6	-7.6
X7	-7.6
X1	-7.3
X3	-7.2
X9	-7.1
X11	-7.1
X5	-7.0
X10	-6.6

El tamaño de la cavidad no favorece la interacción, pero las hidroxixantonas con sustituyentes más largos parecieran presentar una afinidad mayor debido quizá a su mayor longitud, comparado con las demás moléculas.

Se esperaba que las afinidades resultantes no fueran tan altas como en el SBD de la conformación “hacia adentro”, debido a las interacciones más débiles causadas por espacio que queda abierto hacia el exterior de la membrana celular, el cual es perceptible simplemente comparando las conformaciones “hacia adentro” y “hacia afuera”.

4.2 Acoplamiento molecular en SYBYL-X

Los resultados del acoplamiento molecular en SYBYL-X (total scores) están expresados en unidades de $-\log_{10}(K_d)$ para representar las afinidades de enlace. Las tablas 4.7 y 4.8 enlistan los resultados obtenidos mediante esta metodología.

Tabla 4.7. Acoplamiento molecular entre P-gp en su conformación “hacia adentro” (6FN1) y las doce hidroxixantonas con SYBYL-X, en SBD: Puntuaciones de Surflex Dock.

Molécula	E_{SYBYL} $-\log_{10}(K_d)$.	Crash
X12	7.2695	-1.0528
X6	7.1573	-0.8648
X4	6.6458	-1.3497
X8	6.6113	-0.7061
X11	6.1975	-1.6664
X3	6.0341	-2.2511
X7	5.8579	-2.5433
X1	5.8524	-1.5671
X2	5.4714	-1.2675
X5	5.4563	-1.4243
X9	5.2738	-4.0498
X10	5.1824	-2.0529

El valor *Crash* o valor de choque se refiere al grado de penetración no apropiada que tiene el ligando dentro de la cavidad señalada, así como el grado de auto-colapso que el ligando experimenta, es decir, que sus átomos interfieran unos con otros de una u otra forma. Los valores de *Crash* cercanos a cero son favorables [82].

Tabla 4.8. Acoplamiento molecular entre P-gp en su conformación “hacia afuera” (6C0V) y las doce hidroxixantonas con SYBYL-X, en SBD: Puntuaciones de Surflex Dock.

Molécula	E_{SYBYL} -log ₁₀ (K _d)	Crash
X8	8.7981	-1.5698
X1	8.4334	-2.9057
X9	8.3876	-2.3634
X6	8.1643	-1.6075
X3	8.1527	-1.3905
X5	8.0185	-2.5307
X4	7.8819	-3.3406
X11	7.7280	-2.2368
X12	7.7280	-2.2368
X7	6.8881	-2.2964
X10	6.6591	-2.2375
X2	6.4522	-2.6019

La diferencia entre los valores de ambas tablas puede deberse a la metodología empleada para la elección del protomol.

4.3 Predicción de la característica Potencial tipo droga

Un factor adicional que debe ser considerado es el llamado potencial tipo droga (*druglikeness*), es decir, qué tan parecido es un compuesto a un fármaco indexado en una base de datos. Muchos compuestos fallan en su desarrollo como fármacos debido a valores de potencial tipo droga bajos y propiedades farmacocinéticas no idóneas [114].

El término *potencial tipo droga* hace referencia a características deseables que debe poseer una sustancia para convertirse en fármaco: Podemos observar en la tabla 4.10, los fragmentos y sustituyentes de las hidroxixantonas que presentan valores favorables por encima de cero, las cuales son, con sus respectivos valores de potencial tipo droga:

X8 (3.2641), X6 (3.053) y X4 (1.4731). Cuanto mayor sea el número calculado por el programa, mayores posibilidades tiene la molécula de convertirse en un fármaco. Los fármacos comerciales suelen tener valores de potencial tipo droga mayores a cero [85]. Los resultados omitidos del cálculo de potencial tipo droga y los sustituyentes correspondientes a cada una de las hidroxixantonas pueden consultarse en el apéndice M.

El potencial tipo droga no está relacionado con los valores de afinidad por el simple hecho de que para su predicción no se considera la interacción receptor-ligando que se emplea en un acoplamiento molecular, pero si se consideran algunas propiedades moleculares como las presentadas en la tabla 4.9.

Tabla 4.9. Predicción de propiedades moleculares en OSIRIS DataWarrior.

Ligandos	Peso molecular	Parámetros					
		# de donadores de H	# de aceptores de H	cLogP	cLogS	Área total de superficie	Potencial tipo droga
X1	452.501	2	7	6.6369	-6.531	348.22	-0.92077
X2	365.178	2	5	3.1501	-5.363	228.62	-6.3087
X3	450.529	2	6	7.2554	-6.758	356.51	-6.5129
X4	359.377	4	7	1.7508	-4.368	269.08	1.4731
X5	424.491	2	6	6.5802	-6.249	330.47	-1.1123
X6	345.350	4	7	1.2964	-4.098	255.32	3.053
X7	414.449	3	6	6.0327	-6.463	317.66	-1.9601
X8	343.378	3	6	2.6775	-4.875	261.23	3.2651
X9	429.511	4	7	5.3554	-6.539	326.18	-1.7188
X10	444.910	3	6	6.9105	-6.671	329.98	-0.9815
X11	410.464	3	6	3.3045	-5.935	314.56	-1.11123
X12	410.464	3	6	3.3045	-5.935	314.56	-1.11123

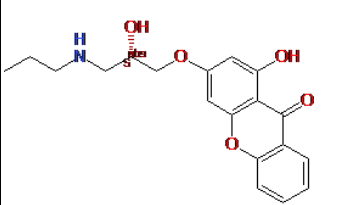
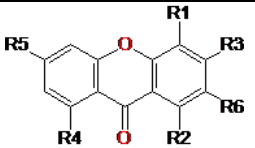
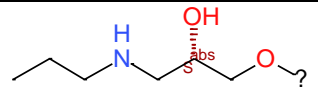
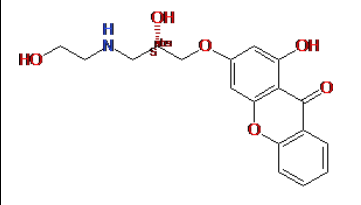
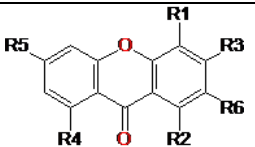
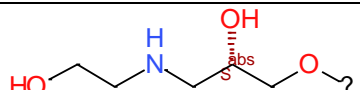
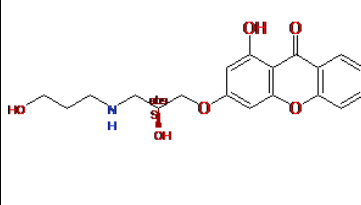
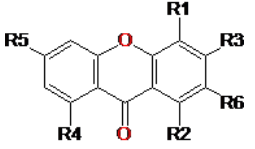
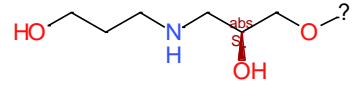
La regla de Lipsinski es una aproximación heurística para predecir el potencial tipo droga. Esta regla afirma que las moléculas que tienen un peso molecular $\gg 500$, $\text{Log P} \gg 5$,

donadores de hidrógeno $\gg 5$ y aceptores de hidrógeno $\gg 10$ tienen una pobre absorción o penetración [115]. Esta regla se limita a describir las propiedades moleculares relacionadas con la farmacocinética, es decir, se refiere a la absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) de compuestos bio-activos en un organismo superior [116].

Los compuestos analizados en esta tesis tienen un peso molecular menor a 500, un menos de 5 donadores de hidrógeno, menos de 10 aceptores de hidrógeno, pero valores de LogP variables: Las hidroxixantonas X1, X3, X5, X7, X9 y X10 presentan valores de LogP mayores a los recomendables según la regla de Lipsinski, sin embargo, cabe a destacar que la regla no toma en consideración los aspectos farmacocinéticos referentes a la acción del fármaco en el organismo o en microorganismos presentes en otro organismo, e incluso existen fármacos que no coinciden con lo estipulado en la regla, por lo tanto, una molécula que califica según la regla de Lipsinski no garantiza tener características farmacológicamente deseables.

Las hidroxixantonas que poseen sustituyentes $-\text{OCH}_2\text{CHOHCH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ y $-\text{OCH}_2\text{CHOHCH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_3$ presentan los valores de potencial tipo droga más altos, mientras que el sustituyente $-\text{OCH}_2\text{CHOHCH}_2\text{Br}$ no favorece las características de la hidroxixantona X2, la única que presenta este tipo de sustituyente, siendo el único compuesto catalogado por OSIRIS DataWarrior como tumorigénico, además de presentar un potencial tipo droga bajo.

Tabla 4.10. Mejores resultados de la predicción de la característica tipo droga.

Molécula	Fragmento central	R2	R3	Potencial tipo droga
<p>X8</p> 		?-OH	 <p>this enantiomer</p>	3.2651
<p>X6</p> 		?-OH	 <p>this enantiomer</p>	3.053
<p>X4</p> 		?-OH	 <p>this enantiomer</p>	1.4731

5. Conclusiones.

En esta investigación se estudiaron doce hidroxixantonas a fin de evaluar su afinidad con P-gp en sus conformaciones “hacia adentro” y “hacia afuera”, las cuales fueron reportadas recientemente.

Las doce hidroxixantonas estudiadas tienen la posibilidad de interactuar con P-gp tanto en su NBD como en SBD, presentando valores de afinidad similares a los de ATP en el NBD, lo cual indica que tras ligeros cambios estructurales llevados a cabo para favorecer su afinidad, podrían utilizarse como inhibidores de la hidrólisis de ATP y por lo tanto, inhibidores del cambio conformacional de P-gp. Los valores obtenidos en el SBD resultaron altos, pero todavía existe una gran diferencia con respecto a los valores que presentan los inhibidores específicos de P-gp utilizados como comparativa: Si bien los resultados del acoplamiento molecular fueron favorables, es probable que las hidroxixantonas estudiadas no sean ni inhibidores ni sustratos específicos para P-gp, sino que se comporten como algunas de las moléculas clasificadas como inhibidores de segunda generación según sus energías de interacción.

Se propone la adición de sustituyentes más extensos y en mayor cantidad a la estructura de las hidroxixantonas, partiendo de que las estructuras de X4, X6 y X8 no sólo obtuvieron los mejores valores de potencial tipo droga, sino que presentan también las mejores energías de interacción en los diversos acoplamientos moleculares realizados, con excepción del acoplamiento molecular en el SBD de 6FN1. Debido a lo anteriormente dicho, los sustituyente que poseen estas moléculas favorecen la interacción de éstas con el receptor y por consiguiente, los valores de afinidad resultantes, así mismo, estos sustituyente ales incrementarían el tamaño de la molécula, permitiéndole interaccionar mejor con la cavidad observada en la conformación “hacia afuera”.

Otro ejemplo remarcable es la hidroxixantona X1, la cual es la única que posee un sustituyente $-\text{OCCH}_3\text{O}$. Esta hidroxantona presentó valores aceptables de potencial tipo droga y energías de afinidad altas en el NBD y el SBD de 6FN1, además de un valor de afinidad remarcable en el acoplamiento molecular realizado en SYBYL-X en el SBD de 6C0V.

Si bien se obtuvieron resultados favorables, debido a su pequeño tamaño en comparación con los inhibidores de tercera generación, es probable que las hidroxixantonas estudiadas sean sustratos de P-gp, por lo tanto, serían transportadas hacia el exterior de la célula al realizarse el cambio conformacional. La adición de sustituyentes como $-\text{OCH}_2\text{CHOHCH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ y $-\text{OCH}_2\text{CHOHCH}_2\text{NHCH}_2\text{CH}_3$ aumentaría las energías de afinidad y el tamaño de la molécula, además de que favorecería las características deseables de esta en apartados como los calculados por el programa computacional OSIRIS DataWarrior.

6. Referencias.

1. <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer> Consultado del 26 de agosto del 2018 a las 12:06 horas.
2. Arts, H. J. G., Katsaros, D., de Vries, E. G. E., Massobrio, M., Genta, F., Danese, Arisio, R., Scheper, R. J., Kool, M., Scheffer, G. L., Willemse, P. H. B., van der Zee, A. G. J. & Suurmeijer, A. J. H. (1999). Drug Resistance-associated Markers P-Glycoprotein, Multidrug Resistance-associated Protein 1, Multidrug Resistance-associated Protein 2, and Lung Resistance Protein as Prognostic Factors in Ovarian Carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 5(10), 2798 LP-2805. Retrieved from <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/5/10/2798.abstract>
3. Lin, J. H., & Yamazaki, M. (2003). Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics: clinical implications. *Clinical Pharmacokinetics*, 42(1), 59–98. <https://doi.org/10.2165/00003088-200342010-00003>
4. Gottesman, M. M., Fojo, T., & Bates, S. E. (2002). Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nature Reviews. Cancer*, 2(1), 48–58. <https://doi.org/10.1038/nrc706>
5. Ambudkar, S. V, Dey, S., Hrycyna, C. A., Ramachandra, M., Pastan, I., & Gottesman, M. M. (1999). Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 39, 361–398. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.39.1.361>
6. Fromm, M. F. (2003). Importance of P-glycoprotein for drug disposition in humans. *European Journal of Clinical Investigation*, 33 Suppl 2, 6–9.
7. Dolgih, E., Bryant, C., Renslo, A. R., & Jacobson, M. P. (2011). Predicting Binding to P-Glycoprotein by Flexible Receptor Docking. *PLOS Computational Biology*, 7(6), e1002083. Retrieved from <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002083>
8. Palmeira, A., Sousa, E., H. Vasconcelos, M., & Pinto, M. (2012). Three Decades of P-gp Inhibitors: Skimming through Several Generations and Scaffolds. *Current Medicinal Chemistry*, 19(13), 1946–2025. doi:10.2174/092986712800167392
9. Hung, S. H., Shen, K. H., Wu, C. H., Liu, C. L., Shih, Y. W. (2009) α -Mangosteen supresses PC Human Prostate Carcinoma Cell Metastasis by Inhibiting Matrix

Metalloproteinase-2/9 and Urokinase-Plasminogen Expression through the JNK Signaling Pathway. *J Agric Food Chem* 57:1291–8

10. Kosem, N., Ichikawa, K., Utsumi, H., Moongkarndi, P. (2013) In vivo toxicity and antitumor activity of mangosteen extract. *J Nat Med* 67:255–263

11. Moongkarndi, P., Kosema, N., Kaslungka, S., Luanratana, O., Pongpan, N., Neungton, N. (2004) Antiproliferation, antioxidation and induction of apoptosis by *Garcinia mangostana* (mangosteen) on SKBR3 human breast cancer cell line. *J Ethnopharmacol* 90:161–166

12. Tchamo, D. N., Dijoux-Franca, M. G., Mariotte, A. M., Tsamo, E., Daskiewicz, J. B., Bayet, C., Barron, D., Conseil, G., Di Pietro, A. (2000). Prenylated xanthenes as potential P-glycoprotein modulators. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 10(12), 1343–1345.

13. Li, G., Thomas, S., & Johnson, J. J. (2013). Polyphenols from the mangosteen (*Garcinia mangostana*) fruit for breast and prostate cancer. *Frontiers in pharmacology*, 4, 80. doi:10.3389/fphar.2013.00080

14. Matoba, Y. (2013). Effects of Mangosteen Pericarp Extracts Against Mammary Cancer. (H. T. and M. Linuma, Ed.), *Alternative & Integrative Medicine*. OMICS International. <https://doi.org/10.4172/2327-5162.1000139>

15. Vidari, G., & VitaFinzi, P. (2010). Las Gentianaceae: botánica, fitoquímica y actividad biológica. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 11 (1), 3-14.

16. Shan, T., Ma, Q., Guo, K., Liu, J., Li, W., Wang, F., & Wu, E. (2011). Xanthenes from Mangosteen Extracts as Natural Chemopreventive Agents: Potential Anticancer Drugs. *Current Molecular Medicine*, 11(8), 666–677.]

17. Akao, Y., Nakagawa, Y., Linuma, M., Nozawa, Y. (2008) Anti-Cancer Effects of Xanthenes from Pericarps of Mangosteen. *Int J Mol Sci* 9:355–370

18. Steinmetz, K. A., & Potter, J. D. (1996). Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *Journal of the American Dietetic Association*, 96(10), 1027–1039. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(96\)00273-8](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(96)00273-8)

19. Yang, J., Liu, R. H., & Halim, L. (2009). Antioxidant and antiproliferative activities of common edible nut seeds. *LWT - Food Science and Technology*, 42(1), 1–8. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.07.007>

20. Pedraza-Chaverri, J., Cardenas-Rodriguez, N., Orozco-Ibarra, M., & Pérez-Rojas, J. M. (2008). Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 46(10), 3227–3239. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.07.024>
21. Mazimba, O., Nana, F., Kuete, V., Singh, G. (2013) Xanthonés and Anthranoids from the Medicinal Plants of Africa, In *Medicinal Plant Research in Africa*, Elsevier, Oxford, Pages 393-434, ISBN 9780124059276, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405927-6.00011-4>.
22. Caballero, N., Scior, T., Castro, M. E., Durand-Niconoff, S., Ramirez, R. E., Melendez, F. J., Reverse pharmacognosy and virtual screen of anti-neoplastic hydroxyxanthone derivatives for target identification in breast cancer cells. (Pendiente de Publicación).
23. Gottlieb, O.R., Mesquita, A.A., Lins-Nagem, T.J., De Oliveira, G.G. (1970) Chemistry of Brazilian Guttiferae. XXIII. Synthesis of hydroxyxanthonés from the genus *Kielmeyera* via selective demethylation of methoxyxanthonés. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias* 42: 121–125
24. Korotkova I.V., Sakhno T.V., Solov'ev V.V. (1998) Theoretical study of the effect of the solvent on luminescence-spectral properties of molecules with nitrogen and oxygen heteroatoms. *Ukrainskii Khimicheskii Zhurnal (Russian Edition)* 64:(1–2) 81–85
25. Imperato F. (2004) Bioactive natural xanthonés. *Curr Topics Phytochem* 6:63–93
26. Giri R., Goodell J.R., Xing C., Benoit A., Kaur H., Hiasa H., Ferguson D.M. (2010) Synthesis and cancer cell cytotoxicity of substituted xanthenés. *Bioorg Med Chem* 18(4):1456–1463
27. Turner, P. A., Griffin, E. M., Whatmore, J. L., Shipman, M. (2011) Tetrahydroxanthonés by Sequential Pd-Catalyzed C-O and C-C Bond Construction and Use in the Identification of the "Antiausterity" Pharmacophore of the Kigamicins. *Org Lett* 13(5):1056–1059
28. Su, Q-G., Liu, Y., Cai, Y-C., Sun, Y-L., Wang, B., Xian, L-J. (2011) Anti-tumour effects of xanthone derivatives and the possible mechanisms of action. *Investig New Drugs*, 29(6):1230–1240

29. He, W., Shi, Z., Chen, G., Mo, S., Yao, X., Ren, M. (2011) Molecular modeling and spectroscopic studies on characterization of two xanthenes binding on human serum albumin. *Chin J Pharm Anal* 31(1):59–65
30. Anantachoke, N., Tuchinda, P., Kuhakarn, C., Pohmakotr, M., Reutrakul, V. (2012) Prenylated caged xanthenes: Chemistry and biology. *Pharm Biol* 50(1):78–91
31. Brahmachari, G. (2013) Gambogic acid: a caged prenylated garcinia xanthone potent anticancer agent of pharmaceutical promise. In: *Chemistry and Pharmacology of Naturally Occurring Bioactive Compounds*. Brahmachari G (Editor) CRC Press (Taylor & Francis Group) USA pp 393–415
32. Garcia-Domenech, R., Zanni, R., Galvez-Llompart, M., Vicente de Julian-Ortiz, J. (2013) Modeling Anti-Allergic Natural Compounds by Molecular Topology. *Comb Chem High Throughput Screen* 16(8):628–635
33. Kaushik, P., Lal Khokra, S., Rana, A.C., Kaushik, D. (2014) Pharmacophore modeling and molecular docking studies on *Pinus roxburghii* as a target for diabetes mellitus. *Adv Bioinform* 903246:1–9
34. Yang, Z-M., Huang, J., Qin, J-K., Dai, Z-K., L, W-L., Su, G-F., Tang, H., Yang, F. (2014) Design, synthesis and biological evaluation of novel 1-hydroxyl-3-aminoalkoxy xanthone derivatives as potent anticancer agents. *Eur J Med Chem* 85:487–497
35. Xu, H., Zhang, H., Xi, Z., Tan, H., Chen, K., Bian, Z., Yang, D., Chen, S., Lu, A., Chan, A., Sun, C. (2014) Polyisoprenylated tetracyclic xanthone with anticancer activity. U.S. Pat. Appl. Publ. US 20140194498 A1 20140710.
36. Zhang, X., You, Q., Hu, M., Li, X., Sun, H., Faming Z. (2015). Preparation of carbamate bridged xanthone derivatives as anticancer agents. CN 105131011 A 20151209.
37. Tang, Z., Xia, Z., Qiao, S., Jiang, C., Shen, G., Cai, M., Tang, X. (2015) Four new cytotoxic xanthenes from *Garcinia nuijiangensis*. *Fitoterapia* 102:109–114
38. Xu, X., Wua, Y., Hua, M., Li, X., Gu, C., You, Q., Zhang, X. (2016) Structure–activity relationship of *Garcinia* xanthenes analogues: Potent Hsp90 inhibitors with cytotoxicity and antiangiogenesis activity. *Bioorg Med Chem* 24(19): 4626–4635

39. Park S, Hong E, Kwak SY, Jun K-Y, Lee E-S, Kwon Y, Na Y (2016) Synthesis and biological evaluation of C1-O-substituted-3-(3-butylamino-2-hydroxy-propoxy)-xanthen-9-one as topoisomerase II α catalytic inhibitors. *Eur J Med Chem* 123:211–225
40. Shagufta IA (2016) Recent insight into the biological activities of synthetic xanthone derivatives. *Eur J Med Chem* 116:267–280
41. Yuanita E, Pranowo HD, Jumina J, Mustofa M (2016) Design of hydroxyxanthenes derivatives as anticancer using quantitative structure-activity relationship hydroxyl xanthenes derivatives as anticancer. *Asian J Pharm Clin Res* 9(2):180–185
42. Inoue, T., Kainuma, M., Baba, K., Oshiro, N., Kimura, N., & Chan, E. W. C. (2017). *Garcinia subelliptica* Merr. (Fukugi): A multipurpose coastal tree with promising medicinal properties. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 6(1), 121–127. <http://doi.org/10.5455/jice.20161229060034>
43. Kaennakam, S., Mudsing, K., Rassamee, K., Siripong, P., & Tip-pyang, S. (2018). Two new xanthenes and cytotoxicity from the bark of *Garcinia schomburgkiana*. *Journal of Natural Medicines*. <https://doi.org/10.1007/s11418-018-1240-8>
44. Matsson, P., Pedersen, J. M., Norinder, U., Bergström, C. A. S., & Artursson, P. (2009). Identification of Novel Specific and General Inhibitors of the Three Major Human ATP-Binding Cassette Transporters P-gp, BCRP and MRP2 Among Registered Drugs. *Pharmaceutical Research*, 26(8), 1816–1831. <https://doi.org/10.1007/s11095-009-9896-0>
45. Grube, M., & Kroemer, H. K. (2008). ABC Transporters. In S. Offermanns & W. Rosenthal (Eds.), *Encyclopedia of Molecular Pharmacology* (pp. 4–8). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-38918-7_174
46. Jedlitschky, G. et al. Transport of glutathione, glucuronate, and sulfate conjugates by the MRP geneencoded conjugate export pump. *Cancer Res.* 56, 988–994 (1996)
47. Borst, P., Evers, R., Kool, M. & Wijnholds, J. A family of drug transporters: the multidrug resistance-associated proteins. *J. Natl Cancer Inst.* 92, 1295–1302 (2000)
48. Pick, A., Klinkhammer, W., & Wiese, M. (2010). Specific Inhibitors of the Breast Cancer Resistance Protein (BCRP). *ChemMedChem*, 5(9), 1498–1505. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201000216>

49. Shustik, C.; Dalton, W.; Gros, P. (1995). P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in tumor cells: biochemistry, clinical relevance and modulation. *Mol. Aspects Med*, 16 (1), 1-78.
50. Chen, C. J., Chin, J. E., Ueda, K., Clark, D. P., Pastan, I., Gottesman, M. M., Roninson, I. B. (1986). Internal duplication and homology with bacterial transport proteins in the *mdr1* (P-glycoprotein) gene from multidrug-resistant human cells. *Cell*. 47 (3), 381-389.
51. Juliano, R. L., & Ling, V. (1976). A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochimica et Biophysica Acta*, 455(1), 152–162.
52. Thiebaut, F., Tsuruo, T., Hamada, H., Gottesman, M. M., Pastan, I., Willingham, M. C. (1987). Cellular localization of the multidrugresistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84 (21), 7735-7738.
53. Fardel, O., Lecreur, V., & Guillouzo, A. (1996). The P-glycoprotein multidrug transporter. *General Pharmacology*, 27(8), 1283–1291.
54. Lin, J. H., Yamazaki, M. (2003) Role of P-glycoprotein in pharmacokinetics: clinical implications. *Clin. Pharmacokinet*. 42 (1), 59-98.
55. Seelig, A., Landwojtowicz, E. (2000) Structure-activity relationship of P-glycoprotein substrates and modifiers. *Eur. J. Pharm. Sci.* 12(1), 31-40.
56. Cassidy, C. E., & Setzer, W. N. (2009). Cancer-relevant biochemical targets of cytotoxic Lonchocarpus flavonoids: A molecular docking analysis. *Journal of Molecular Modeling*, 16(2), 311–326. doi:10.1007/s00894-009-0547-5
57. Kothandan, G., Gadhe, C. G., Madhavan, T., Choi, C. H., & Cho, S. J. (2011). Docking and 3D-QSAR (quantitative structure activity relationship) studies of flavones, the potent inhibitors of p-glycoprotein targeting the nucleotide binding domain. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 46(9), 4078–4088. doi:10.1016/j.ejmech.2011.06.008
58. Eichhorn, T., & Efferth, T. (2012). P-glycoprotein and its inhibition in tumors by phytochemicals derived from Chinese herbs. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(2), 557–570. doi:10.1016/j.jep.2011.08.053
59. Mohana, S., Ganesan, M., Agilan, B., Karthikeyan, R., Srithar, G., Beulah Mary, R., Ananthakrishnan, D., Velmurugan, D., Rajendra Prasad, N. Ambudkar, S. V. (2016).

Screening dietary flavonoids for the reversal of P-glycoprotein-mediated multidrug resistance in cancer. *Molecular bioSystems*, 12(8), 2458–2470. <http://doi.org/10.1039/c6mb00187d>

60. Karthikeyan, S., Hoti, S. L., Nazeer, Y., & Hegde, H. V. (2016). Glaucarubinone sensitizes KB cells to paclitaxel by inhibiting ABC transporters via ROS-dependent and p53-mediated activation of apoptotic signaling pathways. *Oncotarget*, 7(27), 42353–42373.

61. Wu, C. P., Hsiao, S. H., Murakami, M., Lu, Y. J., Li, Y. Q., Huang, Y. H., Hung, T. H., Ambudkar, S.V., Wu, Y. S. (2017). Alpha-Mangostin Reverses Multidrug Resistance by Attenuating the Function of the Multidrug Resistance-Linked ABCG2 Transporter. *Molecular Pharmaceutics*, 14(8), 2805–2814. doi:10.1021/acs.molpharmaceut.7b00334

62. Mamizadeh, R., Hosseinzadeh, Z., Razzaghi-Asl, N., & Ramazani, A. (2018). In silico analysis of a few dietary phytochemicals as potential tumor chemo-sensitizers. *Structural Chemistry*, 29(4), 1139–1151. doi:10.1007/s11224-018-1098-0

63. Binkhathlan, Z., & Lavasanifar, A. (2013). P-glycoprotein inhibition as a therapeutic approach for overcoming multidrug resistance in cancer: current status and future perspectives. *Current Cancer Drug Targets*, 13(3), 326–346.

64. <https://www.uniprot.org/uniprot/P08183> Consultado el 27 de Agosto del 2018 a las 00:10 horas

65. Kim, Y., & Chen, J. (2018). Molecular structure of human P-glycoprotein in the ATP-bound, outward-facing conformation. *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.aar7389>

66. Srivalli, K.M.R., Lakshmi, P.K. (2012) Overview of P-glycoprotein inhibitors: a rational outlook. *Braz J Pharm Sci*; 48(3):353–67

67. <https://www.altmetric.com/details/32212212> Consultado el 16 de septiembre del 2018

68. Amin, M. L. (2013). P-glycoprotein Inhibition for Optimal Drug Delivery. *Drug Target Insights*, 7, 27–34. <http://doi.org/10.4137/DTI.S12519>

69. Puzstai, L., Wagner, P., Ibrahim, N., Rivera, E., Theriault, R., Booser, D., ... Hortobagyi, G. N. (2005). Phase II study of tariquidar, a selective P-glycoprotein inhibitor, in patients with chemotherapy-resistant, advanced breast carcinoma. *Cancer*, 104(4), 682–691. <https://doi.org/10.1002/cncr.21227>

70. Bender, J., Fang, J., & Simon, R. (2017). A computational study of the inhibition mechanisms of P-glycoprotein mediated paclitaxel efflux by kinase inhibitors. *BMC Systems Biology*, 11, 108. <http://doi.org/10.1186/s12918-017-0498-x>
71. Thomas, H., & Coley, H. M. (2003). Overcoming Multidrug Resistance in Cancer: An Update on the Clinical Strategy of Inhibiting P-Glycoprotein. *Cancer Control*, 10(2), 159–165. <https://doi.org/10.1177/107327480301000207>
72. Joshi, P., Vishwakarma, R. A., & Bharate, S. B. (2017). Natural alkaloids as P-gp inhibitors for multidrug resistance reversal in cancer. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 138, 273–292. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.06.047>
73. Escalona Arranz, J., Carrasco-Velaz, R., & Alexander Padrón-García, J. (2008). Introducción al diseño racional de fármacos.
74. Mavromoustakos, T., Durdagi, S., Koukoulitsa, C., Simcic, M., Papadopoulos, M. G., Hodoscek, M., & Grdadolnik, S. G. (2011). Strategies in the rational drug design. *Current Medicinal Chemistry*, 18(17), 2517–2530.
75. Wang, J., Li, Z., Qiu, C., Wang, D., & Cui, Q. (2012). The relationship between rational drug design and drug side effects. *Briefings in Bioinformatics*, 13(3), 377–382. <https://doi.org/10.1093/bib/bbr061>
76. Secretaría de salud de México: <https://www.gob.mx/salud/articulos/como-estamos-en-materia-de-cancer?idiom=es> Consultado del 26 de agosto del 2018 a las 16:53 horas.
77. Zeh, H. D. (2003). Basic Concepts and Their Interpretation. In *Decoherence and the Appearance of a Classical World in Quantum Theory* (pp. 7–40). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-05328-7_2
78. Young, D. (2001). *Computational Chemistry: A Practical Guide for Applying Techniques to Real World Problems*. Wiley Intersciences: John Wiley.
79. McGinnis, S., & Madden, T. L. (2004). BLAST: at the core of a powerful and diverse set of sequence analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 32(Web Server), W20–W25. [doi:10.1093/nar/gkh435](https://doi.org/10.1093/nar/gkh435)
80. Meng, X.Y., Zhang, H.X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(2), 146–157.

81. Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455–461. <http://doi.org/10.1002/jcc.21334>
82. Manual SYBYL-X (2013)
83. Walters, W. P., & Murcko, M. A. (2002). Prediction of 'drug-likeness.' *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(3), 255–271. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(02\)00003-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(02)00003-0)
84. <http://www.openmolecules.org/datawarrior/>
85. <http://www.openmolecules.org/propertyexplorer/druglikeness.html> Consultado el 01 de septiembre del 2018.
86. GaussView 5.0.8, Dennington II RD, Keith TA, Millam JM (2008) Semichem, Inc.
87. Gaussian 09, Revision D.01, Frisch, M.J., Trucks, G.W., Schlegel, H.B., Scuseria, G.E., Robb, M.A., Cheeseman, J.R., Scalmani, G., Barone, V., Petersson, G.A., Nakatsuji, H., Li, X., Caricato, M., Marenich, A.V., Bloino, J., Janesko, B.G., Gomperts, R., Mennucci, B., Hratchian, H.P., Ortiz, J.V., Izmaylov, A.F., Sonnenberg, J.L., Williams-Young, D., Ding, F., Lipparini, F., Egidi, F., Goings, J., Peng, B., Petrone, A., Henderson, T., Ranasinghe, D., Zakrzewski, V.G., Gao, J., Rega, N., Zheng, G., Liang, W., Hada, M., Ehara, M., Toyota, K., Fukuda, R., Hasegawa, J., Ishida, M., Nakajima, T., Honda, Y., Kitao, O., Nakai, H., Vreven, T., Throssell, K., Montgomery, J.A. Jr, Peralta, J.E., Ogliaro, F., Bearpark, M.J., Heyd, J.J., Brothers, E.N., Kudin, K.N., Staroverov, V.N., Keith, T.A., Kobayashi, R., Normand, J., Raghavachari, K., Rendell, A. P., Burant, J.C., Iyengar, S.S., Tomasi, J., Cossi, M., Millam, J.M., Klene, M., Adamo, C., Cammi, R., Ochterski, J.W., Martin, R.L., Morokuma, K., Farkas, O., Foresman, J.B., Fox, D.J. (2009) Gaussian, Inc., Wallingford CT
88. Zhao, Y., & Truhlar, D. G. (2008). The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other function. *Theoretical Chemistry Accounts*, 120(1), 215–241. <https://doi.org/10.1007/s00214-007-0310-x>
89. Godbout, N., Salahub, D.R., Andzelm, J., Wimmer, E. (1992) Optimization of Gaussian-type basis sets for local spin density functional calculations. Part I. Boron through neon, optimization technique and validation. *Can J Chem* 70:560–571

90. Sosa, C., Andzelm, J., Elkin, B.C., Wimmer, E., Dobbs, K.D., Dixon, D.A. (1992) A Local Density Functional Study of the Structure and Vibrational Frequencies of Molecular Transition-Metal Compounds. *J Phys Chem* 96:6630–6636
91. Becke, A. D. (1993). Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *The Journal of Chemical Physics*, 98(7), 5648–5652. <https://doi.org/10.1063/1.464913>
92. Hehre, W. J., Stewart, R. F., & Pople, J. A. (1969). Self-Consistent Molecular-Orbital Methods. I. Use of Gaussian Expansions of Slater-Type Atomic Orbitals. *The Journal of Chemical Physics*, 51(6), 2657–2664. <https://doi.org/10.1063/1.1672392>
93. Alam, A., Kung, R., Kowal, J., McLeod, R. A., Tremp, N., Broude, E. V, Roninson, I. B., Stahlberg, H., Locher, K. P. (2018). Structure of a zosuquidar and UIC2-bound human-mouse chimeric ABCB1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(9), E1973–E1982. <https://doi.org/10.1073/pnas.1717044115>
94. https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastp&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome
95. <http://www.rcsb.org/structure/6FN1>
96. <https://www.rcsb.org/structure/4F4C>
97. Jin, M. S., Oldham, M. L., Zhang, Q., & Chen, J. (2012). Crystal structure of the multidrug transporter P-glycoprotein from *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 490(7421), 566–569. <https://doi.org/10.1038/nature11448>
98. <https://www.rcsb.org/structure/5KPD>
99. Esser, L., Zhou, F., Pluchino, K. M., Shiloach, J., Ma, J., Tang W. K., Gutierrez C., Zhang, A., Shukla, S. , Madigan. J. P., Zhou, T., Kwong P. D., Ambudkar, S. V., Gottesman, M.M., Xia, D. (2017). Structures of the Multidrug Transporter P-glycoprotein Reveal Asymmetric ATP Binding and the Mechanism of Polyspecificity. *The Journal of Biological Chemistry*, 292(2), 446–461. <http://doi.org/10.1074/jbc.M116.755884>
100. <https://www.rcsb.org/structure/6C0V>
101. Aller, S. G.; Yu, J.; Ward, A.; Weng, Y.; Chittaboina, S.; Zhuo, R.; Harrell, P. M.; Trinh, Y. T.; Zhang, Q.; Urbatsch, I. L.; Chang, G. (2009). Structure of P-glycoprotein reveals a molecular basis for polyspecific drug binding. *Science*, 323 (5922), 1718-1722

102. SYBYL-X 2.1, Tripos International, 1699 South Hanley Rd., St. Louis, Missouri, 63144, USA
103. Volkamer, A., Griewel, A., Grombacher, T., & Rarey, M. (2010). Analyzing the Topology of Active Sites: On the Prediction of Pockets and Subpockets. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 50(11), 2041–2052. <https://doi.org/10.1021/ci100241y>
104. Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S. and Olson, A. J. (2009) AutoDock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *J. Computational Chemistry* 2009, 16: 2785-91.
105. Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., & Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13), 1605–1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
106. Hrycyna, C. A., Ramachandra, M., Ambudkar, S. V, Ko, Y. H., Pedersen, P. L., Pastan, I., & Gottesman, M. M. (1998). Mechanism of action of human P-glycoprotein ATPase activity. Photochemical cleavage during a catalytic transition state using orthovanadate reveals cross-talk between the two ATP sites. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(27), 16631–16634.
107. Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio Modeling Environment, Release 2017, San Diego: Dassault Systèmes, 2016
108. Chufan, E. E., Kapoor, K., Sim, H.-M., Singh, S., Talele, T. T., Durell, S. R., & Ambudkar, S. V. (2013). Multiple Transport-Active Binding Sites Are Available for a Single Substrate on Human P-Glycoprotein (ABCB1). *PLOS ONE*, 8(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082463>
109. Ferreira, R. J., Ferreira, M.-J. U., & dos Santos, D. J. V. A. (2013). Molecular Docking Characterizes Substrate-Binding Sites and Efflux Modulation Mechanisms within P-Glycoprotein. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(7), 1747–1760. [doi:10.1021/ci400195v](https://doi.org/10.1021/ci400195v)
110. Lugo, M. R., & Sharom, F. J. (2005). Interaction of LDS-751 with P-Glycoprotein and Mapping of the Location of the R Drug Binding Site. *Biochemistry*, 44(2), 643–655. <https://doi.org/10.1021/bi0485326>

111. Loo, T. W., Bartlett, M. C., & Clarke, D. M. (2003). Simultaneous binding of two different drugs in the binding pocket of the human multidrug resistance P-glycoprotein. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(41), 39706–39710. <https://doi.org/10.1074/jbc.M308559200>
112. Loo, T. W., & Clarke, D. M. (2005). Do drug substrates enter the common drug-binding pocket of P-glycoprotein through “gates”? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 329(2), 419–422. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.01.134>
113. Mandal, D., Moitra, K., Ghosh, D., Xia, D., & Dey, S. (2012). Evidence for modulatory sites at the lipid-protein interface of the human multidrug transporter P-glycoprotein. *Biochemistry*, 51(13), 2852–2866. <https://doi.org/10.1021/bi201479k>
114. Chen, G., Zheng, S., Luo, X., Shen, J., Zhu, W., Liu H., Gui, C., Zhang, J., Zheng, M., Puah, C. M., Chen, K., Jiang, H. (2005). Focused combinatorial library design based on structural diversity, drug-likeness and binding affinity score *J Comb Chem* 7 398–406
115. Lipinski, C. A. (2000). Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 44(1), 235–249.
116. Mishra, H., Singh, N., Lahiri, T., & Misra, K. (2009). A comparative study on the molecular descriptors for predicting drug-likeness of small molecules. *Bioinformation*, 3(9), 384–388.

Apéndice A Abreviaturas

ATP	Adenosín trifosfato.
BLAST	<i>Basic Local Alignment Search Tools</i> (Herramientas de búsqueda de alineamientos locales básicos).
CHO	<i>Chinese Hamster Ovary</i> .
DFT	Teoría de Funcionales de la Densidad.
FASTA	<i>Fast Alignment</i> (Alineamiento rápido).
MDR	<i>Multi-Drug Resistance</i> (Resistencia a múltiples fármacos).
NBD	<i>Nucleotic Binding Domain</i> (Dominio de unión a nucleótido).
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i> (Centro Nacional para la Información Biotecnológica).
PDB	<i>Protein Data Bank</i> (Banco de datos de proteínas).
P-gp	Glicoproteína de permeabilidad.
SBD	<i>Substrate Binding Domain</i> (Dominio de unión a sustrato).

Apéndice B Lista de figuras

- 1.1. Modelo de transporte del sustrato en P-gp.
- 1.2. Estructura de P-gp en su conformación “hacia afuera”.
- 2.1. Valores de potencial tipo droga de los compuestos comercializados por FLUKA Honeywell™.
- 3.1. Estructura química de las hidroxixantonas utilizadas en este trabajo.
- 3.2. Estructuras de P-gp en sus conformaciones “hacia adentro” y “hacia afuera” utilizadas en el presente trabajo.
- 4.1. Interacciones del ATP en el NBD de la conformación “hacia adentro” visualizadas con DiscoveryStudio.

- 4.2 Resultados del acoplamiento molecular entre P-gp conformación “hacia adentro” (6FN1) y las hidroxixantonas X6, X1 y X4.
- 4.3 Resultados del Docking entre P-gp conformación “hacia adentro” (6FN1), y los inhibidores zosuquidar, laniquidar y tariquidar en el SBD.
- 4.4 Resultados del Docking entre P-gp conformación “hacia adentro” (6FN1), y las hidroxixantonas X5, X3 y X1.

Apéndice C Lista de tablas

- 1.1 Resumen de los antecedentes de la síntesis y comportamiento biológico de las hidroxixantonas utilizadas en este trabajo
- 1.2 Trabajos reportados con respecto a la inhibición de P-gp y otros transportadores ABC utilizando fitoquímicos.
- 1.3 Clasificación de inhibidores de P-gp.
- 1.4 Valores de referencia. Afinidad de algunos inhibidores con P-gp en el dominio de unión a sustrato. Valores calculados en AutoDock Vina por Bender *et al.*
- 3.1 Códigos de identificación de las estructuras consideradas para ser utilizadas como receptores.
- 4.1 Resultados del acoplamiento molecular entre P-gp conformación “hacia adentro” (6FN1), una molécula de ATP y las doce hidroxixantonas en el sitio de unión con ATP (NBD).
- 4.2 Interacciones entre P-gp y las doce hidroxixantonas en el NBD de la conformación “hacia adentro” (6FN1).
- 4.3 Interacciones de interés basadas en los aminoácidos reportados por Esser *et al.*
- 4.4 Mejores energías de interacción en kcal/mol obtenidas con AutoDock Vina, entre P-gp conformación “hacia adentro” (en el SBD) y las doce hidroxixantonas.
- 4.5 Interacciones entre P-gp y las doce hidroxixantonas en el SBD de la conformación “hacia adentro” (6FN1).
- 4.6 Mejores energías de interacción en kcal/mol obtenidas con AutoDockVina, en el SBD de P-gp conformación “hacia afuera” (6C0V) y las doce hidroxixantonas.

- 4.7 Acoplamiento molecular entre P-gp conformación “hacia adentro” (6FN1) y las doce hidroxixantonas con SYBYL-X, en SBD: Puntuaciones de Surflex Dock.
- 4.8 Acoplamiento molecular entre P-gp conformación “hacia afuera” (6C0V) y las doce hidroxixantonas con SYBYL-X, en SBD: Puntuaciones de Surflex Dock.
- 4.9 Predicción de propiedades moleculares en OSIRIS DataWarrior.
- 4.10 Mejores resultados de la predicción de la característica tipo droga.

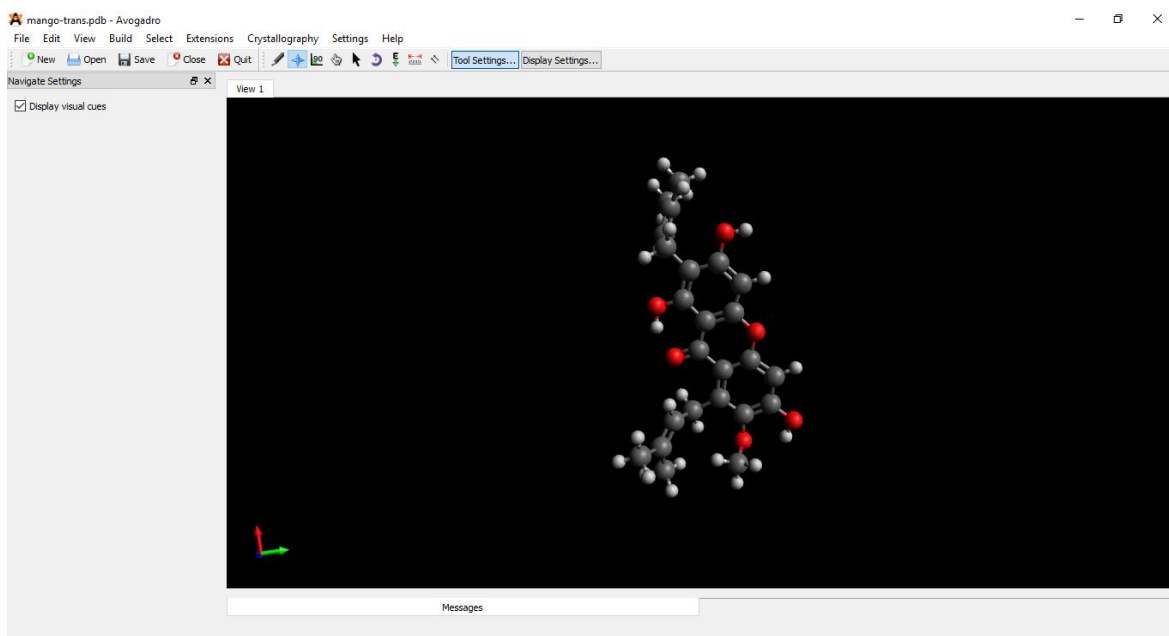
Apéndice D Códigos de los aminoácidos

Código a una letra	Código a tres letras	Aminoácido
A	Ala	Alanina
R	Arg	Arginina
N	Asn	Asparagina
D	Asp	Aspartato
C	Cys	Cisteína
Q	Gln	Glutamina
E	Glu	Acido glutámico
G	Gly	Glicina
H	His	Histidina
I	Ile	Isoleucina
L	Leu	Leucina
K	Lys	Lisina
M	Met	Metionina
F	Phe	Fenilalanina
P	Pro	Prolina
S	Ser	Serina
T	Thr	Treonina
W	Trp	Triptófano
Y	Tyr	Tirosina
V	Val	Valina

Apéndice E Programas utilizados

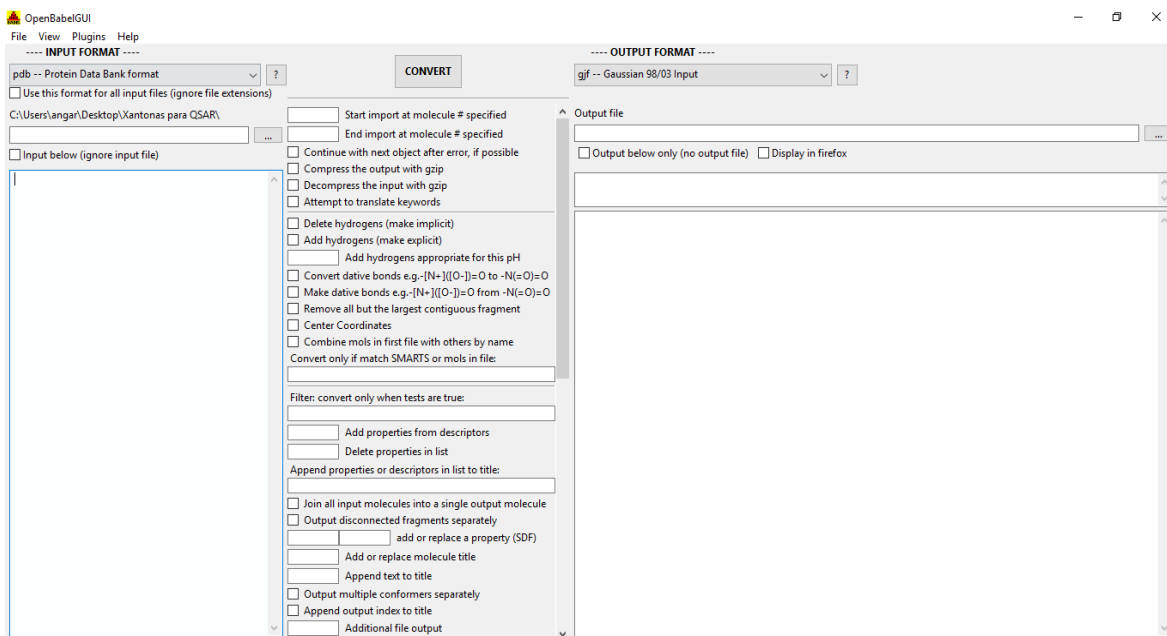
En esta sección se enlistan los programas utilizados en la presente tesis. Con excepción de GaussView y SYBYL-X, todos los programas son de libre acceso y pueden descargarse a través del *link* incluido en su descripción.

Avogadro 1.90.0: Para visualizar las matrices-Z de cada compuesto.



<https://avogadro.cc/>

Open Babel GUI 2.4.1: Para convertir el formato de los archivos.



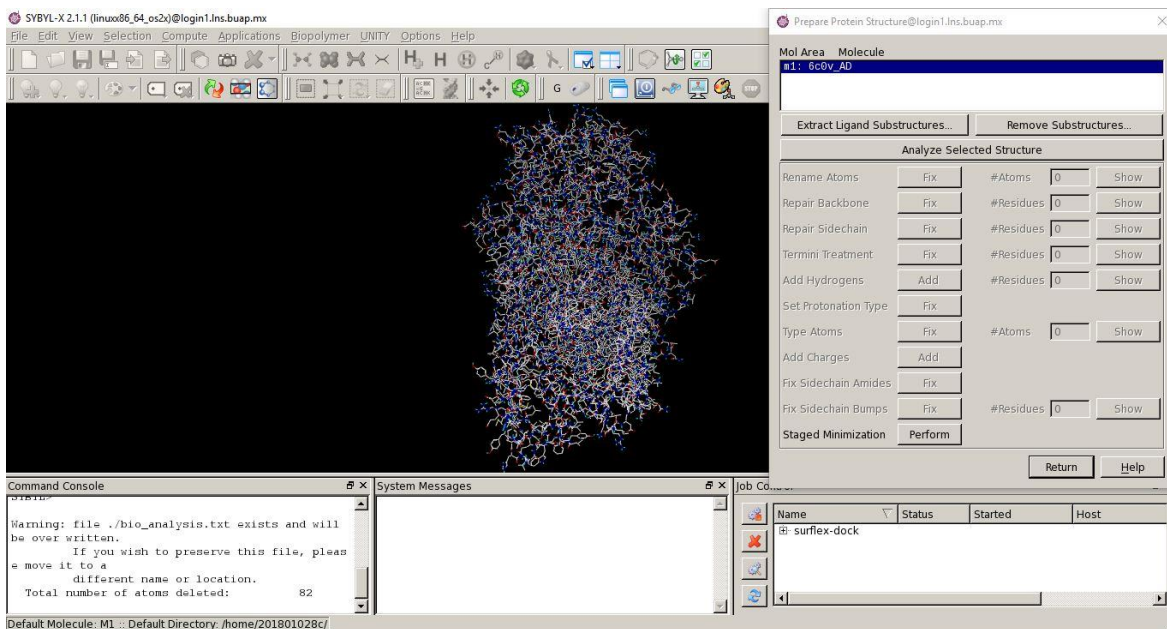
http://openbabel.org/wiki/Get_Open_Babel

Chimera 1.11.2: Utilizado para visualización y eliminación de las cadenas innecesarias presentes en la estructura original.

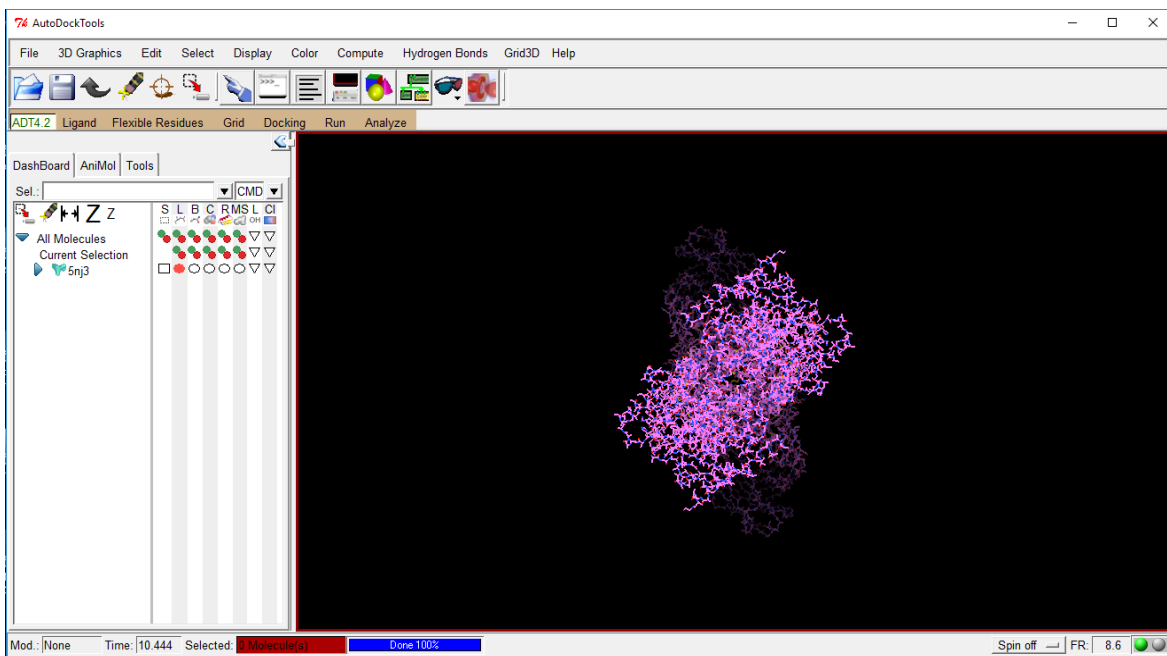


<https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>

SYBYL®-X 2.1 Versión del año 2013 del software comercializado por Tripos (Compañía perteneciente a Certara), utilizado para la realización de acoplamientos moleculares por medio de una metodología diferente a la de AutoDock Vina.



AutoDock tools 1.5.6: Utilizado para preparar el receptor (añadir hidrógenos y cargas y eliminar moléculas de agua) y *AutoDock Vina 1.1.2*: Utilizado para calcular la afinidad entre el receptor y los ligandos.



<http://autodock.scripps.edu/downloads>

<http://vina.scripps.edu/download.html>

ProteinsPlus: Portal Web perteneciente a la Universidad de Hamburgo, enfocado en las interacción proteína- Ligando. El servidor provee de las herramientas necesarias para manejar los primeros aproximamientos con respecto a la estructura de una proteína.



PDB-Code or search term:

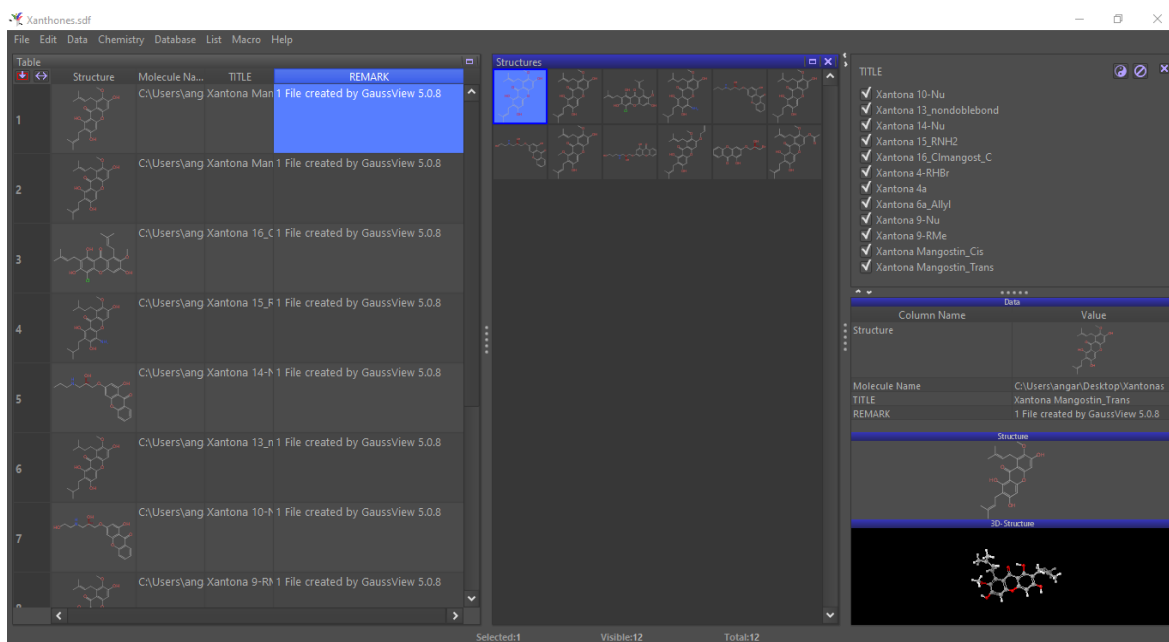
Upload Protein (PDB format): Ningún archivo seleccionado

Upload Ligand (SDF format): Ningún archivo seleccionado

[Advanced search](#)

<https://proteins.plus/>

OSIRIS DataWarrior 4.6.1: Visualización y análisis de datos de los compuestos. Predicción del valor *Druglikeness*.

The screenshot shows the OSIRIS DataWarrior 4.6.1 software interface. It features a 'Table' view on the left with columns for Structure, Molecule Name, Title, and Remark. The 'Structures' panel in the center displays a grid of chemical structures. On the right, a 'TITLE' panel lists various molecules with checkboxes, and a 'Structure' panel shows a detailed 3D ball-and-stick model of a selected molecule. The interface includes a menu bar (File, Edit, Data, Chemistry, Database, List, Macro, Help) and a status bar at the bottom showing 'Selected:1', 'Visible:12', and 'Total:12'.

<http://www.openmolecules.org/datawarrior/download.html>

Apéndice F Ruta de trabajo para los cálculos de optimización (funcional B3LYP)

En este apéndice se presenta la ruta de trabajo utilizada para la optimización de las estructuras de Zosuquidar, Laniquidar y Tariquidar. Se utilizó el funcional B3LYP y la base STO-3G*. Se utilizaron los recursos computacionales del clúster Yoltla del Laboratorio de Supercómputo y Visualización en Paralelo (LSVP) de la UAM–Unidad Iztapalapa.

1. Optimización en fase gas y solvente agua.

```
%chk=nombre.chk
```

```
%mem=50GB
```

```
%nproc=20
```

```
# opt freq b3lyp/STO-3G* test
```

```
comentarios
```

```
0 1
```

Apéndice G Matriz-Z para una hidroxixantona optimizada

Hidroxixantona X1

0 1

C

C	1	1.37451				
C	2	1.39078	1	118.04573		
C	3	1.40179	2	122.32020	1	359.08049
C	4	1.41949	3	118.83536	2	2.24304
C	5	1.38660	4	118.41620	3	358.70674
C	4	1.47356	3	117.71483	2	182.09430
C	7	1.44733	4	116.37379	3	357.64889
C	8	1.39834	7	120.98546	4	1.70465
C	9	1.37901	8	122.43038	7	180.14079
H	10	1.07882	9	121.29152	8	179.03473
C	10	1.39135	9	117.94158	8	359.58587
C	12	1.40254	10	122.74684	9	359.03444
C	13	1.39148	12	117.77296	10	1.58179
H	2	1.07998	1	121.28769	3	180.09948
O	12	1.35471	10	116.37499	9	180.42628
H	16	0.97198	12	109.32752	10	199.08161
O	7	1.24435	4	122.58297	3	177.39193
O	3	1.36092	2	114.16722	1	179.71614
O	14	1.34009	13	118.84636	12	179.68445
H	20	0.99402	14	106.57191	13	178.98445
O	6	1.37455	5	121.16363	4	182.28504
O	1	1.37327	2	119.47011	3	182.11481
C	22	1.43452	6	113.43006	5	257.33525
H	24	1.09212	22	110.64126	6	298.08359
H	24	1.09331	22	110.08861	6	59.90344

H	24	1.08799	22	106.35708	6	179.06457
C	23	1.38830	1	119.49367	2	236.49851
O	28	1.19500	23	117.60319	1	200.99704
C	28	1.50313	23	116.59676	1	24.29835
H	30	1.08995	28	111.05455	23	41.09182
H	30	1.08625	28	107.91349	23	162.38500
H	30	1.09074	28	109.38686	23	281.34527
C	13	1.51218	12	121.16947	10	183.35496
H	34	1.09196	13	109.24082	12	63.33382
H	34	1.09116	13	107.72612	12	178.94288
C	34	1.50824	13	112.64981	12	299.21978
H	37	1.08792	34	114.28651	13	304.05895
C	37	1.33735	34	128.05696	13	123.67838
C	39	1.50626	37	125.08203	34	0.42812
H	40	1.09379	39	109.75462	37	115.20359
H	40	1.09453	39	110.10236	37	232.18357
H	40	1.08767	39	113.93965	37	354.04010
C	39	1.50463	37	120.80198	34	179.47237
H	44	1.09313	39	110.68289	37	121.07653
H	44	1.09370	39	110.30410	37	239.11735
H	44	1.08916	39	111.79876	37	359.88318
C	5	1.51550	4	124.12914	3	180.71054
H	48	1.08664	5	108.15206	4	202.91999
H	48	1.08674	5	109.71697	4	321.35011
C	48	1.50921	5	110.46059	4	81.71282
H	51	1.08528	48	114.31146	5	290.07134
C	51	1.33421	48	127.16773	5	109.94194
C	53	1.50616	51	120.54253	48	179.70391
H	54	1.09337	53	110.59968	51	120.98180
H	54	1.09011	53	111.76101	51	359.89870
H	54	1.09373	53	110.53946	51	239.01464

C	53	1.50448	51	125.47204	48	0.54110
H	58	1.08671	53	113.34163	51	355.68097
H	58	1.09411	53	110.00178	51	117.81970
H	58	1.09341	53	109.91991	51	235.07355

Apéndice H Coordenadas cartesianas para ATP, zosuquidar, Tariquidar y Ianiquidar

Obtención de la molécula de ATP en formato PDB:

<http://www.ebi.ac.uk/pdbe-srv/pdbechem/chemicalCompound/show/ATP>

```
HEADER      NONAME 20-Feb-16
TITLE       Produced by PDBeChem
COMPND      ATP
AUTHOR      EBI-PDBe Generated
REVDAT     1  20-Feb-16      0
ATOM       1  PG  ATP      0      1.200  -0.226  -6.850  1.00
20.00      P+0
ATOM       2  O1G ATP      0      1.740   1.140  -6.672  1.00
20.00      O+0
ATOM       3  O2G ATP      0      2.123  -1.036  -7.891  1.00
20.00      O+0
ATOM       4  O3G ATP      0     -0.302  -0.139  -7.421  1.00
20.00      O+0
ATOM       5  PB  ATP      0      0.255  -0.130  -4.446  1.00
20.00      P+0
ATOM       6  O1B ATP      0      0.810   1.234  -4.304  1.00
20.00      O+0
ATOM       7  O2B ATP      0     -1.231  -0.044  -5.057  1.00
20.00      O+0
ATOM       8  O3B ATP      0      1.192  -0.990  -5.433  1.00
20.00      O+0
ATOM       9  PA  ATP      0     -0.745   0.068  -2.071  1.00
20.00      P+0
ATOM      10  O1A ATP      0     -2.097   0.143  -2.669  1.00
20.00      O+0
ATOM      11  O2A ATP      0     -0.125   1.549  -1.957  1.00
20.00      O+0
```

ATOM	12	O3A	ATP	0	0.203	-0.840	-3.002	1.00
20.00		O+0						
ATOM	13	O5'	ATP	0	-0.844	-0.587	-0.604	1.00
20.00		O+0						
ATOM	14	C5'	ATP	0	-1.694	0.260	0.170	1.00
20.00		C+0						
ATOM	15	C4'	ATP	0	-1.831	-0.309	1.584	1.00
20.00		C+0						
ATOM	16	O4'	ATP	0	-0.542	-0.355	2.234	1.00
20.00		O+0						
ATOM	17	C3'	ATP	0	-2.683	0.630	2.465	1.00
20.00		C+0						
ATOM	18	O3'	ATP	0	-4.033	0.165	2.534	1.00
20.00		O+0						
ATOM	19	C2'	ATP	0	-2.011	0.555	3.856	1.00
20.00		C+0						
ATOM	20	O2'	ATP	0	-2.926	0.043	4.827	1.00
20.00		O+0						
ATOM	21	C1'	ATP	0	-0.830	-0.418	3.647	1.00
20.00		C+0						
ATOM	22	N9	ATP	0	0.332	0.015	4.425	1.00
20.00		N+0						
ATOM	23	C8	ATP	0	1.302	0.879	4.012	1.00
20.00		C+0						
ATOM	24	N7	ATP	0	2.184	1.042	4.955	1.00
20.00		N+0						
ATOM	25	C5	ATP	0	1.833	0.300	6.033	1.00
20.00		C+0						
ATOM	26	C6	ATP	0	2.391	0.077	7.303	1.00
20.00		C+0						
ATOM	27	N6	ATP	0	3.564	0.706	7.681	1.00
20.00		N+0						

ATOM	28	N1	ATP	0	1.763	-0.747	8.135	1.00
20.00			N+0					
ATOM	29	C2	ATP	0	0.644	-1.352	7.783	1.00
20.00			C+0					
ATOM	30	N3	ATP	0	0.088	-1.178	6.602	1.00
20.00			N+0					
ATOM	31	C4	ATP	0	0.644	-0.371	5.704	1.00
20.00			C+0					
ATOM	32	HOG2	ATP	0	2.100	-0.546	-8.725	1.00
20.00			H+0					
ATOM	33	HOG3	ATP	0	-0.616	-1.048	-7.522	1.00
20.00			H+0					
ATOM	34	HOB2	ATP	0	-1.554	-0.952	-5.132	1.00
20.00			H+0					
ATOM	35	HOA2	ATP	0	0.752	1.455	-1.563	1.00
20.00			H+0					
ATOM	36	H5'1	ATP	0	-2.678	0.312	-0.296	1.00
20.00			H+0					
ATOM	37	H5'2	ATP	0	-1.263	1.259	0.221	1.00
20.00			H+0					
ATOM	38	H4'	ATP	0	-2.275	-1.304	1.550	1.00
20.00			H+0					
ATOM	39	H3'	ATP	0	-2.651	1.649	2.078	1.00
20.00			H+0					
ATOM	40	HO3'	ATP	0	-4.515	0.788	3.094	1.00
20.00			H+0					
ATOM	41	H2'	ATP	0	-1.646	1.537	4.157	1.00
20.00			H+0					
ATOM	42	HO2'	ATP	0	-3.667	0.662	4.867	1.00
20.00			H+0					
ATOM	43	H1'	ATP	0	-1.119	-1.430	3.931	1.00
20.00			H+0					

ATOM	44	H8	ATP	0	1.334	1.357	3.044	1.00
20.00			H+0					
ATOM	45	HN61	ATP	0	3.938	0.548	8.562	1.00
20.00			H+0					
ATOM	46	HN62	ATP	0	4.015	1.303	7.064	1.00
20.00			H+0					
ATOM	47	H2	ATP	0	0.166	-2.014	8.490	1.00
20.00			H+0					
CONNECT	1	2	3	8	4			
CONNECT	2	1						
CONNECT	3	32	1					
CONNECT	4	33	1					
CONNECT	5	6	7	12	8			
CONNECT	6	5						
CONNECT	7	34	5					
CONNECT	8	5	1					
CONNECT	9	10	11	12	13			
CONNECT	10	9						
CONNECT	11	35	9					
CONNECT	12	9	5					
CONNECT	13	14	9					
CONNECT	14	15	36	37	13			
CONNECT	15	17	14	38	16			
CONNECT	16	21	15					
CONNECT	17	19	15	39	18			
CONNECT	18	17	40					
CONNECT	19	21	17	41	20			
CONNECT	20	19	42					
CONNECT	21	19	43	22	16			
CONNECT	22	21	31	23				
CONNECT	23	44	24	22				
CONNECT	24	25	23					

CONNECT	25	31	26	24
CONNECT	26	25	28	27
CONNECT	27	26	45	46
CONNECT	28	29	26	
CONNECT	29	47	28	30
CONNECT	30	29	31	
CONNECT	31	25	30	22
CONNECT	32	3		
CONNECT	33	4		
CONNECT	34	7		
CONNECT	35	11		
CONNECT	36	14		
CONNECT	37	14		
CONNECT	38	15		
CONNECT	39	17		
CONNECT	40	18		
CONNECT	41	19		
CONNECT	42	20		
CONNECT	43	21		
CONNECT	44	23		
CONNECT	45	27		
CONNECT	46	27		
CONNECT	47	29		

END

Download Files> PDB> Ideal> Redirección a:

<ftp://ftp.ebi.ac.uk/pub/databases/msd/pdbechem/files/pdb/ATP.pdb>

Obtención de la molécula de Zosuquidar en formato PDB:

<http://www.ebi.ac.uk/pdbe-srv/pdbechem/chemicalCompound/show/ZQU>

Download Files> PDB> Ideal> Redirección a:

<ftp://ftp.ebi.ac.uk/pub/databases/msd/pdbechem/files/pdb/ZQU.pdb>

```

HEADER      NONAME 16-Feb-18
TITLE       Produced by PDBeChem
COMPND      ZQU
AUTHOR      EBI-PDBe Generated
REVDAT     1 16-Feb-18      0
ATOM       1  C01 ZQU      0      6.275 -0.308 -1.268  1.00 20.00
C+0
ATOM       2  C02 ZQU      0      5.947 -1.588 -0.587  1.00 20.00
C+0
ATOM       3  C03 ZQU      0      6.870 -0.657  0.128  1.00 20.00
C+0
ATOM       4  C04 ZQU      0      5.540  0.994 -1.244  1.00 20.00
C+0
ATOM       5  C05 ZQU      0      4.576 -1.985 -0.179  1.00 20.00
C+0
ATOM       6  C06 ZQU      0      3.761  0.340  0.454  1.00 20.00
C+0
ATOM       7  C07 ZQU      0      4.395  1.233 -0.529  1.00 20.00
C+0
ATOM       8  C08 ZQU      0      3.631 -1.114  0.294  1.00 20.00
C+0
ATOM       9  C09 ZQU      0      6.087  2.004 -2.037  1.00 20.00
C+0
ATOM      10  C10 ZQU      0      4.277 -3.343 -0.295  1.00 20.00
C+0
ATOM      11  C11 ZQU      0      1.930  0.553  2.025  1.00 20.00
C+0
ATOM      12  C12 ZQU      0      1.474  0.324 -0.341  1.00 20.00
C+0
ATOM      13  C13 ZQU      0      3.744  2.461 -0.720  1.00 20.00
C+0

```

ATOM	14	C14	ZQU	0	2.382	-1.636	0.668	1.00	20.00
C+0									
ATOM	15	C15	ZQU	0	0.547	1.174	2.232	1.00	20.00
C+0									
ATOM	16	C16	ZQU	0	0.090	0.946	-0.134	1.00	20.00
C+0									
ATOM	17	C17	ZQU	0	5.463	3.221	-2.181	1.00	20.00
C+0									
ATOM	18	C18	ZQU	0	3.047	-3.842	0.068	1.00	20.00
C+0									
ATOM	19	C19	ZQU	0	4.261	3.439	-1.532	1.00	20.00
C+0									
ATOM	20	C20	ZQU	0	2.091	-2.973	0.560	1.00	20.00
C+0									
ATOM	21	C21	ZQU	0	-1.741	1.159	1.437	1.00	20.00
C+0									
ATOM	22	C22	ZQU	0	-2.747	0.253	0.725	1.00	20.00
C+0									
ATOM	23	C23	ZQU	0	-4.157	0.822	0.898	1.00	20.00
C+0									
ATOM	24	C24	ZQU	0	-6.386	0.417	0.182	1.00	20.00
C+0									
ATOM	25	C25	ZQU	0	-7.357	-0.304	-0.543	1.00	20.00
C+0									
ATOM	26	C26	ZQU	0	-6.769	1.492	0.935	1.00	20.00
C+0									
ATOM	27	C27	ZQU	0	-8.715	0.096	-0.481	1.00	20.00
C+0									
ATOM	28	C28	ZQU	0	-8.104	1.881	0.994	1.00	20.00
C+0									
ATOM	29	C29	ZQU	0	-7.008	-1.414	-1.330	1.00	20.00
C+0									

ATOM	30	C30	ZQU	0	-9.066	1.207	0.306	1.00	20.00
C+0									
ATOM	31	C31	ZQU	0	-8.003	-2.064	-2.006	1.00	20.00
C+0									
ATOM	32	C32	ZQU	0	-9.318	-1.620	-1.902	1.00	20.00
C+0									
ATOM	33	F01	ZQU	0	6.369	0.030	1.239	1.00	20.00
F+0									
ATOM	34	F02	ZQU	0	8.224	-1.003	0.189	1.00	20.00
F+0									
ATOM	35	N01	ZQU	0	2.402	0.856	0.667	1.00	20.00
N+0									
ATOM	36	N02	ZQU	0	-0.382	0.643	1.224	1.00	20.00
N+0									
ATOM	37	N03	ZQU	0	-9.640	-0.583	-1.167	1.00	20.00
N+0									
ATOM	38	O01	ZQU	0	-2.690	-1.059	1.288	1.00	20.00
O+0									
ATOM	39	O02	ZQU	0	-5.082	0.043	0.137	1.00	20.00
O+0									
ATOM	40	H1	ZQU	0	6.945	-0.404	-2.122	1.00	20.00
H+0									
ATOM	41	H2	ZQU	0	6.498	-2.454	-0.956	1.00	20.00
H+0									
ATOM	42	H3	ZQU	0	4.285	0.498	1.397	1.00	20.00
H+0									
ATOM	43	H4	ZQU	0	7.020	1.825	-2.550	1.00	20.00
H+0									
ATOM	44	H5	ZQU	0	5.027	-4.018	-0.679	1.00	20.00
H+0									
ATOM	45	H6	ZQU	0	2.628	0.967	2.753	1.00	20.00
H+0									

ATOM	46	H7	ZQU	0	1.867	-0.527	2.156	1.00	20.00
H+0									
ATOM	47	H8	ZQU	0	1.405	-0.758	-0.237	1.00	20.00
H+0									
ATOM	48	H9	ZQU	0	1.838	0.572	-1.338	1.00	20.00
H+0									
ATOM	49	H10	ZQU	0	2.808	2.643	-0.212	1.00	20.00
H+0									
ATOM	50	H11	ZQU	0	1.628	-0.966	1.053	1.00	20.00
H+0									
ATOM	51	H12	ZQU	0	0.182	0.926	3.229	1.00	20.00
H+0									
ATOM	52	H13	ZQU	0	0.615	2.257	2.129	1.00	20.00
H+0									
ATOM	53	H14	ZQU	0	0.154	2.026	-0.264	1.00	20.00
H+0									
ATOM	54	H15	ZQU	0	-0.607	0.531	-0.862	1.00	20.00
H+0									
ATOM	55	H16	ZQU	0	5.904	3.994	-2.794	1.00	20.00
H+0									
ATOM	56	H17	ZQU	0	2.832	-4.897	-0.029	1.00	20.00
H+0									
ATOM	57	H18	ZQU	0	3.734	4.373	-1.663	1.00	20.00
H+0									
ATOM	58	H19	ZQU	0	1.120	-3.344	0.855	1.00	20.00
H+0									
ATOM	59	H20	ZQU	0	-1.813	2.169	1.035	1.00	20.00
H+0									
ATOM	60	H21	ZQU	0	-1.960	1.176	2.504	1.00	20.00
H+0									
ATOM	61	H22	ZQU	0	-2.503	0.203	-0.337	1.00	20.00
H+0									

ATOM	62	H23	ZQU	0	-4.435	0.789	1.951	1.00	20.00
H+0									
ATOM	63	H24	ZQU	0	-4.178	1.854	0.549	1.00	20.00
H+0									
ATOM	64	H25	ZQU	0	-6.027	2.045	1.491	1.00	20.00
H+0									
ATOM	65	H26	ZQU	0	-8.381	2.734	1.596	1.00	20.00
H+0									
ATOM	66	H27	ZQU	0	-5.982	-1.745	-1.400	1.00	20.00
H+0									
ATOM	67	H28	ZQU	0	-10.096	1.525	0.364	1.00	20.00
H+0									
ATOM	68	H29	ZQU	0	-7.768	-2.921	-2.620	1.00	20.00
H+0									
ATOM	69	H30	ZQU	0	-10.094	-2.143	-2.442	1.00	20.00
H+0									
ATOM	70	H33	ZQU	0	-2.896	-1.090	2.233	1.00	20.00
H+0									
CONNECT	1	2	3	4	40				
CONNECT	2	1	3	5	41				
CONNECT	3	1	2	33	34				
CONNECT	4	1	7	9					
CONNECT	5	2	8	10					
CONNECT	6	7	8	42	35				
CONNECT	7	4	6	13					
CONNECT	8	5	6	14					
CONNECT	9	4	17	43					
CONNECT	10	5	18	44					
CONNECT	11	15	45	46	35				
CONNECT	12	16	47	48	35				
CONNECT	13	7	19	49					
CONNECT	14	8	20	50					

CONNECT	15	11	51	52	36
CONNECT	16	12	53	54	36
CONNECT	17	9	19	55	
CONNECT	18	10	20	56	
CONNECT	19	13	17	57	
CONNECT	20	14	18	58	
CONNECT	21	22	59	60	36
CONNECT	22	21	23	61	38
CONNECT	23	22	62	63	39
CONNECT	24	25	26	39	
CONNECT	25	24	27	29	
CONNECT	26	24	28	64	
CONNECT	27	25	30	37	
CONNECT	28	26	30	65	
CONNECT	29	25	31	66	
CONNECT	30	27	28	67	
CONNECT	31	29	32	68	
CONNECT	32	31	69	37	
CONNECT	33	3			
CONNECT	34	3			
CONNECT	35	6	11	12	
CONNECT	36	15	16	21	
CONNECT	37	27	32		
CONNECT	38	22	70		
CONNECT	39	23	24		
CONNECT	40	1			
CONNECT	41	2			
CONNECT	42	6			
CONNECT	43	9			
CONNECT	44	10			
CONNECT	45	11			
CONNECT	46	11			

CONNECT 47 12
CONNECT 48 12
CONNECT 49 13
CONNECT 50 14
CONNECT 51 15
CONNECT 52 15
CONNECT 53 16
CONNECT 54 16
CONNECT 55 17
CONNECT 56 18
CONNECT 57 19
CONNECT 58 20
CONNECT 59 21
CONNECT 60 21
CONNECT 61 22
CONNECT 62 23
CONNECT 63 23
CONNECT 64 26
CONNECT 65 28
CONNECT 66 29
CONNECT 67 30
CONNECT 68 31
CONNECT 69 32
CONNECT 70 38

END

Obtención de la molécula de Laniquidar en formato PDB:

<https://www.drugbank.ca/drugs/DB12799>

Download > PDB> Redirección a:

https://www.drugbank.ca/structures/small_molecule_drugs/DB12799.pdb

HEADER	PROTEIN	21-OCT-16	NONE
TITLE	NULL		

COMPND	NULL								
SOURCE	NULL								
KEYWDS	NULL								
EXPDTA	NULL								
AUTHOR	Marvin								
REVDAT	1	21-OCT-16		0					
HETATM	1	C	UNK	0	0.939	-30.971	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	2	O	UNK	0	1.689	-29.626	0.000	0.00	0.00
O+0									
HETATM	3	C	UNK	0	0.900	-28.304	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	4	O	UNK	0	-0.640	-28.327	0.000	0.00	0.00
O+0									
HETATM	5	C	UNK	0	1.649	-26.959	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	6	C	UNK	0	3.178	-26.775	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	7	N	UNK	0	3.476	-25.264	0.000	0.00	0.00
N+0									
HETATM	8	C	UNK	0	2.131	-24.514	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	9	N	UNK	0	1.002	-25.562	0.000	0.00	0.00
N+0									
HETATM	10	C	UNK	0	-0.521	-25.332	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	11	C	UNK	0	-1.291	-23.999	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	12	C	UNK	0	-0.728	-22.565	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	13	C	UNK	0	-1.857	-21.518	0.000	0.00	0.00
C+0									

HETATM	14	C	UNK	0	-1.514	-20.016	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	15	C	UNK	0	-0.043	-19.562	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	16	C	UNK	0	1.086	-20.610	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	17	C	UNK	0	0.744	-22.111	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	18	C	UNK	0	2.016	-22.979	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	19	C	UNK	0	3.350	-22.209	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	20	C	UNK	0	3.350	-20.669	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	21	C	UNK	0	4.683	-19.899	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	22	N	UNK	0	6.017	-20.669	0.000	0.00	0.00
N+0									
HETATM	23	C	UNK	0	6.017	-22.209	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	24	C	UNK	0	4.683	-22.979	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	25	C	UNK	0	7.351	-19.899	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	26	C	UNK	0	7.351	-18.359	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	27	C	UNK	0	8.684	-17.589	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	28	C	UNK	0	8.684	-16.049	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	29	C	UNK	0	10.018	-15.279	0.000	0.00	0.00
C+0									

HETATM	30	C	UNK	0	11.352	-16.049	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	31	C	UNK	0	11.352	-17.589	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	32	C	UNK	0	10.018	-18.359	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	33	O	UNK	0	12.685	-15.279	0.000	0.00	0.00
O+0									
HETATM	34	C	UNK	0	12.685	-13.739	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	35	C	UNK	0	14.019	-12.969	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	36	C	UNK	0	14.019	-11.429	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	37	C	UNK	0	15.353	-10.659	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	38	C	UNK	0	16.686	-11.429	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	39	C	UNK	0	18.020	-10.659	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	40	C	UNK	0	19.354	-11.429	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	41	C	UNK	0	19.354	-12.969	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	42	C	UNK	0	18.020	-13.739	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	43	C	UNK	0	16.686	-12.969	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	44	N	UNK	0	15.353	-13.739	0.000	0.00	0.00
N+0									
CONECT	1	2							
CONECT	2	1	3						

CONNECT	3	2	4	5
CONNECT	4	3		
CONNECT	5	3	6	9
CONNECT	6	5	7	
CONNECT	7	6	8	
CONNECT	8	7	9	18
CONNECT	9	8	5	10
CONNECT	10	9	11	
CONNECT	11	10	12	
CONNECT	12	11	13	17
CONNECT	13	12	14	
CONNECT	14	13	15	
CONNECT	15	14	16	
CONNECT	16	15	17	
CONNECT	17	16	12	18
CONNECT	18	17	8	19
CONNECT	19	18	20	24
CONNECT	20	19	21	
CONNECT	21	20	22	
CONNECT	22	21	23	25
CONNECT	23	22	24	
CONNECT	24	23	19	
CONNECT	25	22	26	
CONNECT	26	25	27	
CONNECT	27	26	28	32
CONNECT	28	27	29	
CONNECT	29	28	30	
CONNECT	30	29	31	33
CONNECT	31	30	32	
CONNECT	32	31	27	
CONNECT	33	30	34	
CONNECT	34	33	35	

```

CONNECT 35 34 36 44
CONNECT 36 35 37
CONNECT 37 36 38
CONNECT 38 37 39 43
CONNECT 39 38 40
CONNECT 40 39 41
CONNECT 41 40 42
CONNECT 42 41 43
CONNECT 43 42 38 44
CONNECT 44 43 35
MASTER 0 0 0 0 0 0 0 0 0 44 0 100
0
END

```

Obtención de la molécula de Tariquidar en formato PDB:

<https://www.drugbank.ca/drugs/DB06240>

Download > PDB> Redirección a:

https://www.drugbank.ca/structures/small_molecule_drugs/DB06240.pdb

```

HEADER      PROTEIN                               13-JUN-17      NONE
TITLE       NULL
COMPND      NULL
SOURCE      NULL
KEYWDS      NULL
EXPDTA     NULL
AUTHOR      Marvin
REVDAT     1   13-JUN-17              0
HETATM     1   C   UNK      0   -13.337  15.400  0.000  0.00  0.00
C+0
HETATM     2   O   UNK      0   -13.337  13.860  0.000  0.00  0.00
O+0
HETATM     3   C   UNK      0   -12.003  13.090  0.000  0.00  0.00
C+0

```

HETATM	4	C	UNK	0	-12.003	11.550	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	5	C	UNK	0	-10.669	10.780	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	6	C	UNK	0	-9.336	11.550	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	7	C	UNK	0	-9.336	13.090	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	8	C	UNK	0	-10.669	13.860	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	9	O	UNK	0	-10.669	15.400	0.000	0.00	0.00
O+0									
HETATM	10	C	UNK	0	-12.003	16.170	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	11	C	UNK	0	-8.002	10.780	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	12	N	UNK	0	-8.002	9.240	0.000	0.00	0.00
N+0									
HETATM	13	C	UNK	0	-9.336	8.470	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	14	C	UNK	0	-10.669	9.240	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	15	C	UNK	0	-6.668	8.470	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	16	C	UNK	0	-5.335	9.240	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	17	C	UNK	0	-4.001	8.470	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	18	C	UNK	0	-2.667	9.240	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	19	C	UNK	0	-1.334	8.470	0.000	0.00	0.00
C+0									

HETATM	20	C	UNK	0	-1.334	6.930	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	21	C	UNK	0	-2.667	6.160	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	22	C	UNK	0	-4.001	6.930	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	23	N	UNK	0	0.000	6.160	0.000	0.00	0.00
N+0									
HETATM	24	C	UNK	0	0.000	4.620	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	25	O	UNK	0	-1.334	3.850	0.000	0.00	0.00
O+0									
HETATM	26	C	UNK	0	1.334	3.850	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	27	C	UNK	0	2.667	4.620	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	28	C	UNK	0	4.001	3.850	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	29	C	UNK	0	4.001	2.310	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	30	C	UNK	0	2.667	1.540	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	31	C	UNK	0	1.334	2.310	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	32	N	UNK	0	0.000	1.540	0.000	0.00	0.00
N+0									
HETATM	33	C	UNK	0	0.000	0.000	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	34	O	UNK	0	-1.334	-0.770	0.000	0.00	0.00
O+0									
HETATM	35	C	UNK	0	1.334	-0.770	0.000	0.00	0.00
C+0									

HETATM	36	C	UNK	0	2.667	0.000	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	37	C	UNK	0	4.001	-0.770	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	38	C	UNK	0	5.335	0.000	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	39	C	UNK	0	6.668	-0.770	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	40	C	UNK	0	6.668	-2.310	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	41	C	UNK	0	5.335	-3.080	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	42	C	UNK	0	4.001	-2.310	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	43	N	UNK	0	2.667	-3.080	0.000	0.00	0.00
N+0									
HETATM	44	C	UNK	0	1.334	-2.310	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	45	O	UNK	0	5.335	1.540	0.000	0.00	0.00
O+0									
HETATM	46	C	UNK	0	6.668	2.310	0.000	0.00	0.00
C+0									
HETATM	47	O	UNK	0	5.335	4.620	0.000	0.00	0.00
O+0									
HETATM	48	C	UNK	0	6.668	3.850	0.000	0.00	0.00
C+0									
CONNECT	1	2							
CONNECT	2	1	3						
CONNECT	3	2	4	8					
CONNECT	4	3	5						
CONNECT	5	4	6	14					
CONNECT	6	5	7	11					

CONNECT	7	6	8	
CONNECT	8	7	3	9
CONNECT	9	8	10	
CONNECT	10	9		
CONNECT	11	6	12	
CONNECT	12	11	13	15
CONNECT	13	12	14	
CONNECT	14	13	5	
CONNECT	15	12	16	
CONNECT	16	15	17	
CONNECT	17	16	18	22
CONNECT	18	17	19	
CONNECT	19	18	20	
CONNECT	20	19	21	23
CONNECT	21	20	22	
CONNECT	22	21	17	
CONNECT	23	20	24	
CONNECT	24	23	25	26
CONNECT	25	24		
CONNECT	26	24	27	31
CONNECT	27	26	28	
CONNECT	28	27	29	47
CONNECT	29	28	30	45
CONNECT	30	29	31	
CONNECT	31	30	26	32
CONNECT	32	31	33	
CONNECT	33	32	34	35
CONNECT	34	33		
CONNECT	35	33	36	44
CONNECT	36	35	37	
CONNECT	37	36	38	42
CONNECT	38	37	39	

```
CONNECT 39 38 40
CONNECT 40 39 41
CONNECT 41 40 42
CONNECT 42 41 37 43
CONNECT 43 42 44
CONNECT 44 43 35
CONNECT 45 29 46
CONNECT 46 45
CONNECT 47 28 48
CONNECT 48 47
MASTER 0 0 0 0 0 0 0 0 0 48 0 106
0
END
```

Apéndice I Formatos FASTA

P-gp Inward (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/6FN1_A?report=fasta):

>pdb|6FN1|A Chain A, Human-mouse chimeric ABCB1 (ABCBHM)

```
PAVSVLTMFRYAGWLDRLYMLVGTAAIIHGVALPLMMLIFGEMTDIFANAGNLEDLMSNITNRSNDINDTGF
FMNLEEDMTTYAYYYTGIGAGVLIVAYIQVSFWLLAAGRQIHKIRQKFFHAIMNQEIGWFDVHVDVGELNTRL
TDDVSKINEGIGDKIGMFFQAMATFFGGFIIGFTRGWKLTLVILAI SPVLGLSAGIWAKILSSFTDKELHAYAKA
GAVAEVLA AIRT VIAFGGQKKE LERYNNNLEEAKRLGIKKAITANISMGA AFLLIYASYALAFWYGTTLVLSGE
YSIGQVLT VFFSVLIGAF SVGQASPNIEAFANARGAAYEVFKIIDNKPSIDSFSGH KPDNIQGNLEFKNIHFSY
PSRKEVQILKGLNLKVKSGQTVALVGN SGAGKSTTVQLMQRLYDPLDGMV SIDGQDIRTINVRYLREIIGVVS
QEPVLFATTIAENIRYGRE DVTMDEIEKAVKEANAYDFIMKLP HQFDTLVGERGAQLSGGQKQRIAIARALVR
NPKILLLDEATCALDTESEAVVQAALDKAREGRTTIVIAHRLSTVRNADVIAGFDGGVIVEQGNHDELMREKGI
YFKLVMTQTAGNEIELGNEAAKSKDEIDNLD MSSKDSGLIRRRSTRKSIAGPHDQDRKLS TKEALDEDVPPAS
FWRILKLNSTEWPFYFVVGIFVAIINGGLQPAF SVIFSKIIGVFTRIDDPETKRQNSNLF SLLFLILGIISFITFFLQGFT
FGKAGEILTKRLRYMVFKSMLRQDVS WFDDPKNTTGALTTRLANDAAQVKGATGSRLAVIFQNIANLGTGIII
SFIYGWQLTLLLLAIVPIIAIAGV VEMKMLSGQALKDKKELEGSGKIATEAIENFR TVVSLTREQKFETMYA QSL
QIPYRNAMKKAHVFGITFSFTQAMMYFSYAAAFRFGAYLV AHKLMSFEDVLLVFS AIVFGAMAVGQVSSFAP
DYAKATVSASHIIRIIEKTPEIDSYSTQGLKPNM LEGNVQFSGVVFNYPTRPSIPVLQGLSLEV KKGQTLALVGSS
GAGKSTVVQLLERFYDPMAGSVFLDGKEIKQLNVQWLRAQLGIVSQEPILFDTSIAENIAYGDNSRVVSYEEIV
RAAKEANIHQFIDSLPDKYNTRVGDKGTQLSGGQKQRIAIARALVRQPHILLLDEATCALDTESEKVVQEALDK
AREGRTTIVIAHRLSTIQNADLIVVIQNGKVKEHGTHQQLLAQKGIYFSMVS VQAGAKRS
```

P-gp Outward (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/1341393127?report=FASTA>):

>pdb|6C0V|A Chain A, Multidrug resistance protein 1

```
MDLEGDRNGGAKKKNFFKLNKSEKDKKEKKPTVSVFSMFRYSNWLDKLYMVVGTAAIIHGAGLPLMML
VFGEMTDIFANAGNLEDLMSNITNRSNDINDTGFFMNLEEDMTRYAYYYSGIGAGVLVAAYIQVSFWCLAAG
RQIHKIRKQFFHAIMRQEIGWFDVHVDVGELNTRLTDDVSKINEGIGDKIGMFFQSMATFFTG FIVGFTRGWK
LTLVILAI SPVLGLSAAVWAKILSSFTDKELLAYAKAGAVAEVLA AIRT VIAFGGQKKE LERYNKNLEEAKRIGIK
KAITANISIGAAFLLIYASYALAFWYGTTLVLSGEYSIGQVLT VFFSVLIGAF SVGQASPSIEAFANARGAAYEIFKI
IDNKPSIDSYSGH KPDNIKGNLEFRNVHFSYPSRKEVKILKGLNLKVQSGQTVALVGN SGC GKSTTVQLMQ
```

RLYDPTEGMVSVDDGQDIRTINVRFLREIIGVVSQEPVLFATTIAENIRYGRENVMTMDEIEKAVKEANAYDFIMKL
PHKFDTLVGERGAQLSGGQKQRIAIARALVRNPKILLDQATSALDTESEAVVQVALDKARKGRTTIVIAHRLS
TVRNADVAGFDDGVIVEKGNHDELMKEKGIYFKLVMTQTAGNEVELENAADESKSEIDALEMSSNDSRSLI
RKRSTRRSVRGSQAQDRKLSTKEALDESIPPVSWFRIMKLNLTWPYFVVGVFCAIINGGLQPAFAIIFSKIIGVF
TRIDDPETKRQNSNLFSLFLALGIISFITFFLQGFTEGKAGEILTKRLRYMVFRSMLRQDVSWFDDPKNTTGAL
TTRLANDAAQVKGAGSRLAVITQNIANLGTGIIISFIYGWQLTLLLLAIVPIAIAAGVEMKMLSGQALKDKKEL
EGSGKIAATEAIENFRTVVSLTQEQKFEHMYAQLQVYPYRNSLRKAHIFGITFSFTQAMMYFSYAGCFRFGAYLV
AHKLMSFEDVLLVFSVAVFGAMAVGQVSSFAPDYAKAKISAAHIIMIIEKTPLIDSYSTEGLMPNTLEGNVTFG
EVVFNYPTRPDIPVLQGLSLEVKKGQTLALVGSSGCGKSTVVQLLERFYDPLAGKVLLDGKEIKRLNVQWLRHA
LGIVSQEPILFDCSIAENIAYGDNSRVVSQEEIVRAAKEANIHAFIESLPNKYSTKVGDKGTQLSGGQKQRIAIAR
ALVRQPHILLDQATSALDTESEKVVQEALDKAREGRTCIVIAHRLSTIQNADLIVVFQNGRVKEHGTHQQLLA
QKGIYFSMVSQAGTKRQSNLSLEVLQ

P-gp *C. elegans* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/406855735?report=FASTA>):

>pdb|4F4C|A Chain A, Multidrug Resistance Protein Pgp-1

MLRNGSLRQSLRSLDLSLAPEDVLKTAIKTVEDYEGDNIDSNGEIKITRDAKEEVVNKVSIPQLYRYTTTLEKLL
LFIGTLVAVITGAGLPLMSILQGKVSQAFINEQIVINNGSTFLPTGQNYTKTDFEHDVMNVVWSYAAMTVG
MWAAGQITVTCYLYVAEQMNNRLRREFVKSILRQEISWFDTNHSGTLATKLFNLERVKEGTGDKIGMAFQ
YLSQFITGFIVAFTHSWQLTLVMLAVTPIQALCGFAIAKSMSTFAIRETLRYAKAGKVVVEETISSIRTVVSLNGLR
YELERYSTAVEEAKKAGVLKGLFLGISFGAMQASNFISFALAFYIGVGWVHDGSLNFGDMLTTFSSVMMGSM
ALGLAGPQLAVLGTGAASGIYEVLDKRPVIDSSSKAGRKDMKIKGDITVENVHFTYPSRPDVPILRGMNLR
VNAGQTVLVGSSGCGKSTIISLLRYYDVLKGGKITIDGVDVRDINLEFLRKNVAVVSQEPALFNCTIEENISLGK
EGITREEMVAACKMANAEKFIKTLPNGYNTLVGDRGTQLSGGQKQRIAIARALVRNPKILLDDEATSALDAESE
GIVQQALDKAAKGRTTIIIAHRLSTIRNADLIISCKNGQVVEVGDHRALMAQQGLYYDLVTAQTFTDAVDSAA
EGKFSRENSVARQTSEHEGLSRQASEMDDIMNRVRSSTIGSITNGPVIDEKEERIGKDALSRLKQELEENNAQK
TNLFEILYHARPHALSFIGMSTATIGGFYPTYSVFFTSFMNVFAGNPADFLSQGHFWALMFLVLAQAQGICS
FLMTFFMGIASESLTRDLRNKLFNRNLSQHIGFFDSPQNASGKISTRLATDVPNLRTAIDFRFSTVITTLVSMVA
GIGLAFFYGWQMAILLIAILPIVAFGQYLRGRRFTGKNVKSASEFADSGKIAIEAIENVRTVQALAREDTFYENF
CEKLDIPHKEAIKEAFIQGLSYGCASSVLYLLNTCAYRMGLALIITDPPTMQPMRVLRVMYAITISTSTLGFATSY

FPEYAKATFAGGIIFGMLRKISKIDSLSLAGEKKKLYGKVIFKNVRFAYPERPEIEILKGLSFSVEPGQTLALVGPSG
CGKSTVVALLERFYDTLGGEIFIDGSEIKTLNPEHTRSQIAIVSQEPTLFDCSIAENIYGLDPSSVTMAQVEEAAR
LANIHNFAELPEGFETRVDGRGTQLSGGQKQRIAIARALVRNPKILLLDEATSALDTESEKVVQEALDRAREGR
TCIVIAHRLNTVMNADCIAVVSNGTIIEKGTHTQLMSEKGAYYKLTQKQMTEKKMYAITISTSTLGFATSYFPEY
AKATFAGGIIFGMLRKISKIDSLSLAGEKKKLYGKVIFKNVRFAYPERPEIEILKGLSFSVEPGQTLALVGPSGCGK
STVVALLERFYDTLGGEIFIDGSEIKTLNPEHTRSQIAIVSQEPTLFDCSIAENIYGLDPSSVTMAQVEEAARLANI
HNFAELPEGFETRVDGRGTQLSGGQKQRIAIARALVRNPKILLLDEATSALDTESEKVVQEALDRAREGRTCIV
IAHRLNTVMNADCIAVVSNGTIIEKGTHTQLMSEKGAYYKLTQKQMTEKK

P-gp *M. musculus* (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/5KPD_A?report=fasta):

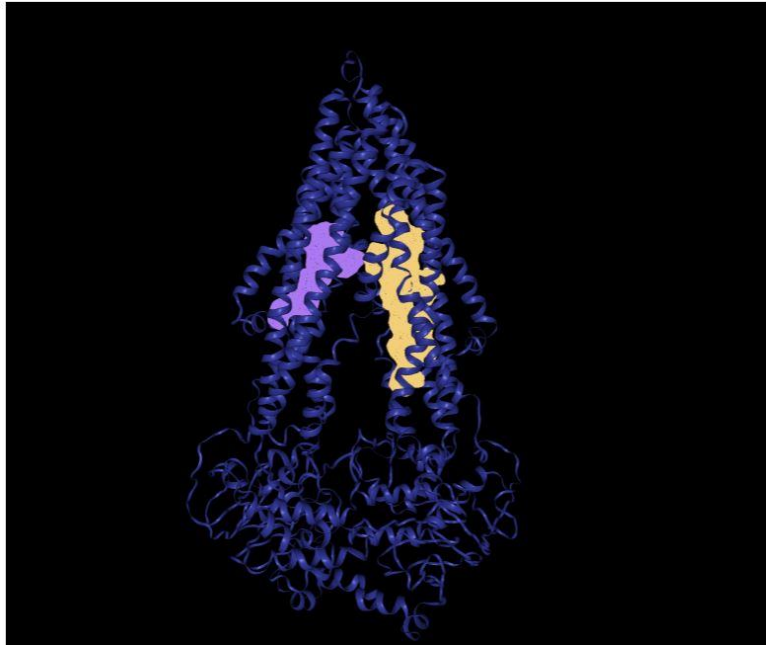
>pdb|5KPD|B Chain B, Multidrug Resistance Protein 1a

MELEEDLKGRADKNFSKMGKKSKEKKEKPAVSVLTMFRYAGWLDRLYMLVGTAAIIHGVALPLMMLIFG
DMTDSFASVGNVSKNSTNMSEADKRAMFAKLEEMTTYAYYYTGIGAGVLIVAYIQVSWCLAAQRQIHKIR
QKFFHAIMNQEIGWFDVHDVDELNTRLTDDVSKINEGIGDKIGMFFQAMATFFGGFIIGFTRGWKLTLVILAI
SPVLGLSAGIWAKILSSFTDKELHAYAKAGAVAEVLAARTVIAFGGQKKELERYNNNLEEAKRLGIKKAITANI
SMGAAFLLIYASYALAFWYGTSLVISKEYSIGQVLTVFFSVLIGAFSVGQASPNI EAFANARGAAYEVFKIIDNKP
SIDFSKSGHKPDNIQGNLEFKNIHFSYPSRKEVQILKGLNLKVKSGQTVLVGNSGCGKSTTVQLMQRLYDPL
DGMV SIDGQDIRTINVRYLREIIGVVSQEPVLFATTIAENIRYGREVDTMDEIEKAVKEANAYDFIMKLPHQFD
TLVGERGAQLSGGQKQRIAIARALVRNPKILLLDQATSALDTESEAVVQAALDKAREGRTTIVIAHRLSTVRNA
DVIAGFDGGVIVEQGNHDELMREKGIYFKLVMTQTAGNEIELGNEACKSKDEIDNLDALDEDVPPASFWRILK
LNSTEWPFYVVGIFCAIINGGLQPAFSVIFSKVVGFTNGGPPETQRQNSNLFLLFLILGIISFITFFLQGFTFGK
AGEILTKRLRYMVFKSMLRQDVSWFDDPKNTTGALTTRLANDAAQVKGATGSRLAVIFQNIANLGTGIIISLIY
GWQLTLLLLAIVPIIAIAGVVEMKMLSGQALKDKKELEGSGKIAEAIENFRTVVSLTREQKFETMYAQLQIPY
RNAMEKKAHVFGITFSFTQAMMYFSYAACFRFGAYLVTQQLMTFENVLLVFSIVFGAMAVGQVSSFAPDYA
KATVSASHIIRIIEKTPEIDSYSTQGLKPNMLEGNVQFSGVVFNYPTRPSIPVLQGLSLEVKKGQTLALVGSSGCG
KSTVVQLLERFYDPMAGSVFLDGKEIKQLNVQWLRAQLGIVSQEPILFDCSIAENIAYGDNSRVVSYEEIVRAA
KEANIHQFIDSLPKYNTRVGDKGTQLSGGQKQRIAIARALVRQPHILLLDQATSALDTESEKVVQEALDKARE
GRTCIVIAHRLSTIQNADLIVVIQNGKVKEHGTHQQLLAQKGIYFSMVSVQAGAKRSHHHHHH

Apéndice J Posición del sitio activo

ProteinsPlus

6FN1



DoGSiteScorer

DoGSiteScorer is a grid-based method which uses a Difference of Gaussian filter to detect potential binding pockets - solely based on the 3D structure of the protein - and splits them into subpockets.

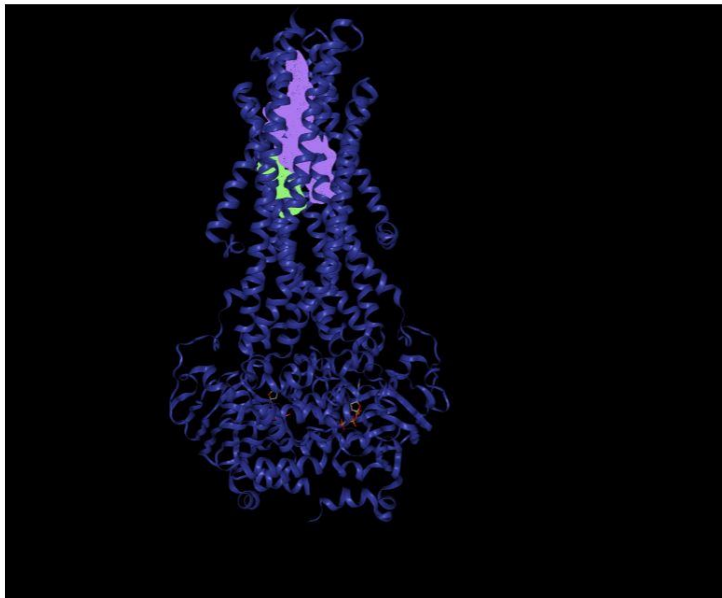
Result

Click on the plus to see your selected parameters:

Show 25 entries Search:

	Name	Volume Å ³	Surface Å ²	Depth Å	Simple Score	Additional information
	P_0	1967.39	1935.3	43.92	0.62	Click here to show/hide
	P_1	938.68	893.72	28.41	0.64	Click here to show/hide
	P_10	280.59	446.79	15.0	0.06	Click here to show/hide
	P_11	272.24	478.0	16.66	0.06	Click here to show/hide
	P_12	270.79	375.88	15.88	0.1	Click here to show/hide
	P_13	259.35	374.22	15.47	0.08	Click here to show/hide
	P_14	258.27	379.23	14.96	0.01	Click here to show/hide
	P_15	234.67	327.02	9.82	0.0	Click here to show/hide

6C0V



DoGSiteScorer

DoGSiteScorer is a grid-based method which uses a Difference of Gaussian filter to detect potential binding pockets - solely based on the 3D structure of the protein - and splits them into subpockets.

Result

Click on the plus to see your selected parameters:

Show 25 entries Search:

	Name	Volume Å ³	Surface Å ²	Depth Å	Simple Score	Additional information
	P_0	1773.53	2325.49	51.53	0.57	Click here to show/hide
	P_1	1454.25	1691.58	40.63	0.58	Click here to show/hide
	P_10	481.8	682.24	16.68	0.33	Click here to show/hide
	P_11	464.78	622.09	11.17	0.25	Click here to show/hide
	P_12	456.37	547.02	13.71	0.24	Click here to show/hide
	P_13	381.2	658.55	18.16	0.22	Click here to show/hide
	P_14	353.34	531.84	14.58	0.16	Click here to show/hide

Localización del protomol en SYBYL-X 2.1

Protomol en 6FN1 (conformación "hacia adentro")

The screenshot displays the SYBYL-X 2.1.1 software interface. The main window shows a 3D molecular model of a protein structure (6FN1) with a green surface representing the protomol. A dialog box titled "Surflex-Dock - Define SFXC File@login1.ins.buap.mx" is open, showing the following settings:

- Protein Structure: Mol2, prep6fn1_H1.mol2, Prepare...
- Protomol Generation Mode: Automatic, Ligand, Residues, Multi-Channel Surface
- Mol Area: [] []
- Threshold: 0.50, Bloat (A): 0
- Prefix: prep6fn1_H1-A-0.50-0
- Generate button
- Protomol: p6fn1_H1-A-0.50-0-protomol.mol2, Edit
- SFXC File: /home/201801028c/rep6fn1_H1-A-0.50-0.sfxc
- OK, Cancel, Help buttons

The Command Console at the bottom left shows the following output:

```
MOLECDAL STRUCTURE Copyright (C) 1990 Kome and Haas Company, All Rights Reserved.  
  
INFO: You can customize SYBYL by placing commands in the file sybyl.ini in your home directory. Using default SYBYL settings instead.  
SYBYL> Reading molecule Protomol  
Reading molecule Protomol  
  
Default Molecule: M1 :: Default Directory: /home/201801028c/
```

The Job Control panel at the bottom right shows a table with the following data:

Name	Status	Started	Host
id: surflex-dock			

Protomol en 6C0V (conformación “hacia afuera”)

Working...@login1.ins.buap.mx
Running Multi Channel Active Site Detection.

Surflex-Dock - Define SFXC File@login1.ins.buap.mx

Protein Structure: Mol2 6c0v_AD_H.mol2 Prepare...

Protomol Generation
Mode: Automatic Ligand Residues Multi-Channel Surface
Mol Area: PHF465,A/ILU468,A/ILE469

Surface Selection@login1.ins.buap.mx

Multiple Multi-Channel Surfaces Detected, Select One:
RESIDUE_SELECTION_SURFACE_00001
RESIDUE_SELECTION_SURFACE_00002
RESIDUE_SELECTION_SURFACE_00003
RESIDUE_SELECTION_SURFACE_00004
RESIDUE_SELECTION_SURFACE_00005
RESIDUE_SELECTION_SURFACE_00006

OK Cancel Help

System Messages

```
le  
idue_selection_surface_00001  
les in sld surface residue_selection_  
9 ...  
hole(s).  
idue_selection_surface_00020"  
les in sld surface residue_selection_  
0 ...  
hole(s).
```

Name	Status	Started	Host	Engin
surflex-dock				

Surflex-Dock - Define SFXC File@login1.ins.buap.mx

Protein Structure: Mol2 6c0v_AD_H.mol2 Prepare...

Protomol Generation
Mode: Automatic Ligand Residues Multi-Channel Surface
Mol Area: FT1010,A/ILE1011,A/LYS1014
Threshold: 0.50 Bloat (A): 1
Prefix: 6c0v_AD_H-M-0.50-1
Generate
Protomol: 0v_AD_H-M-0.50-1-protomol.mol2 Edit
SFXC File: 6c0v_AD_H-M-0.50-1.sfxc
OK Cancel Help

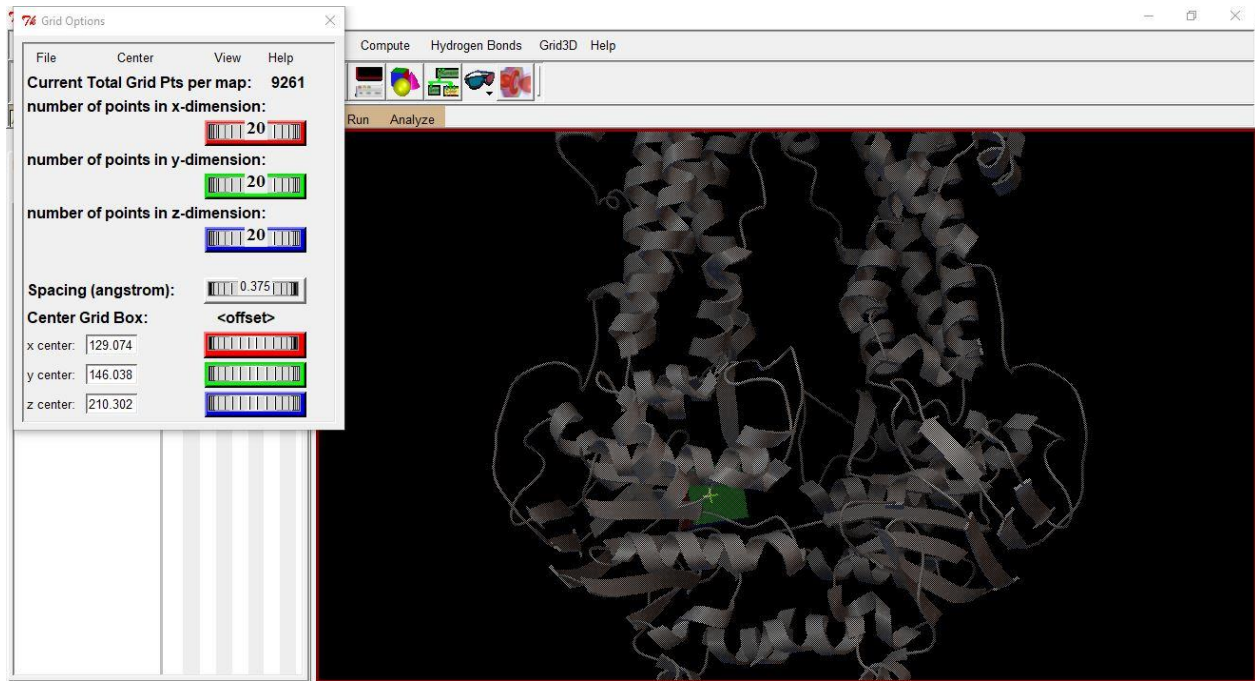
System Messages

```
M-0.50-1-protomol.mol2 /home/2018010  
01028c//.lock.protomol  
exDock checked in.  
exDock_Engine checked in.  
ule Protomol  
ule Protomol
```

Name	Status	Started	Host	Engin
surflex-dock				

Apéndice K Localización de las cajas *grid* en AutoDock Tools

Acoplamiento molecular en el dominio de unión al nucleótido (NBD) de 6FN1.



center_x = 129.074

center_y = 146.038

center_z = 210.302

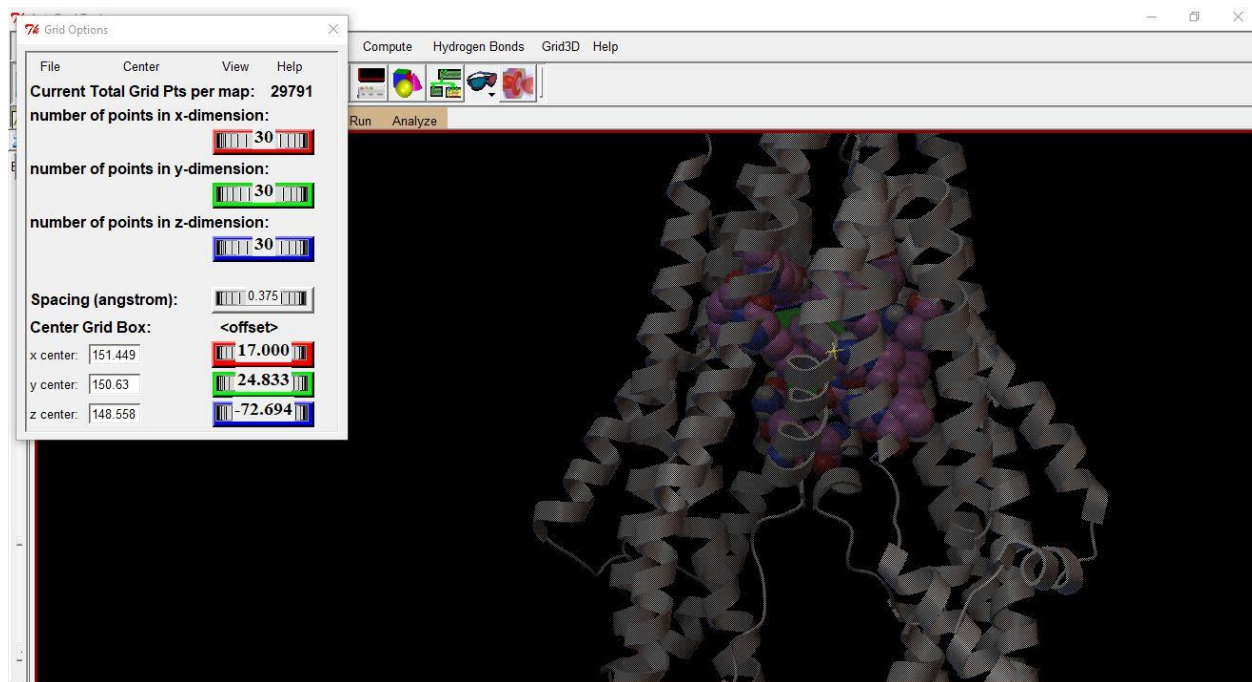
size_x = 20

size_y = 20

size_z = 20

exhaustiveness = 8

Acoplamiento molecular en el dominio de unión a sustrato (SBD) de 6FN1.



center_x = 151.449

center_y = 150.63

center_z = 148.558

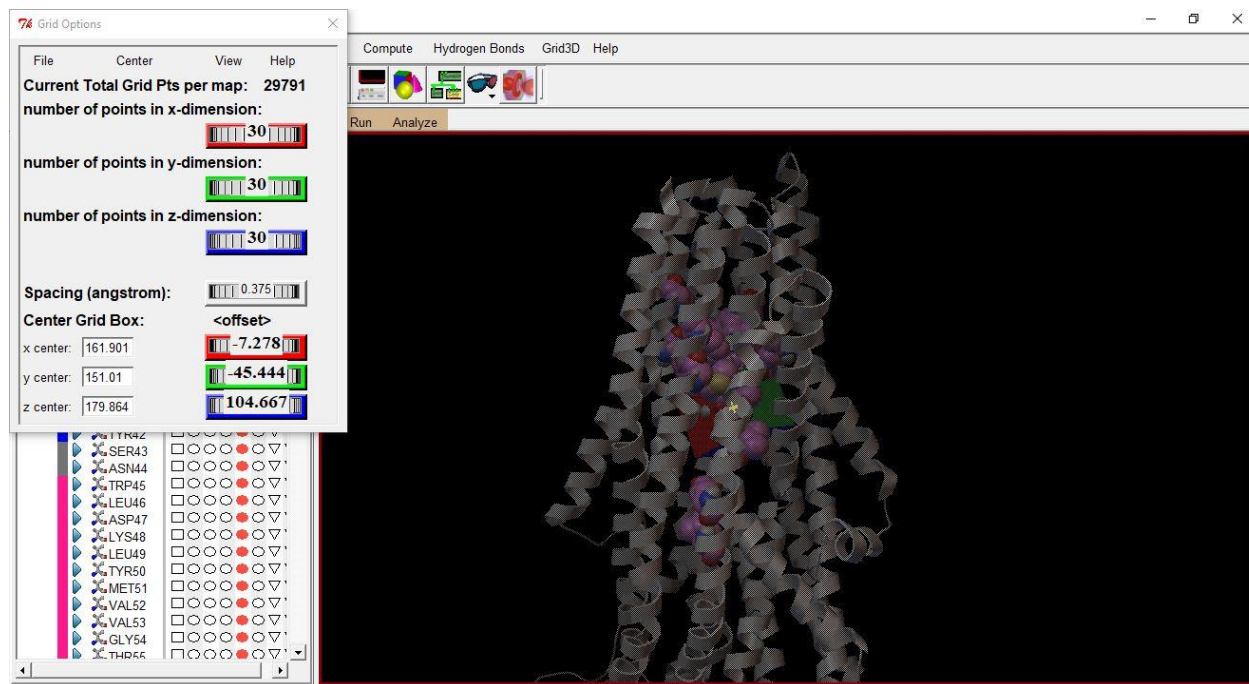
size_x = 30

size_y = 30

size_z = 30

exhaustiveness = 8

Acoplamiento molecular en el dominio de unión a sustrato (SBD) de 6C0V.



center_x = 161.901

center_y = 151.01

center_z = 179.864

size_x = 30

size_y = 30

size_z = 30

exhaustiveness = 8

Apéndice L Resultados omitidos del acoplamiento molecular con AutoDock Vina

NBD de 6FN1

Hidroxicantina X1

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-7.0
2	-6.8
3	-6.7
4	-6.3
5	-6.3
6	-6.2
7	-6.2
8	-6.1
9	-6.1

Hidroxicantina X2

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-6.5
2	-6.2
3	-6.0
4	-5.8
5	-5.8
6	-5.6
7	-5.6
8	-5.6
9	-5.2

Hidroxicantina X3

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-6.3
2	-5.9
3	-5.8
4	-5.8
5	-5.6
6	-5.6
7	-5.6
8	-5.4
9	-5.3

Hidroxicantina X4

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-7.0
2	-6.3
3	-6.0
4	-6.0
5	-5.9
6	-5.9
7	-5.9
8	-5.8
9	-5.8

Hidroxixantona X5

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-6.2
2	-6.1
3	-6.0
4	-5.9
5	-5.8
6	-5.7
7	-5.5
8	-5.3
9	-5.2

Hidroxixantona X6

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-7.1
2	-6.2
3	-6.1
4	-6.0
5	-5.9
6	-5.8
7	-5.8
8	-5.8
9	-5.8

Hidroxixantona X7

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-6.4
2	-6.0
3	-6.0
4	-5.8
5	-5.8
6	-5.7
7	-5.6
8	-5.5
9	-5.5

Hidroxixantona X8

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-6.4
2	-6.3
3	-5.9
4	-5.8
5	-5.7
6	-5.6
7	-5.5
8	-5.5
9	-5.4

Hidroxixantona X9

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-6.5
2	-6.3
3	-6.0
4	-5.9
5	-5.8
6	-5.7
7	-5.6
8	-5.3
9	-5.1

Hidroxixantona X10

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-6.8
2	-6.7
3	-6.6
4	-6.5
5	-6.3
6	-6.2
7	-6.0
8	-5.8
9	-5.8

Hidroxixantona X11

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-6.6
2	-6.3
3	-6.1
4	-6.0
5	-6.0
6	-5.9
7	-5.7
8	-5.6
9	-5.5

Hidroxixantona X12

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-6.7
2	-6.4
3	-6.4
4	-6.1
5	-6.1
6	-6.1
7	-6.1
8	-5.8
9	-5.8

SBD de 6FN1

Hidroxicantona X1

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-8.8
2	-8.6
3	-8.5
4	-8.4
5	-8.3
6	-8.3
7	-8.3
8	-8.3
9	-8.2

Hidroxicantona X2

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-7.7
2	-7.5
3	-7.3
4	-7.3
5	-7.0
6	-7.0
7	-6.9
8	-6.8
9	-6.8

Hidroxicantona X3

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-8.9
2	-8.7
3	-8.6
4	-8.3
5	-8.0
6	-7.9
7	-7.8
8	-7.7
9	-7.6

Hidroxicantona X4

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-7.2
2	-7.1
3	-6.9
4	-6.9
5	-6.8
6	-6.8
7	-6.7
8	-6.6
9	-6.6

Hidroxixantona X5

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-9.0
2	-8.2
3	-8.2
4	-8.2
5	-8.1
6	-8.0
7	-7.7
8	-7.5
9	-7.4

Hidroxixantona X6

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-7.5
2	-7.4
3	-7.0
4	-6.8
5	-6.8
6	-6.7
7	-6.7
8	-6.6
9	-6.6

Hidroxixantona X7

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-8.1
2	-7.9
3	-7.7
4	-7.6
5	-7.6
6	-7.5
7	-7.4
8	-7.4
9	-7.3

Hidroxixantona X8

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-7.6
2	-7.1
3	-7.1
4	-7.0
5	-7.0
6	-7.0
7	-6.9
8	-6.9
9	-6.8

Hidroxixantona X9

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-8.4
2	-8.2
3	-8.2
4	-8.2
5	-7.9
6	-7.9
7	-7.8
8	-7.8
9	-7.7

Hidroxixantona X10

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-8.7
2	-8.5
3	-8.5
4	-8.1
5	-7.9
6	-7.7
7	-7.7
8	-7.7
9	-7.7

Hidroxixantona X11

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-8.7
2	-8.4
3	-8.2
4	-8.1
5	-8.0
6	-7.8
7	-7.8
8	-7.7
9	-7.7

Hidroxixantona X12

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-8.7
2	-8.7
3	-8.6
4	-8.3
5	-8.3
6	-8.1
7	-7.7
8	-7.7
9	-7.7

SBD de 6C0V

Hidroxicantona X1

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-7.3
2	-7.2
3	-7.0
4	-6.4
5	-6.4
6	-5.8
7	-5.7
8	-5.4
9	-5.3

Hidroxicantona X2

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-8.4
2	-8.2
3	-8.0
4	-7.3
5	-7.2
6	-7.0
7	-6.8
8	-6.7
9	-6.6

Hidroxicantona X3

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-7.2
2	-6.7
3	-6.1
4	-5.9
5	-5.4
6	-5.0
7	-5.0
8	-5.0
9	-4.9

Hidroxicantona X4

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-8.5
2	-8.3
3	-7.7
4	-7.3
5	-6.8
6	-6.7
7	-6.6
8	-6.4
9	-6.4

Hidroxixantona X5

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-7.0
2	-6.8
3	-6.1
4	-6.0
5	-5.7
6	-5.7
7	-5.4
8	-5.3
9	-5.2

Hidroxixantona X6

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-7.6
2	-7.4
3	-7.1
4	-6.6
5	-6.4
6	-6.1
7	-6.0
8	-6.0
9	-5.9

Hidroxixantona X7

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-7.6
2	-7.6
3	-7.4
4	-7.3
5	-7.1
6	-6.9
7	-6.5
8	-6.2
9	-5.7

Hidroxixantona X8

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-8.2
2	-8.0
3	-7.8
4	-7.2
5	-7.2
6	-7.1
7	-6.6
8	-6.5
9	-6.5

Hidroxicantona X9

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-7.1
2	-6.7
3	-6.6
4	-6.3
5	-6.2
6	-6.1
7	-6.0
8	-5.9
9	-5.4

Hidroxicantona X10

Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-6.6
2	-6.5
3	-6.3
4	-5.9
5	-5.9
6	-5.8
7	-5.8
8	-5.7
9	-5.5

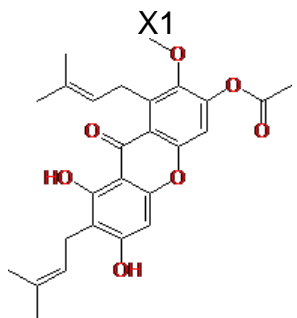
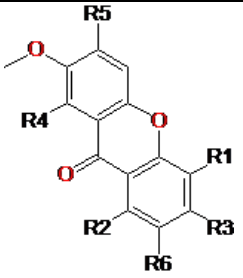
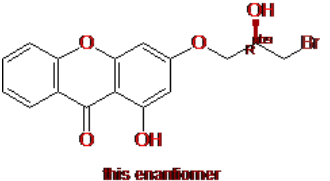
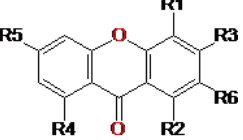
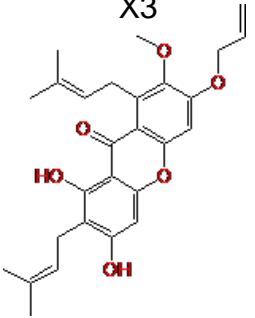
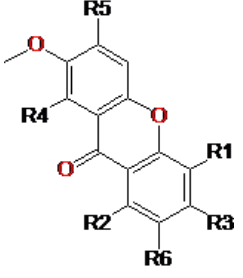
Hidroxicantona X11

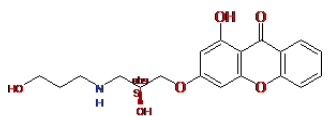
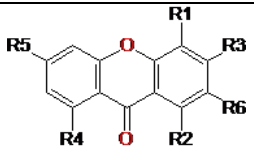
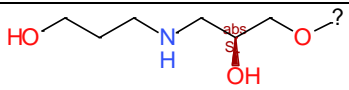
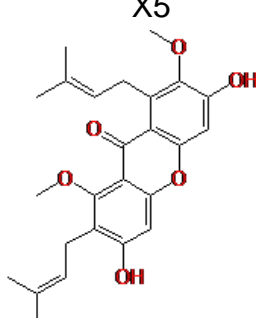
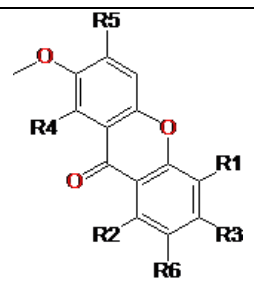
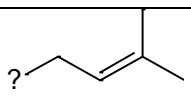
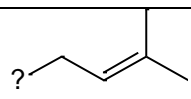
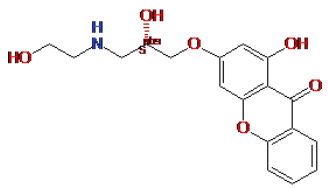
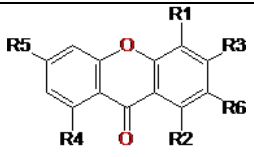
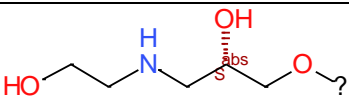
Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-7.1
2	-7.0
3	-6.5
4	-6.5
5	-6.1
6	-6.0
7	-5.7
8	-5.6
9	-4.9

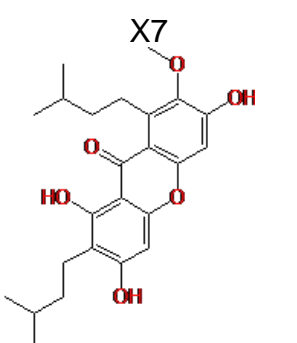
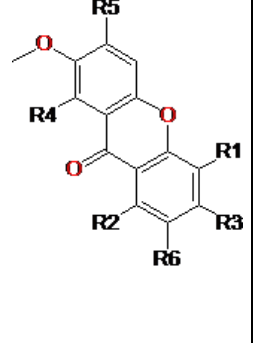
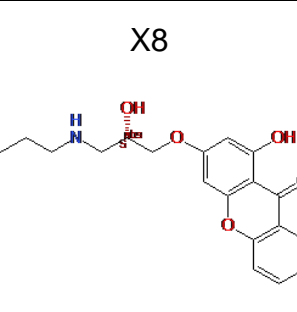
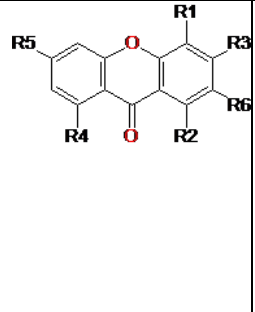
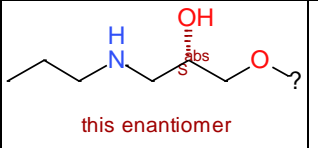
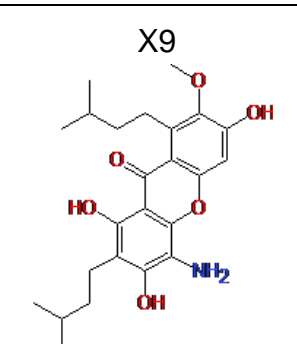
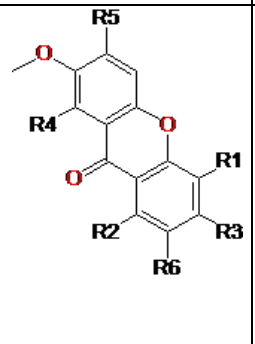
Hidroxicantona X12

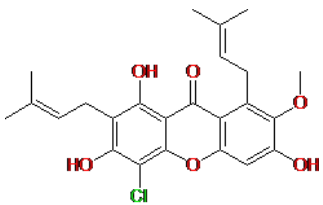
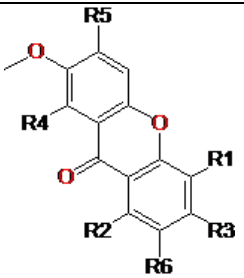
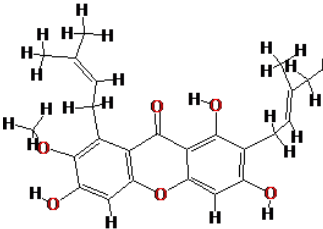
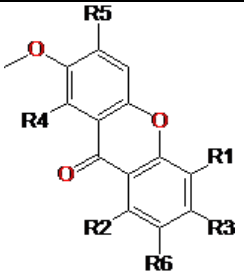
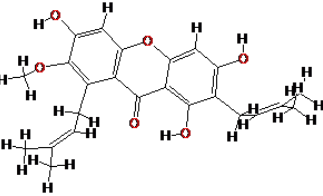
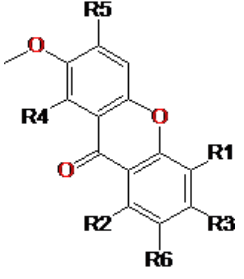
Conformación	Afinidad (kcal/mol)
1	-7.7
2	-7.1
3	-7.1
4	-6.4
5	-6.3
6	-6.1
7	-5.9
8	-5.3
9	-4.8

Apéndice M Resultados omitidos de la predicción del potencial tipo droga.

Molécula	Fragmento central	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Druglikeness
<p>X1</p> 			?-OH	?-OH	?-CH=CH-CH3	?-O-C(=O)-CH3	?-CH=CH-CH3	-0.92077
<p>X2</p>  <p>this enantiomer</p>			?-OH	?-O-CH(OH)-CH2-Br this enantiomer				-6.3087
<p>X3</p> 			?-OH	?-OH	?-CH=CH-CH3	CH=CH-O-	?-CH=CH-CH3	-6.5129

Molécula	Fragmento central	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Druglikeness
<p>X4</p> 			?-OH	 <p>this enantiomer</p>				1.4731
<p>X5</p> 			?-O	?-OH		?-OH		-1.1123
<p>X6</p> 			?-OH	 <p>this enantiomer</p>				3.053

Molécula	Fragmento central	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Druglikeness
 <p>X7</p>			?-OH	?-OH	?-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH(CH ₃) ₂	?-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH(CH ₃) ₂	?-OH	-1.9601
 <p>X8</p>			?-OH	 <p>this enantiomer</p>				3.2651
 <p>X9</p>		?-NH ₂	?-OH	?-OH	?-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH(CH ₃) ₂	?-OH	?-CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH(CH ₃) ₂	-1.7188

Molécula	Fragmento central	R1	R2	R3	R4	R5	R6	Druglikeness
<p>X10</p> 		?-Cl	?-OH	?-OH	?-CH ₂ -CH=CH-CH ₃	?-OH	?-CH ₂ -CH=CH-CH ₃	-0.9815
<p>X11</p> 			?-OH	?-OH	?-CH ₂ -CH=CH-CH ₃	?-OH	?-CH ₂ -CH=CH-CH ₃	-1.11123
<p>X12</p> 			?-OH	?-OH	?-CH ₂ -CH=CH-CH ₃	?-OH	?-CH ₂ -CH=CH-CH ₃	-1.11123